

APTIMA® Trichomonas vaginalis Assay

Per l'uso diagnostico *in vitro*.

Solo per l'esportazione dagli USA.

INDICE

Informazioni generali	2
Finalità d'uso	2
Sommaro e spiegazione del test	2
Principi della procedura	2
Avvertenze e precauzioni	4
Requisiti di manipolazione e conservazione dei reagenti	6
Raccolta e conservazione dei campioni	7
Interpretazione dell'analisi – QC/Risultati dei pazienti	24
Limitazioni	25
Prestazioni del test TIGRIS DTS System	27
Prevalenza	27
Prestazione clinica	27
Valori di predizione positiva e negativa per tassi di prevalenza ipotetici	30
Distribuzione dei valori di RLU dei controlli APTIMA per Trichomonas vaginalis	31
Riproducibilità del dosaggio	31
Sensibilità analitica	32
Reattività crociata in presenza di microrganismi	32
Interferenza	34
Stabilità dei campioni	34
Prestazioni del PANTHER System Assay	35
Studio di concordanza clinica	35
Riproducibilità del dosaggio	35
Sensibilità analitica	36
Reattività crociata in presenza di microrganismi	36
Interferenza	37
Contaminazione crociata nel PANTHER System	37
Bibliografia	38



TIGRIS DTS System	9
Reagenti e materiali forniti	9
Materiali richiesti ma disponibili separatamente.....	10
Materiali facoltativi.....	11
Procedura di analisi con il TIGRIS DTS System	12
Note procedurali.....	15



PANTHER System	16
Reagenti e materiali forniti	16
Materiali richiesti ma disponibili separatamente.....	17
Materiali facoltativi	18
Procedura di analisi per il PANTHER System	19
Note procedurali.....	22

Informazioni generali

Finalità d'uso

L'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay è un test di amplificazione degli acidi nucleici (nucleic acid amplification test, NAAT) qualitativo *in vitro* per il rilevamento dell'RNA ribosomiale (rRNA) di *Trichomonas vaginalis* utile per la diagnosi della tricomoniasi mediante il TIGRIS DTS System o il PANTHER System.

Il test può essere utilizzato per analizzare i seguenti campioni prelevati da donne sintomatiche o asintomatiche: tamponi endocervicali e vaginali raccolti da un medico, campioni di urina femminile e campioni raccolti in soluzione PreservCyt.

Sommario e spiegazione del test

Trichomonas vaginalis (TV) è l'agente della più comune e curabile malattia sessualmente trasmessa (sexually transmitted disease, STD) negli Stati Uniti, con 7,4 milioni di nuovi casi diagnosticati ogni anno, secondo le stime (1, 2).

Nelle donne le infezioni causano vaginiti, uretriti e cerviciti. Nel tratto genitourinario possono essere presenti perdite e piccole lesioni emorragiche. Le complicanze possono includere travaglio prematuro, scarso peso della prole alla nascita, rottura prematura delle membrane e infezione conseguente ad aborto o isterectomia. È stata riportata un'associazione tra malattia infiammatoria pelvica, infertilità tubarica e cancro cervicale ed episodi pregressi di tricomoniasi. Le donne sintomatiche affette da tricomoniasi generalmente lamentano perdite vaginali, dolore e/o irritazione vulvovaginale. È frequente anche la disuria. Tuttavia si stima che le infezioni da *T. vaginalis* sono asintomatiche in una percentuale di donne compresa tra il 10% e il 50% e che negli uomini tale percentuale può essere addirittura superiore (3, 4, 5).

Il rilevamento di *T. vaginalis* con i metodi di coltura tradizionali è tecnicamente impegnativo e richiede fino a 7 giorni. Per ottenere una coltura di questi protozoi, è preferibile eseguire immediatamente l'inoculazione nei terreni di coltura e sono necessarie condizioni di incubazione adeguate, oltre a frequenti esami microscopici dei terreni di coltura. Si stima che la sensibilità della coltura sia compresa tra il 38% e l'82% rispetto ai metodi molecolari a causa dei problemi nella visualizzazione di numeri ridotti di organismi o a causa della motilità dei protozoi (6, 7).

T. vaginalis può essere rilevato anche mediante preparazioni "a fresco", miscelando secrezioni vaginali con soluzione salina su un vetrino ed esaminando il vetrino al microscopio. Tuttavia, l'esame microscopico a fresco offre una sensibilità compresa tra il 35% e l'80% rispetto alla coltura (7). La sensibilità del metodo a fresco è altamente dipendente dall'esperienza del microscopista e dalla durata del trasporto del campione al laboratorio.

L'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay è un test dell'acido nucleico che utilizza le tecnologie Target Capture, amplificazione mediata dalla trascrizione (transcription-mediated amplification, TMA) e dosaggio con protezione dell'ibridizzazione (hybridization protection assay, HPA).

Principi della procedura

L'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay comprende le tecnologie di cattura del target, amplificazione mediata da trascrizione (TMA) e analisi con protezione dell'ibridizzazione (hybridization protection assay, HPA).

I campioni vengono raccolti e trasferiti nelle rispettive provette di trasporto del campione. La soluzione di trasporto all'interno delle provette rilascia l'rRNA target e lo protegge dalla degradazione durante la conservazione. Quando in laboratorio viene eseguito l'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay, l'rRNA target viene isolato dai campioni con un metodo denominato cattura del target, che prevede l'uso di uno specifico oligomero di cattura e microparticelle magnetiche. L'oligomero di cattura contiene una sequenza complementare a una specifica regione della molecola target oltre a un filamento di residui di deossiadenosina. Durante la fase di ibridizzazione, la regione dell'oligomero di cattura specifica per la sequenza si lega a una regione specifica della molecola target. Il complesso di cattura oligomero:target viene quindi catturato fuori soluzione diminuendo la temperatura della reazione fino ad arrivare a temperatura ambiente. Questa riduzione della temperatura permette il verificarsi dell'ibridizzazione fra la regione della deossiadenosina sull'oligomero di cattura e le molecole di poli-deossitimidina che sono unite con legame covalente alle particelle magnetiche. Le microparticelle, che comprendono le molecole target catturate legate ad esse, vengono spinte sul lato del recipiente di reazione con dei magneti e il surnatante viene aspirato. Le particelle vengono sottoposte a lavaggio per rimuovere la matrice residua del campione che potrebbe contenere inibitori dell'amplificazione. Una volta completate le fasi di cattura del target, i campioni sono pronti per l'amplificazione.

I test di amplificazione si basano sulla capacità dei primer oligonucleotidici complementari di appaiarsi in modo specifico per permettere l'amplificazione enzimatica dei filamenti di acidi nucleici target. La reazione TMA Gen-Probe permette di amplificare una specifica regione della subunità ribosomiale minore di *T. vaginalis* attraverso gli intermedi di DNA ed RNA generando molecole di ampliconi di RNA. Il rilevamento delle sequenze dei prodotti di amplificazione dell'rRNA si ottiene mediante l'ibridizzazione degli acidi nucleici (HPA). Una sonda di DNA chemiluminescente a singolo filamento complementare a una regione dell'amplicone target viene marcata con una molecola di estere di acridinio. La sonda di DNA marcatasi lega all' amplicone per formare ibridi stabili RNA:DNA. Il reagente di selezione differenzia le sonde ibridizzate da quelle non ibridizzate, eliminando la generazione del segnale dalla sonda non ibridizzata. Durante la fase di rilevamento, la luce emessa dagli ibridi marcati RNA:DNA viene misurata come segnali fotonici in un luminometro e riportati come unità di luce relativa (Relative Light Units, RLU).

Avvertenze e precauzioni

- A. Per l'uso diagnostico *in vitro*.
- B. Per avvertenze e precauzioni specifiche supplementari, consultare il *TIGRIS DTS System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del TIGRIS DTS System)*.
- C. Per avvertenze e precauzioni specifiche supplementari, consultare il *PANTHER System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del PANTHER System)*.

Pertinenti al laboratorio

- D. Usare solo prodotti da laboratorio monouso forniti o specificati.
- E. Adottare le consuete precauzioni di laboratorio. Non mangiare, bere né fumare nelle aree di lavoro designate. Durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti dei kit indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio. Lavarsi accuratamente le mani dopo aver manipolato campioni e reagenti dei kit.
- F. **Avvertenza: Irritanti e corrosivi.** Evitare di fare entrare in contatto l'Auto Detect 1 e l'Auto Detect 2 con la pelle, gli occhi e le mucose. Se questi liquidi vengono a contatto con la pelle o con gli occhi, risciacquare con acqua la parte interessata. In caso di versamento di questi liquidi, diluire il liquido con acqua prima di asciugarlo con un panno.
- G. Le superfici di lavoro, le pipette e le altre apparecchiature devono essere decontaminate regolarmente con una soluzione di ipoclorito di sodio in concentrazioni comprese fra 2,5% e 3,5% (da 0,35 M a 0,5 M).

Pertinenti ai campioni

- H. Le date di scadenza dei kit di trasferimento dei campioni si riferiscono alla raccolta o al trasferimento dei campioni e non all'analisi dei campioni. I campioni raccolti/trasferiti precedentemente alla data di scadenza sono validi per l'analisi, a condizione che siano stati trasportati e conservati conformemente alle indicazioni riportate sul foglietto illustrativo, anche se è stata superata la data di scadenza riportata sulla provetta di trasferimento.
- I. I campioni potrebbero essere infettivi. Nell'eseguire questo test, adottare le precauzioni universali. Metodi adeguati di manipolazione e smaltimento devono essere stabiliti dal direttore del laboratorio. L'esecuzione di questa procedura diagnostica è consentita solo a personale adeguatamente addestrato alla manipolazione di materiali infettivi.
- J. Durante le fasi di manipolazione dei campioni, evitare la contaminazione crociata. I campioni possono contenere livelli di organismi estremamente alti. Assicurarsi che i contenitori dei campioni non vengano in contatto reciproco e gettare i materiali facendo attenzione a non passare sopra i contenitori aperti. Cambiare i guanti se vengono in contatto con i campioni.
- K. In certe condizioni, si può verificare una perdita di liquido dai tappi delle provette di trasporto APTIMA quando questi vengono forati. Per maggiori informazioni, fare riferimento alla *procedura di analisi* appropriata.

- L. Dopo l'aggiunta dell'urina, il livello del liquido nella provetta di trasporto dell'urina deve rientrare fra le due linee indicatrici nere marcate sull'etichetta della provetta. In caso contrario, il campione va rifiutato.
- M. Mantenere le corrette condizioni di conservazione durante la spedizione del campione, per assicurarne l'integrità. La stabilità del campione in condizioni di spedizione diverse da quelle raccomandate non è stata determinata.
- N. Se il laboratorio riceve una provetta di trasporto del campione di tampone che non contiene alcun tampone o contiene due tamponi, un tampone di pulizia o un tampone non fornito da Gen-Probe, il campione va rifiutato.

Pertinenti al test

- O. Conservare i reagenti alle temperature specificate. La prestazione del test può essere compromessa dall'uso di reagenti conservati in modo improprio.
- P. Adottare le precauzioni universali durante la manipolazione dei controlli.
- Q. Evitare la contaminazione microbica e da ribonucleasi dei reagenti.
- R. Non usare questo kit dopo la data di scadenza.
- S. Non scambiare, mescolare o combinare reagenti provenienti da kit con numeri di lotto diversi. I controlli e i reagenti possono essere scambiati.

Requisiti di manipolazione e conservazione dei reagenti

- A. I seguenti reagenti sono stabili se vengono conservati a temperature comprese fra 2 °C e 8 °C:
- APTIMA *Trichomonas vaginalis* Amplification Reagent (reagente di amplificazione)
 - APTIMA *Trichomonas vaginalis* Enzyme Reagent (reagente enzimatico)
 - APTIMA *Trichomonas vaginalis* Probe Reagent (reagente sonda)
 - APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay Target Capture Reagent B (reagente di cattura del target)
 - Controlli APTIMA *Trichomonas vaginalis*
- B. I seguenti reagenti sono stabili quando vengono conservati a temperatura ambiente (compresa fra 15 °C e 30 °C):
- APTIMA *Trichomonas vaginalis* Amplification Reconstitution Solution (soluzione di ricostituzione per l'amplificazione)
 - APTIMA *Trichomonas vaginalis* Enzyme Reconstitution Solution (soluzione di ricostituzione per l'enzima)
 - APTIMA *Trichomonas vaginalis* Probe Reconstitution Solution (soluzione di ricostituzione per la sonda)
 - APTIMA *Trichomonas vaginalis* Target Capture Reagent (reagente di cattura del target)
 - APTIMA *Trichomonas vaginalis* Selection Reagent (reagente di selezione)
- C. Dopo la ricostituzione, il reagente di amplificazione, il reagente enzimatico e il reagente sonda sono stabili per 60 giorni se vengono conservati a temperature comprese fra 2 °C e 8 °C.
- D. Il reagente di cattura del target di lavoro (Working Target Capture Reagent, wTCR) è stabile per 60 giorni se viene conservato a temperature comprese tra 15 °C e 30 °C. Non refrigerare.
- E. Dopo 60 giorni o dopo la data di scadenza del lotto master (a seconda della condizione che si verifica per prima), gettare qualsiasi reagente ricostituito e wTCR non utilizzato.
- F. I controlli sono stabili fino alla data indicata sulle fiale.
- G. I reagenti contenuti nei flaconi da 250 test che sono conservati a bordo del TIGRIS DTS System hanno una stabilità a bordo di 48 ore.
- H. I reagenti contenuti nei flaconi da 100 test che sono conservati a bordo del TIGRIS DTS System hanno una stabilità a bordo di 96 ore.
- I. I reagenti conservati a bordo del PANTHER System hanno una stabilità a bordo di 72 ore.
- J. Evitare la contaminazione crociata durante la manipolazione e la conservazione dei reagenti. Prima della conservazione, applicare sempre a tutti i reagenti ricostituiti nuovi tappi per reagente.
- K. Il reagente sonda e il reagente sonda ricostituito sono fotosensibili. Conservare i reagenti al riparo dalla luce.
- L. **Non congelare i reagenti.**

Raccolta e conservazione dei campioni

L'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay è concepito per rilevare la presenza di *T. vaginalis* in campioni di tamponi endocervicali e vaginali raccolti da un medico, campioni di urina femminile e campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt. Le prestazioni con campioni diversi da quelli raccolti con i seguenti kit di raccolta dei campioni non sono state valutate:

- APTIMA Unisex Swab Specimen Collection Kit (kit unisex di raccolta dei campioni di tampone) per campioni di tamponi endocervicali e uretrali (maschili)
- APTIMA Urine Collection Kit (kit di raccolta dell'urina) per campioni di urina maschili e femminili
- APTIMA Vaginal Swab Specimen Collection Kit (kit di raccolta di campioni di tamponi vaginali)
- APTIMA Specimen Transfer Kit (kit di trasferimento dei campioni, per l'uso con campioni ginecologici raccolti in soluzione PreservCyt)

A. Istruzioni per la raccolta

1. Per istruzioni specifiche sulla raccolta, consultare il foglietto illustrativo del relativo kit di raccolta dei campioni.

