

## Aptima® BV Assay

Gebruiksaanwijzing  
Voor *in-vitro* diagnostiek  
Alleen Rx

<b>Algemene informatie</b> . . . . .	<b>2</b>
Beoogd gebruik . . . . .	2
Samenvatting en uitleg van de test . . . . .	2
Uitgangspunten van de procedure . . . . .	3
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen . . . . .	4
Eisen voor opslag en verwerking van reagentia . . . . .	6
Monsterafname en -opslag . . . . .	7
<b>Panther System</b> . . . . .	<b>9</b>
Geleverde reagentia en materialen . . . . .	9
Benodigde en apart geleverde materialen . . . . .	10
Testprocedure voor het Panther System . . . . .	11
Procedurele opmerkingen . . . . .	14
<b>Kwaliteitscontrole</b> . . . . .	<b>15</b>
Assaykalibratie . . . . .	15
Negative en positive controls . . . . .	15
Internal Control . . . . .	15
<b>Testinterpretatie</b> . . . . .	<b>16</b>
<b>Beperkingen</b> . . . . .	<b>16</b>
<b>Verwachte waarden van het Panther System</b> . . . . .	<b>18</b>
<b>Assaywerking van het Panther System</b> . . . . .	<b>19</b>
Reproduceerbaarheid . . . . .	19
<b>Klinische werking van het Panther System</b> . . . . .	<b>21</b>
Performance bij symptomatische patiënten . . . . .	21
Positiviteitspercentages bij asymptomatische vrouwen . . . . .	27
Ongeldige percentages . . . . .	27
<b>Analytische werking van het Panther System</b> . . . . .	<b>28</b>
Analytische sensitiviteit . . . . .	28
Analytische inclusiviteit . . . . .	28
Kruisreactiviteit en microbiële interferentie . . . . .	28
Storing . . . . .	30
Intralaboratoriumprecisie . . . . .	31
<b>Literatuur</b> . . . . .	<b>35</b>
<b>Contactgegevens en versiegeschiedenis</b> . . . . .	<b>36</b>

## Algemene informatie

### Beoogd gebruik

De Aptima® BV Assay is een *in vitro* nucleïnezuuramplificatietest waarin gebruik wordt gemaakt van real-time transcriptie gemedieerde amplificatie (TMA) voor detectie en kwantificatie van ribosomaal RNA van bacteriën die worden geassocieerd met bacteriële vaginose (BV), waaronder *Lactobacillus* (*L. gasseri*, *L. crispatus*, en *L. jensenii*), *Gardnerella vaginalis*, en *Atopobium vaginae*. De assay geeft een kwalitatief resultaat voor BV en geeft geen resultaten voor individuele organismen. De assay is bedoeld als hulpmiddel in de diagnose van BV op het geautomatiseerde Panther®-systeem met behulp van door de arts afgenomen en door de patiënt afgenomen uitstrijkjes bij vrouwen met een klinische presentatie die consistent is met vaginitis en/of vaginose.

### Samenvatting en uitleg van de test

Vaginitis wordt gekarakteriseerd door een spectrum van aandoeningen: vaginale en vulvaire irritatie, geur, afscheiding en pruritus (1). Oorzaken van vaginitis zijn onder andere mechanische en chemische factoren (producten voor vrouwelijke hygiëne, anticonceptiva enz.) alsook infectieuze agentia (1). Tot 90% van de infectieuze vaginitisgevallen worden veroorzaakt door BV, vulvovaginale candidiasis (candida vaginitis, CV) en trichomoniasis (*trichomonas vaginalis* vaginitis, TV) (2). BV is gediagnosticeerd bij 22-50% van symptomatische patiënten, CV bij 17-39% en TV bij 4-35% (1,2).

BV is verantwoordelijk voor het overgrote deel van infectieuze vaginitisgevallen. BV wordt gekarakteriseerd door een wijziging van de vaginale microbiota gedomineerd door *Lactobacillus* naar een polymicrobiële, anaerobe-gedomineerde microbiota met onder andere *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Prevotella*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Mobiluncus*, *Sneathia* (*Leptotrichia*), *Mycoplasma* en BV-geassocieerde bacteriën (3). Deze wijziging van de vaginale microbiota wordt geassocieerd met de onset van Amsel klinische symptomen, die het gevolg zijn van de biochemische en cytologische wijzigingen in het vaginale milieu die pathognomonisch zijn voor BV (11). BV is geassocieerd met bekkenontstekingen (4), cervicitis (5), verhoogd risico van seksueel overdraagbare infecties, zoals chlamydia, gonorrhoe, HSV, HIV (6,7,8), spontane abortus en vroeggeboorte (9,10).

Diagnose van BV gebaseerd op klinische criteria (vaginale pH, aanwezigheid van clue cells, whiff-test en afscheiding) is voorgesteld door Amsel (11). Nugent et al. stelden een classificatie voor BV voor op basis van microscopische beschrijving van waargenomen types bacterie via gramkleuring in uitstrijkjes (12). Recente studies suggereren dat moleculaire diagnostische methoden zouden kunnen helpen de diagnose van BV te verbeteren en dat nucleïnezuuramplificatie, gericht op diverse BV-geassocieerde bacteriën, zou kunnen worden gebruikt (13).

De Aptima BV Assay is een realtime TMA assay die is ontwikkeld voor gebruik op het geautomatiseerde Panther system dat RNA-markers detecteert en deze onderscheidt van de *Lactobacillus*-bacteriegroep (*L. gasseri*, *L. crispatus* en *L. jensenii*), *Gardnerella vaginalis* en *Atopobium vaginae* in door artsen en patiënten afgenomen uitstrijkjes bij symptomatische vrouwen. De Aptima BV Assay gebruikt een algoritme om een kwalitatief resultaat te geven voor BV gebaseerd op detectie van targetorganismen. De Aptima BV Assay bevat een internal control (interne controle, IC).

## Uitgangspunten van de procedure

De Aptima BV Assay bestaat uit drie hoofdstappen die allemaal worden uitgevoerd in één buis op het Panther system: target capture, target amplificatie door TMA en detectie van de amplificatieproducten (amplicon) door de probes met fluorescente labels. De assay bevat een IC in elke test om nucleïnezuurcapture, amplificatie en detectie te monitoren.

Monsters worden verzameld in een buis met monstertransportmedium dat de cellen lyseert, het mRNA vrijlaat en het beschermt tegen afbraak tijdens de opslag. Wanneer de Aptima BV Assay wordt uitgevoerd, hybridiseren Capture-oligonucleotiden met uiterst geconserveerde gebieden RNA, indien aanwezig, in het testmonster. De gehybridiseerde target wordt dan gevangen op magnetische micropartikels die in een magnetisch veld van het monster worden gescheiden. Tijdens wasstappen worden overige componenten uit de reageerbuis verwijderd.

Targetamplificatie treedt op via TMA, een transcriptie gemedieerde nucleïnezuuramplificatiemethode waarbij twee enzymen, MMLV (Moloneyvirus)-reverse-transcriptase en T7 RNA-polymerase, worden gebruikt. Het reverse transcriptase wordt gebruikt om een DNA-kopie van de target-RNA-sequentie te genereren die een promotersequentie voor T7 RNA-polymerase bevat. Via T7 RNA-polymerase worden meerdere kopieën van het RNA-amplicon aangemaakt op basis van het DNA-kopietemplate.

Detectie wordt bereikt door enkelstrengs nucleïnezuurprobes die tijdens de amplificatie van het target aanwezig zijn en specifiek hybridiseren aan het amplicon in real time. Elke probe is uitgerust met een fluorofoor en een quencher (uitdover). De quencher onderdrukt de fluorescentie van de fluorofoor wanneer de probe niet gehybridiseerd is aan het amplicon. Wanneer de probe zich aan het amplicon bindt, raakt de fluorofoor gescheiden van de quencher en zendt hij een signaal uit op een bepaalde golflengte als gevolg van excitatie door een lichtbron. Het Panther system detecteert en onderscheidt vier fluorescente signalen die overeenkomen met de *Lactobacillus*-groep, *Atopobium vaginae*, *Gardnerella vaginalis* en IC-amplificatieproducten. De software van het Panther system vergelijkt de tijden waarop signalen optreden voor elk targetorganisme met de kalibratiegegevens om de status BV positief of negatief van elk monster te bepalen.

## Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

- A. Voor *in-vitro*diagnostiek.
- B. Voor professioneel gebruik.
- C. Ter verkleining van het risico van ongeldige resultaten dient u de gehele bijsluiters en de gebruikershandleiding bij het Panther/Panther Fusion-systeem zorgvuldig te lezen voor u deze assay gebruikt.
- D. Alleen personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van de Aptima BV Assay en in het omgaan met potentieel besmettelijk materiaal, mag deze procedure uitvoeren. Als er materiaal is gemorst, desinfecteer dan onmiddellijk volgens de toepasselijke procedures binnen de instelling.
- E. Raadpleeg de Gebruikershandleiding bij het Panther/Panther Fusion-systeem voor aanvullende specifieke waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen.

## Met betrekking tot het laboratorium

- F. Gebruik alleen de meegeleverde of aangegeven disposables voor in het laboratorium.
- G. Pas de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen voor laboratoria toe. Niet met de mond pipetteren. Eet, drink of rook niet in de aangegeven werkgebieden. Draag poederloze wegwerphandschoenen, oogbescherming en labjassen tijdens het verwerken van monsters en reagentia. Was de handen grondig na het verwerken van monsters en reagentia.
- H. Werkoppervlakken, pipetten en overige apparatuur moeten regelmatig worden ontsmet met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing. Reinig en desinfecteer alle werkoppervlakken grondig.
- I. Werp alle materialen weg die in contact zijn geweest met monsters en reagentia in overeenstemming met de toepasselijke nationale, internationale en regionale regelgeving (14, 15, 16). Reinig en desinfecteer alle werkoppervlakken grondig.

## Met betrekking tot het monster

- J. Vervalddatum voor de afnamekits gelden voor de afname van monsters en niet voor de tests van de monsters. Monsters die worden verzameld voorafgaand aan de vervaldatum van de afnamekit en worden getransporteerd en opgeslagen in overeenstemming met de bijsluiters, zijn geldig voor tests, zelfs als de vervaldatum op de overdrachtsbuis is verstreken.
- K. De monsters kunnen besmettelijk zijn. Gebruik universele voorzorgsmaatregelen bij het uitvoeren van deze assay (14,15). De juiste methoden voor verwerking en afvoer moeten worden vastgesteld in overeenstemming met plaatselijke voorschriften (16). Alleen personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van de Aptima BV Assay en in het omgaan met besmettelijk materiaal, mag deze procedure uitvoeren.
- L. Zorg dat de monsters worden verzonden onder de juiste opslagcondities om hun integriteit te waarborgen. De stabiliteit van de monsters in andere dan de aanbevolen verzendingscondities is niet geëvalueerd.

