

## Aptima® BV Assay

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

<b>Informazioni generali</b> .....	<b>2</b>
Usò previsto .....	2
Riepilogo e spiegazione del test .....	2
Principi della procedura .....	3
<b>Avvertenze e precauzioni</b> .....	<b>4</b>
<b>Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti</b> .....	<b>7</b>
<b>Raccolta e conservazione dei campioni biologici</b> .....	<b>8</b>
<b>Panther System</b> .....	<b>9</b>
Reagenti e materiali forniti .....	9
Materiali richiesti e disponibili separatamente .....	10
<b>Procedura di analisi del Panther System</b> .....	<b>11</b>
Note procedurali .....	14
<b>Controllo della qualità</b> .....	<b>15</b>
Calibrazione del test .....	15
Controlli positivi e negativi .....	15
Controllo interno .....	15
<b>Interpretazione del test</b> .....	<b>16</b>
<b>Restrizioni</b> .....	<b>16</b>
<b>Valori previsti sul Panther System</b> .....	<b>18</b>
<b>Prestazioni del test Panther System</b> .....	<b>19</b>
Riproducibilità .....	19
<b>Prestazioni cliniche del Panther System</b> .....	<b>21</b>
Caratteristiche prestazionali in soggetti sintomatici .....	21
Indici di positività in donne asintomatiche .....	27
Percentuali di non validità .....	27
<b>Prestazioni analitiche del Panther System</b> .....	<b>28</b>
Sensibilità analitica .....	28
Inclusività analitica .....	28
Cross-reattività e Interferenza microbica .....	28
Interferenza .....	30
Precisione interna al laboratorio .....	31
<b>Bibliografia</b> .....	<b>35</b>

## Informazioni generali

### Uso previsto

Il test Aptima® BV assay (Test Aptima® per la vaginosi batterica) è un test *in vitro* di amplificazione degli acidi nucleici che utilizza l'amplificazione mediata da trascrizione (TMA) in tempo reale, per il rilevamento e la quantificazione dell'RNA ribosomiale da batteri associati alla vaginosi batterica (BV), inclusi *Lactobacillus* (*L. gasseri*, *L. crispatus*, e *L. jensenii*), *Gardnerella vaginalis*, e *Atopobium vaginae*. Il test fornisce un risultato qualitativo per la BV, e non riporta i risultati per gli organismi individuali. Il test rappresenta un ausilio nella diagnosi della BV sul Panther® System automatizzato, tramite campioni di tampone vaginale raccolti dal medico e dalla paziente, provenienti da donne con quadro clinico compatibile con vaginite e/o vaginosi.

### 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/o 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 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 BV è responsabile della maggior parte dei casi di vaginite infettiva. La BV si caratterizza da un'alterazione del microbiota vaginale dominato da membri del gruppo *Lactobacillus* in un microbiota polimicrobico dominato da anaerobi, che include *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Prevotella*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Mobiluncus*, *Sneathia* (*Leptotrichia*), *Mycoplasma*, batteri associati alla BV (3). Tale alterazione del microbiota vaginale è associata all'insorgenza dei criteri clinici di Amsel, risultanti da alterazioni biochimiche e citologiche dell'ambiente vaginale, patognomiche della BV (11). La BV è stata associata alla malattia infiammatoria pelvica (4), alla cervicite (5), a un elevato rischio di infezioni sessualmente trasmissibili (IST), come clamidia, gonorrea, HSV, HIV (6,7,8), nonché ad aborto spontaneo e parto pretermine (9,10).

Una diagnosi di BV basata su criteri clinici (pH vaginale, presenza di clue cells, whiff test e perdite) è stata proposta da Amsel (11). Di Nugent et al., invece, la proposta di classificare la BV basandosi sulla descrizione microscopica di alcune specie batteriche osservate su tamponi vaginali tramite colorazione di Gram (12). Studi recenti indicano i potenziali benefici degli strumenti diagnostici molecolari nel favorire la diagnosi della BV, nonché l'opportunità di impiegare l'amplificazione degli acidi nucleici per colpire numerosi batteri associati alla BV (13).

Il test Aptima BV 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 *Lactobacillus* (*L. gasseri*, *L. crispatus* and *L. jensenii*), da *Gardnerella vaginalis* e *Atopobium vaginae* su campioni di tampone vaginale raccolti dal medico e dalla paziente, provenienti da donne sintomatiche. Il test Aptima BV assay utilizza un algoritmo allo scopo di fornire un risultato qualitativo per la BV, basato sul rilevamento degli organismi target. Il test Aptima BV assay include un controllo interno (IC).

## Principi della procedura

Il test Aptima BV 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 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 Aptima BV assay, gli oligonucleotidi di cattura ibridizzano con le regioni altamente conservate dell'RNA, 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: gruppo *Lactobacillus*, *Atopobium vaginae*, *Gardnerella vaginalis* e prodotti dell'amplificazione dell'IC. Il software del Panther System confronta i tempi di comparsa del segnale, per ciascun organismo target, con le informazioni di taratura, allo scopo di determinare lo stato positivo o negativo alla BV di ogni 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 BV 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 (14, 15, 16). 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 (14,15). Metodi adeguati di manipolazione e smaltimento vanno stabiliti in base alla normativa vigente (16). Questa procedura deve essere eseguita solo da personale adeguatamente formato all'utilizzo del test Aptima BV 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 BV 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.hologicds.com](http://www.hologicds.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 - Nondisperdere nell'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 <sup>1</sup>
Reagente enzimatico	2 °C – 8 °C		
Soluzione di ricostituzione enzimatica	15 °C – 30 °C	2 °C – 8 °C	30 giorni <sup>1</sup>
Reagente promotore	2 °C – 8 °C		
Soluzione di ricostituzione promotrice	15 °C – 30 °C	2 °C – 8 °C	30 giorni <sup>1</sup>
Reagente di cattura del target	15 °C – 30 °C	15 °C – 30 °C <sup>2</sup>	30 giorni <sup>1</sup>
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

<sup>1</sup> Quando i reagenti vengono rimossi dal Panther System, devono essere immediatamente riportati alle loro corrette temperature di conservazione.

<sup>2</sup> 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,appare 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 BV 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:

Per i campioni biologici destinati al test Aptima BV assay devono essere adottate esclusivamente le seguenti condizioni di conservazione:

#### 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 – 8 °C fino a un massimo di 30 giorni. Se occorre conservarli più a lungo, i campioni possono essere conservati a una temperatura di -20 °C o -70 °C per ulteriori 60 giorni.
- b. Dopo la raccolta, i campioni di tampone contenuti nelle provette di trasporto possono essere conservati a una temperatura di 15 °C – 30 °C fino a un massimo di 30 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  $420 \pm 100$ , 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 BV 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.hologiccsds.com](http://www.hologiccsds.com).