B. Trasporto e conservazione dei campioni prima dell'analisi

1. Campioni di tampone

- a. Dopo la raccolta, trasportare e conservare il tampone, fino al momento dell'analisi, nella provetta di trasporto del campione di tampone a temperature comprese fra 2 °C e 30 °C.
- b. Campioni per i test entro 60 giorni dalla raccolta. Qualora sia necessario conservare i campioni per un periodo più lungo, congelare la provetta di trasporto del campione a ≤ -20 °C per ulteriori 12 mesi.

2. Campioni di urina

- a. I campioni di urina che si trovano ancora nel contenitore di raccolta principale devono essere trasportati al laboratorio a temperature comprese fra 2 °C e 30 °C. Trasferire il campione di urina nella provetta di trasporto del campione di urina APTIMA entro 24 ore dalla raccolta.
- b. Conservare i campioni di urina a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C ed eseguire il test entro 30 giorni dal trasferimento. Qualora sia necessaria una conservazione per un periodo più lungo, conservare il campione di urina analizzato a ≤ -20 °C per un massimo di 12 mesi dal trasferimento.

3. Campioni raccolti in soluzione PreservCyt

- a. Trasportare e conservare i campioni raccolti in soluzione PreservCyt a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C per un massimo di 30 giorni.
- b. I campioni raccolti in soluzione PreservCyt devono essere trasferiti in una provetta di trasporto del campione APTIMA conformemente alle istruzioni riportate sul foglietto illustrativo dell'APTIMA Specimen Transfer kit (kit di trasferimento dei campioni).
- c. Dopo il trasferimento in una provetta di trasporto del campione APTIMA, i campioni possono essere conservati per ulteriori 14 giorni a temperature comprese tra 15 °C e 30 °C o per 30 giorni a temperature comprese tra 2 °C e 8 °C.
- d. Qualora sia necessaria una conservazione per un periodo più lungo, il campione raccolto in soluzione PreservCyt o il campione per Pap test raccolto in liquido in soluzione PreservCyt diluito nella provetta di trasferimento del campione può essere conservato a ≤ -20 °C per un massimo di 12 mesi dal trasferimento.

C. Conservazione dei campioni dopo l'analisi

1. I campioni che sono stati analizzati devono essere conservati su una rastrelliera in posizione verticale.
2. Le provette di trasporto dei campioni vanno coperte con una pellicola di plastica o un foglio di alluminio nuovi e puliti.
3. Se i campioni analizzati devono essere congelati o spediti, rimuovere i tappi penetrabili e sostituirli con nuovi tappi non penetrabili sulle provette di trasporto del campione. Qualora sia necessario inviare i campioni presso altri laboratori di analisi, è necessario mantenerli alle temperature consigliate. Prima di rimuovere i tappi, è necessario centrifugare le provette di trasporto del campione per 5 minuti ad una forza centrifuga relativa (Relative Centrifugal Force, RCF) di 420 per portare tutto il liquido verso il basso sul fondo della provetta. **Evitare gli schizzi e la contaminazione crociata.**

Nota: *La spedizione dei campioni deve essere effettuata in conformità ai regolamenti applicabili relativi al trasporto nazionale e internazionale.*

TIGRIS DTS System



Di seguito sono riportati i reagenti per l'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay per il TIGRIS DTS System. Accanto al nome dei reagenti sono elencati anche i simboli di identificazione dei reagenti.

Reagenti e materiali forniti

APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay Kit

250 test (2 scatole e 1 kit di controlli) (N. cat. 303164)

100 test (2 scatole e 1 kit di controlli) (N. cat. 303174)

APTIMA *Trichomonas vaginalis* Refrigerated Box, scatola refrigerata (scatola 1 di 2) (alla ricezione, conservare a temperature comprese tra 2 °C e 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità	
		Kit da 250 test	Kit da 100 test
A	APTIMA <i>Trichomonas vaginalis</i> Amplification Reagent (reagente di amplificazione) <i>Primer e nucleotidi essiccati in soluzione tamponata contenente < 5% di agente di riempimento.</i>	1 fiala	1 fiala
E	APTIMA <i>Trichomonas vaginalis</i> Enzyme Reagent (reagente enzimatico) <i>Trascrittasi inversa ed RNA polimerasi essiccate in soluzione tamponata HEPES contenente < 10% di agente di riempimento.</i>	1 fiala	1 fiala
P	APTIMA <i>Trichomonas vaginalis</i> Probe Reagent (reagente sonda) <i>Sonde di DNA chemiluminescenti essiccate, in soluzione tampone succinato contenente < 5% di detergente.</i>	1 fiala	1 fiala
TCR-B	APTIMA <i>Trichomonas vaginalis</i> Assay Target Capture Reagent B (reagente di cattura del target) <i>Soluzione tampone contenente < 5% di detergente.</i>	1 x 0,56 mL	1 x 0,30 mL

APTIMA *Trichomonas vaginalis* Room Temperature Box, scatola a temperatura ambiente (scatola 2 di 2) (alla ricezione, conservare a temperatura ambiente tra 15 °C e 30 °C)

Simbolo	Componente	Quantità	
		Kit da 250 test	Kit da 100 test
AR	APTIMA <i>Trichomonas vaginalis</i> Amplification Reconstitution Solution (soluzione di ricostituzione per l'amplificazione) <i>Soluzione acquosa contenente conservanti.</i>	1 x 27,7 mL	1 x 11,9 mL

APTIMA Trichomonas vaginalis Room Temperature Box, scatola a temperatura ambiente (scatola 2 di 2)

(alla ricezione, conservare a temperatura ambiente tra 15 °C e 30 °C) (Continua)

ER	APTIMA Trichomonas vaginalis Enzyme Reconstitution Solution (soluzione di ricostituzione per l'enzima) <i>Soluzione tamponata HEPES contenente un tensioattivo e glicerolo.</i>	1 x 11,1 mL	1 x 6,3 mL
PR	APTIMA Trichomonas vaginalis Probe Reconstitution Solution (soluzione di ricostituzione per la sonda) <i>Soluzione tampone succinato contenente < 5% di detergente.</i>	1 x 35,4 mL	1 x 15,2 mL
S	APTIMA Trichomonas vaginalis Selection Reagent (reagente di selezione) <i>Soluzione tampone borato 600 mM contenente un tensioattivo.</i>	1 x 108 mL	1 x 43,0 mL
TCR	APTIMA Trichomonas vaginalis Target Capture Reagent (reagente di cattura del target) <i>Soluzione tamponata contenente oligomeri di cattura e particelle magnetiche.</i>	1 x 54,0 mL	1 x 26,0 mL
	Collari di ricostituzione	3	3
	Scheda del codice a barre del lotto master	1 scheda	1 scheda

APTIMA Trichomonas vaginalis Controls Kit (kit dei controlli Trichomonas vaginalis APTIMA)
(alla ricezione, conservare a temperature comprese tra 2 °C e 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
NC	APTIMA Trichomonas vaginalis Negative Control (controllo negativo) <i>Acido nucleico non-target non infettivo in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.</i>	5 x 1,7 mL
PC	APTIMA Trichomonas vaginalis Positive Control (controllo positivo) <i>Organismi di Trichomonas vaginalis non infettivi in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.</i>	5 x 1,7 mL

Materiali richiesti ma disponibili separatamente

Nota: Per i materiali disponibili presso Gen-Probe sono indicati i numeri di catalogo, se non diversamente specificato.

	N. cat.
TIGRIS DTS System	105118
Kit di reagenti APTIMA (Soluzione di lavaggio APTIMA, tampone per liquido di disattivazione APTIMA e reagente olio APTIMA)	302382
Kit Auto Detect APTIMA	301048

	N. cat.
APTIMA System Fluid Preservative Kit (conservante del liquido del sistema)	302380
Puntali, 1000 µL conduttivi, rilevatori del livello di liquido	10612513 (Tecan)
Kit procedurale del TIGRIS DTS System	301191
<i>Unità multiprovetta</i>	<i>104772-02</i>
<i>Kit dei sacchi di rifiuti dei puntali/MTU</i>	<i>900907</i>
<i>Deflettori di rifiuti delle MTU</i>	<i>900931</i>
<i>Coperchio di rifiuti delle MTU</i>	<i>105523</i>
APTIMA Specimen Transfer Kit (kit di trasferimento del campione) <i>per l'uso con campioni in soluzione PreservCyt</i>	301154C
APTIMA Vaginal Swab Specimen Collection Kit (kit di raccolta di campioni di tamponi vaginali)	301162
APTIMA Unisex Swab Specimen Collection Kit (kit unisex di raccolta dei campioni di tampone) per campioni di tamponi endocervicali e uretrali (maschili)	301041
APTIMA Urine Specimen Collection Kit (kit di raccolta di urina) per campioni di urina maschili e femminili	301040
APTIMA Urine Specimen Transport Tubes (provette di trasporto dei campioni di urina) per campioni di urina maschili e femminili	105575
Candeggina, dal 5% al 7% (da 0,7 M a 1,0 M) soluzione di ipoclorito di sodio	—
Acqua per il TIGRIS DTS System <i>vedere il TIGRIS DTS System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del TIGRIS DTS System) per le specifiche tecniche</i>	—
Guanti monouso	—
Standard di calibrazione SysCheck	301078
Tappi penetrabili APTIMA	105668
Tappi non penetrabili sostitutivi	103036A
Tappi sostitutivi per kit da 250 test <i>Soluzioni di amplificazione e di ricostituzione del reagente sonda</i>	—
<i>Soluzione di ricostituzione del reagente enzimatico</i>	<i>CL0041 (100 tappi)</i>
<i>Soluzioni per il TCR e il reagente di selezione</i>	<i>501616 (100 tappi)</i>
<i>Soluzioni per il TCR e il reagente di selezione</i>	<i>CL0040 (100 tappi)</i>
Tappi sostitutivi per kit da 100 test <i>Soluzioni di amplificazione, di ricostituzione del reagente sonda e del reagente enzimatico</i>	—
<i>TCR e reagente di selezione</i>	<i>CL0041 (100 tappi)</i>
<i>TCR e reagente di selezione</i>	<i>501604 (100 tappi)</i>

Materiali facoltativi

	N. cat.
APTIMA Trichomonas vaginalis Controls Kit (kit dei controlli Trichomonas vaginalis APTIMA)	302807
Potenziatore di candeggina GEN-PROBE per la pulizia <i>per la pulizia abituale di superfici e attrezzature</i>	302101

Procedura di analisi con il TIGRIS DTS System

Nota: Consultare il *TIGRIS DTS System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del TIGRIS DTS System)* per ulteriori informazioni procedurali su questo sistema.

A. Preparazione dell'area di lavoro

1. Pulire le superfici di lavoro destinate alla preparazione di reagenti e campioni. Passare le superfici di lavoro con un panno imbevuto di soluzione di ipoclorito di sodio a concentrazioni comprese fra 2,5% e 3,5% (da 0,35 M a 0,5 M). Lasciare l'ipoclorito di sodio a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua. Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco sul quale verranno preparati i reagenti e i campioni con coperture da banco di laboratorio pulite, assorbenti e con parte posteriore plastificata.

B. Ricostituzione dei reagenti / Preparazione di un nuovo kit

Nota: La ricostituzione dei reagenti andrebbe eseguita prima di iniziare qualsiasi lavoro sul TIGRIS DTS System.

1. Per ricostituire i reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda, unire i flaconi di reagente liofilizzato alla soluzione di ricostituzione. Se refrigerate, prima dell'uso attendere che le soluzioni di ricostituzione raggiungano la temperatura ambiente.
 - a. Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al proprio reagente liofilizzato. Prima di fissare il collare di ricostituzione, accertarsi che la soluzione di ricostituzione e il reagente liofilizzato abbiano l'etichetta dello stesso colore.
 - b. Controllare i numeri di lotto sulla scheda dei codici a barre del lotto master per assicurarsi che siano abbinati i reagenti appropriati.
 - c. Aprire la fiala del reagente liofilizzato e inserire con fermezza l'estremità indentata del collare di ricostituzione nell'apertura della fiala (Figura 1, fase 1).
 - d. Aprire il flacone della soluzione di ricostituzione corrispondente e appoggiare il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - e. Tenendo il flacone della soluzione di ricostituzione sul banco, inserire con fermezza l'altra estremità del collare di ricostituzione nell'apertura del flacone (Figura 1, fase 2).
 - f. Capovolgere lentamente i flaconi assemblati. Lasciar scendere la soluzione dal flacone di ricostituzione nella fiala di vetro del reagente (Figura 1, fase 3).
 - g. Agitare ruotando delicatamente la soluzione nella fiala per miscelarla. Evitare la formazione di schiuma durante questa fase (Figura 1, fase 4).
 - h. Attendere che il reagente liofilizzato passi in soluzione, quindi capovolgere di nuovo i due flaconi assemblati, inclinandoli ad un angolo di 45° per ridurre al minimo la formazione di schiuma (Figura 1, fase 5). Lasciar ridiscendere tutto il liquido nel flacone di plastica.
 - i. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, fase 6).
 - j. Chiudere il flacone di plastica con il relativo tappo (Figura 1, fase 7). Annotare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione.
 - k. Gettare il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, fase 8).