- M. Voorkom kruisbesmetting tijdens de stappen waarin de monsters worden verwerkt. De monsters kunnen uitermate veel organismen bevatten. Zorg ervoor dat monsters niet met elkaar in contact komen en voer gebruikt materiaal niet over open monsterbuizen af. Vervang uw handschoenen als deze met een monster in contact komen.
- N. Bij doorboren kan onder bepaalde condities vloeistof uit de dopjes van de Aptima transportbuizen loskomen. Raadpleeg de betreffende *Testbijsluiter bij het Panther System* voor nadere informatie.
- O. Als het lab een Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit transportbuis krijgt zonder wattenstaafjes, met twee wattenstaafjes, een reinigungsstaafje of een wattenstaafje dat niet door Hologic is geleverd, dan moet het monster worden geweigerd.

### Met betrekking tot de assay

- P. Verwissel, meng of combineer geen assayreagentia uit kits met verschillende masterlotnummers. Controles, de kalibrator en assayvloeistoffen kunnen lotnummer onafhankelijk worden gebruikt.
- Q. Reagentia moeten van een dop worden voorzien en worden opgeslagen bij de aangegeven temperaturen. Gebruik van verkeerd opgeslagen reagentia kan de uitslag van de assay negatief beïnvloeden. Zie *Eisen voor opslag en verwerking van reagentia* en *Testprocedure voor het Panther System* voor meer informatie.
- R. Combineer geen assayreagentia of vloeistoffen zonder specifieke aanwijzingen. Flessen voor reagentia of vloeistoffen mogen niet helemaal worden gevuld. Het Panther system verifieert het peil van de reagentia.
- S. Voorkom microbiële en nucleaseverontreiniging van de reagentia.
- T. Gebruik de reagens-, controle- of kalibratorkits niet na de vervaldatum.
- U. Bepaalde reagentia die worden gebruikt met de Aptima BV Assay, zijn voorzien van risico- en veiligheidssymbolen.

**Opmerking:** Informatie over gevarencommunicatie voor het labelen van producten die wereldwijd worden verkocht, geeft de classificaties van de Amerikaanse en EU-veiligheidsinformatiebladen (SDS) weer. Raadpleeg het regiospecifieke veiligheidsinformatieblad (SDS) in de bibliotheek met veiligheidsinformatiebladen op [www.hologicsds.com](http://www.hologicsds.com) voor informatie over gevarencommunicatie die specifiek is voor uw regio.

Europese gevareninformatie	
—	<p><b>Promoter Reagent</b>  <b>MAGNESIUM CHLORIDE 35 - 40%</b></p> <p>H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen  P273 - Voorkom lozing in het milieu  P280 - Oogbescherming/gelaatsbescherming dragen</p>
—	<p><b>Target Capture Reagent</b>  <b>HEPES 5 - 10%</b>  <b>EDTA 1 - 5%</b>  <b>LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1 - 5%</b></p> <p>H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen  P273 - Voorkom lozing in het milieu  P280 - Oogbescherming/gelaatsbescherming dragen</p>

### Eisen voor opslag en verwerking van reagentia

- A. In de volgende tabel worden de opslagcondities en stabiliteit voor de reagentia, de kalibrator en de controles weergegeven.

Reagens	Ongeopende opslag	Open kit (gereconstitueerd)	
		Opslag	Stabiliteit
Amplification Reagent (Amplificatiereagens)	2 °C tot 8 °C		
Amplification Reconstitution Solution (Amplificatiereconstitutieoplossing)	15 °C tot 30 °C	2 °C tot 8 °C	30 dagen <sup>1</sup>
Enzyme Reagent (Enzymreagens)	2 °C tot 8 °C		
Enzyme Reconstitution Solution (Enzymreconstitutieoplossing)	15 °C tot 30 °C	2 °C tot 8 °C	30 dagen <sup>1</sup>
Promotorreagens	2 °C tot 8 °C		
Promoter Reconstitution Solution (Promotorreconstitutieoplossing)	15 °C tot 30 °C	2 °C tot 8 °C	30 dagen <sup>1</sup>
Target Capture Reagent	15 °C tot 30 °C	15 °C tot 30 °C <sup>2</sup>	30 dagen <sup>1</sup>
Positive Calibrator (Positieve kalibrator)	2 °C tot 8 °C		Wegwerpflacon
Negative Control (Negatieve controle)	2 °C tot 8 °C		Wegwerpflacon
Positive Control (Positieve controle)	2 °C tot 8 °C		Wegwerpflacon
Internal Control	2 °C tot 8 °C		Wegwerpflacon

<sup>1</sup> Wanneer reagentia uit het Panther system worden gehaald, moeten ze onmiddellijk opnieuw op de juiste opslagtemperatuur worden gebracht.

<sup>2</sup> Opslagconditie voor de werkende target capture reagent (target capture reagent met Internal Control toegevoegd).

- B. Gooi ongebruikte gereconstitueerde reagentia en werkende TCR (Target Capture Reagent) na 30 dagen weg of, indien eerder, na de uiterste houdbaarheidsdatum van het masterlot.
- C. Reagentia in het Panther system blijven aan boord 120 uur stabiel. Reagentia kunnen maximaal 8 keer in het Panther system worden geplaatst. Het systeem registreert elke keer dat de reagentia worden geladen.
- D. De promotorreagens en de gereconstitueerde promotorreagens zijn lichtgevoelig. Bescherm deze reagentia tegen licht tijdens opslag of voorbereiding voor gebruik.
- E. Vermijd kruisbesmetting tijdens de verwerking en opslag van reagentia. Plaats op alle gereconstitueerde reagentia nieuwe reagensdopjes voordat zij worden opgeslagen.
- F. De reagentia mogen niet worden ingevroren.**

## Monsterafname en -opslag

**Opmerking:** *Behandel alle monsters alsof ze potentieel besmettelijke stoffen bevatten. Pas universele voorzorgsmaatregelen toe.*

**Opmerking:** *voorkom kruisbesmetting tijdens de stappen waarin de monsters worden verwerkt. Voer gebruikt materiaal bijvoorbeeld niet over open buizen af.*

Uitstrijkjes kunnen worden getest met de Aptima BV Assay. De werking van de assay is alleen geëvalueerd met monsters die werden verzameld met de volgende monsterafnamekit:

- Aptima-multitestmonsterafnamekit

### A. Afname van monsters

Raadpleeg de bijsluiters van de betreffende monsterafnamekit voor specifieke instructies.

### B. Transport en opslag van monsters voorafgaand aan tests:

Uitsluitend de volgende opslagcondities mogen worden gebruikt voor monsters met de Aptima BV Assay.

#### 1. Monsters

- a. Nadat monsters zijn verzameld in transportbuizen, kunnen zij tot 30 dagen worden opgeslagen bij een temperatuur van 2 °C tot 8 °C. Als langdurigere opslag nodig is, kunnen monsters nog eens maximaal 60 dagen langer worden opgeslagen bij een temperatuur van -20 °C of -70 °C.
- b. Nadat monsters zijn verzameld in transportbuizen, kunnen zij tot 30 dagen worden opgeslagen bij een temperatuur van 15 °C tot 30 °C.

### C. Monsteropslag na tests:

- 1. Geteste monsters moeten rechttop in een rek worden bewaard.
- 2. De monstertransportbuizen moeten worden afgedekt met een nieuwe, schone plastic folie of foliebarrière.
- 3. Als monsters waarop een assay is uitgevoerd moeten worden vervoerd, moet de doorprikbare dop worden verwijderd en een nieuwe niet-doorprikbare dop op de monstertransportbuizen worden geplaatst. Als monsters moeten worden vervoerd voor tests bij een andere locatie, dan moeten de aanbevolen temperaturen behouden blijven.

4. Voordat de doppen van de monstertransportbuizen worden verwijderd, moeten de buizen gedurende 5 minuten bij  $420 \pm 100$  relatieve centrifugale kracht (RCF) worden gecentrifugeerd om alle vloeistoffen naar de bodem van de buis te brengen. **Vermijd opspatten en kruisbesmetting.**

**Opmerking:** Monsters moeten worden vervoerd volgens de toepasselijke nationale, internationale en regionale regelgeving voor transport.



## Panther System

Hieronder staan reagentia voor de Aptima BV Assay voor het Panther system vermeld. Naast de naam van het reagens worden tevens de identificatiesymbolen weergegeven.

### Geleverde reagentia en materialen

#### Kit voor Aptima BV Assay

100 tests: 2 assaydozen, 1 kalibratorkit en 1 controlekit (cat. nr. PRD-05186)

#### Gekoelde doos voor Aptima BV Assay (na ontvangst bewaren bij 2 °C tot 8 °C)

Symbol	Component	Hoeveelheid
<b>A</b>	<b>Amplification Reagent</b> <i>Niet-besmettelijke nucleïnezuren gedroogd in gebufferde oplossing.</i>	1 flacon
<b>E</b>	<b>Enzyme Reagent</b> <i>Reverse-transcriptase en RNA-polymerase gedroogd in met HEPES gebufferde oplossing.</i>	1 flacon
<b>PRO</b>	<b>Promotorreagens</b> <i>Niet-besmettelijke nucleïnezuren gedroogd in gebufferde oplossing.</i>	1 flacon
<b>IC</b>	<b>Internal Control</b> <i>Niet-besmettelijke RNA nucleïnezuren in gebufferde oplossing.</i>	1 x 0,3 ml

#### Kamertemperatuordoos voor Aptima BV Assay (na ontvangst bewaren bij 15 °C tot 30 °C)

Symbol	Component	Hoeveelheid
<b>AR</b>	<b>Amplification Reconstitution Solution</b> <i>Oplossing in water met glycerol en conserveringsmiddelen.</i>	1 x 7,2 ml
<b>ER</b>	<b>Enzyme Reconstitution Solution</b> <i>Met HEPES gebufferde oplossing met een surfactans en glycerol.</i>	1 x 5,8 ml
<b>PROR</b>	<b>Promoter Reconstitution Solution</b> <i>Oplossing in water met glycerol en conserveringsmiddelen.</i>	1 x 4,5 ml
<b>TCR</b>	<b>Target Capture Reagent</b> <i>Gebufferde zoutoplossing met niet-besmettelijke nucleïnezuren en magnetische partikels.</i>	1 x 26,0 ml
	<b>Reconstitueadapters</b>	3
	<b>Barcodeblad masterlot</b>	1 blad

**Kalibratorkit voor Aptima BV Assay (PRD-05188)**  
(na ontvangst bewaren bij 2 °C tot 8 °C)

Symbol	Component	Hoeveelheid
PCAL	<b>Positive Calibrator</b> <i>Niet-besmettelijke nucleïnezuren in gebufferde oplossing.</i>	5 x 2,8 ml
	<b>Barcodelabel kalibrator</b>	1 blad

**Controlekit voor Aptima BV Assay (PRD-05187)**  
(na ontvangst bewaren bij 2 °C tot 8 °C)

Symbol	Component	Hoeveelheid
CONTROL-	<b>Negative Control</b> <i>Niet-besmettelijke L. crispatus gekweekte cellen in gebufferde oplossing.</i>	5 x 1,7 ml
CONTROL+	<b>Positive Control</b> <i>Niet-besmettelijke G. vaginalis en A. vaginae gekweekte cellen in gebufferde oplossing.</i>	5 x 1.7 ml
	<b>Barcodelabel controles</b>	1 blad

## Benodigde en apart geleverde materialen

**Opmerking:** Voor materialen die bij Hologic verkrijgbaar zijn, is het catalogusnummer vermeld, tenzij ze op andere wijze zijn gespecificeerd.

