

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

PRECAUCIÓN: Para exportaciones de EE. UU. exclusivamente

IVD Para uso diagnóstico *in vitro* con el NeuMoDx 288 y el NeuMoDx 96 Molecular System

 Para ver actualizaciones en los folletos adjuntos, vaya a: www.qiaagen.com/neumodx-ifu

Para obtener instrucciones detalladas, consulte el Manual del operador del NeuMoDx 288 Molecular System; ref. 40600108

Para obtener instrucciones detalladas, consulte el Manual del operador del NeuMoDx 96 Molecular System; ref. 40600317

USO PREVISTO

El ensayo NeuMoDx CT/NG Assay, tal como se utiliza en el NeuMoDx 96 Molecular System y el NeuMoDx 288 Molecular System, es una prueba *in vitro* de amplificación de ácidos nucleicos automatizada y cualitativa para la detección y diferenciación directas de ADN de *Chlamydia trachomatis* (CT) y/o *Neisseria gonorrhoeae* (NG) en muestras genitourinarias. El ensayo utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) inmediata para detectar el ADN de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* en muestras de exudado vaginal recogidas por el médico, en muestras de exudado vaginal recogidas por la propia paciente (recogidas en un ámbito clínico) y en muestras de exudado endocervical, todas recogidas mediante un hisopo con punta de poliéster con un aplicador de plástico en un medio de transporte universal (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), en muestras cervicouterinas recogidas en PreservCyt® Solution (Hologic®, Inc, MA, USA) y en orina de hombres y mujeres. El NeuMoDx CT/NG Assay está diseñado para usarse como ayuda en el diagnóstico de la enfermedad urogenital por clamidias o gonococos, tanto en pacientes sintomáticos como asintomáticos.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Para analizar una muestra de orina mediante el ensayo NeuMoDx CT/NG Assay, esta se recoge en un frasco de orina estándar sin conservantes ni aditivos. Para preparar el análisis, se dispensa una alícuota de la orina en un tubo secundario compatible con el NeuMoDx System y se carga en el NeuMoDx System en los soportes de muestras designados para comenzar con el procesamiento. Para cada muestra, se mezcla una alícuota de 550 µl de orina con el tampón de lisis NeuMoDx Lysis Buffer 2 y el NeuMoDx System realiza automáticamente todos los pasos necesarios para extraer el ácido nucleico diana, preparar el ADN aislado para la amplificación mediante RCP inmediata y, si corresponde, amplificar y detectar las dianas de la amplificación (secciones de las secuencias del gen *diana* de los cromosomas y plásmidos de CT y NG).

Para analizar una muestra de exudado mediante el ensayo NeuMoDx CT/NG Assay, se debe recoger una muestra de exudado endocervical o una muestra de exudado vaginal recogida por el médico o por la propia paciente mediante un hisopo con punta de poliéster con un aplicador de plástico en 3 ml de Universal Transport Medium (UTM-RT, UVT) o equivalente. La muestra de exudado se puede analizar directamente desde el tubo de medio de transporte primario o dispensando una alícuota en un tubo secundario compatible con el NeuMoDx System y cargándolo en el NeuMoDx System mediante el soporte de muestras correspondiente para iniciar el procesamiento. Si se ha congelado una muestra, se recomienda precalentar la muestra descongelada a 85 °C durante 5-10 minutos antes de realizar el análisis. Para cada muestra, se mezcla una alícuota de 400 µl de medio de exudado con el tampón de lisis NeuMoDx Lysis Buffer 2 y el NeuMoDx System realiza automáticamente todos los pasos necesarios para extraer el ácido nucleico diana, preparar el ADN aislado para la amplificación mediante RCP inmediata y, si corresponde, amplificar y detectar las dianas de la amplificación (secciones de las secuencias del gen *diana* de los cromosomas y plásmidos de CT y NG).

Para analizar una muestra citológica con el ensayo NeuMoDx CT/NG Assay, el médico recoge una prueba ThinPrep® Pap Test de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Tras el procesamiento en un procesador ThinPrep®, se debe dispensar una alícuota de solución PreservCyt® en un tubo secundario compatible con el NeuMoDx System y cargarse en el NeuMoDx System en los soportes de muestras adecuados para comenzar con el procesamiento. Es necesario llevar la muestra a temperatura ambiente antes de procesarla. Para cada muestra, se mezcla una alícuota de 550 µl del líquido PreservCyt con el tampón de lisis NeuMoDx Lysis Buffer 2 y el NeuMoDx System realiza automáticamente todos los pasos necesarios para extraer el ácido nucleico diana, preparar el ADN aislado para la amplificación mediante RCP inmediata y, si corresponde, amplificar y detectar las dianas de la amplificación (secciones de las secuencias del gen *diana* de los cromosomas y plásmidos de CT y NG).

El ensayo NeuMoDx CT/NG Assay incluye un control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC1) de ADN para ayudar a supervisar la presencia de posibles sustancias inhibitoras, así como los fallos de los reactivos o del NeuMoDx System que pueden encontrarse durante los procesos de extracción y amplificación.

Las infecciones por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* son dos de las infecciones de transmisión sexual más frecuentes a nivel mundial. En Estados Unidos, se diagnosticaron más de 1,6 millones de nuevos casos de clamidia y 470 000 de gonorrea en 2016, la cifra más elevada hasta la fecha según el último informe publicado por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) (CDC, 2017).¹

Chlamydiae son bacterias intracelulares estrictas, gramnegativas e inmóviles. La especie *Chlamydia trachomatis* está compuesta por quince serovariedades (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 y L3) que pueden causar enfermedades en humanos.² Las serovariedades que van desde la D hasta la K son la principal causa de infecciones genitales por clamidias en hombres y mujeres.² *C. trachomatis* puede causar epididimitis, proctitis, cervicitis, salpingitis aguda, uretritis no gonocócica y enfermedad inflamatoria pélvica (EIP).³⁻⁶ Las infecciones por clamidias suelen ser asintomáticas tanto en hombres como en mujeres. Los niños que nacen de mujeres con infección presentan un riesgo considerablemente mayor de padecer conjuntivitis de inclusión y neumonía por clamidias.^{7,8} Si no se trata la infección, esta puede provocar EIP, que es la principal causa de esterilidad, embarazo ectópico y dolor pélvico crónico.⁵ Los datos procedentes de los ensayos aleatorizados controlados de cribado de clamidias sugieren que los programas de cribado pueden reducir la incidencia de la EIP.⁹⁻¹² Como ocurre con otras ETS inflamatorias, la infección por clamidias podría facilitar la transmisión de la infección por VIH.¹³ Además, las mujeres embarazadas con infección por clamidias pueden transmitir la infección a los bebés durante el parto, lo cual puede comportar oftalmia neonatal, que puede provocar ceguera y neumonía. Debido a la carga considerable de riesgos y enfermedades relacionados con la infección, los CDC recomiendan el cribado anual de clamidias para todas las mujeres sexualmente activas menores de 25 años y las mujeres de 25 años o más que presenten un riesgo elevado de padecer la infección (p. ej., las mujeres con nuevas o varias parejas sexuales).¹⁴

Neisseria gonorrhoeae es el microbio patógeno de la gonorrea. *N. gonorrhoeae* son diplococos gramnegativos inmóviles. El lugar más frecuente de infección por *N. gonorrhoeae* es el tracto genitourinario. Las infecciones por NG suelen causar una respuesta inflamatoria de mayor intensidad que las infecciones por *C. trachomatis*, pero suelen ser asintomáticas en mujeres hasta que desarrollan complicaciones como la EIP.¹⁵ La EIP puede dar lugar a esterilidad tubárica, embarazo ectópico y dolor pélvico crónico. En hombres, la mayoría de las infecciones uretrales provocan uretritis con micción dolorosa o disuria con secreción del pene (habitualmente asintomática) y, con menor frecuencia, epididimitis o infección gonocócica diseminada.¹⁵ Además, los estudios epidemiológicos y biológicos proporcionan pruebas contundentes de que las infecciones gonocócicas facilitan la transmisión de la infección por VIH.¹³ El ensayo CT/NG Assay utiliza RCP inmediata para detectar una región del gen opaco de varias copias en el cromosoma de *Neisseria gonorrhoeae*.

Tradicionalmente, el cultivo de *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* ha sido el método de referencia para la detección de CT/NG. No obstante, los métodos de cultivo requieren la viabilidad de que los microorganismos se mantengan durante su transporte y almacenamiento. Los métodos de cultivo de CT son difíciles de estandarizar, técnicamente complejos, costosos y relativamente insensibles. Los métodos de cultivo para el diagnóstico convencional de la infección por NG pueden tener una sensibilidad clínica correcta, pero requieren el aislamiento del microorganismo en medios selectivos y dependen en gran medida de la correcta manipulación de las muestras. El almacenamiento y el transporte incorrectos de las muestras puede dar lugar a la pérdida de viabilidad del microorganismo y arrojar resultados negativos falsos. Además, una técnica de muestreo deficiente, materiales de muestreo tóxicos y la inhibición del crecimiento por parte de los componentes de secreciones corporales también pueden dar lugar a resultados negativos falsos. Estos inconvenientes hacen que los métodos de cultivo sean menos idóneos para implementarlos como pruebas de cribado rutinarias. Se han desarrollado diversas pruebas de laboratorio de no cultivo, incluidos métodos de pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (nucleic acid amplification test, NAAT) para la detección de clamidia y gonorrea. Desde 2002, las mejoras producidas en las tecnologías NAAT junto con el uso de una recogida de muestras menos invasiva han permitido la adaptación considerable de las NAAT en el diagnóstico de CT y NG. Actualmente y desde 2014, las NAAT son el único método recomendado entre los métodos de no cultivo para el uso de laboratorio rutinario en el análisis de CT/NG, según los CDC.¹⁶ El ensayo CT/NG Assay utiliza RCP inmediata para detectar dos regiones distintas en *Chlamydia trachomatis*, una que actúa en el gen de helicasa presente en el plásmido críptico de varias copias y otra que actúa en el gen de la membrana exterior del cromosoma de CT. Como tal, la detección de CT no se ve afectada por la mutación reciente identificada en la región 23S del cromosoma de CT ni por la eliminación en el plásmido en nvCT identificada en Suecia en 2006.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El ensayo NeuMoDx CT/NG Assay combina las tecnologías de extracción del ADN y la amplificación/detección mediante RCP inmediata. Las muestras se recogen en frascos convencionales de muestras de orina, en tubos de muestras de exudado (UTM-RT, UVT o equivalente) o líquido PreservCyt® (una prueba ThinPrep® Pap Test). El NeuMoDx System aspira automáticamente una alícuota de la muestra citológica, de orina o de exudado para mezclarla con el tampón de lisis NeuMoDx Lysis Buffer 2 y los reactivos de extracción que contiene la placa NeuMoDx Extraction Plate para iniciar el procesamiento. El NeuMoDx System automatiza e integra la extracción y la concentración de ADN, la preparación de los reactivos, y la amplificación y la detección del ácido nucleico de la secuencia diana mediante RCP inmediata. El control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC1) incluido ayuda a supervisar la presencia de posibles sustancias inhibitoras, así como los fallos de los reactivos, del proceso o del sistema. No es necesaria la intervención del operador una vez cargada la muestra en el NeuMoDx System.