#### Kit del test Aptima BV assay

100 test: 2 scatole del test, 1 kit calibratore e 1 kit controlli (Num. di cat. PRD-05186)

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

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

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

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

**Kit calibratore per test Aptima BV Assay (PRD-05188)**  
(alla ricezione, conservare a una temperatura di 2 °C – 8 °C)

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

**Kit controlli per test Aptima BV Assay (PRD-05187)**  
(alla ricezione, conservare a una temperatura di 2 °C – 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
CONTROLLO-	<b>Controllo negativo</b> <i>Cellule in coltura non infettive L. crispatus in soluzione tamponata.</i>	5 x 1,7 mL
CONTROLLO+	<b>Controllo positivo</b> <i>Cellule in coltura non infettive G. vaginalis e A. vaginae in soluzione tamponata.</i>	5 x 1,7 mL
	<b>Etichetta dei codici a barre dei controlli</b>	1 scheda

### Materiali richiesti e disponibili separatamente

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

Materiali	N. di cat.
Panther System	-
Kit procedurale Panther System per test in tempo reale (esclusivamente per test in tempo reale)	PRD-03455 (5000 test)
<i>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</i>	303014 (1000 test)
<i>Unità multiprovetta (MTU)</i>	104772-02
<i>Kit dei sacchetti di rifiuti Panther</i>	902731
<i>Coperchio del contenitore per rifiuti Panther</i>	504405
Oppure Kit procedurale Panther System	303096 (5000 test)
<i>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</i>	
Kit di liquidi per test Aptima Assay <i>Contiene soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente oleoso Aptima</i>	303014 (1000 test)

Materiale	N. di cat.
Unità multiprovetta (MTU)	104772-02
Puntali, 1000 µl conduttivi, rilevatori di liquido	10612513 (Tecan)
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	
<i>Flaconi di ricostituzione dei reagenti di amplificazione, enzimatico e promotore</i>	CL0041 (100 tappi)
<i>Flacone TCR</i>	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.

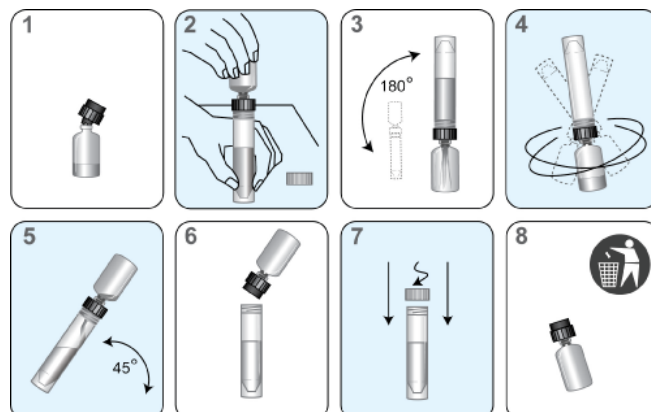
### B. Ricostituzione del reagente/preparazione di un nuovo kit

**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 disporre 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 del trattamento, lasciare che 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

Un IC viene aggiunto a ogni campione con il wTCR. 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. 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 per BV	Interpretazione
Positivo	BV positivo
Negativo	BV negativo
Non valido	Analisi non valida

## 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. Non è stata determinata l'incidenza di variabili possibili, come perdite vaginali e uso di tamponi, nonché le variabili legate alla raccolta dei campioni biologici.
- 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. La mancata osservanza delle corrette procedure in uno qualsiasi di questi passaggi può portare a risultati errati. Poiché il sistema di trasporto impiegato per questo test non permette la valutazione microscopica dell'adeguatezza dei campioni biologici, è necessario formare i medici sulle appropriate tecniche 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 BV 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. Le specie batteriche colpite dal test Aptima BV assay potrebbero compromettere una porzione del normale microbioma in un numero significativo di pazienti; un risultato BV positivo deve essere interpretato congiuntamente ad altri dati clinici in possesso del medico.



- G. Un risultato negativo non esclude una possibile infezione. I risultati del test possono essere influenzati da un'errata raccolta del campione biologico, da errori tecnici o da scambi tra i campioni.
- H. Il test Aptima BV 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 sulle pazienti di età inferiore ai 14 anni.
- J. Ciascun cliente deve convalidare in modo indipendente un processo di trasferimento al LIS.
- K. Il test Aptima BV 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 BV assay di campioni di tampone vaginale raccolti della paziente non devono essere considerate sostitutive di un esame clinico.
- M. Per le pazienti con risultato positivo in seguito al test Aptima BV assay è necessario consultare le raccomandazioni della sanità pubblica per la ricerca di altre infezioni trasmesse per via sessuale.
- N. Altri microrganismi non rilevati dal test Aptima BV assay, per esempio delle specie *Prevotella e Mobiluncus*, *Ureaplasma*, *Mycoplasma*, nonché numerosi anaerobi fastidiosi e incoltivati, sono stati rilevati in pazienti affette da BV, sebbene meno frequentemente associati alla stessa BV a causa di fattori come prevalenza, sensibilità e/o specificità relativamente bassi (17).
- O. Si è osservata un'interferenza con il test Aptima BV assay in presenza delle seguenti sostanze: Muco (1,5% V/V), Gel idratante vaginale (0,5% W/V) e Tioconazolo (5% W/V).
- P. Si è osservata una cross-reattività con il test Aptima BV assay in presenza di *Lactobacillus acidophilus* ( $1 \times 10^4$  CFU/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 vaginosi batterica 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 alla BV in soggetti sintomatici, secondo quanto determinato dal test Aptima BV 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 BV Assay in donne sintomatiche, secondo tipo di campione biologico e centro clinico*

% Positività (n. positive/n. analizzate con risultati validi)		
Centro	Tamponi vaginali raccolti dal medico	Tamponi vaginali raccolti dalla paziente
1	40,0 (6/15)	46,7 (7/15)
2	20,0 (1/5)	0,0 (0/5)
3	63,6 (14/22)	63,6 (14/22)
4	51,9 (108/208)	60,5 (124/205)
5	48,5 (64/132)	50,8 (66/130)
6	46,5 (33/71)	50,7 (36/71)
7	68,1 (130/191)	69,3 (131/189)
8	100,0 (1/1)	100,0 (1/1)
9	48,0 (49/102)	54,9 (56/102)
10	70,6 (12/17)	70,6 (12/17)
11	50,7 (34/67)	50,7 (34/67)
12	32,8 (41/125)	34,1 (42/123)
13	63,2 (43/68)	62,3 (43/69)
14	55,6 (5/9)	55,6 (5/9)
15	50,0 (2/4)	50,0 (2/4)
16	58,6 (17/29)	65,5 (19/29)
17	49,4 (39/79)	51,3 (41/80)
18	64,4 (56/87)	64,4 (56/87)
19	45,6 (31/68)	50,0 (34/68)
20	11,1 (4/36)	19,4 (7/36)
21	58,4 (45/77)	57,9 (44/76)
<b>Tutti</b>	<b>52,0 (735/1.413)</b>	<b>55,1 (774/1.405)</b>

## Prestazioni del test Panther System

### Riproducibilità

La riproducibilità del test Aptima BV 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 alla specie *Lactobacillus*, a *G. vaginalis*, e ad *A. vaginae*. Sei elementi del pannello contenevano lisati cellulari di almeno 1 tra i seguenti organismi: *L. crispatus*, *L. jensenii*, *G. vaginalis*, o *A. vaginae*. Sono state preparate diverse combinazioni di batteri per rappresentare la varietà delle combinazioni di organismi BV target presenti nei campioni vaginali. 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 BV assay per ciascun target negli elementi del pannello analiti positivi. Solo i campioni con risultati validi sono stati inclusi nelle analisi. La variabilità, calcolata tra centri diversi, tra operatori diversi, tra giorni diversi, tra diverse sessioni analitiche, all'interno delle sessioni analitiche, e complessivamente, è illustrata nelle Tabelle da 3 a 5 per gli elementi del pannello positivi a *Lactobacillus*, *G. vaginalis*, e *A. vaginae* rispettivamente.