Materiaal	Cat. nr.
Panther System	303095
Panther-runkit voor realtime assays (uitsluitend voor realtime assays)	PRD-03455 (5000 tests)
<i>Aptima-kit met assayvloeistof (ook bekend als universele vloeistofkit) Bevat Aptima-wasoplossing, Aptima-buffer voor deactiveringsvloeistof en Aptima-oliereagens</i>	303014 (1000 tests)
<i>Multi-tube units (MTU's, uit meerdere buisjes bestaande eenheden)</i>	104772-02
<i>Panther Waste Bag Kit (afvalzakpakket)</i>	902731
<i>Panther Waste Bin Cover (afvalbakdeksel)</i>	504405
Of runkit voor het Panther System	303096 (5000 tests)
<i>Als niet-realtime TMA-assays op hetzelfde moment als realtime TMA-assays worden gedraaid. Bevat MTU's, afvalzakken, afvalbakdeksels, automatische detectie en assay- vloeistoffen.</i>	
Aptima Assay Fluids Kit	303014 (1000 tests)
<i>Bevat Aptima-wasoplossing, Aptima-buffer voor deactiveringsvloeistof en Aptima-oliereagens</i>	
Multi-tube units (MTU's, uit meerdere buisjes bestaande eenheden)	104772-02

Materiaal	Cat. nr.
Tips, 1000 µL, gefilterd, geleidend, vloeistofdetectie, en voor eenmalig gebruik. <i>Sommige producten zijn niet in alle regio's verkrijgbaar. Neem contact op met uw vertegenwoordiger voor specifieke informatie over de verkrijgbaarheid in uw regio</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Aptima-multitestmonsterafnamekit	PRD-03546
Bleekmiddel, 5,0% tot 8,25% (0,7 M tot 1,16 M) natriumhypochlorietoplossing	--
Poederloze wegwerphandschoenen	--
Doorprikbare Aptima-doppen	105668
Vervangende niet-doorprikbare doppen	103036A
Vervangende doppen voor reagentia <i>Reconstitutieflessen voor amplificatie-, enzym- en promoterreagens TCR-fles</i>	CL0041 (100 doppen) 501604 (100 doppen)
Laboratoriumtafelkanten met plastic achterkant	--
Pluisvrije doekjes	--
Pipet	--
Tips [Tippen]	--
Schudmachine	--

## Testprocedure voor het Panther System

**Opmerking:** raadpleeg de gebruikershandleiding bij het Panther/Panther Fusion-systeem voor aanvullende informatie over procedures met het Panther-systeem.

### A. Voorbereiding werkgebied

1. Reinig de werkoppervlakken waar reagentia worden bereid. Veeg de werkoppervlakken af met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing. Laat de natriumhypochlorietoplossing ten minste 1 minuut intrekken en spoel de werkoppervlakken vervolgens af met gedeïoniseerd (DI) water. De natriumhypochlorietoplossing mag niet opdrogen.
2. Reinig een apart deel van het werkoppervlak waar reagentia worden bereid. Gebruik de hierboven beschreven procedure (Stap A.1).
3. Reinig de pipetten. Gebruik de hierboven beschreven reinigingsprocedure (Stap A.1).

### B. Reconstitutie van de reagens/bereiding van een nieuwe kit

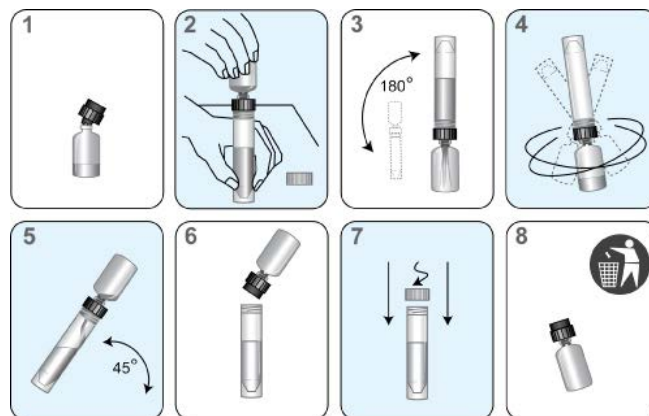
**Opmerking:** Reagentia moeten voorafgaand aan gebruik met het Panther system worden gereconstitueerd.

1. Vóór het onderzoek moeten amplificatie, enzym- en promoterreagentia worden opgelost door het combineren van de inhoud van de flesjes gevriesdroogde reagens met de juiste reconstitutieoplossing.
  - a. Laat de gevriesdroogde reagentia op kamertemperatuur komen (15 °C tot 30 °C) vóór gebruik.

- b. Voeg elke reconstitutieoplossing toe aan het bijbehorende gevriesdroogde reagens. Voordat de reconstitutieadapter wordt aangebracht, moet u zorgen dat de labelkleuren van de reconstitutieoplossing en het gevriesdroogde reagens overeenkomen.
- c. Controleer de lotnummers op het barcodeblad van het masterlot om u ervan te verzekeren dat de juiste reagentia met elkaar worden gecombineerd.
- d. Open het gevriesdroogde reagensflesje en steek het ingekeepte einde van de reconstitutieadapter in de flesopening (Afbeelding 1, stap 1).
- e. Open de bijbehorende fles met reconstitutieoplossing en leg de dop op een schoon, afgedekt werkoppervlak.
- f. Terwijl u de reconstructie-oplossingfles op de bank houdt, steekt u de andere kant van de reconstructieadapter in de fles opening (Afbeelding 1, stap 2).
- g. Keer langzaam de verzamelde flessen. Laat de oplossing uit de fles afvloeien in het glazen flesje (Afbeelding 1, stap 3).
- h. Meng de oplossing in de fles door voorzichtig te draaien. Zorg dat u geen schuim maakt tijdens het omkeren van de fles (Afbeelding 1, stap 4).
- i. Wacht minimaal 15 minuten voor het gevriesdroogde reagens in oplossing gaat, keer de verzamelde flessen opnieuw en kantel ze met een hoek van 45° om schuimen te minimaliseren (Afbeelding 1, Step 5). Laat alle vloeistof terugvloeien in de plastic fles.
- j. Gooi de reconstitutieadapter en het glazen flesje weg (Afbeelding 1, stap 6).
- k. Zet de dop weer op de fles. Noteer de initialen van de gebruiker en de datum van reconstitutie op het etiket (Afbeelding 1, stap 7).
- l. Gooi de reconstitutieadapter en het glazen flesje weg (Afbeelding 1, stap 8).

**Optie:** Aanvullend mengen van de amplificatie-, enzym- en promoterreagentia met behulp van een schudmachine is toegestaan. De reagentia mogen worden gemengd door de plastic fles met teruggeplaatste dop in een schudmachineset te zetten die is ingesteld op 20 RPM (of equivalent) gedurende minimaal 5 minuten.

**Waarschuwing:** voorkom schuimvorming bij reconstitutie van reagentia. Schuim verstoort detectie van het vloeistofpeil in het Panther system.



**Afbeelding 1. Proces van reconstitutie van reagens**

## 2. Voorbereiding Working Target Capture Reagent (wTCR)

- a. Combineer de juiste flessen met TCR en IC.
- b. Controleer de lotnummers van het reagens op het barcodeblad van het masterlot om u ervan te verzekeren dat de juiste reagentia met elkaar worden gecombineerd.
- c. Open de fles met TCR en leg de dop op een schoon, afgedekt werkoppervlak.
- d. Open de fles met intern controle-reagens en giet de hele inhoud in de fles met TCR. Er zal een kleine hoeveelheid vloeistof overblijven in de fles met interne controle-reagens.
- e. Plaats de dop op de fles en draai de oplossing voorzichtig rond om de inhoud te mengen. Vermijd schuimvorming tijdens deze stap.
- f. Noteer de initialen van de gebruiker en de actuele datum op het label.
- g. Gooi de IC-fles en dop weg.

#### C. Bereiding van reagentia voor eerder bereide reagentia

1. Eerder bereide amplificatie-, enzym- en promotorreagentia moeten op 15 °C tot 30 °C worden gebracht voorafgaand aan de aanvang van de test.

**Optie:** De reagentia mogen op kamertemperatuur worden gebracht door de gereconstitueerde amplificatie-, enzym- en promotorreagentia in een schudmachineset te zetten die is ingesteld op 20 RPM (of equivalent) gedurende minimaal 25 minuten.

2. Als de wTCR precipaat bevat, verwarm de wTCR bij 42 °C tot 60 °C gedurende maximaal 90 minuten. Laat de wTCR equilibreren tot kamertemperatuur vóór gebruik. Niet gebruiken als precipaat aanhoudt.
3. Controleer of de reagentia niet hun opslagstabiliteitstijden hebben overschreden, met inbegrip van onboard stabiliteit.
4. Meng grondig alle reagentia voorzichtig door omkering, voordat u het op het systeem plaatst. Voorkom overmatige schuimvorming bij het omkeren van reagentia.
5. Flessen met reagentia mogen niet helemaal worden gevuld. Het Panther system herkent te volle flessen en verwerkt die niet.

