Aptima® CV/TV Assay

Per uso diagnostico *in vitro*.
Solo su prescrizione medica.

Informazioni generali 2
Uso previsto 2
Riepilogo e spiegazione del test 2
Principi della procedura 3
Avvertenze e precauzioni 3
Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti 6
Raccolta e conservazione dei campioni biologici 7
Panther System 8
Reagenti e materiali forniti 8
Materiali richiesti ma disponibili separatamente 9
Procedura di analisi del Panther System 10
Note procedurali 13
Controllo della qualità 13
Calibrazione del test 14
Controlli positivi e negativi 14
Controllo interno 14
Interpretazione del test 15
Restrizioni 16
Valori previsti sul Panther System 18
Prestazioni del test Panther System 20
Riproducibilità 20
Prestazioni cliniche del Panther System 21
Caratteristiche prestazionali in soggetti sintomatici 21
Caratteristiche prestazionali dei membri del gruppo Candida 22
Caratteristiche prestazionali della Candida glabrata 27
Caratteristiche prestazionali del Trichomonas vaginalis 31
Indici di positività in donne asintomatiche 35
Percentuali di non validità 35
Prestazioni analitiche del Panther System 36
Sensibilità analitica 36
Inclusività analitica 36
Cross-reattività e Interferenza microbica 37
Interferenza 38
Precisione interna al laboratorio 39
Co-infezione 40
Bibliografia 41

Informazioni generali

Uso previsto

Il test Aptima® CV/TV assay (Test Aptima® per vaginite da candida (CV) e vaginite da trichomonas vaginalis (TV)) è un test *in vitro* di amplificazione degli acidi nucleici per il rilevamento dell'RNA da microrganismi associati alla candidosi vulvovaginale e alla tricomoniasi. Il test utilizza l'amplificazione mediata da trascrizione (TMA) in tempo reale, per rilevare e riportare risultati qualitativi per i seguenti organismi:

- Membri del gruppo *Candida* (*C. albicans, C. tropicalis, C. parapsilosis, C. dubliniensis*)
- *Candida glabrata*
- *Trichomonas vaginalis*

Il test opera una distinzione tra *Candida glabrata* e membri del gruppo *Candida* (C spp) attraverso il componente RNA target della RNAsi P ribonucleoproteina; il test non opera alcuna differenziazione tra membri del gruppo C spp. Riguardo al *Trichomonas vaginalis*, il test bersaglia l'RNA ribosomiale (rRNA) e differenzia il risultato da quelli ottenuti per *Candida glabrata* e C spp. Il test rappresenta un ausilio nella diagnosi di candidosi vulvovaginale e tricomoniasi sul Panther® System automatizzato, tramite campioni di tampone vaginale raccolti dal medico e dalla paziente, provenienti da donne con quadro clinico compatibile con vaginite o vulvovaginite.

Riepilogo e spiegazione del test

La vaginite è caratterizzata da un ventaglio di condizioni: irritazione vaginale e vulvare, odore, perdite e prurito (1). Le cause della vaginite includono fattori di origine meccanica e chimica (prodotti per l'igiene intima femminile, sostanze contraccettive, ecc.), nonché agenti infettivi (1). Fino al 90% dei casi, la vaginite infettiva è causata da vaginosi batterica (BV), candidosi vulvovaginale (vaginite da candida, CV) e tricomoniasi (vaginite da trichomonas vaginalis, TV) (2). La BV è stata diagnosticata nel 22-50% delle pazienti sintomatiche, la CV nel 17-39% dei casi, e la TV nel 4-35% dei casi (1,2).

La CV, comunemente nota come infezione del lievito, è la seconda e più frequente causa di vaginiti. La CV è caratterizzata da un'eccessiva proliferazione dei membri del gruppo *Candida* nel tratto vaginale, ed è associata ai segni clinici dell'infiammazione (3). Fino all'89% dei casi, la CV è causata da *C. albicans*, laddove specie non-albicans possono essere responsabili dell'11% dei casi (3). I sintomi caratteristici della CV comprendono perdite vaginali abbondanti, indolenzimento vaginale, prurito, dispareunia e disuria esterna (4). A paragone con la *C. albicans*, la *C. glabrata*, responsabile della maggior parte delle forme di CV non-albicans negli USA, può presentare una ridotta sensibilità al comune intervento terapeutico con antimicotici (4,5). La gestione clinica delle infezioni da *C. glabrata* richiede quindi particolare attenzione.

La TV è la terza causa più comune di vaginiti infettive (2). L'agente eziologico, il parassita protozoo TV, viene trasmesso attraverso rapporti sessuali penetrativi pene/vagina non protetti (4). Le donne che contraggono la TV durante la gravidanza presentano maggiori rischi di esiti avversi, come rottura prematura delle membrane, parto pretermine e basso peso alla nascita (4). L'infezione da TV è associata a un aumento del rischio di contrarre e trasmettere l'HIV (6,7), come pure di esporsi a infezioni prolungate da HPV (11) ed a infezioni concomitanti trasmesse per via sessuale (clamidia, gonorrea, e virus dell'herpes simplex di tipo 1 e 2) (12).

CV e TV possono essere rilevate al microscopio, tramite coltura e acido nucleico, utilizzando i campioni biologici raccolti da tampone vaginale.

Il test Aptima CV/TV assay è un test TMA in tempo reale sviluppato per l'uso su Panther System automatizzato, che rileva e discrimina i marcatori dell'RNA dai membri del gruppo C spp, da *C. glabrata* e da TV su campioni di tampone vaginale raccolti dal medico e dalla paziente, provenienti da donne sintomatiche. Il test Aptima CV/TV assay include un controllo interno (IC).

Principi della procedura

Il test Aptima CV/TV assay comprende tre fasi principali, aventi tutte luogo in un'unica provetta sul Panther System: cattura del target, amplificazione del target mediante TMA e rilevamento dei prodotti dell'amplificazione (amplicone) mediante sonde marcate con composti fluorescenti (torce). Il test integra un controllo interno (IC) in ogni analisi, per monitorare la cattura dell'acido nucleico, l'amplificazione e il rilevamento.

I campioni biologici vengono raccolti in una provetta contenente un terreno di trasporto dei campioni (STM) che provoca la lisi delle cellule, libera l'RNA e lo protegge dalla degradazione durante la conservazione. Durante l'esecuzione del test, gli oligonucleotidi di cattura ibridizzano con le regioni altamente conservate dell'RNA target, se presente, nel campione biologico analizzato. Il target ibridizzato viene successivamente catturato su microparticelle magnetiche, separate dal campione biologico in un campo magnetico. Le fasi di lavaggio servono a rimuovere le componenti aspecifiche dalla provetta di reazione.

L'amplificazione del target avviene tramite TMA, un metodo di amplificazione degli acidi nucleici mediato da trascrizione che utilizza due enzimi, la trascrittasi inversa del virus della leucemia murina di Moloney (MMLV) e la polimerasi dell'RNA T7. La trascrittasi inversa viene usata per generare una copia del DNA della sequenza dell'RNA target, aggiungendo una sequenza promotrice per la polimerasi dell'RNA T7. La polimerasi dell'RNA T7 produce copie multiple di amplicone di RNA dal modello della copia di DNA.

Il rilevamento si ottiene utilizzando torce di acido nucleico monofilamento presenti durante l'amplificazione del target e che ibridizzano specificamente con l'amplicone in tempo reale. Ogni torcia presenta un fluoroforo e un quencher. Il quencher sopprime la fluorescenza del fluoroforo, quando la torcia non è ibridizzata con l'amplicone. Quando la torcia si lega all'amplicone, il fluoroforo viene separato dal quencher ed emetterà un segnale a una specifica lunghezza d'onda quando eccitato da una sorgente luminosa. Il Panther System rileva e discrimina quattro segnali fluorescenti: C spp, *C. glabrata*, TV e prodotti dell'amplificazione dell'IC. Il software del Panther System utilizza un algoritmo specifico del test Aptima CV/TV assay che interpreta i tempi di insorgenza del segnale dell'amplificazione per generare uno stato positivo o negativo per ciascun organismo target presente nel campione.

Avvertenze e precauzioni

A. Per uso diagnostico *in vitro*.

B. Per uso professionale.

C. Per ridurre il rischio di risultati non validi, leggere attentamente l'intero foglietto illustrativo e il *Panther System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther System) prima di eseguire questo test.

D. Questa procedura deve essere eseguita solo da personale adeguatamente formato all'utilizzo del test Aptima CV/TV assay e alla manipolazione di materiali potenzialmente infettivi. Se si verifica un versamento, disinfettare immediatamente seguendo le apposite procedure vigenti all'interno della struttura.

E. Per ulteriori informazioni relative a precauzioni e avvertenze specifiche, consultare il *Panther System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther System).

Pertinenti al laboratorio

F. Utilizzare solo contenitori da laboratorio monouso forniti o indicati in modo specifico come monouso.

G. Adottare le consuete precauzioni di laboratorio. Non pipettare con la bocca. Non mangiare, bere o fumare nelle aree di lavoro designate. Quando si maneggiano campioni biologici e reagenti del kit, indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio. Lavarsi accuratamente le mani dopo aver maneggiato campioni biologici e reagenti del kit.

H. Le superfici di lavoro, le pipette e le altre apparecchiature devono essere decontaminate regolarmente con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5 – 3,5% (0,35 M – 0,5 M). Pulire e disinfettare accuratamente tutte le superfici di lavoro.

I. Smaltire tutti i materiali che siano entrati in contatto con campioni biologici e reagenti in conformità alle normative nazionali, internazionali e regionali in vigore (8, 9, 10). Pulire e disinfettare accuratamente tutte le superfici di lavoro.

Pertinenti ai campioni biologici

J. Le date di scadenza per i kit di raccolta dei campioni si riferiscono alla raccolta di campioni e non all'analisi degli stessi. I campioni raccolti in qualsiasi momento prima della data di scadenza indicata nel kit di raccolta, e che siano trasportati e conservati seguendo le istruzioni del foglietto illustrativo della confezione, sono validi per l'analisi anche se la data di scadenza sulla provetta di raccolta è passata.

K. I campioni biologici potrebbero essere infettivi. Nell'eseguire questo test, adottare le precauzioni universali (8, 9). Metodi adeguati di manipolazione e smaltimento vanno stabiliti dal direttore del laboratorio (10). Questa procedura deve essere eseguita solo da personale adeguatamente formato all'utilizzo del test Aptima CV/TV assay e alla manipolazione di materiali potenzialmente infettivi.

L. Mantenere le corrette condizioni di conservazione durante la spedizione del campione biologico per assicurarne l'integrità. La stabilità del campione biologico in condizioni di spedizione diverse da quelle raccomandate non è stata determinata.

M. Evitare la contaminazione crociata durante i procedimenti di manipolazione dei campioni biologici. I campioni possono contenere livelli di organismi estremamente alti. Assicurarsi che i contenitori dei campioni non vengano in contatto tra di loro ed eliminare i materiali usati senza farli passare sopra i contenitori aperti. Cambiare i guanti se vengono a contatto con un campione.

N. In determinate condizioni, i tappi delle provette di trasferimento Aptima possono liberare liquido quando vengono forati. Consultare la *Panther System Test Procedure* (Procedura di analisi del Panther System) per maggiori informazioni.

O. Se il laboratorio riceve una provetta di trasporto dell'Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit (Kit di raccolta dei campioni di tampone multitest Aptima) priva del tampone, oppure un tampone non fornito da Hologic, il campione biologico deve essere scartato.

Pertinenti al test

P. Non scambiare, mescolare o combinare reagenti del test provenienti da kit con numeri di lotto master diversi. I controlli, il calibratore e i liquidi del test possono essere scambiati.

Q. Tappare e conservare i reagenti alle temperature specificate. L'uso di reagenti conservati in modo improprio può influire sulle prestazioni del test. Per ulteriori informazioni, consultare i *Reagent Storage and Handling Requirements* (Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti) e la *Panther System Test Procedure* (Procedura di analisi del Panther System).

R. Non combinare reagenti o liquidi del test senza istruzioni specifiche. Non rabboccare i flaconi di reagenti o liquidi. Il Panther System verifica i livelli dei reagenti.

S. Evitare la contaminazione microbica e da nucleasi dei reagenti.

T. Non utilizzare i kit di reagente, controllo o calibratore dopo la data di scadenza.

U. Alcuni dei reagenti utilizzati con il test Aptima CV/TV assay sono etichettati con simboli di rischio e di sicurezza.

Nota: *le informazioni sulla comunicazione dei pericoli per l'etichettatura dei prodotti commercializzati a livello mondiale riflettono le classificazioni delle schede di sicurezza degli Stati Uniti e dell'UE (SDS). Per informazioni relative alla comunicazione sui pericoli specifiche per la propria regione, fare riferimento alla scheda SDS specifica della regione nella Raccolta delle schede di sicurezza all'indirizzo www.hologicsds.com.*

Informazioni sui pericoli nell'UE
Target Capture Reagent (Reagente di cattura del target) ***EDTA 1 - 5%*** ***LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1 - 5%*** H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata P273 - Non disperdere nell'ambiente P280 - Proteggere gli occhi/il viso
Promoter Reagent ***Magnesium Chloride 35 - 40%*** H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata P273 - Nondisperderenell'ambiente P280 - Proteggere gli occhi/il viso

Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

A. La seguente tabella mostra le condizioni di conservazione e la stabilità di reagenti, calibratore e controlli.

Reagente	Conservazione a confezione chiusa	Kit aperto (ricostituito)	
		Conservazione	Stabilità
Reagente di amplificazione	2 °C – 8 °C		
Soluzione di ricostituzione amplificazione	15 °C – 30 °C	2 °C – 8 °C	30 giorni[1]
Reagente enzimatico	2 °C – 8 °C		
Soluzione di ricostituzione enzimatica	15 °C – 30 °C	2 °C – 8 °C	30 giorni[1]
Reagente promotore	2 °C – 8 °C		
Soluzione di ricostituzione promotrice	15 °C – 30 °C	2 °C – 8 °C	30 giorni[1]
Reagente di cattura del target	15 °C – 30 °C	15 °C – 30 °C[2]	30 giorni[1]
Calibratore positivo	2 °C – 8 °C		Fiala monouso
Controllo negativo	2 °C – 8 °C		Fiala monouso
Controllo positivo	2 °C – 8 °C		Fiala monouso
Controllo interno	2 °C – 8 °C		Fiala monouso

[1] Quando i reagenti vengono rimossi dal Panther System, devono essere immediatamente riportati alle loro corrette temperature di conservazione.
[2] Condizione di conservazione per il reagente di cattura del target di lavoro (reagente di cattura del target con controllo interno aggiunto).

