

## Revisions

SO 0191-5

Rev from	Rev to	ECO #
2010/05	2010/08	5479-10

**Notes:**


1. BD Cat. Number 446252, 446257
2. Blank (Sheet) Size: Length: 8.50"    Width: 11.0"  
 Number of Pages: 44    Number of Sheets: 11  
 Page Size: Length 8.50"    Width 5.50"    Final Folded Size: 8.50" x 5.50".
3. Style (see illustrations below): # 5



4. See Specification Control Number BALT670160JAA for Material Information
5. Ink Colors: Printed two sides  Yes     No  
 No. of Colors: 1                      PMS# Black
6. Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level

Label Design	Date	<small>COMPANY CONFIDENTIAL. THIS DOCUMENT IS THE PROPERTY OF BECTON, DICKINSON AND COMPANY AND IS NOT TO BE USED OUTSIDE THE COMPANY WITHOUT WRITTEN PERMISSION</small>	<b>Becton, Dickinson and Company</b> 7 Loveton Circle Sparks, MD 21152 USA	
Proofer	Date			
Checked By	Date			
Part Number: 670160JAA		Category and Description Package Insert, Affirm VP111	Sheet: 1 of 45 <hr/> Scale:    N/A	<b>A</b>

# **BD Affirm™ VPIII** **Microbial Identification Test**

 670160JAA  
2010/08

English: pages 1 – 8      Italiano: pagine 25 – 32  
Français : pages 9 – 16      Español: páginas 33 – 40  
Deutsch: Seiten 17 – 24

Pokyny vám poskytnú miestni zástupce spoločnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőtől. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o seu representante local da BD para obter instruções. / Instruccie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Kontakta lokal Becton Dickinson-representant för anvisningar. / Свържете се с местния представител на BD за инструкции. / Contactați reprezentantul dumneavoastră local BD pentru instrucțiuni. / Talimatlar için yerel BD temsilcilerinize danışın. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Для получения инструкций свяжитесь с местным представителем компании BD. / Өзініздің жергілікті BD өкіліне жүгініп нұсқау алыңыз. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute.

## INTENDED USE

The **Affirm™ VPIII** Microbial Identification Test is a DNA probe test intended for use in the detection and identification of *Candida* species, *Gardnerella vaginalis* and *Trichomonas vaginalis* nucleic acid in vaginal fluid specimens from patients with symptoms of vaginitis/vaginosis.

## SUMMARY AND EXPLANATION

Vaginitis, one of the most common problems in clinical medicine, accounts for more than 10 million office visits each year.<sup>1</sup> The three main categories of vaginitis are bacterial vaginosis (BV), yeast vaginitis (candidiasis) and *T. vaginalis* vaginitis (trichomoniasis). BV is the most common vaginal infection, and accounts for 15 to 50% of vaginitis/vaginosis depending upon the patient population.<sup>2,3</sup> While *G. vaginalis* is no longer thought to be the only etiologic agent of BV, it is still considered to be one of the major bacteria contributing to the infection which involves an increase in anaerobic bacteria and reduction in the normal *Lactobacillus* flora. The complications of BV can be especially significant in pregnant women, resulting in increased risk of adverse pregnancy outcome,<sup>4,5</sup> including pre-term labor<sup>6</sup> and birth.<sup>7,8</sup> In addition, recent data suggest BV-associated bacteria in the endometrium may be etiologic agents of endometritis and pelvic inflammatory disease, independent of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infection.<sup>9</sup> BV is also a risk factor for the development of post-hysterectomy cuff cellulitis.<sup>10</sup> Vaginal candidiasis is the second most common form of vaginal infection seen in varied clinical settings.<sup>3</sup> Three quarters of all adult women will experience at least one episode of vaginal candidiasis during their lifetime, with 40 to 50% experiencing a second episode. Approximately 5% of the adult female population suffers from recurrent, often intractable yeast infection.<sup>3</sup> Trichomoniasis, a non-reportable sexually transmitted disease, has been estimated to affect 180 million annually worldwide.<sup>11</sup> In the United States, an estimated 3 million women contract trichomoniasis each year.<sup>12</sup> Pregnant women positive for *T. vaginalis* are more likely to have pre-term rupture of membranes,<sup>7</sup> as well as pre-term labor and birth.<sup>13</sup> *T. vaginalis* is a risk factor for the development of post-surgical gynecologic infections.<sup>14,15</sup> In addition, *T. vaginalis* is a risk factor for the development of post-hysterectomy cuff cellulitis.<sup>16</sup>

Laboratory methods for the identification of these organisms include microscopic evaluation, amine test, Gram stain, pH and culture.

## PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

The **Affirm VPIII** Microbial Identification Test is based on the principles of nucleic acid hybridization. In nucleic acid hybridization tests, complementary nucleic acid strands align to form specific, double-stranded complexes called hybrids.

The test uses two distinct single-stranded nucleic acid probes for each organism, a capture probe and a color development probe, that are complementary to unique genetic sequences of the target organisms. The capture probes are immobilized on a bead embedded in a Probe Analysis Card (PAC), which contains a separate bead for each target organism. The color development probes are contained in a multi-well Reagent Cassette (RC).

During sample preparation, the sample is treated with the Lysis Solution (L) and heated. This process ruptures the walls of the organism, releasing the nucleic acid analyte. A second solution, the Buffer Solution (B), is added. This solution stabilizes the nucleic acid and establishes the stringency conditions necessary for specific hybridization. At this point, the sample is added to the first well of the Reagent Cassette (RC) along with the PAC, and automated processing begins. The **BD MicroProbe™** Processor moves the PAC from one well of the Reagent Cassette (RC) to another. Hybridization occurs on the PAC beads in the first and second wells of the Reagent Cassette (RC). Hybridization of the analyte to the capture probe on the bead occurs in well 1, and the hybridization of the color development probes occurs in well 2. All unbound sample components and probes are washed away in well 3. Enzyme conjugate binds to the captured analyte in well 4. Unbound conjugate is washed away in wells 5 and 6. In well 7, the indicator substrate is converted to a blue-colored product if bound enzyme conjugate is present on the bead. The final step is reading the results of color development on each of the target organism beads and controls.

## REAGENTS

### Materials Provided

**Probe Analysis Cards (PAC) (24 or 120 tests):** Individually packaged cards, wrapped in an absorbent paper towel moistened with a solution containing sodium azide (0.1%, w/v) as a preservative. Each card contains the following five beads: Negative Control, *Trichomonas*, *Gardnerella*, *Candida*, and Positive Control.

**Reagent Cassettes (RC) (24 or 120 tests):** Reagents are sealed in multi-well, foil-covered cassettes. Each cassette has seven wells. From front to back the wells contain:

**Well No. 1** Patient Sample Reservoir, supplied empty

**Well No. 2** Hybridization Solution, 350 µL: Color development probe, Formamide, Buffered chaotropic solution

**Well No. 3** Wash Solution, 750 µL: Detergent, Buffer solution, Preservative (Proclin™)

**Well No. 4** Conjugate, 500 µL: Enzyme conjugate, Preservative (Proclin)

**Well No. 5** Wash Solution, 750 µL: Detergent, Buffer solution, Preservative (Proclin)

**Well No. 6** Wash Solution, 750 µL: Detergent, Buffer solution, Preservative (Proclin)

**Well No. 7** Substrate Buffer, 500 µL: Buffered peroxide solution

**Substrate Solution (S) (Red Cap, 3.4 mL for 24 tests; Bottle, 12 mL for 120 tests):** Individually packaged solution in foil pouch; Indicator substrate, Stabilizing agent, Alcohol.

**Lysis Solution (L) (Blue Cap, 10.8 mL for 24 tests; Bottle, 48 mL for 120 tests):** Detergent, Buffer solution, Preservative (Proclin).

**Buffer Solution (B) (Green Cap, 15 mL for 24 tests; Bottle, 72 mL for 120 tests):** Buffered chaotropic solution, Formamide.

**Filter Tips (FT) (24 or 120 tests)**

**Sample Collection Caps (SCC) (24 tests)\***

**Sample Collection Tubes (SCT) (24 tests)\***

**Individually wrapped, pre-scored, sterile swabs (24 tests)\***

**\*Not included with 120 test kit.**

#### **Materials Required But Not Provided**

Available from BD:

- **Affirm** VPIII Ambient Temperature Transport System
- **Affirm** VPIII Sample Collection Sets
- **BD MicroProbe** Processor
- **BD MicroProbe** Lysis Block
- Thermometer
- Suitable Pipette for dispensing 120 test Lysis Solution and Buffer Solution

#### **Warnings and Precautions**

For *in vitro* Diagnostic Use.

Read all instructions carefully before use.

For specimen collection, use only the **Affirm** VPIII Ambient Temperature Transport System, the **Affirm** VPIII Sample Collection Set or the swabs provided in the **Affirm** VPIII Microbial Identification Test Kit. Use only vaginal fluid specimens from patients with symptoms of vaginitis/vaginosis. With each test run, monitor the temperature of Lysis Block,  $85 \pm 5^\circ\text{C}$  and verify that the testing environment temperature is between  $22$  and  $28^\circ\text{C}$ .

Substrate Solution (S): Substance contains alcohol and is combustible. Keep away from heat, sparks and flame. Keep container tightly closed to prevent evaporation.

Paper Towel surrounding PAC: Towel is moistened with sodium azide (0.1%, w/v). Sodium azide is very toxic by inhalation, in contact with skin and if swallowed. Contact with acids liberates very toxic gas. After contact with skin, wash immediately with plenty of water. Reagents contain ingredients that could be irritating or caustic if allowed to come in contact with skin, eyes or mucous membranes. Wear gloves, safety glasses and lab coat, and use standard laboratory precautions when handling. If swallowed, call a physician. In case of skin or eye contact, flush with copious amounts of water.

**Pathogenic microorganisms including hepatitis viruses and Human Immunodeficiency Virus, may be present in clinical specimens. "Standard Precautions"<sup>17-20</sup> and institutional guidelines should be followed in handling all items contaminated with blood and other body fluids.**

Proper handling and disposal methods should be established. Wipe up spillage of patient specimens immediately and disinfect with an appropriate disinfectant. Treat the cleaning materials as biohazardous waste.

The sterile swab should not be used if the packaging is open or damaged. Avoid touching the beads. Avoid contaminating tips of dropper bottles. Do not use a reagent after its expiration date.

The swab is for single use only; reuse may cause a risk of infection and/or inaccurate results.

#### **Preparation of Reagents**

All reagents are supplied ready for use.

#### **Storage of Reagents**

The **Affirm** VPIII test kit is stable until the expiration date indicated on the kit box when stored at  $2$  to  $8^\circ\text{C}$ . Alternatively, store at room temperature (up to  $30^\circ\text{C}$ ) no more than 3 months. All reagents and PACs must be at  $22$  to  $28^\circ\text{C}$  prior to use. For convenience, store all reagents at room temperature once opened. If refrigerated, allow to sit at room temperature a minimum of 30 min prior to use.

NOTE: The Buffer Solution (B) precipitates under refrigeration. Allow the solution to come to room temperature for at least 30 min and then agitate the bottle for 10 to 15 s until any precipitate is dissolved.

## Indications of Instability

Indications of possible reagent deterioration noted at the end of testing are: a positive control that is NOT blue, a negative control that is NOT colorless.

## SPECIMEN COLLECTION AND TRANSPORTATION

### Specimen Collection

Specimen collection is a critical step. Personnel collecting vaginal fluid specimens should be well-trained to minimize the possibility of inadequate specimens. For specimen collection, use only the **Affirm** VP8 Ambient Temperature Transport System, the **Affirm** VP8 Sample Collection Set or the swabs provided in the **Affirm** VP8 Microbial Identification Test Kit. **Separate swabs should be used for other tests, e.g. culture or microscopic slide samples.**

### Vaginal Sample Collection

1. Label the Sample Collection Tube (SCT) with the patient identification information. Include the time the sample was collected.
2. Place the patient in position for a pelvic examination. Insert a speculum into the vagina to permit visualization of the posterior vaginal fornix.\*
3. Using the sterile swab, obtain a sample from the posterior vaginal fornix. Twist or roll the swab against the vaginal wall two or three times, ensuring the entire circumference of the swab has touched the vaginal wall. Swab the lateral vaginal wall while removing the swab.
4. Immediately place the swab into the Sample Collection Tube (SCT).
5. With the swab touching the **BOTTOM** of the collection tube, grasp the pre-scored handle of the swab just above the top of the tube and bend until the swab breaks. When the swab is fully inserted into the collection tube, the score mark on the swab is approximately 1 cm above the top of the collection tube. Discard the broken handle into an infectious waste container.
6. Place the cap over the exposed end of the swab and firmly press the cap onto the tube. The cap will “snap” onto the tube when it is properly seated.

\*During clinical trials, sites were provided with instructions to use an unlubricated speculum. Refer to the section on “Interfering Substances.”

### Specimen Storage and Transportation

When using the **Affirm** VP8 Ambient Temperature Transport System (ATTS): The total time between sample collection and proceeding with sample preparation should be no longer than 72 h when the specimen is stored at ambient conditions (15 to 30°C). The system has also been qualified for transport use at refrigerated conditions (2 to 8°C).

When using either the **Affirm** VP8 Sample Collection Set or the swabs contained in the **Affirm** VP8 Microbial Identification Test Kit: The total time between placing the swab into the sample collection tube and proceeding with the sample preparation should be no longer than 1 h if the sample is stored at room temperature, or 4 h if the sample is stored at 2 to 8°C.

## PROCEDURE

Read all instructions carefully before proceeding.

### Sample Preparation

Refer to Procedural Chart Illustrations that came with the **BD MicroProbe Processor**

1. Verify that the **BD MicroProbe** Lysis Block is at  $85 \pm 5^\circ\text{C}$ , and that reagents are at  $22 - 28^\circ\text{C}$  and well mixed.
2. Uncap the sample collection tube (SCT), making sure the swab shaft is firmly seated in the cap. Add 12 drops or Pipette 0.4 mL of Lysis Solution (L) to the tube. Hold the dropper bottle vertically when adding drops.
3. Mix the swab in the tube by vigorously swirling and moving the swab up and down against the side of the tube for at least 10 s, or vortex tube for 2 – 4 s.
4. Place the swab with cap back into the tube and recap to prevent evaporation.
5. Insert the tube into a well of the Lysis Block to heat.
6. Incubate the tube in the Lysis Block for 10 min (at least 10 min, but not longer than 20 min). Use a timer for this step.
7. Remove the tube from the Lysis Block.
8. Add 12 drops or Pipette 0.6 mL of well-mixed Buffer Solution (B) to the tube containing the swab. Avoid touching the tip of the bottle to the tube.
9. Replace the cap tightly on the tube and mix by flicking the tube briskly 10 times, or vortex tube for 2 – 4 s.
10. To proceed with automated processing of the prepared sample, remove as much fluid as possible from the swab by lifting the swab above the fluid level and pressing the swab firmly against the side of the tube for at least 10 s. Dispose of swabs in a biohazard container. Press a Filter Tip (FT) firmly onto each Sample Collection Tube (SCT).

NOTE: Prepared specimens may be stored at room temperature for up to 24 h.

### Automated Processing

Note: Before proceeding, ensure that all reagents are at  $22 - 28^\circ\text{C}$ . With each test run, verify that the testing environment is between  $22$  and  $28^\circ\text{C}$ .

Refer to Procedural Chart Illustrations that came with the **BD MicroProbe Processor**

1. If the **Affirm** VP8 Microbial Identification Test Program Card is not already in the **BD MicroProbe Processor**, insert the Program Card, printed side up, arrow pointing towards the instrument, into the slot located on the front right side of the instrument. **Make sure that the Processor is off when inserting the program card. There are no lights on the control panel if the Processor is off.**

2. **Turn on the Processor.** The Processor arm will move to “home” during this initial step. As you move through the procedure, follow the prompts on the Processor Display. If additional help is needed, press the [HELP] key.
3. Remove the Cassette Caddy from the Processor. It is easier to add the samples with the Caddy off the Processor.
4. Select one Reagent Cassette (RC) for each sample to be tested, label with patient/sample identification on the front end of the Reagent Cassette (RC) using a permanent-marking pen. Carefully pull the foil covering off of the Cassette, lifting from the end WITHOUT the upward bent flap. Place the Reagent Cassettes (RC) on the Cassette Caddy, loading from the center to the sides and balance the number of cassettes on each side of the arm as evenly as possible.
5. Open pouch containing the PAC, remove PAC slightly from pouch, and label with patient/sample identification on the PAC in the space provided.
6. Press the [RUN] key. You will be prompted to “Add Substrate.” Add 4 drops (0.1 mL) of Substrate Solution (S) to well #7 of the Reagent Cassette (RC). Close the bottle cap to avoid evaporation.
7. Press the [RUN] key. You will be prompted to “Add Sample.” Match up each Sample Collection Tube (SCT)/Filter Tip (FT) with the corresponding labeled Reagent Cassette (RC). Invert the Sample Collection Tube (SCT) and firmly squeeze the entire contents of each tube through the Filter Tip (FT) into reservoir of well #1 of the appropriate Reagent Cassette (RC). Dispose of patient sample tube in a biohazard container. Foam at the filter tip is a good indication that the entire sample has been delivered.
8. Press the [RUN] key. You will be prompted to “Place PAC.” Place a labeled PAC into Well 1 of each corresponding labeled Reagent Cassette (RC). Avoid touching beads.
9. Press the [RUN] key. You will be prompted to “Place Caddy.” Carefully replace the Cassette Caddy on the Processor, taking care not to splash reagents. Assume that the Caddy is securely seated on all four locator pins.
10. Press the [RUN] key again. The arm of the Processor will start forward. The Processor will automatically pick up and move the PACs through the test procedure. The instrument will begin the processing time sequence and will indicate “Please wait. Processing 32:50” with minutes remaining on the timer indicated. At the end of the processing time, the instrument will beep and present the PAC for removal.
11. Remove the PAC, and gently blot dry with a paper towel. Interpret the results for each specimen as soon as possible after completion of the test. The PAC should be viewed against a white background, under normal intensity lighting.

**Note: Remove PACs from the Processor before pressing the [RUN] key to start a second run.**

#### QUALITY CONTROL

The **Affirm** VP8 Microbial Identification Test includes two internal controls on each PAC: a Positive Control bead and a Negative Control bead. These control beads are tested simultaneously with each patient specimen, ensuring the proper performance of PAC, Reagent Cassette (RC) and Processor. The Positive Control also ensures the absence of specimen interference. The Negative Control also ensures the absence of non-specific binding from the specimen.

In a properly functioning test, the Positive Control bead will be blue and the Negative Control bead remains colorless (i.e., absence of blue color) after processing. If the Positive Control does not turn blue, and/or the Negative Control does not stay colorless, the test results are invalid and patient results should not be reported.

Each reagent lot must be tested for adequate sample lysis and release of target nucleic acid using a swab streak of fresh indicator culture (18 – 24 h growth) or commercially prepared swab of *Candida albicans* (ATCC™ 18804, 14053, 10231 or 60193). Since *Trichomonas vaginalis* and *Gardnerella vaginalis* lyse more readily than *Candida* species, it is only necessary to test *Candida* species to assure adequate sample lysis. The adequacy of the sample lysis process is confirmed if testing of *Candida albicans* results in a blue *Candida* bead, a colorless *Gardnerella* bead, a colorless *Trichomonas* bead and acceptable results for the internal controls (i.e., blue Positive Control bead and colorless Negative Control bead).

To further verify test performance, quality control testing with *C. albicans* (ATCC 10231), *T. vaginalis* (ATCC 30001) and *G. vaginalis* (ATCC 14018) may be conducted using fresh indicator cultures (18-24 h growth) or commercially prepared swabs.

If quality control (QC) testing with all three organisms, ensure that the results for the internal controls are both acceptable (i.e., blue Positive Control bead and colorless Negative Control bead) and interpret results as follows:

1. If all three organism beads turn blue, all patient results can be reported.
2. If the *Candida* bead does not turn blue, the entire QC run is invalid. The QC failure must be investigated and no patient results can be reported. Contact Technical Services for assistance.
3. If the *Candida* and *Gardnerella* beads turn blue, but the *Trichomonas* bead does not, the QC run is valid for *Candida* and *Gardnerella*. Patient results may be reported for *Candida* and *Gardnerella* only. The QC failure must be investigated. Contact Technical Services for assistance.
4. If the *Candida* and *Trichomonas* beads turn blue, but the *Gardnerella* bead does not, the QC run is valid for *Candida* and *Trichomonas*. Patient results may be reported for *Candida* and *Trichomonas* only. The QC failure must be investigated. Contact Technical Services for assistance.

Quality control requirements must be performed in accordance with applicable local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory’s standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to pertinent CLSI (previously NCCLS) guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

#### INTERPRETATION OF RESULTS

Results are determined by the presence or absence of color on the test bead. The presence of any visible blue color on the target organism bead, when viewed against a white background, is a positive result. The absence of any visible blue color on the target organism bead is a negative result.

A positive result for *Candida*, *Gardnerella* and/or *Trichomonas* means nucleic acid for *Candida* species (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*), *G. vaginalis* and/or *T. vaginalis*, respectively, is present in the sample and indicates the patient has candidiasis, bacterial vaginosis, and/or trichomoniasis when consistent with clinical signs and symptoms. Simultaneous infections by more than one organism are common.

Negative results for *Candida*, *Gardnerella* or *Trichomonas* tests suggest the patient does not have candidiasis, bacterial vaginosis and/or trichomoniasis, respectively, when consistent with clinical signs and symptoms.

#### LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

The assay is intended to be used with the **Affirm** VPIII Ambient Temperature Transport System, the **Affirm** VPIII Sample Collection Set, or the swabs provided in the **Affirm** VPIII Microbial Identification Kit. Other methods of collection have not been evaluated. Optimal test results require appropriate specimen collection. Test results may be affected by improper specimen collection, handling and/or storage conditions. A negative test result does not exclude the possibility of vaginitis/vaginosis.

When using the **Affirm** VPIII Ambient Temperature Transport System, specimens held longer than 72 h at ambient (15 to 30°C) or refrigerated (2 to 8°C) conditions may cause false results. When using the **Affirm** VPIII Sample Collection Kit or the swabs provided in the **Affirm** VPIII Microbial Identification Kit, specimens held longer than 1 h at room temperature or 4 h at 2 to 8°C prior to preparation may cause false results. Prepared specimens held longer than 24 h at room temperature prior to processing may give inaccurate results.

When performing this test, the temperature of the testing environment must be 22 to 28°C.

A negative result for *Candida*, *Gardnerella* and/or *Trichomonas* indicates nucleic acid from less than  $1 \times 10^4$  *Candida* cells,  $2 \times 10^5$  CFU of *G. vaginalis* or  $5 \times 10^3$  trichomonads, respectively, may be present in the patient sample.

The **Affirm** VPIII Microbial Identification Test detects the presence of *G. vaginalis* at concentrations of greater than  $2 \times 10^5$  CFU per patient sample. The diagnostic value of this level of detection is not definitive.

The presence of *G. vaginalis*, although suggestive, is not diagnostic for bacterial vaginosis. As in many clinical situations, diagnosis should not be based on the results of a single laboratory test. Results should be interpreted in conjunction with other clinical and laboratory data available to the clinician such as pH, amine odor, clue cells and vaginal discharge characteristics.

Women with vaginal discharge should be evaluated for risk factors of cervicitis and pelvic inflammatory disease, and if present, evaluated for other organisms, including *N. gonorrhoeae* and *C. trachomatis*.

Vaginitis/Vaginosis is most frequently caused by *G. vaginalis*, *Candida* species, and *T. vaginalis*. Vaginitis symptoms may also be seen in toxic shock syndrome (caused by *Staphylococcus aureus*) or may be caused by non-specific factors or by specific organisms. Mixed infections may occur. Therefore, a test indicating the presence of *Candida* species, *G. vaginalis*, and/or *T. vaginalis*, does not rule out the presence of other organisms, including *Mobiluncus mulieris*, *Mycoplasma hominis*, and/or *Prevotella bivia*.

*Cryptococcus neoformans* at concentrations greater than  $1 \times 10^8$  yeast/mL react with the **Affirm** VPIII Microbial Identification Test for *Candida* species. *C. neoformans* is only rarely encountered in the vagina.

*M. mulieris* at concentrations greater than  $4 \times 10^6$  bacteria/mL and *Bifidobacterium dentium* at concentrations greater than  $8 \times 10^5$  bacteria/mL may react non-specifically with the **Affirm** VPIII Microbial Identification Test for *G. vaginalis*. *B. dentium* is rarely encountered in the vagina.

The **Affirm** VPIII Microbial Identification Test method is for use with vaginal fluid specimens from patients with symptoms of vaginitis/vaginosis. Performance with other specimens or other patient populations has not been established.

The performance of this test on patient specimens collected during or immediately after antimicrobial therapy is unknown. The presence or absence of *Candida* species, *G. vaginalis* or *T. vaginalis* cannot be used as a test for therapeutic success or failure.

Adulteration of reagents or failure to follow instructions exactly as set forth in the directions for use may adversely affect performance as described in the labeling.

#### EXPECTED VALUES AND PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Independent investigators evaluated the **Affirm** VPIII Microbial Identification Test for *Candida* species, *G. vaginalis* and *T. vaginalis* in vaginal samples. Specimens were from women presenting with symptoms of vaginitis/vaginosis or from women considered at high risk for infection.<sup>21</sup>

The investigators recorded a diagnosis of bacterial vaginosis, candidiasis or trichomoniasis. A specimen was also collected and processed for analysis by the **Affirm** VPIII Microbial Identification Test. In addition, the investigators collected specimens that were sent to the laboratory for culture isolation and identification and for preparation of a smear for analysis by Gram stain.

##### **Candida species**

The sensitivity and specificity of the **Affirm** VPIII Microbial Identification Test for *Candida* species were established by comparison to conventional microscopy methods and to culture. The performance of the **Affirm** VPIII Test for *Candida* species and microscopy was evaluated in 479 women who presented with clinical signs and symptoms of yeast vaginitis and in 261 high-risk women who were evaluated for some other reason, including pregnancy (n=186), family planning, or because they are contacts of STD-positive patients. This represents a total of 740 patients tested. A clinically significant level of yeast culture isolation ( $>10^4$  CFU per mL vaginal fluid) was used as the comparative method since this level has been shown, in the literature, to be associated with yeast vaginitis. Approximately 15% of patients samples tested were positive for yeast by the **Affirm** VPIII test and by culture isolation at a clinically significant level.

In cases of apparent false positive results where the **Affirm** VPIII was positive and the comparative result was negative, alternate methods were used to confirm the **Affirm** VPIII result. The reconciled sensitivity/specificity for patients with an initial vaginal complaint (n=479) and for all patients (n=740) was 82%/98.4% and 81%/98.2% respectively. The **Affirm** VPIII test is more sensitive than either wet mount or Gram stain identification of yeast as compared to clinically significant culture. See Table 1.

The unreconciled sensitivity/specificity of the **Affirm** VPIII test compared to clinically significant culture for patients with an initial vaginal complaint (n=479) and for all patients (n=740) was 79%/95% and 78%/95.9% respectively. See Table 1.

##### **Gardnerella vaginalis**

The sensitivity and specificity of the **Affirm** VPIII Microbial Identification Test for *G. vaginalis* was established by comparison to a conventional microscopy method and to culture in 299 patients. The **Affirm** VPIII test was compared to clinically significant levels of *G. vaginalis*, identified as  $>10^5$  CFU per mL of vaginal fluid.<sup>13</sup> Of the 299 patients evaluated for BV, 51% (152) were positive based on scored Gram stain and 56% (168) were positive based on clinically significant cultures.

In cases of apparent false positive results where the **Affirm** VP8II was positive and the comparative result was negative, alternate methods were used to confirm the **Affirm** VP8II result. The reconciled sensitivity/specificity of the **Affirm** VP8II test as compared to clinically significant culture levels and Gram stain morphology for patients with clinical BV by 3 of 4 Amstel Criteria (n=129) was 98%/100% and 95%/100% respectively. The reconciled sensitivity/specificity of the **Affirm** VP8II test as compared to clinically significant culture levels and scored Gram stain for all patients (n=299) was 89%/99% and 84%/100% respectively. When evaluated in all women, the **Affirm** VP8II test was both sensitive and specific as compared to the identification of *G. vaginalis* by either Gram stain morphology or by clinically significant culture levels. See Table 1.

The unreconciled sensitivity/specificity of the **Affirm** VP8II test as compared to clinically significant culture and Gram stain for patients with clinical BV by 3 of 4 Amstel Criteria (n= 129) was 98%/41% and 95%/83% respectively. The unreconciled sensitivity/specificity of the **Affirm** VP8II as compared to clinically significant culture and Gram stain for all patients (n=299) was 88%/82% and 84%/96% respectively. See Table 1.

#### **Trichomonas vaginalis**

The sensitivity/specificity of the **Affirm** VP8II Microbial Identification Test for *T. vaginalis* were established by comparison to conventional microscopy method and to culture in all 852 patients. Of the 852 patients evaluated 11% (98) were positive based on wet mount and 13% (111) were positive based on clinically significant culture.

In cases of apparent false positive results where the **Affirm** VP8II was positive and the comparative result was negative, alternate methods were used to confirm the **Affirm** VP8II result. The reconciled sensitivity/specificity of the **Affirm** VP8II Microbial Identification Test for *T. vaginalis* as compared to wet mount and clinically significant culture was 93%/99.9% and 90%/99.9% respectively. In this clinical evaluation, the **Affirm** VP8II Microbial Identification Test was comparable in sensitivity to 5 to 7 day culture isolation of *T. vaginalis*. See Table 1.

The unreconciled sensitivity/specificity of the **Affirm** VP8II test as compared to wet mount and clinically significant culture (5 – 7 days) for all patients was 92%/98% and 89%/99% respectively. See Table 1.

#### **Mixed Infections and BV**

The data in a subset of 289 patients in this clinical study was collected by having the attending clinician provide diagnoses of bacterial vaginosis, candidiasis and trichomoniasis based on vaginal discharge, pH, amine odor and wet mount results. The overall ability of the attending physician to report a diagnosis of BV using 3 of 4 clinical signs and symptoms was 75% (89/118). In women who had no other cause for their vaginal symptoms except BV, the physician's ability was 82% (79/96). However, in patients who had mixed infections, i.e., candidiasis or trichomoniasis in addition to BV, the sensitivity of the attending physician to diagnose BV was 45% (10/22). Attending clinicians had greater difficulty in diagnosing BV in the presence of mixed infections, where the sensitivity of their initial diagnosis was 45%, as compared to single infections, where the sensitivity of their initial diagnosis was 82%. The diagnosis of BV was under-reported in patients with mixed infections.

