

REF **200300 NeuMoDx™ CT/NG Test Strip**
R only

POZOR: Samo za izvoz v ZDA

IVD **Za diagnostično uporabo *in vitro* s sistemoma NeuMoDx 288 in NeuMoDx 96 Molecular System**

 Posodobljena navodila najdete na: www.giaagen.com/neumodx-ifu

Za podrobna navodila glejte Priročnik za uporabo sistema NeuMoDx 288 Molecular System; št. dela 40600108

Za podrobna navodila glejte Priročnik za uporabo sistema NeuMoDx 96 Molecular System; št. dela 40600317

NAMEN UPORABE

Test NeuMoDx CT/NG Assay, ki se izvaja na sistemih NeuMoDx 96 Molecular System in NeuMoDx 288 Molecular System, je avtomatiziran kvalitativni *in vitro* test amplifikacije nukleinske kisline za neposredno zaznavanje in diferenciacijo DNK bakterije *Chlamydia trachomatis* (CT) in/ali *Neisseria gonorrhoeae* (NG) v urogenitalnih primerkih. Pri testu je uporabljena verižna reakcija polimeraze (Polymerase Chain Reaction, PCR) v realnem času za zaznavanje DNK *Chlamydia trachomatis* in *Neisseria gonorrhoeae* v primerkih vaginalnih brisov, ki jih odvzamejo zdravniki, vaginalnih brisov, ki si jih pacientke odvzamejo same (v kliničnem okolju), in endocervikalnih brisov, pri čemer so vsi primerki odvzeti z brisi s poliestrsko konico v univerzalnem transportnem mediju (Universal Transport Medium, UTM-RT®, Copan Diagnostics, CA, USA, ali BD™ Universal Viral Transport System, BD™ UVT, Becton, Dickinson and Company, MD, USA ali enakovreden), v vzorcih materničnega vratu, zbranih v raztopini PreservCyt® (Hologic®, Inc, MA, USA), ter v moškem in ženskem urinu. Test NeuMoDx CT/NG Assay je namenjen za pomoč pri diagnozi klamidijских in gonorejskih urogenitalnih bolezni tako pri simptomatskih kot pri asimptomatskih posameznikih.

POVZETEK IN RAZLAGA

Za testiranje primerka urina z NeuMoDx CT/NG Assay se odvzame vzorec v standardni posodici za odvzem urina, brez konzervansov ali aditivov. Za pripravo na testiranje se v sekundarno epruveto, ki je združljiva z NeuMoDx System, vstavi alikvot urina v in se ga za začetek obdelave naloži v sistem NeuMoDx System v namenskih vzorčnih vsebnikih. Za vsak vzorec se zmeša 550 µl alikvota urina s pufrom NeuMoDx Lysis Buffer 2, sistem NeuMoDx System pa samodejno izvede vse korake, ki so potrebni za ekstrakcijo ciljne nukleinske kisline, pripravi izolirano DNK za amplifikacijo s PCR v realnem času ter amplificira in zazna tarče amplifikacije, če so prisotne (deli zaporedij *ciljnega* gena kromosomov in plazmidov CT in NG).

Za testiranje primerka brisa z uporabo testa NeuMoDx CT/NG Assay je treba uporabiti vzorec endocervikalnega brisa ali vzorec vaginalnega brisa, ki ga mora odvzeti klinični zdravnik ali osebe same, bris pa mora imeti poliestrsko konico s plastičnim aplikatorjem, v 3 ml univerzalnega transportnega medija (UTM-RT, UVT) ali enakovrednega. Vzorec brisa je možno testirati neposredno iz primarne epruvete transportnega medija ali iz alikvota, prenesenega v sekundarno epruveto, ki je združljiva z NeuMoDx System in naloženega v NeuMoDx System z uporabo ustreznih prenosnikov za vzorce za začetek obdelave. Če je bil vzorec zamrznjen, je priporočeno predgreteje odtaljenega vzorca pri 85 °C 5-10 minut pred testiranjem. Za vsak vzorec se zmeša 400 µl alikvota medija brisa s pufrom NeuMoDx Lysis Buffer 2, sistem NeuMoDx System pa samodejno izvede vse korake, potrebne za ekstrakcijo ciljne nukleinske kisline, pripravi izolirano DNK za amplifikacijo s PCR v realnem času ter amplificira in zazna tarče amplifikacije, če so prisotne (deli *ciljnih* sekvenc gena kromosomov in plazmidov CT in NG).

Za testiranje citološkega primerka s testom NeuMoDx CT/NG Assay zdravnik v skladu z navodili proizvajalca zbere ThinPrep® Pap Test. Po obdelavi na procesorju ThinPrep® je treba razdeliti alikvot raztopine PreservCyt® v sekundarno epruveto, združljivo s sistemom NeuMoDx System, in z uporabo ustreznega prenosnika vzorca naložiti sistem NeuMoDx System za začetek obdelave. Primerek je treba pred obdelavo spraviti na sobno temperaturo. Za vsak vzorec se zmeša 550 µl alikvot tekočine PreservCyt s pufrom NeuMoDx Lysis Buffer 2, sistem NeuMoDx System pa samodejno izvede vse korake, potrebne za ekstrakcijo ciljne nukleinske kisline, pripravi izolirano DNK za amplifikacijo s PCR v realnem času ter amplificira in zazna cilje amplifikacije, če so prisotni (deli *ciljnih* sekvenc gena kromosomov in plazmidov CT in NG).

NeuMoDx CT/NG Assay vključuje kontrolo obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC1) DNK, ki pomaga, nadzorovati prisotnost potencialno inhibitornih snovi ter napak NeuMoDx System ali reagenta, s katerimi se lahko srečamo med postopkom ekstrakcije in amplifikacije.

Okužbi *Chlamydia trachomatis* in *Neisseria gonorrhoeae* sta dve od najpogostejše spolno prenosljivih okužbi na svetu. Leta 2016 je bilo v Združenih državah določenih več kot 1,6 milijona novih primerov klamidije in 470.000 primerov gonoreje; akar je glede na poročanje Centra za nadzor bolezni (Center for Disease Control, CDC) najvišja številka do sedaj (CDC, 2017)¹.

Chlamydiae so nemotilne, gramnegativne, obligatne intracelularne bakterije. Vrsta *Chlamydia trachomatis* je sestavljena iz petnajstih serotipov (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 in L3), ki lahko povzročijo bolezen pri ljudeh.² Serotipi od D do K so glavni vzrok za genitalne klamidijske okužbe pri moških in ženskah.² *C. trachomatis* lahko povzroči negonokokni uretritis, epididimitis, proktitis, cervicitis, akutni salpingitis in medenično vnetno bolezen (Pelvic Inflammatory Disease, PID).³⁻⁶ Klamidijske okužbe so pogosto asimptomatske tako pri moških kot pri ženskah. Otroci, rojeni okuženim materam, imajo znatno večje tveganje za inkluzijski konjunktivitis in klamidijso pljučnico.^{7,8} Nezdružljiva okužba lahko povzroči PID, ki je glavni vzrok za neplodnost, zunajmaternično nosečnost in kronične bolečine v medenici.⁵ Podatki iz randomiziranih kontroliranih preskušanj presejalnih pregledov na klamidijo kažejo, da lahko presejalni programi zmanjšajo incidenco PID.⁹⁻¹² Tako kot pri drugih vnetnih spolno prenosljivih boleznih bi tudi klamidijška okužba lahko olajšala prenos okužbe s HIV.¹³ Poleg tega lahko nosečnice, okužene s klamidijo, med porodom okužbo prenašajo na dojenčke, kar lahko povzroči oftalmijo neonatorum, kar lahko privede do slepote in pljučnice. Zaradi velikega bremena bolezni in tveganj, povezanih z okužbo, CDC predlaga letno presejanje klamidije za vse spolno aktivne ženske, ki so mlajše od 25 let in za ženske ≥ 25 let s povečanim tveganjem za okužbo (npr. ženske z novim ali z več spolnimi partnerji).¹⁴

Neisseria gonorrhoeae je vzročni agent za gonorejske bolezni. *N. gonorrhoeae* so nemotilni, gramnegativni diplokokci. Najpogostejša lokacija okužbe z *N. gonorrhoeae* je urogenitalni trakt. Okužbe z NG imajo običajno močnejši vnetni odziv kot *C. trachomatis*, vendar so običajno asimptomatske pri ženskih, dokler se ne razvijejo komplikacije, kot je PID.¹⁵ PID lahko povzroči neplodnost jajcevodov, zunajmaternično nosečnost in kronične bolečine v medenici. Pri moških večina okužb sečnice povzroči uretritis z bolečim uriniranjem ali disurijo z izcedkom iz penisa (običajno simptomatsko) in redkeje epididimitis ali razširjeno gonokokno okužbo.¹⁵ Poleg tega epidemiološke in biološke študije dajejo

trdne dokaze, da gonokokne okužbe olajšajo prenos okužbe s HIV.¹³ Test CT/NG uporablja PCR v realnem času za zaznavanje območja gena za motnost z več kopijami na kromosomu *Neisseria gonorrhoeae* chromosome.

Zgodovinsko gledano je bil kultura za *C. trachomatis* in *N. gonorrhoeae* »zlati standard« za zaznavanje CT/NG. Vendar pa metode za kulture zahtevajo možnost organizmov, da so vzdrževani med transportom in shranjevanjem. Metode za kulture za CT je težko standardizirati, so tehnično zahtevne, drage, intenzivne za delo in relativno neobčutljive. Metode za kulture za konvencionalne diagnoze okužbe z NG imajo lahko dobro klinično občutljivost, a zahtevajo izolacijo organizma za selektivne medije in so močno odvisne od ustreznega ravnanja s primerki. Neustrezno shranjevanje in transport primerkov lahko privede do neustreznosti organizma in lažnih negativnih rezultatov. Poleg tega lahko do lažnih negativnih rezultatov privedejo tudi slabe tehnike vzorčenja, materiali za vzorčenje toksičnosti ter oviranje rasti s strani komponent izločanja telesa. Zaradi teh omejitev so metode za kulture manj idealne za implementacijo med rutinskimi testi presejanja. Več nekulturnih laboratorijskih testov, vključno z metodo testa amplifikacije nukleinske kisline (Nucleic Acid Amplification Test, NAAT), je bilo razvitih za zaznavanje klamidije ali gonoreje. Od leta 2002 so izboljšave v tehnologijah NAAT, skupaj z uporabo manj invazivnega zbiranja primerkov, omogočile občutno prilagoditev NAAT pri diagnozi CT in NG. Preskus amplifikacije nukleinske kisline je zdaj edina priporočena metoda med nekulturnimi metodami za rutinsko laboratorijsko uporabo pri testiranju CT/NG s CDC od leta 2014.¹⁶ Test CT/NG uporablja PCR v realnem času za zaznavanje dveh ločenih regij v *Chlamydia trachomatis*, en cilja na gen helikaze, ki je prisoten v kriптиčnem plazmidu z več kopijami, in en na gen zunanje membrane kromosoma CT. Na zaznavanje CT ne vpliva nedavna mutacija, ugotovljena v regiji 23S kromosoma CT, ali izbris v plazmidu v nvCT, ki so jo leta 2006 identificirali na Švedskem.