Avvertenza: Evitare la formazione di schiuma durante la ricostituzione dei reagenti. La schiuma pregiudica il rilevamento del livello di liquido nel TIGRIS DTS System.

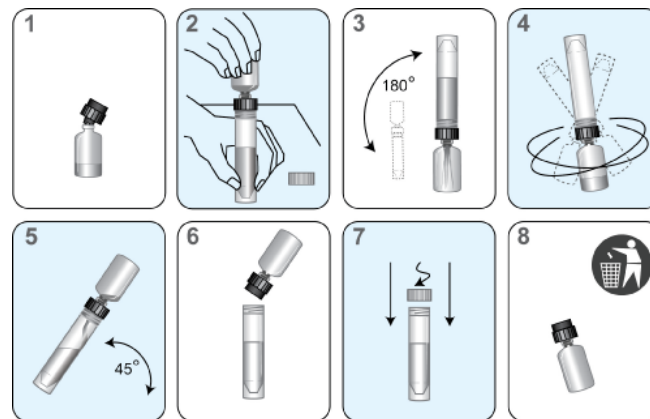


Figura 1. Processo di ricostituzione per il TIGRIS DTS System o il PANTHER System

2. Preparazione del reagente di cattura del target di lavoro (Working Target Capture Reagent, wTCR)
 - a. Accoppiare i flaconi appropriati di TCR e TCR-B.
 - b. Controllare i numeri di lotto dei reagenti sulla scheda dei codici a barre del lotto master per assicurarsi che siano abbinati i reagenti appropriati.
 - c. Aprire il flacone di TCR e appoggiare il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - d. Aprire il flacone di TCR-B e versarne l'intero contenuto nel flacone di TCR. È normale che nel flacone di TCR-B resti una piccola quantità di liquido.
 - e. Tappare il flacone di TCR e agitare la soluzione ruotandola delicatamente per miscelare il contenuto. Evitare la formazione di schiuma durante questa fase.
 - f. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.
 - g. Gettare il flacone e il tappo del TCR-B.
3. Preparazione del reagente di selezione
 - a. Controllare i numeri di lotto dei reagenti sulla scheda dei codici a barre del lotto master per assicurarsi che siano abbinati i reagenti appropriati.
 - b. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.

Nota: Miscelare accuratamente tutti i reagenti capovolgendoli delicatamente prima di caricarli nel sistema. Evitare la formazione di schiuma mentre si capovolgono i reagenti.

- C. Preparazione dei reagenti (per reagenti precedentemente ricostituiti)
 1. I reagenti sonda, di amplificazione ed enzimatico precedentemente ricostituiti devono essere portati a temperatura ambiente (da 15 °C a 30 °C) prima di iniziare il test.
 2. Se il reagente sonda ricostituito contiene precipitato che non rientra in soluzione a temperatura ambiente, riscaldare il flacone chiuso ad una temperatura che non superi i 60 °C per un periodo compreso fra 1 e 2 minuti. Al termine di questa fase di riscaldamento, il reagente sonda può essere utilizzato anche se resta un precipitato residuo. Miscelare il reagente sonda per inversione.

3. Miscelare a fondo ciascun reagente delicatamente per inversione prima di caricarlo nel sistema. Evitare la formazione di schiuma mentre si capovolgono i reagenti.
4. Evitare di riempire i flaconi dei reagenti fino all'orlo. Il TIGRIS DTS System riconosce e rifiuta i flaconi riempiti fino all'orlo.

D. Manipolazione dei campioni

1. Prima del trattamento, 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 requisiti:
 - a. La presenza di un singolo tampone di raccolta APTIMA blu in una provetta di trasporto dei campioni di tampone unisex.
 - b. La presenza di un singolo tampone di raccolta APTIMA rosa in una provetta di trasporto dei campioni di tampone vaginale.
 - c. Un volume finale di urina compreso tra le linee di riempimento nere di una provetta di trasporto del campione di urina.
 - d. L'assenza di un tampone nella provetta di trasporto dei campioni APTIMA per i campioni per Pap test raccolti in liquido in soluzione PreservCyt.
4. Ispezionare le provette dei campioni prima di caricarle sulla rastrelliera:
 - a. Se una provetta contiene delle bolle nello spazio fra il liquido e il tappo, centrifugarla per 5 minuti a 420 RCF per eliminarle.
 - b. Se una provetta del campione presenta un volume inferiore a quello tipicamente osservato quando sono state seguite le istruzioni per la raccolta, centrifugare la provetta per 5 minuti a 420 RCF per assicurarsi che non sia presente liquido nel tappo.
 - c. Se il livello del liquido in una provetta del campione di urina non rientra fra le due linee indicatrici nere, il campione deve essere rifiutato. Non forare una provetta troppo piena.
 - d. Se una provetta del campione di urina contiene precipitato, riscaldare il campione a 37 °C per un massimo di 5 minuti. Nel caso in cui il precipitato non rientri in soluzione, controllare visivamente che il precipitato non impedisca il trasferimento del campione.

Nota: La mancata osservanza dei procedimenti 4a - 4c potrebbe determinare un traboccamento di liquido dal tappo della provetta del campione.

Nota: Da ciascuna provetta del campione possono essere analizzate fino a tre aliquote separate. I tentativi di pipettare più di 3 aliquote dalla provetta del campione possono causare errori di volume insufficiente.

E. Preparazione del sistema

Impostare il sistema e la lista di lavoro in base alle istruzioni contenute nel *TIGRIS DTS System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del TIGRIS DTS System)* e nelle *Note procedurali*.

Note procedurali

A. Controlli

1. Per lavorare correttamente con l'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay software, i controlli sono richiesti all'inizio e al termine di una lista di lavoro. Il controllo negativo APTIMA per *Trichomonas* deve trovarsi nella provetta che occupa la prima e la penultima posizione dell'ultima rastrelliera della lista di lavoro. Il controllo positivo APTIMA per *Trichomonas* deve trovarsi nella provetta che occupa la seconda e l'ultima posizione dell'ultima rastrelliera della lista di lavoro.
2. Ciascuna provetta di controllo può essere analizzata una sola volta. I tentativi di pipettare più di una volta dalla provetta possono causare errori di volume insufficiente.

B. Temperatura

Per temperatura ambiente si intende una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C.

C. Guanti

Come in qualsiasi sistema di reazione, il talco eccessivo in alcuni guanti può causare la contaminazione delle provette aperte. Si consigliano guanti privi di talco.

D. Protocollo di monitoraggio della contaminazione in laboratorio per il TIGRIS DTS System

Esistono numerosi fattori specifici del laboratorio che possono contribuire alla contaminazione, tra cui il volume di analisi, il flusso di lavoro, la prevalenza di una malattia e altre attività connesse al laboratorio. Quando si stabilisce la frequenza di monitoraggio della contaminazione è necessario tenere in considerazione questi fattori. Gli intervalli di monitoraggio della contaminazione vanno stabiliti in base alle prassi e alle procedure di ciascun laboratorio.

Per monitorare la contaminazione in laboratorio durante l'utilizzo dell'APTIMA Unisex Swab Specimen Collection Kit (kit di raccolta dei campioni di tamponi unisex) per campioni di tamponi endocervicali e uretrali (maschili), è possibile utilizzare la seguente procedura:

1. Contrassegnare le provette di trasporto dei tamponi con etichette numerate corrispondenti alle aree da analizzare.
2. Estrarre dalla confezione il tampone di raccolta del campione (tampone con bastoncino blu e stampa verde), inumidire il tampone nel terreno di trasporto e prelevare il campione nell'area designata con movimento circolare.
3. Inserire immediatamente il tampone nella provetta di trasporto.
4. Spezzare il bastoncino del tampone in corrispondenza della linea indicatrice, facendo attenzione a non disperdere il materiale prelevato.
5. Chiudere bene il tappo della provetta.
6. Ripetere le operazioni da 2 a 5 per tutte le aree da cui verranno prelevati i campioni.

Se risultati sono positivi, vedere *Interpretazione dell'analisi – QC/Risultati dei pazienti*. Per ulteriori informazioni sul monitoraggio della contaminazione specifiche per il TIGRIS DTS System, vedere il *TIGRIS DTS System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del TIGRIS DTS System)*.

PANTHER System**PANTHER**

Di seguito sono riportati i reagenti per l'APTIMA
Trichomonas vaginalis Assay per il PANTHER System.

Accanto al nome dei reagenti sono elencati anche i simboli di identificazione dei reagenti.

Reagenti e materiali forniti**APTIMA Trichomonas vaginalis Assay Kit**

250 test (2 scatole e 1 kit di controlli) (N. cat. 303163)

100 test (2 scatole e 1 kit di controlli) (N. cat. 303209)

APTIMA Trichomonas vaginalis Refrigerated Box, scatola refrigerata (scatola 1 di 2)
(alla ricezione, conservare a temperature comprese tra 2 °C e 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità	
		Kit da 250 test	Kit da 100 test
A	APTIMA Trichomonas vaginalis Amplification Reagent (reagente di amplificazione) <i>Primer e nucleotidi essiccati in soluzione tamponata contenente < 5% di agente di riempimento.</i>	1 fiala	1 fiala
E	APTIMA Trichomonas vaginalis Enzyme Reagent (reagente enzimatico) <i>Trascrittasi inversa ed RNA polimerasi essiccate in soluzione tamponata HEPES contenente < 10% di agente di riempimento.</i>	1 fiala	1 fiala
P	APTIMA Trichomonas vaginalis Probe Reagent (reagente sonda) <i>Sonde di DNA chemiluminescenti essiccate, in soluzione tampone succinato contenente < 5% di detergente.</i>	1 fiala	1 fiala
TCR-B	APTIMA Trichomonas vaginalis Assay Target Capture Reagent B (reagente di cattura del target) <i>Soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.</i>	1 x 0,56 mL	1 x 0,30 mL

APTIMA Trichomonas vaginalis Room Temperature Box, scatola a temperatura ambiente
(scatola 2 di 2)
(alla ricezione, conservare a temperatura ambiente tra 15 °C e 30 °C)

Simbolo	Componente	Quantità	
		Kit da 250 test	Kit da 100 test
AR	APTIMA Trichomonas vaginalis Amplification Reconstitution Solution (soluzione di ricostituzione per l'amplificazione) <i>Soluzione acquosa contenente conservanti.</i>	1 x 27,7 mL	1 x 11,9 mL

APTIMA Trichomonas vaginalis Room Temperature Box, scatola a temperatura ambiente (scatola 2 di 2)

(alla ricezione, conservare a temperatura ambiente tra 15 °C e 30 °C) (Continua)

ER	APTIMA Trichomonas vaginalis Enzyme Reconstitution Solution (soluzione di ricostituzione per l'enzima) <i>Soluzione tamponata HEPES contenente un tensioattivo e glicerolo.</i>	1 x 11,1 mL	1 x 6,3 mL
PR	APTIMA Trichomonas vaginalis Probe Reconstitution Solution (soluzione di ricostituzione per la sonda) <i>Soluzione tamponata con succinato contenente < 5% di detergente.</i>	1 x 35,4 mL	1 x 15,2 mL
S	APTIMA Trichomonas vaginalis Selection Reagent (reagente di selezione) <i>Soluzione tampone borato 600 mM contenente un tensioattivo.</i>	1 x 108 mL	1 x 43,0 mL
TCR	APTIMA Trichomonas vaginalis Target Capture Reagent (reagente di cattura del target) <i>Soluzione tamponata contenente oligomeri di cattura e particelle magnetiche.</i>	1 x 54,0 mL	1 x 26,0 mL
	Collari di ricostituzione	3	3
	Scheda del codice a barre del lotto master	1 scheda	1 scheda

APTIMA Trichomonas vaginalis Controls Kit (kit dei controlli Trichomonas vaginalis APTIMA)
(alla ricezione, conservare a temperature comprese tra 2 °C e 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
NC	APTIMA Trichomonas vaginalis Negative Control (controllo negativo) <i>Acido nucleico non-target non infettivo in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.</i>	5 x 1,7 mL
PC	APTIMA Trichomonas vaginalis Positive Control (controllo positivo) <i>Organismi di Trichomonas vaginalis non infettivi in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.</i>	5 x 1,7 mL

Materiali richiesti ma disponibili separatamente

Nota: Per i materiali disponibili presso Gen-Probe sono indicati i numeri di catalogo, se non diversamente specificato.

	<u>N. cat.</u>
PANTHER System	303095
Kit di reagenti APTIMA (Soluzione di lavaggio APTIMA, tampone per liquido di disattivazione APTIMA e reagente olio APTIMA)	303014 (1000 test)
Kit Auto Detect APTIMA	303013 (1000 test)

Unità multiprovetta (MTU)	104772-02
Kit dei sacchetti di rifiuti PANTHER	902731
Coperchio del contenitore dei rifiuti PANTHER	902714
Oppure Kit procedurale PANTHER	303096 (5000 test)
<i>Contiene le MTU, i sacchetti dei rifiuti, i coperchi dei contenitori dei rifiuti, i reagenti e gli Auto Detect.</i>	
Puntali, 1000 µL conduttivi, rilevatori del livello di liquido	10612513 (Tecan)
APTIMA Specimen Transfer Kit (kit di trasferimento del campione)	301154C
<i>per l'uso con campioni in soluzione PreservCyt</i>	
APTIMA Vaginal Swab Specimen Collection Kit (kit di raccolta di campioni di tamponi vaginali)	301162
APTIMA Unisex Swab Specimen Collection Kit (kit unisex di raccolta dei campioni di tampone) per campioni di tamponi endocervicali e uretrali (maschili)	301041
APTIMA Urine Specimen Collection Kit (kit di raccolta di urina) per campioni di urina maschili e femminili	301040
APTIMA Urine Specimen Transport Tubes (provette di trasporto dei campioni di urina) per campioni di urina maschili e femminili	105575
Candeggina, dal 5% al 7% (da 0,7 M a 1,0 M) soluzione di ipoclorito di sodio	—
Guanti monouso	—
Standard di calibrazione SysCheck	301078
Tappi penetrabili APTIMA	105668
Tappi non penetrabili sostitutivi	103036A
Tappi sostitutivi per kit da 250 test	—
<i>Soluzioni di amplificazione e di ricostituzione del reagente sonda</i>	
	<i>CL0041 (100 tappi)</i>
<i>Soluzione di ricostituzione del reagente enzimatico</i>	<i>501616 (100 tappi)</i>
<i>TCR e reagente di selezione</i>	<i>CL0040 (100 tappi)</i>
Tappi sostitutivi per kit da 100 test	—
<i>Soluzioni di amplificazione, di ricostituzione del reagente sonda e del reagente enzimatico</i>	
	<i>CL0041 (100 tappi)</i>
<i>TCR e reagente di selezione</i>	<i>501604 (100 tappi)</i>

Materiali facoltativi

	<u>N. cat.</u>
APTIMA Trichomonas vaginalis Controls Kit (kit dei controlli Trichomonas vaginalis APTIMA)	302807
Potenziatore di candeggina GEN-PROBE per la pulizia <i>per la pulizia abituale di superfici e attrezzature</i>	302101

Procedura di analisi per il PANTHER System

Nota: Per ulteriori informazioni procedurali per il 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 destinate alla preparazione di reagenti e campioni. Passare le superfici di lavoro con un panno imbevuto di soluzione di ipoclorito di sodio a concentrazioni comprese fra 2,5% e 3,5% (da 0,35 M a 0,5 M). Lasciare l'ipoclorito di sodio a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua. Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco sul quale verranno preparati i reagenti e i campioni con coperture da banco di laboratorio pulite, assorbenti e con parte posteriore plastificata.

B. Ricostituzione dei reagenti / Preparazione di un nuovo kit

Nota: La ricostituzione dei reagenti andrebbe eseguita prima di iniziare qualsiasi lavoro sul PANTHER System.

1. Per ricostituire i reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda, unire i flaconi di reagente liofilizzato alla soluzione di ricostituzione. Se refrigerate, prima dell'uso attendere che le soluzioni di ricostituzione raggiungano la temperatura ambiente.
 - a. Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al proprio reagente liofilizzato. Prima di fissare il collare di ricostituzione, accertarsi che la soluzione di ricostituzione e il reagente abbiano l'etichetta dello stesso colore.
 - b. Controllare i numeri di lotto sulla scheda dei codici a barre del lotto master per assicurarsi che siano abbinati i reagenti appropriati.
 - c. Aprire la fiala del reagente liofilizzato e inserire con fermezza l'estremità indentata del collare di ricostituzione nell'apertura della fiala (Figura 2, fase 1).
 - d. Aprire il flacone della soluzione di ricostituzione corrispondente e appoggiare il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - e. Tenendo il flacone della soluzione di ricostituzione sul banco, inserire con fermezza l'altra estremità del collare di ricostituzione nell'apertura del flacone (Figura 2, fase 2).
 - f. Capovolgere lentamente i flaconi assemblati. Attendere che la soluzione scenda dal flacone alla fiala di vetro (Figura 2, fase 3).
 - g. Agitare ruotando delicatamente la soluzione nel flacone per miscelarla. Evitare la formazione di schiuma mentre si agita il flacone (Figura 2, fase 4).
 - h. Attendere che il reagente liofilizzato passi in soluzione, quindi capovolgere di nuovo i due flaconi assemblati, inclinandoli ad un angolo di 45° per ridurre al minimo la formazione di schiuma (Figura 2, fase 5). Lasciar ridiscendere tutto il liquido nel flacone di plastica.
 - i. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 2, fase 6).
 - j. Tappare il flacone di plastica. Annotare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 2, fase 7).
 - k. Gettare il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 2, fase 8).

Avvertenza: Evitare la formazione di schiuma durante la ricostituzione dei reagenti. La schiuma pregiudica il rilevamento del livello di liquido nel PANTHER System.

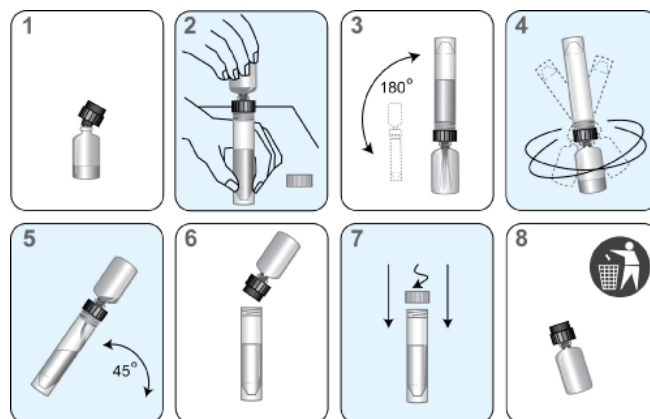


Figura 2. Processo di ricostituzione per il TIGRIS DTS System o il PANTHER System

2. Preparazione del reagente di cattura del target di lavoro (Working Target Capture Reagent, wTCR)
 - a. Accoppiare i flaconi appropriati di TCR e TCR-B.
 - b. Controllare i numeri di lotto dei reagenti sulla scheda dei codici a barre del lotto master per assicurarsi che siano abbinati i reagenti appropriati.
 - c. Aprire il flacone di TCR e appoggiare il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - d. Aprire il flacone di TCR-B e versarne l'intero contenuto nel flacone di TCR. È normale che nel flacone di TCR-B resti una piccola quantità di liquido.
 - e. Tappare il flacone di TCR e agitare la soluzione ruotandola delicatamente per miscelare il contenuto. Evitare la formazione di schiuma durante questa fase.
 - f. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.
 - g. Gettare il flacone e il tappo del TCR-B.
3. Preparazione del reagente di selezione
 - a. Controllare i numeri di lotto dei reagenti sulla scheda dei codici a barre del lotto master per assicurarsi che siano abbinati i reagenti appropriati.
 - b. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.

Nota: Miscelare accuratamente tutti i reagenti capovolgendoli delicatamente prima di caricarli nel sistema. Evitare la formazione di schiuma mentre si capovolgono i reagenti.

- C. Preparazione dei reagenti (per reagenti precedentemente ricostituiti)
 1. I reagenti sonda, di amplificazione ed enzimatico precedentemente ricostituiti devono essere portati a temperatura ambiente (da 15 °C a 30 °C) prima di iniziare il test.
 2. Se il reagente sonda ricostituito contiene precipitato che non rientra in soluzione a temperatura ambiente, riscaldare il flacone chiuso ad una temperatura che non superi i 62 °C per un periodo compreso fra 1 e 2 minuti. Al termine di questa fase di riscaldamento, il reagente sonda può essere utilizzato anche se resta un precipitato residuo. Miscelare il reagente sonda per inversione prima di caricarlo nel sistema, evitando la formazione di schiuma.

3. Miscelare a fondo ciascun reagente delicatamente per inversione prima di caricarlo nel sistema. Evitare la formazione di schiuma mentre si capovolgono i reagenti.
4. Evitare di riempire i flaconi dei reagenti fino all'orlo. Il PANTHER System riconosce e rifiuta i flaconi riempiti fino all'orlo.

D. Manipolazione dei campioni

1. Prima del trattamento, 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 requisiti:
 - a. La presenza di un singolo tampone di raccolta APTIMA blu in una provetta di trasporto dei campioni di tampone unisex.
 - b. La presenza di un singolo tampone di raccolta APTIMA rosa in una provetta di trasporto dei campioni di tampone vaginale.
 - c. Un volume finale di urina compreso tra le linee di riempimento nere di una provetta di trasporto del campione di urina.
 - d. L'assenza di un tampone nella provetta di trasporto dei campioni APTIMA per i campioni per Pap test raccolti in liquido in soluzione PreservCyt.
4. Ispezionare le provette dei campioni prima di caricarle sulla rastrelliera:
 - a. Se una provetta del campione contiene bolle nello spazio fra il liquido e il tappo, centrifugarla per 5 minuti a 420 RCF per eliminarle.
 - b. Se una provetta del campione presenta un volume inferiore a quello tipicamente osservato quando sono state seguite le istruzioni per la raccolta, centrifugare la provetta per 5 minuti a 420 RCF per assicurarsi che non sia presente liquido nel tappo.
 - c. Se il livello del liquido in una provetta del campione di urina non rientra fra le due linee indicatrici nere, il campione deve essere rifiutato. Non forare una provetta troppo piena.
 - d. Se una provetta del campione di urina contiene precipitato, riscaldare il campione a 37 °C per un massimo di 5 minuti. Nel caso in cui il precipitato non rientri in soluzione, controllare visivamente che il precipitato non impedisca il trasferimento del campione.

Nota: La mancata osservanza dei procedimenti 4a-4c potrebbe determinare un traboccamento di liquido dal tappo della provetta del campione.

Nota: Da ciascuna provetta del campione possono essere analizzate fino a tre aliquote separate. I tentativi di pipettare più di 3 aliquote dalla provetta del campione possono causare errori di trattamento.

E. Preparazione del sistema

1. Impostare il sistema in base alle istruzioni fornite nel *PANTHER System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del PANTHER System)* e nelle *Note procedurali*.
2. Caricare i campioni.

Note procedurali

A. Controlli

1. Per lavorare in modo adeguato con il PANTHER APTIMA Assay software è necessaria una coppia di controlli. Il controllo positivo per *Trichomonas* APTIMA e il controllo negativo per *Trichomonas* APTIMA possono essere caricati in qualunque posizione della rastrelliera o in qualunque corsia dello scomparto campioni del PANTHER System. Il pipettaggio dei campioni dei pazienti avrà inizio quando si verificherà una delle seguenti condizioni:
 - a. Una coppia di controlli viene trattata dal sistema.
 - b. Nel sistema vengono registrati risultati validi per i controlli.
2. Al termine del pipettaggio e del trattamento delle provette dei controlli di uno specifico kit di reagenti, i campioni dei pazienti possono essere trattati con il relativo kit fino a 24 ore **a meno che**:
 - a. I risultati dei controlli risultino non validi.
 - b. Il kit di reagenti del test associato viene rimosso dal sistema.
 - c. Il kit di reagenti del test associato ha superato i limiti di stabilità.
3. Ciascuna provetta del controllo APTIMA può essere analizzata una sola volta. I tentativi di pipettare più di una volta dalla provetta possono causare errori di trattamento.

B. Temperatura

Per temperatura ambiente si intende una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C.

C. Talco dei guanti

Come in qualsiasi sistema di reazione, il talco eccessivo in alcuni guanti può causare la contaminazione delle provette aperte. Si consigliano guanti privi di talco.

D. Protocollo di monitoraggio della contaminazione in laboratorio per il PANTHER System

Esistono numerosi fattori specifici del laboratorio che possono contribuire alla contaminazione, tra cui il volume di analisi, il flusso di lavoro, la prevalenza di una malattia e altre attività connesse al laboratorio. Quando si stabilisce la frequenza di monitoraggio della contaminazione è necessario tenere in considerazione questi fattori. Gli intervalli di monitoraggio della contaminazione vanno stabiliti in base alla prassi e alle procedure di ciascun laboratorio.

Per monitorare la contaminazione in laboratorio durante l'utilizzo dell'APTIMA Unisex Swab Specimen Collection Kit (kit di raccolta dei campioni di tamponi unisex) per campioni di tamponi endocervicali e uretrali (maschili), è possibile utilizzare la seguente procedura:

1. Contrassegnare le provette di trasporto dei tamponi con etichette numerate corrispondenti alle aree da analizzare.
2. Estrarre dalla confezione il tampone di raccolta del campione (tampone con bastoncino blu e stampa verde), inumidire il tampone nel terreno di trasporto e prelevare il campione nell'area designata con movimento circolare.
3. Inserire immediatamente il tampone nella provetta di trasporto.
4. Spezzare il bastoncino del tampone in corrispondenza della linea indicatrice, facendo attenzione a non disperdere il materiale prelevato.
5. Chiudere bene il tappo della provetta.

6. Ripetere le operazioni da 2 a 5 per tutte le aree da cui verranno prelevati i campioni. Se risultati sono positivi, vedere *Interpretazione dell'analisi – QC/Risultati dei pazienti*. Per ulteriori informazioni sul monitoraggio della contaminazione specifiche per il PANTHER System, contattare il servizio di assistenza tecnica Gen-Probe.

Interpretazione dell'analisi – QC/Risultati dei pazienti

A. Interpretazione dell'analisi

I risultati del test del saggio vengono interpretati automaticamente dall'APTIMA Trichomonas Assay Software del TIGRIS DTS System o del PANTHER System. Un risultato dell'analisi può essere negativo, positivo o non valido, secondo quanto determinato in base alle RLU totali rilevate nella fase di rilevamento (vedere sotto). Un risultato dell'analisi può essere non valido a causa di valori RLU che non rientrano negli intervalli normali attesi. I risultati iniziali dell'analisi non validi vanno ripetuti. Riportare il primo risultato valido.

Interpretazione dell'analisi	RLU totali (x1000)
Negativo	da 0* a < 100
Positivo	da 100 a < 2400
Non valido	0* oppure ≥ 2400

*Se la RLU misurata sul TIGRIS DTS System o PANTHER System è compresa tra 0 e 999, nella colonna "RLU totali (000s)" del rapporto della sessione di analisi viene riportato il risultato "0". I valori RLU misurati inferiori a 690 vengono riportati come non validi. I valori RLU compresi tra 690 e 999 vengono riportati come validi.

B. Risultati di controllo della qualità e accettabilità

Il controllo negativo per Trichomonas APTIMA, contrassegnato come "NC CONTROL – TRICH" e il controllo positivo per Trichomonas APTIMA, contrassegnato come "PC CONTROL + TRICH" fungono da controlli per la cattura del target, l'amplificazione e le fasi di rilevamento del test. Secondo le linee guida o i requisiti dei regolamenti nazionali, regionali e/o locali o degli enti certificanti, possono essere inclusi ulteriori controlli per la lisi cellulare e la stabilizzazione dell'RNA. Il controllo positivo per Trichomonas APTIMA contrassegnato come "PC CONTROL + TRICH" contiene rRNA di *T. vaginalis* non infettivo.

I controlli APTIMA per Trichomonas vaginalis devono produrre i seguenti risultati del test:

Controllo	RLU totali (x1000)	Risultato per <i>T. vaginalis</i>
NC Control – TRICH	0* e < 20	Negativo
PC Control + TRICH	≥ 500 e < 2400	Positivo

*Se la RLU misurata sul TIGRIS DTS System o PANTHER System è compresa tra 0 e 999, nella colonna "RLU totali (000s)" del rapporto della sessione di analisi viene riportato il risultato "0". I valori RLU misurati inferiori a 690 vengono riportati come non validi. I valori RLU compresi tra 690 e 999 vengono riportati come validi.

Ciascun laboratorio deve implementare le appropriate procedure di controllo per soddisfare i requisiti dei regolamenti CLIA (sezione 493.1256).

Nota: Per assistenza in caso di controlli fuori range, contattare il servizio di assistenza tecnica di Gen-Probe.

Limitazioni

- A. L'uso di questo test va limitato al personale che è stato addestrato nella relativa procedura. La mancata osservanza alle istruzioni fornite in questo foglietto illustrativo può determinare risultati erranei.
- B. Gli effetti dell'uso di tamponi e lavande vaginali nonché le variabili nella raccolta dei campioni non sono stati valutati per il loro impatto sul rilevamento di *Trichomonas vaginalis*.
- C. I campioni di muco positivi a TV possono mostrare una diminuzione dei valori di RLU. Per garantire un adeguato campionamento endocervicale, è necessario rimuovere il muco in eccesso.
- D. La raccolta di campioni di urina, di tamponi vaginali e di campioni per Pap test raccolti in liquido in soluzione PreservCyt non è concepita per sostituire gli esami cervicali e i campioni endocervicali per la diagnosi di infezioni dell'apparato urogenitale femminile. Le pazienti potrebbero essere affette da cervicite, uretrite, infezioni del tratto urinario o infezioni vaginali dovute ad altre cause o a infezioni concomitanti ad altri agenti patogeni.
- E. Questo test è stato provato utilizzando solo i tipi di campioni indicati. Le prestazioni con altri tipi di campioni non sono state valutate.
- F. Risultati affidabili dipendono da un'appropriata raccolta dei campioni. Poiché il sistema di trasporto impiegato per questo test non permette la valutazione microscopica dell'adeguatezza dei campioni, è necessario addestrare i medici sulle appropriate tecniche di raccolta dei campioni. Per le istruzioni, vedere *Raccolta e conservazione dei campioni*. Per informazioni dettagliate, consultare le relative istruzioni per l'uso.
- G. Il successo o il fallimento terapeutico non possono essere determinati con l'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay, perché l'acido nucleico potrebbe persistere dopo la terapia antimicrobica appropriata.
- H. I risultati ottenuti con l'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay devono essere interpretati congiuntamente ad altri dati clinici disponibili al medico.
- I. Un risultato negativo non preclude una possibile infezione perché i risultati dipendono da un'appropriata raccolta dei campioni. I risultati dell'analisi possono essere influenzati da un'inadeguata raccolta dei campioni, da errori tecnici, scambi di campioni o livelli target inferiori al limite di rilevamento del test.
- J. Un risultato negativo non preclude la possibilità di un'infezione perché la capacità di rilevamento dell'rRNA di *T. vaginalis* può essere influenzata dalla presenza nel campione di *Trichomonas tenax* o *Pentatrichomonas hominis*. Per i dettagli, vedere *Reattività crociata in presenza di microrganismi*.
- K. L'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay fornisce risultati qualitativi. Non può quindi essere tracciata una correlazione fra l'intensità di un segnale positivo del test e il numero di organismi in un campione.
- L. L'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay non è stato convalidato per l'uso con campioni di tamponi vaginali raccolti dalle pazienti.

- M. Le prestazioni del campione di tampone vaginale non sono state valutate in donne incinte.
- N. Le prestazioni dei campioni di tampone vaginale e dei campioni per Pap test raccolti in liquido in soluzione PreservCyt non sono state valutate in donne di età inferiore ai 14 anni.
- O. Le prestazioni del TIGRIS DTS System non sono state determinate per altitudini superiori a 2.240 m. Ulteriori verifiche volumetriche e studi specifici sul test verranno eseguiti prima o durante il processo di installazione e accettazione in laboratori situati ad un'altitudine superiore ai 2.240 m.
- P. Le prestazioni del PANTHER System non sono state determinate per altitudini superiori a 2.000 m.
- Q. Se un campione presenta un numero ridotto di organismi di *T. vaginalis*, può verificarsi una distribuzione disomogenea di questi tricomonadi, con conseguente compromissione della capacità di rilevamento dell'rRNA di *T. vaginalis* nel materiale raccolto. Se i risultati negativi derivanti dal campione non rispecchiano l'impressione clinica, potrebbe essere necessario un nuovo campione.
- R. Ciascun cliente deve convalidare in modo indipendente un processo di trasferimento al LIS.
- S. Le prestazioni dei campioni ginecologici raccolti in flacone con soluzione PreservCyt e analizzati con il sistema ThinPrep 2000 non sono state determinate per l'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay.

Prestazioni del test TIGRIS DTS System

Prevalenza

La prevalenza di *T. vaginalis* in differenti popolazioni dipende dai fattori di rischio dei pazienti quali, ad esempio, l'età, lo stile di vita, la presenza o l'assenza di sintomi e la sensibilità del test nel rilevamento dell'infezione. Nella Tabella 1 è riportato un riepilogo sulla prevalenza di *T. vaginalis* per tipo di campione, in base ai risultati dell'APTIMA Trichomonas vaginalis Assay nella sperimentazione clinica.

Tabella 1: Prevalenza di *T. vaginalis* per tipo di campione e sito di raccolta, in base ai risultati dell'APTIMA Trichomonas vaginalis Assay

Tipo di campione	%									
	(n. positivi / n. analizzati)									
	Tutti i siti	Sito 1	Sito 2	Sito 3	Sito 4	Sito 5	Sito 6	Sito 7	Sito 8	Sito 9
Urina	11,8 (87/735)	19,0 (11/58)	6,8 (5/73)	14,3 (2/14)	16,5 (16/97)	0,7 (1/136)	20,5 (18/88)	7,6 (8/105)	12,2 (12/98)	21,2 (14/66)
TVM	13,6 (119/875)	22,0 (13/59)	9,5 (7/74)	16,7 (2/12)	20,1 (28/139)	0,7 (1/146)	23,2 (22/95)	10,5 (20/191)	12,6 (12/95)	21,9 (14/64)
TE	12,9 (119/920)	19,4 (12/62)	9,5 (7/74)	17,6 (3/17)	21,1 (31/147)	0,6 (1/165)	22,4 (22/98)	9,8 (19/193)	11,3 (11/97)	19,4 (13/67)
PCyt	11,8 (96/813)	19,4 (12/62)	8,5 (6/71)	17,6 (3/17)	16,3 (17/104)	0,6 (1/167)	23,5 (23/98)	7,8 (10/129)	11,2 (11/98)	19,4 (13/67)

TVM = tampone vaginale raccolto da un medico, TE = tampone endocervicale, PCyt= campione per Pap test raccolto in liquido in soluzione PreservCyt.

Prestazione clinica

Un'importante sperimentazione clinica prospettica, multicentrica è stata condotta per stabilire le caratteristiche delle prestazioni per l'APTIMA Trichomonas vaginalis Assay. Nella sperimentazione sono state inserite milleventicinque (1.025) donne sintomatiche e asintomatiche provenienti da 9 siti clinici statunitensi, tra cui cliniche di ginecologia e ostetricia, centri di medicina della riproduzione e per le malattie a trasmissione sessuale (MTS). Da ciascun soggetto sono stati raccolti fino a 6 campioni (1 campione del primo getto di urina, 3 tamponi vaginali, 1 tampone endocervicale e 1 campione per Pap test raccolto in liquido in soluzione PreservCyt). Tutti i campioni sono stati raccolti da un medico eccetto i campioni di urina. I campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt sono stati prelevati con uno spazzolino per prelievo endocervicale o mediante campionamento combinato con spatola e cytobrush. Due dei campioni di tamponi vaginali sono stati analizzati con un sistema di coltura disponibile in commercio ed esame microscopico a fresco per determinare lo stato di infezione. I restanti 4 campioni sono stati preparati per l'analisi con l'APTIMA Trichomonas vaginalis Assay in base alle istruzioni riportate nel foglietto illustrativo del relativo kit di raccolta dei campioni APTIMA. Le analisi con l'APTIMA Trichomonas vaginalis Assay sono state condotte in tre laboratori esterni in base alle istruzioni riportate nel foglietto illustrativo.

Le caratteristiche delle prestazioni dell'APTIMA Trichomonas vaginalis Assay sono state valutate confrontando i risultati con un algoritmo dello stato di paziente infetto. Nell'algoritmo, la designazione di un soggetto come infetto o non infetto da *T. vaginalis* è stata effettuata sulla base dei risultati dei campioni di tamponi vaginali analizzati in coltura e/o mediante esame microscopico a fresco. Per determinare lo stato di paziente infetto era necessaria la positività di almeno uno dei risultati del test di riferimento. Per determinare lo stato di paziente non infetto entrambi i test di riferimento dovevano risultare negativi.

Dei campioni valutabili, sono stati analizzati con l'APTIMA Trichomonas vaginalis Assay un totale di 738 campioni di urina, 877 tamponi vaginali, 922 tamponi endocervicali e 813 campioni per Pap test raccolti in liquido in soluzione PreservCyt. I campioni con risultati iniziali non validi sono stati analizzati nuovamente. Per tre (3) campioni di urina, due (2) tamponi vaginali e due (2) tamponi endocervicali sono stati ottenuti risultati finali non validi a causa di errori dell'hardware o problemi dei campioni; questi campioni sono stati esclusi dalle analisi.

Nella Tabella 2 sono riportati la sensibilità, la specificità, il valore predittivo positivo (VPP) e il valore predittivo negativo (VPN) dell'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay nonché la prevalenza di *T. vaginalis* (nello stato di infezione) in ciascun tipo di campione. Le prestazioni sono risultate simili tra i vari tipi di campioni.

Tabella 2: Caratteristiche delle prestazioni dell'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay

Tipo di campione	n	TP	FP	TN	FN	Prev %	Sensibilità % (95% CI) ¹	Specificità % (95% CI) ¹	VPP % (95% CI) ²	VPN % (95% CI) ²
Urina	735	80	7	644	4	11,4	95,2 (88,4-98,1)	98,9 (97,8-99,5)	92,0 (85,1-96,4)	99,4 (98,5-99,8)
TVM	875	111	8	756	0	12,7	100 (96,7-100)	99,0 (97,9-99,5)	93,3 (87,6-97,0)	100 (99,5-100)
TE	920	114	5	801	0	12,4	100 (96,7-100)	99,4 (98,6-99,7)	95,8 (90,7-98,6)	100 (99,6-100)
PCyt	813	93	3	717	0	11,4	100 (96,0-100)	99,6 (98,8-99,9)	96,9 (91,4-99,3)	100 (99,5-100)

CI = intervallo di confidenza, TVM = tampone vaginale raccolto da un medico, TE = tampone endocervicale, FN = falso negativo, FP = falso positivo, PCyt = campione per Pap test raccolto in liquido in soluzione PreservCyt, Prev = prevalenza, TN = vero negativo, TP = vero positivo.

¹Intervallo di confidenza del punteggio.

²Intervallo di confidenza del 95% del VPP calcolato dall'intervallo di confidenza esatto del 95% per il rapporto di verosimiglianza negativo, intervallo di confidenza del 95% del VPN calcolato dall'intervallo di confidenza esatto del 95% per il rapporto di verosimiglianza negativo.

Nella Tabella 3 sono riportati la sensibilità, la specificità, il valore predittivo positivo (VPP) e il valore predittivo negativo (VPN) dell'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay nonché la prevalenza di *T. vaginalis* (nello stato di infezione) in ciascun tipo di campione in base alla presenza o all'assenza di sintomi. I soggetti sono stati classificati come sintomatici se hanno riportato dei sintomi. Se invece non hanno riportato alcun sintomo, sono stati classificati come asintomatici. Per ciascun tipo di campione, le prestazioni sono risultate simili nei soggetti sintomatici e asintomatici. La prevalenza è stata più alta nelle donne sintomatiche.