Los NeuMoDx Systems utilizan una combinación de calor, enzimas líticas y reactivos de extracción para realizar la lisis celular, la extracción del ADN y la eliminación de inhibidores. Las partículas paramagnéticas capturan los ácidos nucleicos liberados. Las partículas, con los ácidos nucleicos unidos, se cargan en el NeuMoDx Cartridge, donde los componentes no unidos y distintos del ADN se eliminan mediante el NeuMoDx Wash Reagent y el ADN unido se eluye mediante el NeuMoDx Release Reagent. A continuación, el NeuMoDx System utiliza el ADN eluido para rehidratar los reactivos de amplificación NeuDry™ patentados que contienen todos los elementos necesarios para la amplificación de las dianas de CT y NG y una sección de la secuencia del control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC1). Esto permite la amplificación y la detección simultáneas tanto de las dianas como de las secuencias de ADN de control. Tras la reconstitución de los reactivos secos para la RCP, el NeuMoDx System dispensa la mezcla preparada para RCP en una cámara de RCP (por muestra) del NeuMoDx Cartridge. La amplificación y la detección de las secuencias de ADN de control y diana (si están presentes) tienen lugar en la cámara de RCP. El NeuMoDx Cartridge, incluida la cámara de RCP, está diseñado para contener el amplicón tras la RCP inmediata, por lo que fundamentalmente se elimina el riesgo de contaminación después de la amplificación.

Los analitos amplificados se detectan en el acto utilizando productos químicos de sonda de hidrólisis (frecuentemente denominados productos químicos TaqMan®) mediante moléculas de sonda de oligonucleótidos fluorógenos específicas de los amplicones para sus respectivos analitos. Las sondas TaqMan constan de un fluorocromo unido covalentemente al extremo 5' de la sonda de oligonucleótidos y un supresor de la señal en el extremo 3'. Mientras la sonda está intacta, el fluorocromo y el supresor de la señal están cerca, lo que provoca que la molécula supresora extinga la fluorescencia que emite el fluorocromo mediante la transferencia de energía de resonancia de Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Las sondas TaqMan están diseñadas para hibridarse en una región de ADN amplificada por un conjunto específico de cebadores. A medida que la ADN polimerasa Taq extiende el cebador y sintetiza la nueva hebra, la actividad de la exonucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa Taq degrada la sonda que se ha hibridado con la plantilla. La degradación de la sonda libera el fluorocromo de ella y rompe la proximidad con el supresor de la señal, por lo que se vence el efecto supresor debido a la FRET y se permite la detección del fluorocromo. La señal fluorescente resultante detectada en el termociclador del NeuMoDx System es directamente proporcional al fluorocromo liberado.

Se utiliza una sonda TaqMan marcada con un fluorocromo (excitación: 490 nm y emisión: 521 nm) en el extremo 5' y un supresor de la señal oscuro en el extremo 3' para detectar el ADN de NG y se utiliza una sonda TaqMan marcada con un fluorocromo (excitación: 590 nm y emisión: 610 nm) en el extremo 5' y un supresor de la señal oscuro en el extremo 3' para detectar el ADN de CT. Para detectar el control de proceso de muestras, la sonda TaqMan está marcada con un colorante fluorescente alternativo (excitación: 535 nm y emisión: 556 nm) en el extremo 5' y un supresor de la señal oscuro en el extremo 3'. El NeuMoDx System supervisa la señal fluorescente que emiten las sondas TaqMan al final de cada ciclo de amplificación. Una vez finalizada la amplificación, el NeuMoDx System analiza los datos y genera un informe del resultado cualitativo final (POSITIVE [Positivo], NEGATIVE [Negativo], INDETERMINATE [Indeterminado], NO UNRESOLVED [No resuelto], NO RESULT [Sin resultado]).



REACTIVOS/CONSUMIBLES

Materiales suministrados

REF	Contenido	Unidades por paquete	Pruebas por unidad	Pruebas por paquete
200300	NeuMoDx CT/NG Test Strip <i>Reactivos secos para RCP inmediata que contienen las sondas y los cebadores TaqMan específicos de CT/NG con la sonda y los cebadores TaqMan específicos del control de proceso de muestras.</i>	6	16	96

Materiales necesarios pero no suministrados (disponibles por separado en NeuMoDx)

REF	Contenido
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Partículas secas y paramagnéticas, enzimas líticas y controles de proceso de muestras</i>
400500	NeuMoDx Lysis Buffer 2
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Puntas Hamilton® CO-RE/CO-RE II (300 µl) con filtros
235905	Puntas Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µl) con filtros

Hisopo y medios de transporte (no suministrados)

Tipo de muestra	Medio recomendado	Dispositivo de recogida recomendado
Exudado vaginal o endocervical	3 ml Universal Transport Medium (Copan UTM-RT)	Flexible Minitip Nylon® Flocked Swab (Copan)
	3 ml Universal Viral Transport System (BD UVT)	Flexible Minitip Flocked Swab (BD)
Muestra citológica	Muestra citológica líquida en PreservCyt® Solution	Combinación de espátula plástica/cepillo endocervical o tipo escoba

Instrumental necesario pero no suministrado

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



PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La NeuMoDx CT/NG Test Strip es para uso diagnóstico *in vitro* con los NeuMoDx Systems solamente.
- No utilice los consumibles o los reactivos después de la fecha de caducidad indicada.
- No utilice los reactivos si el sello de seguridad está roto o si el embalaje está dañado en el momento de su recepción.
- No utilice consumibles o reactivos si la bolsa protectora está abierta o rota en el momento de su recepción.
- No utilice la orina recogida en recipientes que contengan conservantes. No se ha validado el ensayo NeuMoDx CT/NG Assay para su uso con conservantes.
- Las muestras de exudado se deben recoger mediante un hisopo de poliéster con un aplicador de plástico. Retire el hisopo del medio de transporte antes de realizar el análisis. No se ha validado el ensayo NeuMoDx CT/NG Assay para su uso con otros tipos de hisopo.
- No recoja muestras de exudado en un medio de transporte distinto al UTM-RT, UVT o equivalente. No se ha validado el ensayo NeuMoDx CT/NG Assay para su uso con otros medios de transporte.
- Las muestras citológicas deben ser recogidas por un médico según las instrucciones de recogida de muestras de la prueba ThinPrep® Pap Test. Las pruebas ThinPrep® Pap Test se recogen en líquido PreservCyt®.
- No recoja muestras citológicas en otros medios que no sean líquido PreservCyt®. No se ha validado el ensayo NeuMoDx CT/NG Assay para su uso con otros conservantes citológicos.
- Las muestras citológicas deben llevarse a temperatura ambiente antes de realizar el análisis en los NeuMoDx Systems. Para las muestras que se conservan a 4 °C en alícuotas de 1 ml en un tubo secundario, se recomienda incubación a temperatura ambiente durante 30 minutos. Para los recipientes ThinPrep llenos (~20 ml PreservCyt) que se conservan a 4 °C, se recomienda incubación a temperatura ambiente durante 40 minutos.