NAČELA POSTOPKA

NeuMoDx CT/NG Assay združuje tehnologije ekstrakcije DNK in amplifikacije/zaznavanja s PCR v realnem času. Primerki se odvzamejo s konvencionalnim odvzemanjem primerkov urina ali s pomočjo epruvet za zbiranje primerka brisa (UTM-RT, UVT ali enakovrednimi) ali tekočino PreservCyt® (ThinPrep® Pap Test). Sistem NeuMoDx System samodejno odvzame alikvot primerka urina, brisa ali citološkega primerka, da ga zmeša s pufrom NeuMoDx Lysis Buffer 2 in ekstrakcijskimi reagenti, ki jih vsebuje ekstrakcijska plošča NeuMoDx Extraction Plate, da začne obdelavo. Sistem NeuMoDx System avtomatizira in integrira ekstrakcijo ter koncentracijo DNK, pripravo reagenta ter amplifikacijo in zaznavanje nukleinske kisline v ciljni sekvenci z uporabo PCR v realnem času. Vključena kontrola obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC1) pomaga nadzirati prisotnost potencialnih inhibitornih snovi ter napak sistema, postopka ali reagenta. Ko je primerek enkrat naložen v NeuMoDx System, upravljavcu ni več treba posredovati.

Sistemi NeuMoDx Systems za izvajanje lize celic, ekstrakcijo DNK in odstranjevanje inhibitorjev uporabljajo kombinacijo toplote, litičnih encimov in ekstrakcijskih reagentov. Sproščene nukleinske kisline ujamejo paramagnetni delci. Delci z vezanimi nukleinskimi kislinami se vstavijo v kartušo NeuMoDx Cartridge, kjer so nevezane komponente, ki niso DNK, dodatno izprane z reagentom za izpiranje NeuMoDx Wash Reagent, vezana DNK pa se eluira z reagentom za sprostitvev NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx System nato uporabi izluženo DNK za rehidracijo amplifikacijskih lastniških reagentov NeuDry™, ki vsebujejo vse potrebne elemente za amplifikacijo tarč CT in NG in odsek sekvence SPC1. To omogoči hkratno amplifikacijo in zaznavanje tako tarč kot kontrolnih sekvenc DNK. Po rekonstituciji posušenih reagentov PCR NeuMoDx System sprosti pripravljeno mešanico za PCR v eno od komor PCR (na vsak primerek) kartuše NeuMoDx Cartridge. Amplifikacija in zaznava sekvenc DNK kontrole in tarče (če so prisotne) se izvede v komori PCR. Kartuša NeuMoDx Cartridge je vključno s komoro PCR zasnovana tako, da vsebuje amplikon, ki sledi PCR v realnem času in zato prepreči tveganje onesaženja po amplifikaciji.

Amplificirane tarče so zaznane v realnem času s kemijo v šobi za hidrolizo (splošno imenovano kemija TaqMan®) z uporabo fluorogenih oligonukleotidnih molekul šobe, specifičnih za amplikone za njihove ustrezne tarče. TaqMan šobe so sestavljene iz fluorofora, ki je kovalentno vezan na 5'-koncu oligonukleotidne šobe in dušilec na 3'-koncu. Dokler je šoba nedotaknjena, sta fluorofor in dušilec v bližini, zato molekula dušilca zaduši fluorescenco, ki jo fluorofor oddaja prek Försterjevega resonančnega prenosa energije (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Šobe TaqMan so zasnovane, da se prilegajo znotraj regije DNK, ki jo amplificira specifični komplet primerjev. Ko polimeraza DNK Taq razširi primer in sintetizira novo verigo, aktivnost eksonukleaze v smeri 5' proti 3' koncu polimeraze Taq DNA degradira šobo, ki se prilega predlogi. Degradacija šobe sprosti fluorofor in zlomi neposredno bližino dušilca ter tako premaga učinek dušenja zaradi FRET in omogoči zaznavanje fluorofora. Nastali fluorescenčni signal, zaznan v termopomnoževalniku sistema NeuMoDx System, je neposredno sorazmeren s sproščenim fluoroforom.

Šoba TaqMan, označena s fluoroforom (vzbujanje: 490 nm in emisija: 521 nm) na koncu 5' ter temni dušilec na koncu 3' se uporabita za zaznavanje DNK NG in šobe TaqMan, označene s fluoroforom (vzbujanje: 590 nm in emisija: 610 nm) na koncu 5', temni dušilec na koncu 3' pa se uporablja za zaznavanje DNK CT. Šoba TaqMan je za zaznavo kontrole obdelave vzorca označena z drugačnim fluorescentnim barvilom (vzbujanje: 535 nm in emisija: 556 nm) na koncu 5' in s temnim dušilcem na koncu 3'. Sistem NeuMoDx System nadzira fluorescentni signal, ki ga oddajajo šobe TaqMan na koncu vsakega cikla amplifikacije. Ko je amplifikacija zaključena, sistem NeuMoDx System analizira podatke in izda poročilo s končnim kvalitativnim rezultatom (POSITIVE (POZITIVNO)/NEGATIVE (NEGATIVNO)/INDETERMINATE (NEDOLOČEN)/UNRESOLVED (NEREŠENO)/NO RESULT (BREZ REZULTATA)).

REAGENTI/POTROŠNI MATERIAL

Priloženi materiali

REF.	Vsebina	Enote na paket	Testi na enoto	Testi na paket
200300	NeuMoDx CT/NG Test Strip <i>Posušeni reagenti PCR v realnem času, ki vsebujejo CT/NG-specifične šobe in primerje TaqMan, s specifičnimi šobami in primerji za kontrolo obdelave vzorca TaqMan.</i>	6	16	96

Potrebni materiali, ki niso priloženi (na voljo ločeno pri družbi NeuMoDx)

REF.	Vsebina
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Posušeni paramagnetni delci, litični encim in kontrole obdelave vzorca</i>
400500	NeuMoDx Lysis Buffer 2
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Konice Hamilton® CO-RE/CO-RE II (300 µl) s filtri
235905	Konice Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µl) s filtri

Bris in transportni medij (ni priloženo)

Vrsta vzorca	Priporočen medij	Priporočena naprava za zbiranje
Vaginalni ali endokervikalni bris	Universal Transport Medium (Copan UTM-RT), 3 ml ali Universal Viral Transport System (BD UVT), 3 ml	Flexible Minitip Nylon® Flocked Swab (Copan) ali Flexible Minitip Flocked Swab (BD)
Citološki primerek	Raztopina PreservCyt®, primerek za tekoči Pap	Kombinacija metlici podobne naprave ali endocervikalne krtačke/plastičnega loparčka

Instrumentacijska oprema, ki je potrebna, vendar ni dobavljena

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] ali NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]



OPOZORILA IN VARNOSTNI UKREPI

- Trak NeuMoDx CT/NG Test Strip je namenjen samo za diagnostično uporabo *in vitro* s sistemi NeuMoDx Systems.
- Ne uporabljajte potrošnega materiala ali reagentov po poteku navedenega roka veljavnosti.
- Ne uporabljajte reagentov, če je varnostni pečat prelomljen oziroma če je embalaža ob prejemu poškodovana.
- Ne uporabljajte potrošnega materiala ali reagentov, če je zaščitna vrečka ob prejemu odprta ali poškodovana.
- Ne uporabljajte urina, odvzetega v vsebnikih s prezervativi. Test NeuMoDx CT/NG Assay ni bil potrjen za uporabo s prezervativi.
- Primerke brisov je treba odzemanj s poliestrskim brisom s plastičnim aplikatorjem. Pred testiranjem odstranite bris iz transportnega medija. Test NeuMoDx CT/NG Assay ni bil potrjen za uporabo z drugimi vrstami brisov.
- Ne zbirajte primerkov brisov v transportnih medijih, ki niso UTM-RT, UVT, ali enakovredni. Test NeuMoDx CT/NG Assay ni bil potrjen za uporabo z drugimi transportnimi mediji.
- Citološke primerke mora odvzeti zdravnik v skladu z navodili za zbiranje vzorcev ThinPrep® Pap Test. ThinPrep® Pap Test se zberejo v tekočino PreservCyt®.
- Citoloških primerkov ne zbirajte v druge medije, razen v tekočino PreservCyt®. Test NeuMoDx CT/NG Assay ni bil potrjen za uporabo z drugimi citološkimi konzervansi.
- Citološke primerke je treba pred testiranjem v sistemih NeuMoDx System segreti na sobno temperaturo. Za primerke, hranjene pri 4 °C z 1 ml alikvota v sekundarno epruveto, je priporočljiva 30-minutna inkubacija pri sobni temperaturi. Za polne vsebnike ThinPrep (~ 20 ml PreservCyt), shranjene pri 4 °C, je priporočljiva 40-minutna inkubacija pri sobni temperaturi.
- Minimalni volumen primerka je odvisen od velikosti epruvete in prenosnika epruvete s primerki, kot je določeno spodaj:
 - **Prenosnik za epruvete s primerki (za 32 epruvet):** ≥ 700 µl primerka je potrebno pri uporabi sekundarnih epruvet, primernih za prenosnike za epruvete s primerki za 32 epruvet; volumen pod določenim minimumom lahko povzroči napako »Quantity Not Sufficient« (Količina ni zadostna).
 - **Prenosnik za epruvete s primerki (za 24 epruvet):** ≥ 2 ml primerka je potrebno pri uporabi primarnih epruvet, ali ≥1,1 ml primerka je potrebno pri uporabi sekundarnih epruvet, primernih za prenosnike za epruvete s primerki za 24 epruvet. Če je volumen pod navedenim minimumom, se lahko pojavi napaka »Quantity Not Sufficient« (Količina ni zadostna).
 - **Prenosnik za epruvete s primerki z majhnim volumenom (za 32 epruvet):** ≥ 650 µl urina ali citološkega primerka ali ≥ 550 µl primerka brisa je potrebno pri uporabi sekundarnih epruvet, primernih za prenosnike za epruvete s primerki za nizki volumen za 32 epruvet. Če je volumen pod navedenim minimumom, se lahko pojavi napaka »Quantity Not Sufficient« (Količina ni zadostna).

- Izvajanje CT/NG testa na primerkih urina ali brisa, ki so starejši od 7 dni, lahko pri uporabi NeuMoDx CT/NG Test Strip proizvede neveljavne ali napačne rezultate.
- Izvajanje CT/NG testa na citološkem primerku, ki je starejši od 30 dni (kadar je shranjen pri 2–30 °C), lahko povzroči neveljavne ali napačne rezultate (glejte priporočilo proizvajalca ThinPrep® Pap Test).
- Preprečite kontaminacijo katerega koli reagenta z mikrobi ali dezoksiribonukleazo (DNaza). Priporočena je uporaba sterilnih pipet za prenos brez Dnaze. Za vsak primerek uporabite novo pipeto.
- Kartušice NeuMoDx Cartridge po amplifikaciji ne prijemajte oziroma je ne odlopite, da se izognete kontaminaciji. Kartušice NeuMoDx Cartridge v nobenih pogojih ne odstranjujte iz vsebnikov za biološko nevarne odpadke. Kartuša NeuMoDx Cartridge je zasnovana tako, da preprečuje kontaminacijo.
- V primerih, kjer teste PCR z odprtimi epruvetami izvaja tudi laboratorij, je potrebna dodatna previdnost pri zagotavljanju, da NeuMoDx CT/NG Test Strip, potrošni material in reagenti, ki so potrebni za testiranje, osebna zaščitna oprema kot so rokavice in laboratorijski plašči ter NeuMoDx System, niso kontaminirani.
- Pri ravnanju z reagenti in potrošnim materialom NeuMoDx uporabljajte čiste nitrilne rokavice brez pudra. Bodite previdni, da se ne dotaknete zgornje površine NeuMoDx Cartridge, tesnilne folije površine testnega traku NeuMoDx CT/NG Test Strip ali ekstrakcijske plošče NeuMoDx Extraction Plate, oziroma zgornje površine NeuMoDx Lysis Buffer 2; s potrošnim materialom in reagenti ravnajte tako, da se dotikate samo stranskih površin.
- Varnostni podatkovni listi (Safety Data Sheets, SDS) so priloženi vsakemu reagentu (kot je primerno) www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Po izvedbi testa si temeljito umijte roke.
- Pipete ne uporabljajte z usti. Ne kadite, pijte ali jejte v območjih, kjer ravnate s primerki ali reagenti kompleta.
- S primerki vedno ravnajte, kot da so kužni in v skladu z varnimi postopki v laboratorijih, kot so tisti, opisani v *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁷ in dokumentu CLSI M29-A3.¹⁸
- Neuporabljene reagente in odpadke zavržite v skladu z državnimi, zveznimi, okrajnimi in lokalnimi predpisi.
- Ne uporabljajte ponovno.

