

**REF** 200300 NeuMoDx™ CT/NG 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 CT/NG Assay, come eseguito sul NeuMoDx 96 Molecular System e sul NeuMoDx 288 Molecular System, è un test qualitativo automatizzato di amplificazione dell'acido nucleico *in vitro* per la rilevazione diretta e la differenziazione del/tra il DNA di *Chlamydia trachomatis* (CT) e/o *Neisseria gonorrhoeae* (NG) in campioni urogenitali. L'esame utilizza la reazione a catena della polimerasi (Polymerase Chain Reaction, PCR) real-time per la rilevazione del DNA di *Chlamydia trachomatis* e di *Neisseria gonorrhoeae* 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, o BD™ Universal Viral Transport System, BD™ UVT, Becton, Dickinson and Company, MD, USA, o equivalente), campioni cervicali raccolti nella soluzione PreservCyt® (Hologic®, Inc, MA, USA) e urine maschili e femminili. Il NeuMoDx CT/NG Assay è previsto per l'uso come supporto nella diagnosi dell'infezione urogenitale da clamidia e gonococco in individui sia sintomatici sia asintomatici.

**SOMMARIO E SPIEGAZIONI**

Per analizzare un campione di urina tramite il test NeuMoDx CT/NG Assay viene raccolto un campione di urina in una normale coppetta per la raccolta di urine, senza conservanti né additivi. Per prepararsi all'analisi, un'aliquota dell'urina viene dispensata in una provetta secondaria, compatibile con il NeuMoDx System e caricata sul NeuMoDx System in appositi portacampioni per iniziare l'elaborazione. Per ciascun campione un'aliquota di 550 µL dell'urina viene miscelata con il NeuMoDx Lysis Buffer 2 e il NeuMoDx System esegue automaticamente tutti i passaggi necessari per estrarre l'acido nucleico target, preparare il DNA isolato per l'amplificazione PCR real-time e, se presenti, amplificare e rilevare i target dell'amplificazione (sezioni di sequenze geniche *target* dei cromosomi e plasmidi di CT e NG).

Per analizzare un campione di un tampone con il NeuMoDx CT/NG Assay, occorre raccogliere un campione tramite tampone endocervicale o tampone vaginale eseguito dal medico o dalla paziente stessa, 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. Se il campione è stato congelato, si consiglia di preriscaldare il campione scongelato a 85 °C per 5-10 minuti prima di effettuare i test. Per ciascun campione, viene miscelata un'aliquota di 400 µL della sostanza del tampone con il NeuMoDx Lysis Buffer 2 e il NeuMoDx System esegue automaticamente tutti i passaggi necessari 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 di sequenze geniche *target* dei cromosomi e dei plasmidi di CT e NG).

Per analizzare un campione citologico con il NeuMoDx CT/NG Assay, il medico preleva un ThinPrep® Pap Test seguendo le istruzioni del produttore. Terminata l'elaborazione su un processore ThinPrep®, un'aliquota della soluzione PreservCyt® dovrà essere erogata in una provetta secondaria compatibile con il NeuMoDx System e caricata sul NeuMoDx System e caricata nel NeuMoDx System utilizzando il portacampioni idoneo per iniziare l'elaborazione. Prima dell'elaborazione il campione deve essere portato a temperatura ambiente. Per ciascun campione, viene miscelata un'aliquota di 550 µL di liquido PreservCyt con il NeuMoDx Lysis Buffer 2 e il NeuMoDx System esegue automaticamente tutti i passaggi necessari 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 di sequenze geniche *target* dei cromosomi e dei plasmidi di CT e NG).

Il NeuMoDx CT/NG Assay include un controllo di elaborazione dei campioni del DNA (Sample Process Control, SPC1) per aiutare a monitorare la presenza di potenziali sostanze inibitorie e di potenziali errori relativi al NeuMoDx System o ai reagenti, che si potrebbero verificare durante i processi di estrazione e di amplificazione.

Infezioni da *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* sono due delle infezioni a trasmissione sessuale più diffuse nel mondo. Negli Stati Uniti, nel 2016 sono stati diagnosticati oltre 1,6 milioni di nuovi casi di clamidia e 470.000 di gonorrea, il numero più alto di sempre secondo l'ultimo rapporto dei Centri per il controllo e la prevenzione delle malattie (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) (CDC, 2017)<sup>1</sup>.

Le *Chlamydiae* sono batteri gram-negativi, intracellulari, non mobili e obbligati. La specie *Chlamydia trachomatis* è composta da quindici sierotipi (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 e L3) che possono causare malattia negli esseri umani.<sup>2</sup> I sierotipi da D a K sono la principale causa di infezioni genitali da clamidia negli uomini e nelle donne.<sup>2</sup> La *C. trachomatis* può causare uretrite non gonococcica, epidermite, proctite, cervicite, salpingite acuta e malattia infiammatoria pelvica (MIP).<sup>3-6</sup> Le infezioni da clamidia sono spesso asintomatiche sia nei maschi sia nelle femmine. I bambini nati da madri infette presentano un rischio significativamente più elevato di congiuntivite e polmonite da clamidia.<sup>7,8</sup> L'infezione non trattata può causare la MIP, che è una delle principali cause di infertilità, gravidanza ectopica e dolore pelvico cronico.<sup>5</sup> I dati di studi randomizzati e controllati sullo screening per clamidia suggeriscono che i programmi di screening possono portare a una riduzione dell'incidenza della PID.<sup>9-12</sup> Come per altre malattie infiammatorie a trasmissione sessuale, (Sexually Transmitted Diseases, STDs), l'infezione da clamidia potrebbe facilitare la trasmissione dell'infezione da HIV.<sup>13</sup> Inoltre, le donne in gravidanza infette da clamidia possono trasmettere l'infezione ai propri neonati durante il parto, provocando potenzialmente oftalmia neonatorum, che può portare alla cecità e alla polmonite. A causa del considerevole onere della malattia e dei rischi associati all'infezione, CDC raccomanda uno screening annuale per clamidia per tutte le donne sessualmente attive di età inferiore ai 25 anni e per le donne di età ≥25 anni a maggior rischio di infezione (ad es., donne con partner sessuali nuovi o multipli).<sup>14</sup>

*Neisseria gonorrhoeae* è l'agente responsabile della malattia da gonorrea. *N. gonorrhoeae* sono diplococchi Gram-negativi non mobili. Il sito più comune di infezione da *N. gonorrhoeae* è il tratto urogenitale. Le infezioni da NG tendono a causare una risposta infiammatoria più forte rispetto alla *C. trachomatis*, ma sono tipicamente asintomatiche nelle donne, fino a quando non si sviluppano complicanze come la MIP<sup>15</sup>. La MIP può causare infertilità tubarica, gravidanza ectopica e dolore pelvico cronico. Negli uomini, la maggior parte delle infezioni uretrali causa uretrite con minzione dolorosa o disuria con secrezioni peniene (di solito sintomatica) e, meno comunemente, epididimite o infezione gonococcica disseminata.<sup>15</sup> Inoltre, studi epidemiologici e biologici forniscono una forte evidenza che le infezioni gonococciche facilitano la trasmissione dell'infezione da HIV.<sup>13</sup> Il CT/NG Assay utilizza la PCR real-time per rilevare una regione del gene dell'opacità multicopia sul cromosoma di *Neisseria gonorrhoeae*.

Storicamente, la coltura per *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae* era considerata il "gold standard" per la rilevazione di CT/NG. Tuttavia i metodi colturali richiedono che la vitalità degli organismi sia mantenuta durante il trasporto e la conservazione. I metodi di coltura per CT sono difficili da standardizzare, tecnicamente impegnativi, costosi, laboriosi e relativamente non sensibili. I metodi di coltura per la diagnosi convenzionale di infezione da NG possono avere una buona sensibilità clinica, ma richiedono l'isolamento dell'organismo su terreni selettivi e sono altamente dipendenti dalla corretta manipolazione dei campioni. La conservazione e il trasporto inadeguati dei campioni possono comportare perdita della vitalità dell'organismo e produrre risultati falsi negativi. Inoltre, una tecnica di campionamento inadeguata, materiali per il campionamento tossici e l'inibizione della crescita da parte di componenti delle secrezioni corporee possono anche portare a risultati falsi negativi. Questi inconvenienti rendono i metodi di coltura meno ideali da implementare come test di screening di routine. Test multipli di laboratorio non colturali, inclusi i metodi di test con amplificazione dell'acido nucleico (Nucleic Acid Amplification Test, NAAT), sono stati sviluppati per l'individuazione di clamidia e gonorrea. Dal 2002, i miglioramenti nelle tecnologie NAAT e l'uso di un prelievo di campioni meno invasivo hanno permesso un significativo adattamento delle NAAT nella diagnosi di CT e NG. Dal 2014 il test per l'amplificazione dell'acido nucleico è ora l'unico metodo raccomandato tra i metodi non colturali per l'uso di routine in laboratorio nei test CT/NG di CDC.<sup>16</sup> Il CT/NG Assay utilizza la PCR real-time per rilevare due regioni distinte nella *Chlamydia trachomatis*, delle quali una produce il gene dell'elicasi presente nel plasmide criptico della multicopia e l'altra il gene della membrana esterna del cromosoma CT. Per questo motivo, la rilevazione di CT non subisce l'effetto della recente mutazione identificata nella regione 23S del cromosoma CT, né quello dell'eliminazione nel plasmide nel nVCT identificato in Svezia nel 2006.

### PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il test NeuMoDx CT/NG Assay abbina le tecnologie di estrazione del DNA e amplificazione/rilevazione della PCR real-time. I campioni vengono raccolti in cospette convenzionali per la raccolta dei campioni di urina, in provette per la raccolta dei campioni di tamponi (UTM-RT, UVT o equivalente), o liquido PreservCyt® (un pap test ThinPrep®). Il NeuMoDx System aspira automaticamente un'aliquota del campione di urina, del tampone o citologico 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 particelle paramagnetiche. Queste particelle, con gli acidi nucleici legati, sono caricate nella NeuMoDx Cartridge dove i componenti non legati e diversi dal DNA vengono ulteriormente rimossi con 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™ proprietari contenenti tutti gli elementi necessari per l'amplificazione dei target CT e NG nonché una sezione della sequenza di SPC1. Ciò consente l'amplificazione e il rilevamento simultanei dei due 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'amplicone 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 rilascia il fluoroforo da essa e interrompe la prossimità al quencher, superando così l'effetto di smorzamento (quenching) dovuto alla FRET e consentendo la rilevazione del fluoroforo. Il segnale di fluorescenza risultante rilevato nel termociclatore per del NeuMoDx System è direttamente proporzionale al fluoroforo rilasciato.

Una sonda TaqMan contrassegnata da un fluoroforo (Eccitazione: 490 nm ed Emissione: 521 nm) all'estremità 5' e un quencher scuro all'estremità 3' vengono utilizzati per rilevare il DNA di NG e una sonda TaqMan contrassegnata con un fluoroforo (Eccitazione: 590 nm ed Emissione: 610 nm) all'estremità 5' e un quencher scuro all'estremità 3' vengono utilizzati per rilevare il DNA di CT. Per il rilevamento del controllo di elaborazione dei campioni, la sonda TaqMan è contrassegnata con un colorante fluorescente alternativo (Eccitazione: 535 nm ed Emissione: 556 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 (NON RISOLTO)/NO RESULT (NESSUN RISULTATO)).



### REAGENTI/MATERIALI DI CONSUMO

#### Materiali in dotazione

REF	Contenuto	Unità per confezione	Test per unità	Test per confezione
200300	<b>NeuMoDx CT/NG Test Strip</b> <i>Reagenti per PCR real-time essiccati contenenti sonde TaqMan specifiche per CT/NG e primer con sonda TaqMan specifica per il controllo di elaborazione dei campioni e primer.</i>	6	16	96

#### Materiali necessari ma non in dotazione (disponibili separatamente da NeuMoDx)

REF	Contenuto
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>
100100	<b>NeuMoDx Cartridge</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>

#### Tampone e terreni di trasporto (non in dotazione)

Tipo di campione	Terreno consigliato	Dispositivo di raccolta consigliato
<b>Tampone vaginale o endocervicale</b>	3 mL di Universal Transport Medium (Copan UTM-RT)	Flexible Minitip Nylon® Flocked Swab (Copan)
	3 mL di Universal Viral Transport System (BD UVT)	Flexible Minitip Flocked Swab (BD)
<b>Campione citologico</b>	Liquido PreservCyt® Solution per campione Pap	Tipo spazzolina o combinazione di spazzola cervicale/spatola di plastica

#### Altre apparecchiature strumentali necessarie ma non fornite

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



### AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- La NeuMoDx CT/NG Test Strip è destinata all'uso diagnostico *in vitro* solo 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 CT/NG 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. Rimuovere il tampone dal terreno di trasporto prima di eseguire i test. Il NeuMoDx CT/NG 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 CT/NG Assay non è stato approvato per l'uso con altri terreni di trasporto.
- I campioni citologici devono essere raccolti da un medico e in conformità alle istruzioni di raccolta campioni per i ThinPrep® Pap Test. I ThinPrep® Pap Test sono raccolti nel liquido PreservCyt®.
- Non raccogliere i campioni citologici in terreni che non siano il liquido PreservCyt®. Il NeuMoDx CT/NG Assay non è stato approvato per l'uso con altri conservanti citologici.
- I campioni citologici devono essere portati a temperatura ambiente prima di eseguire i test sui NeuMoDx System. Per campioni conservati a 4 °C suddivisi in aliquote di 1 mL in una provetta figlia, si consiglia un'incubazione di 30 minuti a temperatura ambiente. Per contenitori ThinPrep pieni (~20 mL PreservCyt) conservati a 4 °C, si consiglia un'incubazione di 40 minuti a temperatura ambiente.

- Il volume minimo del campione dipende dalle dimensioni della provetta e dal portaprovette per campioni come definiti di seguito:
  - **Portaprovette per campioni (32 provette):** Quando si usano provette secondarie idonee per il portaprovette per campioni da 32 provette sono necessari  $\geq 700 \mu\text{L}$  di campione; un volume inferiore al minimo specificato può causare l'errore "Quantity Not Sufficient (Quantità non sufficiente)".
  - **Portaprovette per campioni (24 provette):** Quando si usano provette primarie servono  $\geq 2 \text{ mL}$  di campione, oppure quando si usano provette secondarie idonee per il portaprovette per campioni da 24 provette servono  $\geq 1,1 \text{ mL}$  di campione. Un volume al di sotto del minimo specificato può generare un errore "Quantity Not Sufficient" (Quantità non sufficiente).
  - **Portaprovette per campioni a volume ridotto (32 provette):** Quando si usano provette secondarie idonee per il portaprovette per campioni a volume ridotto da 32 provette, servono  $\geq 650 \mu\text{L}$  di urina o di campione citologico oppure  $\geq 550 \mu\text{L}$  di campione di tampone. Un volume al di sotto del minimo specificato può generare un errore "Quantity Not Sufficient" (Quantità non sufficiente).
- Quando si utilizza la striscia reattiva NeuMoDx CT/NG Test Strip, l'esecuzione di un test CT/NG su campioni di urina o di tampone più vecchi di 7 giorni può produrre risultati non validi o errati.
- L'esecuzione di un test CT/NG su un campione citologico raccolto da oltre 30 giorni, conservato a una temperatura compresa tra  $2^\circ\text{C}$  e  $30^\circ\text{C}$ , può produrre risultati non validi o errati (vedere la raccomandazione del produttore del ThinPrep® Pap Test).
- 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 cartucce NeuMoDx Cartridges dal contenitore per scarti a rischio biologico. 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 CT/NG 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. Prestare attenzione a non toccare la superficie superiore della cartuccia NeuMoDx Cartridge, la superficie del sigillo della striscia reattiva NeuMoDx CT/NG Test Strip o della piastra di estrazione NeuMoDx Extraction Plate o la superficie superiore del NeuMoDx Lysis Buffer 2; la manipolazione dei materiali di consumo e dei reagenti deve essere effettuata toccando solo le superfici laterali.
- Per ogni reagente vengono fornite le schede di sicurezza (Safety Data Sheet, 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>17</sup> e nel Documento M29-A3 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).<sup>18</sup>
- Smaltire i reagenti inutilizzati e i materiali di scarto in conformità alle normative nazionali, federali, provinciali, regionali e locali.
- Non riutilizzare.

### STOCCAGGIO, MANIPOLAZIONE E STABILITÀ DEL PRODOTTO

- Le strisce reattive NeuMoDx CT/NG 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  $15^\circ\text{C}$  e  $28^\circ\text{C}$ .
- 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.
- Una volta caricata, la NeuMoDx CT/NG 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 CT/NG Test Strip è stata testata utilizzando campioni di urine femminili e maschili non diluite, campioni raccolti dal medico e dalla paziente tramite tampone vaginale, campioni raccolti tramite tampone endocervicale e liquido PreservCyt dei ThinPrep Pap Tests. I campioni di tampone devono essere prelevati utilizzando un tampone con punta di poliestere e applicatore di plastica (UTM-RT, UVT o equivalente). I ThinPrep Pap Tests devono essere raccolti come da raccomandazione del produttore. Prestazioni con tipi campioni diversi da quelli menzionati non sono state valutate.
- Durante il trasporto i campioni di urina prelevati devono essere conservati a una temperatura compresa tra  $2^\circ\text{C}$  e  $8^\circ\text{C}$ .
- 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  $2^\circ\text{C}$  e  $8^\circ\text{C}$  per non più di 7 giorni prima dell'analisi e per un massimo di 24 ore a temperatura ambiente.
- I campioni citologici possono essere conservati a una temperatura compresa tra  $2^\circ\text{C}$  e  $30^\circ\text{C}$  per massimo 30 giorni e utilizzati secondo la raccomandazione del produttore (Hologic, Inc, MA, USA).