- El volumen mínimo de la muestra depende del tamaño del tubo o del soporte de tubos de muestras, tal y como se define a continuación:
 - **Soporte de tubos de muestras (32 tubos):** Se requiere ≥ 700 μ l de la muestra al utilizar tubos secundarios adecuados para el soporte de tubos de muestras de 32 tubos; un volumen por debajo del valor mínimo especificado podría dar lugar al error "Quantity Not Sufficient" (Cantidad insuficiente).
 - **Soporte de tubos de muestras (24 tubos):** Se requiere ≥ 2 ml de muestra al utilizar tubos primarios o $\geq 1,1$ ml de muestra al utilizar tubos secundarios adecuados para el soporte de tubos de muestras de 24 tubos. Un volumen por debajo del valor mínimo especificado podría dar lugar al error "Quantity Not Sufficient" (Cantidad insuficiente).
 - **Soporte de tubos de muestras de volumen bajo (32 tubos):** Se requiere ≥ 650 μ l de orina o muestra citológica o ≥ 550 μ l de muestra de exudado al utilizar tubos secundarios adecuados para el soporte de tubos de muestras de volumen bajo de 32 tubos. Un volumen por debajo del valor mínimo especificado podría dar lugar al error "Quantity Not Sufficient" (Cantidad insuficiente).
- La realización de una prueba de CT/NG en muestras de orina o exudado que tengan más de 7 días puede dar lugar a resultados erróneos o no válidos al utilizar la NeuMoDx CT/NG Test Strip.
- La realización de una prueba de CT/NG en muestras citológicas de más de 30 días (almacenadas a una temperatura de entre 2 °C y 30 °C) puede generar resultados no válidos o erróneos (consulte la recomendación del fabricante de la prueba ThinPrep® Pap Test).
- Evite la contaminación de los reactivos con microbios y desoxirribonucleasa. Se recomienda utilizar pipetas de transferencia estériles sin desoxirribonucleasa y desechables. Utilice una pipeta nueva para cada muestra.
- Para evitar la contaminación, no manipule ni separe los NeuMoDx Cartridge después de la amplificación. No recupere, bajo ningún concepto, los NeuMoDx Cartridge del contenedor para desechos con riesgo biológico. El NeuMoDx Cartridge está diseñado para evitar la contaminación.
- En caso de que el laboratorio también realice pruebas de la RCP con el tubo abierto, debe prestarse atención para garantizar que la NeuMoDx CT/NG Test Strip, los consumibles y reactivos necesarios para las pruebas, el equipo de protección individual, como los guantes y las batas de laboratorio, y el NeuMoDx System no estén contaminados.
- Se deben llevar guantes limpios de nitrilo sin talco al manipular los reactivos y consumibles NeuMoDx. Se debe prestar atención para no tocar la superficie superior del NeuMoDx Cartridge, la superficie del sello metálico de la NeuMoDx CT/NG Test Strip o de la NeuMoDx Extraction Plate, o la superficie superior del NeuMoDx Lysis Buffer 2; para manipular los consumibles y los reactivos, solo se deben tocar superficies laterales.
- Se proporcionan las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) de cada reactivo, según proceda en www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Lavarse bien las manos después de realizar la prueba.
- No pipetear con la boca. No fume, beba o coma en zonas en las que se estén utilizando las muestras o los reactivos del kit.
- Manipule siempre las muestras como material infeccioso y de acuerdo con los procedimientos seguros de laboratorio como los descritos en *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁷ (Seguridad biológica en laboratorios microbiológicos y biomédicos) y en el documento M29-A3 del CLSI.¹⁸
- Eliminar los reactivos no utilizados y los desechos de conformidad con la normativa nacional, provincial, regional y local.
- No reutilizar.

ALMACENAMIENTO, MANIPULACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS PRODUCTOS

- Las NeuMoDx CT/NG Test Strips permanecen estables en el embalaje primario hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta externa del producto cuando se almacenan a una temperatura de entre 15 °C y 28 °C.
- No utilice consumibles ni reactivos que estén caducados.
- No utilice productos para pruebas si el embalaje primario o secundario no está visualmente intacto.
- Una vez cargada, la NeuMoDx CT/NG Test Strip puede permanecer en el NeuMoDx System durante 14 días. La vida útil restante de las tiras reactivas cargadas la controla el software, que informa al usuario en tiempo real. La retirada de una tira reactiva que se ha utilizado más tiempo del permitido la solicitará el sistema.

RECOLECCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

- La NeuMoDx CT/NG Test Strip se ha analizado mediante muestras de orina pura de mujeres y hombres, muestras de exudado vaginal recogidas por el médico y por la propia paciente, muestras de exudado endocervical y líquido PreservCyt de las pruebas ThinPrep Pap Test. Las muestras de exudado se deben recoger utilizando un hisopo con punta de poliéster con un aplicador de plástico (UTM-RT, UVT o equivalente). Las pruebas ThinPrep Pap Test deben recogerse de acuerdo con las instrucciones del fabricante. No se ha evaluado el rendimiento con tipos de muestra distintos a los que se especifican.
- Las muestras de orina recogidas deben mantenerse a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C durante su transporte.
- Las muestras de exudado recogidas deben guardarse a la temperatura recomendada en el kit de recogida de exudados durante el transporte.

- Las muestras de orina y de exudado deben almacenarse a una temperatura de entre 2 y 8 °C durante 7 días como máximo antes de realizar el análisis y durante 24 horas como máximo a temperatura ambiente.
- Las muestras citológicas pueden almacenarse a una temperatura de entre 2 y 30 °C durante 30 días como máximo y deben utilizarse de acuerdo con la recomendación del fabricante (Hologic, Inc, MA, USA).

INSTRUCCIONES DE USO

Recogida/transporte de las muestras

1. La primera recogida de orina (según recomiendan los CDC¹⁶) debe realizarse en frascos de orina sin conservantes. Si es posible, el paciente no debe orinar durante, al menos, una hora antes de la recogida de la muestra.
2. Los exudados vaginales recogidos por el médico y por la propia paciente, así como los exudados endocervicales, se deben recoger siguiendo las instrucciones que proporciona el fabricante con el dispositivo de recogida de exudados.
3. Un médico debe recoger las muestras citológicas de acuerdo con las instrucciones que proporciona el fabricante junto con el kit de recogida de ThinPrep® Pap Test.
4. Si las muestras de exudado u orina no se analizan en un plazo de 24 horas, deben almacenarse a una temperatura de entre 2 y 8 °C durante 7 días como máximo antes de realizar el análisis. Las muestras citológicas pueden almacenarse a una temperatura de entre 2 y 30 °C durante 30 días como máximo de acuerdo con la recomendación del fabricante (Hologic, Inc, MA, USA).

Preparación de las pruebas: *muestra de orina*

1. Aplique la etiqueta de código de barras de muestra a un tubo de muestras compatible con el NeuMoDx System.
2. Gire suavemente la muestra de orina en el recipiente primario hasta obtener una distribución uniforme.
3. Con una pipeta de transferencia o una punta de una pipeta diferente para cada muestra, transfiera una alícuota de orina al tubo de muestra con código de barras compatible con el NeuMoDx System.

Preparación de las pruebas: *muestra de exudado*

1. Aplique la etiqueta de código de barras de muestra a un tubo de muestras compatible con el NeuMoDx System. El tubo de recogida primario puede etiquetarse y colocarse directamente en el soporte de muestras de 24 tubos. Como alternativa, una alícuota del medio de exudado se puede transferir a un tubo secundario para su procesamiento en el NeuMoDx System.
2. Mezcle suavemente la muestra de exudado en el recipiente primario hasta obtener una distribución uniforme.
3. Si realiza el análisis de la muestra de exudado en el tubo de recogida primario, coloque el tubo etiquetado con el código de barras en un soporte de tubos de muestras de 24 tubos y asegúrese de que se quite el tapón antes de cargarlo en el NeuMoDx System.
4. Si utiliza un tubo secundario, transfiera una alícuota de la muestra de exudado al tubo de muestra con código de barras compatible con el NeuMoDx System.

Preparación de las pruebas: *muestra citológica*

1. Aplique la etiqueta de código de barras de muestra a un tubo de muestras compatible con el NeuMoDx System.
2. Gire suavemente el líquido PreservCyt para lograr una distribución uniforme. El NeuMoDx CT/NG Assay solo se ha validado con las muestras citológicas procesadas posteriormente con líquido ThinPrep®.
3. Con una pipeta de transferencia o una punta de una pipeta diferente para cada muestra, transfiera una alícuota de PreservCyt al tubo de muestra con código de barras compatible con el NeuMoDx System.

Funcionamiento del NeuMoDx System

Para obtener instrucciones detalladas, consulte los Manuales del operador del NeuMoDx 288 y el 96 Molecular System (ref. 40600108 y 40600317).

1. Cargue el pedido de pruebas en el NeuMoDx System según el tipo de muestra deseado (orina, medio de transporte o citología) y el tipo de tubo. Si no se define en el pedido de prueba, se utilizará el tipo de muestra **Urine** (Orina) en un **Secondary Tube** (Tubo secundario) por defecto.
2. Rellene uno o más soportes de NeuMoDx Test Strip con las NeuMoDx CT/NG Test Strips y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes de tiras reactivas en el NeuMoDx System.
3. Si se lo pide el software del NeuMoDx System, añada los consumibles necesarios a los soportes de consumibles del NeuMoDx System y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes en el NeuMoDx System.
4. Si se lo pide el software del NeuMoDx System, sustituya el NeuMoDx Wash Reagent, el NeuMoDx Release Reagent, vacíe los residuos de cebado, el contenedor para desechos con riesgo biológico (solo el NeuMoDx 288), el recipiente para puntas de desecho (solo el NeuMoDx 96) o el recipiente para desechos con riesgo biológico (solo el NeuMoDx 96) según resulte adecuado.
5. Cargue los tubos de muestras en un soporte de tubos de muestras adecuado y asegúrese de que se hayan retirado los tapones de todos los tubos de muestras.
6. Coloque el soporte de tubos de muestras en el estante del cargador automático y utilice la pantalla táctil para cargar el soporte en el NeuMoDx System. De este modo, se iniciará el procesamiento de las muestras cargadas para los análisis identificados.

LIMITACIONES

- La NeuMoDx CT/NG Test Strip solo puede utilizarse en los sistemas NeuMoDx System.
- Se ha establecido el rendimiento de la NeuMoDx CT/NG Test Strip con muestras de orina de hombres y mujeres, exudados vaginales recogidos por la propia paciente y por el médico, muestras de exudado endocervical y muestras citológicas en líquido PreservCyt. No se ha evaluado el uso de la NeuMoDx CT/NG Test Strip con otras fuentes clínicas y se desconocen las características del rendimiento para otros tipos de muestras.
- Dado que la detección de CT y de NG depende del número de microorganismos presentes en la muestra, los resultados fiables dependen de una recogida, una manipulación y un almacenamiento correctos de las muestras.
- Los resultados erróneos de las pruebas se podrían deber a una recogida, una manipulación o a un almacenamiento incorrectos de la muestra, o bien a un error técnico o a una mezcla de muestras. Además, los resultados negativos falsos se podrían deber a que el número de microorganismos en la muestra es inferior a la sensibilidad analítica de la prueba.
- El análisis solo puede estar a cargo de personal con formación en el uso del NeuMoDx System.
- Si el control de proceso de muestras no se amplifica y el resultado de la prueba NeuMoDx CT/NG Test es Negative (Negativo), se notificará un resultado no válido (Indeterminate or Unresolved [Indeterminado o No resuelto]) y debe repetirse la prueba.
- Un resultado positivo de la prueba no indica necesariamente la presencia de microorganismos viables. Sin embargo, es posible que indique la presencia de ADN de CT o NG.
- Aunque no se conocen cepas ni cepas aisladas de NG sin genes *opacos*, la aparición de dicha cepa podría dar lugar a un resultado erróneo mediante la NeuMoDx CT/NG Test Strip.
- La prueba NeuMoDx CT/NG Test incorpora tanto una diana genómica como de plásmido (plásmido críptico) para CT para garantizar la detección precisa de todas las cepas. No obstante, podría producirse un resultado erróneo si las cepas o cepas aisladas de CT no tienen un plásmido críptico, así como el gen de la proteína porina en el genoma.
- Las mutaciones en las regiones de unión entre cebador y sonda pueden influir en la detección mediante el ensayo NeuMoDx CT/NG Assay.
- Los resultados de la prueba NeuMoDx CT/NG Test deben utilizarse como complemento de las observaciones clínicas y otra información disponible para el médico. La prueba no está diseñada para distinguir los soportes de ADN de CT o NG de aquellos con enfermedades por clamidias o gonococos.
- Los resultados de la prueba pueden verse afectados por la terapia de antibióticos simultánea, ya que el ADN de CT y NG puede seguir detectándose tras la terapia antimicrobiana.
- Para evitar la contaminación de las muestras, se recomienda seguir las prácticas recomendadas de laboratorio, entre las que se incluye cambiar de guantes entre la manipulación de las muestras de pacientes.

