

Test Aptima™ pour Chlamydia trachomatis

Pour diagnostic *in vitro*.

Réservé à l'exportation américaine uniquement.

Informations générales	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 du test — QC/Résultats patients	38
Limites	41
Résultats des études cliniques	43
Valeurs attendues pour les DTS Systems	44
Performance clinique du test avec les DTS Systems	47
Performance analytique des DTS Systems	60
Concordance des échantillons cliniques pour le Tigris DTS System	64
Performance analytique du Tigris DTS System	68
Performance analytique du Panther System	71
Bibliographie	74

DTS™ Systems

DTS Systems	10
Réactifs et matériel fourni	10
Matériel requis mais disponible séparément	12
Matériel optionnel	13
Procédure de test avec les DTS Systems	13
Remarques concernant la procédure	19

Tigris™ DTS™

Tigris DTS System	24
Réactifs et matériels fournis	24
Matériel requis mais disponible séparément	26
Matériel optionnel	27
Procédure de test pour le Tigris DTS System	27
Remarques concernant la procédure	30

Panther™

Panther System	31
Réactifs et matériels fournis	31
Matériel requis mais disponible séparément	32
Matériel optionnel	33
Procédure de test pour le Panther System	33
Remarques concernant la procédure	36

Informations générales

Usage prévu

Le test Aptima™ pour *Chlamydia trachomatis* 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 (ribosomal RNA, rRNA) de *Chlamydia trachomatis* (CT) afin de faciliter le diagnostic des infections à Chlamydiae de l'appareil génito-urinaire au moyen du Tigris DTS System ou du Panther System ou en utilisant les DTS Systems semi-automatiques, comme indiqué. Ce test peut être employé pour analyser les échantillons suivants provenant d'individus symptomatiques : échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux mâles collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon ; échantillons d'urine féminins et masculins. Ce test peut également être employé pour analyser les échantillons suivants provenant d'individus asymptomatiques : échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux mâles 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 également destiné à être utilisé pour l'analyse d'échantillons gynécologiques provenant aussi bien de patientes symptomatiques et asymptomatiques. Ces échantillons cervicaux collectés dans les flacons de solution PreservCyt™ peuvent être testés avant ou après le traitement du frottis. L'analyse des échantillons après traitement du frottis est limitée aux seuls échantillons traités avec le système ThinPrep™ 2000.

¹Les 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 - écouvillon vaginal n'est pas prévu pour une utilisation à domicile.

Résumé et explication du test

Les infections à *Chlamydia trachomatis* sont l'une des infections sexuellement transmissibles les plus fréquentes au monde. En 2010, les Centres de contrôle des maladies (Centers for Disease Control) des États-Unis ont recensé, sur le territoire américain, un nombre de nouveaux cas d'infections à CT estimé à 1 307 893 (426,0 cas pour 100 000 personnes) (5).

Les Chlamydiae sont des bactéries intracellulaires strictes, non motiles et Gram-négatif. L'espèce CT se compose de quinze sérotypes (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 et L3) susceptibles de provoquer des maladies chez l'homme (29). Les sérotypes D à K constituent la principale cause d'infections génitales à Chlamydiae chez l'homme et la femme (21). *C. trachomatis* peut provoquer des urétrites, épидidymites, rectites, cervicites, salpingites aiguës et des infections génitales hautes non gonococciques (3, 13, 23, 24). Les infections à *C. trachomatis* sont souvent asymptomatiques aussi bien chez l'homme que la femme. Les enfants nés de mères infectées présentent un risque sensiblement plus élevé de conjonctivites à inclusions et de pneumonies chlamydiales (1, 10, 22).

Traditionnellement, plusieurs méthodes de détection de CT ont été utilisées en laboratoire clinique, notamment la culture de cellules, la réaction d'immunofluorescence (technique des anticorps fluorescents), et le test d'immunoenzymologie. Parmi les méthodologies les plus récentes pour la détection de CT figurent les tests de sonde DNA directs ainsi que les tests d'amplification de l'acide nucléique (nucleic acid amplification tests, NAATs). Auparavant, la culture de cellules était considérée comme la « norme de référence » pour la détection de CT. Bien que la méthode par culture cellulaire soit particulièrement précise, de récentes publications ont démontré que les tests NAAT offrent une sensibilité clinique supérieure aux cultures (2, 8, 14, 25). En raison de sa sensibilité clinique plus faible et d'une performance variable entre laboratoires, la culture a été remplacée dans de nombreux laboratoires par les tests de sonde DNA directs et les NAAT.

La première génération de NAAT pour CT 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, 12, 17, 20, 26, 28). Le test Aptima pour *Chlamydia trachomatis* (test CT Aptima) est un NAAT 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 de l'hybridation (Hybridization Protection Assay, HPA) pour simplifier le traitement des échantillons, amplifier le rRNA cible et détecter l'amplicon, respectivement. Des études récentes comparant la performance et l'inhibition des échantillons avec divers systèmes d'amplification ont démontré les avantages des techniques de capture de cible, de TMA, et de HPA (7, 11).

Conformément aux directives de dépistage de *Chlamydia trachomatis* et *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 sérieuses répercussions psychosociales ou légales » (4). L'une de ces options de tests supplémentaires peut consister à utiliser un test d'amplification de l'acide nucléique autorisé par la FDA qui ciblerait une autre séquence d'acide nucléique que celle du test initial. Le test CT Aptima cible des séquences d'acides nucléiques différentes de celles ciblées par les autres tests NAAT pour *C. trachomatis*, y compris le test Aptima Combo 2™.

Principes de la procédure

Le test CT 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 rRNA et l'empêche de se détériorer pendant la période de conservation. Lorsque le test CT Aptima est effectué en laboratoire, la molécule rRNA cible est isolée des échantillons à l'aide de microparticules magnétiques en utilisant un oligomère de capture par la méthode dite de « capture de cible ». L'oligomère de capture contient une séquence complémentaire à une région précise de la molécule cible, de même qu'une chaîne de résidus de déoxyadénosine. 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/capture de cible est ensuite capturé hors de la solution en ramenant la température de la réaction à température ambiante. Cette réduction de température permet à l'hybridation de se produire entre la région déoxyadénosine de l'oligomère de capture et les molécules poly-désoxythimidines liées covalentement aux particules magnétiques. Les microparticules, y compris les molécules cible capturées auxquelles elles sont liées, sont attirées vers la paroi du tube à 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 tremper 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 de 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 DNA chimiluminescente monocaténaire, qui est complémentaire à une région de l'amplicon cible, est marquée avec une molécule d'ester d'acridinium. La sonde 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 le 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, consultez le *Manuel de l'opérateur du système Tigris DTS (Tigris DTS System Operator's Manual)*.
- C. Pour tout avertissement, précaution ou procédure complémentaire concernant le contrôle de la contamination pour le Panther System, consultez le *Panther System Operator's Manual (Manuel de l'opérateur du système Panther)*.

Recommandations concernant les laboratoires

- D. N'utilisez que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.
- E. Prenez les précautions de laboratoire habituelles. Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail signalées. Portez des gants jetables sans poudre, des lunettes de protection et des blouses de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs du kit. Lavez-vous bien les mains après avoir manipulé les échantillons et réactifs du kit.
- F. **Avertissement : produits irritants et corrosifs** : Évitez tout contact d'Auto Detect 1 et Auto Detect 2 avec la peau, les yeux et les muqueuses. En cas de contact de ces liquides avec la peau ou les yeux, lavez la zone affectée à l'eau. En cas de déversement de ces liquides, diluez le produit répandu à l'eau avant de l'essuyer.
- G. Les plans de travail, pipettes et tout autre matériel doivent être régulièrement décontaminés avec une solution d'hypochlorite de sodium dosée 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 la même manière, le personnel ne devrait pas retourner dans les zones de travail des étapes précédentes sans s'entourer de précautions adéquates pour éviter toute contamination.

Recommandations concernant les échantillons

- J. Cette méthode a été testée en utilisant uniquement des échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon, des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, des échantillons vaginaux sur écouvillon et des échantillons d'urine masculins et féminins. La performance de cette méthode n'a pas été évaluée pour tout échantillon autre que ceux décrits au paragraphe Collecte et conservation des échantillons.
- Les laboratoires peuvent valider d'autres dispositifs de collecte d'échantillons (16, 18).
- 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 en tant que milieu alternatif pour l'analyse par le test CT 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 *Chlamydia trachomatis* au moyen du test CT 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. Observez 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. Utilisez les Précautions universelles en effectuant 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. Évitez toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Les échantillons peuvent contenir des taux d'organismes très importants. Veillez 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. Changez de gants en cas de contact avec l'échantillon.
- Q. Si le laboratoire reçoit un tube de transport d'échantillons sur écouvillon sans écouvillon, avec 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 sans écouvillon, vérifiez qu'il ne s'agit pas d'un tube de transfert d'échantillons Aptima étant donné que ce type de tube ne comporte pas d'écouvillon.
- R. Concernant les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, effectuez leur collecte conformément aux instructions du fabricant. Les aliquots qui ont été retirés ultérieurement du flacon de PreservCyt pour être analysés au moyen du test CT Aptima doivent être traités en utilisant uniquement le 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. Suivez les instructions de la *Procédure de test* appropriée afin d'éviter cette situation.

Recommandations concernant les tests

- T. La performance des échantillons collectés à l'aide d'un écouvillon vaginal n'a pas été évaluée chez les femmes enceintes.
- U. La performance des échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux masculins sur écouvillon, des échantillons d'urine masculins et féminins, et des échantillons de frottis en solution PreservCyt n'a pas été évaluée chez des 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 lots. Il est possible d'utiliser les contrôles et les solutions provenant de kits Aptima portant différents numéros de lots.

Recommandations spécifiques aux DTS Systems

- X. Des pointes de pipette munies de filtres hydrophobes doivent être utilisées. Au moins deux pipeteurs à répétition doivent être dédiés à une utilisation pour ce test : un premier pour les étapes de capture de cible et d'amplification, et un deuxième pour les étapes HPA. Deux micro-pipeteurs doivent être dédiés 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 avec les DTS Systems, Remarques concernant la procédure*.
- Y. Si vous utilisez des pipeteurs à répétition pour ajouter des réactifs, ne touchez pas 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, consultez les *Procédure de test avec les DTS Systems, Remarques concernant la procédure*.
- AA. Réservez des bains-marie distincts aux étapes de capture de cible, d'amplification et HPA lors du test.
- AB. La reproductibilité du test a été établie en utilisant un milieu de transport de l'écouvillon enrichi 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 protections 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 réactionnels.

Conditions de conservation et de manipulation des réactifs

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.

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

- K. Lorsqu'ils parviennent à température ambiante, certains tubes de contrôle peuvent être troubles ou contenir des précipités. La turbidité ou la précipitation associée à ces contrôles n'en affecte pas la performance. Les contrôles peuvent être utilisés en étant 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 CT Aptima est conçu pour détecter la présence de CT dans les échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux mâles sur écouvillon collectés par un clinicien, les échantillons vaginaux sur écouvillon collectés par la patiente, les échantillons d'urine féminins et masculins, et les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. La performance avec des échantillons autres que ceux collectés avec les kits de collecte d'échantillons suivants n'a pas été évaluée :

- Kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon
- Kit de collecte d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins
- Kit de collecte d'échantillons - écouvillon vaginal Aptima
- Kit de collecte d'échantillons sur écouvillons multitestés Aptima
- Kit de transfert d'échantillons Aptima (à utiliser avec les échantillons gynécologiques collectés dans la solution PreservCyt)

A. Instructions de collecte :

Référez-vous à la notice du test correspondant au kit de collecte d'échantillons utilisé pour toute instruction.

B. Transport et conservation des échantillons avant le test :

1. Échantillons sur écouvillon :

- a. Une fois collecté, transportez et conservez l'écouvillon dans le tube de transport d'échantillons sur écouvillon entre 2 °C et 30 °C jusqu'à la réalisation du test. Les échantillons doivent être testés avec le test CT Aptima dans les 60 jours qui suivent leur collecte. Si une durée de conservation supérieure est nécessaire, congelez 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. Transférez l'échantillon d'urine dans le tube de transport pour échantillons d'urine dans les 24 heures qui suivent sa collecte. Conservez-les entre 2 °C et 30 °C et testez dans les 30 jours qui suivent la collecte.
- b. Une fois collectés, transportez les échantillons d'urine traités dans le tube de transport pour échantillons d'urine Aptima entre 2 °C et 30 °C et conservez le tube entre 2 °C et 30 °C jusqu'à la réalisation du test. Les échantillons d'urine traités doivent être testés avec le test CT Aptima dans les 30 jours qui suivent leur collecte. Si une durée de conservation supérieure est nécessaire, congelez

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 solution PreservCyt destinés aux tests CT doivent être traités, 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 (reportez-vous à la section *Études de la stabilité des échantillons*).
 - b. Si la procédure de retrait d'aliquot ThinPrep est utilisée, reportez-vous à l'annexe du *Manuel de l'opérateur du processeur ThinPrep 2000 ou ThinPrep 3000* pour des instructions relatives au retrait d'aliquots. Transférez 1 mL de l'aliquot retiré dans un tube de transfert d'échantillon Aptima conformément aux instructions de la notice du kit de transfert d'échantillons Aptima.
 - c. Si l'échantillon est testé après analyse sur le processeur ThinPrep 2000, traitez l'échantillon de frottis en solution PreservCyt conformément au *Manuel de l'opérateur du processeur ThinPrep 2000* et à la notice du kit de transfert d'échantillons Aptima. Transférez 1 mL du liquide restant dans le flacon de solution PreservCyt dans un tube de transfert d'échantillon Aptima conformément à la notice 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 CT 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, congelez-le 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 avec une nouvelle barrière de film plastique ou d'aluminium propre.
3. Si certains des échantillons testés doivent être congelés ou envoyés, retirez les bouchons pénétrables et placez de nouveaux bouchons non pénétrables sur les tubes de transport d'échantillons. Si les échantillons doivent être envoyés 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 la totalité du liquide au fond du tube. **Évitez les projections et les contaminations croisées.**

Remarque : Le transport des échantillons doit s'effectuer conformément aux réglementations nationales et internationales applicables relatives au transport.

DTS Systems

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

Réactifs et matériel fourni

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.

Test Aptima pour Chlamydia trachomatis, 100 tests (2 boîtes) (référence 301088)

Boîte réfrigérée pour test Aptima pour Chlamydia trachomatis (Boîte 1 sur 2)
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
A	Réactif d'amplification CT 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 polymérase RNA déshydratées dans une solution tamponnée HEPES contenant < 10 % de diluant.</i>	1 flacon
P	Réactif-sonde CT Aptima <i>Sondes DNA chimiluminescentes 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
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 le rRNA estimé équivalent à 1 IFU (unité de formation des inclusions) de CT (5 fg/test*).</i>	3 x 1,7 mL
PGC/NCT	Contrôle positif GC / contrôle négatif CT Aptima <i>Acide nucléique GC non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient le rRNA estimé équivalent à 50 cellules de GC (250 fg/test*).</i>	3 x 1,7 mL

*Les équivalents rRNA ont été calculés 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 CT Aptima <i>Solution aqueuse contenant des conservateurs.</i>	1 x 9,3 mL
ER	Solution de reconstitution enzymatique Aptima <i>Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1 x 3,3 mL
PR	Solution de reconstitution de sonde CT Aptima <i>Solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 x 12,4 mL
S	Réactif de sélection Aptima <i>600 mM de solution tamponnée de borate contenant un surfactant.</i>	1 x 31 mL
	Collets de reconstitution	3
	Cartes de protection	1 paquet

Boîte non réfrigérée pour test Aptima pour Chlamydia trachomatis (Boîte 2 sur 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès réception)

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

Matériel requis mais disponible séparément

Remarque : Le matériel disponible auprès de Hologic est indiqué par des références catalogue, sauf indication contraire.

	<u>Référence</u>
Leader HC+ luminomètre	104747-01
Système de capture de cible Hologic (Target Capture System, TCS)	104555
Incubateurs et vortexeurs :	
2 vortexeurs multi-tubes	102160
3 bain-maries circulateurs (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 (SB100 Dry heat baths/vortexers)	105524
Des bains SB100 supplémentaires peuvent être nécessaires si le volume de tests augmente	
Aptima Auto Detect Kit	301048
2 pipeteurs à répétition Eppendorf (Repeater Plus pipettors)	105725
2 pipeteurs, 1000 µL RAININ PR1000	901715
pipetteur Eppendorf 20 µL à 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 disponible uniquement chez Hologic</i>	
Embouts de pipette de 20 µL à 200 µL	705512 (Fisher)
Unités de dix tubes (Ten Tube Units, TTU)	TU0022
Cassettes de dix embouts (Ten Tip Cassettes, TTC)	104578
Kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles 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 collecte d'échantillons sur écouvillons multitests Aptima	PRD-03546
Kit de transfert d'échantillons Aptima	301154C
Solution étalon SysCheck	301078
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	—

	<u>Référence</u>
Récepteur plastique à large couvercle	—
Bouchons pénétrables Aptima	105668
Bouchons de rechange non pénétrables	103036A

Matériel optionnel

	<u>Référence</u>
Kit de contrôles Aptima	301110
Solutions Aptima	302002C
<i>Solution de lavage Aptima, tampon Aptima pour solution de désactivation et réactif huileux Aptima</i>	
Activateur de javel Hologic	302101
<i>pour le nettoyage courant des surfaces et des appareils</i>	
Panel d'essai STD	102325
Embouts, 1000 µl, conductibles, détecteurs de liquide	10612513 (Tecan)
Freedom EVO 100/4 comprenant	900932
<i>Platine Aptima Combo 2 pour DTS 800 Systems Platine</i> 105200	
<i>Réservoir à réactif (quart de module de 40 mL)</i> 104765	
<i>Réservoir à réactif divisé en deux (quart de module de 19 mL x 2)</i> 104763	

Procédure de test avec les DTS Systems

A. Préparation du matériel

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

B. Reconstitution des réactifs

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

1. Afin de reconstituer le réactif d'amplification CT, le réactif enzymatique et le réactif-sonde CT, mélangez la solution de reconstitution aux flacons de réactif lyophilisé.
Si les solutions de reconstitution sont réfrigérées, laissez leur température s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser.
 - a. Mettez la solution de reconstitution appropriée avec le réactif lyophilisé. Les étiquettes ont différents codes couleur afin de pouvoir être correctement associées.
 - b. Ouvrez le flacon de réactif lyophilisé et insérez fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon (Figure 1, Étape 1).
 - c. Ouvrez la bouteille de solution de reconstitution correspondante et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - d. Tout en tenant la bouteille de solution de reconstitution au-dessus de la paillasse, insérez fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture de la bouteille (Figure 1, Étape 2).
 - e. Retournez délicatement l'assemblage bouteille/flacon. Laissez la solution s'écouler depuis la bouteille dans le flacon (Figure 1, Étape 3).
 - f. Faites tourner délicatement la solution dans le flacon pour la mélanger. Veillez à éviter de faire de la mousse dans le flacon pendant cette manipulation (Figure 1, Étape 4).
 - g. Attendez que le réactif lyophilisé se dissolve, puis retournez à nouveau l'assemblage bouteille/flacon en l'inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (Figure 1, Étape 5). Laissez la totalité du liquide retourner dans la bouteille.
 - h. Retirez le collet de reconstitution de la bouteille (Figure 1, Étape 6).
 - i. Rebouchez la bouteille. Inscrivez les initiales de l'opérateur ainsi que la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 1, Étape 7).
 - j. Jetez le collet de reconstitution et le flacon (Figure 1, Étape 8).