SHRANJEVANJE, RAVNANJE IN STABILNOST IZDELKA

- NeuMoDx CT/NG Test Strip so stabilni v prvotni embalaži do navedenega roka uporabe na oznaki izdelka, ko je le-ta shranjen pri temperaturi 15–28 °C.
- Ne uporabljajte potrošnega materiala in reagentov po poteku roka uporabe.
- Ne uporabljajte nobenih testnih izdelkov, če je primarna ali sekundarna embalaža vidno poškodovana.
- Ko je naložen, lahko NeuMoDx CT/NG Test Strip ostane v sistemu NeuMoDx System 14 dni. Programska oprema spremlja preostali rok uporabnosti naloženih testnih trakov in ga sporoča uporabniku v realnem času. Sistem bo pozval k odstranitvi testnega traku, ki je v uporabi dlje, kot je dovoljeno.

ZBIRANJE, TRANSPORT IN SHRANJEVANJE PRIMERKOV

- NeuMoDx CT/NG Test Strip je bil testiran z uporabo ženskih in moških primerkov urina, primerkov vaginalnih brisov, ki so jih odvzeli klinični zdravniki in same osebe, primerki endocervikalnih brisov in tekočine PreservCyt iz ThinPrep Pap Test. Primerke brisov je treba jemati z brisom s poliestrsko konico in plastičnim aplikatorjem (UTM-RT, UVT, ali enakovrednim). ThinPrep Pap Test je treba zbirati v skladu s priporočili proizvajalca. Delovanje z drugimi vrstami primerkov, ki niso omenjene, ni bilo ocenjeno.
- Zbrani primerki urina morajo biti med transportom shranjeni pri temperaturi 2–8 °C.
- Zbrani primerki brisov morajo biti med transportom shranjeni pri temperaturi, ki je priporočena v kompletu za odzemanje brisov.
- Primerki urina in brisov morajo biti shranjeni med 2 do 8 °C, največ 7 dni pred testiranjem in največ 24 ur pri sobni temperaturi.
- Citološki primerki morajo biti shranjeni pri temperaturi 2–30 °C do 30 dni in jih je treba uporabljati v skladu s priporočili proizvajalca (Hologic, Inc, MA, USA).

NAVODILA ZA UPORABO

Zbiranje/transport primerkov

1. Urin v prvem odvzemu (priporočila CDC¹⁶) je potrebni odvzeti v posodice za urin brez prezervativov. Če je možno, pacient ne sme urinirati vsaj 1 uro pred odvzemom primerka.
2. Vaginalne brise, ki jih odvzamejo klinični zdravniki in same osebe, kot tudi endocervične brise, je treba odvzeti v skladu z navodili proizvajalca za napravo za zbiranje brisov.
3. Citološke primerke mora odvzeti zdravnik, ki upošteva navodila proizvajalca s kompletom za zbiranje ThinPrep® Pap Test.
4. Če brisi in/ali primerki urina niso testirani v roku 24 ur, jih je potrebno 7 dni pred testiranjem shraniti pri temperaturi 2–8 °C. Citološki primerki morajo biti shranjeni pri temperaturi 2–30 °C do 30 dni v skladu s priporočili proizvajalca (Hologic, Inc, MA, USA).

Priprava testa – primerek urina

1. Oznako s črtno kodo primerka namestite na epruveto s primerkom, ki je združljiva s sistemom NeuMoDx System.
2. Nežno zavrtite primerek urina v glavnem vsebniku, da dosežete enakomerno porazdelitev.
3. Uporabite drugo pipeto za prenos ali konico pipete za vsak primerek, prenesite alikvot urina v primerek v epruveti s črtno kodo, ki je združljiva s NeuMoDx System.

Priprava testa – primerek brisov

1. Oznako s črtno kodo primerka namestite na epruveto s primerkom, ki je združljiva s sistemom NeuMoDx System. Primarno epruveto za zbiranje brisov je mogoče označiti in jo postaviti neposredno v prenosnik za epruvete s primerki za 24 epruvet. Poleg tega lahko prenesete medij brisa v sekundarno epruveto za obdelavo v sistemu NeuMoDx System.
2. Na kratko zavrtite primerek brisa v primarnem vsebniku, da dosežete enakomerno porazdelitev.
3. Če se testiranje primerka brisa izvaja v primarni epruveti za odvzem epruveto s črtno kodo postavite v prenosnik za epruvete s primerki za 24 epruvet in se prepričajte, da je pred nalaganjem v sistem NeuMoDx System pokrov odstranjen.
4. Pri uporabi sekundarne epruvete alikvot primerka brisa prenesite v primerek v epruveti s črtno kodo, ki je združljiva s sistemom NeuMoDx System.

Priprava testa – citološki primerki

1. Oznako s črtno kodo primerka namestite na epruveto s primerkom, ki je združljiva s sistemom NeuMoDx System.
2. Nežno vrtite tekočino PreservCyt, da dosežete enakomerno porazdelitev. Test NeuMoDx CT/NG Assay je bil potrjena le z naknadno obdelanimi citološkimi primerki tekočine ThinPrep®.
3. Uporabite drugo pipeto za prenos ali konico pipete za vsak primerek, prenesite alikvot PreservCyt v primerek v epruveti s črtno kodo, ki je združljiva s NeuMoDx System.

Delovanje sistema NeuMoDx System

Za podrobna navodila glejte Priročnik za uporabo sistemov NeuMoDx 288 in 96 Molecular System (št. dela 40600108 in 40600317).

1. Naložite naročilo testa v sistem NeuMoDx System v skladu z zelenim tipom primerka (Urine (Urin), Transport Medium (Transportni medij) ali Cytology (Citologija)) in vrsto epruvete. Če to v naročilu testa ni opredeljeno, bo privzeto uporabljen tip primerka **Urine (Urin) v Secondary Tube** (Sekundarna epruveta).
2. Enega ali več prenosnikov testnih trakov za NeuMoDx Test Strip Carrier napolnite s trakovi NeuMoDx CT/NG Test Strip in uporabite zaslon na dotik, da naložite prenosnike testnih trakov v sistem NeuMoDx System.
3. Če to zahteva programska oprema NeuMoDx System, dodajte potrebno količino potrošnega materiala v vsebnike potrošnega materiala NeuMoDx System in uporabite zaslon na dotik, da prenosnik(e) naložite v NeuMoDx System.
4. Če to zahteva programska oprema NeuMoDx System, zamenjajte NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, spraznite odpadke pri polnjenju, zabojnik za biološke odpadke (samo pri NeuMoDx 288), koš za odpadne konice (samo NeuMoDx 96) ali koš za biološke odpadke (samo NeuMoDx 96), kot je to potrebno.
5. Epruvete s primerki naložite v ustrezen prenosnik za epruvete s primerki in poskrbite, da so pokrovi odstranjeni z vseh epruvet.
6. Prenosnik za epruvete s primerki postavite na katerikoli odprt položaj na polici samodejnega nalagalnika in uporabite zaslon na dotik, da prenosnik naložite v NeuMoDx System. S tem boste začeli obdelavo primerkov, naloženih za določene teste.

OMEJITVE

- Trak NeuMoDx CT/NG Test Strip se lahko uporablja samo v sistemih NeuMoDx Systems.
- Delovanje traku NeuMoDx CT/NG Test Strip je bilo potrjeno z moškimi in ženskimi vzorci urina, vaginalnimi brisi, ki so jih odvzeli klinični zdravniki ali osebe same, s primerki endocervikalnih brisov in citološkimi primerki v tekočini PreservCyt. Uporaba testnega traku NeuMoDx CT/NG Test Strip z drugimi kliničnimi viri ni bila ocenjena, zato karakteristike delovanja tega testa za druge tipe primerkov niso znane.
- Ker je zaznava CT in NG odvisna od števila prisotnih organizmov v vzorcu, so zanesljivi rezultati odvisni od ustreznega odvzemanja primerkov, ravnanja z njimi in shranjevanja.
- Napačni rezultati testov se lahko pojavijo zaradi neustreznega zbiranja primerkov, ravnanja, shranjevanja, tehnične napake ali zaradi zamenjave vzorcev. Poleg tega se lahko pojavijo tudi lažni negativni rezultati, ker je število organizmov v primerku nižje od analitične občutljivosti testa.
- Testiranje je omejeno na osebe, ki je usposobljeno za uporabo sistema NeuMoDx System.
- Če kontrola obdelave vzorca ne amplificira in če je rezultat testa NeuMoDx CT/NG negativen, bo sporočen neveljaven rezultat (Indeterminate (Nedoločen) ali Unresolved (Nerešen)), test bo potrebno ponoviti.
- Ni nujno, da pozitiven rezultat testa kaže na prisotnost živih organizmov. Nakazuje pa domnevno prisotnost DNK CT in/ali NG.
- Čeprav ni znanih sevov/izolatov NG, katerim manjkajo geni *motnosti*, pojav takega seva lahko vodi do napačnih rezultatov pri uporabi NeuMoDx CT/NG Test Strip.

- Test NeuMoDx CT/NG vključuje tako genomske kot plazmidne (kriptični plazmid) cilje za CT, ki zagotavljajo natančno zaznavanje vseh sevov. Kljub temu lahko pride do napačnega rezultata, če sevi/izolati CT v genomu nimajo kriptičnega plazmida kot tudi gena proteina porin.
- Mutacije v veznih regijah primerja/šobe lahko vplivajo na zaznavo z uporabo testa NeuMoDx CT/NG Assay.
- Rezultati testa NeuMoDx CT/NG se morajo uporabljati kot dodatki h kliničnim opazovanjem in drugim razpoložljivim podatkom, ki jih ima zdravnik na voljo. Test ni namenjen razlikovanju prenosnikov DNK CT in/ali NG od tistih s klamidijskimi in/ali gonokoknimi boleznimi.
- Na rezultate testa lahko vpliva istočasna antibiotična terapija, saj je lahko DNK CT in NG še naprej zaznan po antimikrobni terapiji.
- Priporočene so dobre laboratorijske prakse, vključno z menjavo rokavic med ravnanjem s primerki pacientov, da preprečite kontaminacijo primerkov.