RESULTADOS

NeuMoDx Molecular Systems

Los resultados disponibles se pueden ver o imprimir desde la pestaña 'Results' (Resultados), en la ventana Results (Resultados) en la pantalla táctil del NeuMoDx System. El software del NeuMoDx System genera automáticamente los resultados del ensayo NeuMoDx CT/NG Assay utilizando el algoritmo de decisión y los parámetros de procesamiento de los resultados especificados en el archivo de definición de ensayo (Assay Definition File, ADF) de NeuMoDx CT/NG. El resultado de una prueba puede notificarse como Positive (Positivo), Negative (Negativo), Indeterminate (IND) (Indeterminado [IND]), No Result (NR) (Sin resultado [NR]) o Unresolved (UNR) (No resuelto [UNR]) en función del estado de la amplificación de la diana y el control de proceso de la muestra (SPC1).

Los criterios para un resultado positivo o negativo se especifican en el archivo de definición de ensayo (Assay Definition File, ADF) de CT/NG del NeuMoDx System, tal como NeuMoDx lo instala en el sistema. Los resultados se notifican en función del algoritmo de decisión del archivo de definición de ensayo (Assay Definition File, ADF), como se resume a continuación en la *tabla 1*.

Tabla 1. Resumen del algoritmo de decisión de la prueba NeuMoDx CT/NG Test

RESULTADO	DIANAS DE CT y/o NG	CONTROL DE PROCESO (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Positivo)	Amplified (Amplificado)	N/A (N/D)
Negative (Negativo)	Not Amplified (No amplificado)	Amplified (Amplificado)
Indeterminate[†] (Indeterminado)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (No amplificado, se ha detectado un error del sistema, procesamiento de la muestra completado)	
No Result*[†] (Sin resultado)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (No amplificado, se ha detectado un error del sistema, procesamiento de la muestra anulado)	
Unresolved[†] (No resuelto)	Not Amplified, No System Error Detected (No amplificado, No se ha detectado ningún error del sistema)	

*La indicación No Result (Sin resultado) solo se notifica en las versiones de software 1.8 y superiores del NeuMoDx System.

[†]El NeuMoDx System está equipado con una función Rerun/Repeat (Nuevo análisis/Repetición) automática que el usuario final puede elegir para asegurar que se vuelva a procesar de manera automática un resultado IND/UNR/NR (Indeterminado/No resuelto/Sin resultado) para así minimizar los retrasos en el informe de resultados.

Resultados no válidos

Si un NeuMoDx CT/NG Assay realizado en el NeuMoDx System no logra generar un resultado válido, se notificará como Indeterminate (IND [Indeterminado]), No Result (NR [Sin resultado]) o Unresolved (UNR [No resuelto]) en función del tipo de error que se haya presentado.

Se notificará un resultado Indeterminate (Indeterminado) si se detecta un error del NeuMoDx System durante el procesamiento de la muestra. En el caso de que se notifique un resultado IND (Indeterminado), se recomienda repetir la prueba.

Se notificará un resultado Unresolved (No resuelto) si no se detecta ningún analito ni existe amplificación del control de proceso de muestras, lo que indica un posible fallo de los reactivos o la presencia de inhibidores.

Si un NeuMoDx CT/NG Assay realizado en el NeuMoDx System no logra generar un resultado válido y el procesamiento de la muestra se cancela antes de que finalice, se notificará como No Result (NR [Sin resultado]).

NOTA: Al obtener un resultado no válido (IND/UNR/NR), el usuario puede realizar un paso opcional para calentar la muestra durante 5-10 minutos a 85 °C *antes* de repetir el ensayo.

Control de calidad

La normativa local especifica habitualmente que el laboratorio es responsable de los procedimientos de control que supervisan la exactitud y la precisión del proceso analítico completo, y debe establecer el número, el tipo y la frecuencia de los materiales de control de las pruebas mediante especificaciones de rendimiento verificadas para un sistema de pruebas no modificado y aprobado.

1. NeuMoDx Molecular, Inc. no proporcionará los materiales de control externo (definidos por el usuario). El laboratorio debe elegir y validar los controles adecuados. El software NeuMoDx (versión 1.8 y superiores) permite asignar varios tipos de muestra al mismo conjunto de controles. Como alternativa, se puede definir un conjunto de controles por separado para cada tipo de muestra. Los controles externos deben cumplir las mismas especificaciones de volumen mínimo que las muestras clínicas especificadas anteriormente en función del tamaño del tubo/soporte de muestras. El usuario puede definir los códigos de barras específicos por control positivo y negativo, y por matriz.
2. Se recomienda: 10 µl de AcroMetrix™ CT/NG Positive Control (Thermo Fisher Scientific, REF. 967146) diluidos en 1 ml de orina negativa para CT/NG o un control de productos químicos de orina disponibles en el mercado como el control de la matriz de orina, en 1 ml de UTM-RT como control de la matriz de exudado, o en 1 ml de PreservCyt como control de matriz citológica utilizando el soporte de tubos de muestras de 32 tubos. Si está procesando los controles, coloque los controles etiquetados en un soporte de tubos de muestras y utilice la pantalla táctil para cargar el soporte en el NeuMoDx System desde el estante del cargador automático. El NeuMoDx System reconocerá los códigos de barras y comenzará a procesar los controles a menos que no estén cargados los reactivos o los consumibles suficientes y necesarios para el análisis.
3. Los cebadores y la sonda específicos para el control de proceso de muestras 1 (Sample Process Control 1, SPC1) se incluyen en cada NeuMoDx CT/NG Test Strip. Este control de proceso de muestras permite al NeuMoDx System supervisar la eficacia de los procesos de extracción del ADN y amplificación por RCP.
4. El resultado positivo de una prueba notificado para una muestra de control negativo indica que existe un problema de contaminación de la muestra. Para obtener consejos sobre la resolución de problemas, consulte el *Manual del operador del NeuMoDx 288 Molecular System* o el *Manual del operador del NeuMoDx 96 Molecular System*.
5. Un resultado negativo notificado para una muestra de control positivo puede indicar que existe un problema relacionado con el NeuMoDx System o con los reactivos. Para obtener consejos sobre la resolución de problemas, consulte el *Manual del operador del NeuMoDx 288 Molecular System* o el *Manual del operador del NeuMoDx 96 Molecular System*.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Rendimiento clínico en muestras de orina

Las características del rendimiento clínico del ensayo NeuMoDx CT/NG Assay se determinaron mediante un estudio de comparación de métodos retrospectivos internos utilizando muestras de orina residual procedentes de tres (3) laboratorios con ubicaciones geográficas diversas.

Se anonimizaron las muestras de orina residual y se les proporcionó un único número de identificación según el laboratorio clínico, lo cual permitió establecer una lista confidencial que asocia el identificador del paciente con las muestras anonimizadas analizadas con fines de investigación. Se analizó un total de 388 muestras sometidas previamente a cribado proporcionadas por tres laboratorios clínicos. De las 388 muestras, los laboratorios clínicos identificaron 90 muestras positivas para CT y 53 muestras positivas para NG. Algunas muestras analizadas dieron un resultado positivo tanto para CT como para NG, lo que indica una infección dual o concomitante. Se denegó al operador el estado de la prueba de estas muestras para implementar un “estudio enmascarado simple”. Para realizar el análisis de comparación de métodos, se usaron los resultados notificados de los dispositivos moleculares específicos legalmente comercializados y aprobados por la FDA y que cuentan con la marca CE utilizados por parte de los laboratorios para tratamientos habituales.

Los resultados de la prueba NeuMoDx CT/NG Test proporcionaron una sensibilidad clínica del 96,7 % para la diana de CT y del 98,1 % para la diana de NG; para ambas se notificó un IC del 95 %. Se determinó que la especificidad clínica del estudio era del 99,7 % tanto para CT como para NG utilizando de nuevo un IC del 95 %. Los límites inferior y superior del intervalo de confianza (IC) del 95 % que se muestran a continuación en las *tablas 2A* y *2B* se calcularon mediante el procedimiento de Wilson con corrección por continuidad.

Tabla 2A.

Resumen de rendimiento clínico en orina: NeuMoDx 288
 Detección de *C. trachomatis* con la NeuMoDx CT/NG Test Strip

CT (muestras de orina)		Resultado de la prueba de referencia aprobada por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx CT/NG Test	POS	87	1	88
	NEG	3	297	300
	Total	90	298	388
Sensibilidad clínica (CT) = 96,7 % (89,9-99,1)				
Especificidad clínica (CT) = 99,7 % (97,8-99,9)				

Tabla 2B.