### ISTRUZIONI PER L'USO

#### Prelievo/trasporto dei campioni

1. L'urina di prima raccolta (come raccomandato da CDC<sup>16</sup>) deve essere prelevata in coppette per la raccolta delle urine senza conservanti. Se possibile, il paziente non deve urinare per almeno 1 ora prima della raccolta del campione.
2. I tamponi vaginali prelevati dal medico o dalla paziente, nonché i tamponi endocervicali devono essere raccolti seguendo le istruzioni fornite dal produttore con il dispositivo di prelievo tamponi.
3. I campioni citologici devono essere raccolti dal medico seguendo le istruzioni fornite dal produttore con il kit per il prelievo del ThinPrep® Pap Test.
4. Se i campioni di tampone e/o urina non vengono analizzati entro 24 ore, devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C fino a 7 giorni prima dell'analisi. I campioni citologici possono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C per massimo 30 giorni secondo la raccomandazione del produttore (Hologic, Inc, MA, USA).

#### Preparazione del test – *Campione di urina*

1. Applicare l'etichetta con codice a barre del campione su una provetta per campioni compatibile con NeuMoDx System.
2. Agitare delicatamente il campione di urina nel contenitore principale 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.

#### Preparazione del test – *Campione di tampone*

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 provette. In alternativa, è possibile trasferire un'aliquota del terreno del tampone in una provetta secondaria, per l'elaborazione sul NeuMoDx System.
2. Agitare brevemente il campione di tampone nel contenitore principale per ottenere una distribuzione uniforme.
3. Se il test del campione di tampone viene eseguito nella provetta di raccolta primaria, collocare la provetta con l'etichetta con codice a barre in un portaprovette per campioni da 24 provette e accertarsi che il tappo venga rimosso prima del caricamento nel NeuMoDx System.
4. Se si utilizza una provetta secondaria, trasferire un'aliquota del campione del tampone nella provetta per campioni con codice a barre compatibile con il NeuMoDx System.

#### Preparazione del test – *Campione citologico*

1. Applicare l'etichetta con codice a barre del campione su una provetta per campioni compatibile con NeuMoDx System.
2. Agitare delicatamente il liquido PreservCyt per ottenere una distribuzione uniforme. Il NeuMoDx CT/NG Assay è stato convalidato solo con campioni citologici sottoposti a post-elaborazione con ThinPrep® Liquid.
3. Usando una pipetta di trasferimento o puntale di pipetta diversi per ogni campione, trasferire un'aliquota di PreservCyt nella provetta per campioni con codice a barre compatibile con il sistema NeuMoDx System.

#### 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. Caricare l'ordine di test sul NeuMoDx System in base al tipo di campione desiderato (urina, terreno di trasporto o citologia) e al tipo di provetta. Se non è definito nell'ordine di test, verrà utilizzato come impostazione predefinita il tipo di campione **Urine** (Urina) in una **Secondary Tube** (Provetta secondaria).
2. Riempire uno o più portaprovette NeuMoDx Test Strip Carrier con le strisce reattive NeuMoDx CT/NG Test Strip e utilizzare il touchscreen per caricare il/i supporto/i per strisce reattive nel NeuMoDx System.
3. 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.
4. Se richiesto dal software del NeuMoDx System, sostituire NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, svuotare i rifiuti adescamento, il contenitore dei materiali di scarto a rischio biologico (solo NeuMoDx 288), il recipiente dei puntali di scarto (solo NeuMoDx 96) o il recipiente dei materiali di scarto a rischio biologico (solo NeuMoDx 96), secondo necessità.
5. Caricare la/le provetta/i del campione nell'apposito portaprovette e verificare di aver rimosso tutti i tappi dalle tutte le provette dei campioni.
6. Posizionare il portaprovette per campioni sul ripiano del caricatore automatico e utilizzare il touchscreen per caricare il portaprovette nel NeuMoDx System. In tal modo verrà avviata l'elaborazione dei campioni caricati per i test identificati.

### LIMITAZIONI

- La striscia reattiva NeuMoDx CT/NG Test Strip può essere utilizzata solo su sistemi NeuMoDx System.
- Le prestazioni della NeuMoDx CT/NG Test Strip sono state stabilite con campioni di urine maschili e femminili, con campioni di tamponi vaginali prelevati autonomamente dalla paziente e dal medico, con campioni di tampone endocervicale e con campioni citologici in liquido PreservCyt. L'uso della striscia reattiva NeuMoDx CT/NG 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 CT e NG dipende dal numero di organismi presenti nel campione, risultati affidabili dipendono da prelievo, manipolazione e conservazione corretti dei campioni.
- Eventuali risultati errati dei test potrebbero essere dovuti al fatto di non aver eseguito correttamente il prelievo, il trattamento o la conservazione, a errori tecnici o a scambi di campioni. Inoltre, possono verificarsi risultati falsi negativi perché il numero di organismi nel campione è inferiore alla sensibilità analitica del test.
- L'esecuzione del test è limitata all'uso da parte di personale addestrato all'utilizzo del NeuMoDx System.
- Se il controllo di elaborazione dei campioni non amplifica e il risultato del test NeuMoDx CT/NG test è Negative (Negativo), verrà riportato un risultato non valido (Indeterminate (Indeterminato) o Unresolved (Irrisolto)) e il test dovrà essere ripetuto.
- Un risultato positivo non indica necessariamente la presenza di organismi vitali. È tuttavia presuntivo di presenza di DNA di CT e/o NG.
- Sebbene non siano noti ceppi/isolati di NG in cui manchino i geni dell'*opacità*, il manifestarsi di tale ceppo potrebbe portare a un risultato errato quando si utilizza la striscia reattiva NeuMoDx CT/NG Test Strip.
- Il NeuMoDx CT/NG Test include target genomici e un target plasmidico (plasmide criptico) per CT per assicurare una rilevazione accurata di tutti i ceppi. Tuttavia, potrebbe verificarsi un risultato errato se i ceppi/gli isolati CT non presentano un plasmide criptico così come il gene della proteina porina nel genoma.
- Eventuali mutazioni nelle regioni di legame primer/sonda possono influenzare la rilevazione quando si utilizza il NeuMoDx CT/NG Assay.
- I risultati del test NeuMoDx CT/NG Test dovrebbero essere utilizzati in aggiunta alle osservazioni cliniche e ad altre informazioni a disposizione del medico. Il test non ha lo scopo di differenziare i portatori di DNA di CT e/o NG da quelli con malattia da clamidia e/o gonococco.
- I risultati dei test possono essere influenzati da una terapia antibiotica concomitante, in quanto il DNA di CT e NG potrebbe essere ancora rilevato dopo la 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 disponibili possono essere visualizzati o stampati dalla scheda "Results" (Risultati) nella finestra Results (Risultati) sul touchscreen del NeuMoDx System. I risultati del NeuMoDx CT/NG Assay vengono generati automaticamente dal software del NeuMoDx System utilizzando l'algoritmo decisionale e i parametri di elaborazione dei risultati sono specificati nel file di definizione del test (Assay Definition File, ADF) del NeuMoDx CT/NG Assay. Il risultato di un test può essere refertato come Positive (Positivo), Negative (Negativo), Indeterminate (Indeterminato) (IND), No Result (Nessun risultato) o Unresolved (Irrisolto, UNR) in base allo stato di amplificazione del target e al controllo di elaborazione dei campioni (SPC1).

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

**Tabella 1. Riepilogo dell'algoritmo decisionale del NeuMoDx CT/NG Test**

RISULTATO	TARGET CT e/o NG	CONTROLLO DI PROCESSO (Sample Process Control 1, SPC1)
<b>Positive (Positivo)</b>	Amplified (Amplificato)	N/A
<b>Negative (Negativo)</b>	Not Amplified (Non amplificato)	Amplified (Amplificato)
<b>Indeterminate† (Indeterminato)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Non amplificato, Rilevato errore di sistema, Elaborazione del campione completata)	
<b>No Result*† (Nessun risultato)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Non amplificato, Rilevato errore di sistema, Elaborazione del campione interrotta)	
<b>Unresolved† (Irrisolto)</b>	Not Amplified, No System Error Detected (Non amplificato, Nessun errore di sistema rilevato)	

\*Il flag No Result (Nessun risultato) è riportato solo su NeuMoDx System versione software 1.8 e successive

†Il NeuMoDx System è dotato di una funzione automatica Rerun/Repeat (Riesegui/Ripeti), che può essere selezionata dall'utente finale per garantire la rielaborazione automatica del risultato IND/UNR/NR e ridurre così al minimo i ritardi nell'ottenimento dei risultati.