#### D. Hanteren van monsters

1. Laat de monsters op kamertemperatuur komen voorafgaand aan de verwerking.
2. **Zorg dat u de monsters niet vortext.**
3. Controleer visueel of elke monsterbuis aan de volgende criteria voldoet:
  - a. De aanwezigheid van een enkel roze Aptima-wattenstaafje in een transportbuis.
4. Inspecteer monsterbuizen voordat u deze in het monsterrek plaatst:
  - a. Als er in een monsterbuis bellen zitten in de ruimte tussen de vloeistof en de dop, dan moet de buis 5 minuten worden gecentrifugeerd op 420 RCF om de bellen te verwijderen.
  - b. Als een monsterbuis een lager volume heeft dan gebruikelijk is wanneer de afnameinstructies zijn gevolgd, dan moet de buis 5 minuten worden gecentrifugeerd bij 420 RCF om te zorgen dat er geen vloeistof in de dop zit.

**Opmerking:** Als stap 4a-4b niet worden gevolgd, kan vloeistof loskomen uit de dop van de monsterbuis.

**Opmerking:** er kunnen maximaal 4 afzonderlijke aliquots worden getest van elke monsterbuis. Als wordt geprobeerd meer dan 4 aliquots uit de monsterbuis te pipetteren, dan kan dat leiden tot verwerkingsfouten.

#### E. Voorbereiding van het systeem

1. Stel het systeem in volgens de instructies in de gebruikershandleiding en de opmerkingen bij de procedure bij het Panther/Panther-systeem. Zorg ervoor dat u reagensrekken en TCR-adapters van het juiste formaat gebruikt.

### Procedurele opmerkingen

#### A. Kalibrator en controles

Laat de kalibrator en controles op kamertemperatuur komen voorafgaand aan de verwerking.

1. De positieve calibrator, positieve en negatieve controlebuizen kunnen in elke rekpositie en in elke rij van het monstercompartiment op het Panther system worden geplaatst. Monsters worden gepipetteerd wanneer aan een van de volgende twee voorwaarden is voldaan:
  - a. De kalibrator en controles worden op het moment verwerkt door het systeem.
  - b. Geldige resultaten voor de kalibrator en controles worden in het systeem geregistreerd.
2. Wanneer de kalibrator en controlebuizen zijn gepipetteerd en voor een specifieke reagenskit worden verwerkt, kunnen patiëntmonsters tot maximaal 24 uur met de bijbehorende kit worden getest, **behalve** in de volgende gevallen:
  - a. de resultaten voor de kalibrator of controles zijn ongeldig;
  - b. de bijbehorende assay-reagenskit is uit het systeem verwijderd.
  - c. De bijbehorende assay-reagenskit heeft de stabiliteitsgrenzen overschreden.
3. Elke kalibrator of elke controlebuis kan maar één keer worden gebruikt. Pogingen om de kalibrator of controlebuis vaker dan een keer te gebruiken kunnen leiden tot verwerkingsfouten.

#### B. Temperatuur

Kamertemperatuur wordt gedefinieerd als 15 °C tot 30 °C.

#### C. Handschoenpoeder

Net als bij elk reagenssysteem kan overmatig poeder van sommige handschoenen geopende buizen vervuilen. Poederloze handschoenen worden daarom aanbevolen.

## Kwaliteitscontrole

Een gebruiker kan een individueel monster of een hele run ongeldig verklaren als is waargenomen en gedocumenteerd dat een procedurele, technische of instrumentgerelateerde fout is opgetreden tijdens het uitvoeren van de assay.

### Assaykalibratie

Voor geldige resultaten moet een assay gekalibreerd zijn. De kalibrator wordt in drievoud uitgevoerd telkens wanneer een reagenskit in het Panther system wordt geplaatst. Zodra die is vastgesteld, is de kalibratie maximaal 24 uur geldig. Software op het Panther system waarschuwt de gebruiker wanneer kalibratie nodig is. De gebruiker scant de kalibratiecoëfficiënt van het barcodeblad van het masterlot dat met elke reagenskit is meegeleverd.

Bij verwerking worden criteria voor het accepteren van de kalibrator automatisch geverifieerd door de software op het Panther system. Als minder dan twee van de kalibratorreplica's geldig is, beschouwt de software de run automatisch als ongeldig. Monsters in een ongeldige run moeten opnieuw worden getest met een versbereide kalibrator en versbereide controles.

### Negative en positive controls

Voor geldige resultaten moet een set assaycontroles worden getest. Eén replica van de negative control en de positive control moet telkens wanneer een reagenskit in het Panther system wordt geplaatst, worden getest. Zodra die zijn vastgesteld, zijn de controles maximaal 24 uur geldig. Software op het Panther system waarschuwt de gebruiker wanneer controles nodig zijn.

Bij verwerking worden criteria voor het accepteren van controles automatisch geverifieerd door de software op het Panther system. Als een van de controles een ongeldig resultaat heeft, beschouwt de software de run automatisch als ongeldig. Monsters in een ongeldige run moeten opnieuw worden getest met een versbereide kalibrator en versbereide controles.

### Internal Control

Een IC wordt toegevoegd aan elk monster met de wTCR. Bij verwerking worden IC-acceptatiecriteria automatisch geverifieerd door de software van het Panther system. Als een IC-resultaat ongeldig is, wordt het monsterresultaat als ongeldig beschouwd. Elk monster met een ongeldig IC-resultaat moet opnieuw worden getest voor een geldig resultaat.

De Panther-systeemsoftware is ontworpen om processen nauwkeurig te verifiëren wanneer procedures worden uitgevoerd volgens de instructies in de bijsluiters en de Gebruikershandleiding bij het Panther/Panther Fusion System.

## Testinterpretatie

Testresultaten worden automatisch bepaald door de assaysoftware. De onderstaande tabel toont de mogelijke resultaten gerapporteerd in een geldige run en resultaat interpretaties. Monsters met ongeldige testresultaten moeten opnieuw worden getest.

Tabel 1: Interpretatie van resultaten

BV-resultaat	Interpretatie
Positief	Positief voor BV
Negatief	Negatief voor BV
Ongeldig	Ongeldige test

## Beperkingen

- A. Alleen personeel dat is getraind in de procedure, mag deze assay gebruiken. Niet-naleving van de instructies in deze bijsluiter kan leiden tot foutieve resultaten.
- B. De effecten van andere mogelijke variabelen zoals vaginale afscheiding, gebruik van tampons en monsterafnamevariëaties zijn niet vastgesteld.
- C. De werking met andere monstertypen dan uitstrijkjes is niet geëvalueerd.
- D. Betrouwbare resultaten zijn afhankelijk van een adequate afname, transport, opslag en verwerking van monsters. Wanneer de juiste procedures in elk van deze stappen niet worden gevolgd, dan kan dat leiden tot incorrecte resultaten. Omdat het transportsysteem dat voor deze assay is gebruikt, geen microscopische evaluatie van de geschiktheid van het monster toestaat, is het noodzakelijk dat artsen zijn getraind in de juiste monsterafnametechnieken. Zie *Monsterafname en opslag* voor instructies. Raadpleeg de betreffende gebruiksaanwijzing voor uitgebreide informatie.
- E. Het wel of niet slagen van de behandeling kan niet worden bepaald met de Aptima BV Assay omdat nucleïnezuur kan achterblijven na toepasselijke antimicrobiële therapie.
- F. Bacteriesoorten waarop de Aptima BV Assay is gericht, kunnen een deel van het normale microbioom voor een aanzienlijk aantal vrouwen omvatten; een BV-positief resultaat moet worden geïnterpreteerd in combinatie met andere klinische gegevens die beschikbaar zijn voor de arts.
- G. Een negatief resultaat sluit een mogelijke infectie niet uit. Testresultaten kunnen worden beïnvloed door onjuiste monsterafname, technische fouten, verwisselen van monsters.
- H. De Aptima BV Assay levert kwalitatieve resultaten. Er kan daarom geen correlatie worden getrokken tussen de sterkte van een positief assaysignaal en het aantal organismen in een monster.
- I. Gebruik van de assay is niet geëvalueerd bij personen die jonger zijn dan 14 jaar.
- J. Klanten moeten onafhankelijk een LIS-overdrachtproces valideren.



- K. De Aptima BV Assay is niet geëvalueerd voor gebruik in combinatie met monsters die door patiënten zelf thuis zijn afgenomen.
- L. Afname en tests van door patiënten afgenomen uitstrijkjes met de Aptima BV Assay zijn niet bedoeld als vervanging van klinische onderzoeken.
- M. Volg aanbevelingen voor de volksgezondheid omtrent testen op aanvullende seksueel overdraagbare aandoeningen (SOA) voor patiënten met een positief resultaat met de Aptima BV-assay.
- N. Aanvullende micro-organismen die niet zijn gedetecteerd door de Aptima BV Assay zoals *Prevotella*-soorten en *Mobiluncus*-soorten, *Ureaplasma*, *Mycoplasma* en talrijke moeilijke of niet te kweken anaëroben zijn ook gevonden bij vrouwen met BV, maar zijn minder geassocieerd met BV vanwege hun relatief lage prevalentie, gevoeligheid en/of specificiteit (17).
- O. Interferentie met de Aptima BV Assay werd waargenomen bij de volgende stoffen: Mucus (1,5% V/V), Vaginale vochtinbrengende gel (0,5% W/V) en Tioconazol (5% W/V).
- P. Kruisreactiviteit werd waargenomen met de Aptima BV Assay in de aanwezigheid van *Lactobacillus acidophilus* ( $1 \times 10^4$  CFU/ml).
- Q. Een positief testresultaat duidt niet noodzakelijkerwijs op de aanwezigheid van levensvatbare organismen. Een positief resultaat is indicatief van de aanwezigheid van target-RNA.

## Verwachte waarden van het Panther System

De prevalentie van bacteriële vaginose in patiëntpopulaties is afhankelijk van leeftijd, ras/ethniciteit, risicofactoren, het type kliniek en de gevoeligheid van de test die wordt gebruikt om infecties te detecteren. Een samenvatting van de BV positiviteit in symptomatische patiënten, zoals bepaald door de Aptima BV Assay op het Panther system, wordt getoond in Tabel 2 voor de multicentrische studie, op klinische locatie en in het totaal.