Resumen de rendimiento clínico en orina: NeuMoDx 288
 Detección de *N. gonorrhoeae* con la NeuMoDx CT/NG Test Strip

NG (muestras de orina)		Resultado de la prueba de referencia aprobada por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx CT/NG Test	POS	51	1	52
	NEG	1	335	336
	Total	52	336	388
Sensibilidad clínica (NG) = 98,1 % (88,4-99,9)				
Especificidad clínica (NG) = 99,7 % (98,1-99,9)				

Se realizaron análisis adicionales en el NeuMoDx 96 Molecular System con un número reducido de muestras clínicas residuales de orina. Al igual que con el análisis anterior realizado en el NeuMoDx 288, se compararon los resultados obtenidos en el NeuMoDx 96 con los resultados notificados de los ensayos aprobados por la FDA y que cuentan con la marca CE utilizados por parte de los laboratorios de origen para tratamientos habituales. En la *tabla 2C* siguiente se resumen los 208 resultados válidos con un IC del 95 %.

Tabla 2C. Resumen de rendimiento clínico en orina: NeuMoDx 96
 Detección de *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* con la NeuMoDx CT/NG Test Strip

Resumen de rendimiento	
(NeuMoDx CT/NG Assay en el NeuMoDx 96 Molecular System comparado con el resultado de la prueba de referencia de FDA/CE)	
CT	NG
Sensibilidad: 92,8 % (83,2-97,3)	Sensibilidad: 92,8 % (83,2-97,3)
Especificidad: 99,3 % (95,4-99,9)	Especificidad: 99,3 % (95,4-99,9)

En función de la población, el rendimiento del NeuMoDx CT/NG Assay en el NeuMoDx 288 Molecular System y el número reducido de muestras clínicas analizadas en el NeuMoDx 96, la sensibilidad clínica anticipada corresponde a un valor dentro del IC del 95 % bilateral de (86,9 %-100 %) para CT y (90,6 %-100 %) para NG. La especificidad clínica anticipada para ambas dianas es un valor dentro del IC del 95 % bilateral de (98,6 %-100 %). El rendimiento clínico del NeuMoDx CT/NG Assay tal como lo demuestran las pruebas adicionales realizadas en el NeuMoDx 96 Molecular System estuvo dentro de los valores esperados, como se muestra en la tabla de resumen anterior.

Rendimiento clínico en muestras de exudado

El rendimiento clínico del NeuMoDx CT/NG Assay en el análisis de muestras de exudado recogidas en UVT se verificó en un estudio de verificación interno en el que se utilizó una combinación de muestras clínicas y muestras clínicas residuales recogidas prospectivamente en dos (2) laboratorios con ubicaciones geográficas diversas. Se utilizaron muestras positivas elaboradas, además de otras muestras clínicas debido a la tasa de prevalencia relativamente baja de dianas de CT y NG en muestras de exudado.

Se anonimizaron las muestras de exudado prospectivo y residual y se les asignó un único número de identificación según el laboratorio clínico externo donde se recogieron, lo cual permitió establecer un vínculo confidencial (y enmascarado para NeuMoDx) de la identificación del paciente y las muestras anonimizadas analizadas con fines de investigación. Se analizó un total de 110 exudados vaginales y 121 exudados endocervicales proporcionados por dos laboratorios clínicos. De las muestras de exudado, se identificaron 38 como positivas para CT y 9 como positivas para NG. Se mezclaron 48 exudados vaginales y 48 exudados endocervicales sometidos previamente a cribado que eran *negativos* para CT y NG con el objetivo de crear las muestras elaboradas (debido a la baja prevalencia de CT y NG) para un total de 96 muestras positivas adicionales. Entre estas muestras positivas, algunas solo fueron positivas para CT o NG y otras para ambas dianas de CT y NG. Para realizar el análisis de comparación, se utilizaron los resultados notificados de los dispositivos moleculares comercializados legalmente, aprobados por la FDA y que cuentan con la marca CE por parte de los laboratorios de origen, o los resultados *esperados* de las muestras elaboradas.

Los resultados de la comparación de métodos clínicos proporcionaron estimaciones de la sensibilidad clínica (100 %) y de la especificidad clínica (99,6 %) para la diana de CT y estimaciones de la sensibilidad clínica (100 %) y la especificidad clínica (98,7 %) para la diana de NG. Además, la sensibilidad clínica y la especificidad clínica fueron muy similares entre los dos tipos de exudado. Para la matriz de exudado endocervical, los resultados de la prueba proporcionaron estimaciones de la sensibilidad clínica (100 %) y la especificidad clínica (99,2 %) para la diana de CT y de sensibilidad clínica (100 %) y especificidad clínica (99,1 %) para la diana de NG. Para la matriz de exudado vaginal, los resultados de la prueba proporcionaron estimaciones de la sensibilidad clínica (100 %) y la especificidad clínica (100 %) para la diana de CT y de sensibilidad clínica (100 %) y especificidad clínica (98,1 %) para la diana de NG. Los límites inferior y superior del intervalo de confianza (IC) del 95 % que se muestran a continuación en las *tablas 3A* y *3B* se calcularon mediante el procedimiento de Wilson con corrección por continuidad.

Tabla 3A. Resumen de rendimiento clínico en exudado (endocervical y vaginal):
 Detección de *C. trachomatis* con NeuMoDx 288 y 96 Molecular System, NeuMoDx CT/NG Test Strip

CT (muestras de exudado)		Resultado de la prueba de referencia aprobada por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx CT/NG Test	POS	62	1	63
	NEG	0	263	263
	Total	62	264	326
Sensibilidad clínica (CT) = 100 % (92,7-100)				
Especificidad clínica (CT) = 99,6 % (97,6-100)				

Tabla 3B. Resumen de rendimiento clínico en exudado (endocervical y vaginal):
 Detección de *N. gonorrhoeae* con sistemas NeuMoDx 288 y 96 Molecular Systems, NeuMoDx CT/NG Test Strip

NG (muestras de exudado)		Resultado de la prueba de referencia aprobada por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx CT/NG Test	POS	103	3	106
	NEG	0	220	220
	Total	103	223	326
Sensibilidad clínica (NG) = 100 % (95,5-100)				
Especificidad clínica (NG) = 98,7 % (95,8-99,7)				

Rendimiento clínico en muestras citológicas

Las características del rendimiento clínico del NeuMoDx CT/NG Assay se determinaron a través de un estudio de comparación de métodos retrospectivo interno con muestras citológicas en líquido PreservCyt obtenidas de un solo laboratorio clínico.

Se anonimizaron las muestras citológicas residuales y se les proporcionó un único número de identificación según el laboratorio clínico, lo cual permitió establecer una lista confidencial que asocia el identificador del paciente con las muestras anonimizadas analizadas con fines de investigación. Se analizó un total de 83 muestras sometidas previamente a cribado proporcionadas por el laboratorio clínico. Se elaboraron treinta muestras adicionales positivas para NG a partir de muestras negativas residuales, para un total de 113 muestras analizadas. De las 113 muestras evaluadas, el laboratorio clínico identificó 30 muestras positivas para CT y 33 muestras (30 de éstas eran elaboradas) positivas para NG. No se analizaron muestras positivas para CT y NG. Se denegó al operador el estado de la prueba de estas muestras para implementar un "estudio enmascarado simple". Para realizar el análisis de comparación de métodos, se usaron los resultados notificados de los dispositivos moleculares específicos legalmente comercializados y aprobados por la FDA y que cuentan con la marca CE utilizados por parte de los laboratorios para tratamientos habituales.

Los resultados de la prueba NeuMoDx CT/NG Test proporcionaron una sensibilidad clínica del 100 % para la diana de CT y del 97,0 % para la diana de NG, para ambas se notificó un intervalo de confianza (IC) del 95 %. Se determinó que la especificidad clínica del estudio era del 100 % tanto para CT como para NG utilizando de nuevo un IC del 95 %. Los límites inferior y superior del IC del 95 % que se muestran a continuación en las *tablas 4A* y *4B* se calcularon mediante el procedimiento de Wilson sin corrección por continuidad.

Tabla 4A. Resumen de rendimiento clínico para muestras citológicas:
 Detección de *C. trachomatis* con NeuMoDx 288 y 96 Molecular System, NeuMoDx CT/NG Test Strip

CT (muestras citológicas)		Resultado de la prueba de referencia aprobada por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx CT/NG Test	POS	30	0	30
	NEG	0	53	53
	Total	30	53	83
Sensibilidad clínica (CT) = 100 % (88,7-100)				
Especificidad clínica (CT) = 100 % (93,2-100)				

Tabla 4B. Resumen de rendimiento clínico para muestras citológicas:
 Detección de *N. gonorrhoeae* con sistemas NeuMoDx 288 y 96 Molecular Systems, NeuMoDx CT/NG Test Strip

NG (muestras citológicas)		Resultado de la prueba de referencia aprobada por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx CT/NG Test	POS	32	0	32
	NEG	1	80	81
	Total	33	80	113
Sensibilidad clínica (NG) = 97,0 % (84,7-99,5)				
Especificidad clínica (NG) = 100 % (95,4-100)				

Sensibilidad analítica: muestras de orina

El límite de detección del NeuMoDx CT/NG Assay se determinó con orina clínica negativa mezclada con control de Acrometrix CT (serovariedad D) o control de AcroMetrix NG en los niveles que se indican en las siguientes tablas. Las pruebas se llevaron a cabo con 10 réplicas en cada nivel en tres días mediante dos sistemas NeuMoDx 288 Molecular System utilizando 3 lotes de reactivos (20 réplicas/lote y 60 en total). Las tasas de detección se muestran en las *tablas 5A y 5B*. Se determinó que el límite de detección de CT era de 4,5 CE/ml y el LoD de NG era de 0,22 células/ml basándose en un análisis probit. Se realizaron análisis adicionales con un número reducido de muestras en el NeuMoDx 96 Molecular System, donde se determinó mediante el análisis probit que el LoD de CT era de 7 CE/ml y el LoD de NG era de 0,3 células/ml.