#### Risultati non validi

Se un NeuMoDx CT/NG Assay eseguito sul NeuMoDx System non è in grado di produrre un risultato valido, sarà riportato un risultato Indeterminate (Indeterminato) (IND), No Result (Nessun risultato) (NR) o Unresolved (Irrisolto) (UNR) in base al tipo di errore che si è verificato.



Un risultato Indeterminate (Indeterminato) verrà segnalato se viene rilevato un errore del NeuMoDx System durante l'elaborazione del campione. Se viene riportato un risultato IND, si consiglia di ripetere il test.

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.

Se un NeuMoDx CT/NG Assay eseguito sul NeuMoDx System non riesce produrre un risultato a valido e l'elaborazione del campione viene interrotta prima del completamento, il risultato sarà riportato come No Result (Nessun Risultato, NR).

NOTA: quando si riceve un risultato non valido (IND/UNR/NR), l'utente può eseguire un passaggio opzionale per riscaldare il campione per 5–10 minuti a 85 °C *prima* di ripetere l'esame.

### 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.

1. I materiali di controllo esterni (definiti dall'utente) non saranno forniti da NeuMoDx Molecular, Inc. Controlli appropriati devono essere scelti e approvati dal laboratorio. Il NeuMoDx Software (versione 1.8 e versioni successive) permette di assegnare allo stesso set di controlli più tipi di campione. In alternativa, è possibile definire un set di controlli distinto per ogni tipo di campione. I controlli esterni devono rispettare le stesse specifiche di volume minimo dei campioni clinici specificate in precedenza sulla base delle dimensioni del portaprovette/portacampioni. L'utente può definire i codici a barre specifici per controllo positivo e negativo e per matrice.
2. Raccomandazione: 10 µL di AcroMetrix™ CT/NG Positive Control (Thermo Fisher Scientific REF 967146) diluiti in 1 mL di urina CT/NG negativa o in un controllo chimico dell'urina disponibile in commercio, come il controllo delle matrici di urina, in 1 mL di UTM-RT come il controllo delle matrici di campione, oppure in 1 mL di PreservCyt come controllo delle matrici di citologia, utilizzando il portaprovette per campioni da 32 provette. 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. NeuMoDx System riconosce i codici a barre e avvia l'elaborazione dei controlli, a meno che non siano caricati reagenti o materiali di consumo adeguati necessari per i test.
3. In ciascuna striscia reattiva NeuMoDx CT/NG 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.
4. Un risultato del test positivo riportato per un campione di controllo negativo indica 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*.
5. 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 nei campioni di urina

Le caratteristiche delle prestazioni cliniche del NeuMoDx CT/NG Assay sono state determinate mediante uno studio di confronto con metodo retrospettivo interno utilizzando campioni di urina residui provenienti da tre (3) sedi di laboratori geograficamente diversificate.

I campioni di urina residui 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. È stato testato un totale di 388 campioni preselezionati, forniti da tre laboratori clinici. Dei 388 campioni, 90 sono stati identificati dai laboratori clinici come CT positivi e 53 come NG positivi. Alcuni campioni sono risultati positivi sia per CT che per NG, indicando un'infezione doppia o concomitante. 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 con marchio CE utilizzati dai laboratori per test standard di cura.

I risultati del NeuMoDx CT/NG test hanno fornito una sensibilità clinica del 96,7% per il target CT e del 98,1% per il target NG, entrambi riportati all'IC del 95%. La specificità clinica dello studio è stata determinata al 99,7% sia per CT che per NG, utilizzando sempre l'IC del 95%. I limiti inferiore e superiore dell'intervallo di confidenza (IC) al 95% presentati nelle *Table 2A* e *2B* di seguito sono stati calcolati utilizzando la procedura di Wilson con correzione di continuità.

**Tabella 2A.**

Riepilogo delle prestazioni cliniche in urina – NeuMoDx 288  
Rilevazione di *C. trachomatis* con la striscia reattiva  
NeuMoDx CT/NG Test Strip

CT (campioni di urina)		FDA / CE		
		Risultato test di riferimento		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx CT/NG Test	POS	87	1	88
	NEG	3	297	300
	<b>Totale</b>	<b>90</b>	<b>298</b>	<b>388</b>
<b>Sensibilità clinica (CT) = 96,7% (89,9–99,1)</b>				
<b>Specificità clinica (CT) = 99,7% (97,8–99,9)</b>				

**Tabella 2B.**

Riepilogo delle prestazioni cliniche in urina – NeuMoDx 288  
Rilevazione di *N. gonorrhoeae* con la striscia reattiva  
NeuMoDx CT/NG Test Strip

NG (campioni di urina)		FDA / CE		
		Risultato test di riferimento		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx CT/NG Test	POS	51	1	52
	NEG	1	335	336
	<b>Totale</b>	<b>52</b>	<b>336</b>	<b>388</b>
<b>Sensibilità clinica (NG) = 98,1% (88,4–99,9)</b>				
<b>Specificità clinica (NG) = 99,7% (98,1–99,9)</b>				

Sono stati eseguiti ulteriori test sul NeuMoDx 96 Molecular System utilizzando un numero ridotto di campioni clinici residui di urina. Come con i test eseguiti in precedenza sul NeuMoDx 288, i risultati ottenuti dal NeuMoDx 96 sono stati confrontati con i risultati ottenuti dagli esami approvati da FDA e con marchio CE utilizzati dai laboratori di provenienza per i test dello standard di trattamento. I 208 risultati validi sono riepilogati nella sottostante *Tabella 2C* con un intervallo di confidenza (IC) al 95%.

**Tabella 2C. Riepilogo delle prestazioni cliniche in urina – NeuMoDx 96**  
Rilevazione di *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae* con la striscia reattiva NeuMoDx CT/NG Test Strip

Riepilogo delle prestazioni	
(NeuMoDx CT/NG Assay sul NeuMoDx 96 Molecular System confrontato con il risultato del test di riferimento FDA/CE)	
CT	NG
Sensibilità: 92,8% (83,2–97,3)	Sensibilità: 92,8% (83,2–97,3)
Specificità: 99,3% (95,4–99,9)	Specificità: 99,3% (95,4–99,9)

In base alla popolazione, alle prestazioni del NeuMoDx CT/NG Assay sul NeuMoDx 288 Molecular System e al numero ridotto di campioni clinici testati sul NeuMoDx 96, la sensibilità clinica prevista è un valore che rientra nell'IC bilaterale al 95% di (86,9%–100%) per CT e di (90,6%–100%) per NG. La specificità clinica prevista per entrambi i target è un valore che rientra nell'intervallo di confidenza bilaterale al 95% di (98,6% – 100%). Le prestazioni cliniche del NeuMoDx CT/NG Assay, come dimostrato dagli ulteriori test eseguiti sul NeuMoDx 96 Molecular System, rientrano nei valori previsti come da tabella riepilogativa precedente.

#### Prestazioni cliniche nei campioni di tampone

Le prestazioni cliniche del NeuMoDx CT/NG Assay nell'analisi di campioni di tampone raccolti in UVT sono state verificate in uno studio di verifica interno utilizzando una combinazione di campioni clinici raccolti in modo prospettico e campioni clinici residui di due (2) laboratori in ubicazioni geografiche differenti. In aggiunta a altri campioni clinici sono stati utilizzati campioni artificiali positivi, dato il tasso di prevalenza relativamente basso dei target di CT e NG nei campioni di tampone.

I campioni di tampone prospettici e residui sono stati deidentificati e hanno ricevuto un numero ID univoco dai laboratori clinici esterni, dai quali sono stati acquisiti, stabilendo un legame riservato (e mascherato per NeuMoDx) tra ID del paziente e campioni deidentificati testati per scopi di studio. È stato testato un totale di 110 tamponi vaginali e di 121 campioni tamponi endocervicali forniti da due laboratori clinici. Dei campioni di tampone, 38 sono stati identificati come CT positivi e 9 come NG positivi. Ulteriori 48 tamponi vaginali e 48 endocervicali preselezionati risultati *negativi* per CT e NG sono stati arricchiti per creare i campioni artificiali (data la bassa prevalenza di CT e NG) ottenendo complessivamente ulteriori 96 campioni positivi. Tra questi campioni positivi, alcuni erano positivi per target solo CT, solo NG o entrambi CT e NG. Per eseguire l'analisi comparativa sono stati utilizzati i risultati riportati dagli specifici dispositivi molecolari commercializzati legalmente approvati da FDA e con marchio CE utilizzati dai laboratori di origine, oppure i risultati *previsti* per i campioni artificiali.