*Tabel 2: Positiviteit zoals bepaald door de Aptima BV Assay bij symptomatische vrouwen op monstertype en klinische locatie*

%Positiviteit (# positief/# getest met geldige resultaten)		
Locatie	Door arts afgenomen uitstrijkjes	Door patiënt afgenomen uitstrijkjes
1	40,0 (6/15)	46,7 (7/15)
2	20,0 (1/5)	0,0 (0/5)
3	63,6 (14/22)	63,6 (14/22)
4	51,9 (108/208)	60,5 (124/205)
5	48,5 (64/132)	50,8 (66/130)
6	46,5 (33/71)	50,7 (36/71)
7	68,1 (130/191)	69,3 (131/189)
8	100,0 (1/1)	100,0 (1/1)
9	48,0 (49/102)	54,9 (56/102)
10	70,6 (12/17)	70,6 (12/17)
11	50,7 (34/67)	50,7 (34/67)
12	32,8 (41/125)	34,1 (42/123)
13	63,2 (43/68)	62,3 (43/69)
14	55,6 (5/9)	55,6 (5/9)
15	50,0 (2/4)	50,0 (2/4)
16	58,6 (17/29)	65,5 (19/29)
17	49,4 (39/79)	51,3 (41/80)
18	64,4 (56/87)	64,4 (56/87)
19	45,6 (31/68)	50,0 (34/68)
20	11,1 (4/36)	19,4 (7/36)
21	58,4 (45/77)	57,9 (44/76)
<b>Alles</b>	<b>52,0 (735/1413)</b>	<b>55,1 (774/1405)</b>

## Assaywerking van het Panther System

### Reproduceerbaarheid

De reproduceerbaarheid van de Aptima BV Assay werd geëvalueerd op het Panther system op drie locaties in de Verenigde Staten met behulp van zeven panels. Op elke locatie voerden twee gebruikers tests uit. Elke gebruiker voerde gedurende zes dagen één run per dag uit waarbij één reagensslot voor de tests werd gebruikt. Elke run werd bij elk panel drie keer herhaald.

De panels werden gemaakt met behulp van een gesimuleerde vaginale swabmatrix ('SVSM', die monstertransportmedia (STM) bevat, verrijkt met gesimuleerde vaginale vloeistof) negatief voor *Lactobacillus*-soorten, *G. vaginalis* en *A. vaginae*. Zes panels bevatten cellysaten van minstens 1 van de volgende organismen: *L. crispatus*, *L. jensenii*, *G. vaginalis* of *A. vaginae*; verschillende bacteriële combinaties werden bereid om de variëteit van gerichte BV organismecombinaties aanwezig in vaginale monsters te vertegenwoordigen. Eén negatief panel bevatte alleen de matrix zonder toegevoegde targets.

De overeenkomst met de verwachte resultaten was 100% voor alle panels.

Signaalvariabiliteit van de Aptima BV Assay werd berekend voor elk target in analytische specifieke positieve panels. Uitsluitend monsters met geldige resultaten werden opgenomen in de analyses. Variabiliteit, berekend tussen locaties, tussen gebruikers, tussen dagen, tussen runs, binnen de run, en algemeen, wordt getoond in tabel 3 tot tabel 5 voor *Lactobacillus*, *G. vaginalis*, en *A. vaginae* positieve panelleden, respectievelijk.

Tabel 3: Signaalvariabiliteit voor *Lactobacillus* positieve panels.

Panel Beschrijving	N	Hoofd TTime <sup>1</sup>	Tussen locaties		Tussen gebruikers		Tussen dagen		Tussen runs		Binnen run		Totaal	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
<i>L. crispatus</i> BV negatief <sup>2</sup>	108	19,73	0,30	1,53	0,61	3,07	0,13	0,64	0,63	3,17	0,12	0,62	0,94	4,76
<i>L. jensenii</i> BV laag positief <sup>2</sup>	108	24,31	0,00	0,00	0,77	3,16	0,00	0,00	0,80	3,28	0,15	0,62	1,12	4,60

CV = variatiecoëfficiënt, SD = standaarddeviatie.

<sup>1</sup> TTime wordt uitsluitend voor *Lactobacillus* getoond.

<sup>2</sup> Panel bevat 2 verschillende organismen; resultaten worden uitsluitend getoond voor het *Lactobacillus* component.

Opmerking: In het geval dat variabiliteit van sommige factoren numeriek negatief is, worden SD en CV getoond als 0,00.

Tabel 4: Signaalvariabiliteit voor *G. vaginalis* positieve panels

Beschrijving van panel	N	Hoofd TTime <sup>1</sup>	Tussen locaties		Tussen gebruikers		Tussen dagen		Tussen runs		Binnen run		Totaal	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
<i>G. vaginalis</i> laag positief	108	15,69	0,35	2,26	0,40	2,52	0,00	0,00	0,38	2,43	0,15	0,96	0,67	4,28
<i>G. vaginalis</i> gemiddeld positief	108	14,33	0,30	2,07	0,37	2,58	0,00	0,00	0,35	2,41	0,14	0,98	0,60	4,21

CV = variatiecoëfficiënt, SD = standaarddeviatie.

<sup>1</sup> TTime wordt uitsluitend voor *G. vaginalis* getoond.

Opmerking: In het geval dat variabiliteit van sommige factoren numeriek negatief is, worden SD en CV getoond als 0,00.

Tabel 5: Signaalvariabiliteit voor *A. vaginae* positieve panels.

Beschrijving van panel	N	Hoofd TTime <sup>1</sup>	Tussen locaties		Tussen gebruikers		Tussen dagen		Tussen runs		Binnen run		Totaal	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
<i>A. vaginae</i> BV negatief <sup>2</sup>	108	18,01	0,39	2,15	0,44	2,46	0,08	0,45	0,47	2,59	0,18	0,97	0,78	4,30
<i>A. vaginae</i> laag positief	108	14,95	0,38	2,52	0,41	2,75	0,00	0,00	0,39	2,61	0,14	0,93	0,69	4,64
<i>A. vaginae</i> BV laag positief <sup>2</sup>	108	14,94	0,41	2,76	0,37	2,51	0,00	0,00	0,37	2,45	0,17	1,13	0,69	4,60
<i>A. vaginae</i> gemiddeld positief	108	13,99	0,29	2,08	0,36	2,60	0,03	0,18	0,39	2,82	0,14	1,00	0,63	4,48

CV = variatiecoëfficiënt, SD = standaarddeviatie.

<sup>1</sup> TTime wordt uitsluitend voor *A. vaginae* getoond.

<sup>2</sup> Panel bevat 2 verschillende organismen; resultaten worden uitsluitend getoond voor het *A. vaginae* component.

Opmerking: In het geval dat variabiliteit van sommige factoren numeriek negatief is, worden SD en CV getoond als 0,00.

## Klinische werking van het Panther System

### Performance bij symptomatische patiënten

Een prospectieve, multicentrische klinische studie werd uitgevoerd om de klinische performance van de Aptima BV Assay op het Panther system vast te stellen. Vrouwelijke patiënten met symptomen van vaginitis werden opgenomen op 21 geografisch en etnisch diverse klinische locaties in de VS, waaronder privé- en academische huisartspraktijken, obstetrische gynaecologische centra, gezinsplanningcentra, volksgezondheidsklinieken, SOA-klinieken, klinieken voor medische groepen en klinische onderzoekscentra.

Bij elke patiënt werden drie (3) uitstrijkjes afgenomen: een door een arts afgenomen uitstrijkje en een door de patiënt afgenomen uitstrijkje werden verzameld met behulp van de Aptima-multitestmonsterafnamekit voor Aptima BV-assays, en een door een arts afgenomen uitstrijkje werd verzameld voor het testen van referentiemethoden. Aptima-monsters werden getest met de Aptima BV Assay op het Panther system op drie locaties. De BV infectiestatus werd bepaald met behulp van een combinatie van Nugent-interpretaties en Amsel-criteria uit het laatste uitstrijkje.

- Monsters met normale flora conform de Nugent-interpretatie werden negatief beschouwd; monsters die positief waren voor BV-flora werden positief beschouwd.
- Monsters met tussentijdse Nugent-interpretaties werden geclassificeerd als positief of negatief voor BV met behulp van aangepaste Amsel-criteria. Monsters positief voor  $\geq 20\%$  clue cells en minstens 1 van de 2 volgende criteria werden Amsel-positief beschouwd: vaginale pH  $> 4,5$  en positieve whifftest.
- Monsters die niet konden worden beoordeeld op de Nugent-criteria en monsters met een onbepaalde Nugent-interpretatie waarvoor een gewijzigd Amsel-resultaat niet beschikbaar was, werden geacht een onbekende BV-infectiestatus te hebben.

Performance voor elk monster, met overeenkomstige 2-zijdige 95% score betrouwbaarheidsintervallen (BI's), werden geschat ten opzichte van de BV-infectiestatus.

Van de 1519 symptomatische patiënten die werden ingeschreven, konden 102 niet worden geëvalueerd vanwege terugtrekking ( $n = 17$ ) of een onbekende BV-infectiestatus ( $n = 85$ ). De resterende 1417 patiënten waren evalueerbaar voor minstens een van de monstertypes. Tabel 6 bevat de demografische gegevens van evalueerbare patiënten.

Tabel 6: Demografische gegevens van evalueerbare patiënten

Kenmerken		Totaal
Totaal, N	N	1417
Leeftijd (jaren)	Gemiddelde $\pm$ SD	34,7 $\pm$ 11.11
	Mediaan	33,0
	Bereik	14-75
	Leeftijdscategorie (jaren), n (%)	
	14-17	4 (0,3)
	18-29	537 (37,9)
	30-39	469 (33,1)
	40-49	235 (16,6)
	>50	172 (12,1)
Race/Ethnicity, n (%)	Aziatisch	67 (4,7)
	Zwart of Afro-Amerikaans	731 (51,6)
	Wit (Hispanic of Latino)	248 (17,5)
	Blank (Niet hispanic of latino)	307 (21,7)
	Overige <sup>1</sup>	64 (4,5)

<sup>1</sup> Omvat door patiënten gemelde overige, gemengde en onbekende rassen.

Voor de 1417 evalueerbare patiënten werden 1413 door arts afgenomen uitstrijkjes en 1405 door patiënten afgenomen uitstrijkjes opgenomen in de analyses. De gevoeligheid en specificiteit van de Aptima BV Assay voor de detectie van BV worden in Tabel 7 getoond voor beide monstertypen in het totaal en per locatie. De performance van de assay wordt getoond onderverdeeld op ras/ethniciteit in Tabel 8 en op klinische toestand in Tabel 9.