#### **Non-Clinical Results**

A total of 88 isolates representing 34 different genera of microorganisms identified by Isenberg et al.<sup>22</sup> as clinically relevant to the genitourinary tract were tested for specificity in the **Affirm** VP8II Microbial Identification Test.

<i>Acinetobacter</i> sp. (1)	<i>Corynebacterium</i> spp.(1)	<i>Listeria monocytogenes</i> (1)	<i>Porphyromonas</i> sp. (1)
<i>Actinomyces</i> sp. (1)	<i>Cryptococcus neoformans</i> (1)	<i>Mobiluncus</i> spp. (3)	<i>Propionibacterium</i> sp. (1)
<i>Bacteroides</i> spp. (4)	<i>Entamoeba</i> sp. (1)	<i>Mycobacterium</i> sp. (1)	<i>Pseudomonas</i> sp. (1)
<i>Branhamella</i> sp. (1)	<i>Enterobacteriaceae</i> (5)	<i>Mycoplasma hominis</i> (1)	<i>Staphylococcus</i> spp. (3)
<i>Bifidobacterium</i> sp. (1)	<i>Enterococcus</i> sp. (1)	<i>Neisseria</i> spp. (2)	<i>Streptococcus</i> spp. (3)
<i>Campylobacter</i> sp. (1)	<i>Fusobacterium</i> sp. (1)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (1)	<i>Trichomonas vaginalis</i> (9)
<i>Candida</i> spp. (16)	<i>Gardnerella vaginalis</i> (10)	<i>Peptococcus</i> sp. (1)	<i>Ureaplasma urealyticum</i> (1)
<i>Chlamydia trachomatis</i> (2)	<i>Haemophilus ducreyi</i> (1)	<i>Peptostreptococcus</i> spp. (3)	<i>Veillonella</i> sp.(1)
<i>Clostridium</i> spp. (2)	<i>Lactobacillus</i> spp. (3)	<i>Prevotella</i> spp.(2)	

All of the organisms, except *Cryptococcus neoformans* and *Candida* species, were nonreactive in the **Affirm** VP8II Microbial Identification Test for *Candida* species at a concentration of 10<sup>8</sup> organisms/mL.

All of the organisms, except *M. mulieris*, *B. dentium* and *G. vaginalis* were nonreactive in the **Affirm** VP8II Microbial Identification Test for *G. vaginalis* at a concentration of 10<sup>8</sup> organisms/mL. *M. mulieris* was nonreactive at a concentration of 4 x 10<sup>6</sup> bacteria/mL, and *B. dentium* was non-reactive at 8 x 10<sup>5</sup> bacteria/mL. *B. dentium* is only very rarely recovered from the vagina.<sup>23</sup> Most *Bifidobacterium* sp. and strains of *B. dentium* are recovered from body sites other than the vagina or urogenital tract.

All of the organisms except *T. vaginalis* were nonreactive in the **Affirm** VP8II Microbial Identification Test for *T. vaginalis* at a concentration of 10<sup>8</sup> organisms/mL.

#### **Analytical Sensitivity**

The **Affirm** VP8II Microbial Identification Test for *Candida* species can detect 1 x 10<sup>4</sup> CFU of *Candida* species in log phase per assay, 2 x 10<sup>5</sup> CFU of *G. vaginalis* in log phase per assay and 5 x 10<sup>3</sup> trichomonads per assay.

#### **Interfering Substances**

In clinical studies, no evidence of interference was determined for vaginal lubricants, douches, menses or spermicides.

In analytical studies, there was no evidence of interference with water-based vaginal lubricants.

#### **Reproducibility**

The **Affirm** System was evaluated at three typical clinics by three different first time users (nurse practitioners) for reproducibility within and between runs. Each site evaluated 24 coded samples consisting of 12 positives and 12 negative samples. Four runs of six samples per run were performed at each site. Complete agreement of results was obtained on every sample by each of the three sites, demonstrating the reproducibility and ease-of-use of the **Affirm** System within and between runs, and between sites.

## AVAILABILITY

Cat. No.	Description
446252	<b>Affirm™</b> VPIII Microbial Identification Test, 24 tests
446257	<b>Affirm™</b> VPIII Microbial Identification Test, 120 tests
446251	<b>Affirm™</b> VPIII Bulk Sample Collection Swabs, 100 swabs
446250	<b>Affirm™</b> VPIII Sample Collection Sets, 24 sets
446255	<b>Affirm™</b> VPIII Ambient Temperature Transport System (72 h transport system), 100 systems
250100	<b>BD MicroProbe™</b> Processor (120 volt)
211918	<b>BD MicroProbe™</b> Processor, (220/240 volt)

## REFERENCES

1. Kent, HL. *Am J. Obstet Gynecol*; 165 (4 Pt 2):p1168-76;Oct 1991.
2. Vulvovaginitis. 1989. ACOG Technical Bulletin. American College of Obstetricians and Gynecologists
3. Sobel, JD. *Med Clin North Am*; 74 (6) p1573-602; Nov 1990.
4. Gravett MG, HP Nelson, T DeRouen, et al. 1986. *J Am Med Assoc* 256:1899-1903.
5. Faro S. 1991. *J Reprod Med* 34:602-604.
6. Gravett MG, D Hummel, DA Eschenbach, et al. 1986. *Obstet Gynecol* 67:229-237.
7. McGregor JA, JI French, K Seo. 1991. *Am J Obstet Gynecol* 165:867-875.
8. McGregor JA, JI French, R Richter, et al. 1990. *Am J Obst Gynecol* 163:1465-1473
9. Hillier SL, NB Kiviat, C. Critchlow, et al. Abstract presented at IDSOG, Aug. 6-8, 1992. San Diego, pg. 12.
10. Spiegel, CA, R Amse, and KK Holmes. 1983. *J Clin Micro* 18:170-177.
11. Krieger JN. 1981. *Invest Urog* 18:411-417.
12. Rein MF. 1990. *Trichomonas vaginalis*. In: Principles and Practice of Infectious Diseases, 3rd ed. Mandell GL, RG Douglas, Jr, and JE Bennett (eds). New York: Churchill Livingstone Inc., p.2115-2118.
13. Martius J, MA Krohn, SL Hillier, et al. 1988 *Obstet Gynecol* 71:89-95
14. Nugent, RP, MA Krohn and SL Hillier. 1991. *J Clin Microbiol.* 29:297-301.
15. Morton K, L Regan, S Sprige, and E Houang. 1990. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 37:231-236
16. Soper DE, RC Bump, and WG Hurt. 1990. *Am J Obstet Gynecol* 163:1016-23
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
18. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect. Control Hospital Epidemiol.* 17:53-80.
19. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
20. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). *Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.*
21. Data is on file at Becton, Dickinson and Company.
22. Isenberg, Henry D, and Richard F D'Amato. 1991. *Manual of Clinical Microbiology*, 5th ed, Ballows, Hausler, Herrman, Isenberg, Shadomy (ed), ASM, Washington, DC, p.8.
23. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2. PHA Sneath, NS Mair, ME Sharpe, JG Holt (eds), Baltimore, Williams and Wilkens. 1989. p. 1427.

**TABLE 1  
RECONCILED**

**Symptomatic Patients**

**Affirm VPIII**

**Wet Mount**

**Gram Stain**

ORGANISM	Ref Method	Sensitivity	Specificity	Accuracy	Sensitivity	Specificity	Accuracy	Sensitivity	Specificity	Accuracy
<i>Candida</i> sp.	Culture	82.3%	98.4%	95.2%	71.9%	92.2%	88.1%	45.6%	99.6%	90.3%
		79/96	377/383	456/479	69/96	353/383	422/479	26/57	271/272	297/329
<i>G. vaginalis</i>	Gram Stain	95.2%	100%	95.3%	—	—	—	—	—	—
		118/124	5/5	123/129	—	—	—	—	—	—
	Culture	98.3%	100%	98.4%	—	—	—	—	—	—
		118/120	9/9	127/129	—	—	—	—	—	—

**All Patients**

**Affirm VPIII**

**Wet Mount**

**Gram Stain**

ORGANISM	Ref Method	Sensitivity	Specificity	Accuracy	Sensitivity	Specificity	Accuracy	Sensitivity	Specificity	Accuracy
<i>Candida</i> sp.	Culture	80.6%	98.2%	95.3%	60%	94.0%	88.2%	44.4%	99.3%	92.1%
		100/124	605/616	705/740	74/124	579/616	653/740	28/63	418/421	446/484
<i>G. vaginalis</i>	Gram Stain	83.8%	100%	89.0%	—	—	—	—	—	—
		171/204	95/95	266/299	—	—	—	—	—	—
	Culture	89.0%	99.1%	92.6%	—	—	—	—	—	—
		170/191	107/108	277/299	—	—	—	—	—	—
<i>T. vaginalis</i>	Wet Mount	92.8%	99.9%	98.9%	—	—	—	—	—	—
		103/111	740/741	843/852	—	—	—	—	—	—
	5-7 Day Culture	89.6%	99.9%	98.5%	82.6%	99.6%	97.3%	—	—	—
		103/115	736/737	839/852	95/115	734/737	829/852	—	—	—

**UNRECONCILED**

**Symptomatic Patients**

**Affirm VPIII**

**Wet Mount**

**Gram Stain**

ORGANISM	Ref Method	Sensitivity	Specificity	Accuracy	Sensitivity	Specificity	Accuracy	Sensitivity	Specificity	Accuracy
<i>Candida</i> sp.	Culture	79.3%	95.0%	92.3%	67.1%	88.9%	85.2%	42.6%	98.5%	89.4%
		65/82	377/397	442/479	55/82	353/397	408/479	23/54	271/275	294/329
<i>G. vaginalis</i>	Gram Stain	95.1%	83.3%	94.6%	—	—	—	—	—	—
		117/123	5/6	122/129	—	—	—	—	—	—
	Culture	98.1%	40.9%	88.4%	—	—	—	—	—	—
		105/107	9/22	114/129	—	—	—	—	—	—

**All Patients**

**Affirm VPIII**

**Wet Mount**

**Gram Stain**

ORGANISM	Ref Method	Sensitivity	Specificity	Accuracy	Sensitivity	Specificity	Accuracy	Sensitivity	Specificity	Accuracy
<i>Candida</i> sp.	Culture	78.0%	95.9%	93.2%	54.1%	91.8%	86.2%	41.7%	98.6%	91.5%
		85/109	605/631	690/740	59/109	579/631	638/740	25/60	418/424	443/484
<i>G. vaginalis</i>	Gram Stain	83.5%	96.0%	87.6%	—	—	—	—	—	—
		167/200	95/99	262/299	—	—	—	—	—	—
	Culture	87.5%	81.7%	84.9%	—	—	—	—	—	—
		147/168	107/131	254/299	—	—	—	—	—	—
<i>T. vaginalis</i>	Wet Mount	91.8%	98.1%	97.4%	—	—	—	—	—	—
		90/98	740/754	830/852	—	—	—	—	—	—
	5-7 Day Culture	89.2%	99.3%	98.0%	82.0%	99.1%	96.8%	—	—	—
		99/111	736/741	835/852	91/111	734/741	829/852	—	—	—

\*Sensitivity = TP/(TP+FN); Specificity = TN/(TN+FP); Accuracy (TP+TN)/(TP+FP+FN+TN)

**INDICATIONS**

Le test d'identification microbienne **Affirm VPill** est un test à sonde d'ADN servant à la détection et l'identification des acides nucléiques des espèces de *Candida*, de *Gardnerella vaginalis* et de *Trichomonas vaginalis* dans les échantillons de liquide vaginal de patientes présentant des symptômes de vaginite/vaginose.

**RESUME ET EXPLICATION**

Les vaginites, qui représentent l'une des maladies les plus courantes traitées par la médecine clinique, sont chaque année la cause de plus de 10 millions de visites chez le médecin.<sup>1</sup> Les trois principales classes de vaginites sont les vaginoses bactériennes, les vaginites dues aux levures (candidoses) et les vaginites dues à *T. vaginalis* (trichomonases). La vaginose bactérienne (VB) est la plus commune des infections vaginales, représentant de 15 à 50 % des vaginites/vaginoses selon la population de patientes considérée.<sup>2,3</sup> Alors que *G. vaginalis* n'est plus considéré comme le seul agent étiologique de VB, il est encore considéré comme l'un des principaux agents bactériens d'une infection qui consiste en une augmentation des bactéries anaérobies et une réduction de la flore normale de *Lactobacillus*. Les complications dues à VB peuvent être particulièrement importantes chez les femmes enceintes, augmentant le risque d'issues négatives de la grossesse<sup>4,5</sup> sous forme d'accouchements<sup>6</sup> avant terme et de naissances<sup>7,8</sup> prématurées. De plus, des données récentes suggèrent que les bactéries associées à VB seraient dans l'endomètre les agents étiologiques des endométrites et des salpingites aiguës non dues à *Neisseria gonorrhoeae* et *Chlamydia trachomatis*.<sup>9</sup> VB est aussi un facteur de risque pour le développement d'un phlegmon au niveau du cul-de-sac postérieur de la voûte vaginale après une hystérectomie.<sup>10</sup> La candidose vaginale est la seconde forme la plus courante d'infection vaginale observée en milieu hospitalier.<sup>3</sup> Trois quart de toutes les femmes adultes développeront au moins une fois une candidose vaginale au cours de leur vie, et 40 à 50 % en seront infectées une seconde fois. Environ 5 % de la population de femmes adultes souffrent d'une infection aux levures récidivante et souvent réfractaire.<sup>3</sup> Il a été estimé que la trichomonase, maladie non déclarée sexuellement transmissible, affecterait 180 millions de personnes chaque année à l'échelle mondiale.<sup>11</sup> Aux Etats-Unis, il est estimé qu'environ 3 millions de femmes contractent la trichomonase chaque année.<sup>12</sup> Les femmes enceintes dont les tests sont positifs pour *T. vaginalis* sont plus susceptibles de présenter une rupture avant terme des membranes,<sup>7</sup> ainsi que d'accoucher avant terme et d'avoir des prématurés.<sup>13</sup> *T. vaginalis* est un facteur de risque pour le développement d'infections gynécologiques post-opératoires.<sup>14,15</sup> De plus, *T. vaginalis* représente aussi un facteur de risque pour le développement d'un phlegmon au niveau du cul-de-sac postérieur de la voûte vaginale après une hystérectomie.<sup>16</sup>

Les méthodes de laboratoire permettant d'identifier ces microorganismes comprennent l'évaluation microscopique, le test à l'amine, la coloration de Gram, le pH et la mise en culture.

**PRINCIPES DE LA METHODE**

Le test d'identification microbienne **Affirm VPill** est basé sur les principes de l'hybridation des acides nucléiques. Dans les tests d'hybridation des acides nucléiques, les brins d'acides nucléiques complémentaires s'alignent pour former des complexes bicaténaire spécifiques appelés hybrides.

Le test utilise deux sondes différentes d'acides nucléiques monocaténaire pour chaque microorganisme, une sonde de capture et une sonde de coloration qui sont complémentaires des séquences génétiques uniques des microorganismes cibles. Les sondes de capture sont immobilisées sur une pastille incrustée dans une Carte d'Analyse des Sondes (CAS), qui comprend une pastille différente pour chaque microorganisme cible. Les sondes de coloration se trouvent dans une Casette de Réactifs (CR) à puits multiples.

Au cours de sa préparation, l'échantillon est traité avec la solution de lyse (L) et chauffé. Ce procédé rompt les parois du microorganisme et libère les acides nucléiques. Une seconde solution, la solution tampon (T), est alors ajoutée. Cette solution stabilise les acides nucléiques et établit les conditions nécessaires à l'hybridation spécifique considérée. L'échantillon est à ce moment-là ajouté au premier puits de la Casette de Réactifs (CR) en plus de la CAS et le traitement automatique commence. Le processeur **BD MicroProbe** fait avancer la CAS d'un puits à l'autre de la Casette de Réactifs (CR). L'hybridation se produit sur les pastilles à CAS dans le premier et le second puits de la Casette de Réactifs (CR). L'hybridation des séquences d'acides nucléiques avec la sonde de capture sur la pastille a lieu dans le puits 1, tandis que l'hybridation avec les sondes de coloration se produit dans le puits 2. Tous les composants et les sondes non hybridés sont éliminés par lavage dans le puits 3. Dans le puits 4, un conjugué enzymatique se lie à la séquence d'acides nucléiques capturée. L'excès non lié de conjugué enzymatique est éliminé par lavage dans les puits 5 et 6. Dans le puits 7, le substrat coloré vire au bleu si du conjugué enzymatique lié est présent sur la pastille. L'étape finale consiste à lire les résultats de la coloration sur chaque pastille de microorganismes cibles et de contrôles.

**REACTIFS****Matériel fourni**

**Cartes d'Analyse des Sondes (CAS) (24 ou 120 tests)** : cartes emballées individuellement dans une serviette en papier absorbante imprégnée d'une solution contenant de l'azote de sodium (0,1 %, poids/volume) comme agent conservateur. Chaque carte possède cinq pastilles : contrôle négatif, *Trichomonas*, *Gardnerella*, *Candida* et contrôle positif.

**Cassettes de Réactifs (CR) (24 ou 120 tests)** : les réactifs sont scellés dans des cassettes à puits multiples recouvertes d'une feuille d'aluminium. Chaque cassette possède sept puits. En allant d'avant en arrière, les puits comprennent :

- Puits N° 1** Réservoir contenant l'échantillon du patient, fourni vide
- Puits N° 2** Solution d'hybridation, 350 µL : sonde de coloration, Formamide, solution tamponnée chaotrope
- Puits N° 3** Solution de lavage, 750 µL : détergent, solution tampon, agent conservateur (Proclin)
- Puits N° 4** Conjugué, 500 µL : conjugué enzymatique, agent conservateur (Proclin)
- Puits N° 5** Solution de lavage, 750 µL : détergent, solution tampon, agent conservateur (Proclin)
- Puits N° 6** Solution de lavage, 750 µL : détergent, solution tampon, agent conservateur (Proclin)
- Puits N° 7** Tampon de substrat, 500 µL : solution tamponnée de peroxyde

**Solution de substrat (S), (capuchon rouge, 3,4 mL pour 24 tests; flacon, 12 mL pour 120 tests) :** solution emballée individuellement dans pochette en aluminium ; substrat coloré, agent de stabilisation, alcool

**Solution de lyse (L), (capuchon bleu, 10,8 mL pour 24 tests; flacon, 48 mL pour 120 tests) :** détergent, solution tampon, agent conservateur (Proclin)

**Solution tampon (T), (capuchon vert, 15 mL pour 24 tests; flacon, 72 mL pour 120 tests) :** solution tamponnée chaotrope, Formamide

**Embouts filtres (EF) (24 ou 120 tests)**

**Capuchons de prélèvement d'échantillon (CPE) (24 tests)\***

**Tubes de prélèvement d'échantillon (TPE) (24 tests)\***

**Écouillons stériles emballés individuellement et pré-entailés. (24 tests)\***

**\*Non inclus dans la trousse de 120 tests.**

**Matériels requis mais non fournis**

Pouvant être obtenus de BD:

- Système de transport à température ambiante **Affirm** VP111
- Nécessaires de prélèvement d'échantillon **Affirm** VP111
- Processeur **BD MicroProbe**
- Bloc de lyse **BD MicroProbe**
- Thermomètre
- Pipette convenant à la distribution de la Solution de lyse ou de la Solution tampon pour 120 tests

**Avertissements et précautions**

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Lire soigneusement toutes les instructions avant utilisation.

Pour le prélèvement des échantillons, utiliser seulement le système de transport à température ambiante **Affirm** VP111, le nécessaire de prélèvement d'échantillon **Affirm** VP111 ou les écouillons fournis dans la trousse de tests d'identification microbienne **Affirm** VP111. Utiliser seulement des échantillons de liquide vaginal de patientes présentant des symptômes de vaginite/vaginose. Exécuter chaque test en surveillant la température du bloc de lyse, elle doit être de  $85 \pm 5$  °C, et vérifier que la température de l'environnement de travail reste entre 22 et 28 °C.

Solution de substrat (S) : elle contient de l'alcool et est combustible. La tenir éloignée de la chaleur, des étincelles et des flammes. Garder le récipient hermétiquement fermé afin d'empêcher toute évaporation.

Serviette en papier enveloppant les CAS : la serviette est imprégnée d'azote de sodium (0,1 %, poids/volume). L'azote de sodium est très toxique par inhalation, au contact avec la peau et en cas d'ingestion. Au contact d'un acide, un gaz très toxique est dégagé. Après contact avec la peau, se laver immédiatement et abondamment avec beaucoup d'eau.

Les réactifs contiennent des composants qui peuvent être irritants ou caustiques s'ils entrent en contact avec la peau, les yeux ou les muqueuses. Porter des gants, une blouse de laboratoire et des lunettes de protection et appliquer les précautions standard de laboratoire lors de la manipulation. En cas d'ingestion, appeler un médecin. En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer abondamment avec de l'eau.

**Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les " Précautions standard "17-20 et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques.**

Des méthodes appropriées de manipulation et de destruction doivent être établies. Essuyer immédiatement toute éclaboussure d'échantillon de patiente avec un désinfectant approprié. Traiter tout ce qui a servi à la désinfection comme déchet présentant un risque biologique.

L'écouillon stérile ne doit pas être utilisé si son emballage est ouvert ou endommagé. Éviter de toucher les pastilles. Éviter de contaminer les extrémités des flacons compte-gouttes. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption.

L'écouillon est à usage unique exclusivement ; toute réutilisation pourrait engendrer un risque d'infection et/ou des résultats erronés.

**Préparation des réactifs**

Tous les réactifs sont fournis prêts à l'emploi.

**Conservation des réactifs**

La trousse de tests **Affirm** VP111 est stable jusqu'à la date de péremption indiquée, lorsqu'elle est conservée à 2 – 8 °C. Sinon, elle peut être conservée à température ambiante (jusqu'à 30 °C) pendant 3 mois maximum. Tous les réactifs et les CAS doivent se trouver à une température comprise entre 22 et 28 °C avant de les utiliser. Pour faciliter la procédure, conserver tous les réactifs à température ambiante une fois ouverts. Si elles sont réfrigérées, les laisser se réchauffer à température ambiante pendant au moins 30 min avant de les utiliser.

Remarque : La solution tampon (T) se sépare par précipitation au réfrigérateur. Laisser la solution se réchauffer à température ambiante pendant au moins 30 min, puis agiter le flacon pendant 10 à 15 s jusqu'à dissolution complète du précipité.

**Indices d'instabilité**

Des indices d'une détérioration possible des réactifs observés en fin de test sont : un contrôle positif qui n'est PAS bleu, un contrôle négatif qui n'est PAS incolore.

## PRELEVEMENT, CONSERVATION ET TRANSPORT DES ECHANTILLONS

### Prélèvement des échantillons

Le prélèvement des échantillons est une étape cruciale. Le personnel prélevant les échantillons de liquide vaginal doit être bien formé de façon à minimiser les possibilités d'échantillons inadéquats. Pour le prélèvement des échantillons, utiliser seulement le système de transport à température ambiante **Affirm** VPiII, le nécessaire de prélèvement d'échantillon **Affirm** VPiII ou les écouvillons fournis dans la trousse de tests d'identification microbienne **Affirm** VPiII. **Des écouvillons différents doivent être utilisés pour les autres tests, à savoir mise en culture ou test sur lames microscopiques.**

### Prélèvement d'échantillon vaginal

1. Inscrivez sur l'étiquette du tube de prélèvement (TPE) l'information identifiant la patiente. Inclure l'heure de prélèvement de l'échantillon.
2. Placez la patiente dans la position requise pour un examen pelvien. Insérez un spéculum dans le vagin afin de permettre la visualisation du cul-de-sac postérieur du vagin.\*
3. Utiliser un écouvillon stérile pour prélever l'échantillon sur le cul-de-sac postérieur du vagin. Faire tourner ou rouler l'écouvillon sur la paroi vaginale deux ou trois fois en s'assurant que toute la circonférence de l'écouvillon est entrée en contact avec la paroi vaginale. Écouvillonner la paroi vaginale latérale tout en retirant l'écouvillon.
4. Mettre immédiatement l'écouvillon dans un tube de prélèvement d'échantillon (TPE).
5. Lorsque l'écouvillon touche le **FOND** du tube de prélèvement, saisir le manche pré-entaillé de l'écouvillon juste au-dessus du tube et le courber jusqu'à ce qu'il casse. Lorsque l'écouvillon est complètement enfoncé dans le tube de prélèvement, l'entaille marquée sur le manche de l'écouvillon se trouve environ 1 cm au-dessus du tube de prélèvement. Jeter l'extrémité rompue du manche dans un récipient pour déchets infectieux.
6. Mettre le capuchon par-dessus l'extrémité exposée de l'écouvillon et l'enfoncer fermement sur le tube. Le capuchon émettra un " bruit sec " une fois correctement enfoncé.

\*Pour les essais cliniques, les sites ont reçu la consigne d'utiliser un spéculum non lubrifié. Se reporter à la section " Substances interférentes "

### Conservation et transport des échantillons

Lors de l'emploi d'un système de transport à température ambiante **Affirm** VPiII (STTA) : la durée totale entre le prélèvement de l'échantillon et sa préparation ne doit pas excéder 72 h lorsque l'échantillon est conservé à température ambiante (15 – 30 °C). Le système a également été qualifié pour être transporté dans des conditions réfrigérées (entre 2 et 8 °C).

Lors de l'emploi du nécessaire de prélèvement d'échantillon **Affirm** VPiII ou des écouvillons fournis dans la trousse de tests d'identification microbienne **Affirm** VPiII : la durée totale entre le moment où l'écouvillon est placé dans le tube de prélèvement de l'échantillon et la préparation de l'échantillon ne doit pas excéder 1 h si l'échantillon est conservé à température ambiante, 4 h si l'échantillon est conservé à 2 – 8 °C.

## METHODE

**Lire soigneusement toutes les instructions avant d'effectuer la procédure.**

### Préparation de l'échantillon

**Se reporter aux illustrations du schéma de procédures fourni avec le processeur BD MicroProbe.**

1. Vérifier que le bloc de lyse **BD MicroProbe** a atteint  $85 \pm 5^\circ\text{C}$  et que les réactifs se trouvent à une température comprise entre 22 et 28 °C et qu'ils sont bien mélangés.
2. Oter le capuchon du tube de prélèvement de l'échantillon (TPE) en s'assurant que le manche de l'écouvillon est bien enfoncé dans ce capuchon. Ajouter 12 gouttes ou pipeter 0,4 mL de solution de lyse (L) dans le tube. Tenir le compte-gouttes verticalement pendant l'ajout des gouttes.
3. Mélanger l'écouvillon dans le tube en le faisant tourbillonner vigoureusement puis monter et descendre contre la paroi du tube pendant au moins 10 s, ou vortexer pendant 2 – 4 s.
4. Remettre l'écouvillon attaché au capuchon dans le tube et reboucher pour empêcher toute évaporation.
5. Insérer le tube dans un des puits du bloc de lyse pour le chauffer.
6. Incuber le tube dans le bloc de lyse pendant 10 min (au moins 10 min, mais pas plus de 20 min). Utiliser un compte-minutes pour cette étape.
7. Retirer le tube du bloc de lyse.
8. Ajouter 12 gouttes ou pipeter 0,6 mL de solution tampon (T) bien mélangée dans le tube contenant l'écouvillon. Éviter de toucher le tube avec l'extrémité du flacon.
9. Bien reboucher le tube avec le capuchon et mélanger en donnant 10 pichenettes sèches au tube, ou vortexer pendant 2 – 4 s.
10. Pour passer au traitement automatique de l'échantillon préparé, éliminer autant de liquide que possible de l'écouvillon en le sortant de la solution et en l'appuyant fermement contre la paroi du tube pendant au moins 10 s. Jeter les écouvillons dans un récipient pour déchets présentant un risque biologique. Bien enfoncer un embout filtre (EF) dans chaque tube de prélèvement d'échantillon (TPE).

**REMARQUE :** Les échantillons préparés peuvent être conservés à température ambiante pendant un maximum de 24 h.

### Traitement automatique

Remarque : Avant de continuer, vérifier que tous les réactifs ont atteint une température comprise entre 22 et 29 °C. Pour chaque test, vérifier que l'environnement de travail a atteint une température comprise entre 22 et 29 °C.

**Se reporter aux illustrations du schéma de procédures fourni avec le processeur BD MicroProbe.**

1. Si la carte programme du test d'identification microbienne **Affirm** VPiII n'est pas déjà dans le processeur **BD MicroProbe**, l'introduire avec la face imprimée vers le haut et la flèche pointant vers l'instrument dans la fente située sur la partie avant

droite de l'instrument. S'assurer que le processeur est éteint lors de l'insertion de la carte programme. **Aucun voyant n'est allumé sur le panneau de contrôle si le processeur est éteint.**

2. **Allumer le processeur.** Le bras du processeur reviendra à la position " repos " au cours de cette étape initiale. Au fur et à mesure du déroulement du test, répondra aux invites affichées sur l'écran du processeur. Si une aide supplémentaire est nécessaire, appuyer sur la touche [HELP].
3. Retirer le chariot des Cassettes du processeur. Il est plus facile d'ajouter les échantillons avec le chariot sorti du processeur.
4. Sélectionner une Casette de Réactifs (CR) pour chacun des échantillons à tester, inscrire l'identification de la patiente/échantillon sur le devant de la Casette de Réactifs (CR) avec un marqueur indélébile. Retirer avec précaution la feuille d'aluminium recouvrant la Casette, en la soulevant par son extrémité SANS que le rabat ne se relève. Mettre les Cassettes de Réactifs (CR) dans leur chariot, en les chargeant du centre vers les côtés et en équilibrant autant que possible le nombre de cassettes sur les deux côtés du bras.
5. Ouvrir la pochette contenant la CAS, sortir légèrement la CAS de la pochette et inscrire l'identification de la patiente/échantillon dans l'espace fourni à cet effet.
6. Appuyer sur la touche [RUN]. Il sera demandé " Ajouter le substrat. " Ajouter 4 gouttes (0,1 mL) de solution de substrat (S) dans les puits N° 7 de la Casette de Réactifs (CR). Bien refermer le capuchon du flacon pour éviter toute évaporation.
7. Appuyer sur la touche [RUN]. Il sera demandé " Ajouter l'échantillon. " Associer chaque tube de prélèvement d'échantillon (TPE)/Embout filtre (EF) avec la Casette de Réactifs (CR) ayant l'étiquette correspondante. Inverser le tube de prélèvement d'échantillon (TPE) et le comprimer pour faire passer tout son contenu à travers l'embout filtre (EF) et le verser dans les puits N° 1 de la Casette de Réactifs appropriée (CR). Jeter les tubes d'échantillon de patientes dans un récipient pour déchets présentant un risque biologique. La présence de mousse sur l'embout filtre est le signe que l'échantillon a été versé dans sa totalité.
8. Appuyer sur la touche [RUN]. Il sera demandé " Mettre la CAS. " Mettre une CAS étiquetée dans les puits N° 1 de chaque Casette de Réactifs (CR) avec l'étiquette correspondante. Éviter de toucher les pastilles.
9. Appuyer sur la touche [RUN]. Il sera demandé " Placer le chariot. " Remettre avec précaution le chariot des Cassettes dans le processeur en prenant soin de ne pas éclabousser les réactifs. S'assurer que le chariot est bien installé sur les quatre broches de positionnement.
10. Appuyer de nouveau sur la touche [RUN]. Le bras du processeur commencera à avancer. Le processeur ramassera automatiquement les CAS et les déplacera tout au long de la procédure de test. L'instrument entamera le décompte du temps alloué au test et indiquera " Prière d'attendre test en cours 32:50 " en indiquant les minutes restantes sur le compte-minutes. A l'expiration du temps alloué au test, l'instrument émettra un bip et offrira les CAS pour qu'elles soient retirées.
11. Retirer les CAS et les sécher en les tamponnant doucement avec une serviette en papier. Interpréter les résultats pour chaque échantillon aussi vite que possible après la fin du test. Les CAS doivent être lues sur un fond blanc, sous une lumière d'intensité normale.

**Remarque : Retirer les CAS du processeur avant d'appuyer sur la touche [RUN] et de démarrer une nouvelle exécution.**

## CONTRÔLE DE QUALITÉ

Le test d'identification microbienne **Affirm** VP111 comprend deux contrôles internes sur chaque CAS : une pastille de contrôle positif et une pastille de contrôle négatif. Ces pastilles de contrôle sont testées simultanément avec chaque échantillon clinique, vérifiant ainsi la bonne performance de la CAS, de la cassette de réactifs et du processeur. Le contrôle positif sert également à vérifier l'absence d'interférence due à l'échantillon. Le contrôle négatif sert également à vérifier l'absence de liaison non-spécifique de la part de l'échantillon.

Dans un test fonctionnant correctement, la pastille de contrôle positif sera bleue et la pastille de contrôle négatif restera incolore (c.-à-d. absence de couleur bleue) à l'issue du test. Si le contrôle positif ne vire pas au bleu et/ou si le contrôle négatif ne reste pas incolore, les résultats du test ne sont pas valides et ceux de la patiente ne doivent pas être enregistrés.

Chaque lot de réactif doit être testé en vue de vérifier la lyse adéquate de l'échantillon et la libération de l'acide nucléique cible au moyen d'un écouvillon frotté une fois sur culture fraîche de l'organisme de contrôle (culture de 18-24 h) ou au moyen d'un écouvillon préparé dans le commerce de *Candida albicans* (ATCC 18804, 14053, 10231 or 60193). Puisque *Trichomonas vaginalis* et *Gardnerella vaginalis* se lysent plus facilement que les espèces de *Candida*, il est seulement nécessaire d'essayer les espèces de *Candida* pour vérifier la lyse adéquate de l'échantillon. La qualité du processus de lyse de l'échantillon est confirmée si le test de *Candida albicans* résulte en une pastille de *Candida* bleue, une pastille de *Gardnerella* incolore, une pastille de *Trichomonas* incolore et des résultats acceptables pour les contrôles internes (c.-à-d. pastille de contrôle positif bleue et pastille de contrôle négatif incolore).

Pour vérifier plus précisément la performance des tests, les tests de contrôle de qualité avec *C. albicans* (ATCC 10231), *T. vaginalis* (ATCC 30001) et *G. vaginalis* (ATCC 14018) peuvent être exécutés en utilisant des cultures fraîches de l'organisme de contrôle (culture de 18 à 24 h) ou des écouvillons préparés commercialement.

Si les trois organismes sont utilisés pour exécuter les tests de contrôle de qualité (CQ) s'assurer que les résultats obtenus pour les contrôles internes sont tous deux acceptables (c.-à-d. pastille de contrôle positif bleue et pastille de contrôle négatif incolore) et interpréter les résultats comme suit :

1. Si les pastilles des trois organismes virent au bleu, tous les résultats cliniques peuvent être pris en considération.
2. Si la pastille de *Candida* ne vire pas au bleu, le test CQ entier est invalide. La cause de l'échec du test CQ doit être recherchée et aucun résultat clinique ne peut être pris en considération. Contacter le représentant de BD pour toute assistance complémentaire.
3. Si les pastilles de *Candida* et de *Gardnerella* virent au bleu, mais si la pastille de *Trichomonas* ne vire pas au bleu, le test CQ est valide pour *Candida* et *Gardnerella*. Les résultats cliniques peuvent être utilisés pour *Candida* et *Gardnerella* uniquement. La cause de l'échec du CQ doit être recherchée. Contacter le représentant de BD pour toute assistance complémentaire.
4. Si les pastilles de *Candida* et de *Trichomonas* virent au bleu, mais si la pastille de *Gardnerella* ne vire pas au bleu, le test CQ est valide pour *Candida* et *Trichomonas*. Les résultats cliniques peuvent être utilisés pour *Candida* et *Trichomonas* uniquement. La cause de l'échec du CQ doit être recherchée. Contacter le représentant de BD pour toute assistance complémentaire.

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations nationales et/ou internationales, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI (NCCLS précédemment) et la réglementation CLIA correspondantes pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

## INTERPRETATION DES RESULTATS

Les résultats sont déterminés par la présence ou l'absence de couleur sur la pastille correspondant au test. La présence de toute coloration bleue visible sur la pastille portant le microorganisme cible, lorsqu'elle est observée sur un fond blanc, correspond à un résultat positif. L'absence de toute coloration bleue visible sur la pastille portant le microorganisme cible signale un résultat négatif.

Un résultat positif pour *Candida*, *Gardnerella* et/ou *Trichomonas* signifie que l'acide nucléique des espèces de *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*), de *G. vaginalis* et/ou de *T. vaginalis*, est respectivement présent et que la patiente a une candidose, une vaginose bactérienne et/ou une trichomonase en accord avec les signes et symptômes cliniques. Des infections simultanées par plus d'un microorganisme sont courantes.

Des résultats négatifs pour *Candida*, *Gardnerella* ou *Trichomonas* suggèrent que la patiente ne présente ni une candidose, ni une vaginose bactérienne, ni une trichomonase, en accord avec les signes et les symptômes cliniques.

## LIMITES DE LA PROCEDURE

La méthode a été conçue pour être utilisée avec le système de transport à température ambiante **Affirm** VP11, le nécessaire de prélèvement d'échantillon **Affirm** VP11 ou les écouvillons fournis dans la trousse de tests d'identification microbienne **Affirm** VP11. Les autres méthodes de prélèvement n'ont pas été évaluées.

L'optimisation des résultats du test nécessite l'emploi d'une méthode de prélèvement appropriée. Des conditions inadéquates de prélèvement, de manipulation et/ou de conservation des échantillons peuvent influencer sur les résultats du test. Un résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une vaginite/vaginose.

Lorsque le système de transport à température ambiante **Affirm** VP11 est utilisé, les échantillons laissés pendant plus de 72 h à température ambiante (entre 15 et 30 °C) ou réfrigérés (entre 2 et 8 °C) peuvent causer des résultats erronés. Lors de l'emploi de la trousse de prélèvement des échantillons **Affirm** VP11 ou des écouvillons fournis dans la trousse d'identification microbienne **Affirm** VP11, les échantillons conservés plus de 1 h à température ambiante ou plus de 4 h à 2 – 8 °C avant d'être préparés peuvent donner des résultats erronés. Les échantillons préparés conservés plus de 24 h à température ambiante avant d'être testés peuvent donner des résultats inexacts.

Pour exécuter ce test, la température de l'environnement de travail doit être comprise entre 22 et 28 °C.

Un résultat négatif pour *Candida*, *Gardnerella* et/ou *Trichomonas* indique que des quantités d'acide nucléique correspondant à moins de  $1 \times 10^4$  cellules de *Candida*,  $2 \times 10^5$  UFC de *G. vaginalis* ou  $5 \times 10^3$  de *Trichomonas* peuvent être respectivement présentes dans l'échantillon de la patiente.

Le test d'identification microbienne **Affirm** VP11 détecte la présence de *G. vaginalis* aux concentrations supérieures à  $2 \times 10^5$  UFC par échantillon de patiente. La valeur diagnostique de ce niveau de détection n'est pas définitivement établie.

La présence de *G. vaginalis*, quoique intéressante, n'équivaut pas à un diagnostic de vaginose bactérienne. Comme pour de nombreuses autres analyses cliniques, le diagnostic ne doit pas reposer sur les résultats d'un seul test de laboratoire. Les résultats doivent être interprétés conjointement avec les autres résultats cliniques et analyses de laboratoire dont dispose le médecin, tels que le pH, l'odeur d'amine, les bâtonnets courts adhérent aux cellules épithéliales et les leucorrhées caractéristiques.

Un bilan doit être effectué chez les femmes présentant des leucorrhées afin de déterminer les facteurs de risque de cervicite et de salpingite aiguë ; en cas de présence de ces facteurs, un second bilan doit être réalisé pour rechercher d'autres microorganismes, y compris *N. gonorrhoeae* et *C. trachomatis*.

Les vaginites/vaginoses sont le plus fréquemment dues à *G. vaginalis*, aux espèces de *Candida* et à *T. vaginalis*. Les symptômes de vaginite peuvent aussi être observés dans le cas du syndrome de choc toxique staphylococcique (dû à *Staphylococcus aureus*) ou peuvent être causés par d'autres facteurs non spécifiques ou d'autres microorganismes spécifiques. Des infections mixtes peuvent se produire. C'est pourquoi, un test signalant la présence d'espèces de *Candida*, de *G. vaginalis* et/ou de *T. vaginalis* n'exclut pas la présence d'autres microorganismes tels que *Mobiluncus mulieris*, *Mycoplasma hominis* et/ou *Prevotella bivia*.

*Cryptococcus neoformans* à des concentrations supérieures à  $1 \times 10^8$  levures/mL réagit avec le test d'identification microbienne **Affirm** VP11 pour les espèces de *Candida*. *C. neoformans* se rencontre très rarement dans le vagin.

*M. mulieris* à des concentrations supérieures à  $4 \times 10^6$  bactéries/mL et *Bifidobacterium dentium* à des concentrations supérieures à  $8 \times 10^5$  bactéries/mL peuvent réagir de façon non spécifique avec le test d'identification microbienne **Affirm** VP11 pour *G. vaginalis*. *B. dentium* se rencontre très rarement dans le vagin.

Le test d'identification microbienne **Affirm** VP11 est à utiliser sur les échantillons de liquide vaginal provenant de patientes présentant des symptômes de vaginites/vaginoses. L'utilisation sur d'autres types d'échantillons ou d'autres populations de patients n'a pas été établie.

Le résultat de ce test sur des échantillons de patientes prélevés pendant ou immédiatement après un traitement par antibiotiques n'est pas connu. La présence ou l'absence d'espèces de *Candida*, de *G. vaginalis* ou de *T. vaginalis* ne peut pas servir de test de vérification du succès ou de l'échec d'un traitement.

Si les réactifs sont altérés ou si les instructions du mode d'emploi ne sont pas suivies à la lettre, cela peut influencer sur la performance telle qu'elle est décrite sur l'étiquette.

## VALEURS ESCOMPTEES ET CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Des chercheurs indépendants ont évalué le test d'identification microbienne **Affirm** VP11 pour les espèces de *Candida*, pour *G. vaginalis* et *T. vaginalis* dans des prélèvements vaginaux. Les échantillons provenaient de femmes présentant des symptômes de vaginite/vaginose ou de femmes considérées comme à haut risque pour ces infections.<sup>21</sup>

Les chercheurs ont établi un diagnostic de vaginose bactérienne, candidose ou trichomonase. Un échantillon a aussi été prélevé et préparé pour être analysé par le test d'identification microbienne **Affirm** VP11. De plus, les chercheurs ont prélevé des échantillons

qui ont été envoyés au laboratoire pour l'isolement et l'identification en culture et pour être préparés à une analyse par la coloration de Gram.

#### **Espèces de *Candida***

La sensibilité et la spécificité du test d'identification microbienne **Affirm** VP8 pour les espèces de *Candida* ont été établies par comparaison aux méthodes standard de microscopie et de culture. La performance du test **Affirm** VP8 pour les espèces de *Candida* par rapport à la microscopie a été évaluée chez 479 femmes qui présentaient des signes et symptômes cliniques de mycose vaginale et chez 261 femmes à haut risque qui étaient évaluées pour d'autres raisons dont la grossesse (n=186), l'orthogénie ou le contact avec des patients atteints de maladies sexuellement transmissibles, soit un total de 740 patientes. Une concentration cliniquement significative d'isolat de levure en culture (>10<sup>4</sup> UFC par mL de liquide vaginal) a servi de méthode de comparaison puisque la relation entre cette concentration et la mycose vaginale a été établie dans la littérature. Environ 15 % des échantillons de patientes testés donnaient des résultats positifs pour la levure selon le test **Affirm** VP8 et selon l'isolement en culture à une concentration cliniquement significative.

Dans les cas de résultats apparemment faussement positifs où les résultats du test **Affirm** VP8 étaient positifs mais ceux de la méthode de référence étaient négatifs, d'autres méthodes ont été utilisées pour confirmer les résultats du test **Affirm** VP8. La sensibilité/spécificité après conciliation, pour les patientes ayant consulté pour des problèmes vaginaux (n = 479) et pour toutes les patientes (n = 740) était respectivement de 82 %/98,4 % et 81 %/98,2 %. Le test **Affirm** VP8 est plus sensible que l'identification des levures par préparation humide ou par coloration de Gram lorsqu'une culture à une concentration cliniquement significative sert de base à la comparaison. Voir tableau 1.

La sensibilité/spécificité brute (sans conciliation) du test **Affirm** VP8 comparée à une culture à une concentration cliniquement significative était respectivement 79 %/95 % pour les patientes ayant consulté pour des problèmes vaginaux (n = 479) et 78 %/95,9 % pour toutes les patientes (n = 740). Voir tableau 1.

#### ***Gardnerella vaginalis***

La sensibilité et la spécificité du test d'identification microbienne **Affirm** VP8 pour *G. vaginalis* ont été établies par comparaison aux méthodes standard de microscopie et de culture chez 299 patientes. Le test **Affirm** VP8 a été comparé à des concentrations cliniquement significatives de *G. vaginalis*, s'élevant à >10<sup>5</sup> UFC par mL de liquide vaginal.<sup>13</sup> Sur les 299 patientes évaluées pour la vaginose bactérienne, 51 % (152) étaient positives d'après la coloration de Gram et 56 % (168) étaient positives d'après les cultures aux concentrations cliniquement significatives.

Dans les cas de résultats apparemment faussement positifs où les résultats du test **Affirm** VP8 étaient positifs mais ceux de la méthode de référence étaient négatifs, d'autres méthodes ont été utilisées pour confirmer les résultats du test **Affirm** VP8. La sensibilité/spécificité du test **Affirm** VP8 après conciliation par rapport à la culture à des concentrations cliniquement significatives et à la morphologie révélée par la coloration de Gram était respectivement de 98 %/100 % et 95 %/100 % pour les patientes présentant une vaginose bactérienne clinique établie par 3 des 4 critères d'Amstel (n = 129). La sensibilité/spécificité du test **Affirm** VP8 après conciliation par rapport à la culture à des concentrations cliniquement significatives et à la coloration de Gram était respectivement pour toutes les patientes (n = 299) de 89 %/99 % et 84 %/100 %. Lorsqu'il a été évalué chez toutes les femmes, le test **Affirm** VP8 est apparu sensible et spécifique par rapport à l'identification de *G. vaginalis* aussi bien en fonction de la morphologie révélée par la coloration de Gram que de la culture à des concentrations cliniquement significatives. Voir tableau 1.

La sensibilité/spécificité brute du test **Affirm** VP8 comparée à la culture aux concentrations cliniquement significatives et à la coloration de Gram était respectivement de 98 %/41 % et 95 %/83 % pour les patientes présentant une vaginose bactérienne clinique établie par 3 des 4 critères d'Amstel (n = 129). La sensibilité/spécificité brute du test **Affirm** VP8 comparée à la culture aux concentrations cliniquement significatives et à la coloration de Gram était respectivement de 88 %/82 % et 84 %/96 % pour toutes les patientes (n = 299). Voir tableau 1.

#### ***Trichomonas vaginalis***

La sensibilité et la spécificité du test d'identification microbienne **Affirm** VP8 pour *T. vaginalis* ont été établies par comparaison aux méthodes standard de microscopie et de culture chez les 852 patientes. Sur ces 852 patientes, 11 % (98) étaient positives après culture en préparation humide et 13 % (111) étaient positives après culture à des concentrations cliniquement significatives.

Dans les cas de résultats apparemment faussement positifs où les résultats du test **Affirm** VP8 étaient positifs mais ceux de la méthode de référence étaient négatifs, d'autres méthodes ont été utilisées pour confirmer les résultats du test **Affirm** VP8. La sensibilité/spécificité du test **Affirm** VP8 pour *T. vaginalis* après conciliation par rapport à la culture en préparation humide et à la culture à des concentrations cliniquement significatives était respectivement de 93 %/99,9 % et 90 %/99,9 %. Pour cette évaluation clinique, le test **Affirm** VP8 s'est avéré avoir une sensibilité semblable à celle d'un isolat en culture de 5 à 7 jours de *T. vaginalis*. Voir tableau 1.

La sensibilité/spécificité brute du test **Affirm** VP8 comparée à la culture en préparation humide et à la culture à des concentrations cliniquement significatives (5 – 7 jours) était respectivement de 92 %/98 % et 89 %/99 % pour toutes les patientes. Voir tableau 1.

#### **Infections mixtes et VB**

Les données provenant du sous-groupe de 289 patientes de cette étude clinique ont été recueillies en demandant au médecin traitant de poser un diagnostic de vaginose bactérienne, candidose et trichomonose sur la base des leucorrhées, du pH, de l'odeur d'amine et des résultats des préparations humides. L'aptitude globale du médecin traitant à poser un diagnostic de vaginose bactérienne sur la base de 3 des 4 signes et symptômes cliniques était de 75 % (89/118). Chez les femmes qui n'avaient aucune autre cause que la vaginose bactérienne pour expliquer leurs symptômes vaginaux, l'aptitude du médecin atteignait 82 % (79/96). Mais chez les patientes présentant des infections mixtes, c'est-à-dire une candidose ou une trichomonose en plus de la vaginose bactérienne, la sensibilité du diagnostic de VB posé par le médecin traitant n'était plus que de 45 % (10/22). Les médecins traitants avaient plus de difficultés à poser un diagnostic de VB dans le cas d'infections mixtes, la sensibilité de leur diagnostic initial étant de 45 % contre une sensibilité de 82 % dans le cas d'une infection simple. Le diagnostic de VB était sous représenté chez les patientes atteintes d'infections mixtes.

## Résultats non cliniques

Un total de 88 isolats représentant 34 genres différents de microorganismes identifiés par Isenberg et al.<sup>22</sup> comme étant cliniquement liés aux infections génito-urinaires ont été testés avec le test d'identification microbienne **Affirm** VPiII afin d'en établir la spécificité.

<i>Acinetobacter</i> sp. (1)	<i>Corynebacterium</i> spp.(1)	<i>Listeria monocytogenes</i> (1)	<i>Porphyromonas</i> sp. (1)
<i>Actinomyces</i> sp. (1)	<i>Cryptococcus neoformans</i> (1)	<i>Mobiluncus</i> spp. (3)	<i>Propionibacterium</i> sp. (1)
<i>Bacteroides</i> spp. (4)	<i>Entamoeba</i> sp. (1)	<i>Mycobacterium</i> sp. (1)	<i>Pseudomonas</i> sp. (1)
<i>Branhamella</i> sp. (1)	<i>Enterobacteriaceae</i> (5)	<i>Mycoplasma hominis</i> (1)	<i>Staphylococcus</i> spp. (3)
<i>Bifidobacterium</i> sp. (1)	<i>Enterococcus</i> sp. (1)	<i>Neisseria</i> spp. (2)	<i>Streptococcus</i> spp. (3)
<i>Campylobacter</i> sp. (1)	<i>Fusobacterium</i> sp. (1)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (1)	<i>Trichomonas vaginalis</i> (9)
<i>Candida</i> spp. (16)	<i>Gardnerella vaginalis</i> (10)	<i>Peptococcus</i> sp. (1)	<i>Ureaplasma urealyticum</i> (1)
<i>Chlamydia trachomatis</i> (2)	<i>Haemophilus ducreyi</i> (1)	<i>Peptostreptococcus</i> spp. (3)	<i>Veillonella</i> sp.(1)
<i>Clostridium</i> spp. (2)	<i>Lactobacillus</i> spp. (3)	<i>Prevotella</i> spp.(2)	

Tous les microorganismes, sauf *Cryptococcus neoformans* et les espèces de *Candida*, n'ont donné aucune réaction avec le test d'identification microbienne **Affirm** VPiII pour les espèces de *Candida* à la concentration de 10<sup>8</sup> microorganismes/mL.

Tous les organismes, sauf *M. mulieris*, *B. dentium* et *G. vaginalis*, n'ont donné aucune réaction avec le test d'identification microbienne **Affirm** VPiII pour *G. vaginalis* à la concentration de 10<sup>8</sup> microorganismes/mL. *M. mulieris* n'a donné aucune réaction à la concentration de 4 x 10<sup>6</sup> bactéries/mL, et *B. dentium* n'a donné aucune réaction à la concentration de 8 x 10<sup>5</sup> bactéries/mL. *B. dentium* est seulement très rarement isolé à partir du vagin.<sup>23</sup> La plupart des espèces de *Bifidobacterium* et des souches de *B. dentium* sont isolées à partir d'autres sièges que le vagin ou l'appareil génito-urinaire.

Tous les microorganismes sauf *T. vaginalis* n'ont donné aucune réaction avec le test d'identification microbienne **Affirm** VPiII pour *T. vaginalis* à la concentration de 10<sup>8</sup> microorganismes/mL.

## Sensibilité analytique

Le test d'identification microbienne **Affirm** VPiII pour les espèces de *Candida* peut détecter 1 x 10<sup>4</sup> UFC d'espèces de *Candida* en phase logarithmique par analyse, 2 x 10<sup>5</sup> UFC de *G. vaginalis* en phase logarithmique par analyse et 5 x 10<sup>3</sup> *Trichomonas* par analyse.

## Substances interférentes

Dans les études cliniques, aucun signe d'interférence n'a été observé de la part des crèmes lubrifiantes vaginales, des lavages, des règles et des spermicides.

Les études analytiques ne mettent en évidence aucun signe d'interférence avec les lubrifiants vaginaux à base aqueuse.

## Reproductibilité

Le système **Affirm** a été évalué sur trois sites cliniques types par trois utilisateurs différents (infirmières praticiennes) qui l'utilisaient pour la première fois afin d'en établir la reproductibilité au sein et entre les répétitions. Chaque site a évalué 24 échantillons codés correspondant à 12 échantillons positifs et 12 échantillons négatifs. Quatre répétitions de six échantillons par répétition ont été effectuées sur chaque site. Une cohérence totale entre les résultats a été obtenue pour tous les échantillons sur chacun des trois sites, établissant ainsi la reproductibilité et la facilité d'emploi du système **Affirm** au sein et entre les répétitions et d'un site à l'autre.

## MATÉRIEL DISPONIBLE

N° Réf.	Description
446252	Test d'identification microbienne <b>Affirm</b> VPiII, 24 tests
446257	Test d'identification microbienne <b>Affirm</b> VPiII, 120 tests
446251	Écouvillons de prélèvement d'échantillon <b>Affirm</b> VPiII, 100 écouvillons
446250	Nécessaire de prélèvement d'échantillon <b>Affirm</b> VPiII, 24 nécessaires
446255	Système de transport à température ambiante <b>Affirm</b> VPiII (système de transport pour 72 h), 100 systèmes
250100	Processeur <b>BD MicroProbe</b> (120 volts)
211918	Processeur <b>BD MicroProbe</b> (220/240 volts)

**BIBLIOGRAPHIE** : voir la rubrique « Referencés » du texte anglais.

**TABEAU 1**  
**APRÈS CONCILIATION**

Patients symptomatiques		Affirm VPIII			Préparation humide			Coloration de Gram		
MICROORGANISME	Méthode de référence	Sensibilité	Spécificité	Exactitude	Sensibilité	Spécificité	Exactitude	Sensibilité	Spécificité	Exactitude
Espèces de <i>Candida</i>		82,3 %	98,4 %	95,2 %	71,9 %	92,2 %	88,1 %	45,6 %	99,6 %	90,3 %
	Culture	79/96	377/383	456/479	69/96	353/383	422/479	26/57	271/272	297/329
<i>G. vaginalis</i>		95,2 %	100 %	95,3 %	—	—	—	—	—	—
	Coloration de Gram	118/124	5/5	123/129	—	—	—	—	—	—
	Culture	98,3 %	100 %	98,4 %	—	—	—	—	—	—
		118/120	9/9	127/129	—	—	—	—	—	—
Toutes les patientes		Affirm VPIII			Préparation humide			Coloration de Gram		
MICROORGANISME	Méthode de référence	Sensibilité	Spécificité	Exactitude	Sensibilité	Spécificité	Exactitude	Sensibilité	Spécificité	Exactitude
Espèces de <i>Candida</i>		80,6 %	98,2 %	95,3 %	60 %	94,0 %	88,2 %	44,4 %	99,3 %	92,1 %
	Culture	100/124	605/616	705/740	74/124	579/616	653/740	28/63	418/421	446/484
<i>G. vaginalis</i>		83,8 %	100 %	89,0 %	—	—	—	—	—	—
	Coloration de Gram	171/204	95/95	266/299	—	—	—	—	—	—
	Culture	89,0 %	99,1 %	92,6 %	—	—	—	—	—	—
		170/191	107/108	277/299	—	—	—	—	—	—
<i>T. vaginalis</i>		92,8 %	99,9 %	98,9 %	—	—	—	—	—	—
	Préparation humide	103/111	740/741	843/852	—	—	—	—	—	—
	Culture de 5 à 7 jours	89,6 %	99,9 %	98,5 %	82,6 %	99,6 %	97,3 %	—	—	—
		103/115	736/737	839/852	95/115	734/737	829/852	—	—	—
SANS CONCILIATION (BRUTE)		Affirm VPIII			Préparation humide			Coloration de Gram		
MICROORGANISME	Méthode de référence	Sensibilité	Spécificité	Exactitude	Sensibilité	Spécificité	Exactitude	Sensibilité	Spécificité	Exactitude
Espèces de <i>Candida</i>		79,3 %	95,0 %	92,3 %	67,1 %	88,9 %	85,2 %	42,6 %	98,5 %	89,4 %
	Culture	65/82	377/397	442/479	55/82	353/397	408/479	23/54	271/275	294/329
<i>G. vaginalis</i>		95,1 %	83,3 %	94,6 %	—	—	—	—	—	—
	Coloration de Gram	117/123	5/6	122/129	—	—	—	—	—	—
	Culture	98,1 %	40,9 %	88,4 %	—	—	—	—	—	—
		105/107	9/22	114/129	—	—	—	—	—	—
Toutes les patientes		Affirm VPIII			Préparation humide			Coloration de Gram		
MICROORGANISME	Méthode de référence	Sensibilité	Spécificité	Exactitude	Sensibilité	Spécificité	Exactitude	Sensibilité	Spécificité	Exactitude
Espèces de <i>Candida</i>		78,0 %	95,9 %	93,2 %	54,1 %	91,8 %	86,2 %	41,7 %	98,6 %	91,5 %
	Culture	85/109	605/631	690/740	59/109	579/631	638/740	25/60	418/424	443/484
<i>G. vaginalis</i>		83,5 %	96,0 %	87,6 %	—	—	—	—	—	—
	Coloration de Gram	167/200	95/99	262/299	—	—	—	—	—	—
	Culture	87,5 %	81,7 %	84,9 %	—	—	—	—	—	—
		147/168	107/131	254/299	—	—	—	—	—	—
<i>T. vaginalis</i>		91,8 %	98,1 %	97,4 %	—	—	—	—	—	—
	Préparation humide	90/98	740/754	830/852	—	—	—	—	—	—
	Culture de 5 à 7 jours	89,2 %	99,3 %	98,0 %	82,0 %	99,1 %	96,8 %	—	—	—
		99/111	736/741	835/852	91/111	734/741	825/852	—	—	—

\*Sensibilité = TP/(TP+FN); Spécificité = TN/(TN+FP); Exactitude = (TP+TN)/(TP+FP+FN+TN)

**VERWENDUNGSZWECK**

Der Mikrobiologische Identifizierungstest **Affirm VPIII** ist ein DNA-Sondentest, der dafür entwickelt wurde, die Nukleinsäure von *Candida*-Spezies, *Gardnerella vaginalis* und *Trichomonas vaginalis* in der Vaginallflüssigkeit von Patienten mit Symptomen von Vaginitis/Vaginose zu erkennen und zu identifizieren.

**ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG**

Vaginitis, eines der am häufigsten vorkommenden Probleme in der klinischen Medizin, ist verantwortlich für mehr als 10 Millionen Patientenbesuche pro Jahr.<sup>1</sup> Die drei Hauptkategorien von Vaginitis sind bakterielle Vaginose (BV), Hefen-Vaginitis (Candidiasis), und *T. vaginalis* vaginitis (Trichomoniasis). BV ist die häufigste vaginale Infektion, und macht je nach Patientenanteil 15 bis 50 % der Vaginitis/Vaginose aus.<sup>2,3</sup> Wenn auch *G. vaginalis* nicht länger für die einzige Ursache von BV gehalten wird, so wird es immer noch für eines der Hauptbakterien gehalten, welche zu der Infektion beitragen. Diese Infektion führt zu einer Zunahme der anaeroben Bakterien und einer Reduzierung der normalen *Lactobacillus*-Flora. Die Komplikationen von BV können besonders bei schwangeren Frauen von Bedeutung sein, und zu einem vermehrten Risiko von Schwangerschaftserschwerung führen,<sup>4,5</sup> wie vorzeitige Geburtswehen<sup>6</sup> und vorzeitige Geburt.<sup>7,8</sup> Darüber hinaus deuten neuere Untersuchungen darauf hin, dass BV-verwandte Bakterien im Endometrium die Ursache von Endometritis und Beckenentzündungen sein können, unabhängig von *Neisseria gonorrhoeae* und *Chlamydia trachomatis*- Infektionen.<sup>9</sup> BV ist auch ein Risikofaktor bei der Entwicklung von post-operativer Hysterektomie-Manschetten-Zellulitis.<sup>10</sup> Vaginale Candidiasis ist die zweithäufigste Form von vaginaler Infektion, die in den verschiedenen Kliniken beobachtet wird.<sup>3</sup> Dreiviertel aller erwachsenen Frauen erleiden wenigstens eine vaginale Candida-Infektion in ihrem Leben, wobei 40 bis 50 % eine zweite Infektion erleben. Ungefähr 5 % der erwachsenen weiblichen Bevölkerung leidet an wiederholter, oft hartnäckigen Hefeninfektion.<sup>3</sup> Nach vorsichtigen Schätzungen befällt Trichomoniasis, eine nicht meldepflichtige Geschlechtskrankheit, weltweit jährlich 180 Millionen Frauen.<sup>11</sup> In den Vereinigten Staaten infizieren sich schätzungsweise 3 Millionen Frauen jedes Jahr mit Trichomoniasis.<sup>12</sup> Schwangere Frauen, die *T. vaginalis* -positiv reagieren, haben eine höhere Wahrscheinlichkeit von vorzeitigem Membrandurchbruch,<sup>7</sup> wie auch von vorzeitigen Geburtswehen und vorzeitiger Geburt.<sup>13</sup> *T. vaginalis* ist ein Risikofaktor für die Entwicklung von post-operativen, gynäkologischen Infektionen.<sup>14,15</sup> Hinzu kommt, dass *T. vaginalis* ein Risikofaktor für die Entwicklung von post-operativer Hysterektomie-Manschetten-Zellulitis ist.<sup>16</sup>

Labor-Methoden zur Identifizierung dieser Organismen sind mikroskopische Bewertung, Amin-Test, Gramfärbung, pH-Wert-Bestimmung und Anlegen von Kulturen.

**VERFAHRENSPRINZIP**

Der mikrobiologische Identifizierungstest **Affirm VPIII** basiert auf dem Prinzip der Nukleinsäure-Hybridisierung. Beim Nukleinsäure-Hybridisierungstest paaren sich komplementäre Nukleinsäurestränge und bilden spezifische doppelsträngige Komplexe, die Hybride genannt werden.

Der Test verwendet zwei unterschiedliche einsträngige Nukleinsäuresonden für jeden Organismus, eine Einfangsode und eine Farbreaktionssonde, welche zu der einzigartigen genetischen Sequenz des Zielorganismus komplementär sind. Die Einfangsonden sind auf der Oberfläche von Perlen immobilisiert und die Perlen sind auf einer Sonden-Analysekarte (PAC) eingebettet, welche für jeden Organismus verschiedene Perlen enthält. Die Farbreaktionssonden sind in einer Reagenzkassette (RC) mit mehreren Vertiefungen enthalten.

Während der Probenvorbereitung wird die Probe mit Lysislösung (L) behandelt und erhitzt. Dieser Prozess bricht die Zellwände der Organismen auf und setzt die zu analysierenden Nukleinsäuren frei. Eine zweite Lösung (Pufferlösung B) wird hinzugefügt. Diese Lösung stabilisiert die Nukleinsäuren und erzeugt ein Milieu, das für diese spezifische Hybridisierung erforderlich ist. An Zu diesem Zeitpunkt wird die Probe zusammen mit der PAC in die erste Vertiefung der Reagenzkassette (RC) gegeben und die automatische Prozedur beginnt. Der **BD MicroProbe** Prozessor transportiert die PAC von einer Vertiefung der Reagenzkassette (RC) zur nächsten. Die Hybridisierung erfolgt an den PAC-Perlen in der ersten und zweiten Vertiefung der Reagenzkassette (RC). Die Hybridisierung der zu analysierenden Probe mit der Einfangsode auf der Perle erfolgt in Vertiefung 1, und die Hybridisierung der Farbreaktionssonden erfolgt in Vertiefung 2. Alle nicht gebundenen Probenkomponenten und Sonden werden danach in Vertiefung 3 durch Waschen entfernt. Enzymkonjugat bindet sich an das eingefangene Analysenmaterial in Vertiefung 4. Nicht gebundenes Konjugat wird in den Vertiefungen 5 und 6 durch Waschen entfernt. In Vertiefung 7 wird das Indikatortsubstrat in ein blaufarbiges Produkt umgewandelt, falls gebundenes Enzymkonjugat auf der Perle vorhanden ist. Der letzte Schritt ist die Ablesung der Resultate der Farbreaktion auf jeder Perle des Zielorganismus und auf den Blindwerten.

**REAGENZILIEN****Mitgeliefertes Arbeitsmaterial**

**Sonden-Analysekarten (PAC) (24 oder 120 Tests):** Einzeln verpackte Karten, eingewickelt in Filterpapier, das mit 0,1 % iger (Gewichtsprozent) Natriumazidlösung als Konservierungsmittel befeuchtet ist. Jede Karte enthält die folgenden 5 Perlen: Blindprobe, *Trichomonas*, *Gardnerella*, *Candida*, und positive Kontrollprobe.

**Reagenzkassetten (RC) (24 oder 120 Tests):** Die Reagenzien befinden sich in Kassetten mit mehrfachen Vertiefungen, die mit Folie versiegelt sind. Jede Kassette weist 7 Vertiefungen auf. Von vorn nach hinten gesehen, enthalten die Vertiefungen:

- |                         |   |
|-------------------------|---|
| <b>Vertiefung Nr. 1</b> | Patientenprobe, wird leer geliefert   |
| <b>Vertiefung Nr. 2</b> | Hybridisierungslösung, 350 µL: Farbreaktionssonde, Formamid, Puffersalzlösung |
| <b>Vertiefung Nr. 3</b> | Waschlösung, 750 µL: Detergens, Pufferlösung, Konservierungsmittel (Proclin)  |
| <b>Vertiefung Nr. 4</b> | Konjugat, 500 µL: Enzym-Konjugat, Konservierungsmittel (Proclin)              |
| <b>Vertiefung Nr. 5</b> | Waschlösung 750 µL: Detergens, Pufferlösung, Konservierungsmittel (Proclin)   |

**Vertiefung Nr. 6** Waschlösung 750 µL: Detergens, Pufferlösung, Konservierungsmittel (Proclin)

**Vertiefung Nr. 7** Substratpuffer, 500 µL: Gepufferte Peroxidlösung

**Substratlösung (S), (Rote Kappe, 3,4 mL für 24 Tests; Fläschchen, 12 mL für 120 Tests):** einzeln verpackt im Folienbeutel; Indikatorsubstrat, Stabilisierungsmittel, Alkohol

**Lysislösung (L), (Blaue Kappe, 10,8 mL für 24 Tests; Fläschchen, 48 mL für 120 Tests):** Pufferlösung, Konservierungsmittel (Proclin)

**Pufferlösung (B), (Grüne Kappe, 15 mL für 24 Tests; Fläschchen, 72 mL für 120 Tests):** Puffersalzlösung, Formamid

**Filterspitzen (FT) (24 oder 120 Tests)**

**Probenkappen (SCC) (24 Tests)\***

**Probenröhrchen (SCT) (24 Tests)\***

**Voreingekeimte, sterile Tupfer vereinzelt verpackt (24 Tests)\***

**\*Nicht im Kit mit 120 Tests enthalten.**

**Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial**

Erhältlich von BD:

- **Affirm** VPiII-System zum Transport bei Raumtemperatur
- **Affirm** VPiII Probenentnahme Satz
- **BD MicroProbe** Prozessor
- **BD MicroProbe** Lysisblock
- Thermometer
- Geeignete Pipette zur Abgabe von 120 Test Lysier- und Pufferlösung

**Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen**

*In-Vitro*-Diagnostikum.

Vor Gebrauch lesen Sie bitte sorgfältig die Anleitungen.

Verwenden Sie zur Probenentnahme nur das **Affirm** VPiII Raumtemperatur-Transportsystem, den **Affirm** VPiII Probenentnahme-Satz oder die Tupfer, mit dem mikrobiologischen Identifizierungstest Kit **Affirm** VPiII geliefert wurden. Verwenden Sie nur Vaginalflüssigkeitsproben von Patienten mit Symptomen von Vaginitis/Vaginose. Bei jedem Testlauf die Temperatur des Lyseblocks ( $85 \pm 5$  °C) überprüfen und sicherstellen, dass während des Tests die Umgebungstemperatur bei 22 – 28 °C liegt.

**Substratlösung (S):** Die Substanz enthält Alkohol und ist brennbar. Nicht in die Nähe von Hitze, Funken oder Flammen bringen. Halten Sie den Behälter dicht verschlossen, um Verdampfung zu verhindern.

Filterpapier, mit welchem der PAC eingepackt ist: Das Filterpapier ist mit Natriumazidlösung (0.1 %, Gewichtsprozent) angefeuchtet. Sehr giftig beim Einatmen, bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken. Bei Kontakt mit Säuren werden sehr giftige Gase freigesetzt. Bei Kontakt mit Haut sofort gründlich mit Wasser waschen.

Die Reagenzien enthalten Bestandteile, die ätzend oder reizauslösend sein können, wenn sie mit Haut, Augen oder Schleimhaut in Kontakt kommen. Tragen Sie Handschuhe, Schutzbrille und Laborkittel und beachten Sie die Standard-Laboratoriums-Vorsichtsmaßnahmen beim Umgang mit diesen Chemikalien. Rufen Sie einen Arzt, wenn Sie etwas davon verschlucken. Im Falle von Haut- oder Augenkontakt, spülen Sie mit viel Wasser.

**Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z. B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die "Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen"<sup>17-20</sup> sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten.**

Richtlinien zur ordnungsgemäßen Handhabung und Entsorgung sind aufzustellen. Patientenproben, die versehentlich verschüttet werden, müssen sofort aufgewischt und die betroffene Fläche muss mit einem entsprechenden Desinfektionsmittel gereinigt werden. Die Reinigungsmaterialien als biologischen Gefahrenmüll behandeln.

Der sterile Tupfer sollte nicht verwendet werden, wenn die Packung offen oder beschädigt ist. Vermeiden Sie, die Perlen zu berühren. Vermeiden Sie, die Spitzen der Tropfenflaschen zu kontaminieren. Verwenden Sie die Reagenzien nicht nach Ablauf des Verfallsdatums.

Der Tupfer ist nur für den Einmalgebrauch bestimmt. Eine Wiederverwendung kann zu einem Infektionsrisiko und/oder ungenauen Ergebnissen führen.

**Vorbereitung der Reagenzien:**

Alle Materialien werden gebrauchsfertig geliefert.

**Aufbewahrung der Reagenzien:**

Der **Affirm** VPiII Testkit ist stabil bis zu dem auf dem Kit angegebenen Verfallsdatum, wenn er bei 2 – 8 °C aufbewahrt wird. Bei Lagerung unter Raumtemperatur (bis zu 30 °C) beträgt die Haltbarkeit nicht mehr als 3 Monate. Vor Gebrauch alle Reagenzien und PACs auf 22 – 28 °C bringen. Zur Bequemlichkeit, lagern Sie alle Reagenzien nach dem Öffnen bei Raumtemperatur. Wenn sie im Kühlschrank aufbewahrt wurden, lassen Sie diese wenigstens 30 Min bei Raumtemperatur stehen, bevor Sie sie benutzen.

Hinweis: Die Pufferlösung (B) bildet einen Niederschlag, wenn sie im Kühlschrank aufbewahrt wird. Lassen Sie die Lösung 30 Min lang auf Raumtemperatur erwärmen. Danach schütteln Sie die Flasche 10 – 15 s bis der Niederschlag gelöst ist.

**Anzeichen von Zersetzung**

Anzeichen von möglicher Reagenzienzersetzung nach Beendigung des Tests sind: Der positive Kontrollwert ist NICHT blau. Der Blindwert ist nicht NICHT farblos.

## PROBENTNAHME, LAGERUNG UND TRANSPORT

### Probenentnahme

Die Probenentnahme ist ein kritischer Schritt. Das Personal, welches Vaginalflüssigkeitsproben entnimmt, sollte gut geschult werden, um die Möglichkeit von kontaminierten Proben gering zu halten. Verwenden Sie zur Probenentnahme nur das **Affirm VP18** Raumtemperatur-Transportsystem, den **Affirm VP18** Probenentnahme-Satz oder die Tupfer, die mit dem mikrobiologischen Identifizierungstest Kit **Affirm VP18** mitgeliefert wurden. **Für andere Tests, z.B. Objektträgerkulturen, sollten separate Tupfer verwendet werden.**

### Vaginalflüssigkeits-Probenentnahme

1. Das Probenröhrchen (SCT) mit den Patienten-/Laborkennenden beschriften. Notieren Sie auch die Uhrzeit der Probenentnahme.
2. Patientin Position zur Beckenuntersuchung einnehmen lassen. Ein Spekulum in die Vagina einführen, um das hintere Scheidengewölbe sichtbar zu machen.\*
3. Unter Verwendung des sterilen Tupfers mit Polyesterspitze einen Abstrich des hinteren Vaginalgewölbes vornehmen. Den Tupfer zwei- bis dreimal an der Vaginalwand entlang rollen oder drehen und dabei sicherstellen, dass der gesamte Tupferumfang mit der Vaginalwand in Berührung kommt. Die laterale Vaginalwand abtupfen, während der Tupfer herausgezogen wird.
4. Unmittelbar danach den Tupfer in das Probenröhrchen stecken (SCT).
5. Ergreifen Sie den voreingekerbten Tupfergriff gerade oberhalb der Röhrchenöffnung, wobei der Tupfer den **BODEN** des Probenröhrchens berühren sollte, und biegen sie den Tupfer bis er abbricht. Wenn der Tupfer voll in das Probenröhrchen eingeführt ist, ist die Tupferkerbe ungefähr 1 cm oberhalb der Röhrchenöffnung. Entsorgen Sie den abgebrochenen Griff in einem Behälter für infektiösen Abfall.
6. Den Deckel des Probenentnahmeröhrchens auf das herausragende Ende des Tupfers setzen und fest auf das Probenentnahmeröhrchen drücken. Der Deckel rastet auf dem Röhrchen ein, wenn er fest sitzt.

\*Im Rahmen der klinischen Studien erhielten die Studienstandorte die Anweisung, Spekula ohne Gleitmittel zu verwenden. Lesen Sie dazu den Abschnitt "Störsubstanzen".

### Probenlagerung und Transport

Wenn Sie das **Affirm VP18** Raumtemperatur-Transportsystem (ATTS) verwenden: Die Gesamtzeit zwischen Probenentnahme und Beginn der Probenvorbereitung sollte nicht länger als 72 h betragen, wenn die Probe bei Raumtemperatur (15 – 30 °C) aufbewahrt wird. Das System ist auch für den gekühlten Transport (2-8 °C) geeignet.

Wenn Sie entweder den **Affirm VP18** Probenentnahme-Satz oder die Tupfer, die im mikrobiologischen Identifizierungstest-Kit **Affirm VP18** enthalten sind, verwenden: Die Gesamtzeit zwischen dem Zeitpunkt, wo Sie die Probe in das Probenröhrchen stecken und dem Beginn der Probenvorbereitung sollte nicht länger als 1 h betragen, wenn die Probe bei Raumtemperatur gelagert wird, bzw. 4 h, wenn die Probe bei 2 – 8 °C gelagert wird.

## VERFAHREN

**Bevor Sie weitermachen, lesen Sie bitte sorgfältig die Anleitungen.**

### Probenvorbereitung

**Bitte sehen Sie sich das Verfahrensablaufdiagramm an, welches mit dem BD MicroProbe Prozessor geliefert wird.**

1. Überprüfen Sie, ob der **BD MicroProbe** Lyseblock 85 ± 5 °C anzeigt, und die Reagenzien Raumtemperatur (22 – 28 °C) haben und gut gemischt sind.
2. Entfernen Sie die Kappe des Probenröhrchens (SCT), wobei Sie sich vergewissern, dass der Tupferstiel fest in der Kappe sitzt. 12 Tropfen oder 0,4 mL Lysislösung (L) zum Probenröhrchen hinzufügen. Beim Eintropfen halten Sie die Tropfenflasche senkrecht.
3. Mischen Sie den Tupfer mit dem Röhrcheninhalt, indem Sie ihn kräftig herumwirbeln und gegen die innere Wandung des Röhrchens wenigstens 10 s auf und ab bewegen, oder 2 – 4 Sek. mit dem Vortexmischer mischen.
4. Platzieren Sie den Tupfer mit Kappe wieder in das Röhrchen und verschließen Sie es, um ein Austrocknen zu vermeiden.
5. Stellen Sie das Röhrchen zum Erhitzen in eine Vertiefung des Lysisblocks.
6. Inkubieren Sie das Röhrchen im Lysisblock 10 Min lang (wenigstens 10 Min, aber nicht länger als 20 Min). Verwenden Sie für diesen Schritt eine Stoppuhr.
7. Entfernen Sie das Röhrchen aus dem Lysisblock.
8. 12 Tropfen oder 0,6 mL gut gemischte Pufferlösung (B) zum Röhrchen mit dem Tupfer hinzufügen. Vermeiden Sie dabei, dass die Spitze der Flasche das Röhrchen berührt.
9. Die Kappe wieder fest auf das Probenröhrchen aufsetzen und mischen, indem das Röhrchen kräftig 10 Mal gewendet wird, oder 2 – 4 Sek. mit dem Vortexmischer mischen.
10. Um mit der automatischen Probenverarbeitung fortzufahren, entfernen Sie die Flüssigkeit so weit wie möglich vom Tupfer, indem Sie ihn über den Flüssigkeitsspiegel heben und wenigstens fest gegen die Innenwand des Röhrchens drücken. Entsorgen Sie die Tupfer in einem Biohazard-Behälter. Drücken Sie eine Filterspitze (FT) fest auf jedes Probenentnahme-Röhrchen (SCT).

Hinweis: Die vorbereiteten Proben können bis zu 24 Stunden bei Raumtemperatur gelagert werden.

### Automatische Probenverarbeitung

Hinweis: Bevor Sie fortfahren, überprüfen Sie bitte, ob alle Reagenzien Raumtemperatur (22 – 28 °C) haben, und dass bei jedem Testlauf die Umgebungstemperatur 22 – 28 °C beträgt.

**Bitte sehen sich das Verfahrensablaufdiagramm an, welches mit dem BD MicroProbe Prozessor geliefert wird.**

1. Falls die Programmkarte für den mikrobiologischen Identifizierungstest **Affirm VP18** nicht bereits im **BD MicroProbe** Prozessor ist, stecken Sie die Programmkarte in den Schlitz auf der rechten Frontseite des Instruments, sodass die bedruckte Seite nach

- oben zeigt und der Pfeil auf das Instrument gerichtet ist. Stellen Sie sicher, dass der Prozessor abgeschaltet ist, wenn die Karte eingesteckt wird. **Der Prozessor ist abgeschaltete, wenn an der Bedienungstafel keine Lampe leuchtet.**
2. **Einschalten des Geräts Der Prozessorarm** wird sich während dieses Anfangsschritts in die Grundstellung bewegen. Während Sie mit der Prozedur weitermachen, verfolgen Sie die Eingabeaufforderungen auf der Prozessoranzeige. Wenn zusätzliche Hilfe benötigt wird, drücken Sie auf den Knopf [HELP].
  3. Entfernen Sie den Kassettenwagen vom Prozessor. Es ist leichter, die Proben einzusetzen, wenn der Wagen nicht im Prozessor ist.
  4. Verwenden Sie für jede zu testende Probe eine Reagenzienkassette (RC) und notieren Sie mit einem Filzstift auf der Frontseite der Reagenzienkassette (RC) die Patienten-/Probenbezeichnung. Entfernen Sie vorsichtig die Folie von der Kassette, indem Sie die Folie von der Seite abziehen, die KEINE aufwärts gebogene Lasche besitzt. Platzieren Sie die Reagenzienkassetten (RC) auf den Kassettenwagen, indem Sie ihn von der Mitte nach den Seiten hin beladen und die Zahl der Kassetten auf jeder Seite des Arms so gleichmäßig wie möglich ausbalancieren.
  5. Öffnen Sie den Beutel, der die PAC enthält, ziehen Sie die PAC ein wenig aus dem Beutel heraus und beschriften Sie die PAC an der vorgesehenen Stelle mit den Patienten-/Laborkennndaten.
  6. Drücken Sie auf den Knopf [RUN]. Sie erhalten die Aufforderung "Substrat zugeben." Geben Sie 4 Tropfen (0.1 mL) Substratlösung (S) in die Vertiefung #7 der Reagenzienkassette (RC). Verschließen Sie die Flasche mit der Kappe, um ein Eintrocknen zu verhindern.
  7. Drücken Sie auf den Knopf [RUN]. Sie erhalten die Aufforderung "Probe zugeben." Jede(s) Probenentnahme-Röhrchen (SCT)/Filterspitze (FT) soll mit der entsprechend beschrifteten Reagenzienkassette (RC) übereinstimmen. Kehren Sie das Probenentnahme-Röhrchen (SCT) um und drücken Sie kräftig den gesamten Inhalt jedes Röhrchens durch die Filterspitze (FT) in die Vertiefung Nr. 1 der entsprechenden Reagenzienkassette (RC). Entsorgen Sie die Patienten-Probenröhrchen einem Biohazard-Behälter. Schaum an der Filterspitze zeigt an, dass die gesamte Probe entleert wurde.
  8. Drücken Sie auf den Knopf [RUN]. Sie erhalten die Aufforderung "Platzieren Sie die PAC." Platzieren Sie eine beschriftete PAC in Vertiefung 1 jeder entsprechend beschrifteten Reagenzienkassette (RC). Vermeiden Sie, die Perlen zu berühren.
  9. Drücken Sie auf den Knopf [RUN]. Sie erhalten die Aufforderung "Platzieren Sie den Wagen." Stellen Sie den Kassettenwagen vorsichtig auf den Prozessor zurück, wobei Sie darauf achten keine Reagenzien zu verspritzen. Stellen Sie sicher, dass der Wagen fest auf allen vier Passtiften sitzt.
  10. Drücken Sie wieder auf den Knopf [RUN]. Der Arm des Prozessors bewegt sich weiter. Der Prozessor wird die PACs automatisch aufnehmen und durch die Testprozedur transportieren. Das Instrument beginnt mit Betriebsablauf und zeigt an "Bitte warten. Probenverarbeitung läuft 32:50" wobei die verbleibenden Min am Zeitgeber angezeigt werden. Am Ende der Verarbeitungszeit, ertönt ein akustisches Signal und das Instrument legt die PAC zum Herausnehmen bereit.
  11. Entfernen Sie die PAC und tupfen Sie sie mit einem Papierhandtuch vorsichtig trocken. Interpretieren Sie die Ergebnisse jeder Probe unmittelbar nach Beendigung des Tests. Die PAC sollte gegen einen weißen Hintergrund bei Normalbeleuchtung betrachtet werdend.

**Hinweis: Entfernen Sie die PACs aus dem Prozessor, bevor Sie den Knopf [RUN] drücken, um eine zweite Serie zu starten.**

## QUALITÄTSKONTROLLE

Der mikrobiologische Identifizierungstest **Affirm** VPIII enthält auf jeder PAC zwei interne Kontrollen: Mikropartikel für die positive und die negative Kontrolle. Diese Kontroll-Mikropartikel werden gleichzeitig mit jeder Patientenprobe getestet, und garantieren so die ordnungsgemäße Funktion von PAC, Reagenzienkassette (RC) und Prozessor. Die Positivkontrolle gewährleistet auch, dass keine Störfaktoren durch die Probe selbst hervorgerufen werden, während die Negativkontrolle nachweist, dass die Probe keine unspezifischen Bindungen eingeht.

Das Mikropartikel der Positivkontrolle färbt sich bei einem ordnungsgemäß funktionierenden Test nach Probenverarbeitung blau, wohingegen das Mikropartikel der Negativkontrolle farblos bleibt, d. h. eine Blaufärbung ausbleibt. Die Testergebnisse, und damit auch die Patientenergebnisse, sind ungültig und nicht zu verwerten, wenn die Positivkontrolle sich nicht blau färbt und/oder die Negativkontrolle nicht farblos bleibt.

Jede Reagenziencharge muss auf adäquate Lyse der Proben und Freisetzung der Ziel-Nukleinsäure getestet werden, indem mit einem Tupfer eine frische Indikatorkultur (18 – 24 h Wachstumszeit) oder ein handelsübliches Präparat von *Candida albicans* (ATCC 18804, 14053, 10231 oder 60193) ausgestrichen wird. Da *Trichomonas vaginalis* und *Gardnerella vaginalis* leichter als *Candida*-Spezies lysieren, reicht für die Gewährleistung einer adäquaten Lyse der Proben ein Testen mit *Candida*-Spezies aus. Eine ausreichende Lyse der Proben ist bestätigt, wenn der Test mit *Candida albicans* folgende Ergebnisse zeigt: der *Candida*-Mikropartikel ist blau, die *Gardnerella*- und *Trichomonas*-Mikropartikel bleiben farblos; sowie korrekte Ergebnisse für die internen Kontrollen (d. h. das Mikropartikel der Positivkontrolle ist blau, das für die Negativkontrolle farblos).

Zur weiteren Überprüfung der Testleistung kann mit frischen Indikatorkulturen (18 – 24 h Wachstumszeit) oder handelsüblichen Präparaten eine Qualitätskontrolle mit *C. albicans* (ATCC 10231), *T. vaginalis* (ATCC 30001) und *G. vaginalis* (ATCC 14018) durchgeführt werden.

Hat die Qualitätskontrolle (QC) mit allen drei Organismen gezeigt, dass die Ergebnisse für die internen Kontrollen korrekt sind (d. h. das Mikropartikel der Positivkontrolle ist blau, das für die Negativkontrolle farblos), können die Ergebnisse wie folgt interpretiert werden:

1. Patientenergebnisse können herausgegeben werden, wenn die Mikropartikel für alle drei Organismen eine Blaufärbung zeigen.
2. Zeigt das *Candida*-Mikropartikel keine Blaufärbung, ist die gesamte QC ungültig. Störungen der QC müssen untersucht werden. Patientenergebnisse in dem Fall nicht verwenden. Setzen Sie sich mit Ihrer örtlichen BD-Vertretung in Verbindung.
3. Zeigen nur die *Candida*- und *Gardnerella*-Mikropartikel eine Blaufärbung, das *Trichomonas*-Mikropartikel jedoch nicht, ist die QC für *Candida* und *Gardnerella* gültig. In diesem Fall können nur die Patientenergebnisse für *Candida* und *Gardnerella* verwendet werden. Störungen der QC müssen untersucht werden. Setzen Sie sich mit Ihrer örtlichen BD-Vertretung in Verbindung.

4. Zeigen nur die *Candida*- und *Trichomonas*-Mikropartikel eine Blaufärbung, das Mikropartikel für *Gardnerella* aber nicht, ist die QC für *Candida* und *Trichomonas* gültig. In diesem Fall können nur die Patientenergebnisse für *Candida* und *Trichomonas* verwendet werden. Störungen der QC müssen untersucht werden. Setzen Sie sich mit Ihrer örtlichen BD-Vertretung in Verbindung.

Die Qualitätskontrollen müssen unter Einhaltung der örtlich, landesweit und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder der Auflagen der Akkreditierungsorganisationen sowie der Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen. Anwendern wird geraten, sich über geeignete Maßnahmen zur Qualitätskontrolle an die einschlägigen CLSI-Richtlinien (vormals NCCLS) und CLIA-Vorschriften zu halten.

## AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Die Ergebnisse werden durch die Anwesenheit oder das Fehlen von Farbe auf der Test-Perle bestimmt. Die Anwesenheit von jeglicher sichtbaren blauen Farbe auf der Perle des Zielorganismus, soweit man sie gegen einen weißen Hintergrund sehen kann, ist ein positives Ergebnis. Das Fehlen jeglicher sichtbaren blauen Farbe auf der Perle des Zielorganismus ist ein negatives Ergebnis.

Ein positives Ergebnis bei *Candida*, *Gardnerella* und/oder *Trichomonas* bedeutet, Nukleinsäure von *Candida*-Spezies (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*), bzw. bei *G. vaginalis* und/oder *T. vaginalis*, ist in der Probe vorhanden, und zeigt an, dass der Patient Candidiasis, bakterielle Vaginose, und/oder Trichomoniasis hat, wenn dies in Übereinstimmung mit den klinischen Anzeichen und Symptomen steht. Gleichzeitige Infektionen mit mehr als einem Organismus sind häufig.

Negative Ergebnisse bei *Candida*-, *Gardnerella*- oder *Trichomonas*-Tests weisen darauf hin, dass der Patient keine Candidiasis, bakterielle Vaginose und/oder Trichomoniasis hat, wenn dies mit den klinischen Anzeichen und Symptomen übereinstimmt.

## VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Der Test ist zur Verwendung mit dem **Affirm** VP VIII Raumtemperatur-Transportsystem, dem **Affirm** VP VIII Probenentnahme-Satz oder mit den Tupfern, die mit dem mikrobiologischen Identifizierungstest Kit **Affirm** VP VIII mitgeliefert wurden, bestimmt. Andere Methoden der Probenentnahme wurden nicht getestet.

Optimale Testergebnisse erfordern entsprechende Probenentnahme. Testergebnisse können durch unsachgemäße Probenentnahme, Handhabung, und/oder Lagerungsbedingungen beeinflusst werden. Ein negatives Testergebnis schließt die Möglichkeit einer Vaginitis/Vaginose nicht aus.

Bei Verwenden des **Affirm** VP VIII Transportsystems (ATTS) können Proben, die über 72 h bei Raumtemperatur (15 – 30 °C) oder gekühlt (2 – 8 °C) gelagert werden, falsche Ergebnisse liefern. Wenn bei der Verwendung des **Affirm** VP VIII Probenentnahme-Kits oder der Tupfer des mikrobiologischen Identifizierungs-Kit **Affirm** VP VIII, Proben vor der Probenaufbereitung länger als 1 h bei Raumtemperatur oder 4 h bei 2 – 8 °C gelagert werden, so kann dies zu falschen Resultaten führen. Bei aufbereiteten Proben, die vor der Verarbeitung länger als 24 h bei Raumtemperatur gelagert wurden, können ungenaue Ergebnisse auftreten.

Für diesen Test muss die Umgebungstemperatur 22 – 28 °C betragen.

Ein negatives Resultat bei *Candida*, *Gardnerella* und/oder *Trichomonas* bedeutet, dass Nukleinsäure von weniger als  $1 \times 10^4$  *Candida*-Zellen,  $2 \times 10^5$  CFU von *G. vaginalis* oder  $5 \times 10^3$  Trichomonaden, in der Patientenprobe vorhanden sein können.

Der mikrobiologische Identifizierungstest **Affirm** VP VIII entdeckt die Gegenwart von *G. vaginalis* bei Konzentrationen, die höher als  $2 \times 10^5$  CFU pro Patientenprobe liegen. Der Diagnosewert dieser Erkennungsgrenze ist nicht definitiv.

Das Vorhandensein von *G. vaginalis* ist nicht diagnoseentscheidend für eine bakterielle Vaginose, obwohl es auf eine derartige Erkrankung hinweisen kann. Wie bei vielen klinischen Situationen, sollte eine Diagnose nicht auf dem Ergebnis eines einzelnen Labortests basieren. Ergebnisse sollten in Verbindung mit anderen klinischen und Laboratordaten interpretiert werden, die dem Kliniker zur Verfügung stehen, wie pH, Amingeruch, Schlüsselzellen und vaginale Ausscheidungscharakteristika.

Frauen mit vaginalen Ausscheidungen sollten auf Risikofaktoren für Cervicitis und Beckenentzündungen untersucht werden und, falls vorhanden, auf das Vorkommen von anderen Organismen, wie *N. gonorrhoeae* und *C. trachomatis*.

Vaginitis/Vaginose wird am häufigsten von *G. vaginalis*, *Candida*-Spezies, und *T. vaginalis* verursacht. Vaginitissymptome kann man auch beim Toxic Shock Syndrome (verursacht durch *Staphylococcus aureus*) beobachten oder sie können durch unspezifische Faktoren oder spezifische Organismen verursacht werden. Mischinfektionen können vorkommen. Deshalb schließt ein Test, welcher das Vorkommen von *Candida*-Spezies, *G. vaginalis*, und/oder *T. vaginalis* anzeigt, nicht die Gegenwart von anderen Organismen aus, wie *Mobiluncus mulieris*, *Mycoplasma hominis*, und/oder *Prevotella bivia*.

*Cryptococcus neoformans* reagiert bei Konzentrationen von größer als  $1 \times 10^8$  Hefen/mL mit dem mikrobiologischen Identifizierungstest **Affirm** VP VIII für *Candida*-Spezies. *C. neoformans* wird jedoch nur selten in der Vagina angetroffen.

*M. mulieris* bei Konzentrationen höher als  $4 \times 10^6$  Bakterien/mL und *Bifidobacterium dentium* bei Konzentrationen größer als  $8 \times 10^5$  Bakterien/mL können unspezifisch mit dem mikrobiologischen Identifizierungstest **Affirm** VP VIII für *G. vaginalis* reagieren. *B. dentium* wird jedoch selten in der Vagina angetroffen.

Die mikrobiologische Identifizierungstestmethode **Affirm** VP VIII ist für die Untersuchung von Vaginalflüssigkeitsproben von Patienten mit Symptomen von Vaginitis/Vaginose bestimmt. Das Verhalten des Tests bei anderen Proben oder anderen Patientengruppen wurde nicht untersucht.

Ebenso ist das Verhalten dieses Tests bei Patientenproben, die während oder unmittelbar nach einer Antibiotika-Therapie entnommen wurden, unbekannt. Die Anwesenheit oder Abwesenheit von *Candida*-Spezies, *G. vaginalis* oder *T. vaginalis* kann nicht als Test für einen Erfolg oder Misserfolg von Therapiemaßnahmen verwendet werden.

Verfälschung von Reagenzien oder das Versäumnis, die Anweisungen, wie sie in der Anleitung beschrieben wurden, genau zu befolgen, kann die Leistungsfähigkeit des Tests ungünstig beeinflussen, wie auf dem Etikett beschrieben ist.

## ZU ERWARTENDE WERTE UND LEISTUNGSMERKMALE

Unabhängige Wissenschaftler haben den mikrobiologischen Identifizierungstest **Affirm** VP VIII in Vaginalflüssigkeitsproben auf *Candida*-Spezies, *G. vaginalis* und *T. vaginalis* untersucht. Die Proben waren von Frauen, welche Symptome von Vaginitis/Vaginose aufwiesen, oder von Frauen, die mit einem hohen Risiko von Infektion belastet waren.<sup>21</sup>

Die Wissenschaftler etablierten zunächst eine einwandfreie Diagnose einer bakteriellen Vaginosis, Candidiasis oder Trichomoniasis. Eine Probe wurde auch zur Analyse mit dem mikrobiologischen Identifizierungstest **Affirm** VP8II entnommen und verarbeitet. Zusätzlich sammelten die Wissenschaftler Proben, die an ein Laboratorium für Kulturenisolation und Identifizierung gesandt wurden, um Ausstriche mittels Gramfärbung zu analysieren.

### **Candida-Spezies**

Die Empfindlichkeit und Spezifität des mikrobiologischen Identifizierungstests **Affirm** VP8II für *Candida*-Spezies wurde durch Vergleich mit konventionellen Methoden der Mikroskopie und durch Anlegen von Bakterienkulturen festgestellt. Bei 479 Frauen mit klinischen Anzeichen und Symptomen von Hefen-Vaginitis und bei 261 Frauen mit hohem Risikofaktor, die aus anderen Gründen untersucht wurden, einschließlich Schwangerschaft (n=186), Familienplanung, oder weil sie in Kontakt mit STD-positiven Patienten waren, wurde die Leistungsfähigkeit des **Affirm** VP8II Tests bei *Candida*-Spezies geprüft und mikroskopische Untersuchungen wurden vorgenommen. Die stellt eine Gesamtzahl von 740 Patienten dar, die dem Test unterworfen wurde. Eine klinisch signifikante Konzentration von Hefekulturisolaten (>10<sup>4</sup> CFU pro mL Vaginalflüssigkeit) wurde als Vergleichsmethode verwendet, da in der Literatur gezeigt wurde, dass diese Konzentration bei Hefe-Vaginitis gefunden wird. Ungefähr 15 % der getesteten Patientenproben waren auf einem klinisch signifikanten Niveau positiv für Hefen, sowohl im **Affirm** VP8II Test, als auch durch Bakterienkultur-Isolierung.

In Fällen von falsch-positiven Ergebnissen, bei denen der **Affirm** VP8II positiv und das Vergleichsergebnis negativ war, wurden andere Methoden verwendet, um die **Affirm** VP8II Resultate zu bestätigen. Die abgestimmte Empfindlichkeit/Spezifität für Patienten mit anfänglichen vaginalen Beschwerden (n=479) und allen Patienten (n=740) war 82 %/98,4 % bzw. 81 %/98,2 %. Der **Affirm** VP8II Test ist empfindlicher als "wet mount" oder Gramfärbung, wenn man klinisch signifikante Kulturen zugrundelegt. Siehe Tabelle 1.

Die nicht abgestimmte Empfindlichkeit/Spezifität des **Affirm** VP8II Tests verglichen mit klinisch signifikanten Kulturen bei Patienten mit anfänglichen vaginalen Beschwerden (n=479) und für alle Patienten (n=740) war 79 %/95 % bzw. 78 %/95,9 %. Siehe Tabelle 1.

### **Gardnerella vaginalis**

Die Empfindlichkeit und Spezifität des mikrobiologischen Identifizierungstests **Affirm** VP8II für *G. vaginalis* wurde durch Vergleich mit einer konventionellen Mikroskopiemethode und durch Anlegen von Bakterienkulturen bei 299 Patienten festgestellt. Der **Affirm** VP8II Test wurde mit klinisch signifikant Konzentrationen von *G. vaginalis*, welche zu >10<sup>5</sup> CFU pro mL Vaginalflüssigkeit bestimmt wurde, verglichen.<sup>13</sup> Von den 299 Patienten, die auf BV untersucht wurden, waren 51 % (152) positiv basierend auf Gramfärbung und 56 % (168) positiv basierend auf klinisch signifikanten Kulturen.

In Fällen von falsch-positiven Ergebnissen, in den der **Affirm** VP8II positiv und das Vergleichsergebnis negativ war, wurden andere Methoden verwendet, um die **Affirm** VP8II Resultate zu bestätigen. Die abgestimmte Empfindlichkeit/Spezifität des **Affirm** VP8II Tests im Vergleich zu klinisch signifikanten Kultur-Konzentrationen und Gramfärbungsmorphologie für Patienten mit klinischer BV unter 3 von 4 Amstel-Kriterien (n=129) betrug 98 %/100 % bzw. 95 %/100 %. Die abgestimmte Empfindlichkeit/Spezifität des **Affirm** VP8II Tests im Vergleich zu klinisch signifikanten Kultur-Konzentrationen und Gramfärbungs-Morphologie für alle Patienten (n=299) betrug 89 %/99 % bzw. 84 %/100 %. Die Bewertung des **Affirm** VP8II Tests bei allen Frauen war sowohl empfindlich als auch spezifisch im Vergleich zu der Identifizierung von *G. vaginalis* durch Gramfärbungsmorphologie oder durch klinisch signifikante Kulturkonzentrationen. Siehe Tabelle 1.

Die nicht abgestimmte Empfindlichkeit/Spezifität des **Affirm** VP8II Tests im Vergleich zu klinisch signifikanten Kultur-Konzentrationen und Gramfärbungsmorphologie für Patienten mit klinischer BV unter 3 von 4 Amstel-Kriterien (n=129) betrug 98 %/41 % bzw. 95 %/83 %. Die nicht abgestimmte Empfindlichkeit/Spezifität des **Affirm** VP8II Tests im Vergleich zu klinisch signifikanten Kultur-Konzentrationen und Gramfärbungsmorphologie für alle Patienten (n=299) betrug 88 %/82 % bzw. 84 %/96 %. Siehe Tabelle 1.

### **Trichomonas vaginalis**

Die Empfindlichkeit/Spezifität des mikrobiologischen Identifizierungstests **Affirm** VP8II/Tests für *T. vaginalis* wurde durch Vergleich mit konventioneller Mikroskopiemethodik und durch Anlegen von Bakterienkulturen bei allen 852 Patienten festgestellt. Von den 852 Patienten, die ausgewertet wurden, waren 11 % (98) positiv, basierend auf "wet mount", und 13 % (111) waren positiv, basierend auf klinisch signifikante Kulturen.

In Fällen von falsch-positiven Ergebnissen, in den der **Affirm** VP8II positiv und das Vergleichsergebnis negativ war, wurden andere Methoden verwendet, um die **Affirm** VP8II Resultate zu bestätigen. Die abgestimmte Empfindlichkeit/Spezifität des mikrobiologischen Identifizierungstests **Affirm** VP8II/Tests für *T. vaginalis* betrug im Vergleich zu "wet mount" und klinisch signifikanten Kulturen 93 %/99,9 % bzw. 90 %/99,9 %. In dieser klinischen Bewertung war der mikrobiologische Identifizierungstest **Affirm** VP8II in Bezug auf Empfindlichkeit vergleichbar mit 5 bis 7 Tagen Kulturisolat von *T. vaginalis*. Siehe Tabelle 1.

Die nicht abgestimmte Empfindlichkeit/Spezifität des **Affirm** VP8II Tests im Vergleich zu "wet mount" und klinisch signifikanten Kulturen (5-7 Tage) für alle Patienten betrug 92 %/98 % bzw. 89 %/99 %. Siehe Tabelle 1.

### **Mischinfektionen und BV**

Die Daten einer Untergruppe der insgesamt 289 Patienten in dieser klinischen Studie wurden dadurch zusammengestellt, dass man den behandelnden Kliniker eine Diagnose von bakterieller Vaginosis, Candidiasis und Trichomoniasis basierend auf Vaginalausscheidungen, pH, Amingeruch und "wet mount"-Resultaten aufstellen ließ. Die durchschnittliche Fähigkeit des behandelnden Arztes, eine Diagnose von BV unter Verwendung von 3 bis 4 klinischen Anzeichen und Symptomen aufzustellen, belief sich auf 75 % (89/118). Bei Frauen, die keine andere Ursache für ihre vaginalen Symptome außer BV hatten, beliefen sich die Diagnose-Fähigkeiten des Arztes auf 82 % (79/96). Bei Patienten, die Mischinfektionen hatten d.h. Candidiasis oder Trichomoniasis zusätzlich zur BV, betrug die Fähigkeit des behandelnden Arztes, BV zu diagnostizieren, 45 % (10/22). Behandelnde Kliniker hatten größere Schwierigkeiten BV in Gegenwart von Mischinfektionen zu diagnostizieren. Hier betrug die Empfindlichkeit ihrer Anfangsdiagnose 45 %, während die Empfindlichkeit ihrer Anfangsdiagnose bei Einzelinfektionen 82 % betrug. Die Diagnose-Berichte von BV waren bei Patienten mit Mischinfektionen unterrepräsentiert.

## Nicht-Klinische Ergebnisse

Eine Gesamtheit von 88 Isolaten, welche 34 verschiedene Arten von Mikroorganismen umfasst, identifiziert durch Isenberg et al.<sup>22</sup> als klinisch relevant für den Urogenitaltrakt, wurden mit dem mikrobiologischen Identifizierungstest **Affirm** VPIII auf Spezifität geprüft.

<i>Acinetobacter</i> sp. (1)	<i>Corynebacterium</i> spp. (1)	<i>Listeria monocytogenes</i> (1)	<i>Porphyromonas</i> sp. (1)
<i>Actinomyces</i> sp. (1)	<i>Cryptococcus neoformans</i> (1)	<i>Mobiluncus</i> spp. (3)	<i>Propionibacterium</i> sp. (1)
<i>Bacteroides</i> spp. (4)	<i>Entamoeba</i> sp. (1)	<i>Mycobacterium</i> sp. (1)	<i>Pseudomonas</i> sp. (1)
<i>Branhamella</i> sp. (1)	Enterobacteriaceae (5)	<i>Mycoplasma hominis</i> (1)	<i>Staphylococcus</i> spp. (3)
<i>Bifidobacterium</i> sp. (1)	Enterococcus sp. (1)	<i>Neisseria</i> spp. (2)	<i>Streptococcus</i> spp. (3)
<i>Campylobacter</i> sp. (1)	<i>Fusobacterium</i> sp. (1)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (1)	<i>Trichomonas vaginalis</i> (9)
<i>Candida</i> spp. (16)	<i>Gardnerella vaginalis</i> (10)	<i>Peptococcus</i> sp. (1)	<i>Ureaplasma urealyticum</i> (1)
<i>Chlamydia trachomatis</i> (2)	<i>Haemophilus ducreyi</i> (1)	<i>Peptostreptococcus</i> spp. (3)	<i>Veillonella</i> sp.(1)
<i>Clostridium</i> spp. (2)	<i>Lactobacillus</i> spp. (3)	<i>Prevotella</i> spp.(2)	

Alle Organismen, außer *Cryptococcus neoformans* und *Candida*-Spezies, waren bei einer Konzentration von 10<sup>8</sup> Organismen/mL im mikrobiologischen Identifizierungstest **Affirm** VPIII für *Candida*-Spezies nicht reaktiv.

Alle Organismen, außer *M. mulieris*, *B. dentium* und *G. vaginalis* waren im mikrobiologischen Identifizierungstest **Affirm** VPIII für *G. vaginalis* bei einer Konzentration von 10<sup>8</sup> Organismen/mL nicht reaktiv. *M. mulieris* war nicht reaktiv bei einer Konzentration von 4 x 10<sup>6</sup> Bakterien/mL, und *B. dentium* war nicht reaktiv bei 8 x 10<sup>5</sup> Bakterien/mL. *B. dentium* wird nur selten von der Vagina isoliert.<sup>23</sup> Die meisten *Bifidobacterium* sp. und Stämme von *B. dentium* werden von anderen Körperstellen isoliert, die nicht zur Vagina oder zum Urogenitaltrakt gehören.

Alle Organismen, außer *T. vaginalis*, waren bei einer Konzentration von 10<sup>8</sup> Organismen/mL im mikrobiologischen Identifizierungstest **Affirm** VPIII für *T. vaginalis* nicht reaktiv.

## Analytische Empfindlichkeit

Der mikrobiologische Identifizierungstest **Affirm** VPIII für *Candida*-Spezies kann folgende Konzentrationen nachweisen: 1 x 10<sup>4</sup> CFU von *Candida*-Spezies in der Log-Phase pro Test, 2 x 10<sup>5</sup> CFU von *G. vaginalis* in der Log-Phase pro Test und 5 x 10<sup>3</sup> Trichomonaden pro Test.

## Störsubstanzen

In klinischen Studien konnte keine Störanfälligkeit für vaginale Gleitmittel oder Duschen, Monatsregel oder Spermizide entdeckt werden.

Bei den analytischen Studien wurden keine Interferenzen mit wasserbasierten vaginalen Gels festgestellt.

## Reproduzierbarkeit

Das **Affirm** System wurde an drei typischen Kliniken durch drei verschiedene erstmalige Benutzer (praktische Krankenschwestern) auf Reproduzierbarkeit innerhalb von Serien und zwischen Serien getestet. Jede Gruppe bewertete 24 kodierte Proben, die aus 12 positiven und 12 negativen Proben bestanden. Vier Durchläufe mit 6 Proben pro Durchlauf wurden von jeder Gruppe ausgeführt. An allen drei Kliniken wurde vollständige Übereinstimmung für jede Probe erzielt. Dies beweist die Reproduzierbarkeit und einfache Benutzbarkeit des **Affirm**-Systems innerhalb von Serien, zwischen Serien und zwischen verschiedenen Kliniken.

## LIEFERBARE PRODUKTE

Best.-Nr.	Beschreibung
446252	<b>Affirm</b> VPIII Mikrobiologischer Identifizierungstest, 24 Tests
446257	<b>Affirm</b> VPIII Mikrobiologischer Identifizierungstest, 120 Tests
446251	<b>Affirm</b> VPIII Probenentnahme-Tupfer, Großpackung, 100 Tupfer
446250	<b>Affirm</b> VPIII Probenentnahme-Satz, 24 Sätze
446255	<b>Affirm</b> VPIII Raumtemperatur-Transportsystem (72-h-Transportsystem), 100 Systeme
250100	<b>BD MicroProbe</b> Prozessor (120 Volt)
211918	<b>BD MicroProbe</b> Prozessor (220/240 Volt)

LITERATURNACHWEIS: S. Referenzen im englischen Text.

**TABELLE 1**  
**ABGESTIMMT**  
**Symptomatische Patienten**

**Affirm VP111** **“Wet Mount“** **Gramfärbung**

ORGANISMUS	Ref. Methode	Empfindlichkeit	Spezifität	Affirm VP111	Genauigkeit:	Empfindlichkeit	Spezifität	“Wet Mount“	Genauigkeit:	Empfindlichkeit	Spezifität	Gramfärbung	Genauigkeit:	Empfindlichkeit	Spezifität
<i>Candida</i> sp.	Kultur	82,3 %	98,4 %	377/383	95,2 %	71,9 %	92,2 %	353/383	88,1 %	45,6 %	99,6 %	297/329	90,3 %	45,6 %	271/272
<i>G. vaginalis</i>	Gramfärbung	95,2 %	100 %	5/5	95,3 %	69/96	95,3 %	—	422/479	2/657	—	—	—	—	—
	Kultur	118/124	100 %	98,4 %	123/129	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Kultur	118/120	9/9	98,4 %	127/129	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

**Alle Patienten**

ORGANISMUS	Ref. Methode	Empfindlichkeit	Spezifität	Affirm VP111	Genauigkeit:	Empfindlichkeit	Spezifität	“Wet Mount“	Genauigkeit:	Empfindlichkeit	Spezifität	Gramfärbung	Genauigkeit:	Empfindlichkeit	Spezifität
<i>Candida</i> sp.	Kultur	80,6 %	98,2 %	605/616	95,3 %	60 %	94,0 %	705/740	88,2 %	44,4 %	99,3 %	446/484	92,1 %	44,4 %	418/421
<i>G. vaginalis</i>	Gramfärbung	83,8 %	100 %	95/95	89,0 %	74/124	99,6/16	579/616	653/740	28/63	418/421	446/484	—	—	—
	Kultur	89,0 %	99,1 %	107/108	92,6 %	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>T. vaginalis</i>	“Wet Mount“	92,8 %	99,9 %	103/111	98,9 %	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	5-7 Tage-Kultur	89,6 %	99,9 %	740/741	84,3/852	82,6 %	99,6 %	97,3 %	829/852	—	—	—	—	—	—
	Kultur	103/115	736/737	839/852	95/115	734/737	829/852	—	—	—	—	—	—	—	—

**NICHT ABGESTIMMT**

**Symptomatische Patienten**

ORGANISMUS	Vgl.-Methode	Empfindlichkeit	Spezifität	Affirm VP111	Genauigkeit:	Empfindlichkeit	Spezifität	“Wet Mount“	Genauigkeit:	Empfindlichkeit	Spezifität	Gramfärbung	Genauigkeit:	Empfindlichkeit	Spezifität
<i>Candida</i> sp.	Kultur	79,3 %	95,0 %	377/397	92,3 %	67,1 %	88,9 %	353/397	85,2 %	42,6 %	98,5 %	89,4 %	89,4 %	42,6 %	271/275
<i>G. vaginalis</i>	Gramfärbung	95,1 %	83,3 %	5/6	94,6 %	55/62	—	—	408/479	23/54	—	—	—	—	—
	Kultur	117/123	40,9 %	88,4 %	122/129	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Kultur	105/107	9/22	114/129	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

**Alle Patienten**

ORGANISMUS	Vgl.-Methode	Empfindlichkeit	Spezifität	Affirm VP111	Genauigkeit:	Empfindlichkeit	Spezifität	“Wet Mount“	Genauigkeit:	Empfindlichkeit	Spezifität	Gramfärbung	Genauigkeit:	Empfindlichkeit	Spezifität
<i>Candida</i> sp.	Kultur	78,0 %	95,9 %	605/631	93,2 %	54,1 %	91,8 %	579/631	86,2 %	41,7 %	98,6 %	91,5 %	91,5 %	41,7 %	418/424
<i>G. vaginalis</i>	Gramfärbung	83,5 %	96,0 %	95/99	87,6 %	—	—	—	638/740	25/60	418/424	443/484	—	—	—
	Kultur	87,5 %	81,7 %	107/131	84,9 %	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>T. vaginalis</i>	“Wet Mount“	90,98	91,8 %	740/754	98,1 %	97,4 %	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	5-7 Tage-Kultur	89,2 %	99,3 %	830/852	98,0 %	82,0 %	99,1 %	96,8 %	829/852	—	—	—	—	—	—
	Kultur	99/111	736/741	835/852	91/111	734/741	825/852	—	—	—	—	—	—	—	—

\*Empfindlichkeit = TP/(TP+FN); Spezifität = TN/(TN+FP); Genauigkeit (TP+TN)/(TP+FP+FN+TN)

**USO PREVISTO**

Il test di identificazione batterica **Affirm VPIII** è una sonda di DNA destinata alla rilevazione ed all'identificazione dell'acido nucleico delle specie *Candida*, *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis* in campioni di fluido vaginale prelevati da pazienti esibenti sintomi di vaginite/vaginosi.

**SOMMARIO E SPIEGAZIONE**

La vaginite, uno dei problemi più comuni della medicina clinica, causa oltre 10 milioni di visite ambulatoriali annue.<sup>1</sup> Le tre categorie principali di vaginite comprendono la vaginosi batterica (VB), la vaginite da miceti (candidiasi) e la vaginite da *T. vaginalis* (tricomoniasi). La VB costituisce l'infezione vaginale più comune e causa il 15 – 50% di vaginiti/vaginosi a seconda della popolazione delle pazienti.<sup>2,3</sup> Sebbene la *G. vaginalis* non sia più considerata l'unico agente eziologico della VB, rimane tuttavia uno dei principali batteri contribuenti a questa infezione, caratterizzata dall'aumento dei batteri anaerobici e dalla diminuzione della flora normale di *Lactobacillus*. Le complicazioni della VB possono essere particolarmente significative nelle donne gravide, accrescendo i rischi di esito sfavorevole della gravidanza<sup>4,5</sup> quali il travaglio<sup>6</sup> ed il parto prematuro.<sup>7,8</sup> Inoltre, è stato recentemente suggerito che i batteri associati alla VB nell'endometrio possano costituire gli agenti eziologici della endometrite e della malattia flogistica pelvica, indipendentemente dall'infezione da *Neisseria gonorrhoeae* e da *Chlamydia trachomatis*.<sup>9</sup> La VB rappresenta anche un fattore di rischio per lo sviluppo post-isterectomia di cellulite della cuffia.<sup>10</sup> La candidiasi vaginale è la seconda forma di infezione di vaginale riscontrata più comunemente in vari ambienti clinici.<sup>3</sup> Tre quarti di tutte le donne adulte soffrono almeno un episodio di candidiasi vaginale nel corso della vita ed il 40 – 50% evidenziano un secondo episodio. Circa il 5% della popolazione femminile adulta soffre di micosi ricorrenti e spesso intrattabili.<sup>3</sup> E' stato stimato che la tricomoniasi, una malattia venerea per la quale non sussiste obbligo di denuncia, colpisce ogni anno 180 milioni di donne in tutto il mondo.<sup>11</sup> Negli Stati Uniti d'America si stima che 3 milioni circa di donne contraggano la tricomoniasi ogni anno.<sup>12</sup> Le donne gravide positive al *T. vaginalis* presentano maggiore probabilità sia di rottura prematura delle membrane,<sup>7</sup> che di travaglio e di parto prematuro.<sup>13</sup> *T. vaginalis* è un fattore di rischio quanto allo sviluppo di infezioni ginecologiche postoperatorie<sup>14,15</sup> e di cellulite della cuffia post-isterectomia.<sup>16</sup>

I metodi di laboratorio per l'identificazione di questi organismi comprendono la valutazione microscopica, il test dell'ammina, la colorazione di Gram, la valutazione del pH e la coltura.

**PRINCIPI DELLA PROCEDURA**

Il test di identificazione batterica **Affirm VPIII** è basato sul principio di ibridazione dell'acido nucleico. Nei test di ibridazione dell'acido nucleico, i filamenti complementari di acido nucleico si allineano per formare complessi specifici a filamento doppio, detti ibridi.

Il test usa due sonde distinte di acido nucleico a filamento singolo per ciascun organismo, una sonda di cattura ed una sonda di sviluppo cromatico, complementari alle sequenze genetiche uniche degli organismi bersaglio. Le sonde di cattura sono immobilizzate su una microsfera incorporata nella scheda di analisi delle sonde PAC (o Probe Analysis Card), che contiene una microsfera separata per ciascun organismo bersaglio. Le sonde di sviluppo cromatico sono contenute in una cassetta di reagenti multipozzetto RC (o Reagent Cassette).

Durante la preparazione dei campioni, il campione viene trattato con la soluzione lisante (L) e riscaldato. Questo processo lacera le pareti dell'organismo, liberando l'analita dell'acido nucleico. L'aggiunta di una seconda soluzione, la soluzione tampone (B o Buffer), stabilizza l'acido nucleico e stabilisce le condizioni di stringenza necessarie per l'ibridazione specifica. A questo punto, il campione viene aggiunto nel primo pozzetto della cassetta di reagenti RC assieme alla scheda PAC e sottoposto al trattamento automatico. Il processore **BD MicroProbe** trasferisce la PAC da un pozzetto della cassetta RC a quello successivo. L'ibridazione ha luogo sulle microsfere PAC nel primo e nel secondo pozzetto della cassetta RC. L'ibridazione dell'analita con la sonda di cattura della microsfera ha luogo nel pozzetto 1, mentre l'ibridazione delle sonde di sviluppo cromatico avviene nel pozzetto 2. Tutti i componenti non legati del campione e delle sonde vengono eliminati tramite lavaggio nel pozzetto 3. Il coniugato enzimatico si lega all'analita catturato nel pozzetto 4. Il coniugato non legato viene lavato nei pozzetti 5 e 6. Nel pozzetto 7, se il coniugato enzimatico è presente sulla microsfera, il substrato indicatore viene convertito in un prodotto di colore blu. L'ultima fase prevede la lettura dello sviluppo cromatico su ciascuna delle microsfere di organismo bersaglio e dei controlli.

**REAGENTI****Materiali forniti**

**Schede di analisi delle sonde PAC (Probe Analysis Card) (24 o 120 test)** Schede in confezione individuale, avvolte in un foglio di carta assorbente inumidito con una soluzione conservante di azoturo di sodio (0,1%, p/v). Ciascuna scheda contiene le cinque microsfere seguenti: controllo negativo, *Trichomonas*, *Gardnerella*, *Candida* e controllo positivo.

**Cassette dei reagenti RC (Reagent Cassette) (24 o 120 test)** I reagenti sono sigillati in cassette multipozzetto, coperte con carta metallizzata. Ciascuna cassetta ha sette pozzetti. A partire dalla parte anteriore della cassetta, i pozzetti contengono:

<b>Pozzetto no 1</b>	Serbatoio del campione della paziente, fornito vuoto
<b>Pozzetto no 2</b>	Soluzione di ibridazione, 350 µL: sonda di sviluppo cromatico, formammide, soluzione caotropa tamponata
<b>Pozzetto no 3</b>	Soluzione di lavaggio, 750 µL: detergente, soluzione tampone, conservante (Proclin)
<b>Pozzetto no 4</b>	Coniugato, 500 µL: coniugato, conservante (Proclin)
<b>Pozzetto no 5</b>	Soluzione di lavaggio, 750 µL: detergente, soluzione tampone, conservante (Proclin)
<b>Pozzetto no 6</b>	Soluzione di lavaggio, 750 µL: detergente, soluzione tampone, conservante (Proclin)
<b>Pozzetto no 7</b>	Tampone di substrato, 500 µL: soluzione tamponata di perossido

**Soluzione di substrato S, (tappo rosso, 3,4 mL per 24 test; flacone, 12 mL per 120 test):** soluzione in confezione singola in foglio di alluminio; substrato indicatore, agente stabilizzante, alcool

**Soluzione lisante L, (tappo blu, 10,8 mL per 24 test; flacone, 48 mL per 120 test):** detergente, soluzione tampone, conservante (Proclin)

**Soluzione tampone B (tappo verde, 15 mL per 24 test; flacone, 72 mL per 120 test):** soluzione caotropica tamponata, formammide

**Puntali filtranti FT (filter tips) (24 o 120 test)**

**Tappi di prelievo del campione (SCC) (o Sample Collection Cap) (24 test)\***

**Provette di prelievo del campione (SCT) (o Sample Collection Tube) (24 test)\***

**Tamponi sterili, pre-incisi, in confezione individuale (24 test)\***

**\*Non incluso nel kit da 120 test.**

**Materiali richiesti ma non forniti**

Disponibili presso la BD:

- Sistema di trasporto a temperatura ambiente **Affirm VPIII**
- Set di prelievo dei campioni **Affirm VPIII**
- Processore **BD MicroProbe**
- Blocco per lisi **BD MicroProbe**
- Termometro
- Pipetta adatta alla dispensazione di soluzione lisante e soluzione tampone per 120 test

**Avvertenze e precauzioni**

Per uso diagnostico *in vitro*.

Leggere attentamente tutte le istruzioni prima dell'uso.

Ai fini della raccolta dei campioni, usare solamente il sistema di trasporto a temperatura ambiente **Affirm VPIII**, un set di prelievo dei campioni **Affirm VPIII** o i bastoncini ovattati forniti nel kit di test di identificazione batterica **Affirm VPIII**. Usare solamente campioni di fluido vaginale prelevato da pazienti evidenziando sintomi di vaginite/vaginosi. Ad ogni ciclo di test, monitorare la temperatura del blocco lisante ( $85 \pm 5^\circ\text{C}$ ) e verificare che la temperatura ambiente sia compresa tra  $22$  e  $28^\circ\text{C}$ .

Soluzione di substrato (S): contiene alcool ed è combustibile. Va tenuta lontana dal calore, dalle scintille e dalle fiamme. Mantenere ben chiuso il contenitore per evitare l'evaporazione.

Foglio di carta assorbente attorno alla PAC: la carta è inumidita con azoturo di sodio (0,1%, p/v), una sostanza altamente tossica se inalata, posta a contatto con la pelle o ingerita. A contatto con acidi, libera gas altamente tossici. In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente con abbondanti quantità d'acqua.

I reagenti contengono ingredienti potenzialmente irritanti o caustici se posti a contatto con la pelle, con gli occhi o con le membrane mucose. Indossare guanti, occhiali di protezione ed camicia da laboratorio, adottando le normali precauzioni per la movimentazione. In caso di ingestione, richiedere l'intervento di un medico. In caso di contatto con la pelle o gli occhi, lavare abbondantemente con acqua.

**I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e i virus dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle linee guida dell'istituto e alle "Precauzioni standard".<sup>17-20</sup>**

Stabilire metodi di manipolazione e di smaltimento appropriati. Raccogliere immediatamente i versamenti dei campioni dei pazienti e disinfettare con un disinfettante appropriato. Trattare i materiali di pulizia come rifiuti a rischio biologico.

Non usare il tampone sterile se la confezione risulta aperta o danneggiata. Evitare di toccare le microsfele. Evitare di contaminare i puntali dei contagocce. Non usare un reagente oltre la rispettiva data di scadenza.

Il tampone è esclusivamente monouso; il riutilizzo può causare rischio di infezione e/o risultati inaccurati.

**Preparazione dei reagenti**

Tutti i reagenti sono forniti pronti per l'uso.

**Conservazione dei reagenti:**

Il kit di test **Affirm VPIII** è stabile fino alla data di scadenza indicata sulla scatola del kit, purché venga conservato a  $2 - 8^\circ\text{C}$ . Alternativamente, conservare il kit a temperatura ambiente (fino a  $30^\circ\text{C}$ ) per non più di 3 mesi. Tutti i reagenti e le PAC devono essere a  $22 - 28^\circ\text{C}$  prima dell'uso. Per maggior comodità, conservare tutti i reagenti a temperatura ambiente dopo l'apertura. Se vengono refrigerati, i campioni devono essere lasciati riposare a temperatura ambiente per almeno 30 min prima dell'uso.

Nota: La soluzione tampone B precipita se refrigerata. Riportare la soluzione a temperatura ambiente lasciandola riposare per almeno 30 min poi agitare il flacone per 10 - 15 s, in modo da sciogliere tutti i precipitati.

**Indicazioni di instabilità**

Le indicazioni di possibile deterioramento dei reagenti rilevabili alla fine del test sono: un controllo positivo **NON blu**, un controllo negativo **NON incolore**.

**PRELIEVO, CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEI CAMPIONI**

**Prelievo dei campioni**

Il prelievo dei campioni è una procedura cruciale. Il personale incaricato del prelievo di campioni di fluido vaginale deve essere ben qualificato, in modo da ridurre al minimo l'incidenza di campioni inadeguati. Ai fini del prelievo dei campioni, usare solamente il sistema di trasporto a temperatura ambiente **Affirm VPIII**, un set per prelievo di campioni **Affirm VPIII** o i bastoncini

ovattati forniti nel kit del test di identificazione batterica **Affirm VPIII**. Usare bastoncini ovattati diversi per altri test, ad esempio per campioni per coltura o per vetrini da microscopio.

#### Prelievo di campione vaginali

1. Apporre sulla provetta di prelievo del campione SCT una etichetta riportante le informazioni della paziente e l'ora di prelievo.
2. Posizionare la paziente per l'esame pelvico. Inserire lo speculum nella vagina per consentire la visualizzazione del fornice vaginale posteriore.\*
3. Usando un bastoncino ovattato con punta sterile, prelevare un campione dalla fornice vaginale posteriore. Girare o far ruotare due o tre volte il tampone contro la parete vaginale, accertandosi di porne a contatto della parete l'intera circonferenza. Strofinare la parete vaginale laterale durante la rimozione del bastoncino.
4. Inserire immediatamente il bastoncino ovattato nella provetta di prelievo del campione SCT.
5. Dopo aver appoggiato la punta ovattata contro il **FONDO** della provetta, afferrare il bastoncino pre-inciso immediatamente al di sopra della bocca della provetta e piegarlo fino a romperlo. Una volta inserito completamente il bastoncino nella provetta, la pre-incisione dello stelo viene a trovarsi a circa 1 cm sopra la bocca della provetta di prelievo. Gettare lo stelo rotto in un contenitore per rifiuti infettivi.
6. Porre il tappo di prelievo del campione sull'estremità esposta del bastoncino ovattato e premere con decisione il tappo sulla provetta. La buona chiusura del tappo è segnalata da uno scatto positivo.

\*Durante gli studi clinici, ai siti è stato ordinato di utilizzare uno speculum non lubrificato. Consultare la sezione "Sostanze interferenti"

#### Conservazione e trasporto dei campioni

Uso del sistema di trasporto a temperatura ambiente **Affirm VPIII**: Quando il campione è conservato a temperatura ambiente (15 – 30 °C), il tempo totale intercorrente tra il prelievo e la preparazione del campione non deve eccedere le 72 h. Il sistema è stato inoltre omologato per il trasporto in condizioni di refrigerazione (2 – 8 °C).

Uso del set di prelievo dei campioni **Affirm VPIII** o dei bastoncini ovattati contenuti nel kit del test di identificazione batterica **Affirm VPIII**: Il lasso di tempo totale intercorrente tra l'inserimento nella provetta del bastoncino e la preparazione del campione non deve superare 1 h se il campione è conservato a temperatura ambiente o 4 h se il campione è conservato a 2 – 8 °C.

#### PROCEDURA

**Leggere attentamente tutte le istruzioni prima di eseguire il test.**

#### Preparazione dei campioni

**Fare riferimento alle illustrazioni della scheda procedurale fornita assieme al processore BD MicroProbe.**

1. Verificare che il blocco lisante **BD MicroProbe** sia a  $85 \pm 5$  °C e che i reagenti siano a 22 – 28 °C e ben miscelati.
2. Stappare la provetta di prelievo del campione SCT, accertandosi che lo stelo del bastoncino sia ben inserito nel tappo. Dispensare 12 gocce o pipettare 0,4 mL di soluzione lisante L nella provetta. Durante l'aggiunta delle gocce, mantenere verticale il contagocce.
3. Miscelare il tampone nella provetta, facendo girare e strofinando vigorosamente il bastoncino ovattato in alto ed in basso lungo la parete della provetta, per almeno 10 s, o vortexare la provetta per 2 – 4 s.
4. Inserire il bastoncino ovattato nella provetta e ritapparla per evitare l'evaporazione.
5. Inserire la provetta in un pozzetto del blocco lisante per riscaldarla.
6. Incubare la provetta nel blocco lisante per 10 min (non meno di 10 min e non più di 20 min). A questo fine, usare un timer.
7. Rimuovere la provetta dal blocco lisante.
8. Dispensare 12 gocce o pipettare 0,6 mL di soluzione tampone B ben miscelata nella provetta contenente il bastoncino ovattato. Evitare di toccare la provetta con il puntale del flacone.
9. Ritappare bene la provetta e miscelarne il contenuto battendo con decisione sulla provetta 10 volte, o vortexare la provetta per 2 – 4 s.
10. Per passare all'analisi automatica del campione preparato, rimuovere quanto più fluido possibile dal bastoncino ovattato, sollevando il bastoncino sopra il livello del fluido e premendolo contro la parte della provetta per almeno 10 s. Gettare i bastoncini ovattati in un contenitore per materiali a rischio biologico. Premere saldamente un puntale filtrato su ciascuna provetta di prelievo del campione SCT.

NOTA: I campioni preparati possono essere conservati a temperatura ambiente per un massimo di 24 h.

#### Analisi automatica

Nota: Prima di procedere, accertarsi che tutti i reagenti siano a 22 – 28 °C. Ad ogni ciclo di test, verificare che la temperatura ambiente sia compresa tra 22 e 28 °C.

**Fare riferimento alle illustrazioni della scheda procedurale fornita assieme al processore BD MicroProbe.**

1. Se la scheda di programma del test di identificazione batterica **Affirm VPIII** non è stata già inserita nel processore **BD MicroProbe**, inserirla, dopo averla orientata con il lato stampato verso l'alto e con la freccia in direzione dello strumento, nello slot sul lato anteriore destro dello strumento. **Prima di inserire la scheda, accertarsi che il processore sia spento, come indicato dall'assenza di illuminazione del relativo quadro di comando.**
2. **Accendere il processore.** Il braccio del processore si sposta nella posizione iniziale. Man mano che si esegue la procedura, rispondere ai prompt visualizzati sul display del processore. Per ottenere ulteriori indicazioni, premere il tasto [HELP].
3. Rimuovere il vassoio della cassetta dal processore. Ciò semplifica l'aggiunta dei campioni.
4. Selezionare una cassetta di reagenti RC per ciascun campione da analizzare e registrare sul lato anteriore della cassetta l'identificazione della paziente/campione, usando un pennarello indelebile. Strappare con cura il foglio metallizzato di copertura della cassetta, sollevandolo a partire dall'estremità SENZA l'aletta piegata verso l'alto. Inserire le cassette RC nell'apposito vassoio, caricandole dal centro verso l'esterno e distribuendole su ciascun lato del braccio nel modo più uniforme possibile.

5. Aprire la busta contenente la PAC, estrarre appena la PAC dalla busta e registrare l'identificazione della paziente/campione nell'apposito spazio della scheda.
6. Premere il tasto [RUN]. Appare il prompt "Add Substrate". Dispensare 4 gocce (0,1 mL) di soluzione di substrato S nel pozzetto no 7 della cassetta dei reagenti RC. Tappare il flacone per evitare l'evaporazione.
7. Premere il tasto [RUN]. Appare il prompt "Add Sample". Far corrispondere a ciascuna provetta di prelievo del campione SCT/puntale filtrante FT la corrispondente cassetta dei reagenti RC. Invertire la provetta SCT e spremere accuratamente l'intero contenuto della provetta attraverso il puntale filtrante FT e nel serbatoio del pozzetto no 1 dell'appropriata cassetta RC. Gettare la provetta di prelievo del campione in un contenitore per rifiuti a rischio biologico. La presenza di schiuma sul puntale filtrante è una buona indicazione dell'avvenuto trasferimento dell'intero campione.
8. Premere il tasto [RUN]. Appare il prompt "Place PAC". Inserire una PAC opportunamente etichettata nel pozzetto 1 della corrispondente cassetta RC. Evitare di toccare le microsferi.
9. Premere il tasto [RUN]. Il display visualizza il prompt "Place Caddy". Reinsерire con cura il vassoio delle cassette nel processore, facendo attenzione a non far schizzare i reagenti. Verificare che il vassoio sia ben inserito su tutti e quattro i perni guida.
10. Premere un'altra volta il tasto [RUN]. Il braccio del processore si sposta in avanti. Il processore solleva e trasferisce automaticamente le schede PAC nel corso della procedura di test. Lo strumento dà inizio alla sequenza temporizzata di analisi e visualizza sul display "Please wait. Processing 32:50", indicando i minuti rimanenti del conteggio del timer. Una volta conclusa l'analisi, lo strumento emette un bip e presenta la PAC da rimuovere.
11. Rimuovere la PAC ed asciugarla delicatamente con un asciugamano di carta. Completato il test, interpretare i risultati di ciascun campione con la massima delicatezza. La PAC deve essere osservata contro uno sfondo bianco, in condizioni normali di illuminazione.

**Nota: Rimuovere le PAC dal processore prima di premere il tasto [RUN] per dare inizio ad un ulteriore ciclo di analisi.**

### CONTROLLO DI QUALITÀ

Il test di identificazione batterica **Affirm VPIII** include due controlli interni a microsfera per ogni PAC: una microsfera di controllo positivo e una di controllo negativo. Queste microsferi di controllo sono testate contemporaneamente a ciascun campione di paziente, a garanzia delle buone prestazioni della PAC, della cassetta dei reagenti RC e del processore. Il controllo positivo verifica inoltre l'assenza di interferenza con il campione, mentre quello negativo garantisce l'assenza di legami non specifici del campione. Se il test si svolge correttamente, dopo il trattamento la microsfera del controllo positivo diventa blu e quella del controllo negativo rimane incolore, cioè non diventa blu. Se il controllo positivo non vira al blu e/o quello negativo non rimane incolore, i risultati del test non sono validi e non vanno refertati.

Ciascun lotto di reagente deve essere testato per verificare l'adeguata lisi del campione e il rilascio dell'acido nucleico bersaglio, mediante lo striscio di un tampone di coltura fresca di indicatore (18-24 h di crescita) o di un tampone di *Candida albicans* (ATCC 18804, 14053, 10231 o 60193) disponibile in commercio. Poiché *Trichomonas vaginalis* e *Gardnerella vaginalis* sono lisate più facilmente delle specie *Candida*, è sufficiente testare le specie *Candida* per stabilire l'adeguata lisi del campione. La conferma dell'adeguata lisi del campione è ottenuta quando nel test di *Candida albicans* la microsfera di *Candida* vira al blu, la microsfera di *Gardnerella* rimane incolore, la microsfera di *Trichomonas* rimane incolore e i risultati dei controlli interni sono accettabili (cioè la microsfera del controllo positivo è blu e quella del controllo negativo è incolore).

È possibile eseguire test supplementari di controllo qualità con *C. albicans* (ATCC 10231), *T. vaginalis* (ATCC 30001) e *G. vaginalis* (ATCC 14018) utilizzando colture fresche di questi ceppi (18-24 h di crescita) o tamponi disponibili in commercio.

Se il test di controllo qualità è eseguito con tutti e tre i microrganismi, verificare l'accettabilità dei risultati di entrambi i controlli interni (cioè microsfera blu del controllo positivo e microsfera incolore del controllo negativo) e interpretare i risultati nel modo seguente:

1. Se le microsferi di tutti e tre gli organismi virano al blu, tutti i risultati possono essere refertati.
2. Se la microsfera di *Candida* non vira al blu, l'intero ciclo di controllo qualità va invalidato. Ricercare il motivo della mancata riuscita del test di controllo e non refertare alcun risultato. Contattare il rappresentante BD di zona per assistenza.
3. Se le microsferi di *Candida* e *Gardnerella* virano al blu, ma non invece quella di *Trichomonas*, il test di controllo qualità è valido per *Candida* e *Gardnerella*. Refertare i risultati solo per *Candida* e *Gardnerella*. Ricercare il motivo della mancata riuscita del test di controllo. Contattare il rappresentante BD di zona per assistenza.
4. Se le microsferi di *Candida* e *Trichomonas* virano al blu, ma non invece quella di *Gardnerella*, il test di controllo qualità è valido per *Candida* e *Trichomonas*. Refertare i risultati solo per *Candida* e *Trichomonas*. Ricercare il motivo della mancata riuscita del test di controllo. Contattare il rappresentante BD di zona per assistenza.

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità in uso nel laboratorio. Per una corretta esecuzione delle procedure relative al controllo di qualità, si consiglia di consultare le linee guida CLSI (già NCCLS) e le norme CLIA in materia.

### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I risultati sono determinati dalla presenza o assenza di colorazione della microsfera di test. La presenza di una qualsiasi colorazione blu visibile sulla microsfera dell'organismo bersaglio, osservata contro uno sfondo bianco, indica un risultato positivo. L'assenza di alcuna colorazione blu visibile sulla microsfera dell'organismo bersaglio indica un risultato negativo.

Un risultato positivo per *Candida*, *Gardnerella* e/o *Trichomonas* indica che nel campione è presente acido nucleico delle specie *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*), *G. vaginalis* e/o *T. vaginalis*, rispettivamente, e che la paziente è affetta da candidiasi, vaginosi batterica e/o tricomoniasi, come suggerito dalle manifestazioni e dai sintomi clinici. Le infezioni simultanee da parte di svariati organismi sono comuni.

Risultati negativi dei test per *Candida*, *Gardnerella* o *Trichomonas* indicano che la paziente non è affetta da candidiasi, vaginosi batterica e/o tricomoniasi, rispettivamente, come suggerito dalle manifestazioni e dai sintomi clinici.

## LIMITI DELLA PROCEDURA

Il test è destinato ad essere usato assieme al sistema di trasporto a temperatura ambiente **Affirm** VP8, al gruppo di prelievo dei campioni **Affirm** VP8 o ai bastoncini ovattati forniti assieme al kit del test di identificazione batterica **Affirm** VP8. Non sono stati valutati altri metodi di raccolta.

Il conseguimento di risultati ottimali di test dipende dal prelievo appropriato dei campioni. I risultati possono essere influenzati dalla errori di prelievo, maneggio e/o conservazione. Un risultato negativo non esclude la possibilità di vaginite/vaginosi.

Quando si usa il sistema di trasporto a temperatura ambiente **Affirm** VP8, il mantenimento dei campioni a temperatura ambiente (15 – 30 °C) o in condizioni di refrigerazione (2 – 8 °C) per più di 72 h può produrre risultati falsi. Lo stesso dicasi quando si usa il kit di prelievo dei campioni **Affirm** VP8 o i bastoncini ovattati forniti assieme al kit del test di identificazione batterica **Affirm** VP8 e si mantengono i campioni a temperatura ambiente per più di 1 h o a 2 – 8 °C per oltre 4 h prima della loro preparazione. Infine, anche i campioni preparati e mantenuti per più di 24 h a temperatura ambiente in attesa di analisi possono dar luogo ad artefatti.

La temperatura dell'ambiente in cui si esegue il test deve essere compresa tra 22 e 28 °C.

Un risultato negativo alle specie *Candida*, *Gardnerella* e/o *Trichomonas* indica la possibile presenza nel campione della paziente di acido nucleico derivante da meno di  $1 \times 10^4$  cellule di *Candida*, di  $2 \times 10^5$  CFU di *G. vaginalis* o di  $5 \times 10^3$  CFU di *Trichomonas*, rispettivamente.

Il test di identificazione batterica **Affirm** VP8 rileva la presenza di *G. vaginalis* in concentrazioni superiori a  $2 \times 10^5$  CFU per campione della paziente. Il valore diagnostico di questo livello di rilevazione non è definitivo.

La presenza di *G. vaginalis*, sebbene sia suggestiva, non costituisce una diagnosi di vaginosi batterica. Come è comune in molte situazioni cliniche, la diagnosi non può essere basata sui risultati di un unico test di laboratorio. I risultati devono essere interpretati alla luce di altri dati clinici e di laboratorio disponibili, quali il pH, l'odore di ammina, le caratteristiche delle cellule indizio e delle secrezioni vaginali.

Le donne che soffrono di secrezioni vaginali devono essere valutate in termini sia di fattori di rischio di cervicite e di malattia flogistica pelvica, che di eventuale presenza di altri organismi, *N. gonorrhoeae* e *C. trachomatis* compresi.

La vaginite/vaginosi è causata molto spesso dalle specie *G. vaginalis*, *Candida* e *T. vaginalis*. I sintomi della vaginite sono anche presenti nella sindrome da shock tossico (causata dallo *Staphylococcus aureus*) o possono essere causati da fattori specifici o da organismi specifici. Si possono verificare infezioni miste. Pertanto, l'indicazione della presenza di specie di *Candida*, *G. vaginalis*, e/o *T. vaginalis* non esclude la presenza di altri organismi, comprendenti *Mobiluncus mulieris*, *Mycoplasma hominis*, e/o *Prevotella bivia*.

A concentrazioni superiori a  $1 \times 10^8$  lieviti/mL, il *Cryptococcus neoformans* reagisce con il test di identificazione batterica **Affirm** VP8 per le specie *Candida*. *C. neoformans* è presente solo raramente nella vagina.

*M. mulieris* a concentrazioni superiori a  $4 \times 10^6$  batteri/mL e *Bifidobacterium dentium* a concentrazioni eccedenti gli  $8 \times 10^5$  batteri/mL possono reagire in modo non specifico con il test di identificazione batterica **Affirm** VP8 per *G. vaginalis*. *B. dentium* è presente solo raramente nella vagina.

Il metodo del test di identificazione batterica **Affirm** VP8 va applicato a campioni di fluido vaginale prelevati da pazienti esibenti sintomi di vaginite/vaginosi. Non sono state determinate le prestazioni con altri campioni o altre popolazioni di pazienti.

Il rendimento di questo test su campioni prelevati durante o subito dopo la terapia antibatterica è ignoto. La presenza o meno delle specie *Candida*, *G. vaginalis* o *T. vaginalis* non può fungere da prova del successo terapeutico.

L'adulterazione dei reagenti o la mancata osservanza delle istruzioni per l'uso può influenzare negativamente il rendimento indicato dall'etichetta.

## VALORI PREVISTI E PRESTAZIONI METODOLOGICHE

Il test di identificazione batterica **Affirm** VP8 per le specie *Candida*, *G. vaginalis* e *T. vaginalis* presenti in campioni vaginali è stato valutato da investigatori indipendenti. I campioni sono stati prelevati da donne con sintomi di vaginite/vaginosi o da donne considerate a alto rischio di infezione.<sup>21</sup>

Gli investigatori hanno registrato le diagnosi di vaginosi batterica, candidiasi o tricomoni. I campioni prelevati sono stati sottoposti ad analisi tramite il test di identificazione batterica **Affirm** VP8. Inoltre, gli investigatori hanno prelevato altri campioni che sono stati inviati al laboratorio ai fini dell'isolamento e dell'identificazione delle colture e della preparazione di strisci da sottoporre ad analisi tramite colorazione di Gram.

### Specie *Candida*

La sensibilità e la specificità del test di identificazione batterica **Affirm** VP8 per le specie *Candida* sono state stabilite mettendole a confronto con quelle dei metodi microscopici convenzionali e della coltura. Le prestazioni della microscopia e del test **Affirm** VP8 per le specie *Candida* è stato valutato su 479 donne con segni e sintomi clinici di vaginite da lieviti e su 261 donne ad alto rischio, valutate per qualche altra ragione, compresa la gravidanza (n=186), la pianificazione familiare o il contatto con pazienti affetti da malattie a trasmissione sessuale. Sono state analizzate 740 pazienti in totale. Un livello clinicamente significativo di isolati di coltura di lievito ( $>10^4$  CFU per mL di fluido vaginale) è servito da metodo di confronto, dato che tale livello è risultato associato alla vaginite da miceti. Circa il 15% dei campioni analizzati è risultato positivo ai miceti ad un livello clinicamente significativo sia con il test **Affirm** VP8 che tramite isolamento in coltura.

I casi apparentemente falsopositivi, risultati positivi con il test **Affirm** VP8 e negativi a seguito dei metodi comparativi, sono stati analizzati con metodi alternativi di conferma. La sensibilità/specificicità riconciliata per le pazienti inizialmente colpopatichie (n=479) e per tutte le pazienti analizzate (n=740) è stata pari rispettivamente all'82%/98,4% ed all'81%/98,2%. Il test **Affirm** VP8, a confronto della coltura clinicamente significativa, è più sensibile dell'identificazione dei miceti sia tramite preparazione bagnata che colorazione di Gram. Vedere la tabella 1.

La sensibilità/specificicità non riconciliata del test **Affirm** VP8 rispetto alla coltura clinicamente significativa di campioni tratti da pazienti inizialmente colpopatichie (n=479) e da tutte le pazienti (n=740) è stata rispettivamente pari al 79%/95% ed al 78%/95,9%. Vedere la tabella 1.

## ***Gardnerella vaginalis***

La sensibilità e la specificità del test di identificazione batterica **Affirm** VP111 per *G. vaginalis* sono state stabilite mettendole a confronto con quelle dei metodi microscopici convenzionali e della coltura, su 299 pazienti. Il test **Affirm** VP111 è stato confrontato con livelli clinicamente significativi di *G. vaginalis*, identificati come >10<sup>5</sup> CFU per mL di fluido vaginale.<sup>13</sup> Rispetto alle 299 pazienti valutate per VB, il 51% (152) è risultato positivo in base al punteggio della colorazione di Gram ed il 56% (168) in base a culture clinicamente significative.

I casi apparentemente falsopositivi, risultati positivi con il test **Affirm** VP111 e negativi a seguito dei metodi comparativi, sono stati analizzati con metodi alternativi di conferma. La sensibilità/specificità riconciliata del test **Affirm** VP111 a confronto con i livelli di coltura clinicamente significativi e con la morfologia della colorazione di Gram relativi alle pazienti con VB clinica confermata da 3 criteri di Amstel su 4 (n=129) è stata pari al 98%/100% ed al 95%/100% rispettivamente. La sensibilità/specificità riconciliata del test **Affirm** VP111 per tutte le pazienti (n=299), a confronto dei livelli di coltura clinicamente significativi e del punteggio della colorazione di Gram, è stata pari all'89%/99% ed all'84%/100%, rispettivamente. Se valutato su tutte le donne, il test **Affirm** VP111 si è dimostrato sia sensibile che specifico rispetto all'identificazione di *G. vaginalis*, sia tramite morfologia della colorazione di Gram che mediante livelli di coltura clinicamente significativi. Vedere la tabella 1.

La sensibilità/specificità non riconciliata del test **Affirm** VP111 rispetto alla coltura clinicamente significativa ed alla colorazione di Gram di campioni tratti da pazienti affette da VB in conformità a 3 criteri di Amstel su 4 (n= 129) è stata pari rispettivamente al 98%/41% ed al 95%/83%. La sensibilità/specificità non riconciliata del test **Affirm** VP111 rispetto alla coltura clinicamente significativa ed alla colorazione di Gram per tutte le pazienti (n=299) è risultata pari rispettivamente all'88%/82% ed all'84%/96%. Vedere la tabella 1.

## ***Trichomonas vaginalis***

La sensibilità e la specificità del test di identificazione batterica **Affirm** VP111 per *T. vaginalis* sono state stabilite mettendole a confronto con quelle dei metodi microscopici convenzionali e della coltura in 852 pazienti. Delle 852 pazienti valutate, l'11% (98) è risultato positivo in base alla preparazione bagnata ed il 13% (111) in base alla coltura clinicamente significativa.

I casi apparentemente falsopositivi, risultati positivi con il test **Affirm** VP111 e negativi a seguito dei metodi comparativi, sono stati analizzati con metodi alternativi di conferma. La sensibilità/specificità riconciliata del test di identificazione batterica **Affirm** VP111 per *T. vaginalis* a confronto con la preparazione bagnata e con la coltura clinicamente significativa è stata pari al 93%/99,9% ed al 90%/99,9% rispettivamente. Nel contesto di questa valutazione clinica, la sensibilità del test di identificazione batterica **Affirm** VP111 è stata confrontata con quella di un isolamento in coltura di 5 – 7 giorni di *T. vaginalis*. Vedere la tabella 1.

La sensibilità/specificità non riconciliata del test **Affirm** VP111 rispetto alla preparazione bagnata ed alla coltura clinicamente significativa (5 – 7 giorni) per tutte le pazienti è stata pari rispettivamente al 92%/98% ed all'89%/99%. Vedere la tabella 1.

## **Infezioni miste e VB**

I dati relativi ad una sottopopolazione di 289 pazienti incluse in questo studio clinico sono stati raccolti in base alle diagnosi di vaginosi batterica, candidiasi e tricomoniasi formulate dai medici curanti in base alla secrezione vaginale, al pH, all'odore di ammina ed ai risultati delle preparazioni bagnate. La capacità complessiva dei medici curanti di formulare una diagnosi di VB usando 3 dei 4 segni e sintomi clinici è risultata pari al 75% (89/118). Nelle donne che non presentavano altra causa dei sintomi vaginali ad eccezione della VB, la capacità dei medici curanti è risultata pari all'82% (79/96). Tuttavia, nel caso delle pazienti che soffrivano di infezioni miste, ovvero di candidiasi o tricomoniasi in aggiunta alla VB, la capacità del medico curante di diagnosticare VB è risultata pari al 45% (10/22). I medici curanti hanno avuto maggiori difficoltà nel diagnosticare la VB in presenza di infezioni miste, con una sensibilità diagnostica iniziale del 45%, rispetto alle infezioni singole, la cui sensibilità diagnostica iniziale è stata pari all'82%. Le diagnosi di VB sono state formulate in modo insufficiente nelle pazienti affette da infezioni miste.

## **Risultati non clinici**

La specificità del test di identificazione batterica **Affirm** VP111 è stata valutata analizzando un totale di 88 isolati di 34 generi diversi di microrganismi, identificati da Isenberg et al.<sup>22</sup> come clinicamente rilevanti per il tratto urogenitale.

<i>Acinetobacter</i> sp. (1)	<i>Corynebacterium</i> spp.(1)	<i>Listeria monocytogenes</i> (1)	<i>Porphyromonas</i> sp. (1)
<i>Actinomyces</i> sp. (1)	<i>Cryptococcus neoformans</i> (1)	<i>Mobiluncus</i> spp. (3)	<i>Propionibacterium</i> sp. (1)
<i>Bacteroides</i> spp. (4)	<i>Entamoeba</i> sp. (1)	<i>Mycobacterium</i> sp. (1)	<i>Pseudomonas</i> sp. (1)
<i>Branhamella</i> sp. (1)	<i>Enterobacteriaceae</i> (5)	<i>Mycoplasma hominis</i> (1)	<i>Staphylococcus</i> spp. (3)
<i>Bifidobacterium</i> sp. (1)	<i>Enterococcus</i> sp. (1)	<i>Neisseria</i> spp. (2)	<i>Streptococcus</i> spp. (3)
<i>Campylobacter</i> sp. (1)	<i>Fusobacterium</i> sp. (1)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (1)	<i>Trichomonas vaginalis</i> (9)
<i>Candida</i> spp. (16)	<i>Gardnerella vaginalis</i> (10)	<i>Peptococcus</i> sp. (1)	<i>Ureaplasma urealyticum</i> (1)
<i>Chlamydia trachomatis</i> (2)	<i>Haemophilus ducreyi</i> (1)	<i>Peptostreptococcus</i> spp. (3)	<i>Veillonella</i> sp.(1)
<i>Clostridium</i> spp. (2)	<i>Lactobacillus</i> sp. (3)	<i>Prevotella</i> spp.(2)	

Tutti gli organismi, ad eccezione di *Cryptococcus neoformans* e delle specie *Candida*, sono risultati non reattivi al test di identificazione batterica **Affirm** VP111 per le specie *Candida* ad una concentrazione di 10<sup>8</sup> organismi/mL.

Tutti gli organismi, ad eccezione di *M. mulieris*, *B. dentium* e *G. vaginalis* sono risultati non reattivi al test di identificazione batterica **Affirm** VP111 per *G. vaginalis* ad una concentrazione di 10<sup>8</sup> organismi/mL. *M. mulieris* è risultato non reattivo ad una concentrazione di 4 x 10<sup>6</sup> batteri/mL, mentre *B. dentium* è risultato non reattivo ad una concentrazione di 8 x 10<sup>5</sup> batteri/mL. La presenza di *B. dentium* nella vagina è riscontrata molto raramente.<sup>23</sup> La maggior parte della *Bifidobacterium* sp. e dei ceppi di *B. dentium* sono riscontrati in siti corporei diversi dalla vagina o dal tratto urogenitale.

Tutti gli organismi eccetto *T. vaginalis* sono risultati non reattivi al test di identificazione batterica **Affirm** VP111 per *T. vaginalis* ad una concentrazione di 10<sup>8</sup> organismi/mL.

## **Sensibilità analitica**

Il test di identificazione batterica **Affirm** VP111 per le specie *Candida* può rilevare 1 x 10<sup>4</sup> CFU di specie *Candida* in fase logaritmica per test, 2 x 10<sup>5</sup> CFU di *G. vaginalis* in fase logaritmica per test e 5 x 10<sup>3</sup> di *Trichomonas* per test.

## **Sostanze interferenti**

Gli studi clinici non hanno evidenziato alcuna interferenza da lubrificanti vaginali, docce, mestruazioni o spermicidi.

Negli studi analitici, non è emersa alcuna evidenza di interferenze con lubrificanti vaginali a base acquosa.

#### **Riproducibilità**

La riproducibilità inter- e intra- analisi del sistema **Affirm** è stato valutato presso tre ambulatori tipici da tre utenti inesperti diversi (infermieri). Ciascun sito ha valutato 24 campioni codificati comprendenti 12 campioni positivi e 12 negativi. Presso ciascun sito, gli utenti hanno eseguito quattro cicli di analisi di sei campioni cadauna. La concordanza completa dei risultati è stata ottenuta per ogni campione da tutti e tre i siti, dimostrando la riproducibilità e la facilità d'uso del sistema **Affirm** sia tra i cicli di analisi che e tra i diversi siti.

#### **DISPONIBILITÀ**

##### **N. di cat.    Descrizione**

446252	Test di identificazione batterica <b>Affirm</b> VP111, 24 test
446257	Test di identificazione batterica <b>Affirm</b> VP111, 120 test
446251	Bastoncini ovattati <b>Affirm</b> VP111 per il prelievo di massa di campioni, 100 bastoncini ovattati
446250	Set di prelievo per campioni <b>Affirm</b> VP111, 24 set
446255	Sistema di trasporto a temperatura ambiente <b>Affirm</b> VP111 (sistema di trasporto da 72 h), 100 sistemi
250100	Processore <b>BD MicroProbe</b> (120 volt)
211918	Processore <b>BD MicroProbe</b> (220/240 volt)

**BIBLIOGRAFIA:** Per la bibliografia, vedere la versione in inglese

**TABELLA 1  
RICONCILIATI**

**Pazienti sintomatiche**

ORGANISMO	Affirm VPIII			Preparazione bagnata			Colorazione di Gram		
	Sensibilità	Specificità	Accuratezza:	Sensibilità	Specificità	Accuratezza:	Sensibilità	Specificità	Accuratezza:
<i>Candida</i> sp.	82,3%	98,4%	95,2%	71,9%	92,2%	88,1%	45,6%	99,6%	90,3%
	79/96	377/383	456/479	69/96	353/383	422/479	26/57	271/272	297/329
<i>G. vaginalis</i>	95,2%	100%	95,3%	—	—	—	—	—	—
	118/124	5/5	123/129	—	—	—	—	—	—
	Coltura	100%	98,4%	—	—	—	—	—	—
	118/120	9/9	127/129	—	—	—	—	—	—

**Tutte le pazienti**

ORGANISMO	Affirm VPIII			Preparazione bagnata			Colorazione di Gram		
	Sensibilità	Specificità	Accuratezza:	Sensibilità	Specificità	Accuratezza:	Sensibilità	Specificità	Accuratezza:
<i>Candida</i> sp.	80,6%	98,2%	95,3%	60%	94%	88,2%	44,4%	99,3%	92,1%
	100/124	605/616	705/740	74/124	579/616	653/740	28/63	418/421	446/484
<i>G. vaginalis</i>	83,8%	100%	89%	—	—	—	—	—	—
	171/204	95/95	266/299	—	—	—	—	—	—
	Coltura	99,1%	92,6%	—	—	—	—	—	—
	170/191	107/108	277/299	—	—	—	—	—	—
<i>T. vaginalis</i>	92,8%	99,9%	98,9%	—	—	—	—	—	—
	103/111	740/741	843/852	—	—	—	—	—	—
	Coltura di 5-7 giorni	99,6%	98,5%	82,6%	99,6%	97,3%	—	—	—
	103/115	736/737	839/852	95/115	734/737	829/852	—	—	—

32

**NON RICONCILIATI**

**Pazienti asintomatiche**

ORGANISMO	Affirm VPIII			Preparazione bagnata			Colorazione di Gram		
	Sensibilità	Specificità	Accuratezza:	Sensibilità	Specificità	Accuratezza:	Sensibilità	Specificità	Accuratezza:
<i>Candida</i> sp.	79,3%	95%	92,3%	67,1%	88,9%	85,2%	42,6%	98,5%	89,4%
	65/82	377/397	442/479	55/82	353/397	408/479	23/54	271/275	294/329
<i>G. vaginalis</i>	95,1%	83,3%	94,6%	—	—	—	—	—	—
	117/123	5/6	122/129	—	—	—	—	—	—
	Coltura	40,9%	88,4%	—	—	—	—	—	—
	105/107	9/22	114/129	—	—	—	—	—	—

**Tutte le pazienti**

ORGANISMO	Affirm VPIII			Preparazione bagnata			Colorazione di Gram		
	Sensibilità	Specificità	Accuratezza:	Sensibilità	Specificità	Accuratezza:	Sensibilità	Specificità	Accuratezza:
<i>Candida</i> sp.	78,0%	95,9%	93,2%	54,1%	91,8%	86,2%	41,7%	98,6%	91,5%
	85/109	605/631	690/740	59/109	579/631	638/740	25/60	418/424	443/484
<i>G. vaginalis</i>	83,5%	96,0%	87,6%	—	—	—	—	—	—
	167/200	95/99	262/299	—	—	—	—	—	—
	Coltura	81,7%	84,9%	—	—	—	—	—	—
	147/168	107/131	254/299	—	—	—	—	—	—
<i>T. vaginalis</i>	91,8%	98,1%	97,4%	—	—	—	—	—	—
	90/98	740/754	830/852	—	—	—	—	—	—
	Coltura di 5-7 giorni	99,3%	98%	82%	99,1%	96,8%	—	—	—
	99/111	736/741	835/852	91/111	734/741	825/852	—	—	—

\*Sensibilità = TP/(TP+FN); Specificità = TN/(TN+FP); Accuratezza = (TP+TN)/(TP+FN+TN)

**USO PREVISTO**

El análisis de identificación de microorganismos **Affirm VPIII** es una prueba que utiliza una sonda de ADN indicado para la detección e identificación del ácido nucleico del género *Candida*, *Gardnerella vaginalis* y *Trichomonas vaginalis* en muestras de fluido vaginal de pacientes con síntomas de vaginitis/vaginosis.

**RESUMEN Y EXPLICACION**

La vaginitis, uno de los problemas más comunes en medicina clínica, es la causa de más de 10 millones de consultas cada año.<sup>1</sup> Las tres categorías principales de vaginitis son la vaginosis bacteriana (VB), la vaginitis por levaduras (candidiasis), y la *T. vaginalis* vaginitis (tricomoniasis). La vaginosis bacteriana (VB) es la infección vaginal más frecuente, y se considera la responsable del 15 al 50% de casos de vaginitis/vaginosis dependiendo de la población de pacientes.<sup>2,3</sup> Aunque ya no se piensa que *G. vaginalis* sea el único agente etiológico de la VB, se considera todavía una de las principales bacterias que contribuyen a la infección caracterizada por un aumento de las bacterias anaerobias y una disminución de la flora normal de *Lactobacillus*. Las complicaciones de la VB pueden ser especialmente importantes en las mujeres embarazadas, provocando un mayor riesgo de resultados adversos del embarazo,<sup>4,5</sup> incluyendo parto prematuro<sup>6</sup> y nacimiento<sup>7,8</sup>. Además, datos recientes sugieren que las bacterias asociadas a la VB en el endometrio pueden ser los agentes etiológicos de la endometritis y la enfermedad inflamatoria pelviana, independientes de la infección por *Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis*.<sup>9</sup> La VB constituye también un factor de riesgo para el desarrollo de infección de cúpula tras una histerectomía.<sup>10</sup> La candidiasis vaginal es la segunda forma más común de infección vaginal observada en diferentes situaciones clínicas.<sup>3</sup> Tres cuartas partes de todas las mujeres adultas experimentarán al menos un episodio de candidiasis vaginal durante su vida, de las cuales el 40 al 50% experimentarán un segundo episodio. Aproximadamente el 5% de la población femenina adulta padece infecciones recurrentes por levaduras, a menudo resistentes al tratamiento.<sup>3</sup> Se ha estimado que la tricomoniasis, una enfermedad de declaración no obligatoria transmitida sexualmente, afecta a 180 millones de mujeres anualmente en todo el mundo.<sup>11</sup> En los Estados Unidos, se calcula que 3 millones de mujeres contraen tricomoniasis cada año.<sup>12</sup> Las mujeres embarazadas con un resultado positivo de *T. vaginalis* tienen más posibilidades de sufrir ruptura prematura de membranas,<sup>7</sup> así como también un parto prematuro.<sup>13</sup> *T. vaginalis* es un factor de riesgo para el desarrollo de infecciones ginecológicas tras una intervención quirúrgica.<sup>14,15</sup> Además, *T. vaginalis* es un factor de riesgo para el desarrollo de infecciones de cúpula tras una histerectomía.<sup>16</sup>

Los métodos de laboratorio para la identificación de estos organismos incluyen la evaluación microscópica, análisis de aminas, tinción Gram, pH y cultivo.

**PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO**

El análisis de identificación de microorganismos **Affirm VPIII** está basado en los principios de hibridación del ácido nucleico. En los análisis de hibridación de ácido nucleico, las bandas complementarias de ácido nucleico se alinean para formar complejos específicos de doble banda, denominados híbridos.

El análisis utiliza dos sondas diferentes de ácido nucleico monocatenario para cada organismo, una sonda de captura y una sonda para desarrollo de color, complementarias a las secuencias genéticas exclusivas de los organismos seleccionados. Las sondas de captura son inmovilizadas en una perla incrustada en una Tarjeta de Análisis de Sonda (TAS), que contiene una perla independiente para cada organismo seleccionado. Las sondas para desarrollo del color están contenidas en un Cartucho de Reactivos (CR) con múltiples pocillos.

Durante la preparación de la muestra, ésta se trata con Solución de lisis (L) y se calienta. Este proceso rompe las membranas del organismo, liberando el ácido nucleico. Se añade una segunda solución, la Solución tampón (T). Esta solución estabiliza el ácido nucleico y establece las condiciones de rigurosidad necesarias para una hibridación específica. En este punto, se añade la muestra al primer pocillo del Cartucho de Reactivos (CR) junto con la Tarjeta de Análisis de Sonda (TAS), y se inicia el procesamiento automático. El procesador **BD MicroProbe** mueve la Tarjeta de Análisis de Sonda (TAS) de un pocillo del Cartucho de Reactivos (CR) a otro. La hibridación se produce en las perlas de la TAS situadas en los pocillos primero y segundo del Cartucho de Reactivos (CR). La hibridación del analito con la sonda de captura en la perla se produce en el pocillo 1, y la hibridación de las sondas para desarrollo del color se produce en el pocillo 2. Todos los componentes no unidos de la muestra y las sondas son eliminados mediante lavado en el pocillo 3. El conjugado enzimático se une al analito capturado en el pocillo 4. El conjugado no unido se elimina mediante lavado en los pocillos 5 y 6. En el pocillo 7, el sustrato indicador se convierte en un producto de color azul si existe conjugado enzimático unido en la perla. La etapa final es leer los resultados de desarrollo del color en cada una de las perlas del organismo seleccionado y en los controles.

**REACTIVOS****Materiales suministrados**

**Tarjetas de Análisis de Sonda (TAS): (24 o 120 análisis)** Tarjetas envasadas individualmente, envueltas en una toallita de papel absorbente humedecida con una solución que contiene azida sódica (0,1%, p/v) como conservante. Cada tarjeta contiene las cinco perlas siguientes: Control negativo, *Tricomonas*, *Gardnerella*, *Candida*, y Control positivo.

**Cartuchos de Reactivos (CR): (24 o 120 análisis)** Los reactivos están sellados en cartuchos envueltos en papel de aluminio, formados por múltiples pocillos. Cada cartucho tiene siete pocillos. Desde la parte anterior a la posterior, los pocillos contienen:

**Pocillo N° 1** Depósito para la muestra del paciente, suministrado vacío

**Pocillo N° 2** Solución de hibridación, 350 µL: Sonda para desarrollo del color, Formamida, solución caotrópica tamponada

**Pocillo N° 3** Solución de lavado, 750 µL: Detergente, Solución tampón, Conservante (Proclin)

**Pocillo N° 4** Conjugado, 500 µL: Conjugado enzimático, Conservante (Proclin)

**Pocillo N° 5** Solución de lavado, 750 µL: Detergente, Solución tampón, Conservante (Proclin)

**Pocillo N.º 6** Solución de lavado, 750 µL: Detergente, Solución tampón, Conservante (Proclin)

**Pocillo N.º 7** Tampón sustrato, 500 µL: Solución de peróxido tamponada

**Solución sustrato (S), (tapón rojo, 3,4 mL para 24 análisis; frasco, 12 mL para 120 análisis): solución empaquetada individualmente en una bolsa de papel metalizado; Sustrato indicador, Estabilizante, Alcohol**

**Solución de lisis (L), (tapón azul, 10,8 mL for 24 análisis; frasco, 48 mL para 120 análisis) Detergente, Solución tampón, Conservante (Proclin)**

**Solución tampón (T), (tapón verde, 15 mL for 24 análisis; frasco, 72 mL para 120 análisis) Solución caotrópica tamponada, Formamida**

**Puntas de filtro (PF) (24 o 120 análisis)**

**Tapones para la recogida de Muestras (TRM) (24 análisis)\***

**Tubos para la recogida de Muestras (TPRM) (24 análisis)\***

**Torundas estériles, con una marca incisa, empaquetadas individualmente (24 análisis)\***

**\*No se incluye con el kit de 120 pruebas.**

**Materiales necesarios pero no suministrados**

Disponibles en BD:

- Sistema de transporte a temperatura ambiente **Affirm** VPIII
- Equipos para la recogida de muestras **Affirm** VPIII
- Procesador **BD MicroProbe**
- Bloque de lisis **BD MicroProbe**
- Termómetro
- Pipeta adecuada para dispensar solución de lisis y solución tampón para 120 análisis

**Advertencias y Precauciones**

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Lea atentamente todas las instrucciones antes de su uso.

Para la recogida de muestras, utilice sólo el sistema de transporte a temperatura ambiente **Affirm** VPIII, el equipo para la recogida de muestras **Affirm** VPIII o las torundas proporcionadas en el kit del análisis de identificación de microorganismos **Affirm** VPIII. Utilice solo muestras de líquido vaginal de pacientes con síntomas de vaginitis/vaginosi. En cada ciclo de análisis, controle la temperatura del Bloque de lisis,  $85 \pm 5$  °C y verifique que la temperatura ambiente de análisis está entre 22 y 28 °C.

Solución sustrato (S): La sustancia contiene alcohol y es combustible. Mantenga alejado del calor, de chispas y del fuego. Guarde el envase cerrado herméticamente para prevenir la evaporación.

Toalla de papel alrededor de la TAS: La toalla está humedecida con azida sódica (0.1%, p/v). La azida sódica es sumamente tóxica en caso de inhalación, contacto con la piel e ingestión. El contacto con ácidos libera gases extremadamente tóxicos. Después del contacto con la piel, lávese inmediatamente con abundante agua.

Los reactivos contienen componentes que podrían ser irritantes o cáusticos si entran en contacto con la piel, los ojos o las mucosas. Utilice guantes, gafas de seguridad y bata de laboratorio, y siga las precauciones estándar del laboratorio durante la manipulación. Si se ingiere, avise a un médico. En caso de contacto con la piel o los ojos, lave la zona afectada con abundante agua.

**En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales, deben seguirse las "Precauciones estándar"<sup>17-20</sup> y las directivas del centro.**

Deben establecerse métodos apropiados de manipulación y desecho. Limpie inmediatamente cualquier derrame de las muestras del paciente y desinfecte con un desinfectante apropiado. Trate los materiales de limpieza como desechos biológicamente peligrosos.

No utilice la torunda estéril si su envase está abierto o dañado. Evite tocar las perlas. Evite contaminar las puntas del frasco cuentagotas. No utilice el reactivo después de su fecha de caducidad.

La torunda es de un solo uso; su reutilización puede causar riesgo de infección o resultados inexactos.

**Preparación de los reactivos**

Todos los reactivos se suministran listos para su uso.

**Almacenamiento de los reactivos**

El kit del análisis **Affirm** VPIII es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit cuando se almacena a una temperatura de 2 – 8 °C. Otra opción es almacenarlo a temperatura ambiente (hasta 30 °C) por un periodo no superior a 3 meses. Todos los reactivos y TAS deben estar entre 22 y 28 °C antes de su uso. Para mayor comodidad, almacene todos los reactivos a temperatura ambiente una vez abiertos. Si se refrigeran, déjelos a temperatura ambiente durante un mínimo de 30 min antes de utilizarlos.

Nota: La Solución tampón (T) se precipita bajo refrigeración. Deje que la solución alcance la temperatura ambiente durante al menos 30 min y luego agite la botella durante 10 – 15 s hasta que el precipitado se disuelva.

**Indicaciones de inestabilidad**

Las indicaciones de un posible deterioro del reactivo al final del análisis son: un control positivo que NO sea azul, un control negativo que NO sea incoloro.

## RECOGIDA DE MUESTRAS, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

### Recogida de muestras

La recogida de la muestra es un paso crítico. El personal que recoge las muestras de líquido vaginal debe recibir la instrucción adecuada para reducir al mínimo la posibilidad de muestras defectuosas. Para la recogida de muestras, utilice sólo el sistema de transporte a temperatura ambiente **Affirm VPIII**, el equipo para la recogida de muestras **Affirm VPIII** o las torundas proporcionadas en el kit del análisis de identificación de microorganismos **Affirm VPIII**. **Deben utilizarse torundas diferentes para cada prueba, por ej., para obtener muestras para cultivo o preparaciones microscópicas.**

### Recogida de muestras vaginales

1. Etiquete el tubo de recogida de la muestra (TRM) con la información de identificación del paciente. Incluya la hora a la que se recogió la muestra.
2. Coloque a la paciente en la posición adecuada para realizar un examen pélvico. Inserte un espéculo en la vagina para permitir la visualización del fondo de saco vaginal posterior.\*
3. Utilizando la torunda estéril, obtenga una muestra del fondo vaginal posterior. Gire la torunda contra la pared vaginal dos o tres veces de modo que toda la circunferencia de la torunda toque la pared vaginal. Frote la pared vaginal lateral cuando extraiga la torunda.
4. Coloque inmediatamente la torunda en el tubo para la recogida de muestras (TRM).
5. Con la torunda tocando el **FONDO** del tubo para la recogida de muestras, sujete el mango pre-inciso de la torunda justo por encima de la parte superior del tubo y dóblela hasta que la torunda se rompa. Cuando la torunda esté completamente introducida en el tubo de recogida de muestras, la marca incisa de la torunda queda aproximadamente a 1 cm por encima de la parte superior del tubo. Deseche el mango roto en un recipiente para basura infecciosa.
6. Coloque el tapón sobre el extremo expuesto de la torunda y presione firmemente el tapón en el tubo. Se oirá un "chasquido" cuando el tapón esté bien asentado en el tubo.

\* Durante los ensayos clínicos, se facilitaron a los centros instrucciones para utilizar un espéculo sin lubricar. Consúltese la sección sobre "Sustancias interferentes".

### Almacenamiento y transporte de las muestras

Cuando se utiliza el sistema de transporte a temperatura ambiente (STTA) **Affirm VPIII**: La cantidad de tiempo total entre la recogida de la muestra y la preparación de la muestra no debe ser superior a 72 h cuando la muestra se almacena a temperatura ambiente (15 – 30 °C). Este sistema también ha sido cualificado para su uso en el transporte en condiciones refrigeradas (2 a 8°C).

Cuando se utiliza el equipo de recogida de muestras **Affirm VPIII** o las torundas contenidas en el kit para la prueba de identificación de microorganismos **Affirm VPIII**: La cantidad de tiempo total entre la colocación de la torunda en el tubo de recogida de muestras y la preparación de la muestra no debe ser superior a 1 h si la muestra se almacena a temperatura ambiente, o 4 h si la muestra se almacena a 2 – 8 °C.

## PROCEDIMIENTO

Lea atentamente todas las instrucciones antes de proceder.

### Preparación de las muestras

Consulte las ilustraciones del cuadro relativo a Procedimiento que vienen con el Procesador **BD MicroProbe**

1. Verifique que el Bloque de lisis **BD MicroProbe** está a  $85 \pm 5$  °C, y que los reactivos están a 22 – 28 °C y bien mezclados.
2. Quite el tapón del tubo de recogida de muestras (TRM), asegurándose que la vara de la torunda está asentada de manera firme en el tapón. Añada 12 gotas o pipetee 0,4 mL de la Solución de lisis (L) al tubo. Mantenga el frasco cuentagotas en posición vertical mientras añade las gotas.
3. Mezcle la torunda en el tubo girando enérgicamente y moviendo la torunda hacia arriba y hacia abajo contra la pared lateral del tubo durante al menos 10 s, o agite en vórtex durante 2 – 4 s.
4. Vuelva a colocar la torunda con el tapón en el tubo y tápelo de nuevo para prevenir la evaporación.
5. Introduzca el tubo en un pocillo del Bloque de lisis para calentarlo.
6. Incube el tubo en el Bloque de lisis durante 10 min (al menos 10 min, pero no más de 20 min). Utilice un cronómetro para este paso.
7. Retire el tubo del Bloque de lisis.
8. Añada 12 gotas o pipetee 0,6 mL de Solución tampón (T) bien mezclada al tubo que contiene la torunda. Evite tocar el tubo con el extremo de la botella.
9. Vuelva a colocar el tapón para cerrar herméticamente el tubo y mezcle sacudiendo el tubo enérgicamente 10 veces, o agite en vórtex durante 2 – 4 s.
10. Para proceder con el procesamiento automático de la muestra preparada, retire la mayor cantidad posible de líquido de la torunda levantándola por encima del nivel de líquido y presionándola firmemente contra la pared lateral del tubo durante al menos 10 s. Deseche las torundas en un recipiente para materiales biológicamente peligrosos. Presione la Punta del filtro (PF) firmemente en cada tubo de recogida de muestras (TRM).

NOTA: Las muestras preparadas pueden almacenarse a temperatura ambiente durante un máximo de 24 h.

### Procesamiento automático

Nota: Antes de proceder con el análisis, asegúrese de que todos los reactivos están a 22 – 28 °C. En cada ciclo del análisis, verifique que la temperatura ambiente de análisis está entre 22 y 28 °C.

Consulte las ilustraciones del cuadro relativo a Procedimiento que vienen con el Procesador **BD MicroProbe**

1. Si la tarjeta del programa del análisis de identificación de microorganismos **Affirm VPIII** no está ya en el procesador **BD MicroProbe**, introduzca la tarjeta del programa, con la parte impresa hacia arriba y la flecha señalando hacia el

instrumento, en la ranura situada en el lateral frontal derecho del instrumento. Asegúrese que el procesador está apagado cuando introduzca la tarjeta del programa. **No hay ninguna luz en el panel de control si el procesador está apagado.**

2. **Encienda el procesador.** El brazo del procesador se moverá a la "casa" durante esta etapa inicial. A medida que avanza a través del procedimiento, siga las indicaciones de la pantalla del procesador. Si necesita ayuda adicional, pulse la tecla [HELP].
3. Retire la caja del cartucho del procesador. Es más fácil añadir las muestras con la caja fuera del procesador.
4. Seleccione un Cartucho de Reactivos (CR) para cada muestra que vaya a analizar, anote la información de la paciente/muestra en el extremo frontal del Cartucho de Reactivos (CR) utilizando un rotulador de tinta permanente. Quite cuidadosamente el papel de aluminio que cubre el cartucho, levantando desde el extremo SIN la solapa doblada hacia arriba. Coloque los Cartuchos de Reactivos (CR) en la caja del cartucho, cargando desde el centro a los laterales y equilibrando todo lo posible el número de cartuchos a cada lado del brazo.
5. Abra la bolsa que contiene la TAS, saque un poco la TAS de la bolsa, y anote la información de la paciente/muestra en el espacio proporcionado en la TAS.
6. Pulse la tecla [RUN]. Se le pedirá que "Añada el sustrato." Añada 4 gotas (0,1 mL) de Solución sustrato (S) al pocillo número 7 del Cartucho de Reactivos (CR). Cierre la botella para evitar la evaporación.
7. Pulse la tecla [RUN]. Se le pedirá que "Añada la muestra." Empareje cada Tubo de recogida de muestras (TRM)/Punta del filtro (PF) con el correspondiente Cartucho de Reactivos (CR) etiquetado. Invierta el tubo de recogida de muestras (TRM) y exprima firmemente todo el contenido de cada tubo a través de la Punta del Filtro (PF) en el depósito del pocillo número uno del Cartucho de Reactivos (CR) apropiado. Deseche el tubo de la muestra del paciente en un recipiente para materiales biológicamente peligrosos. La espuma en la punta del filtro es un buen indicador que se ha entregado toda la muestra.
8. Pulse la tecla [RUN]. Se le pedirá que "Coloque la TAS." Coloque la TAS etiquetada en el pocillo número 1 de cada Cartucho de Reactivos (CR) etiquetado. Evite tocar las perlas.
9. Pulse la tecla [RUN]. Se le pedirá que "Coloque la caja." Vuelva a colocar cuidadosamente la caja del cartucho en el procesador, teniendo cuidado que no salpiquen los reactivos. Asegúrese que la caja está asentada de forma segura en las cuatro espigas indicadoras.
10. Pulse de nuevo la tecla [RUN]. El brazo del procesador avanzará hacia adelante. El procesador recogerá automáticamente y moverá las TAS a través del procedimiento del análisis. El instrumento comenzará la secuencia del tiempo de procesamiento e indicará "Por favor espere. Procesando 32:50" señalando en el cronómetro los minutos que quedan. Al final del tiempo de procesamiento, el instrumento emitirá un pitido y presentará la TAS para su retirada.
11. Retire la TAS, y seque suavemente con una toalla de papel. Interprete los resultados para cada muestra lo antes posible tras finalizar el análisis. La TAS debe verse contra un fondo blanco, bajo una luz de intensidad normal.

**Nota: Retire las TAS del procesador antes de pulsar la tecla [RUN]. para iniciar otro ciclo de análisis.**

## CONTROL DE CALIDAD

El análisis de identificación de microorganismos **Affirm** VP111 incluye dos controles internos en cada TAS: una perla de control positivo y una perla de control negativo. Estas perlas de control se analizan simultáneamente con cada muestra del paciente, asegurando el adecuado rendimiento de la TAS, del cartucho de reactivos (CR) y del procesador. El control positivo también asegura la ausencia de interferencia en la muestra. El control negativo también asegura la ausencia de unión no específica de la muestra.

En un análisis que funcione correctamente, la perla de control positivo será de color azul y la perla de control negativo permanecerá incolora (esto es, ausencia de color azul) después del procesamiento. Si el control positivo no se vuelve azul, y/o el control negativo no permanece incoloro, los resultados del análisis no son válidos y no deben registrarse los resultados del paciente.

Cada lote de reactivos debe analizarse para comprobar la lisis adecuada de la muestra y la liberación del ácido nucleico objetivo utilizando una torunda de cultivo indicador fresco (18-24 h de crecimiento) o una torunda comercial de *Candida albicans* (ATCC 18804, 14053, 10231 ó 60193). Puesto que *Trichomonas vaginalis* y *Gardnerella vaginalis* alcanzan más fácilmente la lisis que el género *Candida*, sólo es necesario analizar el género *Candida* para garantizar la adecuada lisis de la muestra. La idoneidad del proceso de lisis de la muestra se confirma si el análisis de *Candida albicans* da lugar a una perla de *Candida* azul, una perla de *Gardnerella* incolora, una perla de *Trichomonas* incolora y resultados aceptable de los controles internos (esto es, perla de control positivo azul y perla de control negativo incolora).

Para verificar más aún el rendimiento del análisis se pueden realizar pruebas de control de calidad con *C. albicans* (ATCC 10231), *T. vaginalis* (ATCC 30001) y *G. vaginalis* (ATCC 14018) utilizando cultivos indicadores frescos (18 – 24 h de crecimiento) o torundas disponibles comercialmente.

Si se realizan pruebas de control de calidad (CC) con los tres organismos, hay que asegurarse de que los resultados de los controles internos son ambos aceptables (esto es, perla de control positivo azul y perla de control negativo incolora) e interpretar los resultados del siguiente modo:

1. Si las perlas de los tres organismos se vuelven azules, se pueden registrar todos los resultados de los pacientes.
2. Si la perla de *Candida* no se vuelve azul, toda la serie de CC es inválida. Hay que investigar el fracaso del CC y no se puede registrar ningún resultado de los pacientes. Póngase en contacto con su representante local de BD para obtener asistencia.
3. Si las perlas de *Candida* y *Gardnerella* se vuelven azules, pero la perla de *Trichomonas* no lo hace, la serie de CC es válida para *Candida* y *Gardnerella*. Solamente se pueden registrar los resultados de los pacientes para *Candida* y *Gardnerella*. Hay que investigar el fracaso del CC. Póngase en contacto con su representante local de BD para obtener asistencia.
4. Si las perlas de *Candida* y *Trichomonas* se vuelven azules, pero la perla de *Gardnerella* no lo hace, la serie de CC es válida para *Candida* y *Trichomonas*. Solamente se pueden registrar los resultados de los pacientes para *Candida* y *Trichomonas*. Hay que investigar el fracaso del CC. Póngase en contacto con su representante local de BD para obtener asistencia.

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones

pertinentes del CLSI (antes NCCLS) y la normativa de la CLIA para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados se determinan por la presencia o ausencia de color en la perla del análisis. La presencia de color azul de cualquier tono en la perla del organismo seleccionado, cuando se observa contra un fondo blanco, es un resultado positivo. La ausencia de color azul de cualquier tono en la perla del organismo seleccionado es un resultado negativo.

Un resultado positivo para *Candida*, *Gardnerella* y/o *Tricomonas* significa la presencia de ácido nucleico en la muestra del género *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*), *G. vaginalis* y/o *T. vaginalis*, respectivamente, e indica que la paciente tiene candidiasis, vaginosis bacteriana, y/o tricomoniasis cuando sea coherente con los síntomas y signos clínicos. Son frecuentes las infecciones simultáneas por más de un organismo.

Un resultado negativo en el análisis para *Candida*, *Gardnerella* o *Tricomonas* sugiere que la paciente no tiene candidiasis, vaginosis bacteriana y/o tricomoniasis, respectivamente, cuando sea coherente con los síntomas y signos clínicos.

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El ensayo está indicado para su uso con el sistema de transporte a temperatura ambiente **Affirm** VP8, el equipo para la recogida de muestras **Affirm** VP8, o las torundas proporcionadas con el kit para la prueba de identificación de microorganismos **Affirm** VP8. No se han valorado otros métodos de recogida.

Los resultados óptimos del análisis requieren una recogida adecuada de las muestras. Los resultados del análisis pueden verse afectados por una recogida, manipulación y/o almacenamiento inadecuado de la prueba. Un resultado negativo en el análisis no excluye la posibilidad de vaginitis/vaginosis.

Cuando se utiliza el sistema de transporte a temperatura ambiente **Affirm** VP8, las muestras que se hayan mantenido más de 72 h a temperatura ambiente (15 a 30 °C) o refrigeradas (2 a 8 °C) pueden provocar resultados erróneos. Cuando se utiliza el kit para la recogida de muestras **Affirm** VP8 o las torundas proporcionadas en el kit de identificación de microorganismos **Affirm** VP8, las muestras que se hayan mantenido durante más de 1 h a temperatura ambiente o 4 h a 2 – 8 °C antes de su preparación pueden provocar resultados erróneos. Las muestras preparadas que se mantengan durante un periodo superior a 24 h a temperatura ambiente antes de su procesamiento pueden arrojar resultados inexactos.

Cuando se realiza este análisis, la temperatura ambiente de análisis debe ser de 22 a 28 °C.

Un resultado negativo para *Candida*, *Gardnerella* y/o *Tricomonas* indica la posible existencia de ácido nucleico de menos de  $1 \times 10^4$  células de *Candida*,  $2 \times 10^5$  UFC de *G. vaginalis* o  $5 \times 10^3$  tricomonadas, respectivamente, en la muestra del paciente.

La prueba de identificación de microorganismos **Affirm** VP8 detecta la presencia de *G. vaginalis* a concentraciones superiores a  $2 \times 10^5$  UFC por cada muestra de paciente. El valor diagnóstico de este nivel de detección no es definitivo.

La presencia de *G. vaginalis*, aunque sea indicativa, no implica un diagnóstico de vaginosis bacteriana. Como en muchas situaciones clínicas, el diagnóstico no debe estar basado en los resultados de una sola prueba de laboratorio. Los resultados deben interpretarse conjuntamente con otros datos clínicos y de laboratorio a disposición del médico, tal como pH, olor a aminas, células indicio y características del flujo vaginal. Las mujeres con leucorrea deben ser evaluadas para ver los factores de riesgo de cervicitis y enfermedad inflamatoria pélvica, y si están presentes, deben ser evaluadas para detectar otros organismos, tales como *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis*.

La vaginitis/vaginosis está causada mayoritariamente por *G. vaginalis*, género *Candida*, y *T. vaginalis*. Los síntomas de la vaginitis pueden verse también en el síndrome de choque tóxico (provocado por *Staphylococcus aureus*) o puede estar causado por factores no específicos, o por organismos específicos. Pueden producirse infecciones mixtas. Por lo tanto, un análisis que indique la presencia del género *Candida*, *G. vaginalis* y/o *T. vaginalis* no descarta la presencia de otros organismos, tales como *Mobiluncus mulieris*, *Mycoplasma hominis*, y/o *Prevotella bivia*.

*Cryptococcus neoformans* a concentraciones superiores a  $1 \times 10^8$  levaduras/mL reacciona con la prueba de identificación de microorganismos **Affirm** VP8 para el género *Candida*. *C. neoformans* sólo se encuentra en raras ocasiones en la vagina.

*M. mulieris* a concentraciones superiores a  $4 \times 10^6$  bacterias/mL y *Bifidobacterium dentium* a concentraciones superiores a  $8 \times 10^5$  bacterias/mL pueden reaccionar de forma no específica con el análisis de identificación de microorganismos **Affirm** VP8 para *G. vaginalis*. *B. dentium* se encuentra en raras ocasiones en la vagina.

El método del análisis para la identificación de microorganismos **Affirm** VP8 está indicado para su uso con muestras de fluido vaginal procedente de pacientes con síntomas de vaginitis/vaginosis. Su rendimiento con otras muestras o poblaciones de pacientes no ha sido establecido.

Se desconoce el rendimiento de este análisis en muestras de pacientes recogidas durante o inmediatamente después de una terapia con antibióticos. La presencia o ausencia del género *Candida*, *G. vaginalis* o *T. vaginalis* no puede utilizarse como análisis para valorar el éxito o fracaso terapéutico.

La contaminación de los reactivos o el incumplimiento de las instrucciones exactamente como se indica en las instrucciones de uso puede afectar de manera adversa al rendimiento según se describe en la etiqueta.

## VALORES PREVISTOS Y CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE RENDIMIENTO

Otros investigadores ajenos al estudio evaluaron el análisis de identificación de microorganismos **Affirm** VP8 para el género *Candida*, *G. vaginalis* y *T. vaginalis* en muestras vaginales. Las muestras procedían de mujeres que presentaban síntomas de vaginitis/vaginosis o de mujeres con un alto riesgo de infección.<sup>21</sup>

Los investigadores registraron un diagnóstico de vaginosis bacteriana, candidiasis o tricomoniasis. Se recogió y procesó también una muestra para su análisis mediante la prueba de identificación de microorganismos **Affirm** VP8. Además, los investigadores recogieron muestras que fueron enviadas al laboratorio para el aislamiento e identificación del cultivo y para la preparación de un frotis para su análisis mediante tinción Gram.

## Género *Candida*

La sensibilidad y especificidad del análisis de identificación de microorganismos **Affirm** VP8II para el género *Candida* fueron establecidas mediante comparación con métodos convencionales de microscopio y con cultivo. Se evaluó el rendimiento del análisis **Affirm** VP8II y muestras microscópicas en 479 mujeres que presentaban signos y síntomas clínicos de vaginitis por levadura y en 261 mujeres de alto riesgo, que fueron evaluadas por alguna otra razón, tal como embarazo (n=186), planificación familiar, o porque estaban en contacto con pacientes con enfermedades de transmisión sexual. Esto representa un total de 740 pacientes analizadas. Se utilizó un nivel significativo desde el punto de vista clínico de un aislado de cultivo de levaduras (>10<sup>4</sup> UFC por mL de fluido vaginal) como método comparativo, ya que este nivel ha demostrado, en las publicaciones, estar asociado con la vaginitis por levadura. Aproximadamente el 15% de las muestras de pacientes analizadas fueron positivas para levaduras mediante el análisis **Affirm** VP8II y mediante el aislado de cultivo con un nivel significativo desde el punto de vista clínico.

En los casos de resultados aparentemente falsos positivos donde **Affirm** VP8II fue positivo y el resultado comparativo fue negativo, se utilizaron métodos alternativos para confirmar el resultado de **Affirm** VP8II. La sensibilidad/especificidad reconciliada para pacientes con síntomas vaginales iniciales (n=479) y para todos los pacientes (n=740) fue del 82%/98,4% y 81%/98,2% respectivamente. El análisis **Affirm** VP8II es más sensible que la identificación mediante preparación microscópica o tinción Gram si lo comparamos con un cultivo significativo desde el punto de vista clínico. Véase la tabla 1.

La sensibilidad/especificidad no reconciliada del análisis **Affirm** VP8II comparada con un cultivo significativo desde el punto de vista clínico en pacientes con un síntoma vaginal inicial (n=479) y para todos los pacientes (n=740) fue del 79%/95% y 78%/95,9%, respectivamente. Véase la tabla 1.

## *Gardnerella vaginalis*

La sensibilidad y especificidad del análisis de identificación de microorganismos **Affirm** VP8II para *G. vaginalis* fue establecida mediante comparación con un método convencional de microscopio y con un cultivo de 299 pacientes. Se comparó la prueba **Affirm** VP8II con niveles significativos desde el punto de vista clínico de *G. vaginalis*, identificado como > 10<sup>5</sup> UFC por mL de fluido vaginal.<sup>13</sup> De los 299 pacientes evaluados para VB, el 51% (152) fue positivo basándose en la tinción Gram y el 56% (168) fue positivo basándose en los cultivos significativos desde el punto de vista clínico.

En los casos de resultados aparentemente falsos positivos donde **Affirm** VP8II fue positivo y el resultado comparativo fue negativo, se utilizaron métodos alternativos para confirmar el resultado de **Affirm** VP8II. La sensibilidad/especificidad reconciliada del análisis **Affirm** VP8II comparada con un cultivo significativo desde el punto de vista clínico y el estudio morfológico de la tinción Gram en pacientes con VB clínica con 3 de 4 Criterios Amstel (n=129) fue del 98%/100% y 95%/100%, respectivamente. La sensibilidad/especificidad reconciliada del análisis **Affirm** VP8II comparada con un cultivo significativo desde el punto de vista clínico y con tinción Gram para todos los pacientes (n=299) fue del 89%/99% y 84%/100%, respectivamente. Cuando se evaluó en todas las mujeres, la prueba **Affirm** VP8II fue sensible y específica comparada con la identificación de *G. vaginalis*, ya sea mediante estudio morfológico de la tinción Gram o por niveles en cultivo clínicamente significativos. Véase la tabla 1.

La sensibilidad/especificidad no reconciliada del análisis **Affirm** VP8II comparada con un cultivo significativo desde el punto de vista clínico y con tinción Gram para pacientes con VB con 3 de 4 Criterios Amstel (n=129) fue del 98%/41% y 95%/83%, respectivamente. La sensibilidad/especificidad no reconciliada del análisis **Affirm** VP8II comparada con un cultivo significativo desde el punto de vista clínico y con tinción Gram para todas las pacientes (n=299) fue del 88%/82% y 84%/96%, respectivamente. Véase la tabla 1.

## *Trichomonas vaginalis*

La sensibilidad/especificidad del análisis de identificación de microorganismos **Affirm** VP8II para *T. vaginalis* fue establecida mediante comparación con un método convencional de microscopio y con un cultivo en los 852 pacientes evaluados, el 11% (98) fue positivo con la preparación microscópica y el 13% (111) fue positivo con un cultivo significativo desde el punto de vista clínico.

En los casos de resultados aparentemente falsos positivos donde **Affirm** VP8II fue positivo y el resultado comparativo fue negativo, se utilizaron métodos alternativos para confirmar el resultado de **Affirm** VP8II. La sensibilidad/especificidad reconciliada del análisis de identificación de microorganismos **Affirm** VP8II para *T. vaginalis* comparada con una preparación microscópica y con cultivo significativo desde el punto de vista clínico fue del 93%/99,9% y 90%/99,9%, respectivamente. En esta evaluación clínica, la prueba de identificación de microorganismos **Affirm** VP8II fue comparable en sensibilidad a un aislado de un cultivo de 5-7 días de *T. vaginalis*. Véase la tabla 1.

La sensibilidad/especificidad no reconciliada del análisis de identificación de microorganismos **Affirm** VP8II comparada con una preparación microscópica y con un cultivo significativo desde el punto de vista clínico (5 – 7 días) para todos los pacientes fue del 92%/98% y 89%/99%, respectivamente. Véase la tabla 1.

## Infecciones mixtas y VB

Se recogieron los datos de una subpoblación de 289 pacientes en este estudio clínico donde el médico que les estaba tratando proporcionó el diagnóstico de vaginosis bacteriana, candidiasis y tricomoniasis, basándose en el flujo vaginal, pH, olor a aminas y los resultados de la preparación microscópica. La capacidad global del médico que atendió a los pacientes para comunicar un diagnóstico de VB utilizando 3 de 4 señales y síntomas clínicos fue del 75% (89/118). Para las mujeres que no mostraron ninguna otra causa para sus síntomas vaginales, excepto VB, la capacidad del médico fue del 82% (79/96). Sin embargo, en las pacientes que tenían infecciones mixtas, p.ej., candidiasis o tricomoniasis además de VB, la sensibilidad del médico que trató a estas pacientes para diagnosticar la VB fue del 45% (10/22). Los médicos que trataron a estas pacientes tuvieron mayores dificultades para diagnosticar la VB en presencia de infecciones mixtas, donde la sensibilidad de su diagnóstico inicial fue del 45%, si lo comparamos con los casos de infecciones por una sola causa, donde la sensibilidad de su diagnóstico inicial fue del 82%. El diagnóstico de VB fue infracomunicado en pacientes con infecciones mixtas.

## Resultados No Clínicos

Utilizando el análisis de identificación de microorganismos **Affirm** VP8 se analizó la especificidad de un total de 88 aislados que representaban 34 géneros diferentes de microorganismos identificados por Isenberg et al.<sup>22</sup> como relevantes desde el punto de vista clínico para el aparato genitourinario.

<i>Acinetobacter</i> , sp. (1)	<i>Corynebacterium</i> spp. (1)	<i>Listeria monocytogenes</i> (1)	<i>Porphyromonas</i> sp. (1)
<i>Actinomyces</i> , sp. (1)	<i>Cryptococcus neoformans</i> (1)	<i>Mobiluncus</i> spp. (3)	<i>Propionibacterium</i> sp. (1)
<i>Bacteroides</i> , spp. (4)	<i>Entamoeba</i> sp. (1)	<i>Mycobacterium</i> sp. (1)	<i>Pseudomonas</i> sp. (1)
<i>Branhamella</i> sp. (1)	Enterobacteriaceae (5)	<i>Mycoplasma hominis</i> (1)	<i>Staphylococcus</i> spp. (3)
<i>Bifidobacterium</i> sp. (1)	Enterococcus sp. (1)	<i>Neisseria</i> spp. (2)	<i>Streptococcus</i> spp. (3)
<i>Campylobacter</i> sp. (1)	<i>Fusobacterium</i> sp. (1)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (1)	<i>Trichomonas vaginalis</i> (9)
<i>Candida</i> spp. (16)	<i>Gardnerella vaginalis</i> (10)	<i>Peptococcus</i> sp. (1)	<i>Ureaplasma urealyticum</i> (1)
<i>Chlamydia trachomatis</i> (2)	<i>Haemophilus ducreyi</i> (1)	Peptostreptococcus spp. (3)	<i>Veillonella</i> sp. (1)
<i>Clostridium</i> spp. (2)	<i>Lactobacillus</i> spp. (3)	<i>Prevotella</i> spp. (2)	

Todos los organismos, excepto *Cryptococcus neoformans* y el género *Candida*, no fueron reactivos en el análisis de identificación de microorganismos **Affirm** VP8 para el género *Candida* a una concentración de 10<sup>8</sup> organismos/mL.

Todos los organismos, excepto *M. mulieris*, *B. dentium* y *G. vaginalis* no fueron reactivos en el análisis de identificación para *G. vaginalis* de microorganismos **Affirm** VP8 a una concentración de 10<sup>8</sup> organismos/mL. *M. mulieris* no fue reactiva a una concentración de 4 x 10<sup>6</sup> bacterias/mL, y *B. dentium* no fue reactiva a una concentración de 8 x 10<sup>5</sup> bacterias/mL. *B. dentium* es aislado de la vagina en muy raras ocasiones.<sup>23</sup> La mayoría de *Bifidobacterium* sp. y cepas de *B. dentium* son aisladas de otros puntos del cuerpo diferentes del aparato urogenital o la vagina.

Todos los organismos, excepto *T. vaginalis*, no fueron reactivos en el análisis de identificación de microorganismos **Affirm** VP8 para *T. vaginalis* a una concentración de 10<sup>8</sup> organismos/mL.

## Sensibilidad analítica

El análisis de identificación de microorganismos **Affirm** VP8 para el género *Candida* puede detectar 1 x 10<sup>4</sup> UFC del género *Candida* en la fase logarítmica por ensayo, 2 x 10<sup>5</sup> UFC de *G. vaginalis* en la fase logarítmica por ensayo y 5 x 10<sup>3</sup> triconómadras por ensayo.

## Sustancias interferentes

En los estudios clínicos, no se determinó ninguna evidencia de interferencia con los lubricantes, irrigaciones, menstruos, o espermicidas vaginales.

En los estudios analíticos, no hubo evidencia de interferencia con lubricantes vaginales basados en agua.

## Reproducibilidad

El sistema **Affirm** se evaluó en tres clínicas mediante tres usuarios primerizos diferentes (enfermeros practicantes) para estudiar la reproducibilidad en y entre ciclos de análisis. Cada clínica evaluó 24 muestras codificadas que constaban de 12 muestras positivas y 12 muestras negativas. Se realizaron cuatro ciclos de seis muestras por ciclo en cada clínica. Se obtuvo una concordancia total de los resultados para cada muestra en cada una de las tres clínicas, demostrando la reproducibilidad y facilidad de uso del sistema **Affirm** en y entre ciclos, y entre diferentes clínicas.

## DISPONIBILIDAD

N.º cat.	Descripción
446252	Prueba de identificación de microorganismos <b>Affirm</b> VP8, 24 análisis
446257	Prueba de identificación de microorganismos <b>Affirm</b> VP8, 120 análisis
446251	Torundas para la recogida de muestras <b>Affirm</b> VP8, 100 torundas
446250	Equipos para la recogida de muestras <b>Affirm</b> VP8, 24 equipos
446255	Sistema de transporte a temperatura ambiente <b>Affirm</b> VP8 (sistema de transporte de 72 h), 100 sistemas
250100	Procesador <b>BD MicroProbe</b> (120 voltios)
211918	Procesador <b>BD MicroProbe</b> , (220/240 voltios)

**BIBLIOGRAFÍA:** Para consultar la bibliografía vea el texto en inglés.

**TABLA 1  
RECONCILIADO**  
**Pacientes sintomáticos**

Organismo	Método de ref.	Affirm VPIII			Preparación microscópica			Tinción Gram		
		Sensibilidad	Especificidad	Exactitud	Sensibilidad	Especificidad	Exactitud	Sensibilidad	Especificidad	Exactitud
<i>Candida</i> sp.	Cultivo	82,3%	98,4%	95,2%	71,9%	92,2%	88,1%	45,6%	99,6%	90,3%
	Tinción Gram	79/96	377/383	456/479	69/96	353/383	402/479	26/57	271/272	297/329
<i>G. vaginalis</i>	Tinción Gram	95,2%	100%	95,3%	—	—	—	—	—	—
	Cultivo	118/124	5/5	123/129	—	—	—	—	—	—
	Cultivo	98,3%	100%	98,4%	—	—	—	—	—	—
	Cultivo	118/120	9/9	127/129	—	—	—	—	—	—
<b>Todos los pacientes</b>										
Organismo	Método de ref.	Affirm VPIII			Prep. microscópica			Tinción Gram		
		Sensibilidad	Especificidad	Exactitud	Sensibilidad	Especificidad	Exactitud	Sensibilidad	Especificidad	Exactitud
Gen. <i>Candida</i>	Cultivo	80,6%	98,2%	95,3%	60%	94,0%	88,2%	44,4%	99,3%	92,1%
	Tinción Gram	100/124	605/616	705/740	74/124	579/616	653/740	28/63	418/421	446/484
<i>G. vaginalis</i>	Tinción Gram	83,8%	100%	89,0%	—	—	—	—	—	—
	Cultivo	171/204	95/95	266/299	—	—	—	—	—	—
	Cultivo	89,0%	99,1%	92,6%	—	—	—	—	—	—
	Cultivo	170/191	107/108	277/299	—	—	—	—	—	—
<i>T. vaginalis</i>	Prep. microscópica	92,8%	99,9%	98,9%	—	—	—	—	—	—
	Cultivo	103/111	740/741	843/852	—	—	—	—	—	—
	Cultivo 5-7 días	89,6%	99,9%	98,5%	82,6%	99,6%	97,3%	—	—	—
	Cultivo	103/115	736/737	839/852	95/115	734/737	829/852	—	—	—
<b>NO RECONCILIADO</b>										
Organismo	Método de ref.	Affirm VPIII			Prep. microscópica			Tinción Gram		
		Sensibilidad	Especificidad	Exactitud	Sensibilidad	Especificidad	Exactitud	Sensibilidad	Especificidad	Exactitud
<i>Candida</i> sp.	Cultivo	79,3%	95,0%	92,3%	67,1%	88,9%	85,2%	42,6%	98,5%	89,4%
	Tinción Gram	65/82	377/397	442/479	55/82	353/397	408/479	23/54	271/275	294/329
<i>G. vaginalis</i>	Tinción Gram	95,1%	83,3%	94,6%	—	—	—	—	—	—
	Cultivo	117/123	5/6	122/129	—	—	—	—	—	—
	Cultivo	98,1%	40,9%	88,4%	—	—	—	—	—	—
	Cultivo	105/107	9/22	114/129	—	—	—	—	—	—
<b>Todos los pacientes</b>										
Organismo	Método de ref.	Affirm VPIII			Prep. microscópica			Tinción Gram		
		Sensibilidad	Especificidad	Exactitud	Sensibilidad	Especificidad	Exactitud	Sensibilidad	Especificidad	Exactitud
<i>Candida</i> sp.	Cultivo	78,0%	95,9%	93,2%	54,1%	91,8%	86,2%	41,7%	98,6%	91,5%
	Tinción Gram	85/109	605/631	690/740	59/109	579/631	638/740	25/60	418/424	443/484
<i>G. vaginalis</i>	Tinción Gram	83,5%	96,0%	87,6%	—	—	—	—	—	—
	Cultivo	167/200	95/99	262/299	—	—	—	—	—	—
	Cultivo	87,5%	81,7%	84,9%	—	—	—	—	—	—
	Cultivo	147/168	107/131	254/299	—	—	—	—	—	—
<i>T. vaginalis</i>	Prep. microscópica	91,8%	98,1%	97,4%	—	—	—	—	—	—
	Cultivo de 5-7 días	90/98	740/754	830/852	—	—	—	—	—	—
	Cultivo de 5-7 días	89,2%	99,3%	98,0%	82,0%	99,1%	96,8%	—	—	—
	Cultivo	99/111	736/741	835/852	91/111	734/741	825/852	—	—	—

\* Sensibilidad = TP/(TP+FN); Especificidad = TN/(TN+FP); Exactitud = (TP+FP+FN)+TN



Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Výrobca / Tillverkare / Производител / Producător / Üretici / Proizvođač / Производител / Аткарушы



Use by / Spottebujte do / Anvendes for / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes for / Stosować do / Utilizar em / Použítte do / Usar antes de / Använd före / Исполняйте до / A se utiliza până la / Son kullanna tarhi / Uputrebti do / Исползовать до / дейин пайдаланура / Uputribeiti do /  
 YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) /  
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) /  
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutning af måned) /  
 JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) /  
 AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp) /  
 VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) /  
 AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) /  
 JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) /  
 EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) /  
 ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja) /  
 AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) /  
 MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mėnesio pabaiga) /  
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutten av måneden) /  
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) /  
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) /  
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiacu) /  
 aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) /  
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutet på månaden) /  
 ГГГГ-MM-ДД / ГГГГ-MM (MM = края на месеца) /  
 AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii) /  
 YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu) /  
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca) /  
 ГГГГ-MM-ДД / ГГГГ-MM (MM = конец месяца) /  
 ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА (АА = айдың соңы) /  
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)



Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalogusnummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalogszám / Numero di catalogo / Katalogo numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalogové číslo / Número de catálogo / Каталоген номер / Număr de catalog / Katalog numarası / Kataloški broj / Номер по каталогу / Каталог нөмірі



Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierter EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselő az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijose / Autoriseret representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Representante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU / Оторизиран представител в EU / Représentant autorizat în Uniunea Europeană / Автура Топлуугу Yetkilil Temsilcisi / Ovlašteni predstavnik u Evropskoj zajednici / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / Autorizuirani predstavnik u EU



In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiniaparatuur / Lääkinnällinen in vitro -diagnostiikkalaitte / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietaisai / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicinska pomôcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik / Медицински уред за диагностика ин витро / Aparatură medicală de diagnosticare in vitro / In Vitro Dıyagnostik Tibbi Cihaz / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Жасанды жағдайда жүргізіетін медициналық диагностика аспабы / Medicinska pomagala za In Vitro Dijagnostiku



Temperature limitation / Teplotni omezení / Temperaturbegrensning / Temperaturlimit / Temperaturi piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturbereich / Όριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ohrančenie teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegrensning / Температури ограничения / Limitare de temperatură / Sıcaklık sınırlaması / Ograničenje temperature / Ограничение температуры / Температураны шектеу / Dozvoljena temperatura



Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch kode (Lot) / Chargennummer (lot) / Partii kood / Eräkoodi (LOT) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κυβικός παρτίδας (Παρτίδα) / Tétel száma (Lot) / Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-kode (Serie) / Kod partii (seria) / Código do lote (Lote) / Kód série (šarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti) / Код (Партида) / Număr lot (Lotul) / Partii Kodu (Lot) / Код серии / Код партии (lot) / Топтама коды / Lot (kod)



Contains sufficient for <n> tests / Dostatečné množství pro <n> testů / Inneholder tilstrækkeligt til <n> test / Voldoende voor <n> tests / Küllaladane <n> testide jaoks / Sisältöön riittävä <n> testejä varten / Contenu suffisant pour <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα <n> εξετάσεις / <n> testezhez elegendő / Contento sufficiente per <n> test / Pakannkamas kiekis atlikti <n> testų / Inneholder tilstrækkelig for <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Contém suficiente para <n> testes / Obsah vystačí na <n> testov / Contenido suficiente para <n> pruebas / Räckertill <n> antal tester / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Conține suficient pentru <n> teste / <n> testleri için yeterli miktarda içerir / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Достаточное для <n> тестов(а) / <n> тесттері үшін жеткілікті / Sadržaj za (n) testova




Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k použití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulte as instruções de utilização / Pozri Pokyny na používanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen / Направете справка в инструкциите за употреба / Consultați instrucțiunile de utilizare / Kullanım Talimatları'na başvurun / Pogledajte uputstvo za upotrebu / См. руководство по эксплуатации / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / Koristi upute za upotrebu




Do not reuse / Nepoužívejte opakovaně / Må ikke genbruges / Niet opnieuw gebruiken / Mitte kasutada korduvalt / Ei saa käyttää uudelleen / Usage unique / Nicht wiederverwenden / Μην το ξαναχρησιμοποιείτε / Egyszer használatos / Non riutilizzare / Tik vienkartiniam naudojimui / Må ikke gjenbrukes / Nie stosować powtórnie / Não reutilizar / Nepoužívajte opakovane / No reusar / Får ej återanvändas / Не используйте отново / A nu se reutiliza / Tekrar kullannmayın / Ne upotrebljavajte ponovo / Не использовать повторно / Пайдаланбаңыз / Ne koristiti ponovo





 Becton, Dickinson and Company  
7 Loveton Circle  
Sparks, MD 21152 USA  
800-638-8663  
[www.bd.com/ds](http://www.bd.com/ds)

 Benex Limited  
Rineanna House  
Shannon Free Zone  
Shannon, County Clare, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

Proclin is a trademark of Rohm and Haas Co.

BD, BD Logo, MicroProbe and Affirm are trademarks of Becton, Dickinson and Company © 2010 BD.