REZULTATI

NeuMoDx Molecular Systems

Razpoložljive rezultate si je mogoče ogledati oziroma natisniti na zavihku »Results« (Rezultati) v oknu Results (Rezultati) na zaslonu na dotik sistema NeuMoDx System. Rezultate testa NeuMoDx CT/NG Assay samodejno ustvari programska oprema NeuMoDx System z uporabo algoritma za odločanje in parametrov za obdelavo rezultatov, navedenih v definicijski datoteki testa NeuMoDx CT/NG Assay (Assay Definition File, ADF). Rezultat testa se lahko sporoči kot Positive (Pozitivno), Negative (Negativno), Indeterminate (Nedoločen) (IND), No Result (Brez rezultata) (NR) ali Unresolved (Nerešen) (UNR), na podlagi statusa amplifikacije tarče in kontrole obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC1).

Kriteriji za pozitivno ali negativno odločitev je določen v definicijski datoteki testa (Assay Definition File, ADF) NeuMoDx System CT/NG, kot je nameščen na sistem NeuMoDx. Rezultati so sporočeni na podlagi algoritma odločanja ADF in povzeti spodaj v *preglednici 1*.

Preglednica 1. Povzetek Algoritma za odločanje o testu NeuMoDx CT/NG

REZULTAT	TARČE CT in/ali NG	KONTROLA OBDELAVE (SAMPLE PROCESS CONTROL, SPC1)
Positive (Pozitivno)	Amplified (Amplificirano)	Ni na voljo
Negative (Negativno)	Not Amplified (Ni amplificirano)	Amplified (Amplificirano)
Indeterminate (Nedoločen)†	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Ni amplificirano, zaznana napaka sistema, obdelava vzorca končana)	
No Result (Ni rezultata)*†	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Ni amplificirano, zaznana napaka sistema, obdelava vzorca prekinjena)	
Unresolved (Nerešen)†	Not Amplified, No System Error Detected (Ni amplificirano, ni zaznane napake sistema)	

*O zastavici No Result (Ni rezultata) se poroča samo na programski opremi sistema NeuMoDx System z različico 1.8 in novejšo
 †Sistem NeuMoDx System je opremljen s samodejno funkcijo Rerun (Ponovni zagon)/Repeat (Ponoviti), ki jo lahko končni uporabnik izbere za zagotovitev, da se IND/UNR/NR rezultat samodejno ponovno obdelava, da se zmanjšajo zamude pri poročanju o rezultatih.

Neveljavni rezultati

Če test NeuMoDx CT/NG Assay izveden na sistemu NeuMoDx System ne ustvari veljavnega rezultata, bo na podlagi tipa napake, ki se je pojavila, smatran kot Indeterminate (Nedoločen) (IND), No Result (Brez rezultata) (NR) ali Unresolved (Nerešen) (UNR).

Rezultat Indeterminate (Nedoločen) bo sporočen, če bo med obdelavo vzorca zaznana napaka v sistemu NeuMoDx System. V primeru, da je sporočen rezultat IND (Nedoločen), je priporočen ponovni test.

Rezultat Unresolved (Nerešeno) bo prikazan, če ne bo zaznana nobena tarča in če ni amplifikacije kontrole obdelave vzorca, kar kaže na morebitno napako reagenta ali prisotnost inhibitorjev.

Če test NeuMoDx CT/NG Assay, ki se izvaja na sistemu NeuMoDx System ne ustvari veljavnega rezultata in se obdelava vzorca prekine pred zaključkom, bo sporočen kot No Result (Brez rezultata) (NR).

OPOMBA: Pri neveljavnem (IND/UNR/NR) rezultatu lahko uporabnik izvede dodatni korak, da vzorec segreva 5–10 minut pri 85 °C pred ponovitvijo testa.

Nadzor kakovosti

Lokalni predpisi običajno določajo, da je laboratorij odgovoren za nadzorne postopke, ki spremljajo točnost in preciznost celotnega analitičnega postopka, in mora določiti število, vrsto in pogostost preskušanja kontrolnih materialov z uporabo preverjenih specifikacij učinkovitosti za nespremenjen, odobren testni sistem.

1. NeuMoDx Molecular, Inc. zunanjih (uporabniško določenih) kontrolnih materialov ne dobavi. Ustrezno kontrolo mora izbrati in odobriti laboratorij. Programska oprema NeuMoDx (različica 1.8 in novejša) omogoča, da se isti vrsti kontrol dodeli več vrst primerkov. Alternativno je za vsak tip primerka mogoče določiti tudi ločen nabor kontrol. Zunanje kontrole ustrezati istim specifikacijam najmanjšega volumna kot zgoraj navedeni klinični vzorci na podlagi velikosti prenosnika za epruvete/primerke. Uporabnik lahko določi specifične črtne kode za pozitivno in negativno kontrolo ter za vsako matrico.

2. Priporočeno: 10 µl AcroMetrix™ CT/NG pozitivna kontrola (Thermo Fisher Scientific REF 967146), razredčena v 1 ml CT/NG negativnega urina ali komercialno razpoložljiv nadzor kemije urina kot nadzor matrice urina, oziroma 1 ml UTM-RT kot kontrola matrice brisa, ali v 1 ml PreservCyt kot kontrola citološke matrice z uporabo prenosnika za epruvete s primerki za 32 epruвет. V primeru kontrole obdelave označene kontrole postavite na prenosnik za epruvete s primerki in uporabite zaslon na dotik, da prenosnik naložite v NeuMoDx System s police samodejnega nalaganika. NeuMoDx System bo prepoznal črtne kode in začel z obdelavo kontrol, razen če ni naložene zadostne količine reagentov ali potrošnega materiala, potrebnega za testiranje.
3. Primerji in šobe, specifične za kontrolo obdelave vzorca 1 (Sample Process Control, SPC1), so vključene v vsak testni trak NeuMoDx CT/NG Test Strip. Ta kontrola obdelave vzorca omogoča NeuMoDx System nadzor učinkovitosti ekstrakcije DNK in postopka amplifikacije PCR.
4. Pozitive (Pozitivno) rezultat testa pri negativnem kontrolnem vzorcu nakazuje težavo s kontaminacijo primerka. Nasvete za odpravljanje težav poiščite v *Priročniku za uporabo NeuMoDx 288 Molecular System ali 96 Molecular System*.
5. Negativni rezultat pri pozitivnem kontrolnem vzorcu lahko kaže na težavo, povezano z reagentom ali s sistemom NeuMoDx System. Nasvete za odpravljanje težav poiščite v *Priročniku za uporabo NeuMoDx 288 Molecular System ali 96 Molecular System*.

KARAKTERISTIKE DELOVANJA

Klinična učinkovitost pri primerkih urina

Karakteristike klinične učinkovitosti NeuMoDx CT/NG Assay so bile določene z uporabo študije primerjave metode notranje retrospektive z uporabo primerkov preostalega urina, ki so bili odvzeti v treh (3) geografsko raznolikih lokacijah laboratorijev.

Primerkom preostalega urina je bila odstranjena identifikacija in določena unikatna številka ID kliničnih laboratorijev, in tako je bil vzpostavljen zaprni seznam, ki je ID pacienta povezoval s primerki brez identifikacije in ki so bili testirani za namene študije. Skupaj je bilo testiranih 388 vnaprej presejanih primerkov, ki so jih priskrbeli trije klinični laboratoriji. Med 388 vzorci so jih klinični laboratoriji določili 90 kot CT-pozitivnih in 53 kot NG-pozitivnih. Nekateri primerki so bili v testu pozitivni tako za CT kot za NG, kar je nakazovalo dvojno oziroma hkratno okužbo. Status testa teh vzorcev je bil zaradi izvedbe »enojne slepe študije« upravljavcu prikrit. Za izvajanje metode primerjalne analize so bili uporabljeni rezultati specifičnih legalno trženih molekularnih naprav, ki jih laboratoriji uporabljajo za standardne teste in so odobreni s strani FDA ter označeni s CE.

Rezultati testa NeuMoDx CT/NG kažejo na klinično občutljivost 96,7 % za tarčo CT in 98,1 % za tarčo NG, oba sporočena pri 95-odstotnem IZ. Klinična specifičnost iz študije je bila določena pri 99,7 % tako za CT in NG, ponovno ob uporabi 95-odstotnega IZ. Spodnja in zgornja meja 95-odstotnega intervala zaupanja (IZ), predstavljeni v *preglednicah 2A in 2B* spodaj, sta bili izračunani brez Wilsonovega postopka s popravkom kontinuitete.

Preglednica 2A.

Povzetek klinične učinkovitosti v urinu – NeuMoDx 288
Zaznavanje *C. trachomatis* s testnim trakom NeuMoDx CT/NG Test Strip

CT (primerki urina)		FDA/CE Referenčni rezultat testa		
		POZ.	NEG	Skupaj
NeuMoDx Test CT/NG	POZ.	87	1	88
	NEG	3	297	300
	Skupaj	90	298	388
Klinična občutljivost (CT) = 96,7 % (89,9–99,1)				
Klinična specifičnost (CT) = 99,7 % (97,8–99,9)				

Preglednica 2B.

Povzetek klinične učinkovitosti v urinu – NeuMoDx 288
Zaznavanje *N. gonorrhoeae* z NeuMoDx CT/NG Test Strip

NG (primerki urina)		FDA/CE Referenčni rezultat testa		
		POZ.	NEG	Skupaj
NeuMoDx Test CT/NG	POZ.	51	1	52
	NEG	1	335	336
	Skupaj	52	336	388
Klinična občutljivost (NG) = 98,1 % (88,4–99,9)				
Klinična specifičnost (NG) = 99,7 % (98,1–99,9)				

Na NeuMoDx 96 Molecular System so bili izvedeni dodatni testi z uporabo zmanjšane števila preostalih kliničnih vzorcev urina. Kot pri predhodno izvedenem testiranju na NeuMoDx 288, so bili tudi rezultati, pridobljeni iz NeuMoDx 96, primerjani z rezultati, ki so jih objavili pri testih z odobritvijo FDA in oznako CE, in uporabili v laboratorijih s testiranjem standarda nege. 208 veljavnih rezultatov je povzetih s 95-odstotnim IZ v *preglednici 2C* spodaj.

Preglednica 2C. Povzetek klinične učinkovitosti v urinu – NeuMoDx 96 Zaznavanje *C. trachomatis* in *N. gonorrhoeae* s testnim trakom NeuMoDx CT/NG Test Strip

Povzetek učinkovitosti (NeuMoDx CT/NG Assay na NeuMoDx 96 Molecular System, primerjan z rezultati referenčnih testov FDA/CE)	
CT	NG
Občutljivost: 92,8 % (83,2–97,3)	Občutljivost: 92,8 % (83,2–97,3)
Specifičnost: 99,3 % (95,4–99,9)	Specifičnost: 99,3 % (95,4–99,9)

Na podlagi populacije, učinkovitosti NeuMoDx CT/NG Assay na NeuMoDx 288 Molecular System in zmanjšanemu številu testiranih kliničnih vzorcev na NeuMoDx 96, je pričakovana klinična občutljivost vrednost znotraj dvostranskega 95-odstotnega IZ (86,9 %-100 %) za CT in (90,6 %-100 %) za NG. Pričakovana klinična specifičnost za obe tarči je vrednost znotraj dvostranskega 95-odstotnega IZ (98,6 %-100 %). Klinična učinkovitost NeuMoDx CT/NG Assay, kot je bila prikazana z dodatnim testiranjem, izvedenim na NeuMoDx 96 Molecular System, je bila znotraj pričakovanih vrednosti, kot je prikazano v preglednici s povzetkom zgoraj.