Tabel 7: Performance per afnamelocatie bij symptomatische vrouwen

Locatie	Door arts afgenomen uitstrijkjes				Door patiënt afgenomen uitstrijkjes			
	N	Prev(%)	Gevoeligheid % (95% BI) <sup>1</sup>	Specificiteit % (95% BI) <sup>1</sup>	N	Prev(%)	Gevoeligheid % (95% BI) <sup>1</sup>	Specificiteit % (95% BI) <sup>1</sup>
<b>Alles</b>	<b>1413</b>	<b>49,2</b>	<b>95,0</b> <b>(93,1-96,4)</b> <b>660/695<sup>2</sup></b>	<b>89,6</b> <b>(87,1-91,6)</b> <b>643/718<sup>3</sup></b>	<b>1405</b>	<b>49,3</b>	<b>97,3</b> <b>(95,8-98,2)</b> <b>673/692<sup>4</sup></b>	<b>85,8</b> <b>(83,1-88,2)</b> <b>612/713<sup>5</sup></b>
1	15	40,0	100 (61,0-100) 6/6	100 (70,1-100) 9/9	15	40,0	100 (61,0-100) 6/6	88,9 (56,5-98,0) 8/9
2	5	20,0	100 (20,7-100) 1/1	100 (51,0-100) 4/4	5	20,0	0,0 (0,0-79,3) 0/1	100 (51,0-100) 4/4
3	22	59,1	100 (77,2-100) 13/13	88,9 (56,5-98,0) 8/9	22	59,1	100 (77,2-100) 13/13	88,9 (56,5-98,0) 8/9
4	208	53,4	89,2 (82,0-93,7) 99/111	90,7 (83,3-95,0) 88/97	205	53,7	96,4 (91,0-98,6) 106/110	81,1 (72,0-87,7) 77/95
5	132	39,4	96,2 (87,0-98,9) 50/52	82,5 (72,7-89,3) 66/80	130	40,0	98,1 (89,9-99,7) 51/52	80,8 (70,7-88,0) 63/78
6	71	45,1	90,6 (75,8-96,8) 29/32	89,7 (76,4-95,9) 35/39	71	45,1	100 (89,3-100) 32/32	89,7 (76,4-95,9) 35/39
7	191	66,0	97,6 (93,2-99,2) 123/126	89,2 (79,4-94,7) 58/65	189	65,6	98,4 (94,3-99,6) 122/124	86,2 (75,7-92,5) 56/65
8	1	100,0	100 (20,7-100) 1/1	NC	1	100,0	100 (20,7-100) 1/1	NC
9	102	48,0	87,8 (75,8-94,3) 43/49	88,7 (77,4-94,7) 47/53	102	48,0	95,9 (86,3-98,9) 47/49	83,0 (70,8-90,8) 44/53
10	17	76,5	92,3 (66,7-98,6) 12/13	100 (51,0-100) 4/4	17	76,5	92,3 (66,7-98,6) 12/13	100 (51,0-100) 4/4
11	67	46,3	96,8 (83,8-99,4) 30/31	88,9 (74,7-95,6) 32/36	67	46,3	96,8 (83,8-99,4) 30/31	88,9 (74,7-95,6) 32/36
12	125	28,0	94,3 (81,4-98,4) 33/35	91,1 (83,4-95,4) 82/90	123	29,3	91,7 (78,2-97,1) 33/36	89,7 (81,5-94,5) 78/87
13	68	55,9	100 (90,8-100) 38/38	83,3 (66,4-92,7) 25/30	69	55,1	97,4 (86,5-99,5) 37/38	80,6 (63,7-90,8) 25/31
14	9	44,4	100 (51,0-100) 4/4	80,0 (37,6-96,4) 4/5	9	44,4	100 (51,0-100) 4/4	80,0 (37,6-96,4) 4/5
15	4	25,0	100 (20,7-100) 1/1	66,7 (20,8-93,9) 2/3	4	25,0	100 (20,7-100) 1/1	66,7 (20,8-93,9) 2/3
16	29	55,2	93,8 (71,7-98,9) 15/16	84,6 (57,8-95,7) 11/13	29	55,2	100 (80,6-100) 16/16	76,9 (49,7-91,8) 10/13

Tabel 7: Performance per afnamelocatie bij symptomatische vrouwen (vervolg)

Locatie	Door arts afgenomen uitstrijkjes				Door patiënt afgenomen uitstrijkjes			
	N	Prev(%)	Gevoeligheid % (95% BI) <sup>1</sup>	Specificiteit % (95% BI) <sup>1</sup>	N	Prev(%)	Gevoeligheid % (95% BI) <sup>1</sup>	Specificiteit % (95% BI) <sup>1</sup>
17	79	45,6	97,2 (85,8-99,5) 35/36	90,7 (78,4-96,3) 39/43	80	45,0	100 (90,4-100) 36/36	88,6 (76,0-95,0) 39/44
18	87	60,9	98,1 (90,1-99,7) 52/53	88,2 (73,4-95,3) 30/34	87	60,9	100 (93,2-100) 53/53	91,2 (77,0-97,0) 31/34
19	68	42,6	100 (88,3-100) 29/29	94,9 (83,1-98,6) 37/39	68	42,6	100 (88,3-100) 29/29	87,2 (73,3-94,4) 34/39
20	36	16,7	66,7 (30,0-90,3) 4/6	100 (88,6-100) 30/30	36	16,7	66,7 (30,0-90,3) 4/6	90,0 (74,4-96,5) 27/30
21	77	54,5	100 (91,6-100) 42/42	91,4 (77,6-97,0) 32/35	76	53,9	97,6 (87,4-99,6) 40/41	88,6 (74,0-95,5) 31/35

BI = Betrouwbaarheidsinterval, NB = Niet berekenbaar, Prev = Prevalentie.

<sup>1</sup> Score BI.

<sup>2</sup> van de 35 onjuiste negatieve resultaten, hadden 10 patiënten een intermediaire nugentscore en een BV-infectiestatus die werd bepaald door middel van Amsel-criteria en 15 waren negatief conform Amsel.

<sup>3</sup> van de 75 onjuiste positieve resultaten, hadden 46 patiënten een intermediaire nugentscore en een BV-infectiestatus die werd bepaald door middel van Amsel-criteria en 6 waren positief conform Amsel.

<sup>4</sup> van de 19 onjuiste negatieve resultaten, hadden 6 patiënten een intermediaire nugentscore en een BV-infectiestatus die werd bepaald door middel van Amsel-criteria en 7 waren negatief conform Amsel.

<sup>5</sup> van de 101 onjuiste positieve resultaten, hadden 55 patiënten een intermediaire nugentscore en een BV-infectiestatus die werd bepaald door middel van Amsel-criteria en 9 waren positief conform Amsel.



Tabel 8: Performance per ras/ethniciteit bij symptomatische vrouwen

Type monster	Ras/Etniciteit	N	Prev(%)	Gevoeligheid % (95% BI) <sup>1</sup>	Specificiteit % (95% BI) <sup>1</sup>
Door arts afgenomen uitstrijkjes	Alles	1413	49,2	95,0 (93,1-96,4) 660/695	89,6 (87,1-91,6) 643/718
	Aziatisch	67	31,3	95,2 (77,3-99,2) 20/21	91,3 (79,7-96,6) 42/46
	Zwart/Afro-Amerikaans	729	61,0	95,5 (93,2-97,1) 425/445	89,1 (84,9-92,2) 253/284
	Wit (Hispanic/Latino)	247	46,2	96,5 (91,3-98,6) 110/114	86,5 (79,6-91,3) 115/133
	Wit (Niet hispanic/latino)	306	28,8	88,6 (80,3-93,7) 78/88	91,7 (87,3-94,7) 200/218
	Overige <sup>2</sup>	64	42,2	100 (87,5-100) 27/27	89,2 (75,3-95,7) 33/37
Door patiënt afgenomen uitstrijkjes	Alles	1405	49,3	97,3 (95,8-98,2) 673/692	85,8 (83,1-88,2) 612/713
	Aziatisch	65	30,8	95,0 (76,4-99,1) 19/20	86,7 (73,8-93,7) 39/45
	Zwart/Afro-Amerikaans	727	61,2	97,5 (95,6-98,6) 434/445	84,8 (80,1-88,5) 239/282
	Wit (Hispanic/Latino)	246	45,9	99,1 (95,2-99,8) 112/113	83,5 (76,2-88,8) 111/133
	Wit (Niet hispanic/latino)	303	28,7	93,1 (85,8-96,8) 81/87	87,5 (82,4-91,3) 189/216
	Overige <sup>2</sup>	64	42,2	100 (87,5-100) 27/27	91,9 (78,7-97,2) 34/37

BI = Betrouwbaarheidsinterval, Prev = Prevalentie.

<sup>1</sup> Score BI.

<sup>2</sup> Omvat door patiënten gemelde overige, gemengde en onbekende rassen.

Tabel 9: Performance per klinische toestand bij symptomatische vrouwen

Afnametype	Klinische toestand	N <sup>1</sup>	Prev(%)	Gevoeligheid % (95% BI) <sup>2</sup>	Specificiteit % (95% BI) <sup>2</sup>
Door arts afgenomen uitstrijkjes	<b>Alles</b>	<b>1413</b>	<b>49,2</b>	<b>95,0 (93,1-96,4) 660/695</b>	<b>89,6 (87,1-91,6) 643/718</b>
	Gebruik van antibiotica	3	33,3	100 (20,7-100) 1/1	100 (34,2-100) 2/2
	Gebruik van schimmelwerende middelen	8	25,0	100 (34,2-100) 2/2	100 (61,0-100) 6/6
	Gebruik van oestrogeentherapie	2	0,0	NC	100 (34,2-100) 2/2
	Terugkerende symptomen van vaginitis in de laatste 12 maanden	832	49,8	95,2 (92,7-96,9) 394/414	88,8 (85,4-91,4) 371/418
	Onbeschermd seks gedurende de laatste 24 uur	94	57,4	92,6 (82,4-97,1) 50/54	85,0 (70,9-92,9) 34/40
	Zwanger	20	45,0	100 (70,1-100) 9/9	100 (74,1-100) 11/11
	Met menses	111	46,8	96,2 (87,0-98,9) 50/52	86,4 (75,5-93,0) 51/59
	Zonder menses	1177	50,6	95,6 (93,7-97,0) 569/595	89,3 (86,6-91,6) 520/586
	Post-menopausaal	125	38,4	85,4 (72,8-92,8) 41/48	93,5 (85,7-97,2) 72/77
	Door patiënt afgenomen uitstrijkjes	<b>Alles</b>	<b>1405</b>	<b>49,3</b>	<b>97,3 (95,8-98,2) 673/692</b>
Gebruik van antibiotica		3	33,3	100 (20,7-100) 1/1	100 (34,2-100) 2/2
Gebruik van schimmelwerende middelen		8	25,0	100 (34,2-100) 2/2	100 (61,0-100) 6/6
Gebruik van oestrogeentherapie		2	0,0	NC	100 (34,2-100) 2/2
Terugkerende symptomen van vaginitis in de laatste 12 maanden		828	49,9	98,1 (96,2-99,0) 405/413	85,1 (81,3-88,2) 353/415
Onbeschermd seks gedurende de laatste 24 uur		94	57,4	98,1 (90,2-99,7) 53/54	75,0 (59,8-85,8) 30/40
Zwanger		20	45,0	100 (70,1-100) 9/9	90,9 (62,3-98,4) 10/11
Met menses		109	47,7	100 (93,1-100) 52/52	84,2 (72,6-91,5) 48/57
Zonder menses		1175	50,6	97,5 (95,9-98,5) 579/594	85,4 (82,3-88,0) 496/581
Post-menopausaal		121	38,0	91,3 (79,7-96,6) 41/46	90,7 (82,0-95,4) 68/75

BI = Betrouwbaarheidsinterval, NB = Niet berekenbaar, Prev = Prevalentie.