Tabella 3: Variabilità del segnale per gli elementi del pannello positivi a *Lactobacillus*

Pannello Descrizione	N	Valore medio TTime <sup>1</sup>	Tra centri diversi		Tra operatori diversi		Tra giorni diversi		Tra diverse sessioni analitiche		Nella sessione analitica		Totale	
			DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
<i>L. crispatus</i> BV negativo <sup>2</sup>	108	19,73	0,30	1,53	0,61	3,07	0,13	0,64	0,63	3,17	0,12	0,62	0,94	4,76
<i>L. jensenii</i> BV Basso- positivo <sup>2</sup>	108	24,31	0,00	0,00	0,77	3,16	0,00	0,00	0,80	3,28	0,15	0,62	1,12	4,60

CV = coefficiente di variazione, DS = deviazione standard

<sup>1</sup> Il valore TTime è illustrato per il solo *Lactobacillus*.

<sup>2</sup> L'elemento del pannello contiene 2 diversi organismi; i risultati sono illustrati per il solo componente *Lactobacillus*.

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

Tabella 4: Variabilità del segnale per gli elementi del pannello positivi a *G. vaginalis*

Descrizione pannello	N	Valore medio TTime <sup>1</sup>	Tra centri diversi		Tra operatori diversi		Tra giorni diversi		Tra diverse sessioni analitiche		Nella sessione analitica		Totale	
			DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
<i>G. vaginalis</i> Basso-positivo	108	15,69	0,35	2,26	0,40	2,52	0,00	0,00	0,38	2,43	0,15	0,96	0,67	4,28
<i>G. vaginalis</i> Moderatamente positivo	108	14,33	0,30	2,07	0,37	2,58	0,00	0,00	0,35	2,41	0,14	0,98	0,60	4,21

CV = coefficiente di variazione, DS = deviazione standard

<sup>1</sup> Il valore TTime è illustrato per il solo *G. vaginalis*.

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

Tabella 5: Variabilità del segnale per gli elementi del pannello positivi ad *A. vaginae*

Descrizione pannello	N	Valore medio TTime <sup>1</sup>	Tra centri diversi		Tra operatori diversi		Tra giorni diversi		Tra diverse sessioni analitiche		Nella sessione analitica		Totale	
			DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
<i>A. vaginae</i> BV negativo <sup>2</sup>	108	18,01	0,39	2,15	0,44	2,46	0,08	0,45	0,47	2,59	0,18	0,97	0,78	4,30
<i>A. vaginae</i> Basso-positivo	108	14,95	0,38	2,52	0,41	2,75	0,00	0,00	0,39	2,61	0,14	0,93	0,69	4,64
<i>A. vaginae</i> BV Basso-positivo <sup>2</sup>	108	14,94	0,41	2,76	0,37	2,51	0,00	0,00	0,37	2,45	0,17	1,13	0,69	4,60
<i>A. vaginae</i> Moderatamente positivo	108	13,99	0,29	2,08	0,36	2,60	0,03	0,18	0,39	2,82	0,14	1,00	0,63	4,48

CV = coefficiente di variazione, DS = deviazione standard

<sup>1</sup> Il valore TTime è illustrato per il solo *A. vaginae*.

<sup>2</sup> L'elemento del pannello contiene 2 diversi organismi; i risultati sono illustrati per il solo componente *A. vaginae*.

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 prestazionali cliniche del test Aptima BV 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, pianificazione familiare, salute pubblica, STI, cliniche mediche associate e centri di ricerca clinica.

Da ogni paziente, sono stati raccolti tre (3) 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 BV assay, mentre il terzo campione di tampone prelevato dal medico è stato raccolto per stabilire un'interpretazione del metodo di riferimento. I campioni Aptima sono stati analizzati presso tre centri con il test Aptima BV assay sul Panther System. Lo stato di infezione da BV è stato determinato attraverso un'associazione tra score di Nugent e criteri di Amsel sull'ultimo campione di tampone vaginale.

- I campioni con flora normale secondo lo score di Nugent sono stati considerati negativi, laddove i campioni con alterazioni della flora da BV sono stati considerati positivi.
- I campioni con score di Nugent intermedio sono stati classificati positivi o negativi alla BV, applicando criteri di Amsel modificati. I campioni positivi a clue cells  $\geq 20\%$  e ad almeno 1 dei 2 seguenti criteri di Amsel: pH vaginale  $> 4,5$  e whiff test positivo, sono stati considerati positivi.
- I campioni impossibili da valutare secondo i criteri di Nugent, e quelli con uno score di Nugent indefinito per i quali non fosse disponibile un risultato di Amsel modificato, sono stati considerati portatori di uno stato di infezione da BV sconosciuto.

Le caratteristiche prestazionali per ciascun campione, con corrispondenti intervalli di confidenza (CI) bilaterale al 95%, sono state valutate in relazione allo stato di infezione da BV.

Dei 1.519 soggetti sintomatici arruolati, 102 non sono stati valutabili in seguito a ritiro ( $n = 17$ ) o stato di infezione da BV sconosciuto ( $n = 85$ ). I rimanenti 1.417 soggetti sono stati valutabili per almeno uno dei tipi di campione. La Tabella 6 mostra i dati demografici dei soggetti valutabili.

Tabella 6: Dati demografici dei soggetti valutabili

Caratteristiche		Totale
Totale, N	N	1.417
Età (anni)	Media $\pm$ DS	34,7 $\pm$ 11,11
	Mediana	33,0
	Range	14-75
	Fascia di età (anni), n (%)	
	14-17	4 (0,3)
	18-29	537 (37,9)
	30-39	469 (33,1)
	40-49	235 (16,6)
	>50	172 (12,1)
Etnia, n (%)	Asiatica	67 (4,7)
	Di colore o Afroamericana	731 (51,6)
	Bianca (Ispanica o Latina)	248 (17,5)
	Bianca (Non Ispanica o Latina)	307 (21,7)
	Altro <sup>1</sup>	64 (4,5)

<sup>1</sup> Include altre etnie, miste e non note, riferite dalle pazienti.