I risultati dello studio comparativo tra i metodi ha fornito stime di sensibilità clinica (100%) e specificità clinica (99,6%) per il target CT, nonché stime di sensibilità clinica (100%) e specificità clinica (98,7%) per il target NG. Inoltre, la sensibilità clinica e la specificità clinica sono risultate molto simili tra i due tipi di tamponi. Per la matrice dei tamponi endocervicali, i risultati del test hanno fornito stime di sensibilità clinica (100%) e specificità clinica (99,2%) per il target CT e di sensibilità clinica (100%) e specificità clinica (99,1%) per il target NG. Per la matrice dei tamponi vaginali, i risultati del test hanno fornito stime di sensibilità clinica (100%) e specificità clinica (100%) per il target CT e di sensibilità clinica (100%) e specificità clinica (98,1%) per il target NG. I limiti inferiore e superiore dell'intervallo di confidenza (IC) al 95% presentati nelle *Table 3A* e *3B* di seguito sono stati calcolati utilizzando la procedura di Wilson con correzione di continuità.



**Tabella 3A.** Riepilogo delle prestazioni cliniche in tampone (endocervicale e vaginale) – NeuMoDx 288 & 96 Molecular System, Rilevazione di *C. trachomatis* con la striscia reattiva NeuMoDx CT/NG Test Strip

CT (campioni di tampone)		FDA/CE Risultato test di riferimento		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx CT/NG Test	POS	62	1	63
	NEG	0	263	263
	Totale	62	264	326
<b>Sensibilità clinica (CT) = 100% (92,7–100)</b>				
<b>Specificità clinica (CT) = 99,6% (97,6–100)</b>				

**Tabella 3B.** Riepilogo delle prestazioni cliniche in tampone (endocervicale e vaginale) – NeuMoDx 288 & 96 Molecular System, Rilevazione di *N. gonorrhoeae* con la striscia reattiva NeuMoDx CT/NG Test Strip

NG (campioni di tampone)		FDA/CE Risultato test di riferimento		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx CT/NG Test	POS	103	3	106
	NEG	0	220	220
	Totale	103	223	326
<b>Sensibilità clinica (NG) = 100% (95,5–100)</b>				
<b>Specificità clinica (NG) = 98,7% (95,8–99,7)</b>				

#### Prestazioni cliniche in campioni citologici

Le caratteristiche delle prestazioni cliniche del NeuMoDx CT/NG Assay sono state determinate utilizzando uno studio comparativo con metodo retrospettivo interno utilizzando campioni citologici in liquido PreservCyt provenienti da un unico laboratorio clinico.

I campioni citologici residui 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. È stato testato un totale di 83 campioni preselezionati forniti dal laboratorio clinico. Ulteriori trenta campioni NG positivi sono stati prodotti artificialmente da campioni negativi residui, per un totale di 113 campioni analizzati. Dei 113 campioni valutati, 30 sono stati identificati dal laboratorio clinico come CT positivi e 33 come NG positivi (30 di questi sono stati prodotti artificialmente). Nessun campione ha dato risultati positivi sia per CT sia per NG. 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 con marchio CE utilizzati dai laboratori per test standard di cura.

I risultati del NeuMoDx CT/NG Test hanno fornito una sensibilità clinica del 100% per il target CT e del 97,0% per il target NG, entrambi riportati all'IC del 95%. La specificità clinica dello studio è stata determinata al 100% sia per CT che per NG, utilizzando sempre l'IC del 95%. I limiti inferiore e superiore dell'IC al 95% presentati nelle *Tabelle 4A e 4B* di seguito sono stati calcolati utilizzando la procedura di Wilson senza correzione di continuità.

**Tabella 4A.** Riepilogo delle prestazioni cliniche per campioni citologici – NeuMoDx 288 e 96 Molecular System Rilevazione di *C. trachomatis* con la striscia reattiva NeuMoDx CT/NG Test Strip

CT (campioni citologici)		FDA / CE Risultato test di riferimento		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx CT/NG Test	POS	30	0	30
	NEG	0	53	53
	Totale	30	53	83
<b>Sensibilità clinica (CT) = 100% (88,7–100)</b>				
<b>Specificità clinica (CT) = 100% (93,2–100)</b>				

**Tabella 4B.** Riepilogo delle prestazioni cliniche per campioni citologici – NeuMoDx 288 e 96 Molecular System  
Rilevazione di *N. gonorrhoeae* con la striscia reattiva NeuMoDx CT/NG Test Strip

NG (campioni citologici)		FDA / CE		
		Risultato test di riferimento		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx CT/NG Test	POS	32	0	32
	NEG	1	80	81
	Totale	33	80	113
<b>Sensibilità clinica (NG) = 97,0% (84,7–99,5)</b>				
<b>Specificità clinica (NG) = 100% (95,4–100)</b>				

#### Sensibilità analitica – Campioni di urina

Il limite di rilevazione del NeuMoDx CT/NG Assay è stato determinato con urina negativa clinica, arricchita con controllo Acrometrix CT (sierotipo D) o controllo AcroMetrix NG ai livelli indicati nelle tabelle seguenti. I test sono stati condotti con 10 replicati per ciascun livello nel corso di tre giorni su due NeuMoDx 288 Molecular System utilizzando 3 lotti di reagenti (20 replicati/lotto e 60 totali). I tassi di rilevamento sono illustrati nelle *Tabella 5A* e *5B*. Il limite di rilevazione di CT è stato determinato in 4,5 EB/mL e il limite di rilevazione (Limit of Detection, LoD) di NG era 0,22 cellule/mL in base a un'analisi con modello Probit. Sono stati eseguiti ulteriori test con un numero ridotto di campioni sul NeuMoDx 96 Molecular System, dove l'analisi con modello Probit ha determinato che il LoD era pari a 7 EB/mL per CT e 0,3 cellule/mL per NG.

Il limite di rilevazione del NeuMoDx CT/NG Assay è pari a 6 EB/mL per CT e 5 cellule/mL per NG in base ai risultati dello studio di interferenza mostrato più avanti.

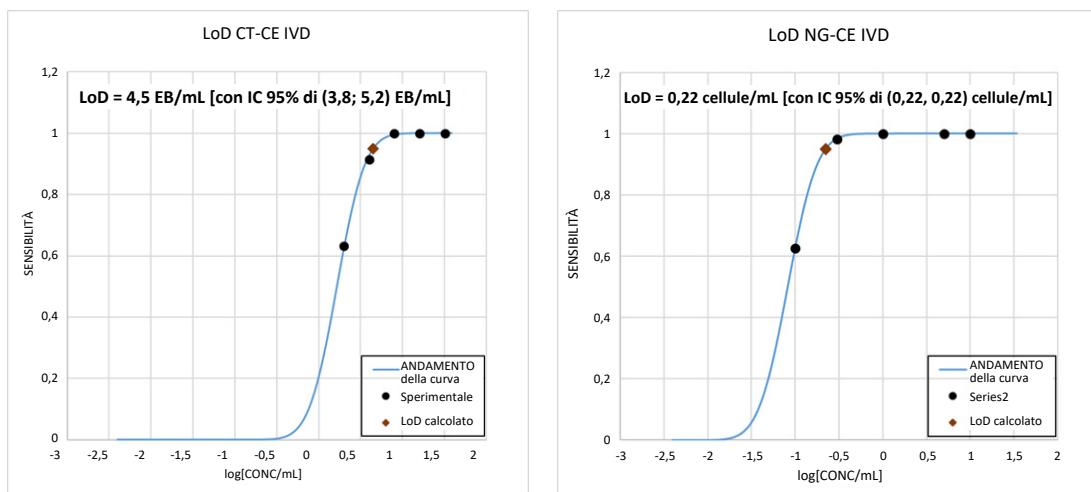
**Tabella 5A.** Tassi di rilevazione positivi per CT in urina utilizzati nello studio LoD per la striscia reattiva NeuMoDx CT/NG Test Strip

CT (EB/mL)	n	N. positivo	% positivo	LoD (Probit)
32	60	60	100%	4,5 EB/mL
16	60	60	100%	
8	60	60	100%	
4	59	54	91,5%	
2	60	38	63,3%	
0	60	0	0%	

**Tabella 5B.** Tassi di rilevazione positivi per NG in urina utilizzati nello studio LoD per la striscia reattiva NeuMoDx CT/NG Test Strip

NG (cellule/mL)	n	N. positivo	% positivo	LoD (Probit)
10	58	58	100%	0,22 cellule/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%	

L'analisi con metodo Probit dei dati nelle tabelle precedenti è stata utilizzata per determinare il LoD del CT target come 4,5 EB/mL, e il LoD dell'NG target come 0,22 cellule/mL [Figura 1].



**Figura 1.** Analisi con modello Probit per determinare il LoD del NeuMoDx CT/NG Assay utilizzando le strisce reattive NeuMoDx CT/NG Test Strip.

### Sensibilità analitica – Campioni di tampone

Il limite di rilevazione del NeuMoDx CT/NG Assay è stato determinato con tamponi clinici endocervicali e vaginali negativi arricchiti con controllo Acrometrix CT (sierotipo D) o controllo AcroMetrix NG ai livelli indicati nelle tabelle seguenti. I risultati sono stati analizzati utilizzando il metodo con hit-rate e il livello al quale è stato rilevato il 95% o più sono stati accettati anche come limite di rilevazione nel tampone. I tassi di rilevamento sono illustrati nelle *Tabella 6A* e *6B*. Il limite di rilevazione di CT è stato determinato in 20 EB/mL e il limite di rilevazione di NG in 5 cellule/mL in base a un tasso di rilevazione  $\geq 95\%$ . I test sono stati eseguiti su entrambi i NeuMoDx 288 e 96 System.

**Tabella 6A.** Tasso di rilevazione positivo per CT in tampone utilizzando nello studio LoD per il NeuMoDx CT/NG Assay

CT (EB/mL)	n	N. positivo	% positivo	LoD (hit-rate)
Tampone vaginale				20 EB/mL
30	48	48	100%	
20	48	48	100%	
0	0	48	0%	
Tampone endocervicale				
30	48	48	100%	
20	48	48	100%	
0	0	48	0%	

**Tabella 6B.** Tasso di rilevazione positivo per NG in tampone utilizzato nello studio LoD Study per il NeuMoDx CT/NG Assay

NG (cellule/mL)	n	N. positivo	% positivo	LoD (hit-rate)
Tampone vaginale				5 cellule/mL
9	48	48	100%	
5	48	47	98%	
0	0	48	0%	
Tampone endocervicale				
9	48	48	100%	
5	48	48	100%	
0	0	48	0%	

### Sensibilità analitica – Campioni citologici

Il limite di rilevazione del NeuMoDx CT/NG Assay è stato determinato con PreservCyt negativo clinico, arricchito con controllo Acrometrix CT (sierotipo D) o controllo AcroMetrix NG ai livelli indicati nelle tabelle seguenti. I risultati sono stati analizzati utilizzando il metodo hit-rate e il livello al quale è stato rilevato il 95% o più è stato accettato come limite di rilevazione. I tassi di rilevamento sono illustrati nelle *Tabella 7A* e *7B*. Il limite di rilevazione di CT è stato determinato in 15 EB/mL e il limite di rilevazione di NG in 5 cellule/mL in base a un tasso di rilevazione  $\geq 95\%$ . I test sono stati eseguiti su entrambi i NeuMoDx 288 e 96 System.

**Tabella 7A.** Tasso di rilevazione positivo per CT in campioni citologici utilizzati nello studio LoD Study per il NeuMoDx CT/NG Assay

CT (EB/mL)	n	N. positivo	% positivo	LoD (hit-rate)
15	40	40	100%	15 EB/mL
0	40	0	0%	

**Tabella 7B.** Tasso di rilevazione positivo per NG in campioni citologici utilizzati nello studio LoD per il NeuMoDx CT/NG Assay

NG (cellule/mL)	n	N. positivo	% positivo	LoD (hit-rate)
5	40	40	100%	5 cellule/mL
0	40	0	0%	

### Rilevazione delle varianti

La sensibilità analitica del NeuMoDx CT/NG Assay è stata ulteriormente confermata con 14 diversi sierotipi CT e 11 isolati clinici NG. Il test è stato eseguito utilizzando i ceppi di CT e gli isolati NG elencati di seguito nella *Tabella 8*. Il target CT o NG al livello LoD ~1X o ~2X LoD è stato arricchito nei campioni di urina negativa prima di eseguire i test. Almeno il 95% della rilevazione è stato ottenuto a livelli vicini al LoD e il 100% della rilevazione è stato osservato per entrambe le varianti di CT e NG a livelli vicini a un LoD 2X, non indicando differenze significative nella rilevazione di sierotipi CT rilevanti e un gruppo rappresentativo di isolati NG.

**Tabella 8. Sierotipi CT/NG testati**

Sierotipo CT	Tasso di rilevazione (%)		NG Clinical Isolate [ATCC n.]	Tasso di rilevazione (%)	
	6 EB/mL	12 EB/mL		0,25 cellule/mL	0,5 cellule/mL
A	N/A	100	49981	100	100
B		100	31426	100	100
Ba		100	31407	100	100
C		100	27633	N/A	100
LGV I		100	9793		100
LGV II		100	43070		100
LGV III		100	51109		100
E		100	35542		100
F		95	35541		100
G		95	49498		100
H	100	100	49926		100
I	95	100			
J	100	100			
K	100	100			

### Specificità analitica

Un totale di 113 isolati di coltura o DNA di organismi potenzialmente coabitanti o filogeneticamente simili a CT o NG è stato valutato per una possibile reattività crociata durante il test con la striscia reattiva NeuMoDx CT/NG Test Strip. Gli organismi sono stati preparati in pool di 5-6 organismi ciascuno e analizzati ad alta concentrazione. La maggior parte degli organismi è stata addizionata a urina CT/NG negativa a circa  $1 \times 10^6$  CFU/mL, con l'eccezione di alcuni organismi provenienti da fonti commerciali in cui un elevato numero di copie di DNA (10 ng/mL) è stato addizionato a urina CT/NG negativa. Non è stata osservata alcuna reattività crociata con nessuno degli agenti patogeni testati in questo studio. L'elenco degli organismi testati è illustrato nella *Tabella 9* alla pagina seguente.

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

Batteri	Batteri	Batteri
<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 lwoffii</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>Dermia 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>	<b>Virus</b>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria sicca</i>	Citomegalovirus
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Neisseria subflava</i>	Virus dell'herpes simplex I
<i>Erwinia herbicola</i>	<i>Neisseria perflava</i>	Virus dell'herpes simplex II
<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria polysaccharea</i>	Papillomavirus umano 16

#### Sostanze interferenti - Organismi commensali

La striscia reattiva NeuMoDx CT/NG Test Strip è stata testata per interferenza in presenza di organismi non target (coabitanti nel tratto urogenitale), valutando le prestazioni del NeuMoDx CT/NG Assay a bassi livelli di CT e NG sul NeuMoDx 288 Molecular System. Per questo studio è stato utilizzato lo stesso gruppo di 113 organismi [Tabella 9] utilizzato per la valutazione della reattività crociata. Gli organismi sono stati raggruppati in gruppi di 5-6 in campioni di urina CT/NG negativi e arricchiti con 18 EB/mL di corpi elementari purificati di CT e 0,75 cellule/mL di controllo cellulare NG. Non sono state osservate interferenze con nessuno degli organismi commensali, ad eccezione della rilevazione di NG target a bassi livelli (3X LoD) che sono stati influenzati negativamente in presenza di alti livelli di CT target (>1,0 x 10<sup>6</sup> EB/mL). In questo caso, un CT elevato influenzava la rilevazione di NG a concentrazioni inferiori a 20X LoD (~5 cellule/mL) e, di conseguenza, il limite di rilevazione in presenza di un elevato background di target CT sarebbe 5 cellule/mL.

### Sostanze interferenti - Sostanze endogene ed esogene rilevate nei campioni di urina clinica CT/NG

Le seguenti sostanze potenzialmente interferenti sono state addizionate ai campioni di urina singolarmente [Tabella 10]: sangue (7%), analiti delle urine, proteina, glucosio, urobilinogeno, pH 4 (acido), pH 9 (alcalino), leucociti ( $1,0 \times 10^6$  cellule/mL). Tutti gli agenti sono stati testati per potenziali interferenze in assenza e presenza di CT e NG (a 3X e 10X LoD). Non sono state osservate interferenze con nessuna delle sostanze testate.

**Tabella 10.** Agenti interferenti esogeni ed endogeni testati in campioni di urina

	Sostanza interferente
Endogena	Bilirubina, ~10 mg/dl
	Glucosio, 1000 mg/dl
	pH 4
	pH 9
	Proteina (albumina), 50 mg/mL
	Sangue, 7%
	Leucociti (PBMC), 1E6 cellule/mL
Esogena	*Talco in polvere, 0,1%

*\* Inizialmente 2 dei 3 campioni di NG testati a 3x LoD non si sono amplificati in presenza di talco in polvere ma si sono comportati come previsto al momento del nuovo test.*

### Sostanze interferenti - Sostanze endogene ed esogene rilevate nei campioni clinici di tampone CT/NG

Le seguenti frazioni potenzialmente interferenti sono state addizionate singolarmente in campioni di tampone endocervicale e vaginale [Tabella 11]: sangue (10%), mucina, PBMC ( $1,0 \times 10^5$  cellule/mL), progesterone, Monistat® 1, idratante Vagisil®, lubrificante intimo K-Y™ Jelly, lavanda vaginale Yeast-Gard Advanced™ e liquido seminale. Tutti gli agenti sono stati testati per potenziale interferenza in presenza di CT e NG (a 3X e 10X LOD). Non è stata osservata nessuna interferenza con nessuna delle sostanze ai livelli elencati di seguito.

**Tabella 11.** Agenti interferenti esogeni ed endogeni testati in campioni di tampone

	Sostanza interferente
Endogena	Sangue, 10%
	*Mucina, ~13,5 mg/mL
	PBMC, 1E5 cellule/mL
Esogena	Progesterone, ~7 mg/mL
	Monistat 1, ~22 mg/mL
	Iidratante Vagisil, ~7 mg/mL
	Lubrificante intimo K-Y Jelly, ~43 mg/mL
	Lavanda vaginale Yeast-Gard Advanced, ~32
	Liquido seminale, ~13,5 mg/mL

*\*Mucina dosata da stock allo 0,8%*

### Sostanze interferenti - Sostanze endogene ed esogene rilevate nei campioni citologici clinici CT/NG

Le seguenti frazioni potenzialmente interferenti sono state addizionate singolarmente nei campioni clinici di PreservCyt [Tabella 12]: sangue (10%), mucina, PBMC ( $1,0 \times 10^5$  cellule/mL), lavanda vaginale Yeast-Gard Advanced, liquido seminale, progesterone, crema contro il prurito Vagisil, crema vaginale a base di clotrimazolo, crema Preparation H®, Monistat 1, crema anti herpes Abreva®, idratante Vagisil, lubrificante intimo K-Y Jelly, schiuma contraccettiva Delfen e crema vaginale a base di metronidazolo. Tutti gli agenti sono stati testati per potenziali interferenze in presenza di CT e NG a 10X LoD. Non è stata osservata nessuna interferenza con nessuna delle sostanze ai livelli elencati di seguito.



**Tabella 12.** Agenti interferenti esogeni ed endogeni testati in campioni citologici

	Sostanza interferente
Endogena	Sangue, 10% v/v
	Mucina, 0,25% m/v
	PBMC, 1E5 cellule/mL
Esogena	Lavanda vaginale Yeast Gard, 5% v/v
	Liquido seminale, 5% v/v
	Progesterone, 5,6 mg/mL
	Crema contro il prurito Vagisil, 4,2 mg/mL
	Crema vaginale a base di clotrimazolo, 5,6 mg/mL
	Preparation H, 10,9 mg/mL
	Monistat 1, 5,6 mg/mL
	Crema anti herpes Abreva, 7 mg/mL
	Idratante Vagisil, 5,6 mg/mL
	Lubrificante intimo K-Y Jelly, 11,8 mg/mL
	Schiuma contraccettiva Delfen, 5,6 mg/mL
	Crema vaginale a base di metronidazolo, 18 mg/mL

**Precisione intra-laboratorio**

La precisione intra-laboratorio del NeuMoDx CT/NG Assay è stata verificata seguendo un piano di test controllato per 12 giorni non consecutivi utilizzando tre diversi strumenti e più operatori. Ogni strumento (NeuMoDx 288 Molecular System) ha analizzato due serie di campioni al giorno, alternando gli operatori e due diversi lotti di reagenti che sono stati condivisi tra gli strumenti. Una serie di campioni è stata definita come tre replicati testati per ciascuno dei cinque diversi livelli (True Negative (Vero negativo), Low Negative (Debolmente negativo), Moderate Negative (Moderatamente negativo), Low Positive (Debolmente positivo) e Moderate Positive (Moderatamente positivo)) per un totale di 15 campioni per serie per sistema. I campioni sono stati preparati utilizzando campioni di urina di donatori sani raccolti in pool e sottoposti a screening. In questo studio sono state analizzate in totale 72 serie di campioni (1080 test). I risultati sono presentati nelle *Tablelle 13 - 15*.

**Tabella 13.** Riepilogo della precisione intra-laboratorio

Campione	Livelli analizzati		Replicati/ serie	Campioni/ giorno (su 3X sistemi)	Campioni/ 12 giorni in totale
	<i>Chlamydia trachomatis</i> EB/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> cells/mL			
<b>Moderate Positive (MP)</b> (Moderatamente positivo) <i>8X LoD</i>	48	2,0	3	18	216
<b>Low Positive (LP)</b> (Debolmente positivo) <i>2,5X LoD</i>	15	0,625	3	18	216
<b>Moderate Negative (MN)</b> (Moderatamente negativo) <i>Diluizione 1:10 di 1X LoD</i>	0,6	0,025	3	18	216
<b>Low Negative (LN)</b> (Debolmente negativo) <i>Diluizione 1:100 di 1X LoD</i>	0,06	0,0025	3	18	216
<b>True/Blank Negative (TN)</b> (Vero negativo (vuoto)) <i>0 Target</i>	0	0	3	18	216
<b>Campioni totali testati</b>				<b>90</b>	<b>1080</b>

**Tabella 14A. CT Target: risultati qualitativi dello studio di precisione intra-laboratorio (in tutti gli strumenti)**

Campione	Strumento 1	Strumento 2	Strumento 3	Complessivo
	Percentuale positivo	Percentuale positivo	Percentuale positivo	Percentuale positivo
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)

**Tabella 14B. NG Target: risultati qualitativi dello studio di precisione intra-laboratorio (in tutti gli strumenti)**

Campione	Strumento 1	Strumento 2	Strumento 3	Complessivo
	Percentuale positivo	Percentuale positivo	Percentuale positivo	Percentuale positivo
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)

**Tabella 15A. CT Target: Analisi dei parametri quantitativi dalla precisione intra-laboratorio (in tutti gli strumenti)**

Campione	Strumento 1			Strumento 2			Strumento 3			Complessivo		
	Valore medio Ct	Dev Std	% CV*	Valore medio Ct	Dev Std	% CV	Valore medio Ct	Dev Std	% CV	Valore medio Ct	Dev Std	% 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	N/A											
LN												
TN												

**Tabella 15B. NG Target: Analisi dei parametri quantitativi dalla precisione intra-laboratorio (in tutti gli strumenti)**

Campione	Strumento 1			Strumento 2			Strumento 3			Complessivo		
	Valore medio Ct	Dev Std	% CV*	Valore medio Ct	Dev Std	% CV	Valore medio Ct	Dev Std	% CV	Valore medio Ct	Dev Std	% 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	N/A											
LN												
TN												

### Carryover e contaminazione crociata

Sono stati effettuati studi di carryover e contaminazione crociata sul NeuMoDx 288 Molecular System usando la striscia reattiva NeuMoDx CT/NG Test Strip per entrambe le matrici di urina e citologica. Entrambi gli studi sono stati eseguiti in due parti valutando dapprima l'impatto sui campioni negativi per CT e NG, intervallati da campioni con elevato contenuto di CT e NG target. I campioni positivi e negativi sono stati caricati su NeuMoDx System in modo tale che ogni campione negativo fosse adiacente a un campione altamente positivo. Nella seconda parte di questo studio sono stati trattati tutti i campioni negativi immediatamente dopo un'analisi che aveva trattato solo campioni a elevata concentrazione di CT e NG. Nessuna contaminazione è stata osservata in campioni negativi integrati con campioni con elevati livelli, o in campioni negativi che seguivano campioni con elevate concentrazioni di CT e NG, dimostrando assenza di carryover e/o contaminazione crociata. Sono stati eseguiti ulteriori test sul NeuMoDx 96 Molecular System e sono stati confermati i risultati, in quanto non sono emersi carryover né contaminazione crociata.

### Equivalenza tra campioni freschi e congelati

È stato eseguito un test per dimostrare l'equivalenza della matrice dei campioni tra campioni freschi e congelati di urina non trattata e dei tamponi vaginali ed endocervicali. I campioni di urina clinici e i tamponi vaginali ed endocervicali prospettici sono stati procurati e sottoposti a screening per la rilevazione di CT e NG. I campioni negativi sono stati arricchiti con corpi elementari di CT e cellule di NG a 2X LoD (urina) e 3X LoD (tampone) del NeuMoDx CT/NG Assay. Ciascun campione è stato poi suddiviso in due aliquote uguali, della quali una è stata analizzata immediatamente e la seconda dopo un singolo ciclo di congelamento/scongelo a -20 °. È stata confrontata l'equivalenza mediante analisi di regressione tra i campioni di urina e tampone freschi e quelli congelati. I dati hanno dimostrato un'equivalenza eccellente fra i campioni di urina e tampone freschi e quelli congelati.

### Efficacia del controllo

L'efficacia del controllo di elaborazione dei campioni inclusi nella striscia reattiva NeuMoDx CT/NG Test Strip per segnalare eventuali errori nelle fasi del processo o inibizione che influenzasse le prestazioni del NeuMoDx CT/NG Test è stata valutata sul NeuMoDx 288 Molecular System. 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 16*). 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 (vicino al LoD), per confermare che l'errore di elaborazione NON ha avuto effetti negativi anche sul rilevamento del target CT o NG. La *Tabella 16* riassume i risultati del test di verifica dell'efficacia del controllo.

**Tabella 16. 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)

### Stabilità on-board dei campioni di urina

I campioni di urina negativi per CT e NG sono stati arricchiti con 2 livelli di target CT e NG e trattati insieme a un numero uguale di campioni negativi utilizzando il NeuMoDx CT/NG Assay. Al termine dell'elaborazione, tutte le provette di campioni positivi e negativi sono state lasciate sul piano di lavoro del sistema per un totale di 24 ore. Sono stati eseguiti ulteriori test sulle provette dei campioni lasciate a bordo del piano di lavoro del sistema a 4 ore, 8 ore e 24 ore dopo il punto tempo del test iniziale. Il risultato atteso in tutti i punti tempo è stato POSITIVE (POSITIVO) (per il target appropriato) per tutti i campioni di urina arricchiti con target CT o NG e NEGATIVE (NEGATIVO) (per entrambi i target) nei campioni di urina che non sono stati arricchiti con il target. È stata osservata una concordanza totale con il risultato atteso in tutti i punti tempo, compreso il punto tempo di 24 ore che indica che è stata dimostrata una stabilità on-board di 24 ore per i test con il NeuMoDx CT/NG Assay. I risultati sono riassunti nella *Tabella 17* di seguito.

**Tabella 17.** Riepilogo dei dati relativi alla stabilità on-board del campione urina

Stabilità dei campioni on-board, urina		T <sub>0</sub>	4 ore	8 ore	24 ore
		% concordanza	% concordanza	% concordanza	% concordanza
<b>Positivo per NG ATCC-31426</b>	10 cellule/mL	100%	100%	100%	100%
	20 cellule/mL	100%	100%	100%	100%
<b>Positivo per CT ATCC_VR-879</b>	10 EB/mL	100%	100%	100%	100%
	20 EB/mL	100%	100%	100%	100%
<b>Negative (Negativo)</b>		100%	100%	100%	100%

#### Stabilità on board dei campioni di tampone

I campioni endocervicali e vaginali negativi per CT e NG sono stati arricchiti con 2 livelli di target CT e NG e trattati con un numero uguale di campioni negativi utilizzando il NeuMoDx CT/NG Assay. Al termine dell'elaborazione, tutte le provette di campioni positivi e negativi sono state lasciate sul piano di lavoro del sistema per un totale di 24 ore. Sono stati eseguiti ulteriori test sulle provette dei campioni lasciate a bordo del piano di lavoro del sistema a 4 ore, 8 ore e 24 ore dopo il punto tempo del test iniziale. Il risultato atteso in tutti i punti tempo è stato POSITIVE (POSITIVO) (per il target appropriato) per tutti i campioni di tampone arricchiti con target CT o NG e NEGATIVE (NEGATIVO) (per entrambi i target) nei campioni di tampone che non sono stati arricchiti con il target. È stata osservata una concordanza totale con il risultato atteso in tutti i punti tempo, compreso il punto tempo di 24 ore che indica che è stata dimostrata una stabilità on-board di 24 ore per i test con il NeuMoDx CT/NG Assay. I risultati sono riassunti nelle *Tabelle 18A e 18B* di seguito.

**Tabella 18A.** Riepilogo dei dati relativi alla stabilità on board del campione nel tampone endocervicale

Stabilità dei campioni on-board, tampone endocervicale		T <sub>0</sub>	4 ore	8 ore	24 ore
		% concordanza	% concordanza	% concordanza	% concordanza
<b>Positivo per NG ATCC-31426</b>	15 cellule/mL	100%	100%	100%	100%
	50 cellule/mL	100%	100%	100%	100%
<b>Positivo per CT ATCC_VR-879</b>	60 EB/mL	100%	100%	100%	100%
	200 EB/mL	100%	100%	100%	100%
<b>Negative (Negativo)</b>		100%	100%	100%	100%

**Tabella 18B.** Riepilogo dei dati relativi alla stabilità on board del campione nel tampone vaginale

Stabilità dei campioni on-board, tampone vaginale		T <sub>0</sub>	4 ore	8 ore	24 ore
		% concordanza	% concordanza	% concordanza	% concordanza
<b>Positivo per NG ATCC-31426</b>	15 cellule/mL	100%	100%	100%	100%
	50 cellule/mL	100%	100%	100%	100%
<b>Positivo per CT ATCC_VR-879</b>	60 EB/mL	100%	100%	100%	100%
	200 EB/mL	100%	100%	100%	100%
<b>Negative (Negativo)</b>		100%	100%	100%	100%

#### Stabilità on-board dei campioni citologici

I campioni citologici negativi per CT e NG sono stati arricchiti individualmente con target a 3x LoD per ciascun target (45 EB/mL per CT e 15 cellule/mL per NG, Acrometrix) e trattati con un numero uguale di campioni negativi utilizzando il NeuMoDx CT/NG Assay. Al termine dell'elaborazione, tutte le provette di campioni positivi e negativi sono state lasciate sul piano di lavoro del sistema per un totale di 24 ore. Sono stati eseguiti ulteriori test sulle provette dei campioni lasciate a bordo del piano di lavoro del sistema a 4 ore, 8 ore e 24 ore dopo il punto tempo del test iniziale. Il risultato atteso in tutti i punti tempo è stato POSITIVE (POSITIVO) (per il target appropriato) per tutti i campioni citologici arricchiti con target CT o NG e NEGATIVE (NEGATIVO) (per entrambi i target) nei campioni citologici che non sono stati arricchiti con il target. È stata osservata una concordanza totale con il risultato atteso in tutti i punti tempo, compreso il punto tempo di 24 ore che indica che è stata dimostrata una stabilità on-board di 24 ore per i test con il NeuMoDx CT/NG Assay. I risultati sono riassunti nella *Tabella 19* di seguito.

**Tabella 19.** Riepilogo dei dati relativi alla stabilità on board del campione nel tampone endocervicale

Stabilità dei campioni on-board, campioni citologici		T <sub>0</sub>	4 ore	8 ore	24 ore
		% concordanza	% concordanza	% concordanza	% concordanza
<b>Positivo per NG</b>	15 cellule/mL	100%	100%	100%	100%
<b>Positivo per CT</b>	45 EB/mL	100%	100%	100%	100%
<b>Negative (Negativo)</b>		100%	100%	100%	100%

### BIBLIOGRAFIA















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, 5<sup>th</sup> 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




### MARCHI COMMERCIALI

NeuMoDx™ e NeuDry™ sono marchi commerciali di NeuMoDx Molecular, Inc.  
 Abreva® è un marchio registrato di GlaxoSmithKline Consumer Healthcare.  
 AcroMetrix™ è un marchio commerciale di Thermo Fisher Scientific.  
 BD™ e BD™ UVT sono marchi commerciali di Becton, Dickinson and Company.  
 cobas® è un marchio commerciale registrato di Roche Diagnostics Operations, Inc.  
 Hamilton® è un marchio commerciale registrato di Hamilton Company.  
 Hologic® è un marchio commerciale registrato di Hologic, Inc. e/o sue associate.  
 K-Y™ è un marchio commerciale di Reckitt Benckiser (Brands) Limited.  
 Monistat® 1 è un marchio commerciale registrato di Insight Pharmaceuticals.  
 Preparation H® è un marchio commerciale registrato di WHITEHALL PHARMACAL COMPANY.  
 TaqMan® è un marchio commerciale registrato di Roche Molecular Systems, Inc.  
 UTM® è un marchio commerciale di Copan Italia S.P.A.  
 Vagisil® è un marchio commerciale registrato di Combe Incorporated.  
 Yeast-Gard Advanced™, lavanda vaginale, è un marchio commerciale di Lake Consumer Products, Inc.


### LEGENDA DEI SIMBOLI

 Solo su prescrizione medica	 Limite di temperatura
 Produttore	 Non riutilizzare
 Dispositivo medico-diagnostico in vitro	 Contenuto sufficiente per <n> test
 Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea	 Consultare le istruzioni per l'uso
 Numero di catalogo	 Attenzione
 Codice lotto	 Rischio biologico
 Data di scadenza	 Marchio CE

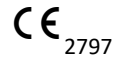


NeuMoDx Molecular, Inc.  
 1250 Eisenhower Place  
 Ann Arbor, MI 48108, USA

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)