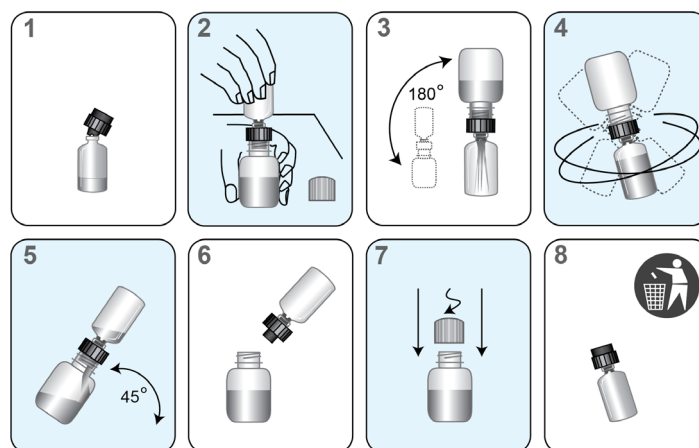


Figure 1. Procédure de reconstitution pour les DTS Systems

2. Les réactifs de sonde CT, d'amplification CT et enzymatiques 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, chauffez-le à 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cela, le réactif-sonde peut être utilisé même s'il reste des précipités résiduels. Mélangez 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 travail du réactif de capture de cible (Working Target Capture Reagent, wTCR)
 - a. Transférez 20 mL de TCR CT dans un récipient propre et sec de la taille appropriée et réservé à cet effet.
 - b. À l'aide d'un micro-pipeteur, ajoutez 200 µL de TCR-B dans le TCR CT.
 - c. Tournez délicatement la solution pour bien la mélanger.
 - d. Mettez une étiquette sur ce récipient. Notez les initiales de l'opérateur, la date de préparation et les deux numéros de lot.

Remarque : Pour un petit nombre de réactions (échantillons et contrôles), utilisez la formule suivante pour calculer les volumes de TCR CT 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. Consultez *Avertissements et précautions* pour de plus amples informations.

Préparation du portoir

1. Laissez les contrôles ainsi que les échantillons parvenir à température ambiante avant toute procédure.
2. **Ne pas vortexer les échantillons.**
3. Confirmez visuellement que chaque tube à échantillon répond à un des critères suivants :
 - a. La présence d'un seul écouvillon de collecte Aptima bleu dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon unisexe.
 - b. La présence d'un seul écouvillon rose Aptima dans un tube de transport d'écouvillon multitest ou dans un tube de transport d'écouvillon vaginal.
 - c. Un volume final d'urine situé entre les lignes de remplissage noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine.
 - d. L'absence d'un écouvillon dans le tube de transport d'échantillons Aptima (specimen transport tube) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt.
4. Vérifiez 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, centrifugez 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 lorsque les instructions de collecte ont été respectées, centrifugez 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 jusqu'à 5 minutes maximum. Si le précipité ne se dissout pas, vérifiez visuellement qu'il n'interfère pas avec l'obtention de l'échantillon.

Remarque : Le non-respect des étapes 4a à 4c 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 la totalité du liquide s'écoule au fond du tube avant de le déboucher. **Évitez les projections et les contaminations croisées.**
6. Placez un nombre suffisant d'unités de dix tubes (Ten Tube Unit, TTU) pour les contrôles et échantillons dans le portoir pour unités de dix tubes (TTU).
7. Si vous désirez établir une liste de travail, faites-le à ce moment-là. Pour créer une liste de travail, référez-vous au *Manuel de l'opérateur du logiciel de test Aptima (Aptima Assay Software Operator's Manual)*.
8. Mélanger à fond la solution de wTCR CT. À l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 100 µL dans chaque tube réactionnel.
9. **Le premier tube réactionnel doit contenir le contrôle négatif, et le second le contrôle positif.**
 - a. L'étiquette du contrôle négatif du test CT Aptima est bleu-vert. Le texte de l'étiquette désigne le contrôle négatif comme suit : « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT ». L'étiquette du contrôle positif du test CT Aptima est rose. Le texte de l'étiquette désigne le contrôle positif comme suit : « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC ».
 - b. Tenez le tube de contrôle négatif (tube avec étiquette bleu-vert) d'une main ou laissez-le dans un portoir. À l'aide d'un micro-pipeteur, percez le bouchon en veillant à ne pas enfoncer l'embout au fond du tube. Ajoutez 400 µL de contrôle négatif (tube avec étiquette bleu-vert) au premier tube réactionnel. En procédant de la même manière et à l'aide d'un nouvel embout de pipette, ajoutez 400 µL de contrôle positif (tube avec étiquette rose) au second tube réactionnel.
10. Continuez la préparation du portoir en ajoutant 400 µL de chaque échantillon dans les tubes réactionnels restants. Utilisez un nouvel embout de pipette pour chaque échantillon et contrôle. Le volume d'échantillon ou de contrôle pouvant être ajouté à un tube réactionnel est de 400 µL ± 100 µL. Pour de plus amples détails, consultez *Pipetage des contrôles et échantillons* sous *Remarques concernant la procédure*.

Capture de cible

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

11. Couvrez les TTU avec des cartes de protection et agitez délicatement le portoir manuellement. **Ne pas vortexer.** Faites incubez le portoir à 62 °C ± 1 °C dans un bain-marie pendant 30 ± 5 minutes.
12. Retirez le portoir du bain-marie et séchez le fond des tubes sur un matériau absorbant.
13. Vérifiez que les cartes de protection sont fermement positionnées. Au besoin, remplacez-les par de nouvelles cartes de protection et fermez hermétiquement les TTU.

14. Vortexez le portoir pendant 60 secondes sur le vortexeur (mélangeur à tourbillon multi-tubes). Pour de plus amples détails, consultez *Agitation au vortex* sous *Remarques concernant la procédure*. Le portoir doit être vortexé dans les 2 minutes qui suivent son retrait du bain-marie.
15. Sans retirer les cartes de protection, incubez le portoir à température ambiante pendant 30 ± 5 minutes.
16. Placez le portoir sur la base magnétique TCS pendant 5 à 10 minutes.
17. Amorcez la conduite de la pompe du poste de distribution en pompant la solution de lavage Aptima dans la rampe de distribution. Pompez une quantité suffisante de liquide dans le système afin qu'il ne reste aucune bulle d'air dans les tubulures et que les dix têtes dispensent un flux régulier de liquide.
18. Mettez la pompe à vide en marche et débranchez la rampe d'aspiration du premier connecteur situé entre la rampe d'aspiration et le flacon piège. Vérifiez que la jauge de dépression soit conforme à la spécification du test pour les fuites.² L'obtention de ce chiffre peut prendre 15 secondes. Rebranchez la rampe d'aspiration et vérifiez que la jauge de dépression soit conforme à la spécification du niveau de dépression. N'éteignez pas 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. Fixez fermement la rampe d'aspiration au premier jeu d'embouts. Aspirez la totalité du liquide en abaissant les embouts dans la première unité 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, éjectez les embouts dans leur TTC d'origine. Recommencez les étapes d'aspiration pour les unités TTU restantes en utilisant un embout par échantillon.
21. Placez la rampe de distribution sur chaque TTU et, à l'aide de la pompe du poste de distribution, versez 1,0 mL de solution de lavage Aptima dans chacun des tubes de l'unité TTU.
22. Couvrez les tubes avec une carte de protection et retirez le portoir de la base magnétique TCS. Vortexez le portoir une fois sur le vortexeur (mélangeur à tourbillon multi-tubes). Pour de plus amples détails, consultez *Agitation au vortex* sous *Remarques concernant la procédure*.
23. Placez le portoir sur la base magnétique TCS pendant 5 à 10 minutes.
24. Aspirez tout le liquide comme dans les Étapes 19 et 20.
25. Après l'aspiration finale, retirez le portoir de la base magnétique du TCS et inspectez visuellement les tubes pour vérifier que le liquide a été totalement aspiré et que tous les tubes contiennent des billes de particules magnétiques. S'il reste visiblement du liquide, remettez le portoir sur la base magnétique TCS pendant 2 minutes et refaites l'aspiration pour cette unité TTU en prenant les mêmes embouts que ceux utilisés précédemment avec chaque échantillon.

Remarque : Si une bille de particule magnétique est visible une fois l'aspiration terminée, le tube peut être accepté. Si aucune bille n'est visible, l'échantillon doit être testé à nouveau. Si le même échantillon ne contient pas de bille de particule magnétique dans cette étape et lors d'une série ultérieure, ceci peut indiquer un problème lié à l'échantillon. Il est alors recommandé d'effectuer une nouvelle collecte de l'échantillon.

² Consultez la Fiche des spécifications de dépression du système de capture de cible située au verso du *Manuel de l'opérateur du système de capture de cible (Target Capture System Operator's Manual)* ou contactez le Service technique.

D. Amplification

Si vous utilisez le bain à chaleur sèche/vortexeur SB100 (SB100 Dry Heat Bath/Vortexer), référez-vous à la *fiche d'application du SB100*.

1. A l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 75 µL du réactif d'amplification CT reconstitué dans chaque tube réactionnel. Tous les mélanges réactionnels du portoir doivent maintenant être rouges.
2. A l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 200 µL de réactif huileux dans chaque tube réactionnel.
3. Couvrez les tubes avec une carte de protection et vortexez-les sur le vortexeur (mélangeur à tourbillon multi-tubes).
4. Faites incuber le portoir dans un bain-marie à 62 °C ± 1 °C for 10 ± 5 minutes.
5. Transférez le portoir dans un bain-marie à 42 °C ± 1 °C et incubez pendant 5 ± 2 minutes.
6. Une fois le portoir dans le bain-marie, retirez soigneusement la carte de protection et, à l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 25 µL du réactif enzymatique reconstitué dans chaque tube réactionnel. Tous les mélanges réactionnels doivent maintenant avoir une teinte orange.
7. Couvrez immédiatement les tubes avec une nouvelle carte de protection, retirez le portoir du bain-marie et mélangez les tubes réactionnels en agitant délicatement le portoir manuellement.
8. Faites incuber le portoir dans un bain-marie à 42 °C ± 1 °C pendant 60 ± 15 minutes.

E. Test de protection contre l'hybridation (HPA)

Si vous utilisez le bain à chaleur sèche/vortexeur SB100 (SB100 Dry Heat Bath/Vortexer), référez-vous à 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. Retirez le portoir du bain-marie et transférez-le dans la zone de test HPA. A l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 100 µL du réactif-sonde CT reconstitué dans chaque tube réactionnel. Tous les mélanges réactionnels doivent maintenant avoir une teinte jaune.
 - b. Couvrez les tubes avec une carte de protection et vortexez-les sur le vortexeur (mélangeur à tourbillon multi-tubes).
 - c. Faites incuber le portoir dans un bain-marie à 62 °C ± 1 °C pendant 20 ± 5 minutes.
 - d. Retirez le portoir du bain-marie et laissez incuber à température ambiante pendant 5 ± 1 minutes.
2. Sélection
 - a. A l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 250 µL de réactif de sélection dans chaque tube réactionnel. Tous les mélanges réactionnels doivent maintenant avoir une teinte rouge.
 - b. Couvrez les tubes avec une carte de protection, vortexez pendant 10 secondes ou jusqu'à l'obtention d'une teinte uniforme, et incubez le portoir dans un bain-marie à 62 °C ± 1 °C pendant 10 ± 1 minutes.
 - c. Retirez le portoir du bain-marie.

3. Détection

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

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

Remarque : Cette plage de température est indispensable pour la performance du test.

- b. Pour utiliser le Leader HC+ Luminometer et le logiciel de test Aptima, référez-vous au *Manuel de l'opérateur du luminomètre Leader HC+ (Leader HC+ Luminometer Operator's Manual)* ainsi qu'au *Manuel de l'opérateur du logiciel de test Aptima (Aptima Assay Software Operator's Manual)*.
- c. Vérifiez que les volumes d'Auto Detect 1 et 2 sont suffisants pour effectuer les tests.
- d. Préparez le Leader HC+ Luminometer en plaçant une unité TTU vide dans la position de cassette numéro 1 et effectuez le protocole de **Wash** (lavage).
- e. Chargez les unités TTU dans le luminomètre.
- f. Connectez-vous à l'ordinateur. Cliquez sur **New Run** (nouvelle série), choisissez **Aptima CT Assay Protocol** (protocole de test CT Aptima) et entrez le nombre de tubes (contrôles et échantillons). Cliquez 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. Préparez 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 équipé d'un grand couvercle. Mettez une étiquette et inscrivez la date de péremption sur le récipient en plastique. La solution de désactivation reste stable pendant 4 semaines à température ambiante. Jetez 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 unités TTU utilisées du luminomètre, placez-les dans le récipient de solution de désactivation. Laissez les unités 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. Contrôles

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

B. Pipetage des contrôles et échantillons

Le volume de contrôle ou d'échantillon ajouté au tube réactionnel doit être de 400 µL ± 100 µL. Il est recommandé d'inspecter visuellement le volume pipeté dans le tube réactionnel pour veiller à ce que le volume transféré soit adéquat. Le volume de contrôle

ou d'échantillon doit être adéquat pour obtenir des résultats précis. Si un volume suffisant n'a pas été pipeté, pipetez à nouveau le wTCR CT ainsi que le contrôle ou l'échantillon dans un nouveau tube réactionnel.

C. Réactifs

La solution de reconstitution de sonde peut se précipiter pendant la conservation. Si tel est le cas, chauffez 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 des précipités de résidus. Une fois la remise en suspension obtenue, mélangez le flacon délicatement 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. Respectez les durées indiquées dans la *Procédure de test avec les DTS Systems*.

F. Agitation au vortex

Une agitation au vortex adéquate est importante pour assurer la bonne performance du test CT Aptima. Si l'agitation au vortex est effectuée de manière adéquate, la suspension tourne de manière circulaire 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, réglez la vitesse du vortexeur (mélangeur à tourbillon multi-tubes) sur le réglage le plus bas, fixez solidement le portoir en place et mettez en marche. Augmentez lentement la vitesse jusqu'à ce que le liquide atteigne la moitié supérieure du tube. Vortexez pendant 10 secondes, la durée recommandée, ou jusqu'à l'obtention d'une teinte uniforme. Ensuite, tournez la vitesse sur le réglage le plus bas avant d'éteindre le vortexeur (mélangeur à tourbillon 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 à 5 cm (1,5 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 et les pipeteurs du laboratoire doivent être décontaminés régulièrement avec une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincez 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. Rincez soigneusement le matériel passé à l'eau de javel pour éviter toute piqûre de corrosion.

2. Rampe d'aspiration TCS

- a. Placez une nouvelle TTC dans le portoir TTC. Mettez la pompe à vide en marche. Fixez la rampe d'aspiration aux embouts de la TTC. Aspirez entièrement la solution de lavage restant dans la cuve d'amorçage du poste de distribution de solution de lavage. (Placez la rampe de distribution de façon à ce qu'elle ne gêne pas.)
- b. Versez 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. Aspirez la totalité de la solution au moyen de la rampe d'aspiration.
- c. Versez au moins 100 mL d'eau désionisée dans la cuve d'amorçage. Aspirez la totalité de l'eau au moyen de la rampe d'aspiration.
- d. Ejectez les embouts dans leur TTC d'origine.
- e. Laissez fonctionner la pompe d'aspiration jusqu'à ce que la tubulure de la rampe soit sèche pour éviter tout refoulement.
- f. Décontaminez les surfaces de la rampe d'aspiration comme expliqué sous *Unité TCS*.

3. Récipient à déchets TCS

Retirez 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. Éteignez la pompe à vide et laissez sa pression s'équilibrer.
- b. Débranchez 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. Retirez le flacon à déchets du boîtier de piège à vide.
- d. Retirez le bouchon et ajoutez 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 litre si vous utilisez un flacon à déchets de 10 L).

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

- e. Rebouchez le flacon à déchets et tournez délicatement le contenu jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène.
- f. Laissez le flacon à déchets reposer pendant 15 minutes, puis jetez le contenu (déchets).
- g. Rincez le flacon à déchets à l'eau pour éliminer tout résidu éventuel.
- h. Rebouchez le flacon vide et mettez-le dans le boîtier du piège à vide. Fixez le raccord à déconnexion rapide sur l'unité TCS. Jetez avec précaution les deux gants.

4. Unité TCS

Essayez les surfaces de l'unité 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). Faites suivre l'étape de javellisation par un rinçage à l'eau, puis séchez complètement les surfaces avec des serviettes en papier.