B. Smaltire qualsiasi reagente ricostituito inutilizzato e il reagente di cattura del target di lavoro (wTCR) dopo 30 giorni o dopo la data di scadenza del lotto master, se precedente.

C. I reagenti conservati sul Panther System hanno una stabilità a bordo pari a 120 ore. I reagenti possono essere caricati nel Panther System fino a 8 volte. Il sistema tiene traccia di ciascun caricamento dei reagenti.

D. ⚠ Il reagente promotore e il reagente promotore ricostituito sono fotosensibili. Proteggere questi reagenti dalla luce durante la conservazione e la preparazione per l'uso.

E. Evitare la contaminazione crociata durante la manipolazione e la conservazione del reagente. Prima della conservazione, tappare sempre tutti i reagenti ricostituiti con nuovi tappi per reagenti.

F. Non congelare i reagenti.

Raccolta e conservazione dei campioni biologici

Nota: *maneggiare tutti i campioni biologici come se contenessero agenti potenzialmente infettivi. Adottare le precauzioni universali.*

Nota: *prestare attenzione a evitare la contaminazione crociata durante le fasi di manipolazione dei campioni. Ad esempio, smaltire il materiale utilizzato senza farlo passare sulle provette aperte.*

I campioni di tampone vaginale possono essere analizzati con il test Aptima CV/TV assay. Le prestazioni del test non sono state valutate con campioni diversi da quelli raccolti per mezzo dei seguenti kit di raccolta dei campioni:

- Kit di raccolta dei campioni di tampone multitest Aptima

A. Raccolta dei campioni biologici

   Per istruzioni specifiche sulla raccolta, consultare il foglietto illustrativo dell'appropriato kit di raccolta dei campioni.

B. Trasporto e conservazione dei campioni prima dell'analisi:
   1. Campioni di tampone
      a. Dopo la raccolta, i campioni di tampone contenuti nelle provette di trasporto possono essere conservati a una temperatura di 2 °C – 30 °C fino a un massimo di 30 giorni.
      b. Se occorre conservarli più a lungo, i campioni di tampone contenuti nelle provette di trasporto possono essere conservati a una temperatura di -20 °C o -70 °C per ulteriori 60 giorni.

C. Conservazione dei campioni dopo l'analisi:
   1. I campioni analizzati devono essere conservati su una rastrelliera, in posizione verticale.
   2. Le provette di trasporto dei campioni vanno coperte con una protezione nuova e pulita di pellicola plastica o di alluminio.
   3. Se i campioni analizzati devono essere spediti, rimuovere i tappi penetrabili e sostituirli con nuovi tappi non penetrabili sulle provette di trasporto del campione. Se i campioni devono essere spediti per essere sottoposti ad analisi in un'altra struttura, occorre mantenere le temperature consigliate.
   4. Prima di rimuovere i tappi, occorre sottoporre a centrifuga le provette di trasporto del campione per 5 minuti a una forza centrifuga relativa (RCF) di 420 ± 100, per portare tutto il liquido sul fondo della provetta. **Evitare schizzi e contaminazione crociata.**

Nota: *I campioni biologici devono essere spediti in conformità alle normative sul trasporto nazionali, internazionali e regionali applicabili.*

Panther System

Sono elencati di seguito i reagenti del test Aptima CV/TV assay per il Panther System. Accanto al nome di ciascun reagente è indicato anche il rispettivo simbolo identificativo.

Reagenti e materiali forniti

Nota: *per informazioni sulle dichiarazioni relative a pericoli e precauzioni che possono essere associati ai reagenti, consultare la Safety Data Sheet Library (Libreria delle schede di sicurezza) reperibile all'indirizzo www.hologicsds.com.*

Kit del test Aptima CV/TV Assay

100 test: 2 scatole del test, 1 kit calibratore e 1 kit controlli (Num. di cat. PRD-05189)

Scatola refrigerata per test Aptima CV/TV Assay
(alla ricezione, conservare a una temperatura di 2 °C – 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
A	**Reagente di amplificazione** *Acidi nucleici non infettivi essiccati in soluzione tamponata.*	1 fiala
E	**Reagente enzimatico** *Trascrittasi inversa e polimerasi dell'RNA essiccate in soluzione tamponata HEPES.*	1 fiala
PRO	**Reagente promotore** *Acidi nucleici non infettivi essiccati in soluzione tamponata.*	1 fiala
IC	**Controllo interno** *Acidi nucleici non infettivi in soluzione tamponata.*	1 x 0,3 mL

Scatola a temperatura ambiente per test Aptima CV/TV Assay
(alla ricezione, conservare a una temperatura di 15 °C – 30 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
AR	**Soluzione di ricostituzione amplificazione** *Soluzione acquosa contenente glicerolo e conservanti.*	1 x 7,2 mL
ER	**Soluzione di ricostituzione enzimatica** *Soluzione tamponata HEPES contenente un tensioattivo e glicerolo.*	1 x 5,8 mL
PROR	**Soluzione di ricostituzione promotrice** *Soluzione acquosa contenente glicerolo e conservanti.*	1 x 4,5 mL
TCR	**Reagente di cattura del target** *Soluzione salina tamponata contenente acidi nucleici non infettivi e particelle magnetiche.*	1 x 26,0 mL
	Collari per ricostituzione	3
	Scheda del codice a barre del lotto master	1 scheda

Kit calibratore per test Aptima CV/TV Assay (PRD-05191)
(alla ricezione, conservare a una temperatura di 2 °C – 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
PCAL	**Calibratore positivo** *Acidi nucleici non infettivi in soluzione tamponata.*	5 x 2,8 mL
	Etichetta del codice a barre del calibratore	1 scheda

Kit controlli per test Aptima CV/TV Assay (PRD-05190)
(alla ricezione, conservare a una temperatura di 2 °C – 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
CONTROLLO-	**Controllo negativo** *Soluzione tamponata.*	5 x 2,7 mL
CONTROLLO+	**Controllo positivo** *Organismi in coltura non infettivi di C. albicans, C. glabrata,* e *T. vaginalis* in soluzione tamponata.	5 x 1,7 mL
	Etichetta dei codici a barre dei controlli	1 scheda

Materiali richiesti ma disponibili separatamente

Nota: *salvo altrimenti specificato, per i materiali resi disponibili da Hologic sono indicati i rispettivi numeri di catalogo.*

Materiale	N. di cat.
Panther System	-
Kit procedurale Panther System per test in tempo reale (esclusivamente per test in tempo reale)	PRD-03455 (5000 test)
Kit di liquidi per Aptima Assay (noto anche come kit dei liquidi universali) *Contiene soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente oleoso Aptima*	303014 (1000 test)
Unità multiprovetta (MTU)	104772-02
Kit dei sacchetti di rifiuti Panther	902731
Coperchio del contenitore per rifiuti Panther	504405
Oppure Kit procedurale Panther System	303096 (5000 test)
Quando si eseguono test TMA non in tempo reale parallelamente a test TMA in tempo reale *Contiene MTU, sacchetti per rifiuti, coperchi del contenitore per i rifiuti, auto detect e liquidi del test*	
Kit di liquidi per test Aptima Assay *Contiene soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente oleoso Aptima*	303014 (1000 test)
Unità multiprovetta (MTU)	104772-02
Puntali, 1000 µl conduttivi, rilevatori di liquido	10612513 (Tecan)

Materiale	N. di cat.
Kit di raccolta dei campioni di tampone multitest Aptima	PRD-03546
Candeggina, soluzione di ipoclorito di sodio al 5,0% – 7,0% (0,7 M – 1,0 M)	--
Guanti monouso senza talco	--
Tappi penetrabili Aptima	105668
Tappi non penetrabili di ricambio	103036A
Tappi di ricambio per reagenti	
Flaconi di ricostituzione dei reagenti di amplificazione, enzimatico e promotore	CL0041 (100 tappi)
Flacone TCR	501604 (100 tappi)
Teli da banco di laboratorio plastificati	--
Panni che non lasciano pelucchi	--
Pipettatore	--
Puntali	--
Agitatore oscillante per provette	--

Procedura di analisi del Panther System

Nota: *per ulteriori informazioni sulla procedura del Panther System, vedere il Panther System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del Panther System).*

A. Preparazione dell'area di lavoro

1. Pulire le superfici di lavoro dove verranno preparati i reagenti. Passare sulle superfici di lavoro una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5% – 3,5% (0,35 M – 0,5 M). Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua deionizzata (DI). Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio.
2. Pulire una superficie di lavoro separata su cui preparare i campioni. Utilizzare la procedura descritta in precedenza (passaggio A.1).
3. Coprire le superfici del banco sulle quali verranno preparati i reagenti con teli da banco di laboratorio puliti, assorbenti e plastificati.
4. Passare sui pipettatori una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5% – 3,5% (0,35 M – 0,5 M). Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua DI. Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio.

B. Ricostituzione del reagente/preparazione di un nuovo kit

Nota: *la ricostituzione dei reagenti deve essere eseguita prima di iniziare qualsiasi lavoro sul Panther System.*

1. Prima di eseguire l'analisi, i reagenti di amplificazione, enzimatici e promotori devono essere ricostituiti combinando il contenuto dei flaconi di reagente liofilizzato con la soluzione di ricostituzione appropriata.

a. Lasciare che i reagenti liofilizzati raggiungano la temperatura ambiente (15 °C – 30 °C) prima dell'uso.

b. Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al rispettivo reagente liofilizzato. Prima di fissare il collare di ricostituzione, assicurarsi che la soluzione di ricostituzione e il reagente presentino simboli delle etichette uguali.

c. Controllare i numeri di lotto sulla scheda del codice a barre del lotto master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati.

d. Aprire la fiala del reagente liofilizzato e inserire con fermezza l'estremità indentata del collare di ricostituzione nell'apertura della fiala (Figura 1, Procedimento 1).

e. Aprire il flacone della soluzione di ricostituzione corrispondente e appoggiare il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.

f. Tenendo il flacone di soluzione di ricostituzione sul banco, inserire con fermezza l'altra estremità del collare di ricostituzione nell'apertura del flacone (Figura 1, Procedimento 2).

g. Capovolgere lentamente i flaconi assemblati. Lasciare defluire la soluzione dal flacone nella fiala di vetro (Figura 1, Procedimento 3).

h. Agitare delicatamente con movimento rotatorio la soluzione nel flacone per miscelarla. Nel roteare il flacone, evitare la formazione di schiuma (Figura 1, Passaggio 4).

i. Attendere almeno 15 minuti che il reagente liofilizzato passi in soluzione, quindi capovolgere di nuovo i due flaconi assemblati, inclinandoli con un angolo di 45° per ridurre al minimo la formazione di schiuma (Figura 1, Procedimento 5). Lasciare che tutto il liquido ritorni nel flacone di plastica.

j. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, Procedimento 6).

k. Rimettere il tappo sul flacone di plastica. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 1, Procedimento 7).

l. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, Procedimento 8).

Opzione: È consentita un'ulteriore miscelazione dei reagenti di amplificazione, enzimatici e promotori per mezzo di un agitatore oscillante per provette. I reagenti possono essere miscelati posizionando il flacone di plastica ritappato su un agitatore oscillante per provette impostato a 20 RPM (o giri equivalenti), per un minimo di 5 minuti.

Avvertenza: *evitare la formazione di schiuma durante la ricostituzione dei reagenti. La schiuma pregiudica la sensibilità di rilevamento del livello di liquido nel Panther System.*

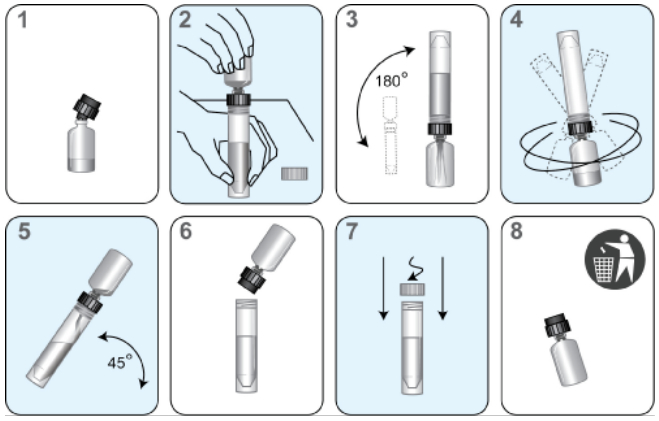


Figura 1. Processo di ricostituzione dei reagenti

2. Preparazione del reagente di cattura del target di lavoro (wTCR)
   a. Abbinare i flaconi corretti di TCR e IC.
   b. Controllare i numeri di lotto dei reagenti sulla scheda dei codici a barre del lotto master per assicurarsi di abbinare i reagenti ai kit appropriati.
   c. Aprire il flacone di TCR e disporne il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
   d. Togliere il tappo dal flacone di IC e versare l'intero contenuto nel flacone di TCR. Una piccola quantità di IC residua nel flacone è da ritenersi normale.
   e. Tappare il flacone e roteare delicatamente la soluzione per miscelare il contenuto. Durante questo procedimento, evitare la formazione di schiuma.
   f. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.
   g. Smaltire il flacone di IC e il relativo tappo.