<sup>1</sup> Patiënten kunnen meerdere klinische aandoeningen melden; som van patiëntaantallen in alle subgroepen is niet gelijk aan totaal aantal patiënten.

<sup>2</sup> Score BI.

## Positiviteitspercentages bij asymptomatische vrouwen

De detectie van een onbalans in het vaginale microbioom is relevant voor behandelbeslissingen. Hoewel de Aptima BV Assay niet bedoeld is voor gebruik bij het testen van monsters van asymptomatische vrouwen, kunnen organismen die geassocieerd zijn met BV-infectie en gedetecteerd worden door de Aptima BV Assay ook aanwezig zijn in asymptomatische vrouwen. Aanwezigheid van de Aptima BV Assay bacterietargets en werd beoordeeld in door de arts afgenomen uitstrijkjes van 172 asymptomatische vrouwen. Een samenvatting van de BV detectiepercentages, zoals bepaald door de Aptima BV Assay, wordt getoond in Tabel 10 voor de multicentrische studie in het totaal en op ras/ethniciteit.

Tabel 10: Positiviteit zoals bepaald door de Aptima BV Assay bij asymptomatische vrouwen

Ras/Etniciteit	% Positiviteit (# positief/# getest met geldige resultaten)
Alles	40,7% (70/172)
Aziatisch	40,0% (2/5)
Zwart/Afro-Amerikaans	52,0% (39/75)
Wit (Hispanic/Latino)	43,9% (18/41)
Blank (Niet hispanic/latino)	15,9% (7/44)
Overige <sup>1</sup>	57,1% (4/7)

<sup>1</sup> Omvat door patiënten gemelde overige, gemengde en onbekende rassen.

## Ongeldige percentages

Een totaal van 3175 door een arts en een patiënt afgenomen monsters van symptomatische en asymptomatische patiënten werden verwerkt in geldige Aptima BV runs om klinische performance vast te stellen. Hiervan had 0,7% aanvankelijk ongeldige resultaten. Bij hertest bleef 0,1% ongeldig en werd uitgesloten van alle analyses.

## Analytische werking van het Panther System

### Analytische sensitiviteit

De analytische gevoeligheid (detectielimiet of LoD) en BV-positiegrenzen van de Aptima BV Assay werden bepaald door een reeks panels te testen bestaande uit *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii*, *G. vaginalis* of *A. vaginae*-cel lysaten verdund in gesimuleerde vaginale swabmatrix (SVSM). Minimaal 20 replica's van elk panel werden getest met elk van twee reagenslotnummers voor minimaal 40 replica's per panel. In Tabel 11 vindt u de voorspelde detectielimieten voor elk organisme dat is berekend middels de Probit-analyse.

Tabel 11: Detectielimiet van de Aptima BV Assay

Organisme	Voorspelde detectielimiet	CFU/ml
<i>A. vaginae</i>	95%	290 <sup>1</sup>
<i>G. vaginalis</i>	95%	55 <sup>1</sup>
<i>L. crispatus</i>	95%	143
<i>L. gasseri</i>	95%	2.207
<i>L. jensenii</i>	95%	10

<sup>1</sup> Voorspelde BV positiviteitslimieten (C<sub>95</sub>) voor *A. vaginae* en *G. vaginalis* in de Aptima BV Assay zijn ongeveer 5,10 log CFU/ml en 4,86 log CFU/ml, respectievelijk.

### Analytische inclusiviteit

Er werden vijf stammen van elk targetorganisme getest middels lysaat gericht op 3X C<sub>95</sub> voor *G. vaginalis* en *A. vaginae*, en 3X LoD voor Lactobacillus species (*L. crispatus*, *L. gasseri*, en *L. jensenii*) in SVSM. De Aptima BV Assay was BV positief voor alle vijf stammen van *G. vaginalis* en *A. vaginae* bij 3x C<sub>95</sub>. Alle vijf stammen van *L. crispatus* en *L. gasseri* werden gedetecteerd bij 3X LoD. Drie van de vijf stammen van *L. jensenii* werden gedetecteerd bij 3X LoD en de overblijvende twee stammen bij 10X LoD.

### Kruisreactiviteit en microbiële interferentie

Kruisreactiviteit en microbiële interferentie met de Aptima BV Assay werden geëvalueerd in de aanwezigheid van niet-gerichte organismen. Een panel bestaande uit 62 organismen (Tabel 12) werd getest in SVSM in de afwezigheid of aanwezigheid van *L. crispatus* bij 3X LoD, *G. vaginalis* bij 3x C<sub>95</sub>, of *A. vaginae* bij 3x C<sub>95</sub>. Er werd geen kruisreactiviteit of microbiële interferentie waargenomen voor enig van de 62 organismen die getest werden in de Aptima BV Assay in de concentraties uit Tabel 12.

Tabel 12: Kruisreactiviteit en microbiële interferentiepanel

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

CFU = Colony Forming Units (kolonievormende eenheden); IFU = Inclusion Forming Units (inclusievormende eenheden); TCID50 = Median Tissue Culture Infectious Dose (mediane weefselweek-infectiedosis).

<sup>1</sup> In-vitrotranscript getest.

<sup>2</sup> *Lactobacillus acidophilus* beïnvloed BV positiviteit bij 1x10<sup>4</sup> CFU/ml of hoger.

## Storing

Mogelijk interfererende stoffen werden in de Aptima BV Assay getest. Testpanels werden gemaakt in SVSM en beoordeeld op mogelijke effecten op de sensitiviteit en specificiteit van de assay. Sensitiviteitsperformance werd afzonderlijk beoordeeld voor *L. crispatus* door verrijking met lysaat bij 3X LoD, en voor *G. vaginalis* en *A. vaginae* door verrijking met lysaat bij 3X C<sub>95</sub>. Negatieve panels met elke stof werden ook beoordeeld op specificiteit.

Er werd geen interferentie waargenomen in de aanwezigheid van de volgende exogene en endogene stoffen die werden getest bij de concentraties uit Tabel 13.

Tabel 13: Panel interfererende stoffen

Stof	Definitieve Concentratie <sup>1</sup>
Volbloed	5% V/V
Leukocyten	1x10 <sup>6</sup> cellen/ml
Mucus <sup>2</sup>	1,5% V/V
Zaadvocht	5% V/V
Anticonceptieschuim	5% W/V
Anticonceptielaag	5% W/V
Tioconazole <sup>3</sup>	1% W/V
Douche	5% W/V
Progesteron	5% W/V
Estradiol	5% W/V
Acyclovir	5% W/V
Metronidazol	5% W/V
Aambeienzalf	5% W/V
Vaginale vochtinbrengende gel <sup>4</sup>	0,4% W/V
Glijmiddel	5% V/V
Spermicide	5% W/V
Schimmeldodend middel	5% W/V
Deodorant/Spray	5% W/V
IJsazijn	5% V/V
Vagisil crème	5% W/V

W/V = weight by volume (gewicht per volume); V/V = volume by volume (volume per volume).

<sup>1</sup> Uiteindelijke concentratie vertegenwoordigt eindconcentratie in het monster bij tests op het Panther-instrument.

<sup>2</sup> Er werd interferentie waargenomen bij mucus bij  $\geq 2\%$  V/V en deze werd niet waargenomen bij 1,5% V/V.

<sup>3</sup> Er werd interferentie waargenomen bij Tioconazol 6,5% zalf bij 5% V/V en deze werd niet waargenomen bij 1% V/V.

<sup>4</sup> Er werd interferentie waargenomen bij vaginale vochtinbrengende gel bij  $\geq 0,5\%$  V/V en deze werd niet waargenomen bij 0,4% V/V.

## Intralaboratoriumprecisie

Intralaboratoriumprecisie werd beoordeeld op drie Panther-systemen binnen één locatie. Drie gebruikers hebben tests uitgevoerd over 21 dagen en drie reagensslotnummers. Elke gebruiker voerde per dag twee runs uit met behulp van 11 panels. Elke run bestond uit drie replica's van elke panel.

De panels werden gemaakt met behulp van SVSM negatief voor *Lactobacillus* soorten, *G. vaginalis* en *A. vaginae*. Tien panels bevatten cellysaten van minstens 1 van de volgende organismen: *L. crispatus*, *L. jensenii*, *G. vaginalis* of *A. vaginae*; verschillende bacteriële combinaties werden bereid om de variëteit van gerichte BV organismecombinaties aanwezig in vaginale monsters te vertegenwoordigen. Tien panels gericht op BV negatief (<5% BV positief), BV hoog negatief (20-80% BV positief), BV laag positief (≥95% BV positief) en BV gemiddeld positief (100% BV positief) resultaten. Eén negatief panel bevatte matrix zonder toegevoegde targets.

BV percentage positieve resultaten voor elke panel staan in Tabel 14. Signaalvariabiliteit (TTime) van de Aptima BV Assay werd berekend voor elke target in analytspecifieke positieve panels. Variabiliteit, berekend tussen gebruikers, tussen instrumenten, tussen dagen, tussen partijen, tussen runs, binnen de run, en algemeen wordt getoond in tabel 15 t/m tabel 17.