5. Portoirs

Faites 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. Maintenez les portoirs immergés pendant 10 minutes. Toute exposition plus longue endommagerait les portoirs. Rincez soigneusement les portoirs à l'eau et placez-les sur un tampon absorbant propre avant de les laisser sécher parfaitement à l'air libre. Pour prolonger la durée de vie des portoirs, faites-les 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 comme indiqué dans le paragraphe *Détection*. Ne pas réutiliser les unités TTU.
3. Effectuez une décontamination régulière du matériel et des surfaces de travail comme expliqué ci-dessus dans le paragraphe *Décontamination* sous *Remarques concernant la procédure*.
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 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 et urétraux mâles sur écouvillon :

1. Marquez les tubes de transport des écouvillons avec les numéros correspondants aux zones à tester.
2. Retirez l'écouvillon de collecte d'échantillon (écouvillon à tige bleue avec imprimé vert) de son emballage, humidifiez l'écouvillon dans le milieu du tube de transport de l'écouvillon et écouvillonnez la zone désignée d'un geste circulaire.
3. Introduisez immédiatement l'écouvillon dans un tube de transport.
4. Cassez délicatement la tige de l'écouvillon sur la ligne de score en évitant toute projection du contenu.
5. Rebouchez hermétiquement le tube de transport de l'écouvillon.
6. Répétez les étapes 2 à 5 pour toutes les zones à écouvillonner.
7. Analysez l'écouvillon à l'aide du test CT Aptima selon la *Procédure de test avec les DTS Systems*.

Si les résultats sont positifs ou équivoques pour CT (consultez *Interprétation du test — QC/Résultats patients*), il est possible que la surface soit contaminée et doit alors être décontaminée à la javel selon les recommandations indiquées à la section *Préparation du matériel* sous *Procédure de test avec les DTS Systems*.

Remarque : Si l'on soupçonne le bain-marie d'être contaminé, il est possible de le tester en suivant 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 contrôle 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 positif Aptima pour GC, qui porte l'étiquette « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT », est positif ou équivoque pour CT, consultez *Contamination des tests* au chapitre *Remarques concernant la procédure* pour de plus amples informations.

Tigris DTS System

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

Réactifs et matériels 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.

Test Aptima pour Chlamydia trachomatis

100 tests (2 boîtes et 1 kit de contrôles) (référence 303091)

Boîte réfrigérée pour test Aptima pour Chlamydia trachomatis (Boîte 1 sur 2)
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité Kit de 100 tests
A	Réactif d'amplification CT 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 polymérase RNA déshydratées dans une solution tamponnée HEPES contenant < 10 % de diluant.</i>	1 flacon
P	Réactif-sonde CT Aptima <i>Sondes DNA chimiluminescentes 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

Boîte non réfrigérée pour test Aptima pour Chlamydia trachomatis (Boîte 2 sur 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 CT Aptima <i>Solution aqueuse contenant des conservateurs.</i>	1 x 11,9 mL
ER	Solution de reconstitution enzymatique Aptima <i>Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1 x 6,3 mL
PR	Solution de reconstitution de sonde CT Aptima <i>Solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 x 15,2 mL

Boîte non réfrigérée pour test Aptima pour Chlamydia trachomatis (Boîte 2 sur 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité Kit de 100 tests
S	Réactif de sélection Aptima <i>600 mM de solution tamponnée de borate contenant un surfactant.</i>	1 x 43,0 mL
TCR	Réactif de capture de cible CT Aptima <i>Solution saline tamponnée contenant une phase solide et des oligomères de capture.</i>	1 x 26,0 mL
	Collets de reconstitution	3
	Fiche de code-barres du lot de référence	1 fiche

Kit de contrôles Aptima
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès la réception)

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

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

Matériel requis mais disponible séparément

Remarque : Le matériel disponible auprès de Hologic est indiqué par des références catalogue, sauf indication contraire.

	<u>Référence</u>
Tigris DTS System	105118
Kit de solutions pour test Aptima (Aptima Assay Fluids Kit) <i>(solution de lavage Aptima, tampon Aptima pour solution de désactivation et réactif huileux Aptima)</i>	302382
Aptima Auto Detect Kit	301048
Kit de conservateur de liquide système Aptima	302380
Embouts, 1000 µL, conducteurs, détecteurs de liquide	10612513 (Tecan)
Kit pour séries Tigris DTS System comprenant	301191
<i>Unités multi-tube (Multi-tube units, MTU)</i>	<i>104772-02</i>
<i>Kit de sacs pour MTU/embouts usagés</i>	<i>900907</i>
<i>Défecteurs de déchets pour MTU</i>	<i>900931</i>
<i>Couvre-déchets pour MTU</i>	<i>105523</i>
Kit de transfert d'échantillons Aptima <i>à utiliser avec des échantillons dans la solution PreservCyt</i>	301154C
Kit de collecte d'échantillons - écouvillon vaginal Aptima	301162
Kit de collecte d'échantillons sur écouvillons multitestés Aptima	PRD-03546
Kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles 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
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>consultez le Tigris DTS System Operator's Manual (Manuel de l'opérateur du système Tigris DTS) pour les caractéristiques techniques</i>	—
Gants jetables	—
Solution étalon SysCheck	301078
Bouchons pénétrables Aptima	105668
Bouchons de rechange non pénétrables	103036A
Bouchons de rechange pour les kits de 100 tests	—
<i>Solutions de reconstitution des réactifs d'amplification, enzymatiques et de sonde</i>	<i>CL0041 (100 bouchons)</i>
<i>Réactif TCR et réactif de sélection</i>	<i>501604 (100 bouchons)</i>

Matériel optionnel

	<u>Référence</u>
Kit de contrôles Aptima	301110
Activateur de javel Hologic <i>pour le nettoyage courant des surfaces et des appareils</i>	302101

Procédure de test pour le Tigris DTS System

Remarque : Consultez le *Tigris DTS System Operator's Manual (Manuel de l'opérateur du Tigris DTS System)* pour de plus amples informations sur la procédure avec ce système.

A. Préparation de la zone de travail

1. Nettoyez les surfaces de travail où les réactifs et les échantillons doivent être préparés. Nettoyez les surfaces de travail avec une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincez à l'eau. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrez la surface de la paillasse sur laquelle les réactifs et les échantillons seront préparés avec des protections de paillasse 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 CT, le réactif enzymatique et le réactif sonde CT, 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. Faites correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé. Vérifiez 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. Vérifiez les numéros de lot sur la fiche de code-barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs sont associés correctement.
 - c. Ouvrez le réactif lyophilisé et insérez fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon (Figure 2, Étape 1).
 - d. Ouvrez la bouteille de solution de reconstitution correspondante et posez 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, insérez fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture de la bouteille (Figure 2, Étape 2).
 - f. Retourner lentement les flacons assemblés. Laissez la solution s'écouler depuis le flacon en plastique dans le flacon en verre (Figure 2, Étape 3).
 - g. Faites tourner délicatement la solution dans le flacon pour la mélanger. Évitez de faire de la mousse dans le flacon pendant cette manipulation (Figure 2, Étape 4).
 - h. Attendez que le réactif lyophilisé se dissolve, puis retourner à nouveau les flacons assemblés en les inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (Figure 2, Étape 5). Laissez la totalité du liquide retourner dans le flacon en plastique.

- i. Retirez le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 2, Étape 6).
- j. Reboucher le flacon.
 - Pour les flacons de 100 tests, inscrire les initiales de l'opérateur et la date de reconstitution directement sur l'étiquette (voir Figure 3).
- k. Jetez le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 2, Étape 8).

Avertissement : Évitez de faire de la mousse en reconstituant les réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du Tigris DTS System.

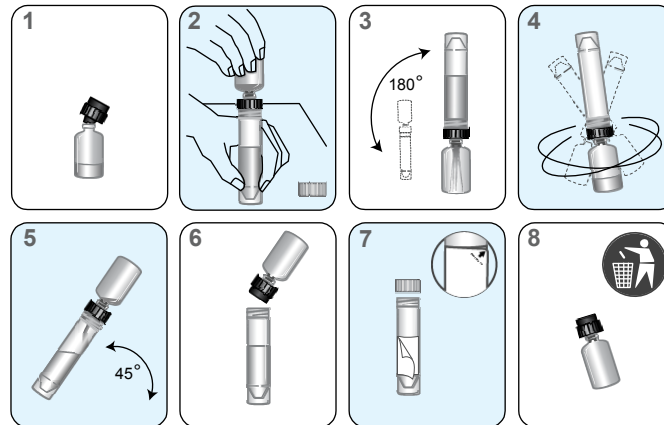


Figure 2. Procédure de reconstitution pour le Tigris DTS System

2. Préparez la solution de travail TCR CT (wTCR CT) pour le kit de 100 tests.
 - a. Associez les flacons de TCR CT et de TCR-B appropriés.
 - b. Vérifiez les numéros de lot des réactifs sur la fiche de code-barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés du kit se correspondent.
 - c. Ouvrez le flacon de TCR CT et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - d. Ouvrez le flacon de TCR-B et versez la totalité du contenu dans le flacon de TCR CT. Il est normal qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de TCR-B.
 - e. Rebouchez le flacon de TCR CT et agitez délicatement la solution pour mélanger le contenu. Évitez de créer de la mousse pendant cette étape.
 - f. Inscrivez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.
 - g. Jetez le flacon de TCR-B et son bouchon.
3. Préparation du réactif de sélection
 - a. Vérifiez que le numéro de lot sur le flacon de réactif correspond à celui sur la fiche de code-barres du lot de référence.
 - b. Notez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.

Remarque : Mélanger à fond tous les réactifs par retournement en douceur avant de les charger sur le système. Veillez à éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.

C. Préparation des réactifs (pour les réactifs précédemment reconstitués)

1. Les réactifs-sonde CT, d'amplification CT et enzymatiques précédemment reconstitués doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant d'entreprendre le test.

2. Si le réactif-sonde CT reconstitué contient un précipité qui ne se remet pas en solution à température ambiante, chauffez le flacon bouché à une température n'excédant pas 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cela, le réactif-sonde CT peut être utilisé même s'il reste des précipités résiduels. Mélangez le réactif-sonde CT par retournement en veillant à ne pas former de mousse avant de le charger sur le système.
3. Mélangez à fond chaque réactif par retournement en douceur avant de le charger sur le système. Veillez à éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.
4. Ne pas remplir à nouveau les flacons de réactif. Le Tigris DTS System reconnaît et rejette les flacons qui ont été remplis à nouveau.

D. Manipulation des échantillons

1. Laissez les contrôles ainsi que les échantillons parvenir à température ambiante avant toute procédure.
2. **Ne pas vortexer les échantillons.**
3. Confirmez visuellement que chaque tube à échantillon répond à un des critères suivants :
 - a. La présence d'un seul écouvillon de collecte Aptima bleu dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon unisexe.
 - b. La présence d'un seul écouvillon rose Aptima dans un tube de transport d'écouvillon multitest ou dans un tube de transport d'écouvillon vaginal.
 - c. Un volume final d'urine situé entre les lignes de remplissage noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine.
 - d. L'absence d'un écouvillon dans le tube de transport d'échantillons Aptima (specimen transport tube) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt.
4. Inspectez 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, centrifugez 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 lorsque les instructions de collecte ont été respectées, centrifugez le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour vous 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 des précipités, chauffez l'échantillon à 37 °C jusqu'à 5 minutes. Si le précipité ne se dissout pas, vérifiez visuellement qu'il n'interfère pas avec l'obtention de l'échantillon.

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

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

E. Préparation du système

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

Remarques concernant la procédure

A. Contrôles

1. Pour travailler correctement avec le logiciel de test Aptima pour le Tigris DTS System, des contrôles avant et de fin sont nécessaires. Le contrôle positif GC / contrôle négatif CT doit être placé dans la première position et l'avant dernière position d'une liste de travail. Le contrôle porte une étiquette bleu-vert. Le texte de l'étiquette indique « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT ». Le contrôle positif CT / contrôle négatif GC doit être placé dans la seconde position et la dernière position d'une liste de travail. L'étiquette de ce contrôle est rose. Le texte de l'étiquette indique « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC ».
2. Chaque tube de contrôle 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 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 et urétraux mâles sur écouvillon :

1. Marquez les tubes de transport des écouvillons avec les numéros correspondants aux zones à tester.
2. Retirez l'écouvillon de collecte d'échantillon (écouvillon à tige bleue avec imprimé vert) de son emballage, humidifiez l'écouvillon dans le milieu du tube de transport de l'écouvillon et écouvillonnez la zone désignée d'un geste circulaire.
3. Introduisez immédiatement l'écouvillon dans un tube de transport.
4. Cassez délicatement la tige de l'écouvillon sur la ligne de score en évitant toute projection du contenu.
5. Rebouchez hermétiquement le tube de transport de l'écouvillon.
6. Répétez les étapes 2 à 5 pour toutes les zones à écouvillonner.

Si les résultats sont positifs ou non probants pour CT, reportez-vous à la section *Interprétation du test — QC/Résultats patients*. Pour des informations supplémentaires sur le contrôle de la contamination spécifiques au Tigris DTS System, consultez le *Manuel de l'opérateur du Tigris DTS System*.

Panther System

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

Réactifs et matériels 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.

Test Aptima pour Chlamydia trachomatis, 100 tests (2 boîtes et 1 kit de contrôles)
(référence 302925)

Boîte réfrigérée pour test Aptima pour Chlamydia trachomatis (Boîte 1 sur 2)
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès la réception)

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

Boîte non réfrigérée pour test Aptima pour Chlamydia trachomatis (Boîte 2 sur 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

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

Boîte non réfrigérée pour test Aptima pour Chlamydia trachomatis (Boîte 2 sur 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

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

Kit de contrôles Aptima
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès la réception)

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

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

Matériel requis mais disponible séparément

Remarque : Le matériel disponible auprès de Hologic est indiqué par des références catalogue, sauf indication contraire.

	<u>Référence</u>
Panther System	303095
Kit de solutions pour test Aptima (Aptima Assay Fluids Kit) <i>(solution de lavage Aptima, tampon Aptima pour solution de désactivation et réactif huileux Aptima)</i>	303014 (1000 tests)
Aptima Auto Detect Kit	303013 (1000 tests)
Unités multi-tube (multi-tube units, MTU)	104772-02
Kit de sacs à déchets Panther	902731
Couvre-déchets Panther	504405
Ou Kit pour séries Panther <i>Contient les MTU, les sacs à déchets, les solutions et 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 des échantillons dans la solution PreservCyt</i>	301154C

	<u>Référence</u>
Kit de collecte d'échantillons - écouvillon vaginal Aptima	301162
Kit de collecte d'échantillons sur écouvillons multitests Aptima	PRD-03546
Kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles 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
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 de rechange non pénétrables	103036A
Bouchons de rechange pour les kits de 100 tests	—
<i>Solutions de reconstitution des réactifs d'amplification, enzymatiques et de sonde</i>	<i>CL0041 (100 bouchons)</i>
<i>Réactif TCR et réactif de sélection</i>	<i>501604 (100 bouchons)</i>

Matériel optionnel

	<u>Référence</u>
Kit de contrôles Aptima	301110
Activateur de javel Hologic <i>pour le nettoyage courant des surfaces et des appareils</i>	302101

Procédure de test pour le Panther System

Remarque : Consultez le *Panther System Operator's Manual (Manuel de l'opérateur du système Panther)* pour de plus amples informations sur la procédure du Panther System.

A. Préparation de la zone de travail

- Nettoyez les surfaces de travail où les réactifs et les échantillons doivent être préparés. Nettoyez les surfaces de travail avec une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincez à l'eau. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrez la surface de la paillasse sur laquelle les réactifs et les échantillons seront préparés avec des protections de paillasse 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.

- Afin de reconstituer les réactifs d'amplification CT, enzymatiques CT et de sonde CT, ajoutez la solution de reconstitution aux bouteilles de réactif lyophilisé. Si elles ont été

réfrigérées, laissez les solutions de reconstitution parvenir à température ambiante avant l'emploi.

- a. Faites correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé. Vérifiez que la solution de reconstitution et le réactif ont des étiquettes de couleur identiques avant de mettre en place le collet de reconstitution.
- b. Vérifiez les numéros de lot sur la fiche de code-barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs sont associés correctement.
- c. Ouvrez le réactif lyophilisé et insérez fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon (Figure 3, Étape 1).
- d. Ouvrez la solution de reconstitution correspondante et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
- e. Tout en tenant le flacon de solution sur la paillasse, insérez fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon (Figure 3, Étape 2).
- f. Retourner lentement les flacons assemblés. Laissez la solution s'écouler depuis la bouteille en plastique vers le flacon en verre (Figure 3, Étape 3).
- g. Faites tourner en douceur la solution dans le flacon pour la mélanger. Évitez de faire de la mousse en faisant tourner le flacon (Figure 3, Étape 4).
- h. Attendez que le réactif lyophilisé soit dissout, puis retournez à nouveau les flacons assemblés en les inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (Figure 3, Étape 5). Laissez la totalité du liquide retourner dans le flacon en plastique.
- i. Retirez le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 3, Étape 6).
- j. Rebouchez la bouteille en plastique. Notez les initiales de l'opérateur et la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 3, Étape 7).
- k. Jetez le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 3, Étape 8).

Avertissement : Évitez de faire de la mousse en reconstituant les réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du Panther System.

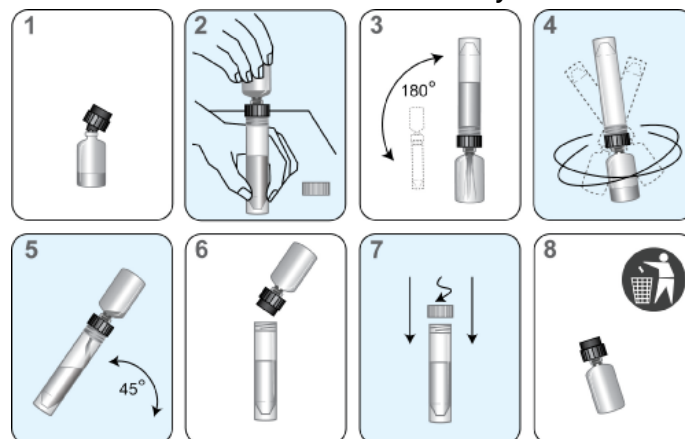


Figure 3. Procédure de reconstitution pour le Panther System

2. Préparez la solution de travail de réactif de capture de cible CT (working Target Capture Reagent, wTCR CT)
 - a. Associez les flacons de TCR CT et de TCR-B appropriés.
 - b. Vérifiez les numéros de lot des réactifs sur la fiche de code-barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés du kit se correspondent.

- c. Ouvrez le flacon de TCR CT et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - d. Ouvrez le flacon de TCR-B et versez la totalité du contenu dans le flacon de TCR CT. Il est normal qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de TCR-B.
 - e. Rebouchez le flacon de TCR CT et agitez délicatement la solution pour mélanger le contenu. Évitez de créer de la mousse pendant cette étape.
 - f. Notez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.
 - g. Jetez le flacon de TCR-B et son bouchon.
3. Préparation du réactif de sélection
 - a. Vérifiez que le numéro de lot sur le flacon de réactif correspond à celui sur la fiche de code-barres du lot de référence.
 - b. Notez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.