C. Preparazione di reagenti per i reagenti precedentemente preparati
   1. I reagenti di amplificazione, enzimatici e promotori precedentemente preparati devono essere portati a temperatura ambiente (15 °C – 30 °C) prima di iniziare l'analisi.

      Opzione: I reagenti possono essere portati a temperatura ambiente posizionando i reagenti di amplificazione, enzimatici e promotori ricostituiti su un agitatore oscillante per provette impostato a 20 RPM (o giri equivalenti), per un minimo di 25 minuti.
   2. Se il wTCR contiene precipitato, riscaldarlo a 42 °C – 60 °C per un massimo di 90 minuti. Prima di usare il wTCR, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente. Non usare se il precipitato persiste.
   3. Verificare che i reagenti non superino i relativi tempi di stabilità di conservazione, inclusa la stabilità a bordo.
   4. Miscelare accuratamente ciascun reagente capovolgendolo con attenzione prima di caricarlo sul sistema. Evitare la formazione di schiuma durante il capovolgimento dei reagenti.
   5. Evitare di riempire i flaconi dei reagenti fino all'orlo. Il Panther System riconosce e rifiuta i flaconi rabboccati.

D. Manipolazione dei campioni biologici
   1. Prima dell'analisi, lasciare che i controlli e i campioni raggiungano la temperatura ambiente.
   2. **Non miscelare i campioni con vortex.**
   3. Controllare visivamente che ciascuna provetta del campione soddisfi i seguenti criteri:
      a. La presenza di un singolo tampone di raccolta Aptima rosa in una provetta di trasporto dei campioni di tampone.
   4. Ispezionare le provette dei campioni prima di caricarle sulla rastrelliera:
      a. Se una provetta del campione contiene bolle nello spazio tra il liquido e il tappo, centrifugarla per 5 minuti a 420 RCF, per eliminare le bolle.
      b. Se una provetta del campione presenta un volume inferiore a quello tipicamente osservato dopo aver seguito le istruzioni per la raccolta, centrifugarla per 5 minuti a 420 RCF, per assicurarsi che non sia presente liquido nel tappo.

      Nota: *la mancata osservanza dei Procedimenti 4a-4b può causare un versamento di liquido dal tappo della provetta del campione.*

Nota: *da ciascuna provetta del campione possono essere analizzate fino a 4 aliquote separate. I tentativi di pipettare più di 4 aliquote dalla provetta del campione possono causare errori di trattamento.*

E. Preparazione del sistema

1. Impostare il sistema in base alle istruzioni contenute nel *Panther System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther System) e nelle *Procedural Notes* (Note procedurali). Assicurarsi di utilizzare rastrelliere reagenti e adattatori TCR di dimensioni appropriate.

Note procedurali

A. Calibratore e controlli

Prima del trattamento, lasciare che il calibratore e i controlli raggiungano la temperatura ambiente.

1. Le provette del calibratore positivo, del controllo positivo e del controllo negativo possono essere caricate in qualsiasi posizione della rastrelliera o in qualsiasi corsia dello scomparto dei campioni sul Panther System. Il pipettaggio dei campioni inizierà quando verrà soddisfatta una delle 2 seguenti condizioni:
   a. Il calibratore e i controlli sono in fase di trattamento sul sistema.
   b. I risultati validi del calibratore e dei controlli sono stati registrati nel sistema.
2. Dopo che le provette del calibratore e dei controlli saranno state pipettate e sottoposte a trattamento per uno specifico kit di reagenti, i campioni del paziente potranno essere analizzati con il kit associato, entro un intervallo massimo di 24 ore, **tranne nei casi in cui:**
   a. Il risultato del calibratore o i risultati dei controlli risultino non validi.
   b. Il kit di reagenti del test associato sia stato rimosso dal sistema;
   c. Il kit di reagenti del test associato abbia superato i limiti di stabilità.
3. Ciascuna provetta di calibratore o controllo può essere utilizzata solo una volta. I tentativi di utilizzo multiplo possono causare errori di trattamento.

B. Temperatura

Per temperatura ambiente si intende un intervallo di temperatura compreso tra 15 °C e 30 °C.

C. Polvere dei guanti

Come in qualsiasi sistema di reagenti, la polvere eccessiva in alcuni guanti può causare la contaminazione delle provette aperte. Si consigliano guanti privi di polvere.

Controllo della qualità

Un operatore ha la possibilità di annullare un singolo campione o un'intera sessione analitica, nel caso in cui si sia rilevato e documentato un errore di natura procedurale, tecnica o legata allo strumento, durante l'esecuzione del test.

Calibrazione del test

Per generare risultati validi è necessario completare la calibrazione del test. Il calibratore viene analizzato in triplicato tutte le volte che un kit reagenti viene caricato sul Panther System. Una volta stabilita, la calibrazione è valida per un periodo massimo di 24 ore. Il software del Panther System avvisa l'operatore quando è necessario eseguire la calibrazione. L'operatore esegue la scansione dei coefficienti di calibrazione riportati nel foglio dei codici a barre del lotto master fornito con ciascun kit reagenti.

Durante il trattamento, i criteri per l'accettazione del calibratore vengono verificati automaticamente dal software del Panther System. Se il numero di replicati del calibratore validi risulta inferiore a due, il software annulla automaticamente la sessione analitica. I campioni di una sessione analitica annullata devono essere rianalizzati utilizzando calibratore e controlli preparati al momento.

Controlli positivi e negativi

Per generare risultati validi è necessario analizzare un set di controlli del test. È necessario analizzare un replicato del controllo negativo e uno del controllo positivo tutte le volte che un kit reagenti viene caricato sul Panther System. Una volta stabiliti, i controlli sono validi per un periodo massimo di 24 ore. Il software del Panther System avvisa l'operatore quando è necessario utilizzare i controlli.

Durante il trattamento, i criteri per l'accettazione dei controlli vengono verificati automaticamente dal software del Panther System. Se uno qualsiasi dei controlli genera risultati non validi, il software annulla automaticamente la sessione analitica. I campioni di una sessione analitica annullata devono essere rianalizzati utilizzando calibratore e controlli preparati al momento.

Controllo interno

Ciascun campione contiene un IC. Durante il trattamento, i criteri di accettabilità dell'IC vengono verificati automaticamente dal software del Panther System. Se il risultato dell'IC risulta non valido, il risultato del campione viene annullato. Ciascun campione con un risultato dell'IC non valido deve essere rianalizzato per ottenere un risultato valido.

Il software del Panther System è progettato per verificare in maniera accurata i processi, purché le procedure vengano eseguite rispettando le istruzioni del presente foglietto illustrativo e del *Panther System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther System).

Interpretazione del test

I risultati del test vengono determinati automaticamente dal software di analisi. I risultati per il rilevamento di CV/TV vengono riportati separatamente. La seguente tabella mostra i risultati possibili riportati in una sessione analitica valida, insieme alle interpretazioni dei risultati. I campioni con risultati del test non validi vanno rianalizzati.

Tabella 1: Interpretazione del risultato

Risultato C spp	*Risultato per C. glabrata*	Risultato TV	Risultato	Interpretazione
Positivo	Negativo	Negativo	Valido	Rilevato RNA dei membri del gruppo *Candida*.
Positivo	Positivo	Negativo	Valido	Rilevati RNA dei membri del gruppo *Candida* e RNA della *Candida glabrata*.
Positivo	Negativo	Positivo	Valido	Rilevati RNA dei membri del gruppo *Candida* e RNA del *Trichomonas vaginalis*.
Positivo	Positivo	Positivo	Valido	Rilevati RNA dei membri del gruppo *Candida*, RNA della *Candida glabrata* e RNA del *Trichomonas vaginalis*.
Negativo	Positivo	Negativo	Valido	Rilevato RNA della *Candida glabrata*.
Negativo	Negativo	Positivo	Valido	Rilevato RNA del *Trichomonas vaginalis*.
Negativo	Positivo	Positivo	Valido	Rilevati RNA della *Candida glabrata* e RNA del *Trichomonas vaginalis*.
Negativo	Negativo	Negativo	Valido	Negativo per membri del gruppo *Candida*, *Candida glabrata* e *Trichomonas vaginalis*.
Non valido	Non valido	Non valido	Non valido	Non valido: si è verificato un errore nella generazione del risultato. Il campione biologico deve essere rianalizzato.

Nota: RNA dei membri del gruppo *Candida* = *C. albicans, C. parapsilosis, C. dubliniensis,* e/o *C. tropicalis*

Restrizioni

A. L'uso di questo test è riservato al personale istruito alla relativa procedura. La mancata osservanza delle istruzioni fornite in questo foglietto illustrativo può determinare risultati errati.

B. Gli effetti dell'uso di tamponi, di pulizia dell'area vaginale e di variabili nella raccolta dei campioni non sono stati valutati relativamente al loro impatto sulle prestazioni del test.

C. Non sono state valutate le prestazioni con tipi di campione biologico diversi da quelli di tampone vaginale.

D. L'affidabilità dei risultati è subordinata alla raccolta, al trasporto, alla conservazione e al trattamento adeguati del campione biologico. Poiché il sistema di trasporto impiegato per questo test non permette la valutazione microscopica dell'adeguatezza dei campioni biologici, sono necessarie tecniche apposite di raccolta dei campioni. Consultare il documento *Specimen Collection and Storage* (Raccolta e conservazione dei campioni biologici) per istruzioni. Per informazioni dettagliate, consultare le apposite istruzioni per l'uso.

E. Il test Aptima CV/TV assay non è in grado di determinare il successo o il fallimento del programma terapeutico, poiché l'acido nucleico potrebbe permanere dopo l'idonea terapia antimicrobica.

F. I risultati ottenuti con il test Aptima CV/TV assay vanno interpretati insieme agli altri dati clinici a disposizione del medico.

G. Un risultato negativo non preclude una possibile infezione poiché i risultati dipendono da un'appropriata raccolta dei campioni. I risultati del test possono essere influenzati da un'inadeguata raccolta dei campioni, da errori tecnici, scambi di campioni o livelli target inferiori al limite di rilevamento (LoD) del test.

H. Il test Aptima CV/TV assay fornisce risultati qualitativi. Non è quindi possibile tracciare una correlazione fra l'intensità di un segnale positivo del test e il numero di organismi in un campione biologico.

I. Le prestazioni del test non sono state valutate nelle donne di età inferiore ai 14 anni.

J. Ciascun cliente deve convalidare in modo indipendente un processo di trasferimento al LIS.

K. Il test Aptima CV/TV assay non è stato valutato per l'utilizzo con campioni biologici raccolti dalle pazienti a casa.

L. La raccolta e l'analisi con il test Aptima CV/TV assay di campioni di tampone vaginale raccolti della paziente non devono essere considerate sostitutive di un esame clinico. Le infezioni vaginali possono insorgere per altre cause; si possono manifestare infezioni concomitanti.

M. Un risultato positivo ai membri del gruppo *Candida* può essere dovuto a una o più specie di *Candida*.

N. Si è osservata un'interferenza con il test Aptima CV/TV assay in presenza delle seguenti sostanze: Tioconazolo unguento 6,5% (W/V al 3%, tutti gli analiti), Gel idratante vaginale (W/V al 1%, C spp; W/V al 5%, *C. glabrata*; W/V al 3%, TV), e Acido acetico glaciale (V/V 5%, solo C spp).

O. Si è visto come il seguente organismo abbia prodotto una reattività crociata, a concentrazioni più elevate di quelle elencate: *Candida famata* a concentrazioni superiori a $5x10^5$ CFU/mL.

P. È stata osservata un'interferenza competitiva in campioni co-infettati per la combinazione di *C. glabrata* bassa (LoD 3X) e *T. vaginalis* alta ($1x10^5$ o $1x10^4$ cellule/mL).

Q. Un risultato positivo del test non indica necessariamente la presenza di organismi vitali. Un risultato positivo è indicativo della presenza di RNA target.

Valori previsti sul Panther System

La prevalenza di *Candida* e *T. vaginalis* nell'ambito della popolazione delle pazienti dipende da: età, etnia, fattori di rischio, tipo di assistenza medica e sensibilità del test impiegato per rilevare le infezioni. Un riepilogo della positività ai membri del gruppo *Candida*, alla *C. glabrata* e il rilevamento di *T. vaginalis* in soggetti sintomatici, secondo quanto determinato dal test Aptima CV/TV assay sul Panther System, viene illustrato nella Tabella 2 per lo studio multicentrico in base al centro clinico e complessivamente.