El LoD del NeuMoDx CT/NG Assay es de 6 CE/ml para CT y de 5 células/ml para NG basándose en los resultados del estudio de interferencias que se muestra más adelante.

Tabla 5A. Tasas de detección positivas para CT en orina utilizadas en el estudio de LoD de la NeuMoDx CT/NG Test Strip

CT (CE/ml)	n	N.º de positivos	% de positivos	LoD (probit)
32	60	60	100 %	4,5 CE/ml
16	60	60	100 %	
8	60	60	100 %	
4	59	54	91,5 %	
2	60	38	63,3 %	
0	60	0	0 %	

Tabla 5B. Tasas de detección positivas para NG en orina utilizadas en el estudio de LoD de la NeuMoDx CT/NG Test Strip

NG (células/ml)	n	N.º de positivos	% de positivos	LoD (probit)
10	58	58	100 %	0,22 células/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 %	

El análisis probit de los datos que se muestran en las tablas anteriores se utilizó para determinar que el LoD de la diana de CT era de 4,5 CE/ml y el LoD de la diana de NG era de 0,22 células/ml [Figura 1].

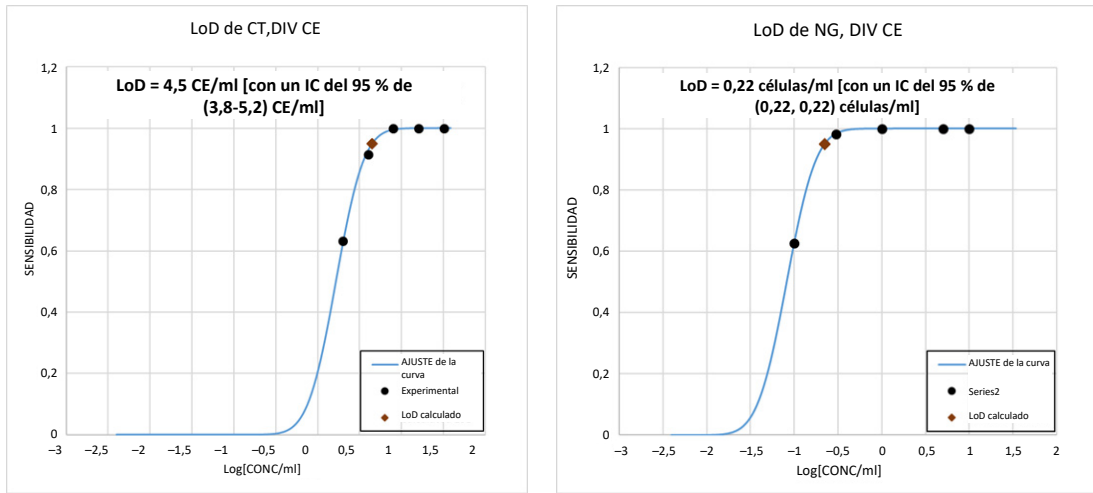


Figura 1. Análisis probit para determinar el LoD del NeuMoDx CT/NG Assay mediante NeuMoDx CT/NG Test Strips.

Sensibilidad analítica: muestras de exudado

El límite de detección del NeuMoDx CT/NG Assay se determinó con exudados endocervicales y vaginales clínicos negativos mezclados con el control de Acrometrix CT (serovariedad D) o control de AcroMetrix NG en los niveles que se indican en las siguientes tablas. Los resultados se analizaron con el método de tasa de aciertos y también se aceptó el nivel en el cual se detectó el 95 % o más como límite de detección del exudado. Las tasas de detección se muestran en las *tablas 6A y 6B*. Se determinó que el límite de detección de CT era de 20 CE/ml y el LoD de NG era de 5 células/ml basándose en una tasa de detección $\geq 95\%$. Se realizó un análisis en los sistemas NeuMoDx 288 y NeuMoDx 96 System.

Tabla 6A. Tasa de detección positiva para CT en exudado utilizado en el estudio de LoD del NeuMoDx CT/NG Assay

CT (CE/ml)	n	N.º de positivos	% de positivos	LoD (Tasa de aciertos)
Exudado vaginal				20 CE/ml
30	48	48	100 %	
20	48	48	100 %	
0	0	48	0 %	
Exudado endocervical				
30	48	48	100 %	
20	48	48	100 %	
0	0	48	0 %	

Tabla 6B. Tasa de detección positiva para NG en exudado utilizado en el estudio de LoD del NeuMoDx CT/NG Assay

NG (células/ml)	n	N.º de positivos	% de positivos	LoD (Tasa de aciertos)
Exudado vaginal				5 células/ml
9	48	48	100 %	
5	48	47	98 %	
0	0	48	0 %	
Exudado endocervical				
9	48	48	100 %	
5	48	48	100 %	
0	0	48	0 %	

Sensibilidad analítica: muestras citológicas

El límite de detección del NeuMoDx CT/NG Assay se determinó con PreservCyt clínica negativa mezclada con control de Acrometrix CT (serovariedad D) o control de AcroMetrix NG en los niveles que se indican en las siguientes tablas. Los resultados se analizaron con el método de tasa de aciertos y se aceptó el nivel en el cual se detectó el 95 % o más como límite de detección. Las tasas de detección se muestran en las tablas 7A y 7B. Se determinó que el límite de detección de CT era de 15 CE/ml y el LoD de NG era de 5 células/ml basándose en una tasa de detección ≥ 95 %. Se realizó un análisis en los sistemas NeuMoDx 288 y NeuMoDx 96 System.

Tabla 7A. Tasa de detección positiva para CT en muestras citológicas utilizadas en el estudio de LoD del NeuMoDx CT/NG Assay

CT (CE/ml)	n	N.º de positivos	% de positivos	LoD (Tasa de aciertos)
15	40	40	100 %	15 CE/ml
0	40	0	0 %	

Tabla 7B. Tasa de detección positiva para NG en muestras citológicas utilizadas en el estudio de LoD del NeuMoDx CT/NG Assay

NG (células/ml)	n	N.º de positivos	% de positivos	LoD (Tasa de aciertos)
5	40	40	100 %	5 células/ml
0	40	0	0 %	

Detección de variantes

La sensibilidad analítica del NeuMoDx CT/NG Assay se confirmó de forma adicional con 14 serovariedades de CT diferentes y 11 cepas aisladas clínicas de NG. Se realizaron los análisis mediante las serovariedades de CT y cepas de NG que se mencionan a continuación en la tabla 8. Se mezclaron dianas de CT o NG en un nivel de LoD $\times \sim 1$ o $\times \sim 2$ con muestras de orina negativas antes de realizar el análisis. Se obtuvo una detección de al menos el 95 % en niveles próximos al LoD y se observó una detección del 100 % tanto para las variantes de CT como de NG en niveles próximos a dos veces el LoD, lo que indica que no existen diferencias significativas en la detección de serovariedades de CT relevantes y un conjunto representativo de cepas aisladas de NG.

Tabla 8. Serotipos de CT/NG analizados

Serotipo de CT	Tasa de detección (%)		Cepa aislada clínica de NG [n.º ATCC]	Tasa de detección (%)		
	6 CE/ml	12 CE/ml		0,25 células/ml	0,5 células/ml	
A	N/A (N/D)	100	49981	100	100	
B		100	31426	100	100	
Ba		100	31407	100	100	
C		100	27633	N/A (N/D)	100	
LGV I		100	9793		100	
LGV II		100	43070		100	
LGV III		100	51109		100	
E		100	35542		100	
F		95	100		35541	100
G		95	100		49498	100
H		100	100		49926	100
I		95	100			
J		100	100			
K	100	100				

Especificidad analítica

Se evaluó un total de 113 cepas aisladas de cultivos o ADN procedente de microorganismos potencialmente en cohabitación o filogenéticamente similares a CT o NG para determinar una posible reactividad cruzada al realizar el análisis con la NeuMoDx CT/NG Test Strip. Los microorganismos se prepararon en grupos de 5 a 6 microorganismos cada uno y se analizaron a una elevada concentración. La mayoría de los microorganismos se mezclaron con orina negativa para CT/NG a, aproximadamente, 1×10^6 UFC/ml, salvo algunos microorganismos procedentes de fuentes comerciales en los que las copias elevadas de ADN (10 ng/ml) se mezclaron con orina negativa para CT/NG. No se observó reactividad cruzada con ninguno de los patógenos analizados en este estudio. En la *tabla 9* de la página siguiente se muestra la lista de los microorganismos analizados.

Tabla 9. Lista de patógenos utilizados para poner de manifiesto la especificidad analítica

Bacterias	Bacterias	Bacterias
<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>Dexia gummosa</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> , Serogroup W135	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Neisseria cinerea</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Elizabethkingia miricola</i>	<i>Neisseria elongata</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria flavescens</i>	<i>Weissella paramesenteroides</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Neisseria lactamica</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	Virus
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria sicca</i>	Citomegalovirus
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Neisseria subflava</i>	Virus del herpes simple de tipo 1
<i>Erwinia herbicola</i>	<i>Neisseria perflava</i>	Virus del herpes simple de tipo 2
<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria polysaccharea</i>	Virus del papiloma humano 16

Sustancias causantes de interferencias: microorganismos comensales

La NeuMoDx CT/NG Test Strip se analizó para determinar interferencias en presencia de microorganismos no diana (en cohabitación en el tracto genitourinario), evaluando el rendimiento del NeuMoDx CT/NG Assay en niveles bajos de CT y NG en el NeuMoDx 288 Molecular System. Para este estudio, se utilizó el mismo panel de 113 microorganismos [Tabla 9] utilizado para evaluar la reactividad cruzada. Los microorganismos se distribuyeron en grupos de 5 o 6 en muestras de orina negativa para CT/NG y se les añadieron 18 CE/ml de cuerpos elementales purificados y 0,75 células/ml de control celular de NG. No se observaron interferencias con ninguno de los microorganismos comensales, salvo la detección de dianas de NG en niveles bajos (3 veces el LoD) que se vio negativamente afectada en presencia de niveles elevados de dianas de CT ($>1,0 \times 10^6$ CE/ml). En este caso, los niveles elevados de CT influyeron en la detección de NG a concentraciones por debajo de 20 veces el LoD (~ 5 células/ml) y, por consiguiente, el LoD en presencia del fondo de niveles elevados de dianas de CT sería de 5 células/ml.