Per i 1.417 soggetti valutabili, sono stati inclusi nelle analisi 1.413 campioni di tamponi vaginali raccolti dal medico e 1.405 campioni di tampone vaginale raccolto dalla paziente. La sensibilità e la specificità del test Aptima BV assay per il rilevamento della BV sono illustrate nella Tabella 7 per entrambi i tipi di campione complessivi e suddivisi per centro. L'esecuzione del test è illustrata nella Tabella 8, suddivisa per etnia, e nella Tabella 9 suddivisa per condizione clinica.

Tabella 7: Caratteristiche prestazionali in donne sintomatiche, suddivise per centro di prelievo

Centro	Tamponi vaginali raccolti dal medico				Tamponi vaginali raccolti dalla paziente			
	N	Prev (%)	% Sensibilità (CI del 95%) <sup>1</sup>	% Specificità (CI del 95%) <sup>1</sup>	N	Prev (%)	% Sensibilità (CI del 95%) <sup>1</sup>	% Specificità (CI del 95%) <sup>1</sup>
<b>Tutti</b>	<b>1.413</b>	<b>49,2</b>	<b>95,0</b> <b>(93,1-96,4)</b> <b>660/695<sup>2</sup></b>	<b>89,6</b> <b>(87,1-91,6)</b> <b>643/718<sup>3</sup></b>	<b>1.405</b>	<b>49,3</b>	<b>97,3</b> <b>(95,8-98,2)</b> <b>673/692<sup>4</sup></b>	<b>85,8</b> <b>(83,1-88,2)</b> <b>612/713<sup>5</sup></b>
1	15	40,0	100 (61,0-100) 6/6	100 (70,1-100) 9/9	15	40,0	100 (61,0-100) 6/6	88,9 (56,5-98,0) 8/9
2	5	20,0	100 (20,7-100) 1/1	100 (51,0-100) 4/4	5	20,0	0,0 (0,0-79,3) 0/1	100 (51,0-100) 4/4
3	22	59,1	100 (77,2-100) 13/13	88,9 (56,5-98,0) 8/9	22	59,1	100 (77,2-100) 13/13	88,9 (56,5-98,0) 8/9
4	208	53,4	89,2 (82,0-93,7) 99/111	90,7 (83,3-95,0) 88/97	205	53,7	96,4 (91,0-98,6) 106/110	81,1 (72,0-87,7) 77/95
5	132	39,4	96,2 (87,0-98,9) 50/52	82,5 (72,7-89,3) 66/80	130	40,0	98,1 (89,9-99,7) 51/52	80,8 (70,7-88,0) 63/78
6	71	45,1	90,6 (75,8-96,8) 29/32	89,7 (76,4-95,9) 35/39	71	45,1	100 (89,3-100) 32/32	89,7 (76,4-95,9) 35/39
7	191	66,0	97,6 (93,2-99,2) 123/126	89,2 (79,4-94,7) 58/65	189	65,6	98,4 (94,3-99,6) 122/124	86,2 (75,7-92,5) 56/65
8	1	100,0	100 (20,7-100) 1/1	NC	1	100,0	100 (20,7-100) 1/1	NC
9	102	48,0	87,8 (75,8-94,3) 43/49	88,7 (77,4-94,7) 47/53	102	48,0	95,9 (86,3-98,9) 47/49	83,0 (70,8-90,8) 44/53
10	17	76,5	92,3 (66,7-98,6) 12/13	100 (51,0-100) 4/4	17	76,5	92,3 (66,7-98,6) 12/13	100 (51,0-100) 4/4
11	67	46,3	96,8 (83,8-99,4) 30/31	88,9 (74,7-95,6) 32/36	67	46,3	96,8 (83,8-99,4) 30/31	88,9 (74,7-95,6) 32/36
12	125	28,0	94,3 (81,4-98,4) 33/35	91,1 (83,4-95,4) 82/90	123	29,3	91,7 (78,2-97,1) 33/36	89,7 (81,5-94,5) 78/87
13	68	55,9	100 (90,8-100) 38/38	83,3 (66,4-92,7) 25/30	69	55,1	97,4 (86,5-99,5) 37/38	80,6 (63,7-90,8) 25/31
14	9	44,4	100 (51,0-100) 4/4	80,0 (37,6-96,4) 4/5	9	44,4	100 (51,0-100) 4/4	80,0 (37,6-96,4) 4/5
15	4	25,0	100 (20,7-100) 1/1	66,7 (20,8-93,9) 2/3	4	25,0	100 (20,7-100) 1/1	66,7 (20,8-93,9) 2/3
16	29	55,2	93,8 (71,7-98,9) 15/16	84,6 (57,8-95,7) 11/13	29	55,2	100 (80,6-100) 16/16	76,9 (49,7-91,8) 10/13

Tabella 7: Caratteristiche prestazionali in donne sintomatiche, suddivise per centro di prelievo

Centro	Tamponi vaginali raccolti dal medico				Tamponi vaginali raccolti dalla paziente			
	N	Prev (%)	% Sensibilità (CI del 95%) <sup>1</sup>	% Specificità (CI del 95%) <sup>1</sup>	N	Prev (%)	% Sensibilità (CI del 95%) <sup>1</sup>	% Specificità (CI del 95%) <sup>1</sup>
17	79	45,6	97,2 (85,8-99,5) 35/36	90,7 (78,4-96,3) 39/43	80	45,0	100 (90,4-100) 36/36	88,6 (76,0-95,0) 39/44
18	87	60,9	98,1 (90,1-99,7) 52/53	88,2 (73,4-95,3) 30/34	87	60,9	100 (93,2-100) 53/53	91,2 (77,0-97,0) 31/34
19	68	42,6	100 (88,3-100) 29/29	94,9 (83,1-98,6) 37/39	68	42,6	100 (88,3-100) 29/29	87,2 (73,3-94,4) 34/39
20	36	16,7	66,7 (30,0-90,3) 4/6	100 (88,6-100) 30/30	36	16,7	66,7 (30,0-90,3) 4/6	90,0 (74,4-96,5) 27/30
21	77	54,5	100 (91,6-100) 42/42	91,4 (77,6-97,0) 32/35	76	53,9	97,6 (87,4-99,6) 40/41	88,6 (74,0-95,5) 31/35

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

<sup>1</sup> CI dello score.

<sup>2</sup> Dei 35 risultati falsi negativi, 10 soggetti sono risultati Nugent intermedi, con stato di infezione da BV determinato tramite i criteri di Amsel e 15 sono risultati negativi secondo i criteri di Amsel.

<sup>3</sup> Dei 75 risultati falsi positivi, 46 soggetti sono risultati Nugent intermedi, con stato di infezione da BV determinato tramite i criteri di Amsel e 6 sono risultati positivi secondo i criteri di Amsel.

<sup>4</sup> Dei 19 risultati falsi negativi, 6 soggetti sono risultati Nugent intermedi, con stato di infezione da BV determinato tramite i criteri di Amsel e 7 sono risultati negativi secondo i criteri di Amsel.

<sup>5</sup> Dei 101 risultati falsi positivi, 55 soggetti sono risultati Nugent intermedi, con stato di infezione da BV determinato tramite i criteri di Amsel e 9 sono risultati positivi secondo i criteri di Amsel.



Tabella 8: Caratteristiche prestazionali in donne sintomatiche, suddivise per etnia

Tipo di campione biologico	Etnia	N	Prev (%)	% Sensibilità (CI del 95%) <sup>1</sup>	% Specificità (CI del 95%) <sup>1</sup>
Tamponi vaginali raccolti dal medico	Tutti	1.413	49,2	95,0 (93,1-96,4) 660/695	89,6 (87,1-91,6) 643/718
	Asiatica	67	31,3	95,2 (77,3-99,2) 20/21	91,3 (79,7-96,6) 42/46
	Di colore/Afroamericana	729	61,0	95,5 (93,2-97,1) 425/445	89,1 (84,9-92,2) 253/284
	Bianca (Ispanica/Latina)	247	46,2	96,5 (91,3-98,6) 110/114	86,5 (79,6-91,3) 115/133
	Bianca (Non Ispanica/Latina)	306	28,8	88,6 (80,3-93,7) 78/88	91,7 (87,3-94,7) 200/218
	Altro <sup>2</sup>	64	42,2	100 (87,5-100) 27/27	89,2 (75,3-95,7) 33/37
Tamponi vaginali raccolti dalla paziente	Tutti	1.405	49,3	97,3 (95,8-98,2) 673/692	85,8 (83,1-88,2) 612/713
	Asiatica	65	30,8	95,0 (76,4-99,1) 19/20	86,7 (73,8-93,7) 39/45
	Di colore/Afroamericana	727	61,2	97,5 (95,6-98,6) 434/445	84,8 (80,1-88,5) 239/282
	Bianca (Ispanica/Latina)	246	45,9	99,1 (95,2-99,8) 112/113	83,5 (76,2-88,8) 111/133
	Bianca (Non Ispanica/Latina)	303	28,7	93,1 (85,8-96,8) 81/87	87,5 (82,4-91,3) 189/216
	Altro <sup>2</sup>	64	42,2	100 (87,5 – 100) 27/27	91,9 (78,7-97,2) 34/37

CI = intervallo di confidenza, Prev = prevalenza

<sup>1</sup> CI dello score.

<sup>2</sup> Include altre etnie, miste e non note, riferite dalle pazienti.

Tabella 9: Caratteristiche prestazionali in donne sintomatiche, suddivise per condizione clinica

Tipo di raccolta	Condizione clinica	N <sup>1</sup>	Prev (%)	% Sensibilità (CI del 95%) <sup>2</sup>	% Specificità (CI del 95%) <sup>2</sup>
Tamponi vaginali raccolti dal medico	<b>Tutti</b>	<b>1.413</b>	<b>49,2</b>	<b>95,0 (93,1-96,4) 660/695</b>	<b>89,6 (87,1-91,6) 643/718</b>
	Uso di antibiotici	3	33,3	100 (20,7-100) 1/1	100 (34,2-100) 2/2
	Uso di antimicotici	8	25,0	100 (34,2-100) 2/2	100 (61,0-100) 6/6
	Uso di terapia estrogenica	2	0,0	NC	100 (34,2-100) 2/2
	Sintomi di vaginite ricorrenti negli ultimi 12 mesi	832	49,8	95,2 (92,7-96,9) 394/414	88,8 (85,4-91,4) 371/418
	Rapporti sessuali non protetti nelle ultime 24 ore	94	57,4	92,6 (82,4-97,1) 50/54	85,0 (70,9-92,9) 34/40
	Incinta	20	45,0	100 (70,1-100) 9/9	100 (74,1-100) 11/11
	Con mestruazioni	111	46,8	96,2 (87,0-98,9) 50/52	86,4 (75,5-93,0) 51/59
	Senza mestruazioni	1.177	50,6	95,6 (93,7-97,0) 569/595	89,3 (86,6-91,6) 520/586
	Post-menopausa	125	38,4	85,4 (72,8-92,8) 41/48	93,5 (85,7-97,2) 72/77
Tamponi vaginali raccolti dalla paziente	<b>Tutti</b>	<b>1.405</b>	<b>49,3</b>	<b>97,3 (95,8-98,2) 673/692</b>	<b>85,8 (83,1-88,2) 612/713</b>
	Uso di antibiotici	3	33,3	100 (20,7-100) 1/1	100 (34,2-100) 2/2
	Uso di antimicotici	8	25,0	100 (34,2-100) 2/2	100 (61,0-100) 6/6
	Uso di terapia estrogenica	2	0,0	NC	100 (34,2-100) 2/2
	Sintomi di vaginite ricorrenti negli ultimi 12 mesi	828	49,9	98,1 (96,2-99,0) 405/413	85,1 (81,3-88,2) 353/415
	Rapporti sessuali non protetti nelle ultime 24 ore	94	57,4	98,1 (90,2-99,7) 53/54	75,0 (59,8-85,8) 30/40
	Incinta	20	45,0	100 (70,1-100) 9/9	90,9 (62,3-98,4) 10/11
	Con mestruazioni	109	47,7	100 (93,1-100) 52/52	84,2 (72,6-91,5) 48/57
	Senza mestruazioni	1.175	50,6	97,5 (95,9-98,5) 579/594	85,4 (82,3-88,0) 496/581
	Post-menopausa	121	38,0	91,3 (79,7-96,6) 41/46	90,7 (82,0-95,4) 68/75

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

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

<sup>2</sup> CI dello score.

## Indici di positività in donne asintomatiche

Il rilevamento di uno squilibrio del microbioma vaginale pertiene alle decisioni sul trattamento. Sebbene il test Aptima BV assay non sia destinato all'analisi di campioni prelevati da donne asintomatiche, è possibile che anche in queste ultime siano presenti organismi associati a un'infezione da BV, rilevati dal test Aptima BV assay. La presenza di target batterici del test Aptima BV assay è stata individuata nei campioni di tampone vaginale di 172 donne asintomatiche, raccolti dal medico. Un riepilogo degli indici di rilevamento della BV, secondo quanto determinato dal test Aptima BV assay, viene illustrato nella Tabella 10 per lo studio multicentrico in base all'etnia e complessivamente.

Tabella 10: Positività determinata dal test Aptima BV Assay su donne asintomatiche

Etnia	% Positività (n. positive/n. analizzate con risultati validi)
Tutti	40,7% (70/172)
Asiatica	40,0% (2/5)
Di colore/Afroamericana	52,0% (39/75)
Bianca (Ispanica/Latina)	43,9% (18/41)
Bianca (Non Ispanica/Latina)	15,9% (7/44)
Altro <sup>1</sup>	57,1% (4/7)

<sup>1</sup> Include altre etnie, miste e non note, riferite dalle pazienti.

## Percentuali di non validità

Un totale di 3.175 campioni raccolti da medici e pazienti su soggetti sintomatici e asintomatici sono stati trattati in sessioni analitiche del test Aptima BV assay valide, allo scopo di stabilire la prestazione clinica. Di questi, lo 0,7% ha dato risultati iniziali non validi. In seguito a rianalisi, lo 0,1% si è mantenuto non valido ed è stato escluso da tutte le analisi.

## Prestazioni analitiche del Panther System

### Sensibilità analitica

La sensibilità analitica (Limite di rilevamento - LoD, Limit od Detection) e i limiti di positività alla BV del test Aptima BV assay sono stati determinati analizzando una serie di pannelli composti da lisati cellulari di *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii*, *G. vaginalis*, o *A. vaginae*, diluiti in una matrice simulata di tampone vaginale (SVSM). Un minimo di 20 replicati di ogni elemento del pannello è stato analizzato con ciascuno dei due lotti di reagenti per un minimo di 40 replicati per ogni elemento del pannello. I limiti di rilevamento previsti per ciascun organismo, calcolati tramite analisi Probit, sono illustrati nella Tabella 11.

Tabella 11: Limite di rilevamento del test Aptima BV Assay

Organismo	Limite di rilevamento previsto	CFU/mL
<i>A. vaginae</i>	95%	290 <sup>1</sup>
<i>G. vaginalis</i>	95%	55 <sup>1</sup>
<i>L. crispatus</i>	95%	143
<i>L. gasseri</i>	95%	2.207
<i>L. jensenii</i>	95%	10

<sup>1</sup> Limiti di positività alla BV previsti (C<sub>95</sub>) per *A. vaginae* e *G. vaginalis* con il test Aptima BV assay sono rispettivamente di circa 5,10 log CFU/mL e 4,86 log CFU/mL.

### Inclusività analitica

Cinque ceppi di ciascun organismo target sono stati analizzati utilizzando un targeting di lisato a C<sub>95</sub> 3X per *G. vaginalis* e *A. vaginae*, ed a LoD 3X per le specie *Lactobacillus* (*L. crispatus*, *L. gasseri*, e *L. jensenii*) in una SVSM. Il test Aptima BV Assay è risultato positivo alla BV per tutti e cinque i ceppi di *G. vaginalis* e *A. vaginae* a C<sub>95</sub> 3X. Tutti i cinque ceppi di *L. crispatus* e *L. gasseri* sono stati rilevati a LoD 3X. Tre dei cinque ceppi di *L. jensenii* sono stati rilevati a LoD 3X, e i rimanenti due ceppi a LoD 10X.

### Cross-reattività e Interferenza microbica

Gli indici di cross-reattività e interferenza microbica con in test Aptima BV assay sono stati valutati in presenza di organismi non-target. Un pannello di 62 organismi (Tabella 12) è stato analizzato in una SVSM, in assenza o in presenza di *L. crispatus* a LoD 3X, *G. vaginalis* a C<sub>95</sub>, 3X, o *A. vaginae* a C<sub>95</sub> 3X. In nessuno dei 62 organismi analizzati con test Aptima BV assay alle concentrazioni elencate nella Tabella 12 sono state osservate cross-reattività o interferenza microbica.

Tabella 12: Pannello di cross-reattività e interferenza microbica

Microrganismo	Concentrazione	Microrganismo	Concentrazione
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	Virus dell'Herpes simplex I	1x10 <sup>4</sup> TCID50/mL
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	Virus dell'Herpes simplex II	1x10 <sup>4</sup> TCID50/mL
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	HIV	1x10 <sup>5</sup> copie/mL
<i>Atopobium minutum</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Atopobium parvulum</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 <sup>3</sup> CFU/mL <sup>2</sup>
<i>Atopobium rimae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Lactobacillus iners</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Lactobacillus mucosae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Leptotrichia buccalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Bifidobacterium breve</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
BVAB-1 <sup>1</sup>	1x10 <sup>6</sup> copie/mL	<i>Megasphaera tipo 1</i> <sup>1</sup>	1x10 <sup>6</sup> copie/mL
BVAB-2 <sup>1</sup>	1x10 <sup>6</sup> copie/mL	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Campylobacter jejuni</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Candida albicans</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Candida dubliniensis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Candida glabrata</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Pentatrichomonas hominis</i>	1x10 <sup>5</sup> cellule/mL
<i>Candida krusei</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Candida lusitanae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Pichia fermentans</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Candida orthopsilosis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Prevotella bivia</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Candida parapsilosis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Candida tropicalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 <sup>6</sup> IFU/mL	Cellule SiHa	1x10 <sup>4</sup> cellule/mL
<i>Clostridium difficile</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Sneathia amnii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Eggerthella lenta</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Treponema pallidum</i> <sup>1</sup>	1x10 <sup>6</sup> copie/mL
<i>Escherichia coli</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Trichomonas tenax</i>	1x10 <sup>5</sup> cellule/mL
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 <sup>5</sup> cellule/mL
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Ureaplasma parvum</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
Cellule HeLa	1x10 <sup>4</sup> cellule/mL	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL

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

<sup>1</sup> Analizzato tramite trascrizione in vitro.

<sup>2</sup> Il *Lactobacillus acidophilus* influenza la positività alla BV a concentrazioni di 1x10<sup>4</sup> CFU/mL o superiori.

## Interferenza

Sostanze potenzialmente interferenti sono state analizzate con il test Aptima BV 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 *L. crispatus*, con lisato aggiunto a LoD 3X, e per *G. vaginalis* e *A. vaginae* con lisato aggiunto a C<sub>95</sub> 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 13.

Tabella 13: Pannello delle sostanze interferenti

Sostanza	Concentrazione finale <sup>1</sup>
Sangue intero	V/V 5%
Leucociti	1x10 <sup>6</sup> cellule/mL
Muco <sup>2</sup>	V/V 1,5%
Liquido seminale	V/V 5%
Schiuma contraccettiva	W/V 5%
Pellicola contraccettiva	W/V 5%
Tioconazolo <sup>3</sup>	W/V 1%
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 <sup>4</sup>	W/V 0,4%
Lubrificante	V/V 5%
Spermicida	W/V 5%
Antifungino	W/V 5%
Deodorante/Spray	W/V 5%
Acido acetico glaciale	V/V 5%
Vagisil Crema	W/V 5%

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

<sup>1</sup> la dicitura Concentrazione finale rappresenta la concentrazione finale nel campione, se analizzato sullo strumento Panther.

<sup>2</sup> È stata rilevata un'interferenza con valori V/V di Muco ≥2%; con valori V/V dell'1,5%, l'interferenza non è stata osservata.

<sup>3</sup> È stata rilevata un'interferenza con Tioconazolo unguento 6,5% con W/V al 5%; l'interferenza non è stata osservata con W/V all'1%.

<sup>4</sup> È stata rilevata un'interferenza con valori W/V di Gel idratante vaginale ≥0,5%; l'interferenza non è stata osservata con valori W/V allo 0,4%.

## 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 21 giorni, con tre lotti di reagente. Ciascun operatore ha eseguito due sessioni analitiche al giorno, impiegando un pannello di 11 elementi. Ciascuna sessione analitica è stata caratterizzata da tre replicati per ciascun elemento del pannello.

Gli elementi del pannello sono stati prodotti utilizzando una SVSM negativa per specie *Lactobacillus*, *G. vaginalis* e *A. vaginae*. Dieci elementi del pannello contenevano lisati cellulari di almeno 1 tra i seguenti organismi: *L. crispatus*, *L. jensenii*, *G. vaginalis*, o *A. vaginae*. Sono state preparate diverse combinazioni di batteri per rappresentare la varietà delle combinazioni di organismi BV target presenti nei campioni vaginali. Dieci elementi del pannello hanno dato risultati BV negativi (<5% BV positivi), BV alto-negativi (20-80% BV positivi), BV basso-negativi (≥95% BV positivi) e BV moderatamente positivi (100% BV positivi). Un elemento del pannello negativo conteneva solo la matrice, senza analiti target aggiunti.

La Tabella 14 elenca i risultati BV positivi in percentuale per ciascun pannello. La variabilità del segnale (TTime) del test Aptima BV assay è stata calcolata per ciascun target negli elementi del pannello analita positivi. La variabilità calcolata tra operatori diversi, tra strumenti diversi, tra giorni diversi, tra lotti diversi, tra sessioni analitiche diverse, all'interno della sessione analitica e complessivamente è illustrata nelle Tabelle da 15 a 17.

Tabella 14: Positività alla BV del pannelli di precisione

Pannello Descrizione	BV Positivo/ Totale n	BV prevista Positività	Positività alla BV (CI al 95%)
SVSM	0/168	0%	0 (0,0-1,6)
<i>L. crispatus</i> , <i>A. vaginae</i> BV Negativo	0 /168	<5%	0 (0,0-1,6)
<i>L. crispatus</i> , <i>G. vaginalis</i> BV Alto-negativo	76 /168	20-80%	45,2 (37,9-52,8)
<i>L. crispatus</i> , <i>G. vaginalis</i> , <i>A. vaginae</i> BV Alto-negativo	131/165 <sup>1</sup>	20-80%	79,4 (72,6-84,9)
<i>G. vaginalis</i> BV Basso-positivo	168/168	≥95%	100 (98,4-100,0)
<i>A. vaginae</i> BV Basso-positivo	168/168	≥95%	100 (98,4-100,0)
<i>L. jensenii</i> , <i>A. vaginae</i> BV Basso-positivo	168/168	≥95%	100 (98,4-100,0)
<i>G. vaginalis</i> , <i>A. vaginae</i> BV Basso-positivo	168/168	≥95%	100 (98,4-100,0)
<i>L. crispatus</i> , <i>G. vaginalis</i> , <i>A. vaginae</i> BV Basso-positivo	168/168	≥95%	100 (98,4-100,0)
<i>G. vaginalis</i> BV Moderatamente positivo	168/168	100%	100 (98,4-100,0)
<i>A. vaginae</i> BV Moderatamente positivo	168/168	100%	100 (98,4-100,0)

<sup>1</sup> Tre risultati non validi sono stati esclusi dal test.

Tabella 15: Variabilità del segnale per gli elementi del pannello *Lactobacillus*

Pannello Descrizione	N	Valore medio TTime <sup>1</sup>	Tra operatori diversi		Tra strumenti diversi		Tra giorni diversi		Tra lotti diversi		Tra diverse sessioni analitiche		Nella sessione analitica		Totale	
			DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
<i>L. crispatus</i> BV Negativo <sup>2</sup>	168	19,87	0,10	0,49	0,16	0,80	0,14	0,71	1,03	5,18	0,17	0,09	0,18	0,93	1,08	5,46
<i>L. crispatus</i> BV Alto-negativo <sup>2</sup>	168	23,95	0,11	0,47	0,12	0,52	0,19	0,79	1,22	5,11	0,18	0,77	0,28	1,15	1,29	5,40
<i>L. crispatus</i> BV Alto-negativo <sup>3</sup>	165 <sup>4</sup>	22,40	0,09	0,40	0,17	0,74	0,20	0,87	1,22	5,47	0,09	0,39	0,27	1,21	1,29	5,74
<i>L. jensenii</i> BV Basso-positivo <sup>2</sup>	168	24,80	0,10	0,38	0,14	0,57	0,14	0,57	1,33	5,35	0,17	0,69	0,25	1,01	1,38	5,56
<i>L. crispatus</i> BV Basso-positivo <sup>3</sup>	168	23,51	0,15	0,63	0,09	0,40	0,17	0,73	1,36	5,77	0,10	0,44	0,31	1,31	1,42	6,02

CV = Coefficiente di variazione

<sup>1</sup> Il valore TTime è illustrato per il solo *Lactobacillus*.

<sup>2</sup> L'elemento del pannello contiene 2 diversi organismi; i risultati sono illustrati per il solo componente *Lactobacillus*.

<sup>3</sup> L'elemento del pannello contiene 3 diversi organismi; i risultati sono illustrati per il solo componente *Lactobacillus*.

<sup>4</sup> Tre risultati non validi sono stati esclusi dal test.

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.



Tabella 16: Variabilità del segnale per gli elementi del pannello *G. vaginalis*

Descrizione pannello	N	Valore medio TTime <sup>1</sup>	Tra operatori diversi		Tra strumenti diversi		Tra giorni diversi		Tra lotti diversi		Tra diverse sessioni analitiche		Nella sessione analitica		Totale	
			DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
<i>G. vaginalis</i> BV Alto-negativo <sup>2</sup>	168	17,11	0,00	0,00	0,18	1,08	0,17	0,99	0,47	2,75	0,17	0,96	0,16	0,94	0,58	3,39
<i>G. vaginalis</i> BV Alto-negativo <sup>3</sup>	165 <sup>4</sup>	15,71	0,00	0,00	0,19	1,19	0,18	1,12	0,48	3,05	0,11	0,72	0,12	0,79	0,57	3,62
<i>G. vaginalis</i> BV Basso-positivo	168	15,80	0,00	0,00	0,16	1,00	0,14	0,89	0,43	2,70	0,15	0,97	0,15	0,92	0,52	3,30
<i>G. vaginalis</i> BV Moderatamente positivo	168	14,46	0,00	0,00	0,17	1,18	0,05	0,35	0,38	2,63	0,16	1,09	0,18	1,25	0,48	3,35
<i>G. vaginalis</i> BV Basso-positivo <sup>2</sup>	168	15,01	0,00	0,00	0,14	0,93	0,14	0,91	0,40	2,67	0,16	1,08	0,13	0,86	0,49	3,28
<i>G. vaginalis</i> BV Basso-positivo <sup>3</sup>	168	14,06	0,00	0,00	0,16	1,11	0,15	1,09	0,39	2,75	0,14	0,99	0,16	1,16	0,49	3,51

CV = Coefficiente di variazione, Mod = moderato

<sup>1</sup> Il valore TTime è illustrato per il solo *G. vaginalis*.

<sup>2</sup> L'elemento del pannello contiene 2 diversi organismi; i risultati sono illustrati per il solo componente *G. vaginalis*.

<sup>3</sup> L'elemento del pannello contiene 3 diversi organismi; i risultati sono illustrati per il solo componente *G. vaginalis*.

<sup>4</sup> Tre risultati non validi sono stati esclusi dal test.

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.

Tabella 17: Variabilità del segnale per gli elementi del pannello *A. vaginae*

Descrizione pannello	N	Valore medio TTime <sup>1</sup>	Tra operatori diversi		Tra strumenti diversi		Tra giorni diversi		Tra lotti diversi		Tra diverse sessioni analitiche		Nella sessione analitica		Totale	
			DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
<i>A. vaginae</i> BV Negativo <sup>2</sup>	168	18,20	0,02	0,11	0,25	1,36	0,15	0,84	0,58	3,17	0,19	1,02	0,19	1,05	0,70	3,84
<i>A. vaginae</i> BV Alto-negativo <sup>3</sup>	165 <sup>4</sup>	16,56	0,00	0,00	0,25	1,53	0,18	1,11	0,56	3,38	0,13	0,79	0,12	0,70	0,67	4,02
<i>A. vaginae</i> BV Basso-positivo	168	15,11	0,00	0,00	0,19	1,25	0,15	0,97	0,51	3,40	0,12	0,82	0,12	0,78	0,59	3,92
<i>A. vaginae</i> BV Basso-positivo <sup>2</sup>	168	15,13	0,00	0,00	0,20	1,30	0,12	0,80	0,51	3,34	0,14	0,89	0,16	1,07	0,59	3,92
<i>A. vaginae</i> BV Moderatamente positivo	168	14,13	0,08	0,54	0,21	1,50	0,17	1,21	0,51	3,63	0,08	0,57	0,20	1,40	0,62	4,41
<i>A. vaginae</i> BV Basso-positivo <sup>2</sup>	168	15,78	0,03	0,16	0,17	1,09	0,10	0,65	0,50	3,17	0,16	1,00	0,12	0,75	0,57	3,64
<i>A. vaginae</i> BV Basso-positivo <sup>3</sup>	168	15,61	0,00	0,00	0,23	1,47	0,15	0,94	0,51	3,29	0,10	0,66	0,18	1,15	0,62	3,95

CV = Coefficiente di variazione, Mod = moderato

<sup>1</sup> Il valore TTime è illustrato per il solo *A. vaginae*.

<sup>2</sup> L'elemento del pannello contiene 2 diversi organismi; i risultati sono illustrati per il solo componente *A. vaginae*.

<sup>3</sup> L'elemento del pannello contiene 3 diversi organismi; i risultati sono illustrati per il solo componente *A. vaginae*.

<sup>4</sup> Tre risultati non validi sono stati esclusi dal test.

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.

## Bibliografia

1. Hainer BL, Gibson MV. Vaginitis: Diagnosis and Treatment. *Am Fam Physician*. Apr 2011 1;83(7):807-815.
2. Granato PA. Vaginitis: Clinical and Laboratory Aspects for Diagnosis. *Clin Microbiol Newsletter*. Ago 2010 1,(15): 111-116.
3. Onderdonk AB, Delaney ML, Fichorova RN. The Human Microbiome during Bacterial Vaginosis. *Clin Microbiol Rev*. Apr 2016;29(2):223-38. doi: 10.1128/CMR.00075-15.
4. Haggerty CL, Hillier SL, Bass DC, Ness RB; PID Evaluation and Clinical Health study investigators. Bacterial vaginosis and anaerobic bacteria are associated with endometritis. *Clin Infect Dis*. Ott 2004 1;39(7):990-5. Epub 2 Sett 2004.
5. Marrazzo JM, Wiesenfeld HC, Murray PJ, Busse B, Meyn L, Krohn M, Hillier SL. Risk factors for cervicitis among women with bacterial vaginosis. *J Infect Dis*. Mar 2006 1;193(5):617-624. Epub 2 Sett 2006.
6. Bautista CT, Wurapa EK, Sateren WB, Morris SM, Hollingsworth BP, Sanchez JL. Association of Bacterial Vaginosis with Chlamydia and Gonorrhea Among Women in the U.S. Army. *Am J Prev Med*. 2017;52(5):632-639. doi: 10.1016/j.amepre.2016.09.016.
7. Chernes TL, Meyn LA, Krohn MA, Lurie JG, Hillier SL. Association between acquisition of herpes simplex virus type 2 in women and bacterial vaginosis. *Clin Infect Dis*. Ago 2003 1;37(3):319-325.
8. Cohen CR, Lingappa JR, Baeten JM, et al. Bacterial vaginosis associated with increased risk of female-to-male HIV-1 transmission: a prospective cohort analysis among African couples. *PLoS Med*. 2012;9(6):e1001251. doi: 10.1371/journal.pmed.1001251.
9. Işık G, Demirezen, Dönmez HG, Beksaç MS. Bacterial vaginosis in association with spontaneous abortion and recurrent pregnancy losses. *J Cytol. Lug-Sett* 2016;33(3):135-140.
10. Donders GG, Van Calsteren K, Bellen G, et al. Predictive value for preterm birth of abnormal vaginal flora, bacterial vaginosis and aerobic vaginitis during the first trimester of pregnancy. *BJOG*. Sett 2009;116(10):1315-24.
11. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KCS, Eschenbach DA, Holmes KK. Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and epidemiologic associations. *Am J Med*. 1983 74:14-22.
12. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of Diagnosing Bacterial Vaginosis Is Improved by a Standardized Method of Gram Stain Interpretation. *J Clin Microbiol*. Feb 1991, 29(2): 297-301.
13. Plummer EL, Garland SM, Bradshaw CS, et al. Molecular diagnosis of bacterial vaginosis: Does adjustment for total bacterial load or human cellular content improve diagnostic performance? *J Microbiol Methods*. Feb 2017;133:66-68. doi: 10.1016/j.mimet.2016.12.024. Epub 29 Dic 2016.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13. Wayne, PA.
15. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health. 2009. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL).
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5. Villanova, PA.
17. Centers for Disease Control and Prevention. 2015. United States Morbidity and Mortality Weekly Report. Recommendations and Reports, Vol. 64, No. 3.



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

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](http://www.hologic.com).



**Hologic BV**  
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

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](http://www.hologic.com/patents).

©2020 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-18811-701 Rev. 003  
2020-09