Tabella 3: Caratteristiche delle prestazioni dell'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay in base alla presenza o all'assenza di sintomi

Tipo di campione	Presenza o assenza di sintomi	n	TP	FP	TN	FN	Prev %	Sensibilità % (95% CI) ¹	Specificità % (95% CI) ¹	VPP % (95% CI) ²	VPN % (95% CI) ²
Urina	Asintomatico	324	21	3	299	1	6,8	95,5 (78,2-99,2)	99,0 (97,1-99,7)	87,5 (71,4-96,9)	99,7 (98,4-100)
	Sintomatico	411	59	4	345	3	15,1	95,2 (86,7-98,3)	98,9 (97,1-99,6)	93,7 (85,7-98,1)	99,1 (97,7-99,8)
TVM	Asintomatico	345	24	4	317	0	7,0	100 (86,2-100)	98,8 (96,8-99,5)	85,7 (70,3-95,6)	100 (98,9-100)
	Sintomatico	530	87	4	439	0	16,4	100 (95,8-100)	99,1 (97,7-99,6)	95,6 (89,5-98,8)	100 (99,2-100)
TE	Asintomatico	372	26	1	345	0	7,0	100 (87,1-100)	99,7 (98,4-99,9)	96,3 (82,4-99,9)	100 (99,0-100)
	Sintomatico	548	88	4	456	0	16,1	100 (95,8-100)	99,1 (97,8-99,7)	95,7 (89,6-98,8)	100 (99,2-100)
PCyt	Asintomatico	353	23	0	330	0	6,5	100 (85,7-100)	100 (98,8-100)	100 (86,2-NC)	100 (99,0-100)
	Sintomatico	460	70	3	387	0	15,2	100 (94,8-100)	99,2 (97,8-99,7)	95,9 (88,9-99,1)	100 (99,1-100)

IC = intervallo di confidenza, TVM = tampone vaginale raccolto da un medico, TE = tampone endocervicale, FN = falso negativo, FP = falso positivo, NC = non calcolabile, PCyt = campione per Pap test raccolto in liquido in soluzione PreservCyt, Prev = prevalenza, TN = vero negativo, TP = vero positivo.

¹Intervallo di confidenza del punteggio.

²Intervallo di confidenza del 95% del VPP calcolato dall'intervallo di confidenza esatto del 95% per il rapporto di verosimiglianza positivo, intervallo di confidenza del 95% del VPN calcolato dall'intervallo di confidenza esatto del 95% per il rapporto di verosimiglianza negativo. Alcuni limiti di confidenza potrebbero non essere calcolati a causa di risultati indeterminati nelle formule.

Nella Tabella 4 sono riportati la sensibilità, la specificità, il valore predittivo positivo (VPP) e il valore predittivo negativo (VPN) dell'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay nonché la prevalenza di *T. vaginalis* (nello stato di infezione) in ciascun tipo di campione per sito di

raccolta. Per ciascun tipo di campione, le prestazioni sono risultate simili tra i vari siti di raccolta. Come previsto, tra i siti di raccolta sono state riportate variazioni nella prevalenza.

Tabella 4: Caratteristiche delle prestazioni dell APTIMA Trichomonas vaginalis Assay per sito di raccolta

Sito	Tipo di campione	n	TP	FP	TN	FN	Prev %	Sensibilità % (95% CI) ¹	Specificità % (95% CI) ¹	VPP % (95% CI) ²	VPN % (95% CI) ²
1	Urina	58	10	1	46	1	19,0	90,9 (62,3-98,4)	97,9 (88,9-99,6)	90,9 (66,5-99,7)	97,9 (91,2-99,9)
	TVM	59	12	1	46	0	20,3	100 (75,8-100)	97,9 (88,9-99,6)	92,3 (69,3-99,8)	100 (93,7-100)
	TE	62	12	0	50	0	19,4	100 (75,8-100)	100 (92,9-100)	100 (77,1-NC)	100 (94,0-100)
	PCyt	62	12	0	50	0	19,4	100 (75,8-100)	100 (92,9-100)	100 (77,1-NC)	100 (94,0-100)
2	Urina	73	5	0	67	1	8,2	83,3 (43,6-97,0)	100 (94,6-100)	100 (60,0-NC)	98,5 (94,6-100)
	TVM	74	6	1	67	0	8,1	100 (61,0-100)	98,5 (92,1-99,7)	85,7 (52,7-99,6)	100 (96,1-100)
	TE	74	6	1	67	0	8,1	100 (61,0-100)	98,5 (92,1-99,7)	85,7 (52,7-99,6)	100 (96,1-100)
	PCyt	71	6	0	65	0	8,5	100 (61,0-100)	100 (94,4-100)	100 (62,6-NC)	100 (95,9-100)
3	Urina	14	1	1	12	0	7,1	100 (20,7-100)	92,3 (66,7-98,6)	50,0 (3,0-97,5)	100 (92,1-100)
	TVM	12	2	0	10	0	16,7	100 (34,2-100)	100 (72,2-100)	100 (32,1-NC)	100 (85,6-100)
	TE	17	2	1	14	0	11,8	100 (34,2-100)	93,3 (70,2-98,8)	66,7 (19,9-98,8)	100 (89,5-100)
	PCyt	17	2	1	14	0	11,8	100 (34,2-100)	93,3 (70,2-98,8)	66,7 (19,9-98,8)	100 (89,5-100)
4	Urina	97	15	1	80	1	16,5	93,8 (71,7-98,9)	98,8 (93,3-99,8)	93,8 (74,4-99,8)	98,8 (94,4-100)
	TVM	139	27	1	111	0	19,4	100 (87,5-100)	99,1 (95,1-99,8)	96,4 (83,2-99,9)	100 (97,0-100)
	TE	147	30	1	116	0	20,4	100 (88,6-100)	99,1 (95,3-99,8)	96,8 (84,6-99,9)	100 (97,1-100)
	PCyt	104	17	0	87	0	16,3	100 (81,6-100)	100 (95,8-100)	100 (82,5-NC)	100 (96,3-100)
5	Urina	136	1	0	135	0	0,7	100 (20,7-100)	100 (97,2-100)	100 (6,4-NC)	100 (99,3-100)
	TVM	146	1	0	145	0	0,7	100 (20,7-100)	100 (97,4-100)	100 (6,4-NC)	100 (99,3-100)
	TE	165	1	0	164	0	0,6	100 (20,7-100)	100 (97,7-100)	100 (6,4-NC)	100 (99,4-100)
	PCyt	167	1	0	166	0	0,6	100 (20,7-100)	100 (97,7-100)	100 (6,4-NC)	100 (99,4-100)
6	Urina	88	17	1	69	1	20,5	94,4 (74,2-99,0)	98,6 (92,3-99,7)	94,4 (76,7-99,8)	98,6 (93,4-100)
	TVM	95	21	1	73	0	22,1	100 (84,5-100)	98,6 (92,7-99,8)	95,5 (79,5-99,9)	100 (95,6-100)
	TE	98	21	1	76	0	21,4	100 (84,5-100)	98,7 (93,0-99,8)	95,5 (79,5-99,9)	100 (95,8-100)
	PCyt	98	22	1	75	0	22,4	100 (85,1-100)	98,7 (92,9-99,8)	95,7 (80,3-99,9)	100 (95,7-100)
7	Urina	105	7	1	97	0	6,7	100 (64,6-100)	99,0 (94,4-99,8)	87,5 (56,3-99,6)	100 (97,2-100)
	TVM	191	18	2	171	0	9,4	100 (82,4-100)	98,8 (95,9-99,7)	90,0 (71,7-98,7)	100 (98,1-100)
	TE	193	18	1	174	0	9,3	100 (82,4-100)	99,4 (96,8-99,9)	94,7 (76,6-99,9)	100 (98,1-100)
	PCyt	129	9	1	119	0	7,0	100 (70,1-100)	99,2 (95,4-99,9)	90,0 (62,2-99,7)	100 (97,5-100)
8	Urina	98	11	1	86	0	11,2	100 (74,1-100)	98,9 (93,8-99,8)	91,7 (67,0-99,8)	100 (96,5-100)
	TVM	95	11	1	83	0	11,6	100 (74,1-100)	98,8 (93,6-99,8)	91,7 (67,0-99,8)	100 (96,4-100)
	TE	97	11	0	86	0	11,3	100 (74,1-100)	100 (95,7-100)	100 (75,3-NC)	100 (96,5-100)
	PCyt	98	11	0	87	0	11,2	100 (74,1-100)	100 (95,8-100)	100 (75,3-NC)	100 (96,5-100)
9	Urina	66	13	1	52	0	19,7	100 (77,2-100)	98,1 (90,1-99,7)	92,9 (70,9-99,8)	100 (94,3-100)
	TVM	64	13	1	50	0	20,3	100 (77,2-100)	98,0 (89,7-99,7)	92,9 (70,9-99,8)	100 (94,1-100)
	TE	67	13	0	54	0	19,4	100 (77,2-100)	100 (93,4-100)	100 (78,5-NC)	100 (94,4-100)
	PCyt	67	13	0	54	0	19,4	100 (77,2-100)	100 (93,4-100)	100 (78,5-NC)	100 (94,4-100)

CI = intervallo di confidenza, TVM = tampone vaginale raccolto da un medico, TE = tampone endocervicale, FN = falso negativo, FP = falso positivo, NC = non calcolabile, PCyt = campione per Pap test raccolto in liquido in soluzione PreservCyt, Prev = prevalenza, TN = vero negativo, TP = vero positivo.

¹Intervallo di confidenza del punteggio.

²Intervallo di confidenza del 95% del VPP calcolato dall'intervallo di confidenza esatto del 95% per il rapporto di verosimiglianza positivo, intervallo di confidenza del 95% del VPN calcolato dall'intervallo di confidenza esatto del 95% per il rapporto di verosimiglianza negativo. Alcuni limiti di confidenza potrebbero non essere calcolati a causa di risultati indeterminati nelle formule.

Nella Tabella 5 sono riportati la sensibilità, la specificità, il valore predittivo positivo (VPP) e il valore predittivo negativo (VPN) dell APTIMA Trichomonas vaginalis Assay nonché la prevalenza

di *T. vaginalis* (nello stato di infezione) in campioni per Pap test raccolti in liquido in soluzione PrservCyt mediante un dispositivo di prelievo cervicale. Per i campioni per Pap test raccolti in liquido in soluzione PreservCyt, le prestazioni sono risultate simili tra i vari dispositivi di prelievo.

Tabella 5: Caratteristiche delle prestazioni dell'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay in campioni per Pap test raccolti in liquido in soluzione PreservCyt per tipo di dispositivo di prelievo

Dispositivo di prelievo	n	TP	FP	TN	FN	Prev %	Sensibilità % (95% CI) ¹	Specificità % (95% CI) ¹	VPP % (95% CI) ²	VPN % (95% CI) ²
Spazzolino per prelievo endocervicale	447	62	1	384	0	13,9	100 (94,2-100)	99,7 (98,5-100)	98,4 (91,8-100)	100 (99,1-100)
Spatola/cytobrush	366	31	2	333	0	8,5	100 (89,0-100)	99,4 (97,8-99,8)	93,9 (81,2-99,2)	100 (99,0-100)

CI = intervallo di confidenza, FN = falso negativo, FP = falso positivo, Prev = prevalenza, TN = vero negativo, TP = vero positivo.

¹Intervallo di confidenza del punteggio.

²Intervallo di confidenza del 95% del VPP calcolato dall'intervallo di confidenza esatto del 95% per il rapporto di verosimiglianza positivo, intervallo di confidenza del 95% del VPN calcolato dall'intervallo di confidenza esatto del 95% per il rapporto di verosimiglianza negativo.

Valori di predizione positiva e negativa per tassi di prevalenza ipotetici

I valori predittivi positivi e negativi (VPP e VPN) dell'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay per differenti tassi di prevalenza ipotetici sono riportati per ciascun tipo di campione nella Tabella 6. Questi calcoli si basano sulla sensibilità e specificità complessiva stimate per ciascun tipo di campione.

Tabella 6: VPP e VPN ipotetici per l'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay per tipo di campione

Tipo di campione	Prevalenza (%)	VPP (%)	VPN (%)
Urina	1	47,2	100
	2	64,4	99,9
	5	82,3	99,7
	10	90,8	99,5
	12	92,4	99,3
	15	94,0	99,2
	20	95,7	98,8
	25	96,7	98,4
TVM	1	49,1	100
	2	66,1	100
	5	83,4	100
	10	91,4	100
	12	92,9	100
	15	94,4	100
	20	96,0	100
	25	97,0	100
TE	1	62,0	100
	2	76,7	100
	5	89,5	100
	10	94,7	100
	12	95,6	100
	15	96,6	100
	20	97,6	100
	25	98,2	100
PCyt	1	70,8	100
	2	83,0	100
	5	92,7	100
	10	96,4	100
	12	97,0	100
	15	97,7	100
	20	98,4	100
	25	98,8	100

TVM = tampone vaginale raccolto da un medico, TE = tampone endocervicale, PCyt= campione per Pap test raccolto in liquido in soluzione PreservCyt.

I VPP e i VPN vengono ricavati per differenti tassi di prevalenza ipotetici utilizzando le stime di sensibilità e specificità ottenute dallo studio delle prestazioni cliniche. La sensibilità nei campioni di urina è risultata pari al 95,2%, mentre nei tamponi vaginali, endocervicali e nei campioni per Pap test raccolti in liquido in soluzione PreservCyt è risultata pari al 100%. È stata osservata una specificità del 98,9% nei campioni di urina, 99,0% nei campioni di tamponi vaginali, 99,4% nei campioni di tamponi endocervicali e 99,6% nei campioni per Pap test raccolti in liquido in soluzione PreservCyt.

Distribuzione dei valori di RLU dei controlli APTIMA per *Trichomonas vaginalis*

Nella Tabella 7 è riportata la distribuzione dei valori di RLU per l'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Negative Control (controllo negativo) e l'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Positive Control (controllo positivo) da tutte le liste di lavoro valide dell'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay eseguite durante lo studio delle prestazioni cliniche.

Tabella 7: Distribuzione dei valori di RLU dei controlli positivi e negativi APTIMA per *Trichomonas vaginalis*

Controllo	Statistiche	RLU totale (x1000)
Negativo	N	58
	Media	2,5
	DS	1,93
	Mediana	2,0
	Minimo	1
	Massimo	10
	CV %	78,3
Positivo	N	58
	Media	1206,3
	DS	91,37
	Mediana	1191,5
	Minimo	986
	Massimo	1381
	CV %	7,6

RLU = unità di luce relativa.

Nota: Il valore di RLU riportato dal software ha costituito la base per l'analisi. Il valore di RLU riportato corrisponde all'RLU totale misurata diviso 1000 con arrotondamento delle cifre decimali.

Riproducibilità del dosaggio

La riproducibilità dell'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay è stata valutata in tre laboratori esterni statunitensi con il TIGRIS DTS System. Le analisi sono state eseguite nell'arco di sei giorni utilizzando tre lotti di reagenti del test e sei operatori (due in ciascun sito). Sono stati creati dei pannelli per la valutazione della riproducibilità aggiungendo la quantità appropriata di lisato di *T. vaginalis* alla matrice di campioni di urina o di campioni per Pap test raccolti in liquido in soluzione PreservCyt. Le concentrazioni finali di *T. vaginalis* variavano da 0 a 1 TV/mL.

Nella Tabella 8 sono riportati, per ciascun elemento del pannello, i dati relativi all'RLU ossia media, deviazione standard (DS) e coefficiente di variazione (CV) tra i siti, gli operatori, i lotti, le liste di lavoro, all'interno delle liste di lavoro e complessivi (totali). È riportata inoltre la percentuale di concordanza con i risultati attesi. Nelle analisi sono stati inclusi i campioni con risultati validi.

Tabella 8: Studio di riproducibilità dell'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay

Conc	N	Concord (%)	Media RLU	Tra i siti		Tra gli operatori		Tra i lotti		Tra le liste di lavoro		All interno delle liste di lavoro		Totale	
				DS	CV % (%)	DS	CV % (%)	DS	CV % (%)	DS	CV % (%)	DS	CV % (%)	DS	CV % (%)
Campioni per Pap test raccolti in liquido in soluzione PreservCyt in matrice															
Neg	106	100,0	2,0	1,1	56,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	21,3	0,8	42,5	1,5	74,1
HNeg	106	92,5	58,3	17,2	29,4	0,0	0,0	11,1	19,1	0,0	0,0	22,2	38,0	30,2	51,7
MPos	108	98,1	367,0	32,8	8,9	0,0	0,0	57,5	15,7	51,0	13,9	140,6	38,3	163,6	44,6
HPos	107	100,0	1110,4	53,9	4,9	0,0	0,0	109,6	9,9	60,9	5,5	77,1	6,9	156,8	14,1
Campioni di urina in matrice															
Neg	108	100,0	2,1	1,0	45,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	62,4	1,7	77,3
HNeg	107	97,2	60,2	11,2	18,7	0,0	0,0	9,6	15,9	9,8	16,2	12,0	19,9	21,4	35,6
MPos	107	100,0	781,6	53,2	6,8	0,0	0,0	66,6	8,5	56,0	7,2	83,7	10,7	131,9	16,9
HPos	108	98,1	1122,8	49,5	4,4	15,0	1,3	119,3	10,6	109,2	9,7	106,9	9,5	200,7	17,9

Concord = concordanza, Conc = concentrazione, CV = coefficiente di variazione, HNeg = negativo alto, HPos = positivo alto, MPos = positivo moderato, Neg = negativo, RLU = unità di luce relativa, DS = deviazione standard.

Nota: Il valore di RLU riportato dal software corrisponde all RLU totale misurata diviso 1000 con arrotondamento delle cifre decimali.

La variabilità da alcuni fattori è risultata numericamente negativa. Tale circostanza si è verificata se la variabilità dovuta a questi fattori è risultata molto piccola. In questi casi, il valore di DS e CV è indicato come pari a 0.

Sensibilità analitica

Gli elementi del pannello per la valutazione della sensibilità contenenti 0,1 TV/mL in matrice di campioni di urina, matrice di campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt e matrice di tamponi vaginali (90 replicati per matrice) sono stati preparati con due ceppi di *T. vaginalis* (un ceppo sensibile a metronidazolo e un ceppo resistente a metronidazolo). Le analisi hanno mostrato una positività del 100% in tutte le matrici di campioni nonché in entrambi i ceppi di *T. vaginalis*.

Reattività crociata in presenza di microrganismi

Specificità

La specificità dell'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay è stata valutata analizzando vari microrganismi, tra cui la comune flora batterica del tratto genitourinario, gli organismi opportunisti e gli organismi strettamente affini. Le analisi sono state condotte in matrici di terreno di trasporto dei campioni (STM), per Pap test raccolti in liquido PreservCyt e campioni di urina con 25 replicati per ciascun isolato per matrice. L'elenco degli organismi e le concentrazioni analizzate sono riportati nella Tabella 9. Su ciascuno degli organismi analizzati non è stato osservato alcun affetto significativo né di reattività crociata per l'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay.

Sensibilità

La sensibilità dell'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay è stata valutata analizzando gli stessi organismi (Tabella 9) in matrici di STM per Pap test raccolti in liquido PreservCyt e campioni di urina a cui è stato aggiunto un lisato di *T. vaginalis* fino a raggiungere una concentrazione finale di 2,5 TV/mL (25 replicati di ciascun isolato per matrice). La sensibilità dell'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay non è stata influenzata in modo significativo dalla presenza dei microrganismi analizzati, eccetto *Trichomonas tenax* e *Pentatrichomonas hominis* (nel qual caso sono stati osservati risultati dei segnali inferiori). *T. tenax* è un batterio commensale della cavità orale e *Pentatrichomonas hominis* è un commensale dell'intestino crasso.

Tabella 9: Microrganismi analizzati con l'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay

Microrganismo	Concentrazione analizzata		
	STM	PreservCyt	Urina
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	4,6x10 ⁷ UFC/mL	4,6x10 ⁷ UFC/mL	2,3x10 ⁷ UFC/mL
<i>Actinomyces israelii</i>	2,1x10 ⁸ UFC/mL	2,1x10 ⁸ UFC/mL	1,1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Atopobium vaginae</i>	6,2x10 ⁶ UFC/mL	6,2x10 ⁶ UFC/mL	6,2x10 ⁶ UFC/mL
<i>Bacteroides fragilis</i>	6,4x10 ⁸ UFC/mL	6,4x10 ⁸ UFC/mL	3,2x10 ⁸ UFC/mL
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	7,2x10 ⁷ UFC/mL	7,2x10 ⁷ UFC/mL	3,6x10 ⁷ UFC/mL
<i>Campylobacter jejuni</i>	7,2x10 ⁷ UFC/mL	7,2x10 ⁷ UFC/mL	3,6x10 ⁷ UFC/mL
<i>Candida albicans</i>	1,2x10 ⁸ UFC/mL	1,2x10 ⁸ UFC/mL	5,9x10 ⁷ UFC/mL
<i>Candida glabrata</i>	1,3x10 ⁸ UFC/mL	1,4x10 ⁸ UFC/mL	6,4x10 ⁷ UFC/mL
<i>Candida parapsilosis</i>	9,2x10 ⁷ UFC/mL	9,2x10 ⁷ UFC/mL	4,6x10 ⁷ UFC/mL
<i>Candida tropicalis</i>	1,8x10 ⁷ UFC/mL	1,8x10 ⁷ UFC/mL	9,1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	2,0x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	2,0x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	2,0x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL
<i>Clostridium difficile</i>	2,6x10 ⁷ UFC/mL	2,6x10 ⁷ UFC/mL	1,3x10 ⁷ UFC/mL
<i>Clostridium perfringens</i>	1,9x10 ⁸ UFC/mL	1,9x10 ⁸ UFC/mL	9,4x10 ⁷ UFC/mL
<i>Corynebacterium genitalium</i>	2,8x10 ⁷ UFC/mL	2,8x10 ⁷ UFC/mL	1,4x10 ⁷ UFC/mL
<i>Cryptococcus neoformans</i>	5,8x10 ⁷ UFC/mL	5,8x10 ⁷ UFC/mL	2,9x10 ⁷ UFC/mL
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1,5x10 ⁹ UFC/mL	1,5x10 ⁹ UFC/mL	1,0x10 ⁸ UFC/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	9,2x10 ⁷ UFC/mL	9,2x10 ⁷ UFC/mL	9,2x10 ⁷ UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>	2,2x10 ⁸ UFC/mL	2,2x10 ⁸ UFC/mL	2,2x10 ⁸ UFC/mL
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1,3x10 ⁸ UFC/mL	1,3x10 ⁸ UFC/mL	6,4x10 ⁷ UFC/mL
<i>Gardnerella vaginalis</i>	8,2x10 ⁶ UFC/mL	8,2x10 ⁶ UFC/mL	4,1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Haemophilus ducreyi</i>	2,1x10 ⁹ UFC/mL	2,1x10 ⁹ UFC/mL	3,1x10 ⁹ UFC/mL
Virus dell'Herpes simplex I	2,0x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	2,0x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	2,0x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL
Virus dell'Herpes simplex II	2,0x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	2,0x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	2,0x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL
HIV-1	3,0x10 ⁷ copie/mL	3,0x10 ⁷ copie/mL	3,0x10 ⁷ copie/mL
HPV 16 (SiHa)	1,0x10 ⁵ cellule/mL	1,0x10 ⁵ cellule/mL	1,0x10 ⁵ cellule/mL
<i>Klebsiella oxytoca</i>	9,6x10 ⁸ UFC/mL	9,6x10 ⁸ UFC/mL	4,8x10 ⁸ UFC/mL
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,0x10 ⁸ UFC/mL	1,0x10 ⁸ UFC/mL	5,2x10 ⁷ UFC/mL
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1,6x10 ⁹ UFC/mL	1,6x10 ⁹ UFC/mL	8,2x10 ⁸ UFC/mL
<i>Lactobacillus vaginalis</i>	4,6x10 ⁸ UFC/mL	4,6x10 ⁸ UFC/mL	2,3x10 ⁸ UFC/mL
<i>Listeria monocytogenes</i>	2,1x10 ⁹ UFC/mL	2,1x10 ⁹ UFC/mL	1,0x10 ⁹ UFC/mL
<i>Mobiluncus curtisii</i>	4,1x10 ⁷ UFC/mL	4,1x10 ⁷ UFC/mL	4,1x10 ⁷ UFC/mL
<i>Mycoplasma hominis</i>	1,0x10 ⁸ UFC/mL	1,0x10 ⁸ UFC/mL	1,0x10 ⁸ UFC/mL
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	2,7x10 ⁸ UFC/mL	2,7x10 ⁸ UFC/mL	1,4x10 ⁸ UFC/mL
<i>Pentatrichomonas hominis</i>	2,2x10 ⁶ UFC/mL	2,2x10 ⁶ UFC/mL	1,3x10 ⁶ UFC/mL
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	2,2x10 ⁸ UFC/mL	2,2x10 ⁸ UFC/mL	1,1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Prevotella bivia</i>	5,2x10 ⁸ UFC/mL	5,2x10 ⁸ UFC/mL	2,6x10 ⁸ UFC/mL
<i>Propionibacterium acnes</i>	1,6x10 ⁸ UFC/mL	1,6x10 ⁸ UFC/mL	1,6x10 ⁸ UFC/mL
<i>Proteus mirabilis</i>	1,2x10 ⁹ UFC/mL	1,2x10 ⁹ UFC/mL	6,0x10 ⁸ UFC/mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,5x10 ⁸ UFC/mL	1,5x10 ⁸ UFC/mL	1,5x10 ⁸ UFC/mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,8x10 ⁸ UFC/mL	2,8x10 ⁸ UFC/mL	2,8x10 ⁸ UFC/mL
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3,0x10 ⁸ UFC/mL	3,0x10 ⁸ UFC/mL	1,5x10 ⁸ UFC/mL
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,0x10 ⁸ UFC/mL	1,0x10 ⁸ UFC/mL	1,0x10 ⁸ UFC/mL
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,0x10 ⁸ UFC/mL	1,0x10 ⁸ UFC/mL	8,9x10 ⁷ UFC/mL
<i>Trichomonas tenax</i>	2,7x10 ⁵ UFC/mL	2,7x10 ⁵ UFC/mL	1,3x10 ⁵ UFC/mL
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1,6x10 ⁸ UFC/mL	1,4x10 ⁸ UFC/mL	1,3x10 ⁸ UFC/mL

Interferenza

Le seguenti sostanze (alla concentrazione dell 1% v/v tot. o p/v) sono state aggiunte singolarmente a matrici di STM, per Pap test raccolti in liquido PreservCyt e campioni di urina e analizzati con l'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay: lubrificanti intimi da banco, spermicidi, polveri o spray deodoranti, farmaci antimicotici o antiprurito, ormoni intravaginali, muco gastrico di maiale, acido acetico glaciale, aceto e liquido seminale. Campioni di sangue intero sono stati utilizzati alla concentrazione del 10% v/v tot. e il controllo per l'esame delle urine KOVA-Trol I High Abnormal con urobilinogeno è stato sostituito ai campioni di urina per analizzare livelli elevati di proteine, glucosio, chetoni, bilirubina, nitriti e urobilinogeno. Non è stata osservata alcuna interferenza in nessuna delle sostanze analizzate con l'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay eccetto per il muco gastrico di maiale, che ha mostrato un risultato del segnale più basso quando presente a una concentrazione finale dell 1% (v/v tot. o p/v).

Stabilità dei campioni

I dati a sostegno delle condizioni raccomandate di spedizione e conservazione per tamponi vaginali, campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt e campioni di urina sono stati generati con campioni clinici negativi aggiunti a *T. vaginalis* fino a raggiungere una concentrazione finale di 250 TV/mL. In tutte le matrici (tamponi vaginali, campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt e campioni di urina) è stata osservata una positività superiore al 95% per ogni periodo di tempo e temperatura analizzati, a conferma della validità dei tempi e delle temperature di conservazione massimi descritti nel *Raccolta e conservazione dei campioni*.

Prestazioni del PANTHER System Assay

Studio di concordanza clinica

Uno studio di concordanza clinica tra il PANTHER System e il TIGRIS DTS System è stato condotto utilizzando campioni residui. I campioni sono stati conservati a -70 °C per un massimo di 18 mesi prima di essere analizzati con il PANTHER System. Sono stati analizzati un totale di 2.082 campioni in tre siti utilizzando due lotti di reagenti del test ed è stata calcolata la concordanza con i risultati del TIGRIS DTS System. I 2.082 campioni erano costituiti da 501 campioni di tamponi vaginali raccolti da un medico, 540 campioni di tamponi endocervicali, 495 campioni di urina femminile e 546 campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt. Dei 2.056 risultati validi, la concordanza positiva complessiva tra il PANTHER System e il TIGRIS DTS System è stata del 99,0%, la concordanza negativa complessiva del 99,2% e la concordanza combinata complessiva del 99,2%. Nella Tabella 10 sono riportate le percentuali di concordanza complessive per tipo di campione e gli intervalli di confidenza al 95%. Per tutti i tipi di campione, ad eccezione dei campioni di urina, la concordanza positiva tra le due piattaforme strumentali è stata del 100%. Con il campione di urina, la concordanza positiva tra il PANTHER System e il TIGRIS DTS System è stata del 96,2%. La concordanza negativa tra le piattaforme strumentali è stata del 99,1% per i tamponi vaginali, del 98,1% per i tamponi endocervicali, del 100% per i campioni di urina e del 99,6% per i campioni raccolti in liquido PreservCyt. La concordanza complessiva tra il PANTHER System e il TIGRIS DTS System è stata del 99,2% per i tamponi vaginali, del 98,3% per i tamponi endocervicali e del 99,6% per i campioni di urina e per quelli raccolti in liquido PreservCyt.

Tabella 10: Concordanza clinica dei campioni

	N	TIGRIS+ PANTHER+	TIGRIS+ PANTHER-	TIGRIS- PANTHER+	TIGRIS- PANTHER-	Concordanza positiva (95% CI)	Concordanza negativa (95% CI)	Concordanza complessiva (95% CI)
TVM	492	53	0	4	435	100% (93,2 - 100)	99,1% (97,7 - 99,6)	99,2% (97,9-99,7)
TE	525	48	0	9	468	100% (92,6 - 100)	98,1% (96,5 - 99,0)	98,3% (96,8-99,1)
Urina	495	50	2	0	443	96,2% (87,0 - 98,9)	100% (99,1 - 100)	99,6% (98,5-99,9)
PCyt	544	51	0	2	491	100% (93,0 - 100)	99,6% (98,5 - 99,9)	99,6% (98,7-99,9)
Complessiva	2056	202	2	15	1837	99,0% (96,5-99,7)	99,2% (98,7-99,5)	99,2% (98,7-99,5)

TVM = tampone vaginale raccolto da un medico, TE = tampone endocervicale, PCyt = campione per Pap test raccolto in liquido in soluzione PreservCyt.

Riproducibilità del dosaggio

La riproducibilità dell'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay è stata valutata in tre siti utilizzando il PANTHER System. Le analisi sono state eseguite nell'arco di sei giorni utilizzando due lotti di reagenti del test e sei operatori (due in ciascun sito). Sono stati creati dei pannelli per la valutazione della riproducibilità aggiungendo la quantità appropriata di lisato di *T. vaginalis* alla matrice di campioni di urina o di campioni per Pap test raccolti in liquido in soluzione PreservCyt. Le concentrazioni finali di *T. vaginalis* variavano da 0 a 1 TV/mL. Nella Tabella 11 sono riportati, per ciascun elemento del pannello, i dati relativi all'RLU ossia media, deviazione standard (DS) e coefficiente di variazione (CV) tra i siti, gli operatori, i lotti, le liste di lavoro, all'interno delle liste di lavoro e complessivi (totali). È riportata inoltre la percentuale di concordanza con i risultati attesi. Nelle analisi sono stati inclusi i campioni con risultati validi.

Tabella 11: Studio di riproducibilità: è riportata la riproducibilità dell'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay in base all'elemento del pannello, compresi i campioni con risultati del test discordanti

Livello di conc.	Conc. target ¹	N	Concorde	Concord. (%)	RLU media	Tra i siti		Tra gli operatori		Tra i lotti		Tra le sessioni analitiche		All'interno delle sessioni analitiche		Totale	
						DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
Matrice di campioni per Pap test raccolti in liquido in soluzione PreservCyt																	
Neg	N/A	108	107	99,1	23,5	0,0	0,0	2,7	11,6	0,0	0,0	0,0	0,0	37,5	159,7	37,6	160,1
HNeg	0,003	108	98	90,7	69,3	5,0	7,3	4,5	6,5	6,1	8,8	14,8	21,4	16,0	23,1	23,6	34,1
MPos	0,02	108	105	97,2	348,1	30,3	8,7	33,1	9,5	33,1	9,5	77,0	22,1	62,9	18,1	114,0	32,8
HPos	1	108	108	100	1185,5	0,0	0,0	17,0	1,4	0,0	0,0	28,0	2,4	34,2	2,9	47,4	4,0
Matrice di campioni di urina																	
Neg	N/A	108	108	100	1,0	0,2	24,6	0,0	0,0	0,3	28,3	0,0	0,0	0,7	72,3	0,8	81,4
HNeg	0,002	107	107	100	33,1	15,9	48,1	4,9	14,8	0,0	0,0	7,1	21,6	9,3	28,0	20,3	61,5
MPos	0,03	108	108	100	621,9	27,2	4,4	33,5	5,4	37,3	6,0	100,6	16,2	69,4	11,2	134,9	21,7
HPos	1	108	108	100	1208,3	28,8	2,4	0,0	0,0	0,0	0,0	140,4	11,6	41,5	3,4	149,2	12,3

Concord. = concordanza, Conc. = concentrazione, CV = coefficiente di variazione, HNeg = negativo alto, HPos = positivo alto, MPos = positivo moderato, Neg = negativo, RLU = unità di luce relativa, DS = deviazione standard.

¹Unità di concentrazione = TV/mL.

Nota: Il valore di RLU riportato dal software corrisponde all'RLU totale misurata diviso 1000 con arrotondamento delle cifre decimali.

La variabilità da alcuni fattori è risultata numericamente negativa. Tale circostanza si verifica se la variabilità dovuta a questi fattori è molto piccola. In questi casi, il valore di DS e CV è indicato come pari a 0.

Sensibilità analitica

I pannelli per la valutazione della sensibilità contenenti 0,1 TV/mL in matrice di campioni di urina, matrice di campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt e matrice di tamponi vaginali (120 replicati per matrice) sono stati preparati con due ceppi di *T. vaginalis* (un ceppo sensibile a metronidazolo e un ceppo resistente a metronidazolo). Le analisi hanno mostrato una positività del 100% in tutte le matrici di campioni nonché in entrambi i ceppi di *T. vaginalis*.

Reattività crociata in presenza di microrganismi

Specificità

La specificità dell'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay è stata valutata analizzando vari microrganismi, tra cui la comune flora batterica del tratto genitourinario, gli organismi opportunisti e gli organismi strettamente affini. Le analisi sono state condotte in un terreno di trasporto dei campioni (TTC) con 25 replicati per ciascun isolato. L'elenco degli organismi e le concentrazioni analizzate sono riportati nella Tabella 12. Su ciascuno degli organismi analizzati non è stato osservato alcun affetto significativo né di reattività crociata per l'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay.

Sensibilità

La sensibilità dell'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay è stata valutata analizzando gli stessi organismi (Tabella 12) in un terreno di trasporto dei campioni in cui è stato aggiunto il lisato di *T. vaginalis* fino a raggiungere una concentrazione finale di 2,5 TV/mL (25 replicati per ciascun isolato). La sensibilità dell'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay non è stata influenzata in modo significativo dalla presenza dei microrganismi analizzati, eccetto *Trichomonas tenax* e *Pentatrichomonas hominis* (nel qual caso sono stati osservati risultati dei segnali inferiori). *T. tenax* è un batterio commensale della cavità orale e *Pentatrichomonas hominis* è un commensale dell'intestino crasso.

Tabella 12: Microrganismi analizzati con l'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay nel PANTHER System

Microrganismo	Concentrazione	Microrganismo	Concentrazione
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	1x10 ⁶ UFC/mL	HPV 16	2,5x10 ⁶ copie/mL
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 ⁶ UFC/mL	HPV 6	2,5x10 ⁶ copie/mL
<i>Atopobium vaginae</i>	1x10 ⁶ UFC/mL	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Campylobacter jejuni</i>	1x10 ⁶ UFC/mL	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁶ UFC/mL	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL	<i>Mycoplasma genitalium</i>	2,5 x10 ⁶ copie/mL
<i>Clostridium difficile</i>	1x10 ⁶ UFC/mL	<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 ⁶ UFC/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1x10 ⁶ UFC/mL	<i>Pentatrichomonas hominis</i>	1x10 ⁶ cellule/mL
Cytomegalovirus	2x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Dientamoeba fragilis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL	<i>Prevotella bivia</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 ⁶ UFC/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁶ UFC/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁶ UFC/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Virus dell'Herpes simplex I	2x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Virus dell'Herpes simplex II	2x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Trichomonas tenax</i>	1x10 ⁶ cellule/mL
HIV-1	2,5x10 ⁶ copie/mL	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 ⁶ UFC/mL

Interferenza

Le seguenti sostanze sono state aggiunte singolarmente a un terreno di trasporto dei campioni fino a raggiungere una concentrazione finale dell'1% (v/v tot. o p/v): lubrificanti intimi, deodoranti intimi, spermicidi, antimicotici, ormoni intravaginali, muco gastrico di maiale, liquido seminale di 25 donatori e sangue intero (concentrazione finale del 10%).

Gli effetti dei metaboliti dell'urina sono stati analizzati aggiungendo il controllo per l'esame delle urine KOVA-Trol I High Abnormal con urobilinogeno diluito nel terreno di trasporto dell'urina (TTU) al posto dell'urina. Questo materiale di controllo per l'esame delle urine a base di urina umana contiene sostanze potenzialmente interferenti quali, ad esempio, proteine (albumina), bilirubina, glucosio, chetoni, eritrociti, nitriti, urobilinogeno e leucociti. L'acido acetico glaciale è stato analizzato aggiungendolo al terreno di trasporto dei campioni con PreservCyt (concentrazione finale del 10%).

Non è stata osservata alcuna interferenza in nessuna delle sostanze analizzate con l'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay eccetto per il muco gastrico di maiale, che ha mostrato un risultato del segnale più basso quando presente a una concentrazione finale dell'1% (v/v tot. o p/v).

Contaminazione crociata nel PANTHER System

Per dimostrare che il PANTHER System è in grado di ridurre al minimo il rischio di risultati falsi positivi derivanti da contaminazione crociata, è stato condotto uno studio analitico in più giornate utilizzando i pannelli su tre PANTHER System a cui è stato aggiunto un lotto di reagenti per l'APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay. Nello studio sono stati utilizzati più del 20% di campioni di *T. vaginalis* a elevata concentrazione di target contenenti 10.000 TV/mL.

che sono stati posizionati tra i campioni negativi contenenti TTC. Durante lo studio, 698 campioni a elevata concentrazione di target e 2.266 campioni negativi sono stati analizzati sui tre PANTHER System. Sono stati ottenuti 0 risultati falsi positivi per una percentuale di contaminazione crociata pari allo 0%. Questi risultati dimostrano che nel PANTHER System la contaminazione crociata è ridotta al minimo.

Bibliografia

1. **Weinstock, H., S. Berman, and W. Cates Jr.** 2004. Sexually transmitted diseases among American youth: incidence and prevalence estimates, 2000. *Perspect. Sex. Reprod. Health* **36**(1):6-10.
2. **Soper, D.** 2004. Trichomoniasis: under control or undercontrolled? *Am. J. Obstet. Gynecol.* **190**(1):281-290.
3. **Cotch, M. F., J. G. Pastorek II, R. P. Nugent, S. L. Hillier, R. S. Gibbs, D. H. Martin, et al.** 1997. *Trichomonas vaginalis* associated with low birth weight and preterm delivery. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *Sex. Transm. Dis.* **24**:353-360.
4. **Sorvillo, F. J., A. Kovacs, P. Kerndt, A. Stek, L. Muderspach, and L. Sanchez-Keeland.** 1998. Risk factors for trichomoniasis among women with HIV infection at a public clinic in Los Angeles County; Implications for HIV prevention. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **58**:495-500.
5. **Niccolai, L. M., J. J. Kopicko, A. Kassie, H. Petros, R. A. Clark, and P. Kissinger.** 2000. Incidence and predictors of reinfection with *Trichomonas vaginalis* in HIV-infected women. *Sex. Transm. Dis.* **27**:284-288.
6. **Nye, M. B., J. R. Schwebke, and B. A. Body.** 2009. Comparison of APTIMA *Trichomonas vaginalis* transcription-mediated amplification to wet mount microscopy, culture, and polymerase chain reaction for diagnosis of trichomoniasis in men and women. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **200**:188.e1-188.e7.
7. **Wendel, K. A., E. J. Erbeling, C. A. Gaydos, and A. M. Rompalo.** 2002. *Trichomonas vaginalis* polymerase chain reaction compared with standard diagnostic and therapeutic protocols for detection and treatment of vaginal trichomoniasis. *Clin. Infect. Dis.* **35**(5):576-580.



Gen-Probe Incorporated
San Diego, CA 92121 USA.



EMERGO EUROPE
Molenstraat 15
2513 BH, L'Aia
Paesi Bassi

Informazioni per contattarci negli USA. e nel resto del mondo

Servizio clienti: +1 858 410 8002
customerservice@gen-probe.com

Assistenza tecnica: +1 858 410 8511
technicalsupport@gen-probe.com

Numero verde per chi chiama da USA e Canada

Servizio clienti: +1 800 523 5001
Assistenza tecnica: +1 888 484 4747

www.gen-probe.com

GEN-PROBE, GEN-PROBE e relativo logo, APTIMA, APTIMA e relativo logo, DTS, PANTHER e TIGRIS sono marchi commerciali di Gen-Probe Incorporated.

PRESERVCYT e THINPREP sono marchi commerciali di Cytyc Corporation.

KOVA-TROL è un marchio commerciale di Hycor Biomedical, Inc.

Qualsiasi altro nome di marchio che potrebbe apparire in questo foglietto illustrativo appartiene al suo rispettivo titolare.

©2009-2012 Gen-Probe Incorporated

502536IT Rev. A

2011-12