Klinična učinkovitost v primerkih brisov

Klinična učinkovitost NeuMoDx CT/NG Assay v vzorcih brisov tega testa, zbranih v UVT je bila preverjena z notranjo študijo verifikacije in z uporabo kombinacije prospektivno odvzetih kliničnih primerkov in preostalih kliničnih primerkov iz dveh (2) geografsko raznolikih lokacij laboratorijev. Pozitivni, namišljeni primerki so bili uporabljeni poleg drugih kliničnih primerkov zaradi relativno nizke stopnje prevalence tarč CT in NG v vzorcih brisov.

Prospektivni in preostali primerki brisov so bili de-identificirani, dodeljena jim je bila unikatna številka ID s strani zunanjih kliničnih laboratorijev, iz katerih izvirajo. Tako je bila vzpostavljena zaupna (ter prikrita za NeuMoDx) povezava ID pacienta do de-identificiranih vzorcev, ki so bili testirani za namene študije. Skupaj je bilo testiranih 110 vaginalnih brisov in 121 endocervikalnih brisov, ki sta jih priskrbela dva klinična laboratorija. Med vsemi primerki jih je bilo 38 identificiranih kot CT-pozitivnih in 9 jih je bilo identificiranih kot NG-pozitivnih. Dodatnih 48 vaginalnih in 48 endocervikalnih brisov, predhodno presejanih CT in NG *negativnih*, je bilo obogatenih, da bi se ustvarili namišljeni vzorci (zaradi nizke prevalenca CT in NG) za skupno število dodatnih 96 pozitivnih primerkov. Med temi pozitivnimi vzorci jih je bilo nekaj primerkov pozitivnih samo za CT, samo za NG oziroma tako za cilje CT in NG. Rezultati legalno trženih molekularnih naprav izvornih laboratorijev s specifično odobritvijo FDA in oznako CE, oziroma *pričakovani* rezultati namišljenih vzorcev, so bili uporabljeni za izvedbo primerjalne analize.

Rezultati primerjave klinične metode so pokazali približke klinične občutljivosti (100 %) in klinične specifičnosti (99,6 %) za tarčo CT ter približke klinične občutljivosti (100 %) in klinične specifičnosti (98,7 %) za tarčo NG. Poleg tega sta bili klinična občutljivost in klinična specifičnost zelo podobni pri teh dveh tipih brisa. Za matrico endocervikalnega brisa so rezultati test dali približke klinične občutljivosti (100 %) in klinične specifičnosti (99,2 %) za tarčo CT in klinično občutljivost (100 %) ter klinično specifičnost (99,1 %) za tarčo NG. Za matrico vaginalnega brisa so rezultati test dali približke klinične občutljivosti (100 %) in klinične specifičnosti (100 %) za tarčo CT in klinično občutljivost (100 %) ter klinično specifičnost (98,1 %) za tarčo NG. Spodnja in zgornja meja 95-odstotnega intervala zaupanja (IZ), predstavljeni v *preglednicah 3A* in *3B* spodaj, sta bili izračunani brez Wilsonovega postopka s popravkom kontinuitete.

Preglednica 3A. Povzetek klinične učinkovitosti za brise (endocervikalne in vaginalne) – sistema NeuMoDx 288 in 96 Molecular System, Zaznavanje *C. trachomatis* s testnim trakom NeuMoDx CT/NG Test Strip

CT (primerki brisov)		FDA/CE Referenčni rezultat testa		
		POZ.	NEG	Skupaj
NeuMoDx Test CT/NG	POZ.	62	1	63
	NEG	0	263	263
	Skupaj	62	264	326
Klinična občutljivost (CT) = 100 % (92,7-100)				
Klinična specifičnost (CT) = 99,6 % (97,6-100)				

Preglednica 3B. Povzetek klinične učinkovitosti za brise (endocervikalne in vaginalne) – sistema NeuMoDx 288 in 96 Molecular System, Zaznavanje *N. gonorrhoeae* z NeuMoDx CT/NG Test Strip

NG (primerki brisov)		FDA/CE Referenčni rezultat testa		
		POZ.	NEG	Skupaj
NeuMoDx Test CT/NG	POZ.	103	3	106
	NEG	0	220	220
	Skupaj	103	223	326
Klinična občutljivost (NG) = 100 % (95,5-100)				
Klinična specifičnost (NG) = 98,7 % (95,8-99,7)				

Klinični primerek pri primerkih v citologiji

Karakteristike klinične učinkovitosti NeuMoDx CT/NG Assay so bile določene z uporabo študije primerjave metode notranje retrospektive z uporabo preostalih citoloških primerkov tekočine PreservCyt, pridobljenih iz enega kliničnega laboratorija.

Preostalih primerkov v citologiji je bila odstranjena identifikacija in določena unikatna številka ID kliničnih laboratorijev, in tako je bil vzpostavljen zaupni seznam, ki je ID pacienta povezoval z vzorci brez identifikacije in ki so bili testirani za namene študije. Skupaj je bilo testiranih 83 vnaprej presejanih primerkov, ki jih je priskrbel klinični laboratorij. Iz preostalih negativnih vzorcev je bilo ustvarjenih dodatnih trideset NG-pozitivnih vzorcev za skupno 113 testiranih vzorcev. Med 113 ocenjenimi vzorci je bilo 30 vzorcev opredeljenih kot CT-pozitivnih, 33 vzorcev (od tega 30 namišljenih) pa je klinični laboratorij opredelil kot pozitivne na NG. Noben primerek ni bil pozitiven tako za CT kot za NG. Status testa teh vzorcev je bil zaradi izvedbe »enojne slepe študije« upravljavcu prikrit. Za izvajanje metode primerjalne analize so bili uporabljeni rezultati specifičnih legalno trženih molekularnih naprav, ki jih laboratoriji uporabljajo za standardne teste in so odobreni s strani FDA ter označeni s CE.

Rezultati testa NeuMoDx CT/NG so pokazali klinično občutljivost 100 % za tarčo CT in 97,0 % za tarčo NG, oba sporočena pri intervalu zaupanja 95 % (IZ). Klinična specifičnost iz študije je bila določena pri 100 % tako za CT in NG, ponovno ob uporabi 95-odstotnega IZ. Spodnja in zgornja meja 95-odstotnega intervala zaupanja (IZ), predstavljeni v *preglednicah 4A* in *4B* spodaj, sta bili izračunani brez Wilsonovega postopka brez popravka kontinuitete.

Preglednica 4A. Povzetek klinične učinkovitosti za citološke primerke – sistemi NeuMoDx 288 in 96 Molecular System
Zaznavanje *C. trachomatis* s testnim trakom NeuMoDx CT/NG Test Strip

CT (citološki primerki)		FDA/CE		
		Referenčni rezultat testa		
		POZ.	NEG	Skupaj
NeuMoDx Test CT/NG	POZ.	30	0	30
	NEG	0	53	53
	Skupaj	30	53	83
Klinična občutljivost (CT) = 100 % (88,7–100)				
Klinična specifičnost (CT) = 100 % (93,2–100)				

Preglednica 4B. Povzetek klinične učinkovitosti za citološke primerke – sistemi NeuMoDx 288 in 96 Molecular System
Zaznavanje *N. gonorrhoeae* z NeuMoDx CT/NG Test Strip

NG (citološki primerki)		FDA/CE		
		Referenčni rezultat testa		
		POZ.	NEG	Skupaj
NeuMoDx Test CT/NG	POZ.	32	0	32
	NEG	1	80	81
	Skupaj	33	80	113
Klinična občutljivost (NG) = 97,0 % (84,7–99,5)				
Klinična specifičnost (NG) = 100 % (95,4–100)				

Analična občutljivost – primerki urina

Meja zaznave testa NeuMoDx CT/NG Assay je bila določena s klinično negativnim urinom, obogatenim s kontrolo AcroMetrix CT (Serotip D) ali AcroMetrix NG pri ravneh, navedenih v spodnjih preglednicah. Testi so bili izvedeni z 10 ponovljenimi vzorci na vsaki ravni, v treh dneh in na dveh sistemih NeuMoDx 288 Molecular System, kjer so bili uporabljene 3 serije reagentov (20 ponovitev/serijo in skupno 60). Stopnje zaznave so prikazane v *preglednicah 5A* in *5B*. Meja zaznave CT je bila določena pri 4,5 ET/ml in LoD za NG je bil 0,22 celic/ml, na osnovi analize stila Probit. Dodatno testiranje je bilo izvedeno z zmanjšanim številom vzorcev NeuMoDx 96 Molecular System, kjer je analiza stila Probit določila LoD pri 7 ET/ml za CT in 0,3 celic/ml za NG.

Navedena meja zaznave za NeuMoDx CT/NG Assay je 6 ET/ml za CT in 5 celic/ml za NG na podlagi rezultatov študije o motnjah, ki bo prikazana kasneje.

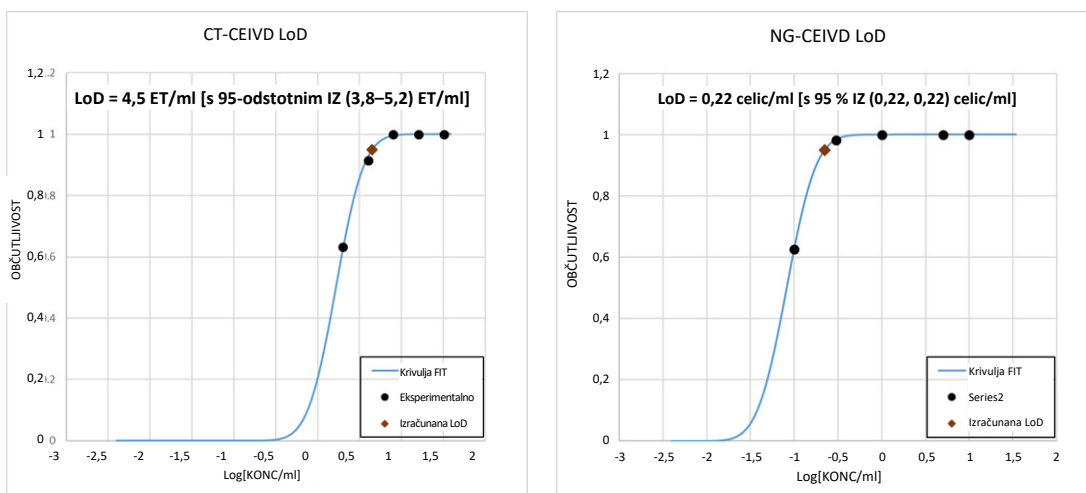
Preglednica 5A. Stopnje pozitivne zaznave za CT v urinu, ki se uporablja v študiji LoD za NeuMoDx CT/NG Test Strip

Preglednica 5B. Stopnje pozitivne zaznave za NG v urinu, ki se uporablja v študiji LoD za NeuMoDx CT/NG Test Strip

CT (ET/ml)	n	Št. pozitivnih	% pozitivnih	LoD (Probit)
32	60	60	100 %	4,5 ET/ml
16	60	60	100 %	
8	60	60	100 %	
4	59	54	91,5 %	
2	60	38	63,3 %	
0	60	0	0 %	

NG (celice/ml)	n	Št. pozitivnih	% pozitivnih	LoD (Probit)
10	58	58	100 %	0,22 celic/ml
5	60	60	100 %	
1	60	60	100 %	
0,3	59	58	98,3 %	
0,1	59	37	63,8 %	
0	59	0	0 %	

Analiza stila Probit v zgornjih preglednicah je bila uporabljena za določitev LoD v cilju CT, da bo 4,5 ET/ml in LoD za tarčo NG pri 0,22 celic/ml [slika 1].



Slika 1. Analiza tipa Probit za določanje LoD testa NeuMoDx CT/NG Assay z uporabo trakov NeuMoDx CT/NG Test Strip.

Analitična občutljivost – primerki brisov

Meja zaznave testa NeuMoDx CT/NG Assay je bila določena s klinično negativnimi endocervikalnimi in vaginalnimi brisi, obogatenimi s kontrolo AcroMatrix CT (Serotip D) ali AcroMatrix NG pri ravneh, navedenih v spodnjih preglednicah. Rezultati so bili analizirani z metodo stopnje zadetkov in nivojem, pri katerem je bilo zaznanih 95 % ali več, so bili tudi sprejeti kot meja zaznave v brisu. Stopnje zaznave so prikazane v preglednicah 6A in 6B. Meja zaznave CT je bila določena pri 20 ET/ml in LoD NG je bil 5 celic/ml, na podlagi stopnje zaznave $\geq 95\%$. Testiranje je bilo izvedeno na sistemih NeuMoDx 288 in 96.

Preglednica 6A. Pozitivna stopnja zaznave za CT v brisu, uporabljenem za študijo LoD za NeuMoDx CT/NG Assay

CT (ET/ml)	n	Št. pozitivnih	% pozitivnih	LoD (stopnja zadetka)
Vaginalni bris				20 ET/ml
30	48	48	100 %	
20	48	48	100 %	
0	0	48	0 %	
Endocervični bris				
30	48	48	100 %	
20	48	48	100 %	
0	0	48	0 %	

Preglednica 6B. Pozitivna stopnja zaznave za NG v brisu, uporabljenem za študijo LoD za NeuMoDx CT/NG Assay

NG (celice/ml)	n	Št. pozitivnih	% pozitivnih	LoD (stopnja zadetka)
Vaginalni bris				5 celic/ml
9	48	48	100 %	
5	48	47	98 %	
0	0	48	0 %	
Endocervični bris				
9	48	48	100 %	
5	48	48	100 %	
0	0	48	0 %	

Analična občutljivost – primerekv citologiji

Meja zaznave testa NeuMoDx CT/NG Assay je bila določena s klinično negativnim PreservCyt, obogatenim s kontrolo AcroMetrix CT (Serotip D) ali AcroMetrix NG pri ravneh, navedenih v spodnjih preglednicah. Rezultati so bili analizirani z metodo stopnje zadetkov in nivojem, pri katerem je bilo zaznanih 95 % ali več, so bili sprejeti kot meja zaznave. Stopnje zaznave so prikazane v *preglednicah 7A in 7B*. Meja zaznave CT je bila določena pri 15 ET/ml in LoD NG je bil 5 celic/ml, na podlagi stopnje zaznave $\geq 95\%$. Testiranje je bilo izvedeno na sistemih NeuMoDx 288 in 96.

Preglednica 7A. Pozitivna stopnja zaznave za CT v citoloških primerkih, uporabljenem za študijo LoD za NeuMoDx CT/NG Assay

CT (ET/ml)	n	Št. pozitivnih	% pozitivnih	LoD (stopnja zadetka)
15	40	40	100 %	15 ET/ml
0	40	0	0 %	

Preglednica 7B. Pozitivna stopnja zaznave za NG v citoloških primerkih, uporabljenem za študijo LoD za NeuMoDx CT/NG Assay

NG (celice/ml)	n	Št. pozitivnih	% pozitivnih	LoD (stopnja zadetka)
5	40	40	100 %	5 celic/ml
0	40	0	0 %	

Zaznavanje variant

Analična občutljivost NeuMoDx CT/NG Assay je bila dodatno potrjena s 14 različnimi serotipi CT in 11 kliničnimi izolati NG. Testiranje je bilo izvedeno z uporabo serotipov CT in izolatov NG, ki so navedeni spodaj v *preglednici 8*. Tarča CT ali NG pri stopnji LoD $\sim 1X$ ali $\sim 2X$ je bil pred testiranjem obogaten v negativne primerke urina. Vsaj 95 % zaznava je bila dosežena na nivojih blizu LoD in 100 % zaznava je bila dosežena tako za variante CT kot NG pri stopnjah blizu 2X LoD, kar ne nakazuje pomembne razlike pri zaznavi relevantnih serotipov CT in reprezentativnega sklopa izolatov NG.

Preglednica 8. Testirani serotipi CT/NG

Serotip CT	Stopnja zaznavanja (%)		Klinični izolat NG [št. ATCC]	Stopnja zaznavanja (%)		
	6 ET/ml	12 ET/ml		0,25 celic/ml	0,5 celic/ml	
A	Ni na voljo	100	49981	100	100	
B		100	31426	100	100	
Ba		100	31407	100	100	
C		100	27633	Ni na voljo	100	
LGV I		100	9793		100	
LGV II		100	43070		100	
LGV III		100	51109		100	
E		100	35542		100	
F		95	100		35541	100
G		95	100		49498	100
H	100	100	49926		100	
I	95	100				
J	100	100				
K	100	100				

Analitična specifičnost

Skupno je bilo ocenjenih 113 izolatov kulture oziroma DNK od organizmov, ki bi lahko sobivali s CT ali NG ali bi bili filogenetsko podobni CT ali NG, glede morebitne navzkrižne reaktivnosti pri testiranju s trakom NeuMoDx CT/NG Test Strip. Organizmi so bili pripravljani v skupinah 5 do 6 organizmov, vsak je bil testiran pri visoki koncentraciji. Večina organizmov je bila obogatenih v negativni urin CT/NG pri približno 1×10^6 CFU/ml, razen nekaterih organizmov iz komercialnih virov, v katerih so bile visoke kopije DNK (10 ng/ml) obogatene v negativni urin CT/NG. Navzkrižna reaktivnost ni bila opažena pri nobenem od patogenov, ki so bili testirani v tej študiji. Seznam testiranih organizmov je prikazan v preglednici 9 na naslednji strani.

Preglednica 9. Seznam uporabljenih patogenov za prikaz analitične specifičnosti

Bakterije	Bakterije	Bakterije
<i>Achromobacter xerosis</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Peptostreptococcus productus</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Kingella dentrificans</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Rahnella aquatilis</i>
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	<i>Lactobacillus jensenii</i>	<i>Rhodospirillum rubrum</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Brevibacterium linens</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Moraxella osloensis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Chromobacterium violaceum</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Streptococcus mutans</i> , Serogroup A
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> , Serogroup A	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> , Serogroup B	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> , Serogroup C	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> , Serogroup D	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> , Serogroup Y	<i>Streptomyces griseus</i>
<i>Dexia gummosa</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> , Serogroup W135	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Neisseria cinerea</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Elizabethkingia miricola</i>	<i>Neisseria elongata</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria flavescens</i>	<i>Weissella paramesenteroides</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Neisseria lactamica</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	Virusi
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria sicca</i>	Citomegalovirus
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Neisseria subflava</i>	Virus herpesa simpleksa I
<i>Erwinia herbicola</i>	<i>Neisseria perflava</i>	Virus herpesa simpleksa II
<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria polysaccharea</i>	Človeški papilomavirus 16

Moteče snovi – komenzalni organizmi

NeuMoDx CT/NG Test Strip je bil v molekularnem sistemu NeuMoDx 288 Molecular System testiran za motnje v prisotnosti necilijnih organizmov (sobivajočih v urogenitalnem traktu) z oceno učinkovitosti NeuMoDx CT/NG Assay pri nizkih stopnjah CT in NG. Za to študijo je bila uporabljena ista skupina 113 organizmov [Preglednica 9], ki je bila uporabljena za oceno navzkrižne reaktivnosti. Organizmi so bili združeni v skupine po 5–6 v primerkih negativnega urina CT/NG in obogateni z 18 ET/ml prečiščenih elementarnih teles CT ter s 0,75 celic/ml celičnega nadzora NG. Pri nobenem od komenzalnih organizmov ni bilo opaženih motenj, z izjemo zaznave tarče NG pri nizkih nivojih (3X LoD), na katerega je negativno vplivala prisotnost visokih nivojev tarče CT ($>1,0 \times 10^6$ ET/ml). V tem primeru je visok CT vplival na zaznavo NG pri koncentracijah pod 20X LoD (~5 celic/ml) in posledično bi bila meja zaznave v prisotnosti visoke tarče CT pri 5 celic/ml.

Moteče snovi – endogene in eksogene snovi, najdene v kliničnih primerkih urina CT/NG

Naslednji potencialno moteči delci so bili individualno obogateni v primerke urina [preglednica 10]: kri (7 %), analiti urina, protein, glukoza, urobilinogen, pH 4 (kisel), pH 9 (alkalen), levkociti ($1,0 \times 10^6$ celic/ml). Vsi agenti so bili testirani pred potencialnimi motnjami v odsotnosti in v prisotnosti CT in NG (pri 3X in 10X LoD). Motnje niso bile zaznane pri nobeni od testiranih snovi.

Preglednica 10. Eksogeni in endogeni moteči agenti, testirani v primerkih urina

Moteča snov	
Endogena	Bilirubin, ~ 10 mg/dl
	Glukoza, 1000 mg/dl
	pH 4
	pH 9
	Protein (albumin), 50 mg/ml
	Kri, 7 %
	Levkociti (PBMC), 1E6 celic/ml
Eksogena	*Talkov prašek, 0,1 %

** Najprej se 2 od 3 vzorcev NG, testiranih pri 3x LoD, v prisotnosti talkovega praška nista amplificirala, a sta se po ponovnem testu odzvala po pričakovanjih.*

Moteče snovi – endogene in eksogene snovi, najdene v primerkih kliničnih brisov CT/NG

Naslednji potencialno moteči delci so bili individualno obogateni v klinične endocervične in v primerke vaginalnih brisov [preglednica 11]: kri (10 %), mucin, periferne krvne enojdrne celice (Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMCs) ($1,0 \times 10^5$ celic/ml), progesteron, Monistat® 1, vlažilno Vagisil®, osebni lubrikant K-Y™ Jelly, gel za tuširanje Yeast-Gard Advanced™ in semenska tekočina. Vsi agenti so bili testirani pred potencialno motnjo v prisotnosti CT in NG (@3X in 10X meja zaznave (Limit of Detection, LoD)). Pri nobeni od snovi ni bila opažena motnja pri nivojih, navedenih spodaj.

Preglednica 11. Eksogeni in endogeni moteči agenti, testirani v primerkih brisov

Moteča snov	
Endogena	Kri, 10 %
	*Mucin, ~13,5 mg/ml
	Periferne krvne enojdrne celice (Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMCs), 1E5 celic/ml
Eksogena	Progesteron, ~7 mg/ml
	Monistat 1, ~22 mg/ml
	Vlažilna krema Vagisil, ~7 mg/ml
	Osebni lubrikant K-Y Jelly, ~43mg/ml
	Gel za tuširanje Yeast-Gard Advanced, ~32 mg/ml
	Semenska tekočina, ~13,5 mg/ml

** Mucin, doziran iz 0,8 % zaloge*

Moteče snovi – endogene in eksogene snovi, najdene v kliničnih primerkih v citologiji CT/NG

Klinični primerki PreservCyt so bili posamično obogateni z naslednjimi potencialno motečimi deli [preglednica 12]: kri (10 %), mucin, periferne krvne enojdrne celice (Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMC) ($1,0 \times 10^5$ celic/ml), gel za tuširanje Yeast-Gard Advanced, semenska tekočina, progesteron, krema proti srbečici Vagisil, vaginalna krema s klotrimazolom, krema Preparation H®, Monistat 1, krema proti herpesu Abreva®, vlažilna krema Vagisil, osebni lubrikant K-Y Jelly, kontracepcijska pena Delfen in vaginalna krema z metronidazolom. Vsi agenti so bili testirani pred potencialno motnjo v prisotnosti CT in NG pri 10X LoD. Pri nobeni od snovi ni bila opažena motnja pri nivojih, navedenih spodaj.

Preglednica 12. Eksogeni in endogeni moteči agenti, testirani v primerkih citologije

Moteča snov	
Endogena	Kri, 10 % v/v
	Mucin, 0,25 % w/v
	Periferne krvne enojdrne celice (Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMCs), 1E5 celic/ml
Eksogena	Gel za tuširanje Yeast Gard Douche, 5 % v/v
	Semenska tekočina, 5 % v/v
	Progesteron, 5,6 mg/ml
	Krema proti srbečici Vagisil, 4,2 mg/ml
	Vaginalna krema s klotrimazolom, 5,6 mg/ml
	Preparation H, 10,9 mg/ml
	Monistat 1, 5,6 mg/ml
	Krema proti herpesu Abreva, 7 mg/ml
	Vlažilo Vagisil, 5,6 mg/ml
	Osebni lubrikant K-Y Jelly, 11,8 mg/ml
	Kontracepcijska pena Delfen, 5,6 mg/ml
	Vaginalna krema z metronidazolom, 18 mg/ml

Natančnost znotraj laboratorija

Natančnost znotraj laboratorija za NeuMoDx CT/NG Assay je bila preverjena z naslednjim načrtom kontroliranega testa tekom 12 zaporednih dni in z uporabo treh različnih instrumentov ter različnih operaterjev. Vsak instrument (NeuMoDx 288 Molecular System) je izvedel dva sklopa vzorcev na dan, pri čemer so se izmenjevali upravljavci in sta bili uporabljeni dve različni seriji reagentov, ki so se uporabljali za vse instrumente. Vzorčni sklop je bil določen kot trije ponovljeni vzorci, testirani za vsakega od petih različnih nivojev (True Negative (Pravi negativen), Low Negative (Nizko negativen), Moderate Negative (Zmerno negativen), Low Positive (Nizko pozitiven) in Moderate Positive (Zmerno pozitiven)) za skupno število 15 primerkov na sklop na sistem. Primerki so bili pripravljene z uporabo združenih, presejanih zdravih primerkov urina darovalcev. V tej študiji je bilo analiziranih skupno 72 vzorčnih sklopov (1080 testov). Rezultati so predstavljeni v *preglednicah 13–15*.

Preglednica 13. Povzetek natančnosti znotraj laboratorija

Vzorec	Testirane stopnje		Ponovitve/ sklop	Vzorci/dan (v sistemih 3X)	Skupni vzorci/ 12 dni
	<i>Chlamydia trachomatis</i> ET/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> celic/ml			
Moderate Positive (MP) (Zmerno pozitiven) <i>8X LoD</i>	48	2,0	3	18	216
Low Positive (LP) (Nizko pozitiven) <i>2,5X LoD</i>	15	0,625	3	18	216
Moderate Negative (MN) (Zmerno negativen) <i>Razredčena raztopina 1 : 10 1X LoD</i>	0,6	0,025	3	18	216
Low Negative (LN) (Nizko negativen) <i>Razredčena raztopina 1 : 100 1X LoD</i>	0,06	0,0025	3	18	216
True/Blank Negative (TN) (Pravo/prazno negativni) <i>0 Tarča</i>	0	0	3	18	216
Skupno št. testiranih vzorcev				90	1080

Preglednica 14A. Tarča CT: Kvalitativni rezultati študije o natančnosti znotraj laboratorija (več instrumentov)

Vzorec	Instrument 1	Instrument 2	Instrument 3	Skupna
	Pozitivni odstotek	Pozitivni odstotek	Pozitivni odstotek	Pozitivni odstotek
MP	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (216/216)
LP	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (216/216)
MN	19,4 % (14/72)	25 % (18/72)	26,4 % (19/72)	23,6 % (51/216)
LN	1,4 % (1/72)	1,4 % (1/72)	1,4 % (1/72)	1,4 % (3/216)
TN	0 % (0/72)	0 % (0/72)	0 % (0/72)	0 % (0/216)

Preglednica 14B. Tarča NG: Kvalitativni rezultati študije o natančnosti znotraj laboratorija (več instrumentov)

Vzorec	Instrument 1	Instrument 2	Instrument 3	Skupna
	Pozitivni odstotek	Pozitivni odstotek	Pozitivni odstotek	Pozitivni odstotek
MP	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (216/216)
LP	100 % (72/72)	100 % (72/72)	98,6 % (71/72)	100 % (216/216)
MN	20,8 % (15/72)	23,6 % (17/72)	16,7 % (12/72)	20,3 % (44/216)
LN	0 % (0/72)	2,8 % (2/72)	0 % (0/72)	0,9 % (2/216)
TN	0 % (0/72)	0 % (0/72)	0 % (0/72)	0 % (0/216)

Preglednica 15A. Tarča CT: Analiza kvantitativnih parametrov o natančnosti znotraj laboratorija (več instrumentov)

Vzorec	Instrument 1			Instrument 2			Instrument 3			Skupna		
	Povpr. Ct	St. odkl.	% CV*	Povpr. Ct	St. odkl.	% CV	Povpr. Ct	St. odkl.	% CV	Povpr. Ct	St. odkl.	% CV*
MP	31,23	0,67	2,1 %	31,34	0,44	1,4 %	31,28	0,69	2,2 %	31,28	0,61	2,0 %
LP	32,52	0,62	1,9 %	32,34	0,53	1,6 %	32,52	0,68	2,1 %	32,46	0,62	1,9 %
MN	Ni na voljo											
LN												
TN												

Preglednica 15B. Tarča NG: Analiza kvantitativnih parametrov o natančnosti znotraj laboratorija (več instrumentov)

Vzorec	Instrument 1			Instrument 2			Instrument 3			Skupna		
	Povpr. Ct	St. odkl.	% CV*	Povpr. Ct	St. odkl.	% CV	Povpr. Ct	St. odkl.	% CV	Povpr. Ct	St. odkl.	% CV*
MP	30,76	0,31	1,0 %	30,83	0,30	1,0 %	30,91	0,31	1,0 %	30,83	0,31	1,0 %
LP	31,86	0,42	1,3 %	31,85	0,43	1,4 %	31,95	0,65	2,0 %	31,89	0,51	1,6 %
MN	Ni na voljo											
LN												
TN												

Prenos in navzkrižna kontaminacija

Študije glede potencialnega prenosa vzorcev in navzkrižne kontaminacije se bile izvedene na sistemu NeuMoDx 288 Molecular System z uporabo NeuMoDx CT/NG Test Strip tako za matrice urina kot za citologijo. Obe študiji sta bili izvedeni v dveh delih in prva je najprej ocenila vpliv na negativne primerke CT in NG s prepletom s primerki, ki vsebujejo visoko tarčo CT in NG. Pozitivni in negativni primerki so bili naloženi v NeuMoDx System, tako da je vsak negativen primerki bil poleg visoko pozitivnega primerka. Drugi del te študije je obdelal vse negativne primerke, čemur je takoj sledil postopke, ki je obdelal vse primerke z visoko koncentracijo CT in NG. Pri negativnih primerkih, integriranih s primerki z visoko stopnjo ali pri negativnih primerkih, ki so sledili primerkov z visokimi koncentracijami CT in NG, ni bila opažena kontaminacija. To prikazuje pomanjkanje kakršnegakoli prenosa in/ali navzkrižne kontaminacije. Dodatno testiranje je bilo izvedeno na NeuMoDx 96 Molecular System. Rezultati so bili potrjeni, saj ni bilo dokazov prenosa ali navzkrižne kontaminacije.

Ekvivalenca svežih primerkov v primerjavi z zamrznjenimi

Testiranje je bilo izvedeno za prikaz ekvivalence matrice primerka med svežim in zamrznjenim čistim urinom ter vzorci vaginalnega in endocervičnega brisa. Vzorci kliničnega urina in možni vaginalni in endocervični brisi so bili pridobljeni in presejani za CT in NG. Negativni primerki so bili obogateni z elementarnimi telesci CT in celicami NG pri 2x meja zaznave (limit of detection, LoD) (urin) in 3X meja zaznave (Limit of Detection, LoD) (bris) NeuMoDx CT/NG Assay. Vsak vzorec je bil nato enako razdeljen v dva alikvota, od katerih je bil eden testiran takoj, drugi pa po enem ciklu zamrzovanja/taljenja pri -20°C. Rezultati svežega proti zamrznjenemu urinu ter primerki brisa so bili primerjani glede ekvivalentnosti z analizo regresije. Podatki so prikazali odlično ekvivalenco med svežim in zamrznjenim urinom ter med svežimi in zamrznjenimi primerki brisov.

Učinkovitost kontrole

Učinkovitost kontrole obdelave vzorcev, vključene v NeuMoDx CT/NG Test Strip poročanje o morebitnih napakah v korakih obdelave ali o inhibiciji, ki bi vplivala na delovanje test NeuMoDx CT/NG, je bila ocenjena na NeuMoDx 288 Molecular System. Testirani pogoji so reprezentativni za kritične napake v postopku, ki bi se lahko pojavile med obdelavo vzorcev in jih morda ni možno zaznati z vgrajenimi tipali, ki nadzorujejo delovanje sistema NeuMoDx System. Učinkovitost kontrole je bila ocenjena s simulacijo napake pri različnih korakih toka obdelave vzorcev, s čimer bi oponašali morebitno napako sistema in z obogatitvijo primerka z znanim inhibitorjem, da bi opazovali učinek blažitve neučinkovitega inhibitorja na zaznavo nadzora obdelave vzorca (glejte *Preglednico 16*). V primerih, kjer napake pri obdelavi niso negativno vplivale na učinkovitost kontrole obdelave vzorca (NO WASH (Brez pranja)/NO WASH BLOWOUT (Brez pralnega izbruha)), je bil test ponovljen s primerki, ki so vsebovali nizko stopnjo CT in NG (blizu LoD), kar je potrdilo, da napaka pri obdelavi prav tako NI imela negativnega učinka na zaznavanje tarč CT ali NG. *Preglednica 16* povzema rezultate učinkovitosti testa preverjanja kontrole.

Preglednica 16. Učinkovitost povzetka kontrolnih podatkov

Stanje	Pričakovan rezultat	Dobljeni rezultat
Normal Processing (Normalna obdelava)	Negative (Negativno)	Negative (Negativno)
Normal Processing + Inhibitor (Normalna obdelava + inhibitor)	Unresolved (Nerešeno)	Unresolved (Nerešeno)
No Wash Reagent (Brez pralnega reagenta)	Unresolved (Nerešeno) ali Negative (Negativno)	Negative (Negativno)
No Wash Blowout (Brez izpiravanja po izpiranju)	Unresolved (Nerešeno) ali Negative (Negativno)	Negative (Negativno)
No Release Reagent (Brez izpustnega reagenta)	Indeterminate (Nedoločen)	Indeterminate (Nedoločen)
No PCR Master Mix Reagents (Brez mešanice reagentov Master Mix PCR)	Indeterminate (Nedoločen)	Indeterminate (Nedoločen)

Stabilnost vzorca med uporabo za primerke urina

CT in NG negativni primerki urina so bili obogateni z 2 stopnjama tarče CT in NG ter obdelani z enakim številom negativnih primerkov, z uporabo NeuMoDx CT/NG Assay. Ob koncu obdelave so vse pozitivne in negativne epruvete s primerki ostale na delovni mizi sistema za obdobje 24 ur. Na epruvetah teh primerkov, ki so ostali na delovni mizi sistema, je bilo izvedeno dodatno testiranje po 4 urah, 8 urah in po 24 urah po časovni točki začetnega testiranja. Pričakovan rezultat pri vseh časovnih točkah je bil POSITIVE (POZITIVNO) (za ustrezno tarčo) za vse primerke urina, obogatene s tarčo CT ali NG in NEGATIVE (NEGATIVNO) (za obe tarči) v primerkih urina, ki niso bili obogateni s tarčo. Popolna skladnost s pričakovanim rezultatom pri vseh časovnih točkah, vključno s 24-urno časovno točko, ki nakazuje 24-urno stabilnost za testiranje s testom NeuMoDx CT/NG Assay. Rezultati so povzeti v *preglednici 17* spodaj.

Preglednica 17. Povzetek podatkov stabilnosti vzorca med uporabo pri urinu

Stabilnost naloženih primerkov, urin		T ₀	4 ur	8 ur	24 ur
		% skladanje	% skladanje	% skladanje	% skladanje
NG -pozitivno ATCC-31426	10 celic/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
	20 celic/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
CT-pozitiven ATCC_VR-879	10 ET/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
	20 ET/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Negative (Negativno)		100 %	100 %	100 %	100 %

Stabilnost vzorca med uporabo za primerke brisov

CT in NG negativni endocervični in vaginalni primerki so bili obogateni z 2 stopnjama tarče CT in NG ter obdelani z enakim številom negativnih primerkov, z uporabo NeuMoDx CT/NG Assay. Ob koncu obdelave so vse pozitivne in negativne epruvete s primerki ostale na delovni mizi sistema za obdobje 24 ur. Na epruvetah teh primerkov, ki so ostali na delovni mizi sistema, je bilo izvedeno dodatno testiranje po 4 urah, 8 urah in po 24 urah po časovni točki začetnega testiranja. Pričakovani rezultat pri vseh časovnih točkah je bil POSITIVE (POZITIVNO) (za ustrezno tarčo) za vse primerke brisa, obogatene s tarčo CT ali NG in NEGATIVE (NEGATIVNO) (za obe tarči) v primerkih brisa, ki niso bili obogateni s tarčo. Popolna skladnost s pričakovanim rezultatom pri vseh časovnih točkah, vključno s 24-urno časovno točko, ki nakazuje 24-urno stabilnost za testiranje s testom NeuMoDx CT/NG Assay. Rezultati so povzeti v *preglednicah 18A in 18B* spodaj.

Preglednica 18A. Povzetek podatkov o stabilnosti vzorca med uporabo v endocervikalnem brisu

Stabilnost naloženih primerkov, endocervični bris		T ₀	4 ur	8 ur	24 ur
		% skladanje	% skladanje	% skladanje	% skladanje
NG -pozitivno ATCC-31426	15 celic/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
	50 celic/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
CT-pozitiven ATCC_VR-879	60 ET/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
	200 ET/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Negative (Negativno)		100 %	100 %	100 %	100 %

Preglednica 18B. Povzetek podatkov o stabilnosti vzorca med uporabo v vaginalnem brisu

Stabilnost naloženih primerkov, vaginalni bris		T ₀	4 ur	8 ur	24 ur
		% skladanje	% skladanje	% skladanje	% skladanje
NG -pozitivno ATCC-31426	15 celic/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
	50 celic/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
CT-pozitiven ATCC_VR-879	60 ET/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
	200 ET/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Negative (Negativno)		100 %	100 %	100 %	100 %

Stabilnost vzorca med uporabo za citološke primerke

CT in NG-negativni citološki primerki so bili obogateni z individualno tarčo pri 3x LoD za vsak tarča (45 ET/ml za CT in 15 celic/ml za NG, AcroMetrix) in obdelani z enakim številom negativnih primerkov z uporabo testa NeuMoDx CT/NG Assay. Ob koncu obdelave so vse pozitivne in negativne epruvete s primerki ostale na delovni mizi sistema za obdobje 24 ur. Na epruvetah teh primerkov, ki so ostali na delovni mizi sistema, je bilo izvedeno dodatno testiranje po 4 urah, 8 urah in po 24 urah po časovni točki začetnega testiranja. Pričakovani rezultat pri vseh časovnih točkah je bil POSITIVE (POZITIVNO) (za ustrezno tarčo) za vse citološke primerke, obogatene s tarčo CT ali NG in NEGATIVE (NEGATIVNO) (za obe tarči) v citoloških primerkih, ki niso bili obogateni s tarčo. Popolna skladnost s pričakovanim rezultatom pri vseh časovnih točkah, vključno s 24-urno časovno točko, ki nakazuje 24-urno stabilnost za testiranje s testom NeuMoDx CT/NG Assay. Rezultati so povzeti v *preglednici 19* spodaj.

Preglednica 19. Povzetek podatkov o stabilnosti vzorca med uporabo v endocervikalnem brisu

Stabilnost naloženih primerkov, citološki primerki		T ₀	4 ur	8 ur	24 ur
		% skladanje	% skladanje	% skladanje	% skladanje
NG -pozitivno	15 celic/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
CT -pozitivno	45 ET/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Negative (Negativno)		100 %	100 %	100 %	100 %















REFERENCE


1. The CDC Annual Sexually Transmitted Disease Surveillance Report. <https://www.cdc.gov/std/stats16/exordium.htm>
2. Yuan, Y., Y-X. Zhang, N. G. Watkins, and H. D. Caldwell. 1989. Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars. *Infect. Immun.* 57:1040-1049.
3. Cates, Jr., W., and J. N. Wasserheit. 1991. Genital chlamydia infections: epidemiology and reproductive sequelae. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 164:1771-1781.
4. Holmes, K. K., H. H. Handsfield, S. P. Wang, B. B. Wentworth, M. Turck, J. B. Anderson, and E. R. Alexander. 1975. Etiology of nongonococcal urethritis. *NEJM* 292:1199-1205.
5. Schachter, J., E. C. Hill, E. B. King, V. R. Coleman, P. Jones, and K. F. Meyer. 1975. Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 123:753-757.
6. Schachter, J. 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). *NEJM* 298:540-549.
7. Frommell, G. T., R. Rothenberg, S. Wang, and K. McIntosh. 1979. Chlamydial infection of mothers and their infants. *Journal of Pediatrics* 95:28-32.
8. Schachter, J., and M. Grossman. 1981. chlamydial infections. *Ann. Rev. Med.* 32:45-61.
9. Scholes D, Stergachis A, Heidrich FE, et al. Prevention of pelvic inflammatory disease by screening for cervical chlamydial infection. *N Eng J Med.* 1996;334(21):1362–1366.
10. Low N, Bender N, Nartey L, et al. Effectiveness of chlamydia screening: systematic review. *Int J Epidemiol.* 2009;38(2):435–448.
11. Aghaizu A, Adams EJ, Turner K, et al. What is the cost of pelvic inflammatory disease and how much could be prevented by screening for *Chlamydia trachomatis*? Cost analysis of the Prevention Of Pelvic Infection (POPI) trial. *Sex Transm Infect.* 2011;87(4):312–317.
12. Oakeshott P, Kerry S, Aghaizu A, et al. Randomised controlled trial of screening for *Chlamydia trachomatis* to prevent pelvic inflammatory disease: the POPI (prevention of pelvic infection) trial. *BMJ* 2010; 340: c1642.
13. Fleming DT, Wasserheit JN. From epidemiological synergy to public health policy and practice: the contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection. *Sex Transm Infect* 1999; 75(1): 3–17.
14. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *MMWR Recomm Rep* 2015; 64(RR-3): 1–137. Erratum in: *MMWR* 2015; 64(33): <https://www.cdc.gov/std/tg2015/screening-recommendations.htm>
15. Hook EW III, Handsfield HH. Gonococcal infections in the adult. In: Holmes KK, Sparling FF, Stamm WE, et al., eds. *Sexually transmitted diseases*. 4th ed. New York, NY: McGraw-Hill Companies, Inc.; 2007:627–45.
16. Recommendations for the Laboratory-Based Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* — Center for Disease Control and Prevention, *MMWR*, March 14, 2014.
17. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014

BLAGOVNE ZNAMKE

NeuMoDx™ in NeuDry™ sta blagovni znamki podjetja NeuMoDx Molecular, Inc.
 Abreva® je registrirana blagovna znamka družbe GlaxoSmithKline Consumer Healthcare.
 AcroMetrix™ je blagovna znamka podjetja Thermo Fisher Scientific.
 BD™ in BD™ UVT sta blagovni znamki podjetja Becton, Dickinson and Company.
 cobas® je registrirana znamka podjetja Roche Diagnostics Operations, Inc.
 Hamilton® je registrirana blagovna znamka družbe Hamilton Company.
 Hologic® je registrirana blagovna znamka podjetja Hologic, Inc. in/ali njegovih podružnic.
 K-Y™ je blagovna znamka podjetja Reckitt Benckiser (Brands) Limited.
 Monistat® 1 je registrirana znamka podjetja Insight Pharmaceuticals.
 Preparation H® je registrirana znamka podjetja WHITEHALL PHARMACAL COMPANY.
 TaqMan® je registrirana blagovna znamka družbe Roche Molecular Systems, Inc.
 UTM® je blagovna znamka družbe Copan Italia S.P.A.
 Vagisil® je registrirana znamka družbe Combe Incorporated.
 Yeast-Gard Advanced™ Douche je blagovna znamka družbe Lake Consumer Products, Inc.

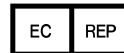
POMEN SIMBOLOV

 Samo na recept	 Temperaturna meja
 Proizvajalec	 Ne uporabljajte ponovno
 Diagnostični medicinski pripomoček in vitro	 Vsebuje zadostno količino za <n> testov
 Pooblaščen predstavnik v Evropski skupnosti	 Glejte navodila za uporabo
 Kataloška številka	 Pozor
 Koda serije	 Biološka tveganja
 Rok uporabnosti	 Oznaka CE

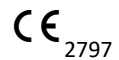


NeuMoDx Molecular, Inc.
 1250 Eisenhower Place
 Ann Arbor, MI 48108, ZDA

Sponsor (AUS):
 QIAGEN Pty Ltd
 Level 2 Chadstone Place
 1341 Dandenong Rd
 Chadstone VIC 3148
 Australia



Emergo Europe B.V.
 Westervoortsedijk 60
 6827 AT Arnhem
 The Netherlands



Tehnična podpora/poročanje v okviru vigilance: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents