

**REF** 201200 NeuMoDx™ TV/MG Test Strip

**R** only

ATTENZIONE: solo per l'esportazione negli Stati Uniti

**IVD** Per uso diagnostico *in vitro* con NeuMoDx 288 e NeuMoDx 96 Molecular System

 Per gli aggiornamenti dei fogli illustrativi, andare su: [www.qiaqen.com/neumodx-ifu](http://www.qiaqen.com/neumodx-ifu)

Per istruzioni dettagliate, fare riferimento al Manuale dell'operatore del NeuMoDx 288 Molecular System; P/N 40600108

Per istruzioni dettagliate fare riferimento al Manuale dell'operatore del NeuMoDx 96 Molecular System; P/N 40600317

**USO PREVISTO**

Il NeuMoDx TV/MG Assay, come eseguito sul NeuMoDx 96 Molecular System e sul NeuMoDx 288 Molecular System (NeuMoDx Molecular System), è un test rapido e automatizzato, qualitativo *in vitro* di amplificazione dell'acido nucleico per la rilevazione e la differenziazione dirette del DNA di *Trichomonas vaginalis* (TV) e/o di *Mycoplasma genitalium* (MG) in campioni clinici di urina. L'esame utilizza la reazione a catena della polimerasi (Polymerase Chain Reaction, PCR) real-time per la rilevazione del DNA di *Trichomonas vaginalis* e di *Mycoplasma genitalium* in campioni raccolti dal medico tramite tampone vaginale, campioni raccolti autonomamente dalla paziente tramite tampone vaginale (in ambiente clinico) e campioni raccolti tramite tampone endocervicale, tutti raccolti utilizzando un tampone con punta di poliestere e applicatore di plastica in un terreno di trasporto universale (Universal Transport Medium, UTM-RT®, Copan Diagnostics, CA, USA, or BD™ Universal Viral Transport System, BD™ UVT, Becton, Dickinson and Company, MD, USA o equivalente), e urine maschili e femminili. Il NeuMoDx TV/MG Assay è destinato a essere utilizzato come supporto nella diagnosi di infezioni urogenitali da *Trichomonas vaginalis* e/o *Mycoplasma genitalium* in pazienti sintomatici e asintomatici, ma non per guidare o monitorare il trattamento delle infezioni da TV o MG. Per il test epidemiologico e/o per un ulteriore test di predisposizione potrebbero essere necessarie colture concomitanti.

**SOMMARIO E SPIEGAZIONI**

Il NeuMoDx TV/MG Assay è progettato per rilevare e differenziare contemporaneamente il DNA di TV e MG. L'esame mira alla regione che codifica una proteina ipotetica (TVAG\_305840) nel genoma di TV e le sequenze che codificano la proteina M bloccante le IgG e la timidilato chinasi nel genoma di MG. Per MG vengono mirate più regioni, per ridurre al minimo la possibilità di falsi negativi, in caso di mutazione in una delle regioni target. Il NeuMoDx TV/MG Assay include un controllo di elaborazione dei campioni del DNA (Sample Process Control, SPC1) per monitorare la presenza di sostanze potenzialmente inibitorie e gli errori di sistema, processo o reagente, che si possono verificare durante i processi di estrazione e di amplificazione.

Per analizzare un campione di urina tramite il test NeuMoDx TV/MG Assay viene raccolto un campione di urina in una normale coppetta per la raccolta di urine, senza conservanti né additivi. Come preparazione del test, un'aliquota dell'urina viene erogata in una provetta secondaria compatibile con NeuMoDx Molecular System e caricata sul sistema in un apposito portaprovette. Per ciascun campione, viene miscelata un'aliquota di 550 µL del campione di urina con NeuMoDx Lysis Buffer 2 e il NeuMoDx Molecular System esegue automaticamente tutti i passaggi necessari per estrarre l'acido nucleico target, preparare il DNA isolato per l'amplificazione mediante reazione a catena della polimerasi real-time e, se presenti, amplificare e rilevare i prodotti di amplificazione (sezioni di sequenze geniche target dei genomi di TV e MG).

Per analizzare un campione di un tampone con il NeuMoDx TV/MG Assay, occorre raccogliere un campione tramite tampone endocervicale o tampone vaginale eseguito dal medico o dalla paziente, utilizzando un tampone con punta di poliestere e applicatore di plastica in 3 mL di terreno di trasporto universale (UTM-RT, UVT) o equivalente. Il campione del tampone può essere analizzato direttamente dalla provetta primaria del terreno di trasporto, oppure occorre erogarne un'aliquota in una provetta secondaria compatibile con il NeuMoDx System, la quale dovrà essere caricata sul NeuMoDx System tramite l'apposito portaprovette per cominciare l'elaborazione. Per ogni campione si miscela un'aliquota di 400 µL del terreno di trasporto con il NeuMoDx Lysis Buffer 2 e il NeuMoDx System esegue automaticamente tutte le fasi necessarie per estrarre l'acido nucleico target, preparare il DNA isolato per l'amplificazione mediante PCR real-time e, se presenti, amplificare e rilevare i target di amplificazione (sezioni delle sequenze geniche target dei genomi di TV e MG).

Il *Trichomonas vaginalis* è un protozoo a vita libera che può colonizzare le superfici epiteliali delle mucose. È l'agente responsabile della più comune infezione sessualmente trasmessa (Sexually Transmitted Infection, IST) non virale al mondo e rappresenta quasi la metà di tutte le IST curabili a livello globale.<sup>1</sup> La prevalenza di infezione da TV è documentata al meglio negli Stati Uniti, dove i tassi sono sensibilmente più alti di quelli delle infezioni da *Chlamydia trachomatis* e da *Neisseria gonorrhoeae*, insieme.<sup>2</sup> Nonostante non ci siano raccomandazioni per lo screening di routine per le infezioni da TV tra le donne nella popolazione generale, il Centro per il Controllo delle Malattie (Center of Disease Control, CDC) negli USA consiglia il test diagnostico del TV alle donne con problemi di perdite vaginali e ai pazienti asintomatici o alle donne in fase di trattamento in setting ad elevata prevalenza.<sup>3</sup> Il CDC raccomanda lo screening del TV alle donne incinte positive all'HIV, in quanto l'infezione da TV è un fattore di alto rischio per la trasmissione verticale dell'HIV.<sup>3</sup> La prevalenza dell'infezione da TV è meno nota nelle popolazioni maschili, rispetto a quelle femminili. Nonostante sia generalmente asintomatica negli uomini, l'infezione da *T. vaginalis* è stata associata al 5-15% dei casi di uretrite non gonococcica. Attualmente non ci sono raccomandazioni di screening per gli uomini.

A dispetto della crescente accessibilità dei metodi di analisi molecolare, il brodo di coltura rimane il sistema aureo per il rilevamento del *T. vaginalis*. Inoltre, la diagnosi di trichomoniasi è tradizionalmente dipesa dall'osservazione al microscopio di protozoi mobili da campioni vaginali o cervicali e da secrezioni uretrali o prostatiche. Nonostante questi due metodi rimangano i test diagnostici più ampiamente usati per la trichomoniasi, il rilevamento del *T. vaginalis* usando il test di amplificazione dell'acido nucleico (Nucleic Acid Amplification Testing, NAAT) è stato dimostrato essere l'approccio più sensibile per la diagnosi di questa infezione. La sensibilità della coltura rispetto al NAAT va dal 35 al 78%, mentre la sua specificità è normalmente considerata essere del 100%.<sup>4-6</sup> Analogamente, la specificità della microscopia a fresco è generalmente elevata, mentre la sua sensibilità è scarsa rispetto al NAAT anche tra donne sintomatiche, con tassi riportati dal 34 al 58%.<sup>4-6</sup> A causa di questa maggiore sensibilità alla coltura e alla microscopia a fresco, il NAAT è ora la prima scelta raccomandata dal CDC. La microscopia non dovrebbe essere usata come metodo di screening per donne asintomatiche.<sup>7</sup>

Il *Mycoplasma genitalium* è il più piccolo batterio autoreplicante conosciuto.<sup>8</sup> Non presenta parete cellulare e quindi non può essere rilevato nella colorazione di Gram del campione.<sup>8</sup> MG si trova principalmente nel tratto genitourinario di entrambi i sessi, con una prevalenza stimata dell'1-2% nella popolazione generale ed è leggermente più comune nelle donne.<sup>9</sup> *M. genitalium* è stato sempre più riconosciuto come importante e universale causa di svariate IST, è responsabile di più IST della *Neisseria gonorrhoeae*, ed è la seconda infezione IST più prevalente oltre alla *Chlamydia trachomatis* con tassi di prevalenza fino al 38% nelle popolazioni ad alto rischio.<sup>9-16</sup> Mentre *M. genitalium* è spesso il solo agente patogeno rilevato, la coinfezione con *C. trachomatis* non è rara in determinate regioni.<sup>10-13</sup>

L'infezione da *Mycoplasma genitalium* è fortemente associata a uretriti persistenti e ricorrenti, in cui fino al 40% delle pazienti può presentare rilevamento di MG, e insieme a uretrite non-gonococcica (NGU).<sup>12,14</sup> Diversi studi sostengono un'associazione dell'infezione da *M. genitalium* nelle donne con sanguinamento postcoitale e cervicite, endometrite e malattia infiammatoria pelvica (PID).<sup>13,17-21</sup> La maggior parte degli studi ha riscontrato che questo organismo è più comune tra le donne con cervicite rispetto a quelle che non soffrono di questa condizione.<sup>11,17-18</sup> L'evidenza suggerisce che la maggior parte delle persone infettate da *M. genitalium* nel tratto genitale non sviluppa la malattia; le infezioni da *M. genitalium* nelle donne sono comunemente asintomatiche.<sup>11,22-23</sup>

Nonostante la sua diffusa prevalenza, la diagnosi di infezione da *M. genitalium* viene eseguita esclusivamente usando NAAT, per via della scarsa e lenta crescita del batterio in coltura.<sup>10,24</sup> Il test NeuMoDx TV/MG Assay implementato sui sistemi NeuMoDx Molecular System consente il rilevamento automatizzato e accurato di *Trichomonas vaginalis* e *Mycoplasma genitalium*, contemporaneamente.

### PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il test NeuMoDx TV/MG Assay abbina le tecnologie di estrazione del DNA e amplificazione/rilevamento della PCR real-time. I campioni vengono raccolti in cospette convenzionali per la raccolta dei campioni di urina o in provette per la raccolta dei campioni di tamponi (UTM-RT, UVT o equivalenti). Il NeuMoDx System aspira automaticamente un'aliquota del campione di urina o di tampone per miscelarlo con NeuMoDx Lysis Buffer 2 e i reagenti di estrazione contenuti nella NeuMoDx Extraction Plate per iniziare l'elaborazione. Il NeuMoDx System automatizza e integra l'estrazione e la concentrazione del DNA, la preparazione dei reagenti, l'amplificazione e la rilevazione degli acidi nucleici della sequenza target mediante PCR real-time. Il controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control, SPC1) incluso consente di monitorare la presenza di potenziali sostanze inibitorie nonché gli errori di sistema, processo o reagente. Una volta caricato il campione sul NeuMoDx System non è necessario alcun intervento dell'operatore.

Il NeuMoDx System utilizza una combinazione di calore, enzima litico e reagenti di estrazione per eseguire la lisi cellulare, l'estrazione del DNA e la rimozione degli inibitori. Gli acidi nucleici rilasciati vengono catturati da microsfele paramagnetiche. Le microsfele, con gli acidi nucleici legati, vengono caricate nella NeuMoDx Cartridge, dove i componenti non legati e diversi dal DNA vengono ulteriormente rimossi con il NeuMoDx Wash Reagent e il DNA legato viene eluito utilizzando il NeuMoDx Release Reagent. Il NeuMoDx System utilizza quindi il DNA eluito per reidratare i reagenti di amplificazione NeuDry™ di proprietà contenenti tutti gli elementi necessari per l'amplificazione dei target TV e MG nonché una sezione della sequenza di SPC1. Ciò consente l'amplificazione e il rilevamento simultanei dei target e delle sequenze di DNA di controllo. Dopo la ricostituzione dei reagenti PCR, il NeuMoDx System dispensa la miscela pronta per PCR in una camera PCR (per campioni) NeuMoDx Cartridge. L'amplificazione e la rilevazione delle sequenze di DNA di controllo e target (se presenti) si verificano nella camera PCR. La NeuMoDx Cartridge, inclusa la camera PCR, è progettata per contenere l'amplificone successivo alla PCR real-time, eliminando sostanzialmente il rischio di contaminazione post-amplificazione.

I target amplificati vengono rilevati in tempo reale utilizzando la chimica delle sonde a idrolisi (comunemente nota come chimica TaqMan®) che si avvale di molecole di sonde oligonucleotidiche fluorogeniche specifiche per gli ampliconi per i rispettivi target. Le sonde TaqMan sono costituite da un fluoroforo legato covalentemente all'estremità 5' della sonda oligonucleotidica e da un quencher all'estremità 3'. Mentre la sonda è intatta, il fluoroforo e il quencher sono in prossimità, di conseguenza la molecola quencher estingue la fluorescenza emessa dal fluoroforo tramite il trasferimento di energia per risonanza descritto da Theodor Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Le sonde TaqMan sono progettate per l'annealing all'interno di una regione del DNA amplificata da un set specifico di primer. Quando la Taq DNA polimerasi estende il primer e sintetizza il nuovo filamento, l'attività di esonucleasi 5' - 3' della Taq DNA polimerasi degrada la sonda che ha eseguito l'annealing allo stampo. La degradazione della sonda ne rilascia il fluoroforo e interrompe la stretta vicinanza al quencher, superando così l'effetto di estinzione derivante dal FRET e consentendo un aumento della fluorescenza.

Una sonda TaqMan contrassegnata da un fluoroforo (Eccitazione: 470 nm ed Emissione: 510 nm) all'estremità 5' e un quencher scuro all'estremità 3' vengono utilizzati per rilevare il DNA di MG e una sonda TaqMan contrassegnata con un fluoroforo (Eccitazione: 585 nm ed Emissione: 610 nm) all'estremità 5' e un quencher scuro all'estremità 3' vengono utilizzati per rilevare il DNA di TV. Per il rilevamento del controllo di elaborazione dei campioni, la sonda TaqMan è contrassegnata con un colorante fluorescente alternativo (Eccitazione: 530 nm ed Emissione: 555 nm) all'estremità 5' e un quencher scuro all'estremità 3'. Il NeuMoDx System monitora il segnale fluorescente emesso dalle sonde TaqMan alla fine di ogni ciclo di amplificazione. Quando l'amplificazione è completa, il NeuMoDx System analizza i dati e riporta un risultato finale qualitativo (POSITIVE (POSITIVO)/NEGATIVE (NEGATIVO)/INDETERMINATE (INDETERMINATO)/UNRESOLVED (IRRISOLTO)).

### REAGENTI/MATERIALI DI CONSUMO

#### Materiali in dotazione

REF	Contenuto	Test per unità	Test per confezione
201200	NeuMoDx TV/MG Test Strip Reagenti per PCR real-time essiccati contenenti sonde TaqMan specifiche per TV/MG e primer, sonda TaqMan specifica per il controllo di elaborazione dei campioni e primer.	16	96

**Ulteriori materiali necessari (disponibili separatamente)**

REF	Contenuto
100100	<b>NeuMoDx Cartridge</b>
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Particelle paramagnetiche, enzima litico e controlli di elaborazione dei campioni essiccati</i>
400500	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 2</b>
400100	<b>NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>NeuMoDx Release Reagent</b>
235903	<b>Puntali Hamilton® CO-RE / CO-RE II (300 µL) con filtri</b>
235905	<b>Puntali Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µL) con filtri</b>

**Strumentazione richiesta**

**NeuMoDx 288 Molecular System** [RIF 500100] o **NeuMoDx 96 Molecular System** [RIF 500200]

**AVVERTENZE E PRECAUZIONI**

- Questo test è esclusivamente per uso diagnostico *in vitro* con i NeuMoDx System.
- Non utilizzare i materiali di consumo o i reagenti dopo la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare alcun reagente se il sigillo di sicurezza è rotto o se la confezione risulta danneggiata all'arrivo.
- Non utilizzare i materiali di consumo o i reagenti se il sacchetto di protezione appare aperto o rotto all'arrivo.
- Non utilizzare l'urina raccolta in contenitori con conservanti. Il NeuMoDx TV/MG Assay non è stato convalidato per l'uso con conservanti.
- I campioni di tampone devono essere raccolti utilizzando un tampone di poliestere con applicatore di plastica. Il NeuMoDx TV/MG Assay non è stato approvato per l'uso con altri tipi di tamponi.
- Non raccogliere campioni di tampone in terreni di trasporto diversi da UTM-RT, UVT o equivalenti. Il NeuMoDx TV/MG Assay non è stato approvato per l'uso con altri terreni di trasporto.
- Il volume minimo del campione dell'aliquota secondaria dipende dalle dimensioni della provetta/dal portaprovette per campioni come definiti di seguito. Un volume al di sotto del minimo specificato può generare un errore "Quantity Not Sufficient" (Quantità non sufficiente).
- L'uso di campioni conservati a temperature non corrette oppure oltre i tempi di stoccaggio specificati può produrre risultati non validi o errati.
- Evitare la contaminazione microbica e da desossiribonucleasi (DNasi) dei reagenti. Si raccomanda l'uso di pipette di trasferimento monouso sterili prive di DNasi. Utilizzare una nuova pipetta per ciascun campione.
- Per evitare la contaminazione, non manipolare o spezzare nessuna NeuMoDx Cartridge dopo l'amplificazione. In nessun caso recuperare le NeuMoDx Cartridge dal contenitore dei materiali di scarto a rischio biologico (NeuMoDx 288 Molecular System) o dal recipiente materiali di scarto a rischio biologico (NeuMoDx 96 Molecular System). La cartuccia NeuMoDx Cartridge è stata progettata in modo da prevenire la contaminazione.
- Nei casi in cui anche i test per PCR in provetta aperta vengono condotti dal laboratorio, occorre prestare particolare attenzione affinché la NeuMoDx TV/MG Test Strip, i materiali di consumo e i reagenti necessari per l'esecuzione del test, i dispositivi di protezione individuale quali guanti e camici da laboratorio e il NeuMoDx System non siano contaminati.
- Durante la manipolazione dei reagenti e dei materiali di consumo NeuMoDx, è necessario indossare guanti in nitrile, puliti e privi di polvere. Occorre prestare particolare attenzione a non toccare la superficie superiore della NeuMoDx Cartridge, la superficie della pellicola sigillante della NeuMoDx TV/MG Test Strip e della NeuMoDx Extraction Plate, o la superficie del contenitore NeuMoDx Lysis Buffer 2. I materiali di consumo e i reagenti devono essere manipolati toccando esclusivamente le superfici laterali.
- Per ogni reagente vengono fornite le schede di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) (se applicabile) su [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)
- Lavarsi bene le mani dopo avere eseguito il test.
- Non pipettare con la bocca. Non fumare, mangiare o bere nelle aree in cui vengono manipolati i campioni o i reagenti del kit.
- Maneggiare sempre i campioni come se fossero infettivi e in conformità con procedure di laboratorio sicure, come quelle descritte in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>25</sup> e nel Documento M29-A3 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).<sup>26</sup>
- Smaltire i reagenti inutilizzati e i materiali di scarto in conformità alle normative nazionali, federali, provinciali, regionali e locali.

### STOCCAGGIO, MANIPOLAZIONE E STABILITÀ DEL PRODOTTO

- Le NeuMoDx TV/MG Test Strip sono stabili nell'imballaggio primario fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta esterna del prodotto, se conservate a una temperatura compresa tra 15 e 23 °C.
- Non utilizzare i materiali di consumo e i reagenti dopo la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare alcun prodotto di test se la confezione primaria o quella secondaria è stata visivamente compromessa.
- Non ricaricare alcun prodotto di test che sia stato caricato in precedenza su un altro NeuMoDx Molecular System.
- Una volta caricata, la NeuMoDx TV/MG Test Strip può restare a bordo del NeuMoDx System per 14 giorni. Il periodo di validità residuo delle strisce reattive caricate è tracciato dal software e segnalato all'utente in tempo reale. La rimozione di una striscia reattiva utilizzata oltre il periodo consentito sarà richiesta dal sistema.

### PRELIEVO, TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

- La NeuMoDx TV/MG Test Strip è stata testata utilizzando campioni di urine femminili e maschili non diluite, campioni raccolti dal medico e dalla paziente tramite tampone vaginale e campioni raccolti tramite tampone endocervicale. I campioni di tampone devono essere prelevati utilizzando un tampone con punta di poliestere e applicatore di plastica (UTM-RT, UVT o equivalente). Le prestazioni con altri tipi di campioni non sono state valutate.
- L'urina prelevata deve essere conservata a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C durante il trasporto.
- Durante il trasporto, i campioni di tampone raccolti devono essere mantenuti alla temperatura consigliata nel kit di raccolta dei tamponi.
- I campioni di urina e di tampone devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C per non più di 7 giorni prima dell'analisi e per un massimo di 8 ore a temperatura ambiente.

### ISTRUZIONI PER L'USO

#### Prelievo/trasporto dei campioni

1. L'urina di prima raccolta (20-30 mL) deve essere raccolta in una coppetta per la raccolta di urine sterile.
2. I tamponi vaginali ed endocervicali prelevati dal medico o dalla paziente devono essere raccolti seguendo le istruzioni fornite dal produttore con il dispositivo di prelievo tamponi.
3. Se i campioni non vengono analizzati entro 8 ore, devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C per un massimo di 7 giorni.

#### Preparazione del test – Campioni di urina

1. Applicare un'etichetta con codice a barre del campione su una provetta per campioni compatibile con NeuMoDx System. Per le specifiche del codice a barre, fare riferimento ai manuali dell'operatore del NeuMoDx 288 e del 96 Molecular System (P/N 40600108 e 40600317).
2. Agitare delicatamente il campione di urina nel contenitore di prima raccolta per ottenere una distribuzione uniforme.
3. Usando una pipetta di trasferimento o puntale di pipetta diversi per ogni campione, trasferire un'aliquota di urina nella provetta per campioni con codice a barre compatibile con il sistema NeuMoDx System in base ai volumi di seguito definiti:
  - Portaprovette per campioni (32 provette): 11-14 mm di diametro e 60-120 mm di altezza; volume di riempimento minimo  $\geq 700 \mu\text{L}$
  - Portaprovette per campioni (24 provette): 14,5-18 mm di diametro e 60-120 mm di altezza; volume di riempimento minimo  $\geq 1150 \mu\text{L}$
  - Portaprovette per campioni a volume ridotto (32 provette): provetta per microcentrifuga a fondo conico da 1,5 mL; volume di riempimento minimo  $\geq 650 \mu\text{L}$

#### Preparazione del test – Campioni dei tamponi

1. Applicare l'etichetta con codice a barre del campione su una provetta per campioni compatibile con NeuMoDx System. La provetta di raccolta primaria del tampone deve essere etichettata e collocata direttamente in un portaprovette per campioni da 24 o da 32 provette. In alternativa, è possibile trasferire un'aliquota del terreno del tampone in una provetta secondaria, per l'elaborazione sul NeuMoDx System.
2. Se il test del campione viene eseguito nella provetta di raccolta primaria, collocare la provetta con codice a barre in un portaprovette per campioni e accertarsi che il tappo venga rimosso prima del caricamento sul NeuMoDx System.
3. Se invece si usa una provetta secondaria, trasferire un'aliquota del terreno di trasporto nella provetta per campioni con codice a barre compatibile con il NeuMoDx System, secondo i volumi sotto definiti.
  - Portaprovette per campioni (32 provette): 11-14 mm di diametro e 60-120 mm di altezza; volume di riempimento minimo  $\geq 550 \mu\text{L}$
  - Portaprovette per campioni (24 provette): 14,5-18 mm di diametro e 60-120 mm di altezza; volume di riempimento minimo  $\geq 1000 \mu\text{L}$
  - Portaprovette per campioni a volume ridotto (32 provette): provetta per microcentrifuga a fondo conico da 1,5 mL; volume di riempimento minimo  $\geq 500 \mu\text{L}$

#### Funzionamento del NeuMoDx System

Per istruzioni dettagliate, fare riferimento ai Manuali dell'operatore del NeuMoDx 288 e del 96 Molecular System (p/n 40600108 e 40600317).

1. Riempire uno o più portaprovette NeuMoDx Test Strip Carrier con le strisce reattive NeuMoDx TV/MG Test Strip e utilizzare il touchscreen per caricare i supporti per strisce reattive nel NeuMoDx System.

2. Se richiesto dal software del NeuMoDx System, aggiungere i materiali di consumo necessari richiesti nei relativi supporti del NeuMoDx System e utilizzare il touchscreen per caricare i supporti nel NeuMoDx System.
3. Se richiesto dal software del NeuMoDx System, sostituire NeuMoDx Wash Reagent e NeuMoDx Release Reagent, svuotare il contenitore dei rifiuti di adescamento, dei materiali di scarto a rischio biologico (solo NeuMoDx 288 Molecular System), il recipiente dei puntali di scarto (solo NeuMoDx 96 Molecular System) o il recipiente dei materiali di scarto a rischio biologico (solo NeuMoDx 96 Molecular System), secondo necessità.
4. Caricare le provette per campioni negli appositi portaprovette e verificare di aver rimosso tutti i tappi dalle provette.
5. Posizionare i portaprovette per campioni sul ripiano del caricatore automatico e utilizzare il touchscreen per caricare i portaprovette nel NeuMoDx System. In tal modo verrà avviata l'elaborazione dei campioni caricati per i test identificati, a condizione che nel sistema sia presente un ordine di test valido.

### LIMITAZIONI

- La NeuMoDx TV/MG Test Strip può essere utilizzata solo sui NeuMoDx Molecular System.
- Le prestazioni della NeuMoDx TV/MG Test Strip sono state stabilite con campioni di urine maschili e femminili, con campioni di tamponi vaginali raccolti autonomamente dalla paziente o dal medico e con campioni di tamponi endocervicali. L'uso della NeuMoDx TV/MG Test Strip con altre fonti cliniche non è stato valutato e le caratteristiche delle prestazioni non sono note per altri tipi di campioni.
- Poiché la rilevazione di TV e MG dipende dal numero di organismi presenti nel campione, risultati affidabili dipendono da prelievo, manipolazione e conservazione corretti dei campioni.
- Eventuali risultati errati potrebbero essere dovuti a operazioni di prelievo, manipolazione o conservazione dei campioni non corrette, a errori tecnici o a scambi di provette per campioni. Inoltre, possono verificarsi risultati falsi negativi perché il numero di organismi nel campione è inferiore alla sensibilità analitica del test.
- Il NeuMoDx System è destinato a essere utilizzato esclusivamente da personale addestrato all'uso del sistema.
- Se il controllo di elaborazione dei campioni non amplifica e il risultato del NeuMoDx TV/MG Assay è Negativo, verrà riportato un risultato non valido (Indeterminate (Indeterminato) o Unresolved (Irrisolto)) e il test deve essere ripetuto.
- Un risultato positivo non indica necessariamente la presenza di organismi vitali. È tuttavia probabile la presenza di DNA di TV e/o MG.
- Sebbene non siano noti ceppi/isolati di TV a cui manchi la regione di TVAG\_305840 o di MG a cui manchi il gene che codifica la proteina M bloccante le IgG e la timidilato chinasi, il manifestarsi di tale ceppo potrebbe portare a un risultato errato utilizzando il NeuMoDx TV/MG Assay.
- Eventuali mutazioni nelle regioni di legame primer/sonda possono influenzare il rilevamento quando si utilizza il NeuMoDx TV/MG Assay.
- I risultati del test NeuMoDx TV/MG Assay dovranno essere impiegati in aggiunta alle osservazioni cliniche e ad altre informazioni disponibili al medico.
- I risultati del test possono essere influenzati da eventuali terapie antibiotiche concomitanti, in quanto il DNA di TV e MG potrebbe continuare ad essere rilevato dopo una terapia antimicrobica.
- Si raccomandano buone pratiche di laboratorio, compreso il cambio di guanti tra una manipolazione dei campioni dei pazienti e l'altra, per evitare la contaminazione dei campioni.

### RISULTATI

#### NeuMoDx Molecular System

I risultati dei test disponibili possono essere visualizzati o stampati dalla scheda "Results" (Risultati) nella finestra Results (Risultati) sul touchscreen del NeuMoDx System. Un risultato del test può essere riportato come Positive (Positivo) (POS), Negative (Negativo) (NEG), Indeterminate (Indeterminato) (IND) o Unresolved (Irrisolto) (UNR) in base allo stato di amplificazione del target e al controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control, SPC1).

I criteri per un'indicazione di positività o negatività sono specificati nel file di definizione del test (Assay Definition File, ADF) per TV/MG del NeuMoDx System installato sul sistema. I risultati sono riportati nell'algoritmo decisionale dell'ADF, riepilogato nella *Tabella 1* di seguito.

**Tabella 1.** Riepilogo dell'algoritmo decisionale del TV/MG Assay

RISULTATO	TARGET TV e/o MG	CONTROLLO DI PROCESSO (Sample Process Control 1, SPC1)
<b>POS</b>	Amplified (Amplificato)	Amplified (Amplificato) o Not Amplified (Non amplificato)
<b>NEG</b>	Not Amplified (Non amplificato)	Amplified (Amplificato)
<b>IND (INDETERMINATO)</b>	Not Amplified, System Error Detected (Non amplificato, Rilevato errore di sistema)	
<b>UNR (IRRISOLTO)</b>	Not Amplified, No System Error Detected (Non amplificato, Nessun errore di sistema rilevato)	

### Risultati non validi

Se un NeuMoDx TV/MG Assay eseguito su NeuMoDx System non riesce a produrre un risultato valido, verrà segnalato come Indeterminate (Indeterminato) o Unresolved (Irrisolto), in base al tipo di errore che si è verificato, e il test deve essere ripetuto per ottenere un risultato valido.

Un risultato Indeterminate (Indeterminato) verrà segnalato se viene rilevato un errore del NeuMoDx System durante l'elaborazione del campione.

Il risultato sarà Unresolved (Irrisolto) quando non viene rilevato alcun target e non vi è amplificazione del controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control): ciò indica un possibile errore relativo al reagente o la presenza di inibitori.

### Controllo qualità

Le normative locali in genere specificano che il laboratorio è responsabile delle procedure di controllo che monitorano l'accuratezza e la precisione dell'intero processo analitico e devono stabilire il numero, il tipo e la frequenza di test dei materiali di controllo utilizzando specifiche di prestazione verificate per un sistema di test approvato e non modificato.

- I materiali di controllo esterni (definiti dall'utente) non saranno forniti da NeuMoDx Molecular, Inc. Controlli appropriati devono essere scelti e approvati dal laboratorio. Si noti che occorre definire una serie separata di controlli definiti dall'utente per il test TV/MG per le matrici sia di urina sia di tampone e che i controlli devono rispettare le stesse specifiche di volume minimo dei campioni clinici sopra specificati, in base alle dimensioni del portaprovette per campioni. L'utente può definire i codici a barre specifici per controllo positivo e negativo e per matrice.
- Raccomandazione: una diluizione in rapporto 1:2000 di NATtrol *T. vaginalis* External Run Control (ZeptoMetrix NATTVPOS-6MC) e una diluizione in rapporto 1:200 di NATrol™ *Mycoplasma genitalium* External Run Control (ZeptoMetrix NATMGN-ERC) in KOVA Liqua-TROL® (KOVA International 87123) per il controllo delle matrici di urina e con terreno UTM-RT per il controllo delle matrici dei tamponi. Il controllo negativo deve consistere solo di KOVA Liqua-TROL o terreno UTM-RT. Quando si trattano i controlli, collocare i controlli etichettati in un portaprovette per campioni e utilizzare il touchscreen per caricare il portaprovette nel NeuMoDx System dal ripiano del caricatore automatico. Una volta predefinito dall'utente, il NeuMoDx System riconoscerà i codici a barre e avvierà l'elaborazione dei controlli, a meno che i reagenti o i materiali di consumo adeguati richiesti per il test non siano disponibili.
- In ciascuna striscia reattiva NeuMoDx TV/MG Test Strip sono inclusi i primer e la sonda specifici per il controllo di elaborazione dei campioni 1 (SPC1). Questo controllo di elaborazione dei campioni consente al NeuMoDx System di monitorare l'efficacia dei processi di estrazione del DNA e di amplificazione della PCR.
- Un risultato del test positivo riportato per un campione di controllo negativo può indicare un problema di contaminazione del campione. Per suggerimenti in merito alla risoluzione dei problemi, fare riferimento al *Manuale dell'operatore del NeuMoDx 288 o 96 Molecular System*.
- Un risultato negativo riportato per un campione di controllo positivo può indicare la presenza di un problema correlato a un reagente oppure al NeuMoDx System. Per suggerimenti in merito alla risoluzione dei problemi, fare riferimento al *Manuale dell'operatore del NeuMoDx 288 o 96 Molecular System*.

## CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

### Prestazioni cliniche – Campioni di urina

Le caratteristiche delle prestazioni cliniche del test NeuMoDx TV/MG Assay sono state determinate usando uno studio di confronto di metodo che utilizza campioni clinici di urina residui e raccolti in modo prospettico provenienti da tre sedi di laboratori clinici geograficamente diversificate.

I campioni clinici residui positivi al TV e i campioni di urina prospettici provenienti da pazienti asintomatici e sintomatici sono stati deidentificati e hanno ricevuto un numero ID univoco dai laboratori clinici, stabilendo un elenco riservato che collega l'ID del paziente ai campioni deidentificati testati per scopi di studio. Ulteriori campioni MG e TV/MG positivi sono stati prodotti artificialmente in urina negativa per compensare la bassa incidenza di MG e coinfezione TV/MG. È stato testato un totale di 166 campioni forniti da due laboratori clinici e 46 campioni artificiali. Dei 212 campioni totali, 43 sono stati identificati dai relativi test di laboratorio come TV positivi e 46 come MG positivi. Sedici campioni sono risultati positivi sia per TV che per MG, indicando un'infezione doppia o coinfezione. L'operatore era tenuto all'oscuro dello stato del test di questi campioni per implementare uno "studio in singolo cieco". Per eseguire l'analisi comparativa dei metodi sono stati utilizzati i risultati riportati dagli specifici dispositivi molecolari commercializzati legalmente approvati da FDA e CE-IVD utilizzati dai laboratori per test standard di cura.

I risultati del test NeuMoDx TV/MG Assay hanno fornito una sensibilità clinica del 98,3% per il target TV e del 100% per il target MG, entrambi riportati all'IC del 95%. La specificità clinica dello studio è stata determinata al 100% sia per TV che per MG, utilizzando sempre un intervallo di confidenza del 95%. I limiti inferiore e superiore dell'IC al 95% presentati nelle *Tabella 2A* e *2B* di seguito sono stati calcolati utilizzando la procedura di Wilson.

**Tabella 2A.** Riepilogo delle prestazioni cliniche – Rilevamento di *T. vaginalis* con NeuMoDx TV/MG Assay (urina)

TV		Approvazione CE-IVD/FDA Risultato test di riferimento		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx TV/MG Assay	POS	58	0	58
	NEG	1	153	154
	Totale	59	153	212
Sensibilità clinica (TV) = 98,3% (IC 95%: 91,0 – 99,7%)				
Specificità clinica (TV) = 100% (IC 95%: 97,6 – 100%)				

**Tabella 2B.** Riepilogo delle prestazioni cliniche – Rilevamento di *M. genitalium* con NeuMoDx TV/MG Assay (urina)

MG		Approvazione CE-IVD/FDA Risultato test di riferimento		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx TV/MG Assay	POS	62	0	62
	NEG	0	114	114
	Totale	62	114	176
Sensibilità clinica (MG) = 100% (IC 95%: 94,7 – 100%)				
Specificità clinica (MG) = 100% (IC 95%: 96,7 – 100%)				

### Prestazioni cliniche – Campioni di tampone

Le caratteristiche delle prestazioni cliniche del test NeuMoDx TV/MG Assay sono state determinate tramite uno studio di confronto di metodi che utilizza campioni clinici vaginali (raccolti dalla paziente e dal medico) e campioni clinici di tampone endocervicale prelevati in modo prospettico.

I campioni prospettici di tampone vaginale (n = 163) e di tampone endocervicale (n = 163) sono stati raccolti da pazienti sintomatici e asintomatici che hanno dato il consenso, quindi sono stati deidentificati e hanno ricevuto un numero ID univoco dai laboratori clinici, stabilendo un elenco riservato che collega l'ID del paziente ai campioni deidentificati testati per scopi di studio. Per compensare la bassa incidenza di infezione e coinfezione è stato prodotto un ulteriore pannello di tre componenti di campioni TV, MG e TV/MG positivi in tamponi clinici vaginali ed endocervicali negativi, per un totale di 80 campioni prodotti artificialmente per ogni tipo di tampone. Nel totale dei 243 campioni di tampone vaginale, 67 sono stati identificati come TV positivi e 54 come MG positivi. Nel totale dei 243 campioni di tampone endocervicale, 61 sono stati identificati come TV positivi e 54 come MG positivi. L'operatore era tenuto all'oscuro dello stato del test di questi campioni per implementare uno "studio in singolo cieco". Per eseguire l'analisi comparativa dei metodi sono stati utilizzati i risultati riportati dagli specifici dispositivi molecolari commercializzati legalmente approvati da FDA e CE-IVD utilizzati dai laboratori per test standard di cura.

I risultati del test NeuMoDx TV/MG Assay eseguito su campioni di tampone vaginale hanno fornito una sensibilità clinica del 98,5% per il target TV e del 96,3% per il target MG, entrambi riportati all'IC del 95%. La specificità clinica dello studio è stata determinata al 95,5% per TV e al 99,5% per MG, utilizzando sempre un intervallo di confidenza del 95%. I limiti inferiore e superiore dell'IC al 95% presentati nelle *Tablelle 3A* e *3B* di seguito sono stati calcolati utilizzando la procedura di Wilson.

**Tabella 3A.** Riepilogo delle prestazioni cliniche – Rilevamento di *T. vaginalis* con NeuMoDx TV/MG Assay (tampone vaginale)

TV		Approvazione CE-IVD/FDA Risultato test di riferimento		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx TV/MG Assay	POS	66	8	74
	NEG	1	168	169
	<b>Totale</b>	<b>67</b>	<b>176</b>	<b>243</b>
<b>Sensibilità clinica (TV) = 98,5% (IC 95%: 90,9 – 99,2%)</b>				
<b>Specificità clinica (TV) = 95,5% (IC 95%: 90,9 – 97,9%)</b>				

**Tabella 3B.** Riepilogo delle prestazioni cliniche – rilevamento di *M. genitalium* con NeuMoDx TV/MG Assay (tampone vaginale)

MG		Approvazione CE-IVD/FDA Risultato test di riferimento		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx TV/MG Assay	POS	52	1	53
	NEG	2	188	190
	<b>Totale</b>	<b>54</b>	<b>189</b>	<b>243</b>
<b>Sensibilità clinica (MG) = 96,3% (IC 95%: 86,2 – 99,4%)</b>				
<b>Specificità clinica (MG) = 99,5% (IC 95%: 96,6 – 99,9%)</b>				

I risultati del test NeuMoDx TV/MG Assay eseguito su campioni di tampone endocervicale hanno fornito una sensibilità clinica del 100% per il target TV e del 96,3% per il target MG, entrambi riportati a un intervallo di confidenza del 95%. La specificità clinica dello studio è stata determinata al 96,2% per TV e al 99,5% per MG, utilizzando sempre un intervallo di confidenza del 95%. I limiti inferiore e superiore dell'IC al 95% presentati nelle *Tablelle 4A* e *4B* di seguito sono stati calcolati utilizzando la procedura di Wilson.

**Tabella 4A.** Riepilogo delle prestazioni cliniche – Rilevamento di *T. vaginalis* con NeuMoDx TV/MG Assay (tampone endocervicale)

TV		Approvazione CE-IVD/FDA Risultato test di riferimento		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx TV/MG Assay	POS	61	7	68
	NEG	0	175	175
	<b>Totale</b>	<b>61</b>	<b>182</b>	<b>243</b>
<b>Sensibilità clinica (TV) = 100% (IC 95%: 92,6 – 100%)</b>				
<b>Specificità clinica (TV) = 96,2% (IC 95%: 91,9 – 98,3%)</b>				

**Tabella 4B.** Riepilogo delle prestazioni cliniche – Rilevamento di *M. genitalium* con NeuMoDx TV/MG Assay (tampone endocervicale)

MG		Approvazione CE-IVD/FDA Risultato test di riferimento		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx TV/MG Assay	POS	52	1	53
	NEG	2	188	190
	<b>Totale</b>	<b>54</b>	<b>189</b>	<b>243</b>
<b>Sensibilità clinica (MG) = 96,3% (IC 95%: 86,2 – 99,4%)</b>				
<b>Specificità clinica (MG) = 99,5% (IC 95%: 96,6 – 99,9%)</b>				

### Sensibilità analitica – Urina

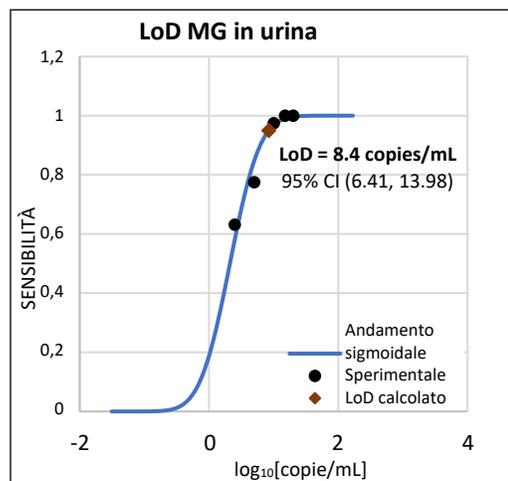
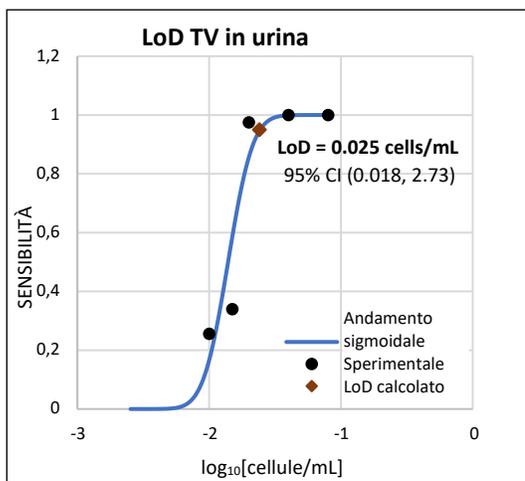
Il limite di rilevamento (Limit of Detection, LoD) del NeuMoDx TV/MG Assay è stato determinato in un pool di urina di donatrici sane arricchita con ceppo di *Trichomonas vaginalis* G3 (ATCC PRA-98) o ceppo di *Mycoplasma genitalium* G37 (ATCC 33530) indicati nelle *Tablelle 5A* e *5B*. I test sono stati condotti con 40 replicati ad ogni livello, per cui i tassi di rilevamento sono riportati di seguito. È stato usato un modello di analisi probit sullo studio del tasso di successo per determinare il limite di rilevamento del NeuMoDx TV/MG Assay – **0,025 cellule/mL TV** e **8,4 copie/mL MG** – indicato di seguito nella *Figura 1*.

**Tabella 5A.** Tassi di rilevamento positivo di TV in urina – Studio limite di rilevamento NeuMoDx TV/MG Assay.

TV (cellule/mL)	n	# POS	% POS	LoD (Probit)
0,08	40	40	100	<b>0,025</b> cellule/mL
0,04	40	40	100	
0,02	39	38	97,4	
0,015	39	13	33,3	
0,01	39	10	25,6	
0	40	0	0	

**Tabella 5B.** Tassi di rilevamento positivo di MG in urina – Studio limite di rilevamento NeuMoDx TV/MG Assay.

MG (copie/mL)	n	# POS	% POS	LoD (Probit)
20	38	38	100	<b>8,4</b> cp/mL
15	38	38	100	
10	40	39	97,5	
5	40	31	77,5	
2,5	38	24	63,2	
0	40	0	0	



**Figura 1.** Determinazione con analisi Probit del Limite di rilevamento (Limit of Detection, LoD) del NeuMoDx TV/MG Assay.

### Sensibilità analitica – Tampone vaginale

Il limite di rilevamento (Limit of Detection, LoD) del NeuMoDx TV/MG Assay è stato determinato in campioni di tampone vaginale negativi raccolti in modo prospettico arricchiti con ceppo di *Trichomonas vaginalis* G3 (ATCC PRA-98) o ceppo di *Mycoplasma genitalium* G37 (ATCC 33530) indicati nelle *Tablelle 6A* e *6B*. I test sono stati condotti con 40 replicati ad ogni livello, per cui i tassi di rilevamento sono riportati di seguito. È stata impiegata una combinazione di analisi hit-rate e probit per determinare il limite di rilevamento del NeuMoDx TV/MG Assay con campioni di tampone vaginale – **0,04 cellule/mL TV e 14,8 copie/mL MG**.

**Tabella 6A.** Tassi di rilevamento positivo di TV in tamponi vaginali – Studio sul limite di rilevamento di NeuMoDx TV/MG Assay.

TV (cellule/mL)	n	# POS	% POS	LoD
0,3	38	38	100	<b>0,04</b> cellule/mL
0,15	39	39	100	
0,075	40	40	100	
0,04	39	39	100	
0	39	0	0	

**Tabella 6B.** Tassi di rilevamento positivo di MG in tamponi vaginali – Studio sul limite di rilevamento di NeuMoDx TV/MG Assay.

MG (copie/mL)	n	# POS	% POS	LoD (Probit)
80	40	40	100	<b>14,8</b> cp/mL
40	38	38	100	
20	40	39	97,5	
10	40	35	87,5	
5	39	24	61,5	
0	39	0	0	

### Sensibilità analitica – Tampone endocervicale

Il limite di rilevamento del NeuMoDx TV/MG Assay è stato determinato in campioni di tampone endocervicale negativi raccolti in modo prospettico arricchiti con ceppo di *Trichomonas vaginalis* G3 (ATCC PRA-98) o ceppo di *Mycoplasma genitalium* G37 (ATCC 33530) indicati nelle *Tabella 7A* e *7B*. I test sono stati condotti con 40 replicati ad ogni livello, per cui i tassi di rilevamento sono riportati di seguito. È stata impiegata una combinazione di analisi hit-rate e probit per determinare il limite di rilevamento del NeuMoDx TV/MG Assay con campioni di tampone endocervicale – **0,15 cellule/mL TV e 17,2 copie/mL MG**.

**Tabella 7A.** Tassi di rilevamento positivo di TV in tamponi endocervicali – Studio sul limite di rilevamento di NeuMoDx TV/MG Assay.

TV (cellule/mL)	n	# POS	% POS	LoD
0,15	40	40	100	<b>0,15 cellule/mL</b>
0,075	38	21	55,3	
0,004	39	12	30,8	
0	40	0	0	

**Tabella 7B.** Tassi di rilevamento positivo di MG in tamponi endocervicali – Studio sul limite di rilevamento di NeuMoDx TV/MG Assay.

MG (copie/mL)	n	# POS	% POS	LoD (Probit)
80	38	38	100	<b>17,2 cp/mL</b>
40	40	40	100	
20	40	39	97,5	
10	40	32	80	
5	40	26	65	
0	40	0	0	

### Rilevazione delle varianti

La sensibilità analitica del test NeuMoDx TV/MG Assay è stata ulteriormente confermata con cinque ceppi di TV e tre ceppi di MG aggiuntivi, elencati di seguito nella *Tabella 8*. I target ai livelli specificati sono stati aggiunti in campioni di urina negativi prima del test con circa 1-2 volte il relativo valore LoD, come elencato in alto per confermare il  $\geq 95\%$  di rilevamento. I ceppi di varianti che non rispettavano questi requisiti sono stati testati nuovamente a concentrazioni più elevate fino al raggiungimento del  $\geq 95\%$  di rilevamento. Il livello al quale tale risultato è stato raggiunto per ciascun ceppo è riportato nella *Tabella 8* come valore LoD per tale variante.

**Tabella 8.** Varianti dei ceppi TV e MG testate

	Ceppo	n	Concentrazione (cellule/mL)	POS	NEG	Tasso di rilevazione (%)
<b>T. vaginalis</b>	87464 (ATCC 30094)	20	0,04	20	0	100
	RU 393 (ATCC 393)	20	0,04	20	0	100
	JH 31A #4 (ATCC 30236)	20	0,04	20	0	100
	JH 32A #4 (ATCC 30238)*	20	0,04	19	1	95
	CDC 085 (ATCC 50143)*	20	0,12**	17	3	85
<b>M. genitalium</b>	M30 (ATCC 48985)	19	0,10***	19	0	100
	R32G (ATCC 48987)	19	$2 \times 10^{-4}$	19	0	100
	TW 10-5G (ATCC 49123)	19	$5 \times 10^{-3}$	19	0	100

\* Ceppo resistente al metronidazolo

\*\* La titolazione del ceppo CDC 085 di *T. vaginalis* è stata arrestata prima che fosse osservato un rilevamento  $\geq 95\%$ ; la concentrazione sopra riportata non è indicativa come limite di rilevamento per questo ceppo.

\*\*\* Quantificato in CCU/mL

### Specificità analitica – Reattività crociata in presenza di microorganismi

Un totale di 84 isolati coltivati o di DNA proveniente da microorganismi potenzialmente coabitanti con TV o MG o filogeneticamente simili a essi è stato valutato per una possibile reattività crociata durante il test con il NeuMoDx TV/MG Assay. Gli organismi sono stati preparati in pool di 5-6 organismi ciascuno e analizzati ad alta concentrazione. Organismi batterici e fungini sono stati aggiunti a pool di urina TV/MG negativa a  $6,7 \times 10^4 - 9 \times 10^9$  CFU/mL e agenti virali a  $10^6$  copie DNA/mL, eccetto laddove diversamente indicato. Non è stata osservata alcuna reattività crociata con nessuno dei microorganismi testati in questo studio. L'elenco degli organismi testati è illustrato nella *Tabella 9*.

**Tabella 9.** Elenco degli agenti patogeni utilizzati per dimostrare la specificità analitica

Batteri	Batteri	Batteri
<i>Achromobacter xerosis</i>	<i>Kingella denitrificans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Rahnella aquatilis</i>
<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Rhizobium radiobacter</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Rhodospirillum rubrum</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Lactobacillus jensenii</i>	<i>Salmonella enterica</i>
<i>Atopobium vaginae</i>	<i>Lactobacillus vaginalis</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Brevibacterium linens</i>	<i>Mobiluncus curtisii</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Chlamydia trachomatis*</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Chromobacterium violaceum</i>	<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Trichomonas tenax***</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Moraxella osloensis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum**</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	<i>Mycoplasma faucium</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Mycoplasma fermentans</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Cryococcus neoformans</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<b>Funghi</b>
<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>Mycoplasma orale</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Mycoplasma penetrans**</i>	<i>Candida glabrata</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Mycoplasma pirum***</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Mycoplasma primatum</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Mycoplasma salivarium***</i>	<b>Virus</b>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Citomegalovirus
<i>Escherichia coli</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	HIV-1 <sup>†</sup>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Prevotella bivia</i>	HPV-16
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	HSV-1
<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	HSV-2
<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Providencia stuartii</i>	

A meno che non indicato sotto, i batteri e i funghi sono quantificati in CFU/mL e i virus sono quantificati in copie/mL

\* quantificato in EB/mL

\*\* quantificato in CCU/mL

\*\*\* quantificato in cellule/mL

<sup>†</sup> quantificato in IU/mL

### Interferenza – Microorganismi

Il NeuMoDx TV/MG Assay è stato testato per interferenza in presenza di organismi non target (coabitanti nel tratto urogenitale), valutando le prestazioni del NeuMoDx TV/MG Assay a bassi livelli di TV e MG sul NeuMoDx Molecular System. Per questo studio è stato utilizzato lo stesso gruppo di 84 organismi [Tabella 9] utilizzato per la valutazione della reattività crociata. Gli organismi sono stati raggruppati in gruppi di 4-6 in pool di urina negativa per TV/MG e arricchiti con target TV (0,125 cellule/mL) e MG (45 copie/mL). Non sono state osservate interferenze con alcuno degli organismi commensali.

### Interferenza – Sostanze endogene ed esogene incontrate nei campioni clinici di urina

Le prestazioni del NeuMoDx TV/MG Assay sono state valutate in presenza di sostanze potenzialmente interferenti che possono essere associate alla raccolta di campioni di urina da un paziente [Tabella 10]. Urina negativa raccolta arricchita con TV (0,125 cellule/mL) e MG (42,5 copie/mL) è stata dosata con frazioni endogene ed esogene alle concentrazioni specificate ed elaborata. Non è stata osservata nessuna interferenza con nessuna delle sostanze ai livelli elencati nella *Tabella 10*, di seguito.

**Tabella 10.** Agenti interferenti esogeni ed endogeni testati – Campioni di urina

	Sostanza	Concentrazione
<b>Endogena</b>	Urina acida	pH 4
	Urina alcalina	pH 9
	Albumina di siero bovino	10 mg/mL
	Liquido seminale	5,0% (v/v)
	Metaboliti dell'urina	Livelli elevati*
<b>Esogena</b>	Paracetamolo	3,2 mg/mL
	Azitromicina	1,8 mg/mL
	AZO Urinary Pain Relief® (fenazopiridina)	0,1 mg/mL
	Doxiciclina	3,6 mg/mL
	Gel vaginale al metronidazolo	0,2 mg/mL
	Norforms® supposte deodoranti	0,25% (m/v)
	Progesterone	4 mg/mL**
	Polvere di talco	0,10% (m/v)
Vagisil® polvere deodorante	0,25% (m/v)	

\* L'effetto dei livelli elevati di metabolita dell'urina è stato valutato sostituendo l'urina KOVA-Trol® I High Abnormal Urine Control with Urobilinogen (KOVA International 87533).

\*\* Livello di progesterone riportato come risultato di studio dose-risposta da 8 mg/mL

#### Interferenza – Sostanze endogene ed esogene rilevate in campioni clinici di tampone

Le prestazioni del NeuMoDx TV/MG Assay sono state valutate in presenza di sostanze potenzialmente interferenti che possono essere associate alla raccolta di campioni di tampone da un paziente [Tabella 11]. Campioni vaginali negativi raccolti, prelevati autonomamente dalle pazienti, arricchiti con TV (0,40 cellule/mL) e MG (150 copie/mL) sono stati dosati con frazioni endogene ed esogene alle concentrazioni specificate ed elaborati. Non è stata osservata nessuna interferenza con nessuna delle sostanze ai livelli elencati nella Tabella 11, di seguito.

**Tabella 11.** Agenti interferenti esogeni ed endogeni testati – Campioni di tampone

	Sostanza	Concentrazione
<b>Endogena</b>	Sangue	7% (v/v)
	Mucina	71 mg/mL
	Cellule mononucleate da sangue periferico	10 <sup>5</sup> cellule/mL
<b>Esogena</b>	Crema Abreva®	43,8 mg/mL
	Crema vaginale a base di clotrimazolo	76,6 mg/mL
	Lubrificante intimo K-Y® Jelly	167,7 mg/mL
	Crema vaginale a base di metronidazolo	122,2 mg/mL
	Miconazolo-3	60 mg/mL
	Monistat® 1	80,4 mg/mL
	Crema per le emorroidi Preparation H®	65 mg/mL
	Progesterone	10 mg/mL
	Idratante Replens™	9,45 mg/mL
	Liquido seminale	71,2 mg/mL
	Lavanda vaginale medicata Summer's Eve®	69,5 mg/mL
	Crema contro il prurito Vagisil	5,3 mg/mL
	Idratante Vagisil	7,9 mg/mL
	Spugna vaginale contraccettiva VCF®	47,2 mg/mL
	Lavanda vaginale Yeast Gard Advanced™	68,9 mg/mL

### Riproducibilità lotto a lotto

La riproducibilità tra lotti del test NeuMoDx TV/MG Assay è stata verificata dall'analisi retrospettiva dei dati del test di qualità per tre lotti separati della striscia reattiva NeuMoDx TV/MG Test Strip. Questi dati sono stati generati mediante test funzionale dei reagenti su controllo per urina KOVA-Trol arricchito con ceppi rappresentativi di TV (0,1 cellule/mL) e MG (40 copie/mL). Un totale di 32 replicati positivi e 8 negativi sono stati elaborati per lotto di NeuMoDx TV/MG Test Strip. La variazione tra lotti di produzione è stata analizzata determinando il valore medio di  $C_t$ , la deviazione standard e la percentuale del coefficiente di variazione (%CV) sono indicati nella *Tabella 12*. I valori di deviazione standard  $\leq 1$  e i valori di coefficiente di variazione  $\leq 2,5\%$  per target sia TV sia MG dimostrano l'eccellente riproducibilità dei lotti di NeuMoDx TV/MG Test Strip.

**Tabella 12.** Analisi della %CV per target tra lotti di NeuMoDx TV/MG Test Strip

	TV			MG			Tutti i risultati		
	$\bar{C}_t$	$C_t$ SD	% CV	$\bar{C}_t$	$C_t$ SD	% CV	$\bar{C}_t$	$C_t$ SD	% CV
<b>TV/MG Test Strip (su 3 lotti)</b>	32,99	0,67	2,0%	35,36	0,82	2,3%	32,09	0,45	1,4%

### Efficacia del controllo

L'efficacia del controllo di elaborazione dei campioni incluso nella striscia reattiva NeuMoDx TV/MG Test Strip per quanto riguarda la segnalazione di eventuali errori nella fase di elaborazione o inibizioni che si ripercuotono sulle prestazioni del NeuMoDx TV/MG Assay è stata valutata sul NeuMoDx Molecular System usando il NeuMoDx CT/NG Assay come modello. Le condizioni testate sono rappresentative di errori critici della fase di elaborazione che potrebbero verificarsi durante l'elaborazione del campione e *possono non essere rilevati* dai sensori di bordo che monitorano le prestazioni del NeuMoDx System. L'efficacia del controllo è stata valutata riproducendo l'errore di varie fasi del flusso di elaborazione del campione per simulare un potenziale errore di sistema e aggiungendo al campione un inibitore noto per osservare l'effetto di mitigazione dell'inibitore inefficiente al momento della rilevazione del controllo di elaborazione dei campioni (vedere *Tabella 13*). Nei casi in cui gli errori di elaborazione non abbiano avuto un impatto negativo sulle prestazioni del controllo di elaborazione dei campioni (NO WASH (NESSUNA SOLUZIONE DI LAVAGGIO)/NO WASH BLOWOUT (NESSUN BLOW-OUT DI LAVAGGIO)), il test è stato ripetuto con campioni contenenti bassi livelli di CT e NG (vicini al LoD) per confermare che l'errore di elaborazione non ha avuto effetti negativi anche sul rilevamento del target di CT o NG. La *Tabella 13* riassume i risultati del test di verifica dell'efficacia del controllo.

**Tabella 13.** Riepilogo dei dati dell'efficacia del controllo

Condizione	Risultato atteso	Risultato osservato
Normal Processing (Elaborazione normale)	Negative (Negativo)	Negative (Negativo)
Normal Processing + Inhibitor (Elaborazione normale + Inibitore)	Unresolved (Irrisolto)	Unresolved (Irrisolto)
No Wash Reagent (Nessun reagente di lavaggio)	Unresolved (Irrisolto) o Negative (Negativo)	Negative (Negativo)
No Wash Blowout (Nessun blow-out di lavaggio)	Unresolved (Irrisolto) o Negative (Negativo)	Negative (Negativo)
No Release Reagent (Nessun reagente di rilascio)	Indeterminate (Indeterminato)	Indeterminate (Indeterminato)
No PCR Master Mix Reagents (Nessun reagente Master Mix PCR)	Indeterminate (Indeterminato)	Indeterminate (Indeterminato)

### Contaminazione crociata

Il tasso di contaminazione crociata per il NeuMoDx TV/MG Assay è stato determinato analizzando quattro (4) processi di campioni alternati altamente positivi e altamente negativi di TV e MG in UVT. I replicati negativi sono stati elaborati in una configurazione a scacchiera con replicati altamente positivi di TV ( $10^5$  cellule/mL) di MG ( $10^6$  CFU/mL); subito dopo sono stati elaborati altri quattro (4) processi di tutti i replicati negativi e valutati per rilevare la contaminazione crociata. Tutti i replicati dei campioni negativi sono stati indicati come negativi, dimostrando che non si è verificata contaminazione crociata durante l'elaborazione dei campioni sul NeuMoDx System.

### BIBLIOGRAFIA

1. WHO Bulletin. Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016 Jane Rowley et al. Bulletin World Health Organ 2019;97:548–562P | doi: <http://dx.doi.org/10.2471/BLT.18.228486>  
<https://www.who.int/reproductivehealth/curable-stis/en/>
2. Sexually transmitted disease surveillance 2018. <https://www.cdc.gov/std/trichomonas/stats.htm>
3. Centers for the Disease Control and Prevention. 2015 Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. <https://www.cdc.gov/std/tg2015/trichomoniasis.htm>
4. Guillermo Madico, Thomas C. Quinn, Anne Rompalo, Kelly T. McKee, Jr., and Charlotte A. Gaydos. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* Infection by PCR Using Vaginal Swab Samples. *J Clin Microbiol.* 1998 Nov; 36(11): 3205–3210.
5. Karen A. Wendel, Emily J. Erbeling, Charlotte A. Gaydos, and Anne M. Rompalo. *Trichomonas vaginalis* Polymerase Chain Reaction Compared with Standard Diagnostic and Therapeutic Protocols for Detection and Treatment of Vaginal Trichomoniasis. *Clinical Infectious Diseases*, Volume 35, Issue 5, 1 September 2002, Pages 576–580.
6. Patil MJ<sup>1</sup>, Nagamoti JM, Metgud SC. Diagnosis of *Trichomonas Vaginalis* from Vaginal Specimens by Wet Mount Microscopy, In Pouch TV Culture System, and PCR. *J Glob Infect Dis.* 2012 Jan;4(1):22-5. doi: 10.4103/0974-777X.93756.
7. Van Der Pol B. Clinical and Laboratory Testing for *Trichomonas vaginalis* Infection. *J Clin Microbiol.* 2016;54(1):7–12. doi:10.1128/JCM.02025-15
8. Falk L, Fredlund H, Jensen JS. Signs and symptoms of urethritis and cervicitis among women with or without *Mycoplasma genitalium* or *Chlamydia trachomatis* infection. *Sex Transm Infect* 2005;81:73–8.
9. Munoz JL, Goje OJ. *Mycoplasma genitalium*: an emerging sexually transmitted infection. *Scientifica (Cairo).* 2016;2016:7537318. doi:10.1155/2016/7537318
10. Centers for the Disease Control and Prevention. Emerging Issues. 2015 Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. <https://www.cdc.gov/std/tg2015/trichomoniasis.htm>
11. Huppert JS, Mortensen JE, Reed JL, et al. *Mycoplasma genitalium* detected by transcription-mediated amplification is associated with *Chlamydia trachomatis* in adolescent women. *Sex Transm Dis* 2008;35:250–4.
12. Mena L, Wang X, Mroczkowski TF, et al. *Mycoplasma genitalium* infections in asymptomatic men and men with urethritis attending a sexually transmitted diseases clinic in New Orleans. *Clin Infect Dis* 2002;35:1167–73.
13. Falk L. The overall agreement of proposed definitions of mucopurulent cervicitis in women at high risk of chlamydia infection. *Acta Derm Venereol* 2010;90:506–11.
14. Patrick J Horner, David H Martin Author Notes. *Mycoplasma genitalium* Infection in Men. *The Journal of Infectious Diseases*, Volume 216, Issue suppl\_2, 15 July 2017, Pages S396–S405, <https://doi.org/10.1093/infdis/jix145>
15. Josephine B. Slifirski, Lenka A. Vodstrcil, Christopher K. Fairley, Jason J. Ong, Eric P.F. Chow, Marcus Y. Chen, Timothy R.H. Read<sup>4</sup>, and Catriona S. Bradshaw. Emerging Infectious Diseases, CDC, Volume 23, Number 11—November 2017 *Mycoplasma genitalium* Infection in Adults Reporting Sexual Contact with Infected Partners, Australia, 2008–2016.
16. Suneeta Soni, et al, British Association for Sexual Health and HIV national guideline for the management of infection with *Mycoplasma genitalium* (2018). International Journal of STD and AIDS. Volume: 30 issue: 10, page(s): 938-950. July 7, 2019. <https://doi.org/10.1177/0956462419825948>
17. Anagrus C, Lore B, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: prevalence, clinical significance, and transmission. *Sex Transm Infect* 2005;81:458–62.
18. Manhart LE, Critchlow CW, Holmes KK, et al. Mucopurulent cervicitis and *Mycoplasma genitalium*. *J Infect Dis* 2003;187:650–7.
19. Gaydos C, Maldeis NE, Hardick A, et al. *Mycoplasma genitalium* as a contributor to the multiple etiologies of cervicitis in women attending sexually transmitted disease clinics. *Sex Transm Dis* 2009;36:598–606.
20. Mobley VL, Hobbs MM, Lau K, et al. *Mycoplasma genitalium* infection in women attending a sexually transmitted infection clinic: diagnostic specimen type, coinfections, and predictors. *Sex Transm Dis* 2012;39:706–9.
21. Lusk MJ, Konecny P, Naing ZW, et al. *Mycoplasma genitalium* is associated with cervicitis and HIV infection in an urban Australian STI clinic population. *Sex Transm Infect* 2011;87:107–9.
22. Casin I, Vexiau-Robert D, De La Salmoniere P, et al. High prevalence of *Mycoplasma genitalium* in the lower genitourinary tract of women attending a sexually transmitted disease clinic in Paris, France. *Sex Transm Dis* 2002;29:353–9.
23. Korte JE, Baseman JB, Cagle MP, et al. Cervicitis and genitourinary symptoms in women culture positive for *Mycoplasma genitalium*. *Am J Reprod Immunol* 2006;55:265–75.
24. 2016 European guideline on *Mycoplasma genitalium* infections. [https://www.iusti.org/regions/Europe/pdf/2016/IUSTI\\_myoplasma\\_guidelines2016.pdf](https://www.iusti.org/regions/Europe/pdf/2016/IUSTI_myoplasma_guidelines2016.pdf)
25. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014

### MARCHI COMMERCIALI

NeuMoDx™ è un marchio commerciale di NeuMoDx Molecular, Inc.  
NeuDry™ è un marchio commerciale di NeuMoDx Molecular, Inc.  
Abreva® è un marchio commerciale registrato di GlaxoSmithKline plc  
ATCC® è un marchio commerciale registrato dell'American Type Culture Collection  
AZO Urinary Pain Relief® è un marchio commerciale registrato di DSM  
Hamilton® è un marchio commerciale registrato di Hamilton Company  
Il marchio K-Y® è un marchio commerciale registrato di Reckitt Benckiser LLC  
KOVA-Trol® è un marchio commerciale registrato di KOVA International, Inc.  
Liqua-TROL® è un marchio commerciale registrato di KOVA International, Inc.  
Monistat® e Summer's Eve® sono marchi commerciali registrati di Prestige Consumer Healthcare, Inc.  
NATtrol™ è un marchio commerciale registrato di ZeptoMetrix Corporation  
Norforms® è un marchio commerciale registrato di Fleet Company, Inc.  
Preparation H® è un marchio commerciale di Pfizer, Inc.  
Replens™ è un marchio commerciale di Church & Dwight Co., Inc.  
TaqMan® è un marchio commerciale registrato di Roche Molecular Systems, Inc.  
Vagisil® è un marchio commerciale registrato di Combe, Inc.  
VCF® è un marchio commerciale registrato di Apothecus Pharmaceutical Corp.  
Yeast Gard Advanced™ è un marchio commerciale di Lake Consumer Products, Inc.

Tutti gli altri nomi di prodotto, i marchi commerciali e i marchi commerciali registrati che possono apparire in questo documento sono di proprietà dei rispettivi proprietari.

### SIMBOLI

SIMBOLO	SIGNIFICATO
<b>R only</b>	Solo su prescrizione medica
	Produttore
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">IVD</span>	Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">EC</span> <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REP</span>	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	Numero di catalogo
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">LOT</span>	Codice lotto
	Data di scadenza
	Limite di temperatura
	Limiti di umidità
	Non riutilizzare
	Contenuto sufficiente per $<n>$ test
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Attenzione
	Rischio biologico
<b>CE</b>	Marchio CE



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

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



Assistenza tecnica/Rapporti di vigilanza: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

Brevetto: [www.neumodx.com/patents](http://www.neumodx.com/patents)