Tabella 2: Positività determinata dal test Aptima CV/TV Assay in donne sintomatiche, secondo tipo di campione biologico e centro clinico

% Positività (n. positive/n. analizzate con risultati validi)						
	Tamponi vaginali raccolti dal medico			Tamponi vaginali raccolti dalla paziente		
Centro	Membri del gruppo *Candida*[1]	*C. glabrata*	*T. vaginalis*	Membri del gruppo *Candida*[1]	*C. glabrata*	*T. vaginalis*
1	15,0 (3/20)	5,0 (1/20)	6,3 (1/16)	20,0 (4/20)	5,0 (1/20)	6,3 (1/16)
2	20,0 (1/5)	0,0 (0/5)	0,0 (0/1)	0,0 (0/5)	0,0 (0/5)	0,0 (0/1)
3	54,5 (12/22)	0,0 (0/22)	9,5 (2/21)	54,5 (12/22)	0,0 (0/22)	9,5 (2/21)
4	23,1 (50/216)	5,1 (11/216)	30,5 (65/213)	28,2 (60/213)	7,0 (15/213)	18,0 (38/211)
5	25,9 (38/147)	4,8 (7/146)	9,0 (13/145)	28,5 (41/144)	5,6 (8/144)	7,7 (11/143)
6	33,3 (24/72)	4,2 (3/72)	2,9 (2/68)	33,3 (24/72)	4,2 (3/72)	1,5 (1/68)
7	24,4 (48/197)	7,6 (15/197)	36,5 (72/197)	27,9 (55/197)	7,1 (14/197)	28,9 (57/197)
8	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	100,0 (1/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	100,0 (1/1)
9	38,0 (41/108)	1,9 (2/108)	3,8 (4/105)	46,3 (50/108)	2,8 (3/108)	3,8 (4/105)
10	47,1 (8/17)	5,9 (1/17)	0,0 (0/17)	52,9 (9/17)	5,9 (1/17)	0,0 (0/17)
11	26,8 (19/71)	5,6 (4/71)	11,4 (8/70)	27,8 (20/72)	5,6 (4/72)	5,6 (4/71)
12	33,3 (46/138)	2,9 (4/138)	2,3 (3/130)	34,1 (46/135)	3,0 (4/135)	2,3 (3/129)
13	30,4 (21/69)	1,4 (1/69)	13,0 (9/69)	31,9 (22/69)	2,9 (2/68)	11,6 (8/69)
14	44,4 (4/9)	0,0 (0/9)	0,0 (0/8)	44,4 (4/9)	0,0 (0/9)	0,0 (0/8)
15	50,0 (2/4)	0,0 (0/4)	0,0 (0/4)	50,0 (2/4)	0,0 (0/4)	0,0 (0/4)
16	40,0 (12/30)	3,3 (1/30)	10,7 (3/28)	46,7 (14/30)	3,3 (1/30)	10,7 (3/28)
17	37,5 (30/80)	2,5 (2/80)	2,7 (2/74)	40,0 (32/80)	1,3 (1/80)	4,1 (3/74)
18	36,0 (31/86)	1,2 (1/85)	4,8 (4/83)	37,2 (32/86)	1,2 (1/85)	4,8 (4/83)

Tabella 2: Positività determinata dal test Aptima CV/TV Assay in donne sintomatiche, secondo tipo di campione biologico e centro clinico

	% Positività (n. positive/n. analizzate con risultati validi)					
	Tamponi vaginali raccolti dal medico			Tamponi vaginali raccolti dalla paziente		
19	44,0 (33/75)	5,3 (4/75)	2,8 (2/71)	48,0 (36/75)	5,3 (4/75)	2,8 (2/71)
20	10,3 (4/39)	5,1 (2/39)	0,0 (0/39)	10,3 (4/39)	5,1 (2/39)	0,0 (0/39)
21	20,3 (16/79)	5,1 (4/79)	11,5 (9/78)	25,3 (20/79)	5,1 (4/79)	10,4 (8/77)
Tutti	29,8 (443/1485)	4,2 (63/1483)	13,9 (200/1438)	33,0 (487/1477)	4,6 (68/1475)	10,5 (150/1433)

[1] *Candida albicans, Candida tropicalis, Candida parapsilosis,* e/o *Candida dubliniensis.*

Prestazioni del test Panther System

Riproducibilità

La riproducibilità del test Aptima CV/TV assay è stata valutata sul Panther System in tre laboratori statunitensi, con il coinvolgimento di sette elementi del pannello. Le analisi presso ciascun centro sono state eseguite da due operatori. Ogni operatore ha eseguito una sessione analitica al giorno per sei giorni, utilizzando un lotto di reagente nel corso dell'analisi. Ciascuna sessione analitica è stata caratterizzata da tre repliche di ciascun elemento del pannello.

Gli elementi del pannello sono stati costituiti per mezzo di una matrice simulata di tampone vaginale ('SVSM', contenente terreno di trasporto dei campioni (STM) addizionato con secrezione vaginale simulata) negativa alle specie *Candida* e *T. vaginalis*. Sono stati creati sei elementi del pannello positivi, aggiungendo alla matrice SVSM concentrazioni di circa C_{95} o LoD 2X (basso-positivo) o C_{95} o LoD 3X (moderatamente positivo) di lisati cellulari interi, positivi a *C. albicans*, *C. glabrata*, o *T. vaginalis*. Un elemento del pannello negativo conteneva solo la matrice, senza analiti target aggiunti.

La concordanza con i risultati previsti è stata del 100% per tutti gli elementi del pannello.

È stata calcolata la variabilità del segnale del test Aptima CV/TV assay per ciascun target negli elementi del pannello analita positivi. Solo i campioni con risultati validi sono stati inclusi nelle analisi. La variabilità calcolata tra siti diversi, tra operatori diversi, tra giorni diversi, tra sessioni analitiche diverse, all'interno della sessione analitica e complessivamente è illustrata nella Tabella 3.

Tabella 3: Variabilità del segnale per gli elementi del pannello positivi

			Tra centri diversi		Tra operatori diversi		Tra giorni diversi		Tra diverse sessioni analitiche		Durante le sessioni analitiche		Totale	
Descrizione pannello	**N**	**Valore medio TTime[1]**	**DS**	**CV (%)**	**DS**	**CV (%)**	**DS**	**CV (%)**	**DS**	**CV (%)**	**DS**	**CV (%)**	**DS**	**CV (%)**
C. albicans Basso Pos[1]	108	14,68	0,66	4,47	0,00	0,00	0,00	0,00	0,41	2,78	0,30	2,02	0,83	5,64
C. albicans Mod Pos[1]	107	14,37	0,66	4,58	0,14	0,99	0,00	0,00	0,35	2,42	0,28	1,98	0,81	5,64
C. glabrata Basso Pos	106	21,36	0,84	3,94	0,18	0,84	0,00	0,00	0,68	3,17	0,62	2,89	1,26	5,88
C. glabrata Mod Pos	107	20,54	0,99	4,83	0,30	1,46	0,00	0,00	0,76	3,70	0,48	2,34	1,37	6,68
T. vaginalis Basso Pos	108	24,32	1,16	4,77	0,00	0,00	0,00	0,00	0,90	3,71	0,60	2,48	1,59	6,54
T. vaginalis Mod Pos	107	23,09	1,18	5,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,86	3,71	0,56	2,41	1,56	6,77

CV = coefficiente di variazione, Mod = moderato, Pos = positivo, DS = deviazione standard

[1] L'indice C_{95} (pannelli *C. albicans*) è definito relativamente al cutoff clinico.

Nota: In caso di variabilità numericamente negativa a causa di determinati fattori, i valori di DS e CV sono illustrati con 0,00.

Prestazioni cliniche del Panther System

Caratteristiche prestazionali in soggetti sintomatici

È stato condotto uno studio clinico prospettico, multicentrico, per stabilire le caratteristiche delle prestazioni cliniche del test Aptima CV/TV assay sul Panther System. Soggetti di sesso femminile, con i sintomi della vaginite, sono stati arruolati in 21 centri clinici statunitensi, diversi per posizione geografica ed etnia, che includevano ambulatori medici di famiglia privati e accademici, centri clinici di ostetricia e ginecologia, pianficazione familiare, salute pubblica, infezioni trasmesse per via sessuale (STI), cliniche mediche associate e centri di ricerca clinica.

Da ogni paziente, sono stati raccolti cinque (5) campioni di tampone vaginale: un campione di tampone prelevato dal medico e uno prelevato dalla paziente sono stati raccolti utilizzando l'Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit (Kit di raccolta dei campioni di tampone multitest Aptima) per il test Aptima CV/TV assay, mentre il terzo campione di tampone prelevato dal medico è stato raccolto per stabilire un'interpretazione del metodo di riferimento. Per tutti i soggetti, sono stati impiegati i seguenti metodi di riferimento:

- Gli stati di infezione da membri del gruppo *Candida* (C spp) e *C. glabrata* sono stati determinati separatamente, utilizzando il terreno di coltura Sabouraud destrosio e cromogeno di un campione di tampone raccolto dal medico, seguito da PCR/ sequenziamento bidirezionale. Per i soggetti con risultati di coltura positivi (per es.: proliferazione di qualsiasi tipo di *Candida* su entrambe le piastre di coltura), i residui di entrambi i campioni di tampone Aptima sono stati recuperati, dopo l'analisi con il test Aptima CV/TV assay, per eseguirvi una PCR/sequenziamento bidirezionale utile a determinare la presenza di C spp o *C. glabrata*. Un risultato di sequenziamento positivo a C spp in un tipo di campione di tampone Aptima è stato sufficiente per stabilire un risultato di riferimento positivo a C spp in entrambi i tipi di tampone Aptima, così come un risultato di coltura negativo alla *Candida,* o un risultato di PCR/ sequenziamento bidirezionale negativo per entrambi i campioni di tampone Aptima è stato sufficiente per stabilire un risultato di riferimento negativo per C spp in entrambi i tipi di tampone Aptima. Un algoritmo simile è stato adottato per stabilire i risultati di riferimento della *C. glabrata*.

- Lo stato di infezione della paziente (Patient Infection Status, PIS) da *T. vaginalis* è stato determinato tramite l'impiego di un risultato composito da due test approvati dalla FDA per il *T. vaginalis*, uno di tipo molecolare e uno in coltura. Un risultato positivo per almeno uno dei test è stato sufficiente per stabilire un risultato di riferimento positivo a *T. vaginalis* in entrambi i tipi di tampone Aptima; un risultato negativo per entrambi i test è stato sufficiente a stabilire un risultato di riferimento negativo a *T. vaginalis* in entrambi i tipi di tampone Aptima.

I campioni Aptima sono stati analizzati presso tre strutture con il test Aptima CV/TV assay sul Panther System.

Le caratteristiche prestazionali per ciascun tipo di campione raccolto prospettivamente, con corrispondenti
intervalli di confidenza (CI) bilaterale al 95%, sono state valutate in relazione allo stato di infezione da membri del gruppo *Candida* e *C. glabrata*, e al PIS da *T. vaginalis*.

Dei 1.519 soggetti sintomatici, 17 sono stati ritirati e 6 sono stati considerati non valutabili a causa di risultati finali non validi con il test Aptima CV/TV assay (n = 1), tamponi vaginali mancanti (n = 1), o stato di infezione da *Candida* o PIS da *T. vaginalis* sconosciuti (n = 4). I rimanenti 1.496 soggetti sono stati valutabili per almeno un analita in almeno uno dei tipi di campione. La Tabella 4 mostra i dati demografici dei soggetti valutabili.

Tabella 4: Dati demografici dei soggetti valutabili

Caratteristiche		Totale
Totale, N	N	1.496
Età (anni)	Media ± DS	35,3 ± 11,76
	Mediana	33,0
	Range	14-79
Fascia di età (anni), n (%)	14-17	5 (0,3)
	18-29	554 (37,0)
	30-39	480 (32,1)
	40-49	247 (16,5)
	>50	210 (14,0)
Etnia, n (%)	Asiatica	73 (4,9)
	Di colore o Afroamericana	752 (50,3)
	Bianca (Ispanica o Latina)	268 (17,9)
	Bianca (Non Ispanica o Latina)	339 (22,7)
	Altro[1]	64 (4,3)

[1] Include altre etnie, miste e non note, riferite dalle pazienti.

Per i 1.496 soggetti valutabili, 1.485 campioni di tampone vaginale raccolto dal medico e 1.477 campioni di tampone vaginale raccolto dalla paziente sono stati inclusi nelle analisi per i membri del gruppo *Candida*, 1.483 campioni di tampone vaginale raccolto dal medico e 1.475 campioni di tampone vaginale raccolto dalla paziente sono stati inclusi nelle analisi per *C. glabrata*, e 1.438 campioni di tampone vaginale raccolto dal medico e 1.433 campioni di tampone vaginale raccolto dalla paziente sono stati inclusi nelle analisi per *T. vaginalis*.

Caratteristiche prestazionali dei membri del gruppo Candida

La sensibilità e la specificità del test Aptima CV/TV assay per il rilevamento dei membri del gruppo *Candida* sono illustrate nella Tabella 5 per entrambi i tipi di campione complessivi e suddivisi per centro. L'esecuzione del test è illustrata nella Tabella 6, suddivisa per etnia, e nella Tabella 7 suddivisa per condizione clinica.

Tabella 5: Caratteristiche prestazionali dei membri del gruppo Candida in donne sintomatiche, suddivise per centro di prelievo

	Tamponi vaginali raccolti dal medico				Tamponi vaginali raccolti dalla paziente			
Centro	**N**	**Prev (%)**	**% Sensibilità (CI del 95%)[1]**	**% Specificità (CI del 95%)[1]**	**N**	**Prev (%)**	**% Sensibilità (CI del 95%)[1]**	**% Specificità (CI del 95%)[1]**
Tutti	**1.485**	**28,6**	**91,7 (88,7-94,0) 389/424**	**94,9 (93,4-96,1) 1.007/1.061**	**1.477**	**28,6**	**92,9 (90,0-95,0) 392/422**	**91,0 (89,1-92,6) 960/1.055**
1	20	25,0	60,0 (23,1-88,2) 3/5	100 (79,6-100) 15/15	20	25,0	60,0 (23,1-88,2) 3/5	93,3 (70,2-98,8) 14/15
2	5	0,0	NC	80,0 (37,6-96,4) 4/5	5	0,0	NC	100 (56,6-100) 5/5
3	22	54,5	91,7 (64,6-98,5) 11/12	90,0 (59,6-98,2) 9/10	22	54,5	91,7 (64,6-98,5) 11/12	90,0 (59,6-98,2) 9/10
4	216	22,2	85,4 (72,8-92,8) 41/48	94,6 (90,1-97,2) 159/168	213	22,5	85,4 (72,8-92,8) 41/48	88,5 (82,7-92,5) 146/165
5	147	24,5	88,9 (74,7-95,6) 32/36	94,6 (88,7-97,5) 105/111	144	24,3	91,4 (77,6-97,0) 32/35	91,7 (85,0-95,6) 100/109
6	72	31,9	100 (85,7-100) 23/23	98,0 (89,3-99,6) 48/49	72	31,9	95,7 (79,0-99,2) 22/23	95,9 (86,3-98,9) 47/49
7	197	21,8	93,0 (81,4-97,6) 40/43	94,8 (90,1-97,3) 146/154	197	21,8	90,7 (78,4-96,3) 39/43	89,6 (83,8-93,5) 138/154
8	1	0,0	NC	100 (20,7-100) 1/1	1	0,0	NC	100 (20,7-100) 1/1
9	108	43,5	87,2 (74,8-94,0) 41/47	100 (94,1-100) 61/61	108	43,5	93,6 (82,8-97,8) 44/47	90,2 (80,2-95,4) 55/61
10	17	35,3	100 (61,0-100) 6/6	81,8 (52,3-94,9) 9/11	17	35,3	100 (61,0-100) 6/6	72,7 (43,4-90,3) 8/11
11	71	26,8	89,5 (68,6-97,1) 17/19	96,2 (87,0-98,9) 50/52	72	26,4	94,7 (75,4-99,1) 18/19	96,2 (87,2-99,0) 51/53
12	138	31,9	95,5 (84,9-98,7) 42/44	95,7 (89,6-98,3) 90/94	135	31,1	95,2 (84,2-98,7) 40/42	93,5 (86,6-97,0) 87/93
13	69	27,5	100 (83,2-100) 19/19	96,0 (86,5-98,9) 48/50	69	29,0	95,0 (76,4-99,1) 19/20	93,9 (83,5-97,9) 46/49
14	9	44,4	100 (51,0-100) 4/4	100 (56,6-100) 5/5	9	44,4	100 (51,0-100) 4/4	100 (56,6-100) 5/5
15	4	50,0	100 (34,2-100) 2/2	100 (34,2-100) 2/2	4	50,0	100 (34,2-100) 2/2	100 (34,2-100) 2/2
16	30	43,3	84,6 (57,8-95,7) 11/13	94,1 (73,0-99,0) 16/17	30	43,3	92,3 (66,7-98,6) 12/13	88,2 (65,7-96,7) 15/17

Tabella 5: Caratteristiche prestazionali dei membri del gruppo Candida in donne sintomatiche, suddivise per centro di prelievo

	Tamponi vaginali raccolti dal medico				Tamponi vaginali raccolti dalla paziente			
Centro	**N**	**Prev (%)**	**% Sensibilità (CI del 95%)[1]**	**% Specificità (CI del 95%)[1]**	**N**	**Prev (%)**	**% Sensibilità (CI del 95%)[1]**	**% Specificità (CI del 95%)[1]**
17	80	35,0	92,9 (77,4-98,0) 26/28	92,3 (81,8-97,0) 48/52	80	35,0	96,4 (82,3-99,4) 27/28	90,4 (79,4-95,8) 47/52
18	86	30,2	92,3 (75,9-97,9) 24/26	88,3 (77,8-94,2) 53/60	86	30,2	96,2 (81,1-99,3) 25/26	88,3 (77,8-94,2) 53/60
19	75	41,3	100 (89,0-100) 31/31	95,5 (84,9-98,7) 42/44	75	41,3	100 (89,0-100) 31/31	88,6 (76,0-95,0) 39/44
20	39	7,7	100 (43,9-100) 3/3	97,2 (85,8-99,5) 35/36	39	7,7	100 (43,9-100) 3/3	97,2 (85,8-99,5) 35/36
21	79	19,0	86,7 (62,1-96,3) 13/15	95,3 (87,1-98,4) 61/64	79	19,0	86,7 (62,1-96,3) 13/15	89,1 (79,1-94,6) 57/64

CI = intervallo di confidenza, NC = non calcolabile, Prev = prevalenza

[1] CI dello score.

Tabella 6: Caratteristiche prestazionali dei membri del gruppo Candida in donne sintomatiche, suddivise per etnia

Tipo di campione biologico	Etnia	N	Prev (%)	% Sensibilità (CI del 95%)[1]	% Specificità (CI del 95%)[1]
Tamponi vaginali raccolti dal medico	**Tutti**	**1.485**	**28,6**	**91,7 (88,7-94,0) 389/424**	**94,9 (93,4-96,1) 1.007/1.061**
	Asiatica	73	26,0	100 (83,2-100) 19/19	94,4 (84,9-98,1) 51/54
	Di colore/Afroamericana	747	30,4	90,7 (86,3-93,9) 206/227	94,0 (91,7-95,8) 489/520
	Bianca (Ispanica/Latina)	265	28,7	93,4 (85,5-97,2) 71/76	93,7 (89,2-96,3) 177/189
	Bianca (Non Ispanica/Latina)	336	23,8	91,3 (83,0-95,7) 73/80	97,7 (95,0-98,9) 250/256
	Altro[2]	64	34,4	90,9 (72,2-97,5) 20/22	95,2 (84,2-98,7) 40/42
Tamponi vaginali raccolti dalla paziente	**Tutti**	**1.477**	**28,6**	**92,9 (90,0-95,0) 392/422**	**91,0 (89,1-92,6) 960/1.055**
	Asiatica	71	25,4	100 (82,4-100) 18/18	90,6 (79,7-95,9) 48/53
	Di colore/Afroamericana	745	30,6	90,8 (86,3-93,9) 207/228	89,4 (86,4-91,7) 462/517
	Bianca (Ispanica/Latina)	265	28,7	93,4 (85,5-97,2) 71/76	89,9 (84,8-93,5) 170/189
	Bianca (Non Ispanica/Latina)	332	23,5	96,2 (89,3-98,7) 75/78	95,3 (91,9-97,3) 242/254
	Altro[2]	64	34,4	95,5 (78,2-99,2) 21/22	90,5 (77,9-96,2) 38/42

CI = intervallo di confidenza, Prev = prevalenza

[1] CI dello score.

[2] Include altre etnie, miste e non note, riferite dalle pazienti.

Tabella 7: Caratteristiche prestazionali dei membri del gruppo Candida in donne sintomatiche, suddivise per condizione clinica

Tipo di raccolta	Condizione clinica	N[1]	Prev (%)	% Sensibilità (CI del 95%)[2]	% Specificità (CI del 95%)[2]
Tamponi vaginali raccolti dal medico	**Tutti**	**1.485**	**28,6**	**91,7 (88,7-94,0) 389/424**	**94,9 (93,4-96,1) 1.007/1.061**
	Uso di antibiotici	5	60,0	66,7 (20,8-93,9) 2/3	50,0 (9,5-90,5) 1/2
	Uso di antimicotici	8	37,5	100 (43,9-100) 3/3	100 (56,6-100) 5/5
	Uso di terapia estrogenica	2	0,0	NC	100 (34,2-100) 2/2
	Sintomi di vaginite ricorrenti negli ultimi 12 mesi	863	28,6	89,9 (85,5-93,0) 222/247	95,0 (92,9-96,4) 585/616
	Rapporti sessuali non protetti nelle ultime 24 ore	96	27,1	84,6 (66,5-93,8) 22/26	92,9 (84,3-96,9) 65/70
	Incinta	20	55,0	100 (74,1-100) 11/11	100 (70,1-100) 9/9
	Con mestruazioni	118	30,5	94,4 (81,9-98,5) 34/36	97,6 (91,5-99,3) 80/82
	Senza mestruazioni	1210	29,6	92,5 (89,2-94,8) 331/358	94,4 (92,6-95,7) 804/852
	Post-menopausa	157	19,1	80,0 (62,7-90,5) 24/30	96,9 (92,2-98,8) 123/127
Tamponi vaginali raccolti dalla paziente	**Tutti**	**1.477**	**28,6**	**92,9 (90,0-95,0) 392/422**	**91,0 (89,1-92,6) 960/1.055**
	Uso di antibiotici	5	60,0	66,7 (20,8-93,9) 2/3	0,0 (0,0-65,8) 0/2
	Uso di antimicotici	8	37,5	100 (43,9-100) 3/3	100 (56,6-100) 5/5
	Uso di terapia estrogenica	2	0,0	NC	100 (34,2-100) 2/2
	Sintomi di vaginite ricorrenti negli ultimi 12 mesi	859	28,6	90,7 (86,4-93,7) 223/246	91,2 (88,7-93,2) 559/613
	Rapporti sessuali non protetti nelle ultime 24 ore	95	27,4	88,5 (71,0-96,0) 23/26	85,5 (75,3-91,9) 59/69
	Incinta	21	52,4	100 (74,1-100) 11/11	100 (72,2-100) 10/10
	Con mestruazioni	116	30,2	97,1 (85,5-99,5) 34/35	88,9 (80,2-94,0) 72/81
	Senza mestruazioni	1207	29,7	93,0 (89,9-95,2) 333/358	91,0 (88,9-92,8) 773/849
	Post-menopausa	154	18,8	86,2 (69,4-94,5) 25/29	92,0 (85,9-95,6) 115/125

CI = intervallo di confidenza, NC = non calcolabile, Prev = prevalenza

[1] I soggetti possono riferire condizioni cliniche multiple; la somma del numero di soggetti in tutti i sottogruppi non equivale al numero complessivo dei soggetti.

[2] CI dello score.

Caratteristiche prestazionali della Candida glabrata

La sensibilità e la specificità del test Aptima CV/TV assay per il rilevamento della *Candida glabrata* sono illustrate nella Tabella 8 per entrambi i tipi di campione complessivi e suddivisi per centro. L'esecuzione del test è illustrata nella Tabella 9, suddivisa per etnia, e nella Tabella 10 suddivisa per condizione clinica.

Tabella 8: Caratteristiche prestazionali della Candida glabrata in donne sintomatiche, suddivise per centro di prelievo

	Tamponi vaginali raccolti dal medico				Tamponi vaginali raccolti dalla paziente			
Centro	**N**	**Prev (%)**	**% Sensibilità (CI del 95%)[1]**	**% Specificità (CI del 95%)[1]**	**N**	**Prev (%)**	**% Sensibilità (CI del 95%)[1]**	**% Specificità (CI del 95%)[1]**
Tutti	**1.483**	**4,0**	**84,7 (73,5-91,8) 50/59[2]**	**99,1 (98,4-99,5) 1.411/1.424[3]**	**1.475**	**3,9**	**86,2 (75,1-92,8) 50/58[4]**	**98,7 (98,0-99,2) 1.399/1.417[5]**
1	20	5,0	100 (20,7-100) 1/1	100 (83,2-100) 19/19	20	5,0	100 (20,7-100) 1/1	100 (83,2-100) 19/19
2	5	0,0	NC	100 (56,6-100) 5/5	5	0,0	NC	100 (56,6-100) 5/5
3	22	0,0	NC	100 (85,1-100) 22/22	22	0,0	NC	100 (85,1-100) 22/22
4	216	5,6	66,7 (39,1-86,2) 8/12	98,5 (95,8-99,5) 200/203	213	5,6	75,0 (46,8-91,1) 9/12	97,0 (93,6-98,6) 195/201
5	146	4,8	100 (64,6-100) 7/7	100 (97,3-100) 140/140	144	4,9	100 (64,6-100) 7/7	99,3 (96,0-99,9) 136/137
6	72	2,8	100 (34,2-100) 2/2	98,6 (92,3-99,7) 69/70	72	2,8	100 (34,2-100) 2/2	98,6 (92,3-99,7) 69/70
7	197	7,1	71,4 (45,4-88,3) 10/14	97,3 (93,8-98,8) 178/183	197	7,1	71,4 (45,4-88,3) 10/14	97,8 (94,5-99,1) 179/183
8	1	0,0	NC	100 (20,7-100) 1/1	1	0,0	NC	100 (20,7-100) 1/1
9	108	1,9	100 (34,2-100) 2/2	100 (96,5-100) 106/106	108	1,9	100 (34,2-100) 2/2	99,1 (94,8-99,8) 105/106
10	17	5,9	100 (20,7-100) 1/1	100 (80,6-100) 16/16	17	5,9	100 (20,7-100) 1/1	100 (80,6-100) 16/16
11	71	4,2	100 (43,9-100) 3/3	98,5 (92,1-99,7) 67/68	72	4,2	100 (43,9-100) 3/3	98,6 (92,2-99,7) 68/69
12	138	2,9	100 (51,0-100) 4/4	100 (97,2-100) 134/134	135	2,2	100 (43,9-100) 3/3	99,2 (95,8-99,9) 131/132
13	69	1,4	100 (20,7-100) 1/1	100 (94,7-100) 68/68	68	1,5	100 (20,7-100) 1/1	98,5 (92,0-99,7) 66/67

Tabella 8: Caratteristiche prestazionali della Candida glabrata in donne sintomatiche, suddivise per centro di prelievo

	Tamponi vaginali raccolti dal medico				Tamponi vaginali raccolti dalla paziente			
Centro	**N**	**Prev (%)**	**% Sensibilità (CI del 95%)[1]**	**% Specificità (CI del 95%)[1]**	**N**	**Prev (%)**	**% Sensibilità (CI del 95%)[1]**	**% Specificità (CI del 95%)[1]**
14	9	0,0	NC	100 (70,1-100) 9/9	9	0,0	NC	100 (70,1-100) 9/9
15	4	0,0	NC	100 (51,0-100) 4/4	4	0,0	NC	100 (51,0-100) 4/4
16	30	0,0	NC	96,7 (83,3-99,4) 29/30	30	0,0	NC	96,7 (83,3-99,4) 29/30
17	80	2,5	50,0 (9,5-90,5) 1/2	98,7 (93,1-99,8) 77/78	80	2,5	50,0 (9,5-90,5) 1/2	100 (95,3-100) 78/78
18	85	1,2	100 (20,7-100) 1/1	100 (95,6-100) 84/84	85	1,2	100 (20,7-100) 1/1	100 (95,6-100) 84/84
19	75	5,3	100 (51,0-100) 4/4	100 (94,9-100) 71/71	75	5,3	100 (51,0-100) 4/4	100 (94,9-100) 71/71
20	39	5,1	100 (34,2-100) 2/2	100 (90,6-100) 37/37	39	5,1	100 (34,2-100) 2/2	100 (90,6-100) 37/37
21	79	3,8	100 (43,9-100) 3/3	98,7 (92,9-99,8) 75/76	79	3,8	100 (43,9-100) 3/3	98,7 (92,9-99,8) 75/76

CI = intervallo di confidenza, NC = non calcolabile, Prev = prevalenza

[1] CI dello score.

[2] Tutti i 9 campioni con risultati falso negativi non hanno evidenziato alcuna proliferazione di *C. glabrata* in agar cromogeno.

[3] Dei 13 campioni con risultati falso negativi, 2 hanno evidenziato alta proliferazione (4+), 2 hanno evidenziato bassa proliferazione (≤2+), e 9 hanno evidenziato proliferazione pari a zero di *C. glabrata* in agar cromogeno.

[4] Degli 8 campioni con risultati falso negativi, 7 non hanno evidenziato alcuna proliferazione e 1 ha evidenziato alta proliferazione (4+) di *C. glabrata* in agar cromogeno.

[5] Dei 18 campioni con risultati falso negativi, 2 hanno evidenziato alta proliferazione (4+), 2 hanno evidenziato bassa proliferazione (≤2+), e 14 hanno evidenziato proliferazione pari a zero di *C. glabrata* in agar cromogeno.

Tabella 9: Caratteristiche prestazionali della Candida glabrata in donne sintomatiche, suddivise per etnia

Tipo di campione biologico	Etnia	N	Prev (%)	% Sensibilità (CI del 95%)[1]	% Specificità (CI del 95%)[1]
Tamponi vaginali raccolti dal medico	**Tutti**	**1.483**	**4,0**	**84,7 (73,5-91,8) 50/59**	**99,1 (98,4-99,5) 1.411/1.424**
	Asiatica	72	4,2	100 (43,9-100) 3/3	100 (94,7-100) 69/69
	Di colore/Afroamericana	747	4,1	74,2 (56,8-86,3) 23/31	98,7 (97,6-99,3) 707/716
	Bianca (Ispanica/Latina)	264	3,0	87,5 (52,9-97,8) 7/8	99,6 (97,8-99,9) 255/256
	Bianca (Non Ispanica/Latina)	336	4,2	100 (78,5-100) 14/14	99,1 (97,3-99,7) 319/322
	Altro[2]	64	4,7	100 (43,9-100) 3/3	100 (94,1-100) 61/61
Tamponi vaginali raccolti dalla paziente	**Tutti**	**1.475**	**3,9**	**86,2 (75,1-92,8) 50/58**	**98,7 (98,0-99,2) 1.399/1.417**
	Asiatica	71	4,2	100 (43,9-100) 3/3	98,5 (92,1-99,7) 67/68
	Di colore/Afroamericana	744	4,2	77,4 (60,2-88,6) 24/31	98,7 (97,6-99,3) 704/713
	Bianca (Ispanica/Latina)	264	3,0	87,5 (52,9-97,8) 7/8	99,2 (97,2-99,8) 254/256
	Bianca (Non Ispanica/Latina)	332	3,9	100 (77,2-100) 13/13	98,4 (96,4-99,3) 314/319
	Altro[2]	64	4,7	100 (43,9-100) 3/3	98,4 (91,3-99,7) 60/61

CI = intervallo di confidenza, Prev = prevalenza

[1] CI dello score.

[2] Include altre etnie, miste e non note, riferite dalle pazienti.

Tabella 10: Caratteristiche prestazionali della Candida glabrata in donne sintomatiche, suddivise per condizione clinica

Tipo di raccolta	Condizione clinica	N[1]	Prev (%)	% Sensibilità (CI del 95%)[2]	% Specificità (CI del 95%)[2]
Tamponi vaginali raccolti dal medico	**Tutti**	**1.483**	**4,0**	**84,7 (73,5-91,8) 50/59**	**99,1 (98,4-99,5) 1.411/1.424**
	Uso di antibiotici	5	20,0	100 (20,7-100) 1/1	100 (51,0-100) 4/4
	Uso di antimicotici	8	12,5	100 (20,7-100) 1/1	100 (64,6-100) 7/7
	Uso di terapia estrogenica	2	0,0	NC	100 (34,2-100) 2/2
	Sintomi di vaginite ricorrenti negli ultimi 12 mesi	861	3,9	88,2 (73,4-95,3) 30/34	99,0 (98,1-99,5) 819/827
	Rapporti sessuali non protetti nelle ultime 24 ore	96	4,2	100 (51,0-100) 4/4	100 (96,0-100) 92/92
	Incinta	20	0,0	NC	95,0 (76,4-99,1) 19/20
	Con mestruazioni	117	2,6	100 (43,9-100) 3/3	100 (96,7-100) 114/114
	Senza mestruazioni	1.209	3,8	80,4 (66,8-89,3) 37/46	99,1 (98,4-99,5) 1153/1163
	Post-menopausa	157	6,4	100 (72,2-100) 10/10	98,0 (94,2-99,3) 144/147
Tamponi vaginali raccolti dalla paziente	**Tutti**	**1.475**	**3,9**	**86,2 (75,1-92,8) 50/58**	**98,7 (98,0-99,2) 1.399/1.417**
	Uso di antibiotici	5	20,0	100 (20,7-100) 1/1	100 (51,0-100) 4/4
	Uso di antimicotici	8	12,5	100 (20,7-100) 1/1	100 (64,6-100) 7/7
	Uso di terapia estrogenica	2	0,0	NC	100 (34,2-100) 2/2
	Sintomi di vaginite ricorrenti negli ultimi 12 mesi	858	4,0	91,2 (77,0-97,0) 31/34	99,2 (98,3-99,6) 817/824
	Rapporti sessuali non protetti nelle ultime 24 ore	95	4,2	100 (51,0-100) 4/4	100 (95,9-100) 91/91
	Incinta	21	0,0	NC	90,5 (71,1-97,3) 19/21
	Con mestruazioni	116	2,6	100 (43,9-100) 3/3	100 (96,7-100) 113/113
	Senza mestruazioni	1.205	3,8	84,8 (71,8-92,4) 39/46	99,0 (98,2-99,4) 1.147/1.159
	Post-menopausa	154	5,8	88,9 (56,5-98,0) 8/9	95,9 (91,3-98,1) 139/145

CI = intervallo di confidenza, NC = non calcolabile, Prev = prevalenza

[1] I soggetti possono riferire condizioni cliniche multiple; la somma del numero di soggetti in tutti i sottogruppi non equivale al numero complessivo dei soggetti.

[2] CI dello score.

In base alla prevista bassa prevalenza di *Candida glabrata*, la prestazione del test Aptima CV/TV assay è stata valutata anche tramite l'uso di campioni biologici artificiali, a integrazione dei dati raccolti durante lo studio clinico. I campioni artificiali sono stati preparati aggiungendo cinque diversi ceppi di *Candida glabrata* a una matrice simulata di tampone vaginale, in concentrazioni a LoD del test 3X, 10X, e 20X. Sono stati anche analizzati campioni vero-negativi contenenti la sola matrice. La concordanza è stata del 100% per tutti i campioni artificiali (vedere Tabella 11).

Tabella 11: Concordanza dei campioni artificiali per la Candida glabrata

	N	*C. glabrata* Aptima-positivo	*C. glabrata* Aptima-negativo	% PPA (CI del 95%)[1]	% NPA (CI del 95%)[1]
Vero-negativo	60	0	60	NC	100 (94,0-100)
Basso-positivo (LoD 3X)	30	30	0	100 (88,6-100)	NC
Moderatamente positivo |LoD 10X	15	15	0	100 (79,6-100)	NC
Alto-positivo (LoD 20X)	15	15	0	100 (79,6-100)	NC

NC = non calcolabile, LoD = limite di rilevamento, NPA = concordanza negativa percentuale, PPA = concordanza positiva percentuale

[1] CI dello score.

Caratteristiche prestazionali del Trichomonas vaginalis

La sensibilità e la specificità del test Aptima CV/TV assay per il rilevamento del *Trichomonas vaginalis* sono illustrate nella Tabella 12 per entrambi i tipi di campione complessivi e suddivisi per centro. L'esecuzione del test è illustrata nella Tabella 13, suddivisa per etnia, e nella Tabella 14 suddivisa per condizione clinica.

Tabella 12: Caratteristiche prestazionali del Trichomonas vaginalis in donne sintomatiche, suddivise per centro di prelievo

	Tamponi vaginali raccolti dal medico				Tamponi vaginali raccolti dalla paziente			
Centro	N	Prev (%)	% Sensibilità (CI del 95%)[1]	% Specificità (CI del 95%)[1]	N	Prev (%)	% Sensibilità (CI del 95%)[1]	% Specificità (CI del 95%)[1]
Tutti	**1.438**	**9,9**	**96,5 (92,0-98,5) 137/142[2]**	**95,1 (93,8-96,2) 1.233/1.296[3]**	**1.433**	**9,8**	**97,1 (92,9-98,9) 136/140[4]**	**98,9 (98,2-99,4) 1.279/1.293[5]**
1	16	6,3	100 (20,7-100) 1/1	100 (79,6-100) 15/15	16	6,3	100 (20,7-100) 1/1	100 (79,6-100) 15/15
2	1	0,0	NC	100 (20,7-100) 1/1	1	0,0	NC	100 (20,7-100) 1/1
3	21	9,5	100 (34,2-100) 2/2	100 (83,2-100) 19/19	21	9,5	100 (34,2-100) 2/2	100 (83,2-100) 19/19

Tabella 12: Caratteristiche prestazionali del Trichomonas vaginalis in donne sintomatiche, suddivise per centro di prelievo

	Tamponi vaginali raccolti dal medico				Tamponi vaginali raccolti dalla paziente			
Centro	**N**	**Prev (%)**	**% Sensibilità (CI del 95%)[1]**	**% Specificità (CI del 95%)[1]**	**N**	**Prev (%)**	**% Sensibilità (CI del 95%)[1]**	**% Specificità (CI del 95%)[1]**
4	213	17,4	97,3 (86,2-99,5) 36/37	83,5 (77,3-88,3) 147/176	211	17,1	100 (90,4-100) 36/36	98,9 (95,9-99,7) 173/175
5	145	7,6	100 (74,1-100) 11/11	98,5 (94,7-99,6) 132/134	143	7,7	100 (74,1-100) 11/11	100 (97,2-100) 132/132
6	68	1,5	100 (20,7-100) 1/1	98,5 (92,0-99,7) 66/67	68	1,5	100 (20,7-100) 1/1	100 (94,6-100) 67/67
7	197	23,9	100 (92,4-100) 47/47	83,3 (76,6-88,4) 125/150	197	23,9	100 (92,4-100) 47/47	93,3 (88,2-96,3) 140/150
8	1	100,0	100 (20,7-100) 1/1	NC	1	100,0	100 (20,7-100) 1/1	NC
9	105	3,8	100 (51,0-100) 4/4	100 (96,3-100) 101/101	105	3,8	100 (51,0-100) 4/4	100 (96,3-100) 101/101
10	17	0,0	NC	100 (81,6-100) 17/17	17	0,0	NC	100 (81,6-100) 17/17
11	70	7,1	80,0 (37,6-96,4) 4/5	93,8 (85,2-97,6) 61/65	71	7,0	80,0 (37,6-96,4) 4/5	100 (94,5-100) 66/66
12	130	3,1	75,0 (30,1-95,4) 3/4	100 (97,0-100) 126/126	129	3,1	75,0 (30,1-95,4) 3/4	100 (97,0-100) 125/125
13	69	10,1	100 (64,6-100) 7/7	96,8 (89,0-99,1) 60/62	69	10,1	100 (64,6-100) 7/7	98,4 (91,4-99,7) 61/62
14	8	0,0	NC	100 (67,6-100) 8/8	8	0,0	NC	100 (67,6-100) 8/8
15	4	25,0	0,0 (0,0-79,3) 0/1	100 (43,9-100) 3/3	4	25,0	0,0 (0,0-79,3) 0/1	100 (43,9-100) 3/3
16	28	10,7	100 (43,9-100) 3/3	100 (86,7-100) 25/25	28	10,7	100 (43,9-100) 3/3	100 (86,7-100) 25/25
17	74	2,7	100 (34,2-100) 2/2	100 (94,9-100) 72/72	74	2,7	100 (34,2-100) 2/2	98,6 (92,5-99,8) 71/72
18	83	4,8	100 (51,0-100) 4/4	100 (95,4-100) 79/79	83	4,8	100 (51,0-100) 4/4	100 (95,4-100) 79/79
19	71	4,2	66,7 (20,8-93,9) 2/3	100 (94,7-100) 68/68	71	4,2	66,7 (20,8-93,9) 2/3	100 (94,7-100) 68/68
20	39	0,0	NC	100 (91,0-100) 39/39	39	0,0	NC	100 (91,0-100) 39/39

Tabella 12: Caratteristiche prestazionali del Trichomonas vaginalis in donne sintomatiche, suddivise per centro di prelievo

	Tamponi vaginali raccolti dal medico				Tamponi vaginali raccolti dalla paziente			
Centro	**N**	**Prev (%)**	**% Sensibilità (CI del 95%)[1]**	**% Specificità (CI del 95%)[1]**	**N**	**Prev (%)**	**% Sensibilità (CI del 95%)[1]**	**% Specificità (CI del 95%)[1]**
21	78	11,5	100 (70,1-100) 9/9	100 (94,7-100) 69/69	77	10,4	100 (67,6-100) 8/8	100 (94,7-100) 69/69

CI = intervallo di confidenza, NC = non calcolabile, Prev = prevalenza

[1] CI dello score.

[2] Dei 5 campioni con risultati falso-negativi, 3 sono risultati negativi a un secondo test NAAT per la TV, approvato dalla FDA.

[3] Dei 63 campioni con risultati falso-positivi, 56 sono risultati positivi a un secondo test NAAT per la TV, approvato dalla FDA.

[4] Dei 4 campioni con risultati falso-negativi, 3 sono risultati negativi a un secondo test NAAT per la TV, approvato dalla FDA.

[5] Dei 14 campioni con risultati falso-positivi, 8 sono risultati positivi a un secondo test NAAT per la TV, approvato dalla FDA.

Tabella 13: Caratteristiche prestazionali del Trichomonas vaginalis in donne sintomatiche, suddivise per etnia

Tipo di campione biologico	**Etnia**	**N**	**Prev (%)**	**% Sensibilità (CI del 95%)[1]**	**% Specificità (CI del 95%)[1]**
Tamponi vaginali raccolti dal medico	**Tutti**	**1.438**	**9,9**	**96,5 (92,0-98,5) 137/142**	**95,1 (93,8-96,2) 1.233/1.296**
	Asiatica	67	6,0	100 (51,0-100) 4/4	98,4 (91,5-99,7) 62/63
	Di colore/Afroamericana	727	14,2	98,1 (93,2-99,5) 101/103	93,3 (91,0-95,0) 582/624
	Bianca (Ispanica/Latina)	257	6,6	94,1 (73,0-99,0) 16/17	95,0 (91,5-97,1) 228/240
	Bianca (Non Ispanica/Latina)	326	4,0	84,6 (57,8-95,7) 11/13	97,4 (95,0-98,7) 305/313
	Altro[2]	61	8,2	100 (56,6-100) 5/5	100 (93,6-100) 56/56
Tamponi vaginali raccolti dalla paziente	**Tutti**	**1.433**	**9,8**	**97,1 (92,9-98,9) 136/140**	**98,9 (98,2-99,4) 1.279/1.293**
	Asiatica	66	6,1	100 (51,0-100) 4/4	100 (94,2-100) 62/62
	Di colore/Afroamericana	724	14,0	98,0 (93,1-99,5) 99/101	98,7 (97,5-99,3) 615/623
	Bianca (Ispanica/Latina)	258	6,6	94,1 (73,0-99,0) 16/17	97,9 (95,2-99,1) 236/241
	Bianca (Non Ispanica/Latina)	324	4,0	92,3 (66,7-98,6) 12/13	99,7 (98,2-99,9) 310/311
	Altro[2]	61	8,2	100 (56,6-100) 5/5	100 (93,6-100) 56/56

CI = intervallo di confidenza, Prev = prevalenza

[1] CI dello score.

[2] Include altre etnie, miste e non note, riferite dalle pazienti.

Tabella 14: Caratteristiche prestazionali del Trichomonas vaginalis in donne sintomatiche, suddivise per condizione clinica

Tipo di raccolta	Condizione clinica	N[1]	Prev (%)	% Sensibilità (CI del 95%)[2]	% Specificità (CI del 95%)[2]
Tamponi vaginali raccolti dal medico	**Tutti**	**1.438**	**9,9**	**96,5 (92,0-98,5) 137/142**	**95,1 (93,8-96,2) 1.233/1.296**
	Uso di antibiotici	5	0,0	NC	100 (56,6-100) 5/5
	Uso di antimicotici	7	0,0	NC	100 (64,6-100) 7/7
	Uso di terapia estrogenica	2	0,0	NC	100 (34,2-100) 2/2
	Sintomi di vaginite ricorrenti negli ultimi 12 mesi	841	8,1	95,6 (87,8-98,5) 65/68	94,7 (92,9-96,1) 732/773
	Rapporti sessuali non protetti nelle ultime 24 ore	94	12,8	91,7 (64,6-98,5) 11/12	96,3 (89,8-98,7) 79/82
	Incinta	20	15,0	66,7 (20,8-93,9) 2/3	100 (81,6-100) 17/17
	Con mestruazioni	112	9,8	90,9 (62,3-98,4) 10/11	97,0 (91,6-99,0) 98/101
	Senza mestruazioni	1176	9,9	97,4 (92,7-99,1) 114/117	95,3 (93,8-96,4) 1009/1059
	Post-menopausa	150	9,3	92,9 (68,5-98,7) 13/14	92,6 (87,0-96,0) 126/136
Tamponi vaginali raccolti dalla paziente	**Tutti**	**1.433**	**9,8**	**97,1 (92,9-98,9) 136/140**	**98,9 (98,2-99,4) 1.279/1.293**
	Uso di antibiotici	5	0,0	NC	100 (56,6-100) 5/5
	Uso di antimicotici	7	0,0	NC	100 (64,6-100) 7/7
	Uso di terapia estrogenica	2	0,0	NC	100 (34,2-100) 2/2
	Sintomi di vaginite ricorrenti negli ultimi 12 mesi	839	8,0	97,0 (89,8-99,2) 65/67	98,4 (97,3-99,1) 760/772
	Rapporti sessuali non protetti nelle ultime 24 ore	93	12,9	100 (75,8-100) 12/12	100 (95,5-100) 81/81
	Incinta	21	14,3	66,7 (20,8-93,9) 2/3	100 (82,4-100) 18/18
	Con mestruazioni	112	9,8	90,9 (62,3-98,4) 10/11	99,0 (94,6-99,8) 100/101
	Senza mestruazioni	1.173	9,8	97,4 (92,6-99,1) 112/115	98,9 (98,0-99,4) 1.046/1.058
	Post-menopausa	148	9,5	100 (78,5-100) 14/14	99,3 (95,9-99,9) 133/134

CI = intervallo di confidenza, NC = non calcolabile, Prev = prevalenza

[1] I soggetti possono riferire condizioni cliniche multiple; la somma del numero di soggetti in tutti i sottogruppi non equivale al numero complessivo dei soggetti.

[2] CI dello score.

Gli indici di rilevamento associato, calcolati per i campioni con test Aptima CV/TV assay valido e definitivo, insieme ai risultati di riferimento per tutti i target, sono riportati nella Tabella 15.

Tabella 15: Indici di rilevamento associato con test Aptima CV/TV assay in donne sintomatiche

Analiti rilevati	Tamponi vaginali raccolti dal medico	Tamponi vaginali raccolti dalla paziente
Membri del gruppo *Candida* e *C. glabrata*	1,4% (21/1487)	1,6% (23/1478)
Membri del gruppo *Candida* e *T. vaginalis*	2,7% (40/1487)	3,1% (46/1478)
Membri del gruppo *Candida* e *C. glabrata,* e *T. vaginalis*	0,3% (4/1487)	0,3 (5/1478)
C. glabrata* e *T. vaginalis	0,2% (3/1487)	0,1% (1/1478)
Totale	4,6% (68/1487)	5,1% (75/1478)

Indici di positività in donne asintomatiche

Il rilevamento di uno squilibrio del microbioma vaginale pertiene alle decisioni sul trattamento. Sebbene il test Aptima CV/TV assay non sia destinato all'analisi di campioni prelevati da donne asintomatiche, è possibile che anche in queste ultime siano presenti organismi associati a candidosi vulvovaginale, rilevati dal test Aptima CV/TV assay. La presenza di target del test Aptima CV/TV assay è stata valutata nei campioni di tampone vaginale di 171 donne asintomatiche, raccolti dal medico. Un riepilogo degli indici di rilevamento dei membri del gruppo *Candida* e della *Candida glabrata*, secondo quanto determinato dal test Aptima CV/TV assay, viene illustrato nella Tabella 16 per lo studio multicentrico in base all'etnia e complessivamente.

Tabella 16: Positività determinata dal test Aptima CV/TV Assay su donne asintomatiche

	% Positività (n. positive/n. analizzate con risultati validi)	
	Membri del gruppo *Candida*	***Candida glabrata***
Tutti	**21,1% (36/171)**	**8,8% (15/171)**
Asiatica	0,0% (0/5)	0,0% (0/5)
Di colore/Afroamericana	28,0% (21/75)	12,0% (9/75)
Bianca (Ispanica/Latina)	17,1% (7/41)	4,9% (2/41)
Bianca (Non Ispanica/Latina)	11,6% (5/43)	7,0% (3/43)
Altro[1]	42,9% (3/7)	14,3% (1/7)

[1] Include altre etnie, miste e non note, riferite dalle pazienti.

Percentuali di non validità

Un totale di 3.295 campioni raccolti da medici e pazienti su soggetti sintomatici e asintomatici sono stati trattati in sessioni analitiche del test Aptima CV/TV assay valide, allo scopo di stabilire la prestazione clinica. Di questi, lo 1,7% ha dato risultati iniziali non validi. In seguito a rianalisi, lo 0,5% si è mantenuto non valido ed è stato escluso da tutte le analisi.

Prestazioni analitiche del Panther System

Sensibilità analitica

La sensibilità analitica/LoD del test Aptima CV/TV assay è stata determinata analizzando una serie di pannelli costituiti da organismi target diluiti in campioni clinici negativi in pool o in una matrice simulata di tampone vaginale (SVSM). È stato analizzato un minimo di 20 replicati di ogni elemento del pannello con ciascuno dei due lotti di reagenti, per un minimo di 40 replicati per ogni elemento del pannello. È stata eseguita un'analisi Probit per generare i limiti di rilevamento previsti (95%) per ciascun organismo. I limiti di rilevamento previsti sono illustrati nella Tabella 17.

Tabella 17: Limite di rilevamento del test Aptima CV/TV Assay

Organismo	Limite di rilevamento previsto	Concentrazione	Unità
C. albicans	95%	4439	CFU/mL
C. glabrata	95%	41	CFU/mL
C. parapsilosis[1]	95%	9416	CFU/mL
C. tropicalis[1]	95%	811	CFU/mL
C. dubliniensis[1]	95%	1176	CFU/mL
T. vaginalis	95%	0,0024	Cellule/mL

[1]Testato in matrice simulata di tampone vaginale

Inclusività analitica

Cinque ceppi di ciascun organismo target di *Candida* sono stati testati utilizzando un target del lisato a LoD 3X per *C. albicans*, *C. parapsilosis, C. tropicalis, C. dubliniensis* e *C. glabrata* in SVSM. Nove ceppi di *T. vaginalis* comprendenti un ceppo metronidazolo-resistente sono stati analizzati con un target del lisato cellulare a LoD 3X in SVSM. Il test Aptima CV/TV assay è risultato positivo per tutti i ceppi di *Candida* analizzati a LoD 3X. Otto dei nove ceppi di *T. vaginalis*, incluso quello metronidazolo-resistente, sono stati rilevati a LoD 3X. Un ceppo di *T. vaginalis* è stato rilevato a LoD 4X.

Cross-reattività e Interferenza microbica

Gli indici di cross-reattività e interferenza microbica con il test Aptima CV/TV assay sono stati valutati in presenza di organismi strettamente correlati e non-target. Un pannello formato da 64 organismi e linee cellulari umane (Tabella 18) è stato analizzato in SVSM, in assenza o in presenza di *C. albicans*, *C. glabrata* o *T. vaginalis* a LoD 3X. In nessuno dei 64 organismi analizzati con test Aptima CV/TV assay alle concentrazioni elencate nella Tabella 18 sono state osservate cross-reattività o interferenza microbica.

Tabella 18: Pannello di cross-reattività e interferenza microbica

Microrganismo	Concentrazione	Microrganismo	Concentrazione
Acinetobacter lwoffii	1x10^6 CFU/mL	Virus dell'Herpes simplex I	1x10^4 TCID 50/mL
Actinomyces israelii	1x10^6 CFU/mL	Virus dell'Herpes simplex II	1x10^4 TCID 50/mL
Alcaligenes faecalis	1x10^6 CFU/mL	*Klebsiella pneumoniae*	1x10^6 CFU/mL
Atopobium vaginae	1x10^6 CFU/mL	*Lactobacillus acidophilus*	1x10^6 CFU/mL
Bacteroides fragilis	1x10^6 CFU/mL	*Lactobacillus crispatus*	1x10^6 CFU/mL
Bifidobacterium adolescentis	1x10^6 CFU/mL	*Lactobacillus gasseri*	1x10^6 CFU/mL
BVAB-1[1]	1x10^6 copie/mL	*Lactobacillus iners*	1x10^6 CFU/mL
BVAB-2[1]	1x10^6 copie/mL	*Lactobacillus jensenii*	1x10^6 CFU/mL
Campylobacter jejuni	1x10^6 CFU/mL	*Lactobacillus mucosae*	1x10^6 CFU/mL
Candida catenulata	1x10^6 CFU/mL	*Leptotrichia buccalis*	1x10^6 CFU/mL
Candida famata[2]	5x10^5 CFU/mL	*Listeria monocytogenes*	1x10^6 CFU/mL
Candida guilliermondii	1x10^6 CFU/mL	*Megasphaera tipo 1*[1]	1x10^6 copie/mL
Candida haemulonii	1x10^6 CFU/mL	*Mobiluncus curtisii*	1x10^6 CFU/mL
Candida inconspicua	1x10^6 CFU/mL	*Mycoplasma genitalium*	1x10^6 CFU/mL
Candida kefyr	1x10^6 CFU/mL	*Mycoplasma hominis*	1x10^6 CFU/mL
Candida krusei	1x10^6 CFU/mL	*Neisseria gonorrhoeae*	1x10^6 CFU/mL
Candida lusitaniae	1x10^6 CFU/mL	*Peptostreptococcus magnus*	1x10^6 CFU/mL
Candida norvegica	1x10^6 CFU/mL	*Pentatrichomonas hominis*	1x10^5 cellule/mL
Candida orthopsilosis	1x10^6 CFU/mL	*Pichia fermentans*	1x10^6 CFU/mL
Chlamydia trachomatis	1x10^6 IFU/mL	*Prevotella bivia*	1x10^6 CFU/mL
Clostridium difficile	1x10^6 CFU/mL	*Propionibacterium acnes*	1x10^6 CFU/mL
Corynebacterium genitalium	1x10^6 CFU/mL	*Proteus vulgaris*	1x10^6 CFU/mL
Cryptococcus neoformans	1x10^6 CFU/mL	Cellule SiHa	1x10^4 cellule/mL
Eggerthella lenta	1x10^6 CFU/mL	*Sneathia amnii*	1x10^6 CFU/mL
Enterobacter cloacae	1x10^6 CFU/mL	*Staphylococcus aureus*	1x10^6 CFU/mL
Enterococcus feacalis	1x10^6 CFU/mL	*Staphylococcus epidermidis*	1x10^6 CFU/mL
Escherichia coli	1x10^6 CFU/mL	*Streptococcus agalactiae*	1x10^6 CFU/mL
Fusobacterium nucleatum	1x10^6 CFU/mL	*Streptococcus pyogenes*	1x10^6 CFU/mL
Gardnerella vaginalis	1x10^6 CFU/mL	*Treponema pallidum*[1]	1x10^6 copie/mL
Haemophilus ducreyi	1x10^6 CFU/mL	*Trichomonas tenax*	1x10^5 cellule/mL
Cellule HeLa	1x10^4 cellule/mL	*Ureaplasma parvum*	1x10^6 CFU/mL
HIV	1x10^5 copie/mL	*Ureaplasma urealyticum*	1x10^6 CFU/mL

CFU = Unità formanti colonie; IFU = Unità formanti inclusione; TCID50 = Dose infettante il 50% del tessuto di coltura

[1] Analizzato tramite trascrizione in vitro.

[2] È stata rilevata cross-reattività con la *Candida famata* a concentrazioni superiori a 5x10^5 CFU/mL.

Interferenza

Sostanze potenzialmente interferenti sono state analizzate con il test Aptima CV/TV assay. I pannelli sono stati costituiti in una SVSM e valutati per gli effetti potenziali sia sulla sensibilità analitica sia sulla specificità. L'andamento della sensibilità è stato valutato separatamente per *C. albicans, C. glabrata,* e *T. vaginalis*, tramite aggiunta di lisato a LoD 3X. È stata valutata anche la specificità dei pannelli negativi contenenti ciascuna sostanza.

Nessuna interferenza è stata rilevata in presenza delle seguenti sostanze esogene ed endogene, analizzate alle concentrazioni elencate nella Tabella 19.

Tabella 19: Pannello delle sostanze interferenti

Sostanza	Concentrazione finale[1]
Sangue intero	V/V 5%
Leucociti	1x10^{6} cellule/mL
Muco	V/V 5%
Liquido seminale	V/V 5%
Schiuma contraccettiva	W/V 5%
Pellicola contraccettiva	W/V 5%
Tioconazolo[2]	W/V 2%
Sapone intimo	W/V 5%
Progesterone	W/V 5%
Estradiolo	W/V 5%
Acyclovir	W/V 5%
Metronidazolo	W/V 5%
Crema per le emorroidi	W/V 5%
Gel idratante vaginale[3]	W/V 0,5%
Lubrificante	V/V 5%
Spermicida	W/V 5%
Antifungino	W/V 5%
Deodorante/Spray	W/V 5%
Acido acetico glaciale[4]	V/V 4%
Vagisil Crema	W/V 5%

W/V = peso per volume; V/V = volume per volume

[1] la dicitura Concentrazione finale rappresenta la concentrazione finale nel campione, se analizzato sullo strumento Panther.

[2] Tioconazolo unguento 6,5%: È stata rilevata un'interferenza con valori W/V ≥al 3% per tutti gli analiti. Nessuna interferenza è stata rilevata con valori W/V al 2% per tutti gli analiti.

[3] Gel idratante vaginale: È stata rilevata un'interferenza con valori W/V all'≥1% per *C. albicans*, W/V al 5% per *C. glabrata* e W/V al ≥3% per *T. vaginalis.* Nessuna interferenza è stata rilevata con valori W/V allo 0,5% per *C. albicans*, W/V al 4% per *C. glabrata* e W/V al 2% per *T. vaginalis.*

[4] Acido acetico glaciale: È stata rilevata un'interferenza con valori V/V al 5% per *C. albicans*. Nessuna interferenza è stata rilevata con valori V/V allo 4% per *C. albicans*, V/V al 5% per *C. glabrata* e V/V al 5% per T. vaginalis.

Precisione interna al laboratorio

I dati relativi alla precisione interna al laboratorio sono stati valutati su tre Panther System di una struttura. Tre operatori hanno eseguito le analisi nell'arco di 22 giorni, con tre lotti di reagente. Ciascun operatore ha eseguito due sessioni analitiche al giorno, impiegando un pannello di sette elementi. Ciascuna sessione analitica è stata caratterizzata da tre replicati per ciascun elemento del pannello.

Gli elementi del pannello sono stati costituiti con *C. albicans*, *C. glabrata* o *T. vaginalis* in SVSM. I sei elementi del pannello positivi hanno identificato i target *C. albicans* in Basso- e Moderatamente positivo, *C. glabrata* a Basso- e Moderatamente positivo, e *T. vaginalis* a Basso- e Moderatamente positivo. Un elemento del pannello negativo conteneva solo la matrice, senza analiti target aggiunti.

I risultati positivi a CV/TV sono illustrati in percentuali nella Tabella 20. La variabilità del segnale (TTime) del test Aptima CV/TV assay è stata calcolata anche per gli elementi del pannello analita-positivi. La variabilità calcolata tra strumenti diversi, tra operatori diversi, tra lotti diversi, tra giorni diversi, tra sessioni analitiche diverse, all'interno delle sessioni analitiche e complessivamente è illustrata nella Tabella 21.

Tabella 20: Precisione - Concordanza del test Aptima CV/TV Assay con i risultati previsti

Pannello (composizione dell'analita)	Positivo / Totale n	Positività prevista	Positività percentuale (CI al 95%)
Negativo (SVSM)	0/162	0%	0 (0,0-2,3)
Basso-positivo (*C. albicans*)	162/162	≥95%	100 (97,7-100,0)
Basso-positivo (*C. glabrata*)	162/162	≥95%	100 (97,7-100,0)
Basso-positivo (*T. vaginalis*)	162/162	≥95%	100 (97,7-100,0)
Moderatamente positivo (*C. albicans*)	162/162	≥95%	100 (97,7-100,0)
Moderatamente positivo (*C. glabrata*)	162/162	≥95%	100 (97,7-100,0)
Moderatamente positivo (*T. vaginalis*)	162/162	≥95%	100 (97,7-100,0)

Tabella 21: Variabilità del segnale del test Aptima CV/TV Assay suddivisa per elemento del pannello

			Tra giorni diversi		Tra strumenti diversi		Tra operatori diversi		Tra lotti diversi		Tra sessioni analitiche		Nella sessione analitica		Totale	
Pannello Descrizione	N	Valore mediano TTime	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
C. albicans Basso-positivo	162	14,96	0,12	0,82	0,00	0,00	0,24	1,59	0,54	3,58	0,23	1,52	0,28	1,84	0,70	4,66
C. glabrata Basso-positivo	162	21,07	0,00	0,00	0,15	0,69	0,25	1,18	0,14	0,65	0,19	0,89	0,40	1,91	0,55	2,59
T. vaginalis Basso-positivo	162	24,09	0,00	0,00	0,33	1,38	0,22	0,93	0,01	0,05	0,21	0,87	0,59	2,46	0,75	3,09
C. albicans Moderatamente positivo	162	14,62	0,11	0,72	0,00	0,00	0,22	1,47	0,43	2,95	0,26	1,77	0,24	1,62	0,60	4,14
C. glabrata Moderatamente positivo	162	20,63	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26	1,27	0,31	1,50	0,26	1,25	0,52	2,51	0,71	3,42

Tabella 21: Variabilità del segnale del test Aptima CV/TV Assay suddivisa per elemento del pannello

			Tra giorni diversi		Tra strumenti diversi		Tra operatori diversi		Tra lotti diversi		Tra sessioni analitiche		Nella sessione analitica		Totale	
Pannello Descrizione	**N**	**Valore mediano TTime**	**DS**	**CV (%)**	**DS**	**CV (%)**	**DS**	**CV (%)**	**DS**	**CV (%)**	**DS**	**CV (%)**	**DS**	**CV (%)**	**DS**	**CV (%)**
T. vaginalis Moderatamente positivo	162	22,73	0,00	0,00	0,12	0,54	0,24	1,08	0,18	0,80	0,28	1,23	0,41	1,79	0,59	2,61

CV = Coefficiente di variazione

Nota: la variabilità da alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa. Ciò può verificarsi se la variabilità dovuta a tali fattori è piuttosto ridotta. In tali casi, i valori DS e CV sono uguali a 0,00.

Co-infezione

Uno studio sulla co-infezione ha valutato la capacità del test Aptima CV/TV assay di rilevare il gruppo *Candida,* la *C. glabrata,* e il *T. vaginalis* nei casi in cui più di un organismo è presente nello stesso campione biologico. Sono state analizzati in combinazione e in SVSM un lisato target a bassa concentrazione e un lisato target ad alta concentrazione. La composizione e le concentrazioni del pannello sono elencate nella Tabella 22. Tutta l'attività di analisi ha prodotto un rilevamento del 100% di entrambi i target, fatta eccezione per la combinazione di *C. glabrata* bassa (LoD 3X) e *T. vaginalis* alto ($1x10^4$ cellule/mL o $1x10^5$ cellule/mL). È stata condotta un'ulteriore analisi, che ha prodotto un rilevamento del 100/ per la combinazione di *C. glabrata* bassa (LoD 3X) e *T. vaginalis* alto ($1x10^3$ cellule/mL).

Tabella 22: Pannello di co-infezione

Elemento del pannello	Concentrazione di *C. albicans*	Concentrazione di *C. glabrata*	Concentrazione di *T. vaginalis*
C. albicans Bassa; *C. glabrata* Alta	13317 CFU/mL[1]	$1x10^6$ CFU/mL	N/P
C. albicans Bassa; *T. vaginalis* Alto	13317 CFU/mL[1]	N/P	$1x10^5$ cellule/mL
C. glabrata Bassa; *T. vaginalis* Alto	N/P	123 CFU/mL[2]	$1x10^3$ cellule/mL
C. albicans Alta; *C. glabrata* Bassa	$1x10^6$ CFU/mL	123 CFU/mL[2]	N/P
C. albicans Alta; *T. vaginalis* Basso	$1x10^6$ CFU/mL	N/P	0,0072 cellule/mL[3]
C. glabrata Alta; *T. vaginalis* Basso	N/P	$1x10^6$ CFU/mL	0,0072 cellule/mL[3]

CFU = unità formanti colonie

[1] LoD 3X *C. albicans.*

[2] LoD 3X *C. glabrata.*

[3] LoD 3X *T. vaginalis.*

Bibliografia

1. Hainer BL, Gibson MV. Vaginitis: Diagnosis and Treatment. Am Fam Physician. Apr 2011 1;83(7):807-15.
2. Granato PA. Vaginitis: Clinical and Laboratory Aspects for Diagnosis. Clinical Microbiology Newsletter. Volume 32, Numero 15, 1 agosto 2010, Pagg. 111–116.
3. Achkar JM, Fries BC. Candida infections of the genitourinary tract. Clin Microbiol Rev. Apr. 2010;23(2):253-73.
4. MMWR, Vol. 64, Nr. 3. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 5 Giugno 2015.
5. Fidel PL Jr, Vazquez JA, Sobel JD. Candida glabrata: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to C. albicans. Clin Microbiol Rev. Apr. 1999;12(1):80-96.
6. Mavedzenge SN, Pol BV, Cheng H, Montgomery ET, Blanchard K, de Bruyn G, Ramjee G, Straten Av. Epidemiological synergy of Trichomonas vaginalis and HIV in Zimbabwean and South African women. Sex Transm Dis. Luglio 2010; 37(7):460-6.
7. Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, Garber G. Clinical and Microbiological Aspects of Trichomonas vaginalis. Clin Microbiol Rev. 1998;11(2):300–317.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13. Wayne, PA; versione attuale.
9. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5. Villanova, PA; versione attuale.
11. Shew M, et al. Association of condom use, sexual behaviors and sexually transmitted infections with the duration of genital human papillomavirus infection among adolescent women. Arch Pediatr Adolesc Med.2006;160(2):151-156.
12. Allsworth J, et al. Trichomoniasis and other sexually transmitted infections: results from the 2001-2004 National Health and Nutrition Examination Surveys. Sex Transm Dis. 2009;36(12):738-744.

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

IVD CE

EC REP
Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Assistenza clienti: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Assistenza tecnica: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Per ulteriori informazioni di contatto, visitare il sito www.hologic.com.

Hologic, Aptima, TMA, Panther e i relativi loghi sono marchi commerciali e/o marchi commerciali registrati di Hologic, Inc. e/o delle aziende consociate negli Stati Uniti e/o in altri paesi.

Tutti gli altri marchi commerciali, marchi commerciali registrati e nomi di prodotti che possono apparire in questo foglietto illustrativo appartengono ai rispettivi proprietari.

Questo prodotto potrebbe essere protetto da uno o più brevetti USA identificati nel sito www.hologic.com/patents.

©2020 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-18812-701 Rev. 004
2020-09