Remarque : *Mélangez à fond les réactifs en les retournant doucement avant de les charger dans le système. Évitez la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.*

C. Préparation des réactifs (pour les réactifs précédemment reconstitués)

1. Les réactifs-sonde, d'amplification et enzymatiques précédemment reconstitués doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant le début du test.
2. Si le réactif-sonde CT reconstitué contient un précipité qui ne se remet pas en solution à température ambiante, chauffez le flacon bouché à une température n'excédant pas 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cela, le réactif-sonde CT peut être utilisé même s'il reste des précipités résiduels. Mélangez le réactif-sonde CT par retournement en veillant à ne pas former de mousse avant de le charger sur le système.
3. Mélangez à fond chaque réactif par retournement en douceur avant de le charger sur le système. Veillez à éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.
4. Ne pas remplir à nouveau les flacons de réactif. Le Panther System reconnaît et rejette les flacons qui ont été remplis à nouveau.

D. Manipulation des échantillons

1. Laissez les contrôles ainsi que les échantillons parvenir à température ambiante avant toute procédure.
2. **Ne pas vortexer les échantillons.**
3. Confirmez visuellement que chaque tube à échantillon répond à un des critères suivants :
 - a. La présence d'un seul écouvillon de collecte Aptima bleu dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon unisexe.
 - b. La présence d'un seul écouvillon rose Aptima dans un tube de transport d'écouvillon multitest ou dans un tube de transport d'écouvillon vaginal.
 - c. Un volume final d'urine situé entre les lignes de remplissage noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine.
 - d. L'absence d'un écouvillon dans le tube de transport d'échantillons Aptima (specimen transport tube) 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, centrifugez 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 lorsque les instructions de collecte ont été respectées, centrifugez 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 jusqu'à 5 minutes maximum. Si le précipité ne se dissout pas, vérifiez visuellement qu'il n'interfère pas avec l'obtention de l'échantillon.

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

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

E. Préparation du système

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

Remarques concernant la procédure

A. Contrôles

1. Une paire de contrôles doit être utilisée pour permettre au logiciel de test Aptima de fonctionner correctement. Sur le Panther System, les tubes du Contrôle positif CT / Contrôle négatif GC et du Contrôle positif GC / Contrôle 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 contrôles est en cours de traitement par le système.
 - b. Des résultats validés ont été enregistrés sur le système pour les contrôles.
2. Dès que le pipetage des tubes des contrôles a été réalisé et que ces derniers sont en cours de traitement pour un kit de réactifs défini, l'analyse d'échantillons des patients peut se poursuivre pendant 24 heures avec ce même kit **sauf si** :
 - a. Les contrôles sont invalides.
 - b. Le kit de réactifs associé aux contrôles est enlevé du système.
 - c. La durée de stabilité du kit de réactifs associé aux contrôles a été dépassée.
3. Chaque tube de contrôle 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 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 et urétraux mâles sur écouvillon :

1. Marquez les tubes de transport des écouvillons avec les numéros correspondants aux zones à tester.
2. Retirez l'écouvillon de collecte d'échantillon (écouvillon à tige bleue avec imprimé vert) de son emballage, humidifiez l'écouvillon dans le milieu du tube de transport de l'écouvillon et écouvillonnez la zone désignée d'un geste circulaire.
3. Insérez immédiatement l'écouvillon dans le tube de transport.
4. Cassez délicatement la tige de l'écouvillon sur la ligne de score en évitant toute projection du contenu.
5. Rebouchez hermétiquement le tube de transport de l'écouvillon.
6. Répétez les étapes 2 à 5 pour toutes les zones à écouvillonner.

Si les résultats sont positifs ou non probants pour CT, reportez-vous à la section *Interprétation du test — QC/Résultats patients*. Pour des informations supplémentaires sur le contrôle de la contamination spécifiques au Panther System, contactez le Service technique de Hologic.

Interprétation du test — QC/Résultats patients

A. Interprétation des tests

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

Interprétation des tests	Total de RLU (x 1000)
Négatif	0* à < 50
Equivoque	50 à < 100
RLU faiblement positif ^{1,2,3}	100 à < 5000
Positif ^{1,2}	5000 à < 12 000
Non valide	0* ou > 12 000

* Un résultat RLU de zéro (0 x 1000) sur le rapport de la série correspond à une valeur comprise entre zéro et 999 RLU. Les valeurs RLU inférieures à 160 sur les DTS Systems ou à 690 sur le Tigris DTS System ou le Panther System seront signalées comme étant non valides.

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 GC se sont révélés positifs lorsque les informations sur le facteur de risque ou les sondages indiquent que la prévalence est faible, donnant lieu à une PPV plus basse (par ex., < 90 %). » Consultez les directives des CDC pour de plus amples détails sur les tests complémentaires et la prise en charge des patients après un test de dépistage positif (4).

² Se référer au tableau 3 pour les résultats de la distribution des RLU. La magnitude des RLU n'est pas indicative de la quantité d'organismes dans l'échantillon.

³ Dans la limite inférieure positive, les données suggèrent d'interpréter ces résultats positifs avec précaution, sachant qu'il est plus vraisemblable d'obtenir un résultat faussement positif que vraiment positif.

B. Résultats du contrôle de qualité et acceptabilité

Le contrôle négatif Aptima pour CT, portant l'étiquette « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT », et le contrôle positif Aptima pour CT, portant l'étiquette « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC », servent de contrôle aux étapes de capture de cible, d'amplification, et de détection de ce test. Selon les recommandations ou exigences en vigueur dans votre pays ou auprès des organismes d'accréditation, des contrôles supplémentaires pour la lyse cellulaire et la stabilisation du RNA peuvent être requis. Le contrôle négatif pour CT, portant l'étiquette « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT » contient du rRNA de GC non infectieux. Si des contrôles 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, ou par un volume final d'urine situé entre les lignes indicatrices noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine, ou encore par l'absence d'un écouvillon dans le tube de transport d'échantillons Aptima pour les échantillons de frottis en milieu liquide.

Les contrôles positifs doivent produire les résultats de test suivants :

Contrôle	Total de RLU (x 1000)	Résultat de CT
Contrôle positif GC / contrôle négatif CT	0* et < 50	Négatif
Contrôle positif CT / contrôle négatif GC	≥ 100 et < 12 000	Positif

* Un résultat RLU de zéro (0 x 1000) sur le rapport de la série correspond à une valeur comprise entre zéro et 999 RLU. Les valeurs RLU inférieures à 160 sur les DTS Systems ou à 690 sur le Tigris DTS System ou le Panther System seront signalées comme étant non valides.

1. Le logiciel de test Aptima évalue automatiquement les contrôles selon les critères ci-dessus et indique que la série a PASS (Réussi) ou a FAIL (Échec) si les critères de contrôle de la série ne sont pas réunis.
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 réglementations CLIA (paragraphe 493.1256).

Remarque : Consultez la section *Dépannage* ou contactez l'assistance technique de Hologic pour de l'aide en cas de contrôles hors plage 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 contrôles » où des jeux de contrôle 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 contrôles après le nombre défini d'échantillons de la série encadrée de contrôles. Le Tigris DTS System évalue automatiquement chacun des contrôles de la liste de travail en fonction des critères ci-dessus et invalide tous les échantillons dans la ou les séries encadrées de contrôles affectés si les critères de contrôle ne sont pas réunis. Consultez le *Manuel de l'opérateur du système Tigris DTS (Tigris DTS System Operator's Manual)* pour de plus amples détails.
5. Les contrôles négatifs peuvent se révéler inefficaces pour surveiller la contamination aléatoire de transfert. Voir *Performance 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 *Performance 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. Contrôle de la préparation des échantillons (facultatif)

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

la notice de test. Les contrôles de la préparation des échantillons doivent être interprétés de la même manière que celle recommandée pour les échantillons de patients. Voir *Résultats des tests de patients sous Interprétation du test — QC/Résultats patients*.

D. Résultats des tests de patients

1. Si les contrôles 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

CT Pos.*	Positif pour rRNA CT.
CT Nég.	Présumé négatif pour rRNA CT.
CT Equiv.	L'échantillon devra être testé à nouveau.
Non valide	L'échantillon devra être testé à nouveau.

b. Résultats après ré-analyse

CT Pos.*	Positif pour rRNA CT.
CT Nég.	Présumé négatif pour rRNA CT.
CT Equiv.	Indéterminé, un nouvel échantillon devra être collecté.
Non valide	Indéterminé, un nouvel échantillon devra être collecté.

* Les résultats des échantillons à valeur RLU faiblement positive sont inclus dans cette catégorie. Voir *Interprétation du test — QC/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 CT 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 CT 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 affectés par une collecte impropre des échantillons, une mauvaise conservation des échantillons, une erreur technique ou une confusion entre échantillons ou des niveaux de la cible inférieures au seuil de détection du test.
- Le test d'un échantillon endocervical est recommandé pour les patientes cliniquement soupçonnées d'infection à Chlamydia ou gonococcique. Si un frottis et un écouvillon endocervical 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 limitée 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 CT.
- C. La présence de mucus dans les échantillons endocervicaux n'interfère pas avec la détection de CT par le test CT Aptima. Toutefois, afin d'assurer la collecte des cellules infectées par CT, les cellules épithéliales cylindriques tapissant la région endocervicale doivent être échantillonnées. Si l'excès de mucus n'est pas retiré, l'échantillonnage de ces cellules n'est pas assuré.
- 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 de cervicites, urétrites, infections urinaires ou infections vaginales dues à d'autres causes ou à des infections parallèles par d'autres agents.
- E. Le test CT 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 impact psychosocial néfaste, le CDC recommande d'effectuer un nouveau test avec une autre méthode (4).
- 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. Consultez la notice du kit de collecte d'échantillons Aptima correspondante.
- G. L'échec ou la réussite d'une thérapie ne peut être déterminé par le test CT Aptima étant donné que les acides nucléiques peuvent persister après une thérapie antimicrobienne appropriée.
- H. Les résultats du test CT 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 affectés par une collecte impropre des échantillons, une mauvaise conservation des échantillons, une erreur technique, une confusion entre échantillons, ou des niveaux de cible inférieurs au seuil de détection du test.
- J. Le test CT Aptima fournit des résultats qualitatifs. Il n'est donc pas possible d'établir une corrélation entre la magnitude 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 les échantillons d'urine, les caractéristiques de performance de la détection de CT sont obtenues chez des populations à forte prévalence d'infection. Des résultats positifs chez des populations à faible prévalence doivent être interprétés avec prudence sachant que la probabilité d'obtenir des résultats faux positifs peut être supérieure à celle d'obtenir des résultats vrais positifs.

- L. Concernant les études cliniques des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, la performance du test CT Aptima dans la détection de CT provient essentiellement de populations à faible prévalence d'infections. Néanmoins, des résultats positifs dans des populations à faible prévalence doivent être interprétés avec prudence sachant que le nombre de résultats faussement positifs peut être supérieur à celui des résultats vraiment positifs.
- M. La performance du kit de transfert d'échantillons Aptima n'a pas été évaluée pour ce qui est de l'analyse d'un même échantillon de frottis en solution PreservCyt avant et après l'analyse par le système ThinPrep.
- N. Les échantillons de frottis en solution PreservCyt traités par des instruments autres que le processeur ThinPrep 2000 n'ont pas été évalués par rapport à leur utilisation dans des 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 limitée aux centres de soins de santé où des conseils/un soutien sont offerts pour expliquer les procédures et précautions d'emploi.
- Q. Le test CT 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. La performance des échantillons sur écouvillon vaginal n'a pas été évaluée chez les femmes enceintes.
- S. La performance des échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux masculins sur écouvillon, des échantillons d'urine masculins et féminins, et des échantillons de frottis en solution PreservCyt n'a pas été évaluée chez des adolescents de moins de 16 ans.
- T. La performance du Tigris DTS System n'a pas été déterminée à des altitudes supérieures à 2240 mètres. Des vérifications volumétriques ainsi que des études spécifiques au test supplémentaires seront effectuées avant, ou dans le cadre du processus d'installation et d'acceptation pour les laboratoires situés à une altitude supérieure à 2240 mètres.
- U. La performance du Panther System n'a pas été déterminée à des altitudes supérieures à 2000 mètres.
- V. Il n'existe aucune preuve de la 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 CT, 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 des dilutions plus importantes du matériel échantillonné. Ces facteurs peuvent affecter la capacité à détecter des petites quantités d'organismes dans le matériel collecté. Si les résultats négatifs de l'échantillon ne correspondent pas à l'impression clinique, il peut être nécessaire d'utiliser un nouvel échantillon.
- W. Les clients doivent valider indépendamment un processus de transfert LIS.

Résultats des études cliniques

Les caractéristiques de performance du test CT Aptima ont été établies au cours de deux études cliniques multicentriques réalisées en Amérique du Nord. Deux études furent effectuées lors de la première investigation clinique. Tout d'abord, l'étude des échantillons cliniques a établi la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du test CT Aptima en utilisant des échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux mâles 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. La deuxième étude dans le cadre de la première investigation clinique a évalué la précision du test CT Aptima lorsque celui-ci est réalisé conformément aux directives NCCLS (17). La seconde investigation clinique a établi la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du test CT Aptima en utilisant la solution PreservCyt (composant du ThinPrep 2000 System). Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été également évalués pour leur précision en laboratoire avec le test CT Aptima.

Valeurs attendues pour les DTS Systems

Prévalence

La prévalence d'infections à CT 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 CT, par type d'échantillon et obtenue avec le test CT Aptima, est présenté dans les tableaux 1a et 1b pour les deux investigations cliniques multicentriques, par site clinique et de manière globale.

Tableau 1a : Prévalence de *C. trachomatis* par site clinique et de manière globale d'après les résultats du test CT Aptima

Site	% (nbre positifs/nbre testés)											
	MS		MU		FS		FU		PVS		CVS	
1	27,0	(68/252)	25,0	(63/252)	16,5	(38/230)	17,0	(39/229)	19,2	(42/219)	19,1	(44/230)
2	27,7	(98/354)	26,6	(94/354)	35,0	(70/200)	26,5	(53/200)	30,8	(61/198)	33,0	(66/200)
3	25,0	(1/4)	25,0	(1/4)	11,4	(13/114)	8,8	(10/113)	10,8	(12/111)	11,5	(13/113)
4	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	11,6	(31/267)	8,1	(22/271)	9,3	(25/268)	12,2	(33/270)
5	8,0	(16/200)	8,0	(16/200)	9,0	(18/199)	7,5	(15/199)	8,0	(16/199)	10,1	(20/199)
6	22,7	(69/304)	20,0	(61/305)	14,3	(42/294)	13,2	(39/295)	15,2	(44/290)	16,2	(48/296)
7	5,8	(12/207)	6,3	(13/207)	7,8	(8/102)	9,8	(10/102)	12,7	(13/102)	8,8	(9/102)
8	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	8,2	(4/49)	6,1	(3/49)	12,5	(6/48)	7,8	(4/51)
Tous	20,0	(264/1321)	18,8	(248/1322)	15,4	(224/1455)	13,1	(191/1458)	15,3	(219/1435)	16,2	(237/1461)

MS = écouvillon urétral masculin ; MU = urine masculine ; FS = écouvillon endocervical féminin ; FU = urine féminine ; PVS = écouvillon vaginal collecté par la patiente ; CVS = écouvillon vaginal collecté par un clinicien.

Tableau 1b : Prévalence de *C. trachomatis* par site clinique et de manière globale d'après les résultats du test CT Aptima en utilisant les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Site	% (nbre positifs/nbre testés)	
1	17,0	(17/100)
2	3,2	(4/124)
3	7,4	(35/475)
4	4,2	(12/287)
5	5,4	(16/297)
6	5,5	(20/364)
Tous	6,3	(104/1647)

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 CT Aptima sont indiqués au tableau 2. Ces calculs sont basés sur les taux de prévalence hypothétiques et de la sensibilité et la spécificité générales calculées d'après l'état d'infection des patients dans trois investigations cliniques multicentriques. La sensibilité et la spécificité globales pour CT étaient respectivement de 96,7 % et 96,8 % (tableau 2). Les PPV et NPV réelles pour les échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux mâles 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 au tableau 6 pour chaque site clinique et de manière globale. Les PPV et NPV réelles pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt Pap sont indiquées au tableau 6a.

Tableau 2 : Valeurs prédictives positives et négatives pour des taux de prévalence hypothétiques

Taux de prévalence hypothétique (%)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	PPV (%)	NPV (%)
1	96,7	96,8	23,5	100,0
2	96,7	96,8	38,3	99,9
5	96,7	96,8	61,6	99,8
10	96,7	96,8	77,2	99,6
15	96,7	96,8	84,3	99,4
20	96,7	96,8	88,4	99,2
25	96,7	96,8	91,0	98,9
30	96,7	96,8	92,9	98,6

Distribution des RLU pour le test CT Aptima

La figure 4 montre la distribution des RLU pour le test CT Aptima pour tous les types d'échantillon de l'étude clinique à l'exception des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. 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 chaque type d'échantillon, à l'exception des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. Parmi certains types d'échantillons, on note une tendance vers une proportion croissante de résultats vraiment positifs lorsque les valeurs RLU augmentent.

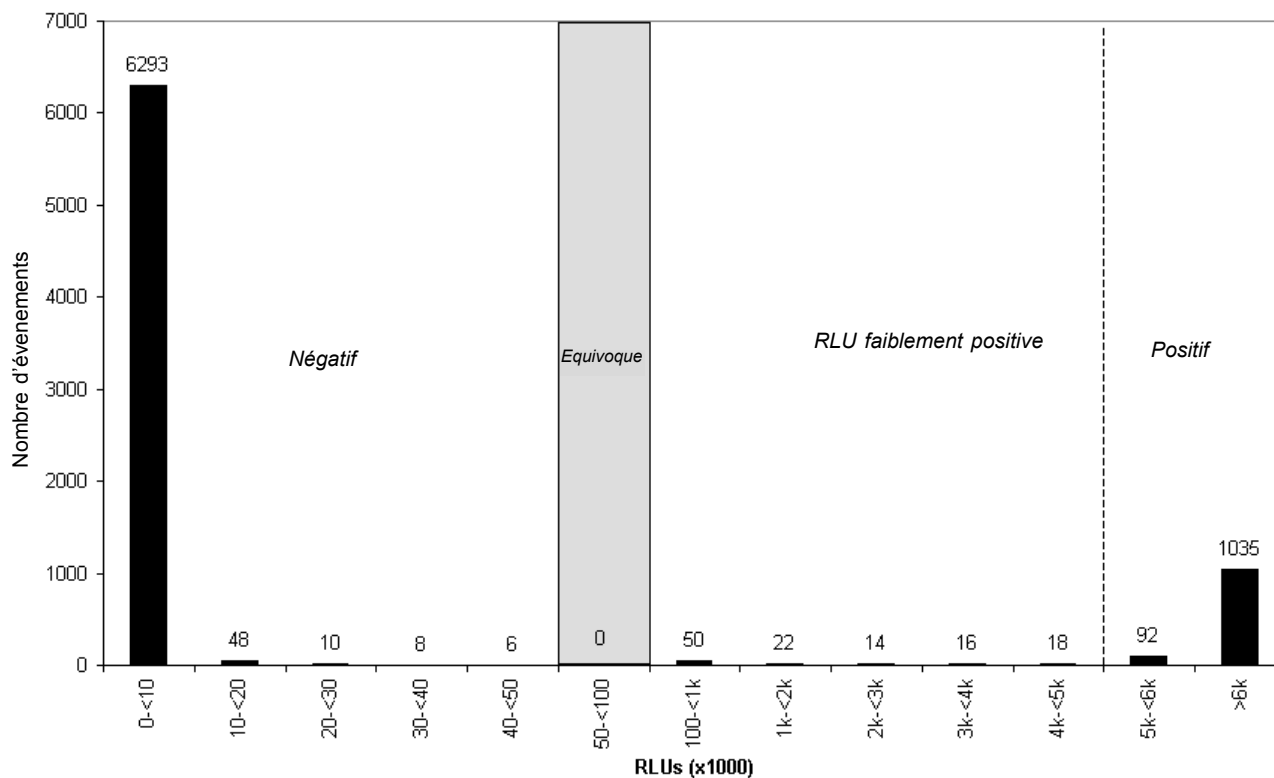


Figure 4. Fréquence de la distribution des RLU pour le test CT Aptima

Tableau 3 : Distribution des RLU pour le test CT 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
Nbre total de résultats positifs						0	50	22	14	16	18	92	1035
Total de résultats faussement positifs						0	43	17	7	11	10	25	126
CVS						0	18	4	1	4	4	6	28
PVS						0	7	5	2	1	2	2	6
FS						0	9	2	3	2	2	5	26
MS						0	3	4	0	1	0	3	32
FU						0	5	2	0	1	0	6	12
MU						0	1	0	1	2	2	3	22
Total de résultats négatifs	6293	48	10	8	6	0							
Total de résultats faussement négatifs	31	1	0	1	0	0							
CVS	4	0	0	1	0	0							
PVS	1	0	0	0	0	0							
FS	3	0	0	0	0	0							
MS	4	1	0	0	0	0							
FU	10	0	0	0	0	0							
MU	9	0	0	0	0	0							

CVS = écouvillon vaginal collecté par un clinicien ; **PVS** = écouvillon vaginal collecté par la patiente (patientes asymptomatiques) ; **FS** = écouvillon endocervical féminin ; **MS** = écouvillon urétral masculin ; **FU** = urine féminine ; **MU** = urine masculine.

La colonne grisée indique une zone équivoque.

Performance clinique du test avec les DTS Systems

Consultez *Concordance des échantillons cliniques pour le Tigris DTS System* après la section *Performance analytique des DTS Systems* pour les caractéristiques de performance clinique spécifiques au Tigris DTS System.

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

Des échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux mâles 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 et asymptomatiques se rendant chez des gynécologues/obstétriciens, des cliniques de traitement des maladies sexuellement transmissibles (MST), ainsi que des centres pour adolescents et de planning familial dans huit sites cliniques géographiquement diversifiés en Amérique du Nord. Les sujets ont été classés symptomatiques si des symptômes tels que des pertes, dysuries et douleurs pelviennes ont été signalés par le sujet. Les sujets ont été classés comme asymptomatiques s'ils n'ont fait état d'aucun symptôme. Sur les 1 392 sujets asymptomatiques enrôlés dans 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 éligibles. Cinq échantillons ont été collectés auprès de chacun des 1 465 sujets féminins éligibles. 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 CT du test CT Aptima et test Aptima Combo 2 ont été générés pour les deux écouvillons vaginaux, un écouvillon endocervical, un écouvillon urétral et une aliquot d'urine masculine et féminine. Les écouvillons endocervicaux et urétraux mâles ainsi que l'aliquot d'urine masculine et féminine restants ont été testés en utilisant un autre test NAAT du commerce. Les échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon et les échantillons d'urine masculins et féminins testés avec le test Aptima Combo 2 et l'autre test NAAT du commerce ont été utilisés comme NAAT de référence pour déterminer l'état d'infection de chaque sujet. L'analyse des échantillons a été effectuée soit sur le site d'enrôlement des sujets, soit dans un site d'analyse externe.

Tous les calculs de performance ont été basés sur le nombre total des résultats obtenus pour les échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon, ainsi que les échantillons d'urine masculins et féminins du test CT 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 CT était basée sur les résultats des échantillons endocervicaux sur écouvillon ou d'urine du test Aptima Combo 2 disponible dans le commerce ainsi que de l'autre NAAT disponible dans le commerce. Les sujets étaient considérés infectés par CT si deux des quatre échantillons endocervicaux sur écouvillon et d'urine étaient positifs avec le test Aptima Combo 2 et l'autre NAAT de référence (un échantillon testant positif dans chaque NAAT). Les sujets étaient considérés non infectés si moins de deux résultats NAAT de référence étaient positifs.

Au total, 8 406 résultats de test CT Aptima ont été utilisés pour calculer la sensibilité et la spécificité. La sensibilité et la spécificité à CT par sexe, type d'échantillon et état des

symptômes sont présentées au tableau 4. Le tableau 6 indique la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du test CT Aptima comparés à l'état d'infection des patients pour chaque site clinique et de manière globale. Les tableaux 7a-7d résument le nombre de résultats des sujets symptomatiques et asymptomatiques désignés comme infectés ou non infectés par CT selon l'algorithme de l'état d'infection des patients.

Sur les 2787 sujets enrôlés, 13 d'entre eux avaient un état d'infection par CT 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 performance. Sur les 8452 résultats de test CT Aptima de l'étude clinique multicentriques, un faible pourcentage (8, 0,09 %) d'échantillons a été initialement testé comme invalide pour CT. Après répétition des tests, il ne restait aucun résultat équivoque ou invalide.

Tableau 4 : Sensibilité et spécificité du test CT Aptima comparées à l'état d'infection des patients en fonction des symptômes et de manière globale

Échantillon	État des symptômes	N	TP	FP	TN	FN	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)	
Écouvillon	Symptomatique	576	131	23 ^a	418	4	97,0 (92,6 - 99,2)	94,8 (92,3 - 96,7)	
	Asymptomatique	745	90	20 ^b	634	1	98,9 (94,0 - 100)	96,9 (95,3 - 98,1)	
	Tous	1321	221	43 ^c	1052	5	97,8 (94,9 - 99,3)	96,1 (94,7 - 97,1)	
Homme									
Urine	Symptomatique	576	127	14 ^d	427	8	94,1 (88,7 - 97,4)	96,8 (94,7 - 98,3)	
	Asymptomatique	746	90	17 ^e	638	1	98,9 (94,0 - 100)	97,4 (95,9 - 98,5)	
	Tous	1322	217	31 ^f	1065	9	96,0 (92,6 - 98,2)	97,2 (96,0 - 98,1)	
Écouvillon	Symptomatique	807	114	28 ^g	664	1	99,1 (95,3 - 100)	96,0 (94,2 - 97,3)	
	Asymptomatique	636	59	22 ^h	553	2	96,7 (88,7 - 99,6)	96,2 (94,3 - 97,6)	
	Tous	1443	173	50 ⁱ	1217	3	98,3 (95,1 - 99,6)	96,1 (94,8 - 97,1)	
Femme									
Urine	Symptomatique	809	107	13 ^j	682	7	93,9 (87,8 - 97,5)	98,1 (96,8 - 99,0)	
	Asymptomatique	639	58	13 ^k	565	3	95,1 (86,3 - 99,0)	97,8 (96,2 - 98,8)	
	Tous	1448	165	26 ^l	1247	10	94,3 (89,7 - 97,2)	98,0 (97,0 - 98,7)	
Collecté par patient	Écouvillon vaginal	Asymptomatique	629	60	25 ^m	543	1	98,4 (91,2 - 100)	95,6 (93,6 - 97,1)
Collecté par clinicien	Écouvillon vaginal	Symptomatique	811	111	33 ⁿ	663	4	96,5 (91,3 - 99,0)	95,3 (93,4 - 96,7)
		Asymptomatique	638	60	32 ^o	545	1	98,4 (91,2 - 99,0)	94,5 (92,3 - 96,2)
		Tous	1449	171	65 ^p	1208	5	97,2 (93,5 - 99,1)	94,9 (93,5 - 96,0)

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

Résultats pour CT avec les test Aptima Combo 2 : nbre de résultats positifs / nbre d'échantillons testés a : 9/23 ; b : 14/20 ; c : 23/43 ; d : 6/14 ; e : 6/17 ; f : 12/31 ; g : 14/28 ; h : 11/22 ; i : 25/50 ; j : 7/13 ; k : 5/13 ; l : 12/26 ; m : 15/25 ; n : 17/33 ; o : 15/32 ; p : 32/65.

Étude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Une étude clinique prospective multicentrique a été effectuée pour évaluer l'utilisation de la solution PreservCyt (un composant du ThinPrep 2000 System) comme milieu alternatif pour les échantillons gynécologiques dans la détection de CT par le test CT Aptima. Mille six-cent quarante-sept (1647) femmes symptomatiques et asymptomatiques se rendant chez des gynécologues/obstétriciens, des centres de planning familial, des dispensaires, et des cliniques pour femmes et pour MST, ont été évaluées lors de l'étude clinique. Sur les 1647 sujets évaluables, 1288 étaient des sujets asymptomatiques et 359 des sujets symptomatiques. Les sujets qui ont été enrôlés provenaient de sites où la prévalence de CT s'échelonnait entre 2,8 % et 14,0 %.

Deux échantillons ont été recueillis par sujet éligible : un échantillon 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 ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual (Manuel de l'opérateur 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 vers le kit de transfert d'échantillons Aptima pour analyse avec le test CT Aptima.

La sensibilité et la spécificité du test CT Aptima avec les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été calculées en comparant les résultats à un algorithme de l'état d'infection des patients. L'algorithme comprenait les résultats du test Aptima Combo 2 et du test CT Aptima avec les échantillons endocervicaux sur écouvillon. Les deux NAAT de référence devaient être positifs pour établir l'infection d'un patient. Au moins un NAAT de référence devait être négatif pour établir que le patient n'était pas infecté. Le tableau 7e résume la fréquence des résultats des tests pour les deux NAAT de référence.

Le tableau 5a indique les sensibilités et spécificités du test CT Aptima par état des symptômes et de manière globale. La sensibilité générale était de 95,6 % (86/90). Chez les sujets symptomatiques et asymptomatiques, les sensibilités étaient respectivement de 96,7 % (29/30) et 95,0 % (57/60). La spécificité générale était de 98,8 % (1539/1557). Chez les sujets symptomatiques et asymptomatiques, les spécificités étaient respectivement de 98,8 % (325/329) et 98,9 % (1214/1228).

Le tableau 6a indique les sensibilités et spécificités du test CT Aptima par site de collecte d'échantillons et de manière globale. Les sensibilités s'échelonnaient de 92,9 % à 100 %. Les spécificités s'échelonnaient de 96,5 % 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 CT Aptima comparées à l'état d'infection des patients par état des symptômes et de manière globale pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Échantillon	Résultats du test CT Aptima pour la solution PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Sensibilité (%) (IC à 95 %)	Spécificité (%) (IC à 95 %)
Symptomatique	Positif	29	0	1	3	96,7 (29/30) (82,8 – 99,9)	98,8 (325/329) (96,9 – 99,7)
	Négatif	1	3	3	319		
	Total	30	3	4	322		
Asymptomatique	Positif	57	0	1	13	95,0 (57/60) (86,1 – 99,0)	98,9 (1214/1228) (98,1 – 99,4)
	Négatif	3	2	11	1201		
	Total	60	2	12	1214		
Tous	Positif	86	0	2	16	95,6 (86/90) (89,0 – 98,8)	98,8 (1539/1557) (98,2 – 99,3)
	Négatif	4	5	14	1520		
	Total	90	5	16	1536		

+/+ = résultat positif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima Combo 2 / résultat positif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test CT Aptima.

+/- = résultat positif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima Combo 2 / résultat négatif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test CT Aptima.

-/+ = résultat négatif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima Combo 2 / résultat positif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test CT Aptima.

-/- = résultat négatif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima Combo 2 / résultat négatif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test CT Aptima.

Tableau 6 : Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives pour le test CT Aptima comparées à l'état d'infection des patients par site clinique et de manière globale

Échantillon	Site	N	TP	FP	TN	FN	Prév. (%)	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)	PPV (%)	NPV (%)
Écouvillon	1	252	54	14	183	1	21,8	98,2 (90,3 - 100)	92,9 (88,4 - 96,1)	79,4	99,5
	2	354	83	15	252	4	24,6	95,4 (88,6 - 98,7)	94,4 (90,9 - 96,8)	84,7	98,4
	3	4	1	0	3	0	25,0	100 (2,5 - 100)	100 (29,2 - 100)	100	100
	4	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	5	200	12	4	184	0	6,0	100 (73,5 - 100)	97,9 (94,6 - 99,4)	75,0	100
	6	304	59	10	235	0	19,4	100 (93,9 - 100)	95,9 (92,6 - 98,0)	85,5	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	221	43	1052	5	17,1	97,8 (94,9 - 99,3)	96,1 (94,7 - 97,1)	83,7	99,4	
Homme	1	252	54	9	188	1	21,8	98,2 (90,3 - 100)	95,4 (91,5 - 97,9)	85,7	99,5
	2	354	85	9	258	2	24,6	97,7 (91,9 - 99,7)	96,6 (93,7 - 98,4)	90,4	99,2
	3	4	1	0	3	0	25,0	100 (2,5 - 100)	100 (29,2 - 100)	100	100
	4	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	5	200	12	4	184	0	6,0	100 (73,5 - 100)	97,9 (94,6 - 99,4)	75,0	100
	6	305	53	8	238	6	19,3	89,8 (79,2 - 96,2)	96,7 (93,7 - 98,6)	86,9	97,5
	7	207	12	1	194	0	5,8	100 (73,5 - 100)	99,5 (97,2 - 100)	92,3	100
	8	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
Tous	1322	217	31	1065	9	17,1	96,0 (92,6 - 98,2)	97,2 (96,0 - 98,1)	87,5	99,2	
Urine	1	252	54	9	188	1	21,8	98,2 (90,3 - 100)	95,4 (91,5 - 97,9)	85,7	99,5
	2	354	85	9	258	2	24,6	97,7 (91,9 - 99,7)	96,6 (93,7 - 98,4)	90,4	99,2
	3	4	1	0	3	0	25,0	100 (2,5 - 100)	100 (29,2 - 100)	100	100
	4	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	5	200	12	4	184	0	6,0	100 (73,5 - 100)	97,9 (94,6 - 99,4)	75,0	100
	6	305	53	8	238	6	19,3	89,8 (79,2 - 96,2)	96,7 (93,7 - 98,6)	86,9	97,5
	7	207	12	1	194	0	5,8	100 (73,5 - 100)	99,5 (97,2 - 100)	92,3	100
	8	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
Tous	1322	217	31	1065	9	17,1	96,0 (92,6 - 98,2)	97,2 (96,0 - 98,1)	87,5	99,2	

Tableau 6 : Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives pour le test CT Aptima comparées à l'état d'infection des patients par site clinique et de manière globale (suite)

Échantillon	Site	N	TP	FP	TN	FN	Prév. (%)	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)	PPV (%)	NPV (%)	
Femme	Écouvillon	1	228	36	2	190	0	15,8	100 (90,3 - 100)	99,0 (96,3 - 99,9)	94,7	100
		2	198	52	18	128	0	26,3	100 (93,2 - 100)	87,7 (81,2 - 92,5)	74,3	100
		3	114	9	4	101	0	7,9	100 (66,4 - 100)	96,2 (90,5 - 99,0)	69,2	100
		4	260	19	11	229	1	7,7	95,0 (75,1 - 99,9)	95,4 (91,9 - 97,7)	63,3	99,6
		5	199	13	5	181	0	6,5	100 (75,3 - 100)	97,3 (93,8 - 99,1)	72,2	100
		6	294	33	9	252	0	11,2	100 (89,4 - 100)	96,6 (93,6 - 98,4)	78,6	100
		7	102	8	0	92	2	9,8	80,0 (44,4 - 97,5)	100 (96,1 - 100)	100	97,9
		8	48	3	1	44	0	6,3	100 (29,2 - 100)	97,8 (88,2 - 99,9)	75,0	100
	Tous	1443	173	50	1217	3	12,2	98,3 (95,1 - 99,6)	96,1 (94,8 - 97,1)	77,6	99,8	
Femme	Urine	1	227	34	5	187	1	15,4	97,1 (85,1 - 99,9)	97,4 (94,0 - 99,1)	87,2	99,5
		2	198	51	2	144	1	26,3	98,1 (89,7 - 100)	98,6 (95,1 - 99,8)	96,2	99,3
		3	113	9	1	103	0	8,0	100 (66,4 - 100)	99,0 (94,8 - 100)	90,0	100
		4	265	18	4	241	2	7,5	90,0 (68,3 - 98,8)	98,4 (95,9 - 99,6)	81,8	99,2
		5	199	11	4	182	2	6,5	84,6 (54,6 - 98,1)	97,8 (94,6 - 99,4)	73,3	98,9
		6	295	29	10	252	4	11,2	87,9 (71,8 - 96,6)	96,2 (93,1 - 98,2)	74,4	98,4
		7	102	10	0	92	0	9,8	100 (69,2 - 100)	100 (96,1 - 100)	100	100
		8	49	3	0	46	0	6,1	100 (29,2 - 100)	100 (92,3 - 100)	100	100
	Tous	1448	165	26	1247	10	12,1	94,3 (89,7 - 97,2)	98,0 (97,0 - 98,7)	86,4	99,2	
Collecté par patient	Écouvillon vaginal	1	70	14	4	52	0	20,0	100 (76,8 - 100)	92,9 (82,7 - 98,0)	77,8	100
		2	46	13	4	29	0	28,3	100 (75,3 - 100)	87,9 (71,8 - 96,6)	76,5	100
		3	45	4	2	39	0	8,9	100 (39,8 - 100)	95,1 (83,5 - 99,4)	66,7	100
		4	152	6	3	142	1	4,6	85,7 (42,1 - 99,6)	97,9 (94,1 - 99,6)	66,7	99,3
		5	130	7	3	120	0	5,4	100 (59,0 - 100)	97,6 (93,0 - 99,5)	70,0	100
		6	75	8	5	62	0	10,7	100 (63,1 - 100)	92,5 (83,4 - 97,5)	61,5	100
		7	68	5	2	61	0	7,4	100 (47,8 - 100)	96,8 (89,0 - 99,6)	71,4	100
		8	43	3	2	38	0	7,0	100 (29,2 - 100)	95,0 (83,1 - 99,4)	60,0	100
	Tous	629	60	25	543	1	9,7	98,4 (91,2 - 100)	95,6 (93,6 - 97,1)	70,6	99,8	
Collecté par clinicien	Écouvillon vaginal	1	228	36	8	184	0	15,8	100 (90,3 - 100)	95,8 (92,0 - 98,2)	81,8	100
		2	198	50	16	130	2	26,3	96,2 (86,8 - 99,5)	89,0 (82,8 - 93,6)	75,8	98,5
		3	113	9	4	100	0	8,0	100 (66,4 - 100)	96,2 (90,4 - 98,9)	69,2	100
		4	263	18	14	229	2	7,6	90,0 (68,3 - 98,8)	94,2 (90,5 - 96,8)	56,3	99,1
		5	199	13	7	179	0	6,5	100 (75,3 - 100)	96,2 (92,4 - 98,5)	65,0	100
		6	296	33	15	248	0	11,1	100 (89,4 - 100)	94,3 (90,8 - 96,8)	68,8	100
		7	102	9	0	92	1	9,8	90,0 (55,5 - 99,7)	100 (96,1 - 100)	100	98,9
		8	50	3	1	46	0	6,0	100 (29,2 - 100)	97,9 (88,7 - 99,9)	75,0	100
	Tous	1449	171	65	1208	5	12,1	97,2 (93,5 - 99,1)	94,9 (93,5 - 96,0)	72,5	99,6	

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

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

Site	Résultat du test CT Aptima pour la solution PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Prév. (%)	Sensibilité (%) (IC à 95 %)	Spécificité (%) (IC à 95 %)	PPV (%)	NPV (%)
1	Positif	14	0	1	2	14,0	100 (14/14) (76,8 – 100)	96,5 (83/86) (90,1 – 99,3)	82,4	100
	Négatif	0	0	0	83					
	Total	14	0	1	85					
2	Positif	4	0	0	0	3,2	100 (4/4) (39,8 – 100)	100 (120/120) (97,0 – 100)	100	100
	Négatif	0	0	2	118					
	Total	4	0	2	118					
3	Positif	29	0	0	6	6,5	93,5 (29/31) (78,6 – 99,2)	98,6 (438/444) (97,1 – 99,5)	82,9	99,5
	Négatif	2	0	2	436					
	Total	31	0	2	442					
4	Positif	8	0	0	4	2,8	100 (8/8) (63,1 – 100)	98,6 (275/279) (96,4 – 99,6)	66,7	100
	Négatif	0	3	1	271					
	Total	8	3	1	275					
5	Positif	13	0	0	3	4,7	92,9 (13/14) (66,1 – 99,8)	98,9 (280/283) (96,9 – 99,8)	81,3	99,6
	Négatif	1	1	4	275					
	Total	14	1	4	278					
6	Positif	18	0	1	1	5,2	94,7 (18/19) (74,0 – 99,9)	99,4 (343/345) (97,9 – 99,9)	90,0	99,7
	Négatif	1	1	5	337					
	Total	19	1	6	338					
Tous	Positif	86	0	2	16	5,5	95,6 (86/90) (89,0 – 98,8)	98,8 (1539/1557) (98,2 – 99,3)	82,7	99,7
	Négatif	4	5	14	1520					
	Total	90	5	16	1536					

+/+ = résultat positif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima Combo 2 / résultat positif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test CT Aptima.

+/- = résultat positif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima Combo 2 / résultat négatif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test CT Aptima.

-/+ = résultat négatif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima Combo 2 / résultat positif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test CT Aptima.

-/- = résultat négatif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima COMBO 2 / résultat négatif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test CT Aptima.

Tableau 7a : Résultats des échantillons urétraux mâles sur écouvillon et d'urine masculins chez des sujets infectés ou non infectés par *C. trachomatis* selon l'état d'infection des patients

État d'infection du patient	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test CT Aptima		État des symptômes		Total
	MS	MU	MS	MU	MS	MU	Sympt.	Asympt.	
	Infecté	+	+	+	+	+	+	96	
Infecté	+	+	+	+	+	-	5	1	6
Infecté	+	+	+	-	+	+	11	7	18
Infecté	+	+	-	+	+	+	13	11	24
Infecté	+	+	-	+	+	-	1	0	1
Infecté	+	+	-	+	-	+	1	0	1
Infecté	+	-	+	+	+	+	2	0	2
Infecté	+	-	+	+	+	-	1	0	1
Infecté	+	-	+	-	+	-	1	0	1
Infecté	-	+	+	+	+	+	1	0	1
Infecté	-	+	-	+	+	+	0	2	2
Infecté	-	+	-	+	-	+	3	1	4
Infecté	-	+	=	+	+	+	0	1	1
Non infecté	+	+	-	-	+	+	4	4	8
Non infecté	+	+	-	-	-	+	1	0	1
Non infecté	+	-	-	-	+	+	1	4	5
Non infecté	+	-	-	-	+	-	4	6	10
Non infecté	+	-	-	-	-	+	1	0	1
Non infecté	+	-	-	-	-	-	3	0	3
Non infecté	-	+	-	-	+	+	1	0	1
Non infecté	-	+	-	-	-	+	0	2	2
Non infecté	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Non infecté	-	-	+	+	+	+	1	0	1
Non infecté	-	-	-	+	-	-	2	2	4
Non infecté	-	-	-	-	+	+	1	1	2
Non infecté	-	-	-	-	+	-	11	5	16
Non infecté	-	-	-	-	-	+	4	4	8
Non infecté	-	-	-	-	-	-	403	618	1021
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	+	0	2	2
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	-	1	2	3
Non infecté	-	-	-	=	-	-	0	4	4
Non infecté	-	-	=	-	-	-	2	0	2
Non infecté	S.O.	-	-	-	S.O.	-	0	1	1
Total							576	746	1322

S.O. = Échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole « égal » (=) indique des résultats équivoques ou indéterminés après réanalyse.

MS = écouvillon uréthral mâle ; **MU** = urine masculine.

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

État d'infection du patient	NAAT1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test CT Aptima		État des symptômes		Total
	FS	FU	FS	FU	FS	FU	Sympt.	Asympt.	
	Infecté	+	+	+	+	+	+	80	
Infecté	+	+	+	+	+	-	1	1	2
Infecté	+	+	+	-	+	+	10	5	15
Infecté	+	+	+	=	+	+	1	0	1
Infecté	+	+	-	+	+	+	9	3	12
Infecté	+	-	+	+	+	+	3	1	4
Infecté	+	-	+	+	+	-	2	2	4
Infecté	+	-	+	-	+	+	2	0	2
Infecté	+	-	+	-	+	-	4	0	4
Infecté	+	-	+	-	+	S.O.	1	0	1
Infecté	-	+	+	+	+	+	0	1	1
Infecté	-	+	-	+	+	+	1	3	4
Infecté	-	+	-	+	-	+	1	2	3
Non infecté	+	+	-	-	+	+	1	2	3
Non infecté	+	+	-	S.O.	+	+	1	0	1
Non infecté	+	-	-	-	+	+	0	2	2
Non infecté	+	-	-	-	+	-	12	7	19
Non infecté	+	-	-	-	-	-	0	1	1
Non infecté	-	+	-	-	+	+	1	0	1
Non infecté	-	+	-	-	-	+	4	3	7
Non infecté	-	+	-	-	-	-	0	1	1
Non infecté	-	-	+	-	-	-	1	1	2
Non infecté	-	-	-	+	-	-	1	2	3
Non infecté	-	-	-	-	+	+	0	2	2
Non infecté	-	-	-	-	+	-	11	9	20
Non infecté	-	-	-	-	-	+	5	4	9
Non infecté	-	-	-	-	-	-	636	526	1162
Non infecté	-	-	-	-	-	S.O.	1	0	1
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	-	2	3	5
Non infecté	-	-	-	=	-	-	12	10	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	0	1
Non infecté	=	-	-	-	+	-	1	0	1
Total							812	640	1452

S.O. = Échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole « égal » (=) indique des résultats équivoques ou indéterminés après réanalyse.

FS = écouvillon endocervical féminin ; **FU** = urine féminine. **Sympt.** = symptomatique ; **Asympt.** = asymptomatique.

Tableau 7c : Résultats des échantillons vaginaux sur écouvillon collectés par les patientes chez des sujets asymptomatiques infectés ou non infectés par *C. trachomatis* selon l'état d'infection des patients

État d'infection du patient	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test CT Aptima	Total
	FS	FU	FS	FU	PVS	
Infecté	+	+	+	+	+	44
Infecté	+	+	+	-	+	5
Infecté	+	+	-	+	+	3
Infecté	+	-	+	+	+	3
Infecté	-	+	+	+	+	1
Infecté	-	+	-	+	+	4
Infecté	-	+	-	+	-	1
Non infecté	+	+	-	-	+	2
Non infecté	+	-	-	-	+	4
Non infecté	+	-	-	-	+	1
Non infecté	+	-	-	-	-	2
Non infecté	+	-	-	-	-	3
Non infecté	-	+	-	-	+	2
Non infecté	-	+	-	-	-	2
Non infecté	-	-	+	-	-	1
Non infecté	-	-	-	+	-	2
Non infecté	-	-	-	-	+	5
Non infecté	-	-	-	-	+	10
Non infecté	-	-	-	-	-	15
Non infecté	-	-	-	-	-	500
Non infecté	-	-	-	-	-	1
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	1
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	9
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	2
Non infecté	-	-	-	S.O.	S.O.	1
Non infecté	-	-	-	=	-	1
Non infecté	-	-	-	=	-	8
Non infecté	-	-	-	=	-	1
Non infecté	-	-	=	-	-	1
Non infecté	-	S.O.	-	-	-	1
Non infecté	S.O.	-	-	-	+	1
Non infecté	S.O.	-	-	-	-	3
Total						640

S.O. = Échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole « égal » (=) indique des résultats équivoques ou indéterminés après réanalyse.

FS = écouvillon endocervical féminin ; **FU** = urine féminine ; **CVS** = écouvillon vaginal collecté par un clinicien ; **PVS** = écouvillon vaginal collecté par une patiente asymptomatique.

Tableau 7d : Résultats pour les écouvillons vaginaux collectés par des cliniciens chez des sujets infectés ou non infectés par *C. trachomatis* selon l'état d'infection des patients

État d'infection du patient	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test CT Aptima	État des symptômes		Total
	FS	FU	FS	FU	CVS	Sympt.	Asympt.	
Infecté	+	+	+	+	+	76	44	120
Infecté	+	+	+	+	-	2	0	2
Infecté	+	+	+	+	+	2	0	2
Infecté	+	+	+	+	+	1	0	1
Infecté	+	+	+	-	+	8	5	13
Infecté	+	+	+	-	-	1	0	1
Infecté	+	+	+	-	+	1	0	1
Infecté	+	+	+	=	+	1	0	1
Infecté	+	+	-	+	+	9	3	12
Infecté	+	-	+	+	+	5	3	8
Infecté	+	-	+	-	+	7	0	7
Infecté	-	+	+	+	+	0	1	1
Infecté	-	+	-	+	+	1	4	5
Infecté	-	+	-	+	-	1	0	1
Infecté	-	+	-	+	-	0	1	1
Non infecté	+	+	-	-	+	1	2	3
Non infecté	+	+	-	S.O.	+	1	0	1
Non infecté	+	-	-	-	+	3	4	7
Non infecté	+	-	-	-	-	0	1	1
Non infecté	+	-	-	-	+	2	2	4
Non infecté	+	-	-	-	-	5	3	8
Non infecté	+	-	-	-	+	1	0	1
Non infecté	+	-	-	-	-	1	0	1
Non infecté	-	+	-	-	+	5	2	7
Non infecté	-	+	-	-	-	0	2	2
Non infecté	-	-	+	-	-	1	1	2
Non infecté	-	-	-	+	-	1	2	3
Non infecté	-	-	-	-	+	4	5	9
Non infecté	-	-	-	-	-	6	10	16
Non infecté	-	-	-	-	+	16	15	31
Non infecté	-	-	-	-	-	614	500	1114
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	0	1	1
Non infecté	-	-	-	-	+	0	1	1
Non infecté	-	-	-	-	-	13	9	22
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	2	2	4
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	0	1	1
Non infecté	-	-	-	=	+	0	1	1
Non infecté	-	-	-	=	-	12	8	20
Non infecté	-	-	-	=	S.O.	0	1	1
Non infecté	-	-	=	-	-	1	1	2
Non infecté	-	S.O.	-	-	-	0	1	1
Non infecté	-	S.O.	-	-	S.O.	1	0	1
Non infecté	S.O.	-	-	-	-	0	1	1
Non infecté	S.O.	-	-	-	-	5	3	8
Non infecté	=	-	-	-	-	2	0	2
Total						812	640	1452

S.O. = Échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole « égal » (=) indique des résultats équivoques ou indéterminés après réanalyse.

FS = écouvillon endocervical féminin ; FU = urine féminine ; CVS = écouvillon vaginal collecté par un clinicien. Sympt. = symptomatique ; Asympt. = asymptomatique.

Tableau 7e : Résultats pour l'état d'infection des patients par *C. trachomatis* provenant de l'étude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

État d'infection du patient	Écouvillon endocervical		État des symptômes	
	Test Aptima COMBO 2	Test CT Aptima	Symptomatique	Asymptomatique
Infecté	Positif	Positif	30	60
Non infecté	Négatif	Négatif	322	1214
Non infecté	Négatif	Positif	4	12
Non infecté	Positif	Négatif	3	2
Total			359	1288

Distribution des RLU des contrôles 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 CT Aptima effectuées lors des études d'échantillons cliniques est présentée au tableau 8.

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

Contrôle	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	198	209
	Moyenne	0,89	1,22
	SD	2,94	2,63
	Maximum	26	36
	75 ^{ème} centile	1	1
	Médiane	0	1
	25 ^{ème} centile	0	1
	Minimum	0	0
Contrôle positif CT / contrôle négatif GC	N	198	209
	Moyenne	7007	6593
	SD	776	709
	Maximum	8884	10383
	75 ^{ème} centile	7440	7025
	Médiane	7066	6661
	25 ^{ème} centile	6621	6205
	Minimum	988	4419

Étude de précision

L'étude de précision du test CT Aptima (c-à-d., reproductibilité) a été évaluée sur deux sites cliniques externes et chez Hologic. L'étude de précision du test CT Aptima a été évaluée pour trois lots de kit de test CT Aptima, trois sites d'études, six opérateurs et 108 séries de test CT Aptima. Deux opérateurs sur chacun des trois sites de test ont effectué un total de six séries de test CT 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 2000 fg/test

de rRNA CT. La reproductibilité du test a été établie en utilisant un milieu de transport de l'écouvillon enrichi avec du 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 concernant des mesures RLU pour ce qui est des valeurs moyennes, de l'écart-type (SD), du coefficient de variation (CV) et du pourcentage de concordance avec les résultats attendus pour les calculs de variabilité entre sites, entre lots, entre opérateurs, entre séries et au sein d'une même série.

Tableau 9 : Données de précision du test CT Aptima en utilisant un panel de précision de 12 membres contenant de 0 à 2 000 fg/test de rRNA CT

Concentration	N	Moyenne RLU (x 1000)	% Concord.	Intra-série		D'un site à l'autre		D'un lot à l'autre		D'un opérateur 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 (%)	SD (RLU x 1000)	CV (%)
Nég. (0 fg/mL)	540	0,7	100	0,7	S.O.	0,5	S.O.	0,3	S.O.	0,4	S.O.	0	S.O.
Faible (12 fg/mL)	216	7143,4	100	200,3	2,8	335,6	4,7	207,7	2,9	537,3	7,5	558,8	7,8
Méd. (250 fg/mL)	108	7084,9	100	162,2	2,3	275,1	3,9	159,5	2,3	546,3	7,7	578,2	8,2
Méd. (2500 fg/mL)	108	6991,1	100	150,7	2,2	279,4	4,0	117,8	1,7	532,3	7,6	534,9	7,7
Élev. (5000-5135 fg/mL)	324	7133,4	100	229,2	3,2	301,0	4,2	129,0	1,8	531,7	7,5	618,3	8,7

SD = écart-type; CV(%) = pourcentage du coefficient de variation ; %Concord. = pourcentage de concordance.

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 telle que mesurée avec SD et %CV est réglée sur zéro (17).

S.O. = ne s'applique pas pour un analyte négatif.

La précision dans un même laboratoire de l'échantillon PreservCyt avec le test CT Aptima a été déterminée en ensemençant les flacons de PreservCyt avec 20 IFU de CT par flacon (0,1 IFU par réaction) et 100 IFU de CT par flacon (0,5 IFU par réaction). Les flacons contenant 1 000 IFU de CT par flacon (5 IFU par réaction) et les flacons de PreservCyt non ensemençés ont été testés comme contrôles positifs et négatifs. Dix flacons ensemençés à chacun des taux de IFU et dix flacons non ensemençés ont été répartis entre deux opérateurs. Les opérateurs ont vortexé les flacons, puis transféré 14 aliquots (de 1,0 mL chacun) par flacon dans 14 tubes de transfert Aptima, conformément à la notice du test du kit de transfert d'échantillons Aptima. Les opérateurs ne connaissaient pas les titres des échantillons. Chacun des échantillons frottis-STM obtenu a été analysé une fois avec le test CT Aptima. Au total, cinq séries ont été effectuées sur une période de cinq jours et 140 résultats ont été obtenus pour chacun des taux de IFU. Les résultats sont résumés au tableau 10.

Tableau 10 : Données de précision pour le milieu PreservCyt avec le test CT Aptima au sein d'un laboratoire en utilisant un panel de précision de 4 membres contenant de 0 à 1000 IFU/20 mL de cellules CT

Membre du panel	PreservCyt IFU/20 mL	IFU/réaction	n	Concordant	% Concord.	Moyenne RLU (x 1000)	Pour un même opérateur		D'un jour à l'autre		D'un opérateur à l'autre		Total	
							SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)
A	20	0,1	140	140	100	6501,7	734,8	11,3	0	0,0	546,9	8,4	916	14,1
B	100	0,5	140	138*	98,6	6337,7	1054,7	16,6	0	0,0	947,2	14,9	1417,6	22,4
C	1000	5	140	140	100	6521,9	909	13,9	247,1	3,8	393,9	6	1021	15,7
D	0	0	140	140	100	1,2	0,8	S.O.	0	S.O.	0,4	S.O.	0,9	S.O.

Tableau 10 : Données de précision pour le milieu PreservCyt avec le test CT Aptima au sein d'un laboratoire en utilisant un panel de précision de 4 membres contenant de 0 à 1000 IFU/20 mL de cellules CT

* les résultats discordants ont consisté en un résultat négatif et 1 résultat équivoque

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 telle que mesurée avec SD et %CV est réglée sur zéro (17).

S.O. = sans objet pour les membres du panel ayant un résultat négatif. Opérateur = Série. Les échantillons offrant des résultats discordants ont été inclus dans l'analyse de variabilité du signal.

Performance analytique des DTS Systems

Consultez la section *Performance analytique du Tigris DTS System* après le chapitre *Concordance des échantillons cliniques pour le Tigris DTS System* pour les caractéristiques de performance analytique spécifiques au Tigris DTS System.

Consultez la section *Performance analytique du Panther System* pour les caractéristiques de performance analytique spécifiques au Panther System.

Sensibilité analytique

La sensibilité analytique (seuil de détection) pour *C. trachomatis* a été déterminée en comparant directement les dilutions d'organismes de CT en culture cellulaire et avec le test CT Aptima. Le seuil de sensibilité analytique revendiqué pour le test est d'une IFU (unité de formation d'inclusions) par test (7,25 IFU/écouvillon, 5 IFU/mL d'urine, et 9,75 IFU/mL de frottis en milieu PreservCyt) pour l'ensemble des 15 sérotypes CT (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 et L3). Toutefois, les dilutions inférieures à moins d'une IFU/test ont donné des résultats positifs pour tous les sérotypes.

Spécificité analytique

Un total de 154 isolats de culture a été évalué à l'aide du test CT Aptima. Ces isolats comprenaient 86 organismes pouvant être isolés du tractus urogénital et 68 organismes supplémentaires qui représentent un croisement phylogénétique d'organismes. Les organismes testés comprenaient des bactéries, champignons, levures, parasites et virus. Tous les organismes, à l'exception de *C. psittaci*, *C. pneumoniae*, *U. urealyticum* et des virus ont été testés à $1,0 \times 10^6$ cellules/test dans le milieu de transport KOVA-Trol/Urine et 60 organismes dans le milieu de transport d'écouvillon. 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 4×10^3 cellules/test et *U. urealyticum* à $6,7 \times 10^6$ cellules/test. La présence de virus a été déterminée de la manière suivante : (a) virus Herpes simplex I : $2,5 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (b) virus Herpes simplex II : $6,0 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (c) papillomavirus humain 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 mucosa</i> (3)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	<i>Neisseria sicca</i> (3)
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Neisseria subflava</i> (14)
<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Neisseria perflava</i>
<i>Actinomyces pyogenes</i>	<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Neisseria polysaccharea</i>
<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Paracoccus denitrificans</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Virus de l'herpès simplex I	<i>Peptostreptococcus productus</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	Virus de l'herpès simplex II	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	Papillomavirus humain 16	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Bacteriodes fragilis</i>	<i>Kingella denitrificans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bacteriodes ureolyticus</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Bifidobacterium brevi</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Brevibacterium linens</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Lactobacillus jensonii</i>	<i>Rahnella aquatilis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Rhodospirillum rubrum</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Legionella pneumophila</i> (2)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Leuconostoc paramensenteroides</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Chlamydia psittaci</i> (2)	<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Chromobacterium violaceum</i>	<i>Moraxella osloensis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>N. meningitidis</i> Sérogroupe A	<i>Streptococcus mutans</i>
Cytomégalovirus	<i>N. meningitidis</i> Sérogroupe B	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>N. meningitidis</i> Sérogroupe C (4)	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Derxia gummosa</i>	<i>N. meningitidis</i> Sérogroupe D	<i>Streptococcus salivaris</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>N. meningitidis</i> Sérogroupe Y	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>N. meningitidis</i> Sérogroupe W135	<i>Streptomyces griseinus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Neisseria cinerea</i> (4)	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Neisseria dentrificans</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria elongata</i> (3)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Neisseria flava</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Erwinia herbicola</i>	<i>Neisseria flavescens</i> (2)	
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Neisseria lactamica</i> (9)	

(n) = nombre de souches testées. Tous les organismes testés ont donné un résultat négatif avec le test CT Aptima.

Substances interférentes

Les substances interférentes suivantes ont étéensemencées individuellement dans des échantillons d'écouvillon, de frottis en milieu PreservCyt et d'urine : sang 10 %, gel contraceptif, spermicide, hydratant, anesthésiant hémorroïdal, huile corporelle, poudre, crème anti-fongique, lubrifiants vaginaux, spray intime et leucocytes (1,0 x 10⁶ cellules/mL). Les substances interférentes suivantes ont étéensemencées 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 x 10⁶ cellules/mL), débris cellulaires, vitamines, minéraux, acétaminophène, aspirine et ibuprofène. Toutes ces substances ont été testées quant à leur interférence éventuelle avec test en l'absence et en présence de CT pour un rRNA estimé équivalent à 1 cellule/test (5 fg/test). Les équivalents rRNA ont été calculés d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme. Il n'a été relevé aucune interférence avec l'ensemble des substances testées. Aucun inhibiteur d'amplification n'a été observé dans le test CT Aptima.

Récupération

Escherichia coli, *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacteroides ureolyticus*, et *Staphylococcus epidermidis* (1×10^8 cellules/test) ont été ajoutés aux échantillons contenant l'équivalent rRNA d'environ une IFU de CT (5 fg). Ces ajouts n'ont pas interféré avec l'amplification ou la détection de rRNA CT en utilisant le test CT 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 générées avec des échantillons sur écouvillon négatifs groupés. Les échantillons groupés ont étéensemencés avec CT à une concentration finale de 1 IFU par réaction. Les échantillons enrichis ont été maintenus à -70 °C, -20 °C, 4 °C, et 30 °C. Ces échantillons ont été testés en duplicata aux jours 0, 20, 77 et 117. Toutes les conditions de test ont été positives pour CT pour toutes les durées et températures.

Les données destinés à confirmer les conditions de transport et de conservation recommandées pour les échantillons d'urine ont été générées avec des échantillons d'urine féminins et masculins négatifs. Les échantillons d'urine ont étéensemencés avec CT à une concentration finale de 10 IFU par réaction. Les deux jeux d'échantillons d'urineensemencés ont été maintenus à 30 °C pendant 24 heures avant d'être ajoutés au milieu de transport d'urine (urine transport media, UTM). Les deux jeux d'échantillons UTM ont été maintenus à 4 °C et 30 °C et testés en triple aux jours 0, 1, 5, 20, et 35. Tous les échantillons étaient positifs pour CT à tous les intervalles-temps. Les deux jeux d'échantillons UTM ont également été testés après 116 jours de conservation à -20 °C et à -70 °C. Tous les échantillons étaient positifs pour CT dans les deux conditions de conservation.

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 générées à partir d'échantillons de frottis liquides traités et non traités. Pour les échantillons non traités, quatre groupes d'échantillons en solution PreservCyt ont été testés après avoir été conservés dans le flacon de solution PreservCyt. Chaque pool d'échantillon a étéensemencé avec 1 à 10 IFU de CT/test, maintenu à 2 °C, 10 °C et 30 °C, puis testé d'après la base de référence et aux jours 5, 7, 8, 14, 18, 21, 25 et 36. Tous les échantillonsensemencés étaient positifs pour CT pour toutes les durées et températures.

Pour les échantillons traités, quatre pools d'échantillons de la solution PreservCyt ont été utilisés pour déterminer la stabilité des échantillons traités à 2 °C et 30 °C. Chaque pool d'échantillon négatif a étéensemencé avec 1 à 10 IFU de CT/test, puis testé d'après la base de référence. 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 aliquots de 1 mL de chaque pool ont été transférés dans un tube de transfert d'échantillons Aptima et testées d'après la base de référence avant d'être placés à 2 °C, 10 °C, et 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 CT pour toutes les durées et températures.

Les données destinées à confirmer des températures de conservation plus longues ont été générées à partir de quatre pools d'échantillons négatifs traités avec la solution PreservCyt et testés à des températures inférieures à zéro. Chaque pool a étéensemencé avec de 1 à 10 IFU de CT/test, puis testé d'après la base de référence. Chaque pool a tout d'abord été placé à 30 °C pendant 14 jours, puis conservé à -20 °C ou -70 °C sur 106 jours. Tous les échantillonsensemencés étaient positifs pour CT pour toutes les durées et températures.

C. Etude 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, 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 CT à un taux de 1,0 IFU par réaction ; 30 échantillons l'ont été à un taux de 0,1 IFU ; 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 réuni les critères d'acceptation, à savoir une concordance supérieure à 95 % concernant 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 CT Aptima générés par le Tigris DTS System entièrement automatique et les DTS Systems semi-automatiques a été évalué en testant les échantillons endocervicaux et urétraux mâles 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 CT 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 été testés avec le Tigris DTS System et suivis de tests sur les DTS Systems.

Étude de la concordance des échantillons cliniques endocervicaux et urétraux mâles 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 MST, des centres de planning familial et des gynécologues/obstétriciens de huit sites géographiquement distincts avec des prévalences d'infection à CT s'échelonnant de faibles à élevées ont contribué aux échantillons endocervicaux et urétraux mâles 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 alors que les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été traités dans deux laboratoires de cytopathologie avant leur transfert. Chez Hologic, les échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon, ainsi que les échantillons d'urine masculins et féminins ont d'abord été testés avec le test Aptima Combo 2 sur le Tigris DTS System, et les échantillons sur écouvillon vaginal et de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été dépistés 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 CT Aptima.

Deux-cent cinq échantillons d'écouvillons féminins (87 endocervicaux et 118 vaginaux), 120 écouvillons urétraux mâles, 98 échantillons d'urine féminins, 115 échantillons d'urine masculins, et 116 échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ayant des résultats positifs et négatifs au test CT Aptima Combo 2 ont été sélectionnés pour des tests comparatifs entre le Tigris DTS System et les DTS Systems avec le test CT Aptima. Les échantillons ayant des résultats initiaux invalides ou équivoques ont été testés à nouveau en utilisant le même système que celui sur lequel les résultats ont été générés. Un échantillon d'urine féminin, dont le résultat était initialement équivoque sur les DTS Systems, a donné un résultat final valide après réanalyse. Un échantillon d'urine masculin, dont le résultat était initialement invalide sur le Tigris DTS System, a donné un résultat final valide après réanalyse. Un échantillon d'urine féminin, dont le résultat était initialement équivoque sur le Tigris DTS System, a été réanalysé. Cependant l'échantillon était périmé et donc le résultat final est resté équivoque.

Le tableau 12 montre les concordances positives, négatives et globales pour tous les résultats appariés de chaque type d'échantillon par état symptomatique. Les échantillons sont relativement peu équilibrés par état symptomatique et asymptomatique, mais les concordances globales pour les sujets symptomatiques étaient de 98,5 % (131/133) pour les échantillons sur écouvillon féminins (écouvillons endocervicaux et vaginaux combinés), de 100 % (60/60) pour les échantillons sur écouvillon urétraux mâles, de 98,2 % (55/56) pour les échantillons d'urine féminins, de 100 % (60/60) pour les échantillons d'urine masculins et de 100 % (81/81) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. Chez les

sujets symptomatiques, les concordances globales étaient respectivement de 100 % pour 72 échantillons féminins sur écouvillon, 60 échantillons urétraux mâles sur écouvillon, 42 échantillons d'urine féminins, 55 échantillons d'urine masculins et 35 échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. Pour 'Tous' les sujets (symptomatiques et asymptomatiques combinés), la concordance globale était de 99,0 % (203/205) pour les échantillons sur écouvillon féminins (écouvillons endocervicaux et vaginaux combinés), de 100 % (120/120) pour les échantillons urétraux mâles sur écouvillon, de 99,0 % (97/98) pour les échantillons d'urine féminins, de 100 % (115/115) pour les échantillons d'urine masculins, et de 100 % (116/116) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. En raison du nombre relativement plus petit d'échantillons de sujets symptomatiques, ces conclusions peuvent ne pas être s'étendre aux tests CT Aptima-Tigris DTS System avec des échantillons de sujets asymptomatiques.

Se référer au tableaux 4 et 5a pour les estimations de sensibilité et de spécificité pour le test CT Aptima sur les DTS Systems. La sensibilité et la spécificité du test CT Aptima en utilisant le Tigris DTS System devraient être similaires étant donné que les résultats concordent.

Tableau 12 : Étude de la concordance des échantillons cliniques : concordances positives, négatives et globales par état de 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*	133	63	1	1	68	98,4 (91,6-100)	98,6 (92,2-100)	98,5 (94,7-99,8)
		Homme	60	42	0	0	18	100 (91,6-100)	100 (81,5-100)	100 (94,0-100)
	Urine	Femme	56	33	0	1 ¹	22	100 (89,4-100)	95,7 (78,1-99,9)	98,2 (90,4-100)
		Homme	60	41	0	0	19	100 (91,4-100)	100 (82,4-100)	100 (94,0-100)
	PreservCyt	Femme	81	39	0	0	42	100 (91,0-100)	100 (91,6-100)	100 (95,5-100)
	Asympt.	Écouvillon	Femme*	72	41	0	0	31	100 (91,4-100)	100 (88,8-100)
Homme			60	23	0	0	37	100 (85,2-100)	100 (90,5-100)	100 (94,0-100)
Urine		Femme	42	23	0	0	19	100 (85,2-100)	100 (82,4-100)	100 (91,6-100)
		Homme	55	20	0	0	35	100 (83,2-100)	100 (90,0-100)	100 (93,5-100)
PreservCyt		Femme	35	25	0	0	10	100 (86,3-100)	100 (69,2-100)	100 (90,0-100)
Tous		Écouvillon	Femme*	205	104	1	1	99	99,0 (94,8-100)	99,0 (94,6-100)
	Homme		120	65	0	0	55	100 (94,5-100)	100 (93,5-100)	100 (97,0-100)
	Urine	Femme	98	56	0	1 ¹	41	100 (93,6-100)	97,6 (87,4-99,9)	99,0 (94,4-100)
		Homme	115	61	0	0	54	100 (94,1-100)	100 (93,4-100)	100 (96,8-100)
	PreservCyt	Femme	116	64	0	0	52	100 (94,4-100)	100 (93,2-100)	100 (96,9-100)

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

*Échantillons endocervicaux et vaginaux sur écouvillon combinés.

¹L'échantillon a donné un résultat final équivoque sur le Tigris DTS System.

Étude de précision

Les effets de plusieurs facteurs sur la variabilité de la performance du test CT Aptima sur le Tigris DTS System ont été évalués en utilisant des panels de reproductibilité MST de 12 membres. Les membres des panels contenaient de 0 à 5 000 fg de rRNA CT/test. Le panel comportait des membres de panel avec des concentrations de CT de 5 fg de rRNA CT/test, soit le seuil de sensibilité analytique revendiqué.

Les panels ont été testés sur l'un des sites de test externes et chez Hologic en utilisant deux lots de réactifs de test CT Aptima. Chez Hologic, deux opérateurs ont effectué chacun trois listes de travail valides par lot de réactif sur chacun des deux instruments du Tigris DTS System. Sur le site externe, deux opérateurs ont effectué trois listes de travail valides chacun par lot de réactif sur un instrument du Tigris DTS System. Une liste de travail consistait en contrôles de série et six panels de 12 membres.

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 le SD (écart-type) et le coefficient de variation (CV) du signal concernant les sites, opérateurs, lots et listes de travail. Les CV n'ont pas été calculés pour les membres des panels négatifs à CT en raison des valeurs de signal faibles qui pourraient théoriquement équivaloir à zéro. Le tableau 13 donne les résultats de la reproductibilité. Les résultats du test CT Aptima sur le Tigris DTS System ont concordé avec les résultats attendus. Les valeurs CV étaient inférieures ou égales à 3,4 %. Ces données indiquent une reproductibilité excellente du test CT Aptima avec le Tigris DTS System.

Tableau 13 : Données de précision pour le Tigris DTS System

Conc. (fg de rRNA par test)	n	Moyenne RLU (x 1000)	% Concord.	D'un site à l'autre		D'un opérateur à l'autre		D'un lot à l'autre		D'une liste de travail à l'autre		Dans une même liste de travail	
				SD ¹ (x 1000)	CV ¹ (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD ¹ (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)
0	863	2,9	100	1,4	S.O.	0,3	S.O.	0,0	S.O.	0,2	S.O.	2,2	S.O.
5	432	7041	100	32,0	0,5	217	3,1	63,7	0,9	174	2,5	206	2,9
50	433 ²	7090	100	0,0	0,0	224	3,2	93,1	1,3	168	2,4	189	2,7
500	431 ³	7130	100	0,0	0,0	240	3,4	96,9	1,4	164	2,3	217	3,0
5000	432	7152	100	0,0	0,0	208	2,9	85,7	1,2	179	2,5	211	3,0

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 Une liste de travail comportait 1 réplicat supplémentaire d'un membre du panel avec 50 fg de rRNA/test.

³ Il manquait 1 réplicat d'un membre du panel avec 500 fg de rRNA/test dans une liste de travail.

Performance analytique du Tigris DTS System

Consultez la section *Performance analytique du Panther System* pour la performance analytique spécifique au Panther System.

Étude de l'équivalence de la sensibilité analytique

Les panels de sensibilité des pools d'échantillons endocervicaux sur écouvillon, pools d'échantillons vaginaux sur écouvillon, pools d'échantillons d'urine et pools d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été préparés avec un rRNA CT équivalent à 1 IFU par test (7,25 IFU/écouvillon et 5 IFU/mL d'urine) et 60 réplicats ont été testés sur le Tigris DTS System. Le pourcentage de positivité (IC à 95 %) pour 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 CT

L'étude clinique des panels enrichis avec du rRNA CT a évalué la concordance entre les deux systèmes (Tigris DTS System et DTS Systems) en utilisant six panels cliniques préparés de CT Hologic enrichis avec entre 0 et 5000 fg de rRNA/test de CT. Les panels cliniques de CT ont été créés à partir d'échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux sur écouvillon, d'échantillons d'urine masculins et féminins, et d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt dont les résultats test CT Aptima étaient négatifs avec 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 CT 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.

Le tableau 14 indique le pourcentage de concordance pour chaque concentration de rRNA dans les panels respectifs des écouvillons endocervicaux, écouvillons vaginaux, écouvillons urétraux, échantillons d'urine masculins, échantillons d'urine féminins et échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt avec les résultats CT 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 5 fg de rRNA/test pour CT. 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 CT

Échantillon	Membre du panel	Concentration (fg de rRNA/test)	Réplicats	% concordance Tigris	% concordance DTS	% de concordance globale entre Tigris et DTS (95 % CI)	
Endo-cervical	Sans cible	0	12	100	100	100 (97,2-100)	
	Très faible	0,5	30	100	100		
	Faible	5	30	100	100		
	Médiane	50	30	100	100		
	Elevée	5000	30	100	100		
Écouvillon Vaginal	Sans cible	0	12	100	100	100 (97,2-100)	
	Très faible	0,5	30	100	100		
	Faible	5	30	100	100		
	Médiane	50	30	100	100		
	Elevée	5000	30	100	100		
Urétral	Sans cible	0	12	100	100	100 (97,2-100)	
	Très faible	0,5	30	100	100		
	Faible	5	30	100	100		
	Médiane	50	30	100	100		
	Elevée	5000	30	100	100		
Urine	Sans cible	0	12	91,7 (11/12)	100	99,2 (95,9-100)	
	Très faible	0,5	30	100	100		
	Faible	5	30	100	100		
	Médiane	50	30	100	100		
	Elevée	5000	30	100	100		
	Femme	Sans cible	0	12	100	100	100 (97,2-100)
		Très faible	0,5	30	100	100	
		Faible	5	30	100	100	
		Médiane	50	30	100	100	
		Elevée	5000	30	100	100	
Échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt	Sans cible	0	12	100	100	100 (97,2-100)	
	Très faible	0,5	30	100	100		
	Faible	5	30	100	100		
	Médiane	50	30	100	100		
	Elevée	5000	30	100	100		

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 largement déterminée par la chimie du test (par ex., séquences d'olignucléotides) plutôt que par la plate-forme. Étant donné que les réactifs du test CT 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 se concentrer 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 à partir du panel d'organismes du tableau 11, y compris 3 organismes qui sont étroitement apparentés à CT. Tous les organismes testés ont donné des résultats négatifs sur le Tigris DTS System.

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 des taux de substances potentiellement interférentes similaires à ceux du 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 CT avec un rRNA estimé équivalent à une IFU de CT/test (5 fg/test). Les équivalents rRNA ont été calculés 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, vaginaux sur écouvillon, et de frottis en milieu liquide PreservCyt, et de 30 % de sang dans les échantillons d'urine. Tous les échantillons qui ne contenaient pas la cible ont été négatifs pour CT. Ces résultats indiquent qu'aux taux testés, le sang total n'affecte vraisemblablement pas les résultats de CT 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 1×10^6 fg de rRNA CT/mL, 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 2376 échantillons négatifs ont été testés sur les trois Tigris DTS Systems. Le tableau 15 indique que le taux de contamination général a été en moyenne de 0,21 % (5/2364). Au total, 12 échantillons négatifs ont été signalés comme invalides et exclus des calculs. Une analyse séparée a été effectuée sur un sous-ensemble de la population de l'étude constitué des échantillons négatifs ayant immédiatement suivi des résultats positifs avec une valeur cible élevée. Le taux de contamination de transfert de ce sous-ensemble de population était en moyenne de 0,47 % (2/424). Concernant les résultats faussement positifs de ce sous-ensemble, le taux de contamination de transfert variait de 0 % à 1,43 % sur les trois Tigris DTS Systems. Ces résultats ont démontré que la contamination est minimisée sur le Tigris DTS System.

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

Instrument	Nbre de tests négatifs valides	Nbre total de résultats CT faussement positifs	% de résultats CT faussement positifs	Intervalles de confiance (IC à 95 %)
Tigris 1	789	2 ^a	0,25	0,03 - 0,91
Tigris 2	783	3 ^b	0,38	0,08 - 1,12
Tigris 3	792	0 ^c	0,00	0,00 - 0,38
Tous les instruments	2364	5	0,21	0,07 - 0,49

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

b. Deux résultats CT faussement positifs ont été détectés avec l'appareil Tigris DTS System 2 directement après un résultat positif avec une valeur cible élevée.

c. Aucun résultat CT faussement positif n'a été détecté avec l'appareil Tigris DTS System 3 directement après un résultat positif avec une valeur cible élevée.

Performance analytique du Panther System

Étude de la concordance du panel clinique ensemencé

Des échantillons individuels d'urine dont les résultats étaient négatifs ont été ensemencés avec CT de sérotype G afin de constituer un panel de 120 échantillons positifs pour CT. Les membres du panel positif pour CT ont été ensemencés avec 0,25 IFU/mL, 2,5 IFU/mL ou 25 IFU/mL (soit 0,5 fg/test, 5 fg/test ou 50 fg/test). De plus, 120 échantillons d'urine négatifs pour CT ont été collectés. Les panels positifs et négatifs ont été analysés sur trois Panther Systems et trois Tigris DTS Systems. Le pourcentage de concordance positive pour CT entre le Panther System et le Tigris DTS System était de 100 % avec une borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % située à 98,9. Le pourcentage de concordance négative entre le Panther System et le Tigris DTS System était de 100 % avec une borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % située à 98,9. Les résultats de cette étude sont présentés dans le tableau 16.

Tableau 16 : Étude de la concordance du panel clinique ensemencé : concordance avec les résultats attendus pour CT

Membre du panel	Concentration		Réplicats	Tigris	Panther
	IFU/mL	fg/test		% concordance	% concordance
Très faiblement positif	0,25	0,5	120	100	100
Faiblement positif	2,5	5	120	100	100
Moyennement positif	25	50	120	100	100
Négatif	0	0	360	100	100

Pourcentage de concordance globale positive entre Tigris DTS System et Panther System (IC à 95 %) : 100 % (98,9–100).

Pourcentage de concordance globale négative entre Tigris DTS System et Panther System (IC à 95 %) : 100% (98,9–100).

Étude de sensibilité analytique

La sensibilité analytique du test CT Aptima a été évaluée en utilisant trois matrices d'échantillons représentatives. Ces dernières se composaient d'urine traitée avec du milieu de transport d'urine (Urine Transport Medium, UTM), du milieu liquide pour frottis PreservCyt dilué avec du milieu de transport pour écouvillon (Swab Transport Medium, STM) et du STM. Des pools de ces trois matrices ont été enrichis avec du rRNA CT aux concentrations suivantes : 0,5 fg/test, 5 fg/test et 50 fg/test (conc. rRNA équivalentes de 0,25 IFU/mL, 2,5 IFU/mL et 25 IFU/mL). Les équivalents rRNA ont été calculés d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme. Ces panels ont été analysés par réplicats de 96 sur trois Panther Systems 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 à 95 % : 96,2 à 100 %) pour tous les panels d'urine, de 100 % (IC à 95 % : 96,1 à 100 %) pour tous les panels de frottis en solution PreservCyt et de 100 % (IC à 95 % : 96,0 à 100 %) pour tous les panels STM. Le seuil de sensibilité analytique du test est de 2,5 IFU/mL.

Étude de reproductibilité

La précision du test CT Aptima a été évaluée pour trois Panther Systems avec deux lots de kits CT Aptima sur une période de 24 jours. Les panels ont été constitués en ajoutant du rRNA CT au milieu STM aux concentrations données dans le tableau 17. Les opérateurs ont effectué deux séries d'analyses par jour, chaque échantillon de panels étant présent en duplicat dans les séries. La concordance avec les résultats attendus a été calculé et la

précision du test a été estimé selon les directives NCCLS EP5-A2 (19). Le nombre total de réplicats pour chaque panel s'échelonnait de 93 à 96. Le tableau 17 présente les données de précision concernant des mesures RLU pour ce qui est des valeurs moyennes, de l'écart-type (SD), du coefficient de variation (CV) et du pourcentage de concordance avec les résultats attendus calculés pour les variabilités entre instruments, entre lots, entre séries et au sein d'une même série.

Tableau 17 : Précision du test CT Aptima pour le Panther System

Matrice	CT (IFU/mL)	N*	RLU moyenne (x 1000)	% Concord.	Entre instruments		D'un lot à l'autre		D'une série à l'autre		Intra-série		Total	
					SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)
STM	0	96	2	100	0,38	21,3	0,64	35,8	0	0	1,86	104,6	2	112,3
	0,25	93	7390	100	221,74	3	264,35	3,6	0	0	180,07	2,4	389,2	5,3
	2,5	96	7478	100	224,45	3	249,88	3,3	53,1	0,7	164,57	2,2	377,8	5,1
	25	96	7482	100	222,23	3	233,36	3,1	46,47	0,6	180,29	2,4	372,2	5
Urine	0	95	2	100	0,23	12,7	0,38	20,7	0,52	28,5	1,3	71	1,5	81,9
	0,25	96	6978	100	276,94	4	330,57	4,7	66,36	1	264,73	3,8	510,4	7,3
	2,5	95	7291	100	121,2	1,7	154,63	2,1	73,51	1	148,13	2	256,8	3,5
	25	95	7349	100	121,57	1,7	181,34	2,5	66,87	0,9	162,45	2,2	280,2	3,8
PreservCyt	0	96	7	97,9	3,36	46,1	0,29	4	0	0	20,52	281,4	20,8	285,3
	0,25	96	6996	100	225,16	3,2	209,86	3	0	0	164,87	2,4	349,2	5
	2,5	95	7079	100	246,89	3,5	172,55	2,4	0	0	151,67	2,1	337,2	4,8
	25	96	7050	100	262,52	3,7	167,79	2,4	0	0	192,5	2,7	366,2	5,2

Remarque : La variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, phénomène pouvant survenir si la variabilité due à ces facteurs est très minime. Dans ces cas, SD = 0 et CV = 0 %.

* Nombre total de réplicats pour chaque panel = 96. Dans certaines séries spécifiques, les réplicats individuels invalides n'ont pas été réanalysés.

Spécificité analytique

La spécificité analytique n'a pas été évaluée sur le Panther System. Se référer au chapitre *Performance analytique du Tigris DTS System pour l'Étude d'équivalence de la spécificité analytique*.

Étude de l'équivalence des substances interférentes

Le sang, une substance que l'on trouve couramment dans les échantillons urogénitaux, peut interférer avec certains tests d'amplification. Le degré d'interférence éventuel produit par la présence de sang a été déterminé en utilisant du sang entier. Du sang frais a été ajouté aux pools cliniques d'écouvillons vaginaux, d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt déjà traités et d'échantillons d'urine, puis les pools ont été analysés pour rechercher toute interférence éventuelle avec le test en l'absence ou en présence de CT cible. La concentration équivalente de rRNA estimée de 1 IFU/mL de CT (5 fg/test) a été utilisée comme concentration cible car elle correspond au seuil de sensibilité analytique du test. Les échantillons ont été analysés sur le Panther System. Tous les échantillons contenant de l'acide nucléique cible étaient positifs lorsqu'ils étaient testés à une concentration de 10 % (vol/vol) de sang dans les échantillons sur écouvillon, les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, ou de 30 % (vol/vol) de sang dans les échantillons d'urine. Tous les échantillons ne contenant pas de cible ont été identifiés correctement comme négatifs. Ces résultats sont identiques à ceux démontrés pour les DTS Systems lorsque les mêmes quantités de sang leur sont rajoutées. La présence

de sang dans les échantillons sur écouvillon, de PreservCyt et d'urine à des niveaux bien supérieurs à ceux attendus lors du recueil normal d'échantillons n'a pas interféré avec les résultats produits par le Panther System.

Études de contamination par transfert pour le Panther System

Afin d'établir que le Panther System minimise les risques de résultats faussement positifs liés à une contamination par transfert, une étude analytique a été réalisée sur plusieurs séries et sur trois Panther Systems à l'aide de panels ensemencés. La contamination de transfert a été évaluée en répartissant des échantillons avec un titre élevé de CT 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 disposés de manière spécifique dans la série. Les échantillons à titre élevés étaient préparés en ajoutant du rRNA de CT dans du STM pour obtenir une concentration finale de 5×10^5 fg rRNA/réaction (conc. équivalente de rRNA de $2,5 \times 10^5$ IFU/mL). L'analyse a été réalisée pour 5 séries sur trois Panther Systems pour, au total, 2933 échantillons négatifs. Le taux de contamination de transfert global était de 0 % avec un intervalle de confiance de 95 % (0 à 0,1 %). Un total de 7 échantillons négatifs ont donné des résultats invalides lors des séries d'analyse de la contamination de transfert à titre élevé et ont été exclus des calculs.

Bibliographie

1. **Beem, M. O., and E. M. Saxon.** 1977. Respiratory tract colonization and a distinctive pneumonia syndrome in infants infected with *Chlamydia trachomatis*. *NEJM* **296**:306-310.
2. **Buimer, M., G. J. J. Van Doornum, S. Ching, P. G. H. Peerbooms, P. K. Plier, D. Ram, and H. H. Lee.** 1996. Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by Ligase chain reaction-based assays with clinical specimens from various sites: implications for diagnostic testing and screening. *J. Clin. Microbiol.* **34**:2395-2400.
3. **Cates, Jr., W., and J. N. Wasserheit.** 1991. Genital chlamydia infections: epidemiology and reproductive sequelae. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **164**:1771-1781.
4. **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).
5. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2011. *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2010*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. November.
6. **Chernesky, M. A., D. Jang, J. Sellors, K. Luinstra, S. Chong, S. Castriciano, and J. B. Mahony.** 1996. Urinary inhibitors of polymerase chain reaction and Ligase chain reaction and testing of multiple specimens may contribute to lower assay sensitivities for diagnosing *Chlamydia trachomatis* infected women. *Mol. Cell. Probes.* **11**:243-249.
7. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrich, P. Barriga, and M. Chernesky.** 2003. Specimen processing and concentration of *Chlamydia trachomatis* added can influence false-negative rates in the LCx assay but not in the Aptima Combo 2 Assay when testing for inhibitors. *J. Clin. Microbiol.* **41**:778-782.
8. **Crotchfelt, K. A., B. Pare, C. Gaydos, and T. C. Quinn.** 1998. Detection of *Chlamydia trachomatis* by the Hologic AMPLIFIED Chlamydia Trachomatis assay (AMP CT) in urine specimens from men and women and endocervical specimens from women. *J. Clin. Microbiol.* **36**:391-394.
9. **CUMITECH 31.** Verification and Validation of Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory.- ASM PRESS, FEBRUARY 1997.
10. **Frommell, G. T., R. Rothenberg, S. Wang, and K. McIntosh.** 1979. Chlamydial infection of mothers and their infants. *Journal of Pediatrics* **95**:28-32.
11. **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.
12. **Goessens, W. H. F., J. W. Mouton, W. I. Van Der Meijden, S. Deelen, T. H. Van Rijsoort-Vos, N. L. Toom, H. Verbrugh, and R. P. Verkooyen.** 1997. Comparison of three commercially available amplification assays, AMP CT, LCx, and COBAS AMPLICOR, for detection of *Chlamydia trachomatis* in first-void urine. *J. Clin. Microbiol.* **35**:2628-2633.
13. **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.
14. **Jaschek, G., C. A. Gaydos, L. E. Welsh, and T. C. Quinn.** 1993. Direct detection of *Chlamydia trachomatis* in urine specimens from symptomatic and asymptomatic men by using a rapid polymerase chain reaction assay. *J. Clin. Microbiol.* **31**:1209-1212.
15. **Mahony, J., S. Chong, D. Jang, K. Luinstra, M. Faught, D. Dalby, J. Sellors, and M. Chernesky.** 1998. Urine specimens from pregnant and nonpregnant women inhibitory to amplification of *Chlamydia trachomatis* nucleic acid by PCR, Ligase chain reaction, and transcription-mediated amplification: identification of urinary substances associated with inhibition and removal of inhibitory activity. *J. Clin. Microbiol.* **36**:3122-3126.
16. **McCurdy, Brenda W.** 1997. Cumitech Guide on Verification and Validation of Procedures in the Microbiology Laboratory. February, 1997, American Society for Microbiology. ASM Press.
17. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 1999. NCCLS EP5-A: Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (Vol. 19, No. 2).
18. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance: Approved Guideline for additional Guidance on Appropriate Internal Quality Control Testing Practices.
19. **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).
20. **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.
21. **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.
22. **Schachter, J., and M. Grossman.** 1981. chlamydial infections. *Ann. Rev. Med.* **32**:45-61.
23. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). *NEJM* **298**:540-549.
24. **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.
25. **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.
26. **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.

27. **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.
28. **Vincelette, J., J. Schirm, M. Bogard, A. Bourgault, D. Luijt, A. Bianchi, P. C. Van Voorst Vader, A. Butcher, and M. Rosenstraus.** 1999. Multicenter evaluation of the fully automated COBAS AMPLICOR PCR test for detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens. J. Clin. Microbiol. **3**:74-80.
29. **Yuan, Y., Y-X. Zhang, N. G. Watkins, and H. D. Caldwell.** 1989. Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars. Infect. Immun. **57**:1040-1049.



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



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

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, Tigris, et TMA 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 d'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.

© 2000–2017 Hologic, Inc. Tous droits réservés.

502184FR Rev. 004
2017-06