Tabel 14: BV positiviteit van precisiepanels

Panel Beschrijving	BV positief/ Totaal n	Verwachte BV Positiviteit	BV positiviteit (95% BI)
SVSM	0/168	0%	0 (0,0-1,6)
<i>L. crispatus</i> , <i>A. vaginae</i> BV negatief	0/168	<5%	0 (0,0-1,6)
<i>L. crispatus</i> , <i>G. vaginalis</i> BV hoog negatief	76/168	20-80%	45,2 (37,9-52,8)
<i>L. crispatus</i> , <i>G. vaginalis</i> , <i>A. vaginae</i> BV hoog negatief	131/165 <sup>1</sup>	20-80%	79,4 (72,6-84,9)
<i>G. vaginalis</i> BV laag positief	168/168	≥95%	100 (98,4-100,0)
<i>A. vaginae</i> BV laag positief	168/168	≥95%	100 (98,4-100,0)
<i>L. jensenii</i> , <i>A. vaginae</i> BV laag positief	168/168	≥95%	100 (98,4-100,0)
<i>G. vaginalis</i> , <i>A. vaginae</i> BV laag positief	168/168	≥95%	100 (98,4-100,0)
<i>L. crispatus</i> , <i>G. vaginalis</i> , <i>A. vaginae</i> BV laag positief	168/168	≥95%	100 (98,4-100,0)
<i>G. vaginalis</i> BV gemiddeld positief	168/168	100%	100 (98,4-100,0)
<i>A. vaginae</i> BV gemiddeld positief	168/168	100%	100 (98,4-100,0)

<sup>1</sup> Er werden drie ongeldige resultaten uitgesloten van de analyse.

Tabel 15: Signaalvariabiliteit van *Lactobacillus* panels.

Panel Beschrijving	N	Hoofd TTime <sup>1</sup>	Tussen gebruikers		Tussen instrumenten		Tussen dagen		Tussen lotnummers		Tussen runs		In run		Totaal	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
<i>L. crispatus</i> BV negatief <sup>2</sup>	168	19,87	0,10	0,49	0,16	0,80	0,14	0,71	1,03	5,18	0,17	0,09	0,18	0,93	1,08	5,46
<i>L. crispatus</i> BV hoog negatief <sup>2</sup>	168	23,95	0,11	0,47	0,12	0,52	0,19	0,79	1,22	5,11	0,18	0,77	0,28	1,15	1,29	5,40
<i>L. crispatus</i> BV hoog negatief <sup>3</sup>	165 <sup>4</sup>	22,40	0,09	0,40	0,17	0,74	0,20	0,87	1,22	5,47	0,09	0,39	0,27	1,21	1,29	5,74
<i>L. jensenii</i> BV laag positief <sup>2</sup>	168	24,80	0,10	0,38	0,14	0,57	0,14	0,57	1,33	5,35	0,17	0,69	0,25	1,01	1,38	5,56
<i>L. crispatus</i> BV laag positief <sup>3</sup>	168	23,51	0,15	0,63	0,09	0,40	0,17	0,73	1,36	5,77	0,10	0,44	0,31	1,31	1,42	6,02

CV = variatiecoëfficiënt.

<sup>1</sup> TTime wordt uitsluitend voor *Lactobacillus* getoond.

<sup>2</sup> Panel bevat 2 verschillende organismen; resultaten worden uitsluitend getoond voor het *Lactobacillus* component.

<sup>3</sup> Panel bevat 3 verschillende organismen; resultaten worden uitsluitend getoond voor het *Lactobacillus* component.

<sup>4</sup> Er werden drie ongeldige resultaten uitgesloten van de analyse.

Opmerking: Variabiliteit van een aantal factoren kunnen numeriek negatief zijn. Dit kan gebeuren als de variatie als gevolg van deze factoren zeer klein is. Wanneer dat het geval is, worden SD en CV weergegeven als 0,00.



Tabel 16: Signaalvariabiliteit van *G. vaginalis* panels.

Beschrijving van panel	N	Hoofd TTime <sup>1</sup>	Tussen gebruikers		Tussen instrumenten		Tussen dagen		Tussen lotnummers		Tussen runs		Binnen run		Totaal	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
<i>G. vaginalis</i> BV hoog negatief <sup>2</sup>	168	17,11	0,00	0,00	0,18	1,08	0,17	0,99	0,47	2,75	0,17	0,96	0,16	0,94	0,58	3,39
<i>G. vaginalis</i> BV hoog negatief <sup>3</sup>	165 <sup>4</sup>	15,71	0,00	0,00	0,19	1,19	0,18	1,12	0,48	3,05	0,11	0,72	0,12	0,79	0,57	3,62
<i>G. vaginalis</i> BV laag positief	168	15,80	0,00	0,00	0,16	1,00	0,14	0,89	0,43	2,70	0,15	0,97	0,15	0,92	0,52	3,30
<i>G. vaginalis</i> BV gemiddeld positief	168	14,46	0,00	0,00	0,17	1,18	0,05	0,35	0,38	2,63	0,16	1,09	0,18	1,25	0,48	3,35
<i>G. vaginalis</i> BV laag positief <sup>2</sup>	168	15,01	0,00	0,00	0,14	0,93	0,14	0,91	0,40	2,67	0,16	1,08	0,13	0,86	0,49	3,28
<i>G. vaginalis</i> BV laag positief <sup>3</sup>	168	14,06	0,00	0,00	0,16	1,11	0,15	1,09	0,39	2,75	0,14	0,99	0,16	1,16	0,49	3,51

CV = variatiecoëfficiënt, Mod = matig.

<sup>1</sup> TTime wordt uitsluitend voor *G. vaginalis* getoond.

<sup>2</sup> Panel bevat 2 verschillende organismen; resultaten worden uitsluitend getoond voor het *G. vaginalis* component.

<sup>3</sup> Panel bevat 3 verschillende organismen; resultaten worden uitsluitend getoond voor het *G. vaginalis* component.

<sup>4</sup> Er werden drie ongeldige resultaten uitgesloten van de analyse.

Opmerking: Variabiliteit van een aantal factoren kunnen numeriek negatief zijn. Dit kan gebeuren als de variatie als gevolg van deze factoren zeer klein is. Wanneer dat het geval is, worden SD en CV weergegeven als 0,00.

Tabel 17: Signaalvariabiliteit van *A. vaginae* panels.

Beschrijving van panel	N	Hoofd TTime <sup>1</sup>	Tussen gebruikers		Tussen instrumenten		Tussen dagen		Tussen lotnummers		Tussen runs		Binnen run		Totaal	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
<i>A. vaginae</i> BV negatief <sup>2</sup>	168	18,20	0,02	0,11	0,25	1,36	0,15	0,84	0,5 8	3,17	0,19	1,02	0,19	1,05	0,70	3,84
<i>A. vaginae</i> BV hoog negatief <sup>3</sup>	165 <sup>4</sup>	16,56	0,00	0,00	0,25	1,53	0,18	1,11	0,5 6	3,38	0,13	0,79	0,12	0,70	0,67	4,02
<i>A. vaginae</i> BV laag positief	168	15,11	0,00	0,00	0,19	1,25	0,15	0,97	0,5 1	3,40	0,12	0,82	0,12	0,78	0,59	3,92
<i>A. vaginae</i> BV laag positief <sup>2</sup>	168	15,13	0,00	0,00	0,20	1,30	0,12	0,80	0,5 1	3,34	0,14	0,89	0,16	1,07	0,59	3,92
<i>A. vaginae</i> BV gemiddeld positief	168	14,13	0,08	0,54	0,21	1,50	0,17	1,21	0,5 1	3,63	0,08	0,57	0,20	1,40	0,62	4,41
<i>A. vaginae</i> BV laag positief <sup>2</sup>	168	15,78	0,03	0,16	0,17	1,09	0,10	0,65	0,5 0	3,17	0,16	1,00	0,12	0,75	0,57	3,64
<i>A. vaginae</i> BV laag positief <sup>3</sup>	168	15,61	0,00	0,00	0,23	1,47	0,15	0,94	0,5 1	3,29	0,10	0,66	0,18	1,15	0,62	3,95

CV = variatiecoëfficiënt, Mod = matig.

<sup>1</sup> TTime wordt uitsluitend voor *A. vaginae* getoond.

<sup>2</sup> Panel bevat 2 verschillende organismen; resultaten worden uitsluitend getoond voor het *A. vaginae* component.

<sup>3</sup> Panel bevat 3 verschillende organismen; resultaten worden uitsluitend getoond voor het *A. vaginae* component.

<sup>4</sup> Er werden drie ongeldige resultaten uitgesloten van de analyse.

Opmerking: Variabiliteit van een aantal factoren kunnen numeriek negatief zijn. Dit kan gebeuren als de variatie als gevolg van deze factoren zeer klein is. Wanneer dat het geval is, worden SD en CV weergegeven als 0,00.

## Literatuur

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

## Contactgegevens en versiegeschiedenis



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



Australian Sponsor Address:  
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd  
Macquarie Park NSW 2113



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

Voor landspecifieke e-mailadressen en telefoonnummers van de technische ondersteuning en klantenservice, gaat u naar [www.hologic.com/support](http://www.hologic.com/support).

Ernstige incidenten gerelateerd aan het hulpmiddel binnen de Europese Unie dienen te worden gemeld bij de fabrikant en de bevoegde autoriteit van de lidstaat waarin de gebruiker en/of de patiënt woonachtig is.

Hologic, Aptima, TMA, Panther en bijbehorende logo's zijn handelsmerken en/of gedeponeerde handelsmerken van Hologic, Inc. en/of haar dochterondernemingen in de Verenigde Staten en/of andere landen.

Alle andere handelsmerken, gedeponeerde handelsmerken en productnamen in deze bijsluiters zijn eigendom van hun respectieve eigenaars.

Dit product is mogelijk beschermd door een of meer Amerikaanse octrooien vermeld op [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

©2022 Hologic, Inc. Alle rechten voorbehouden.

AW-23712-1501 Herz. 001  
2022-08

Versiegeschiedenis	Datum	Beschrijving
AW-23712 Herz. 001	Augustus 2022	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gebruiksaanwijzing voor de Aptima assay voor bacteriële vaginose (BV) AW-23712 Herz. 001 gemaakt op basis van AW-18811 Herz. 003 om te voldoen aan de regelgeving voor IVDR.</li> <li>• Bijgewerkte gevareninformatie.</li> <li>• Contactgegevens bijgewerkt, waaronder: EG-vertegenwoordiger, CE-markering, informatie inzake de Australische vertegenwoordiger en de technische ondersteuning.</li> <li>• Diverse aanpassingen aan stijl en opmaak.</li> </ul>