Sustancias causantes de interferencias: sustancias endógenas y exógenas presentes en muestras de orina clínicas de CT/NG

Los siguientes grupos con posibilidad de causar interferencias se mezclaron individualmente con muestras de orina [Tabla 10]: sangre (7 %), analitos en orina, proteínas, glucosa, urobilinógenos, pH 4 (ácido), pH 9 (alcalino), leucocitos ($1,0 \times 10^6$ células/ml). Se analizaron todos los agentes para determinar posibles interferencias en ausencia y presencia de CT y NG (a 3 veces y 10 veces el LoD). No se observaron interferencias con ninguna de las sustancias analizadas.

Tabla 10. Agentes exógenos y endógenos causantes de interferencias analizados en muestras de orina

	Sustancia causante de interferencias
Endógena	Bilirrubina, ~10 mg/dl
	Glucosa, 1000 mg/dl
	pH 4
	pH 9
	Proteínas (albúmina), 50 mg/ml
	Sangre, 7 %
	Leucocitos (CMSP), $1E6$ células/ml
Exógena	* Talco en polvo, 0,1 %

** Inicialmente, 2 de las 3 muestras de NG analizadas a 3 veces el LoD no se amplificaron en presencia de talco en polvo pero tuvieron el rendimiento esperado después de volver a realizar la prueba.*

Sustancias causantes de interferencias: sustancias endógenas y exógenas presentes en muestras de exudados clínicos de CT/NG

Se mezclaron individualmente las siguientes fracciones que pueden causar interferencias en muestras de exudados endocervicales y vaginales clínicos [Tabla 11]: sangre (10 %), mucina, CMSP ($1,0 \times 10^5$ células/ml), progesterona, Monistat® 1, crema hidratante Vagisil®, gel lubricante individual K-Y™, lavado vaginal Yeast-Gard Advanced™ y líquido seminal. Se analizaron todos los agentes para determinar posibles interferencias en presencia de CT y NG (a 3 veces y 10 veces el LoD). No se observó ninguna interferencia con ninguna de las sustancias en los niveles indicados a continuación.

Tabla 11. Agentes exógenos y endógenos causantes de interferencias analizados en muestras de exudado

	Sustancia causante de interferencias
Endógena	Sangre, 10 %
	*Mucina, ~13,5 mg/ml
	CMSP, $1E5$ células/ml
Exógena	Progesterona, ~7 mg/ml
	Monistat 1, ~22 mg/ml
	Crema hidratante Vagisil, ~7 mg/ml
	Gel lubricante individual K-Y, ~43 mg/ml
	Lavado vaginal Yeast-Gard Advanced, ~32 mg/ml
	Líquido seminal, ~13,5 mg/ml

** Dosis de mucina determinada a partir de una disolución madre al 0,8 %*

Sustancias causantes de interferencias: sustancias endógenas y exógenas presentes en muestras citológicas clínicas de CT/NG

Se mezclaron individualmente las siguientes fracciones que pueden causar interferencias en muestras clínicas en PreservCyt [Tabla 12]: sangre (10 %), mucina, CMSP ($1,0 \times 10^5$ células/ml), lavado vaginal Yeast-Gard Advanced, líquido seminal, progesterona, crema antiprurito Vagisil, clotrimazol vaginal en crema, crema Preparation H®, Monistat 1, crema para herpes labial Abreva®, crema hidratante Vagisil, gel lubricante individual K-Y, espuma anticonceptiva Delfen y metronidazol vaginal en crema. Se analizaron todos los agentes para determinar posibles interferencias en presencia de CT y NG a 10 veces el LoD. No se observó ninguna interferencia con ninguna de las sustancias en los niveles indicados a continuación.

Tabla 12. Agentes exógenos y endógenos causantes de interferencias analizados en muestras citológicas

Sustancia causante de interferencias	
Endógena	Sangre, 10 % volumen/volumen
	Mucina, 0,25 % masa/volumen
	CMSP, 1E5 células/ml
Exógena	Lavado vaginal Yeast Gard, 5 % (volumen/volumen)
	Líquido seminal, 5 % (volumen/volumen)
	Progesterona, 5,6 mg/ml
	Crema antiprurito Vagisil, 4,2 mg/ml
	Clotrimazol vaginal en crema, 5,6 mg/ml
	Preparation H, 10,9 mg/ml
	Monistat 1; 5,6 mg/ml
	Crema para herpes labial Abreva, 7 mg/ml
	Crema hidratante Vagisil, 5,6 mg/ml
	Gel lubricante individual K-Y, 11,8 mg/ml
	Espuma anticonceptiva Delfen, 5,6 mg/ml
	Metronidazol vaginal en crema, 18 mg/ml

Precisión en el laboratorio

Se verificó la precisión en el laboratorio del NeuMoDx CT/NG Assay siguiendo un plan de pruebas controladas durante 12 días no consecutivos mediante tres instrumentos diferentes y varios operadores. Cada instrumento (NeuMoDx 288 Molecular System) realizó dos conjuntos de muestras al día, alternando entre operadores y dos lotes diferentes de reactivos que se compartieron en los instrumentos. Un conjunto de muestras se definió como tres réplicas analizadas para cada uno de los cinco niveles diferentes (True Negative [Negativo verdadero], Low Negative [Negativo bajo], Moderate Negative [Negativo moderado], Low Positive [Positivo bajo] y Moderate Positive [Positivo moderado]) para un total de 15 muestras por conjunto y por sistema. Las muestras se prepararon mediante muestras de orina cribadas y agrupadas de donantes sanos. En este estudio, se analizó un total de 72 conjuntos de muestras (1080 pruebas). Los resultados se muestran en las *tablas 13-15*.

Tabla 13. Resumen de precisión en el laboratorio

Muestra	Niveles analizados		Réplicas/ conjunto	Muestras/día (en sistemas de 3X)	Muestras/ total de 12 días
	<i>Chlamydia trachomatis</i> CE/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> células/ml			
Moderate Positive (MP) (Positiva moderada) <i>8 veces el LoD</i>	48	2,0	3	18	216
Low Positive (LP) (Positiva baja) <i>2,5 veces el LoD</i>	15	0,625	3	18	216
Moderate Negative (MN) (Negativa moderada [MN]) <i>Dilución 1:10 de 1 vez el LoD</i>	0,6	0,025	3	18	216
Low Negative (LN) (Negativo bajo) <i>Dilución 1:100 de 1 vez el LoD</i>	0,06	0,0025	3	18	216
True/Blank Negative (TN) (Negativo/blanco verdadero) <i>0 dianas</i>	0	0	3	18	216
Total de muestras analizadas				90	1080

Tabla 14A. Diana de CT: Resultados cualitativos del estudio de precisión en el laboratorio (en los instrumentos)

Muestra	Instrumento 1	Instrumento 2	Instrumento 3	Global
	Porcentaje positivo	Porcentaje positivo	Porcentaje positivo	Porcentaje 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)

Tabla 14B. Diana de NG: Resultados cualitativos del estudio de precisión en el laboratorio (en los instrumentos)

Muestra	Instrumento 1	Instrumento 2	Instrumento 3	Global
	Porcentaje positivo	Porcentaje positivo	Porcentaje positivo	Porcentaje 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)

Tabla 15A. Diana de CT: Análisis de parámetros cuantitativos de precisión en el laboratorio (en los instrumentos)

Muestra	Instrumento 1			Instrumento 2			Instrumento 3			Global		
	Valor medio de Ct	Desviación estándar	% de CV*	Valor medio de Ct	Desviación estándar	% de CV	Valor medio de Ct	Desviación estándar	% de CV	Valor medio de Ct	Desviación estándar	% de 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 (N/D)											
LN												
TN												

Tabla 15B. Diana de NG: Análisis de parámetros cuantitativos de precisión en el laboratorio (en los instrumentos)

Muestra	Instrumento 1			Instrumento 2			Instrumento 3			Global		
	Valor medio de Ct	Desviación estándar	% de CV*	Valor medio de Ct	Desviación estándar	% de CV	Valor medio de Ct	Desviación estándar	% de CV	Valor medio de Ct	Desviación estándar	% de 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 (N/D)											
LN												
TN												

Contaminación por arrastre y cruzada

Se realizaron estudios para evaluar la posibilidad de transferencia y contaminación cruzada de la muestra en el NeuMoDx 288 Molecular System mediante la NeuMoDx CT/NG Test Strip para matrices de orina y citológica. Ambos estudios se ejecutaron en dos partes, en la primera se evaluó el impacto en las muestras negativas para CT y NG de su mezcla con muestras que contienen niveles elevados de dianas de CT y NG. Las muestras positivas y negativas se cargaron en el NeuMoDx System de tal forma que cada muestra negativa estaba al lado de una muestra positiva alta. En la segunda parte de este estudio, se procesaron todas las muestras negativas inmediatamente tras una serie en la que se habían procesado todas las muestras de CT y NG de elevada concentración. No se observó contaminación en las muestras negativas integradas con muestras de niveles elevados ni en muestras negativas que sucedieron a muestras con concentraciones elevadas de CT y NG, lo que pone de manifiesto la ausencia de contaminación por arrastre o cruzada. Se realizaron pruebas adicionales en el NeuMoDx 96 Molecular System y los resultados se confirmaron ya que no hubo indicios de contaminación por arrastre o contaminación cruzada.

Equivalencia de muestras frescas frente a congeladas

Se realizaron análisis para demostrar la equivalencia de la matriz de muestras entre las muestras de orina pura, exudado vaginal y endocervical frescas y congeladas. Se obtuvieron muestras de orina clínicas y exudados vaginales y endocervicales prospectivos que se sometieron a cribado para CT y NG. Las muestras negativas se mezclaron con cuerpos elementales de CT y células de NG a 2 veces el LoD (orina) y 3 veces el LoD (exudado) del NeuMoDx CT/NG Assay. Cada muestra se dividió en partes iguales en dos alícuotas, una de las cuales se analizó de inmediato y la segunda tras un solo ciclo de congelamiento/descongelamiento a -20°C . Se compararon las muestras de orina y exudado frescas y congeladas para determinar su equivalencia mediante un análisis de regresión. Los datos demostraron una equivalencia excelente entre las muestras de orina frescas y congeladas y muestras de exudado frescas y congeladas.

Eficacia del control

La eficacia del control de proceso de muestras incluido en la NeuMoDx CT/NG Test Strip para notificar fallos de los pasos del proceso o la inhibición que afecta al rendimiento de la prueba NeuMoDx CT/NG, se evaluó en el NeuMoDx 288 Molecular System. Las condiciones analizadas son representativas de fallos críticos de los pasos del proceso que podrían producirse durante el procesamiento de las muestras y que *es posible que no sean detectados* por los sensores del instrumento que monitorizan el rendimiento del NeuMoDx System. La eficacia del control se evaluó mediante la simulación del fallo de varios pasos del flujo del proceso de muestras para simular un posible error del sistema, así como mediante la mezcla de las muestras con un inhibidor conocido para determinar el efecto de la disminución ineficiente del inhibidor en la detección del control de proceso de muestras (consulte la *Tabla 16*). En los casos en los que los errores del procesamiento no afectaron negativamente al rendimiento del control de proceso de muestras (NO WASH/NO WASH BLOWOUT [sin lavado/sin expulsión de lavado]), se repitió la prueba con muestras que contienen niveles bajos de CT y NG (cerca del LoD) para confirmar que el error del proceso tampoco tuvo ningún efecto negativo en la detección de las dianas de CT o NG. En la *tabla 16* se resumen los resultados de la eficacia de la prueba de verificación del control.

Tabla 16. Resumen de la eficacia de los datos de control

Condición	Resultado esperado	Resultado observado
Normal Processing (Procesamiento normal)	Negative (Negativo)	Negative (Negativo)
Normal Processing + Inhibitor (Procesamiento normal + inhibidor)	Unresolved (No resuelto)	Unresolved (No resuelto)
No Wash Reagent (Sin reactivo de lavado)	Unresolved (No resuelto) o Negative (Negativo)	Negative (Negativo)
No Wash Blowout (Sin expulsión de lavado)	Unresolved (No resuelto) o Negative (Negativo)	Negative (Negativo)
No Release Reagent (Sin reactivo de liberación)	Indeterminate (Indeterminado)	Indeterminate (Indeterminado)
No PCR Master Mix Reagents (Sin reactivos de mezcla maestra para RPC)	Indeterminate (Indeterminado)	Indeterminate (Indeterminado)

Estabilidad de las muestras de orina en el instrumento

Las muestras de orina negativa para CT y NG se mezclaron con dos niveles de dianas de CT y NG, y se procesaron junto con un mismo número de muestras negativas mediante el NeuMoDx CT/NG Assay. Al final del procesamiento, todos los tubos de muestras positivas y negativas se dejaron en la mesa de trabajo del sistema durante un total de 24 horas. Se realizó un análisis adicional en los tubos de muestras que se dejaron en la mesa de trabajo del sistema a las 4 horas, 8 horas y 24 horas tras el punto temporal inicial del análisis. El resultado esperado en todos los puntos temporales fue POSITIVE (Positivo) (para la diana correspondiente) para todas las muestras de orina mezcladas con las dianas de CT o NG y NEGATIVE (Negativo) (para ambas dianas) en las muestras de orina que no se mezclaron con la diana. Se observó una concordancia total con el resultado esperado en todos los puntos temporales, incluido el punto temporal a las 24 horas, demostrándose una estabilidad de 24 horas en el instrumento para el análisis con el NeuMoDx CT/NG Assay. En la *tabla 17* se resumen los resultados.

Tabla 17. Resumen de los datos de estabilidad de las muestras en el instrumento en orina

Estabilidad de las muestras en el instrumento, orina		T ₀	4 horas	8 horas	24 horas
		% de concordancia	% de concordancia	% de concordancia	% de concordancia
Positivo para NG ATCC-31426	10 células/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
	20 células/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Positiva para CT ATCC_VR-879	10 CE/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
	20 CE/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Negative (Negativo)		100 %	100 %	100 %	100 %

Estabilidad de las muestras de exudado en el instrumento

Las muestras endocervicales y vaginales negativas para CT y NG se mezclaron con dos niveles de dianas de CT y NG, y se procesaron con un mismo número de muestras negativas mediante el NeuMoDx CT/NG Assay. Al final del procesamiento, todos los tubos de muestras positivas y negativas se dejaron en la mesa de trabajo del sistema durante un total de 24 horas. Se realizó un análisis adicional en los tubos de muestras que se dejaron en la mesa de trabajo del sistema a las 4 horas, 8 horas y 24 horas tras el punto temporal inicial del análisis. El resultado esperado en todos los puntos temporales fue POSITIVE (Positivo) (para la diana correspondiente) para todas las muestras de exudado mezcladas con las dianas de CT o NG y NEGATIVE (Negativo) (para ambas dianas) en las muestras de exudado que no se mezclaron con la diana. Se observó una concordancia total con el resultado esperado en todos los puntos temporales, incluido el punto temporal a las 24 horas, demostrándose una estabilidad de 24 horas en el instrumento para el análisis con el NeuMoDx CT/NG Assay. *Los resultados se resumen en las tablas 18A y 18B* a continuación.

Tabla 18A. Resumen de los datos de estabilidad de las muestras en el instrumento en exudado endocervical

Estabilidad de las muestras en el instrumento, exudado endocervical		T ₀	4 horas	8 horas	24 horas
		% de concordancia	% de concordancia	% de concordancia	% de concordancia
Positivo para NG ATCC-31426	15 células/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
	50 células/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Positiva para CT ATCC_VR-879	60 CE/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
	200 CE/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Negative (Negativo)		100 %	100 %	100 %	100 %

Tabla 18B. Resumen de los datos de estabilidad de las muestras en el instrumento en exudado vaginal

Estabilidad de las muestras en el instrumento, exudado vaginal		T ₀	4 horas	8 horas	24 horas
		% de concordancia	% de concordancia	% de concordancia	% de concordancia
Positivo para NG ATCC-31426	15 células/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
	50 células/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Positiva para CT ATCC_VR-879	60 CE/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
	200 CE/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Negative (Negativo)		100 %	100 %	100 %	100 %

Estabilidad de las muestras citológicas en el instrumento

Las muestras citológicas negativas para CT y NG se mezclaron con una diana individual a 3 veces el LoD de cada diana (45 CE/ml para CT y 15 células/ml para NG, Acrometrix) y se procesaron con una cantidad equivalente de muestras negativas mediante el NeuMoDx CT/NG Assay. Al final del procesamiento, todos los tubos de muestras positivas y negativas se dejaron en la mesa de trabajo del sistema durante un total de 24 horas. Se realizó un análisis adicional en los tubos de muestras que se dejaron en la mesa de trabajo del sistema a las 4 horas, 8 horas y 24 horas tras el punto temporal inicial del análisis. El resultado esperado en todos los puntos temporales fue POSITIVE (Positivo) (para la diana correspondiente) para todas las muestras citológicas mezcladas con las dianas de CT o NG y NEGATIVE (Negativo) (para ambas dianas) en las muestras citológicas que no se mezclaron con la diana. Se observó una concordancia total con el resultado esperado en todos los puntos temporales, incluido el punto temporal a las 24 horas, demostrándose una estabilidad de 24 horas en el instrumento para el análisis con el NeuMoDx CT/NG Assay. En la *tabla 19* se resumen los resultados.

Tabla 19. Resumen de los datos de estabilidad de las muestras en el instrumento en exudado endocervical

Estabilidad de las muestras en el instrumento, muestras citológicas		T ₀	4 horas	8 horas	24 horas
		% de concordancia	% de concordancia	% de concordancia	% de concordancia
Positivo para NG	15 células/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Positivo para CT	45 CE/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Negative (Negativo)		100 %	100 %	100 %	100 %















REFERENCIAS


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

MARCAS COMERCIALES

NeuMoDx™ y NeuDry™ son marcas comerciales de NeuMoDx Molecular, Inc.
 Abreva® es una marca comercial registrada de GlaxoSmithKline Consumer Healthcare.
 AcroMetrix™ es una marca comercial de Thermo Fisher Scientific.
 BD™ y BD™ UVT son marcas comerciales de Becton, Dickinson and Company.
 cobas® es una marca comercial registrada de Roche Diagnostics Operations, Inc.
 Hamilton® es una marca comercial registrada de Hamilton Company.
 Hologic® es una marca comercial registrada de Hologic, Inc. o sus filiales.
 K-Y™ es una marca comercial de Reckitt Benckiser (Brands) Limited.
 Monistat® 1 es una marca comercial registrada de Insight Pharmaceuticals.
 Preparation H® es una marca comercial registrada de WHITEHALL PHARMACAL COMPANY.
 TaqMan® es una marca comercial registrada de Roche Molecular Systems, Inc.
 UTM® es una marca comercial de Copan Italia S.P.A.
 Vagisil® es una marca comercial registrada de Combe Incorporated.
 Lavado vaginal Yeast-Gard Advanced™ es una marca comercial de Lake Consumer Products, Inc.

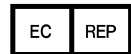
CLAVE DE SÍMBOLOS

	Solo para uso prescriptivo		Límite de temperatura
	Fabricante		No reutilizar
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro		Contenido suficiente para <n> pruebas
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Consultar las instrucciones de uso
	Número de referencia		Precaución
	Código de lote		Riesgos biológicos
	Fecha de caducidad		Marca CE

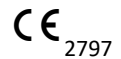


NeuMoDx Molecular, Inc.
 1250 Eisenhower Place
 Ann Arbor, MI 48108, USA

Patrocinador (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



Servicio técnico/Informes de vigilancia: support@qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents