

# alethia®

## Gonorrhea

### DNA Amplification Assay

#### DNA Amplification Assay for the Detection of *Neisseria gonorrhoeae*

REF 480850

IVD

#### INTENDED USE

The Alethia Gonorrhea (NG) assay, performed on the Alethia Incubator/Reader, is an in vitro diagnostic device for the detection of *Neisseria gonorrhoeae* in physician-collected (or other trained medical professional) endocervical swabs, patient-collected vaginal swab specimens from clinical settings, male urine specimens and female urine specimens.

The Alethia NG assay utilizes loop-mediated isothermal DNA amplification (LAMP) technology to detect *Neisseria gonorrhoeae* by targeting a segment of the *Neisseria gonorrhoeae* genome. Results from the Alethia NG assay can be used as an aid in the diagnosis of gonococcal urogenital infection in asymptomatic and symptomatic individuals. This assay is not intended to monitor treatment for gonococcal infections.

The Alethia NG assay is intended for use in hospital, reference or state laboratory settings. The device is not intended for point-of-care use.

#### SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

The Alethia Gonorrhea molecular assay is based on loop-mediated amplification (LAMP) technology.<sup>1</sup> The assay targets a 194 base pair (bp) sequence of the *Neisseria gonorrhoeae* genome. The target DNA sequence is found in a putative phage associated protein gene and is found in all three complete genomes of *N. gonorrhoeae* reported.

Loop-mediated amplification uses specially designed primers to provide for specific and continuous isothermal DNA amplification. A by-product of amplification is the formation of magnesium pyrophosphate, which forms a white precipitate leading to a turbid reaction solution. Reaction solution absorbance characteristics are monitored by the Meridian Alethia Incubator/Reader. Changes in reaction solution absorbance characteristics created by precipitation of magnesium pyrophosphate indicate the presence of target DNA. The absence of target DNA results in no significant change in sample absorbance.

The Alethia Gonorrhea kit includes Alethia Chlamydia/Gonorrhea Assay Control, Alethia Gonorrhea Test Devices and Mineral Oil. The Alethia Assay Control, used for specimen dilution and preparation, is a buffered solution containing formalin-treated *E. coli* cells harboring *Staphylococcus aureus* DNA. The Alethia Gonorrhea Test Device contains one lyophilized amplification reagent bead in each of two chambers: a TEST chamber with Gonorrhea-specific primers and a CONTROL chamber with *S. aureus*-specific primers. The *S. aureus* DNA from the Control Reagent and the *S. aureus*-specific primers in the CONTROL chamber function as the Internal Control for the assay. During specimen preparation, each patient specimen is diluted with the Control Reagent containing the control *S. aureus* DNA target. Addition of *S. aureus* DNA to the patient specimen allows for parallel processing of target DNA and Control DNA through sample preparation, amplification and detection. The Internal Control monitors DNA extraction, amplification inhibition, assay reagent performance and sample processing effectiveness. The control *S. aureus* target must be amplified and detected in the final reaction or the test is considered invalid and patient results are not reported.

The Alethia Incubator/Reader monitors changes in absorbance characteristics by measuring transmission of light through the Test and Control reaction solutions. Light transmission is checked at the assay Run Start (Signal<sub>initial</sub>, S<sub>i</sub>) and at the assay Run End (Signal<sub>final</sub>, S<sub>f</sub>). The Alethia reader calculates the change in light transmission between Run End and Run Start (S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub>) and compares the ratio to a fixed cut-off value.

Fixed cut-off values for the TEST chamber are used to report sample results. TEST chamber S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub> ratios less than 82% are reported as 'POSITIVE'; TEST chamber S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub> ratios greater than or equal to 82% are reported as 'NEGATIVE'. Numerical values are not reported.

Fixed cut-off values for the CONTROL chamber are used to determine validity. CONTROL chamber S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub> ratios less than 90% are considered valid and allow for reporting of TEST chamber results (POSITIVE, NEGATIVE). CONTROL chamber S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub> ratios greater than or equal to 90% are considered invalid and prevent reporting of TEST chamber results. Invalid CONTROL chamber reactions are reported as 'INVALID'. Numerical values are not reported.

More stringent cut-off criteria are applied to the CONTROL chamber reaction to ensure amplification is not inhibited, reagents are performing as intended and that sample processing was performed appropriately.

#### BIOLOGICAL PRINCIPLES

*Neisseria gonorrhoeae* is one of the most common bacterial sexually transmitted infections worldwide. The World Health Organization estimates that 62 million new cases of *N. gonorrhoeae* infection occur annually.<sup>2</sup> There were 309,341 reported cases of gonorrhea in the US in 2010 making gonorrhea the second most commonly reported sexually transmitted infectious disease in the U.S.<sup>3</sup>

*N. gonorrhoeae* is a non-motile, gram-negative diplococci. The majority of urethral infections caused by *N. gonorrhoeae* in men produce symptoms that cause them to seek treatment before serious sequelae occur.<sup>4</sup> Infection of women is often asymptomatic and can lead to complications such as Pelvic Inflammatory Disease (PID), ectopic pregnancy, and infertility.<sup>4</sup> A smaller percentage of persons with gonococcal infections may develop disseminated gonococcal infection (DGI).<sup>4</sup> *N. gonorrhoeae* can also be transmitted to infants in the birth canal, causing neonatal conjunctivitis.<sup>4</sup>

*N. gonorrhoeae* has become resistant to many commonly used antibiotics, including penicillin, tetracycline and, more recently, quinolones. The inappropriate use of antibiotics is a major concern as resistance to the most effective single-dose oral regimens for *N. gonorrhoeae* has become widespread. Currently, cephalosporins are the only antimicrobial recommended for treatment of gonorrhea by the United States Centers for Disease Control (CDC).<sup>4</sup>

#### REAGENTS/MATERIALS PROVIDED

The maximum number of tests obtained from this test kit is listed on the outer box.

1. **Alethia Chlamydia/Gonorrhea Assay Control (Assay Control) (item #4823-01):** Phosphate-buffered solution containing a blue dye and formalin-treated *E. coli* cells harboring plasmid containing a segment of the *S. aureus* genome with sodium azide (0.09%) as a preservative. Packaged in bottle with dropper tip.
2. **Alethia Gonorrhea Test Device (item #2790):** Two-chambered device packaged in a foil pouch containing lyophilized amplification reagents (DNA polymerase, deoxynucleotide triphosphates) and either *N. gonorrhoeae*-specific primers (TEST Chamber) or control primers (CONTROL Chamber).
3. **Mineral Oil (item #14298-01)**
4. **Transfer Pipettes (item #11515A)**

## MATERIALS PROVIDED SEPARATELY

**M-prep**® Sample Preparation Kit, Meridian Bioscience Inc., Catalog Number: 281110

## MATERIALS NOT PROVIDED

1. Disposable latex gloves, powder free
2. DNase/RNase-free, aerosol resistant pipette tips
3. Sterile, plastic, preservative-free, urine specimen collection cups
4. MSwab™ Collection, Preservation and Transport System for Molecular and Culture Applications, Copan Flock Technologies Srl, Catalog Number 6E028N.MER
5. NATrol™ *Neisseria gonorrhoeae* External Run Controls (Strain Z017), Zeptomatrix, Catalog Number NATNG-ERCL
6. Molecular Biology Grade Tris-EDTA (TE) Buffer
7. Nuclease-free Microcentrifuge Tubes, 2 mL

## EQUIPMENT NOT PROVIDED

1. Microcentrifuge capable of 2000 ± 250 rcf (2000 ± 250 x g)
2. Alethia Incubator/Reader, Meridian Bioscience, Inc. Catalog Number: 610189
3. Micropipette(s) capable of dispensing 50 and 250 µL
4. Interval Timer

## PRECAUTIONS

1. All reagents are for in vitro diagnostic use only.
2. Do not interchange Assay Control Reagent or Test Devices between lots. Mineral Oil is interchangeable provided it is within assigned expiration dates when used.
3. Follow Biosafety Level 2 and Good Laboratory practices during testing.<sup>5</sup> Treat all specimens and used Test Devices as capable of transmitting infectious agents. Do not eat, drink or smoke in areas where specimens or kit reagents are handled.
4. Wear disposable gloves while handling specimens and thoroughly wash hands afterwards.
5. Quality Control Programs for Molecular Testing Laboratories should be employed.<sup>5</sup>
6. The Alethia Gonorrhea Test Device contains lyophilized reagents. The protective pouch should not be opened until ready to perform the assay.
7. The Alethia Gonorrhea Test Device includes a latch feature that is designed to prevent contamination of the test area with amplification product. Do NOT use Test Devices with broken latches.
8. Dispose of used Alethia Test Devices immediately after processing, leaving the device latch securely in place. Do NOT open the Test Device after processing. Opening the device after amplification may result in contamination of the test area with amplification product.
9. Any serious incident that has occurred in relation to the device should be reported to Meridian Bioscience, Inc., 3471 River Hills Drive, Cincinnati, Ohio 45244 USA or Technical Support Center 800.343.3858 and competent authority of the EU Member State in which the clinician and/or patient is established.
10. IMPORTANT: See SDS for additional safety and hazard information.

## HAZARDS AND PRECAUTIONARY STATEMENTS

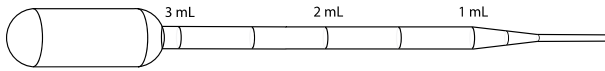
There are no known hazards associated with this product.

## SHELF LIFE AND STORAGE

The expiration date is indicated on the kit label. Store the kit at 2-30 C.

## PROCEDURAL NOTES

The transfer pipette included in the Alethia Gonorrhea kit is individually wrapped and capable of dispensing up to 3 mL. The pipette is diagrammed below.



## REAGENT PREPARATION

Ensure kit reagents are at room temperature (19-30 C) before use. Incorrect results may be obtained if reagents are not brought to room temperature prior to use.

## SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

**Sample types:** Physician-collected endocervical swabs, patient-collected vaginal swabs (from clinical settings), male urine and female urine

### Endocervical and Vaginal Swab Specimen Collection

Endocervical and vaginal swab specimens should be collected by trained medical professionals, in accordance with institutional guidelines.

Vaginal swab specimens may be self-collected by the patient when instruction and supervision is provided by a trained medical professional. Institutional guidelines should be followed.

### Urine Specimen Collection

Urine specimens must be collected in a sterile, plastic, preservative-free, specimen collection cup. The following steps should be taken to ensure specimen quality:

1. Do not let patient urinate for at least 1 hour prior to specimen collection.
2. Have patient collect the first 10-30 mL of voided urine (the first part of the stream, not midstream) into a sterile, preservative free urine specimen collection cup.
3. Cap and label the collection cup with patient and sample collection information.

Collected swab and urine specimens should be stored refrigerated (2-8 C) after collection. Refrigerated specimens may be held for up to 7 days prior to testing. Do not freeze specimens.

## SPECIMEN PREPARATION

**NOTE:** Turn on the Alethia Incubator/Reader. Ensure that the required performance verifications have been completed before initiation of SPECIMEN PREPARATION. Refer to the Alethia reader Operator's Manual for further information regarding instrument set-up and operation.

Refer to the **M-prep DNA Sample Preparation Kit package insert for information regarding column preparation, orientation and use.** Use 1 **M-prep** column per sample. Remove the column top cap, followed by the bottom twist-off tip, and place the column tip into an **M-prep** tube to drain. Drained **M-prep** columns should be used within 1 hour.

Ensure specimens are at room temperature (19-30 C) before specimen preparation.

### Swab Specimen Preparation

1. Swirl or invert the collected swab in medium to mix. Open the medium container carefully.
2. Using a transfer pipette, transfer 1.5 mL of the swab medium into a 2.0 mL screw-top microcentrifuge **M-prep** tube. Discard the transfer pipette.
3. Briefly vortex the Alethia Chlamydia/Gonorrhea Assay Control.
4. Add 1 drop of the Assay Control to the **M-prep** tube containing the sample medium. **The prepared sample will have a light blue appearance after addition of the Assay Control Reagent.**
5. Cap the **M-Prep** tube containing the sample.

### Urine Specimen Preparation

1. Swirl the urine collection cup to mix. Open the urine container carefully.
2. Using a transfer pipette, transfer 1.5 mL of urine into a 2.0 mL screw-top microcentrifuge **M-prep** tube. Discard the transfer pipette.
3. Briefly vortex the Alethia Chlamydia/Gonorrhea Assay Control. Add 1 drop of the Assay Control to the **M-prep** tube containing the sample medium. **The prepared sample will have a blue appearance after addition of the Assay Control Reagent.**
4. Cap the **M-prep** tube containing the sample.

### External Positive Control Preparation

1. Vortex NATrol™ *Neisseria gonorrhoeae* External Run Control.
2. Transfer 1.5 mL TE Buffer to a 2.0 mL nuclease-free microcentrifuge tube.
3. Using a micropipette, add 250 µL External Run Control to the tube containing TE Buffer.
4. Briefly vortex the Alethia Chlamydia/Gonorrhea Assay Control. Add 1 drop of the Assay Control to the **M-prep** tube containing the sample medium.
5. Cap the microcentrifuge tube containing External Control.

### External Negative Control Preparation

1. Transfer 1.75 mL TE Buffer to a 2.0 mL nuclease-free microcentrifuge tube.
2. Briefly vortex the Alethia Chlamydia/Gonorrhea Assay Control. Add 1 drop of the Assay Control to the **M-prep** tube containing the sample medium.
3. Cap the microcentrifuge tube containing External Control.

### Sample Processing

**NOTE:** The amount of prepared sample collected at the end of the Sample Processing steps should be enough to complete 2 Alethia tests.

1. Centrifuge each **M-prep** tube containing sample for 3 minutes at 2000 ± 250 rcf. (2000 ± 250 x g).
2. Remove the **M-prep** tube from the microcentrifuge. Manually decant the supernatant fluid without disturbing any pellet formed during centrifugation.
3. Using a micropipette, add 250 µL **M-prep** Buffer I to the **M-prep** tube. Discard the pipette tip. Vortex 10 seconds to mix.
4. Using a micropipette set to 250 µL, transfer the entire prepared sample to the top of an appropriately labeled and prepared **M-prep** Column. Wait approximately 2 minutes, or until the sample has been absorbed by column and flow stops. This step should take no longer than 30 minutes.
5. Using a micropipette, add 250 µL of **M-prep** Buffer II to the top of the **M-prep** column. Discard the pipette tip. **The column will have a red appearance after the addition of M-prep Buffer II.** Wait approximately 2 minutes, or until the red-colored buffer is absorbed by the column and flow stops. This step should take no longer than 30 minutes.
6. Remove the last drop of liquid from the column tip with the **M-prep** tube. Discard the tube.
7. Place a clean **M-prep** tube under the **M-prep** Column. Using a micropipette, add 250 µL of **M-prep** Buffer III to the top of the **M-prep** Column. Discard the pipette tip. Wait approximately 2 minutes or until flow stops. This step should take no longer than 30 minutes.
8. Remove the last drop of liquid from the column tip with the **M-prep** tube. Label the tube with sample identification and proceed to Test Procedure.

### TEST PROCEDURE

**NOTE:** A maximum of 10 test devices can be processed in a single Alethia reader run.

1. Remove 1 Alethia Gonorrhea Test Device from its protective pouch. Use one device per sample. Carefully open the device by lifting the latch, holding the device upright so that the lyophilized reagents do not fall out upon opening. Place the device on a flat surface or in a rack that can accommodate the device.
2. Transfer 50 µL of sample to the TEST chamber (Left/White Bead) and CONTROL chamber (Right/Yellow Bead) of the Alethia Test Device. Take care not to introduce air to the reaction mixture. Do not mix reactions with pipette.
3. Add 1 drop of Mineral Oil to both the TEST chamber and CONTROL chamber. Close the Alethia Test Device and fasten the latch securely.
4. Tap device on the bench top or mix to remove air bubbles. Carefully examine the Test Device for rehydration of the Control/Test Bead, for air bubbles left in the chamber and liquid in the top of the device. If undissolved beads, air bubbles or liquid in the top of the device are noted, tap the device on the bench top and repeat visual inspection. Amplification and detection should be initiated within 15 minutes.
5. Insert the Alethia Test Device into the Alethia reader and initiate run. Results will be displayed at the conclusion of the run.

### INTERPRETATION OF RESULTS

Sample ID	Reported Result	Interpretation
Patient Specimen	POSITIVE	Sample contains <i>Neisseria gonorrhoeae</i> target DNA.
	NEGATIVE	No <i>Neisseria gonorrhoeae</i> DNA detected.
	INVALID	<b>No reportable result. Repeat the test using the original patient specimen.</b> Inhibitory patient specimen, improper sample preparation, reagent failure, instrument failure or internal control failure.
Positive Control	POSITIVE	Valid positive control result. Reagents active at time of use, Alethia reader performing correctly.
	NEGATIVE	<b>Incorrect control result.</b> Repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services Department at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor.
	INVALID	<b>No reportable result. Repeat entire assay run using original samples.</b> Improper sample preparation, reagent failure, instrument failure or internal control failure.
Negative Control	POSITIVE	<b>Incorrect control result.</b> Repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services Department at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor.
	NEGATIVE	Valid negative control result. Reagents active at time of use, Alethia reader performing correctly.
	INVALID	<b>No reportable result. Repeat entire assay run using original samples.</b> Improper sample preparation, reagent failure, instrument failure or internal control failure.
EMPTY WELL	NONE	No Alethia Test Device in the Alethia reader Well. <b>OR</b> The Alethia Test Device present is compromised due to sample preparation failure, dirty device or improperly seated device. <b>Repeat the test using original sample.</b>

### QUALITY CONTROL

**This test should be performed per applicable local, state, or federal regulations or accrediting agencies.**

1. Each device contains an internal control that controls for amplification inhibition, assay reagents and sample processing effectiveness
2. Good laboratory practice recommends the use of control materials. Users should follow the appropriate federal, state and local guidelines concerning the running of external quality controls.
3. It is recommended that the reactivity of each new lot and each new shipment of Alethia Gonorrhea be verified on receipt and before use. External control tests should be performed thereafter in accordance with appropriate federal, state and local guidelines. The Alethia Gonorrhea test kit should not be used in patient testing if the external controls do not produce the correct results.
4. A separate Test Device must be used for each external control reagent.

## EXPECTED VALUES

The incidence of *Neisseria gonorrhoeae*, as detected by the Alethia Gonorrhea Assay in prospectively collected, non-selected specimens during the period of clinical studies was 0.9% (1/107) with endocervical swabs and 9.0% (41/454) in urine. All vaginal swabs included in the study (n=102) produced negative Alethia Gonorrhea results.

## LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. This product can only be used with the Alethia instrument.
2. The Alethia Gonorrhea assay is a qualitative assay and does not provide quantitative values or information about organism load.
3. Performance of the Alethia Gonorrhea assay with endocervical and vaginal swabs has been established using the Copan MSwab™ Collection, Preservation and Transport System for Molecular and Culture Applications, Catalog 6E028N.MER. The use of alternate swab collection systems may lead to improper results and is not recommended.
4. The detection of nucleic acids is dependent upon proper specimen collection, handling transportation, storage and preparation. Failure to observe proper procedure in any one of these steps can lead to incorrect results.
5. Organism nucleic acid may persist *in vivo*, independent of organism viability. The Alethia Gonorrhea does not distinguish between viable and nonviable organisms.
6. As with all molecular based diagnostic tests, (A) False negative results may occur from the presence of inhibitors, technical error, sample mix-up or low numbers of organisms in the clinical specimen; (B) False positive results may occur from the presence of cross-contamination by target organisms, their nucleic acids or amplified product, and from non-specific signals.

## SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The Alethia Gonorrhea DNA Amplification Assay was evaluated between July and September 2014. Clinical sample collection was carried out by three independent facilities representing geographically distinct regions within the United States. Physician-collected endocervical swabs, patient-collected vaginal swabs, female urine, and male urine specimens were collected prospectively from symptomatic and asymptomatic patients. The study was supplemented with left-over clinical urine specimens taken from patients for whom chlamydia and/or gonorrhea testing was ordered by a physician. Clinical specimens were tested with Alethia Gonorrhea by the manufacturer.

The performance of Alethia Gonorrhea was compared to an established, commercially available PCR assay for the detection of *Neisseria gonorrhoeae* and with a comparator method by an independent Reference Laboratory. Clinical study information is described below:

**Table 1** Performance Characteristics – *N. gonorrhoeae*

Comparator	Alethia Gonorrhea All Samples Combined, All Patients Female Endocervical Swabs, Female Vaginal Swabs, Female Urine, Male Urine			
	Positive	Negative	Invalid	No Flow
Positive	29	2	3	0
Negative	12	594	11	6
Not Tested	1	9	0	0
<b>Total</b>	42	605	14	6
95% CI				
<b>Sensitivity</b>	29/31	93.5%	79.3 - 98.2%	
<b>Specificity</b>	594/606	98.0%	96.6 - 98.9%	
<b>Correlation</b>	623/637	97.8%	96.3 - 98.7%	
<b>Invalid Rate</b>	14/667	2.1 %	1.3 – 3.5%	

Fourteen specimens produced invalid results, five swabs and nine urines. Six specimens did not flow through the **M-Prep** column and did not produce Alethia results.

Samples used in the study were taken from patients for whom chlamydia and/or gonorrhea testing was ordered by a physician. One hundred seventeen (25.0%) patients were considered asymptomatic and 55 (11.8%) were considered symptomatic. The remaining 295 patients were not classified.

Age information was known for 466 of the patients from whom samples were tested. Patient age ranged from 14 years to 66 years. Patients less than 14 years or age were excluded from the study. Two hundred ninety nine (60.5%) patients were between 14 and up to 21 years of age; 166 (33.6%) were between 21 and up to 65 years old; and 1 (0.2%) was above 65 but below 90 years. Age for 1 (0.2%) patient was unknown. There were no noted performance differences based on age.

The study population included 277 (59.3 %) female and 190 (40.7 %) male patients. There is no expectation that the Alethia Gonorrhea assay performance characteristics are influenced by patient gender.

## ANALYTICAL SENSITIVITY

The analytical sensitivity or Limit of Detect for the Alethia Gonorrhea assay was determined for one *N. gonorrhoeae*, strain. Limit of Detection was determined using 60 replicates and a stated probability (eg. 95%, where 57/60 replicates are positive) of obtaining positive responses. Analytical sensitivity testing is summarized below.

Strain	Concentration (CFU/mL)
ATCC 31426	240

## ASSAY REACTIVITY

The following *N. gonorrhoeae* strains were tested and produced a positive reaction with Alethia Gonorrhea at the indicated concentrations:

Strain	Concentration (CFU/mL)
ATCC 9826	240
ATCC 9827	1477
ATCC 9828	120
ATCC 9830	120
ATCC 19424	120
ATCC 31356	15
ATCC 43069	120
ATCC 43070	120
ATCC 49226	15
ATCC 49498	240
ATCC 49981	480

**REPRODUCIBILITY**

Reproducibility studies were carried out by three laboratories. Blind-coded panels of 10 samples were supplied to participating laboratories. Samples were randomly sorted within each panel to mask sample identities. The panels included contrived samples manufactured as moderate positive samples ( $2.88 \times 10^4$  CFU/mL), low positive samples (960 CFU/mL); and high negative samples (7.5 CFU/mL). The panel also included one negative sample, positive control and negative control. Testing was performed by different operators at each site on the same day (intra-assay variability) for five days (inter-assay variability). Three lots of Alethia Gonorrhoea and 13 Alethia instruments were used in this study. Positive and Negative Controls were tested each day of testing. The results are provided in the table below:

Sample Type	Site 1		Site 2		Site 3		Total	
	Percent Agreement		Percent Agreement		Percent Agreement		Percent Agreement	
Moderate Positive	30/30	100.0%	29/30	96.7%	27/30	90.0%	86/90	95.6%
Low Positive	30/30	100.0%	28/30	93.3%	28/30	93.3%	86/90	95.6%
High Negative	24/30	80.0%	29/30	96.7%	28/30	93.3%	81/90	90.0%
Negative	10/10	100.0%	10/10	100.0%	10/10	100.0%	30/30	100.0%
Negative Control	10/10	100.0%	10/10	100.0%	10/10	100.0%	30/30	100.0%
Positive Control	10/10	100.0%	10/10	100.0%	10/10	100.0%	30/30	100.0%

**CROSSREACTIVITY STUDIES**

Crossreactivity studies were performed with positive and negative urine specimens inoculated with microorganisms to a final concentration of  $1.2 \times 10^6$  CFU/mL. None of the following organisms reacted with Alethia Gonorrhoea: *Acinetobacter Iwoffii*, *Alcaligenes faecalis*, *Bacteroides fragilis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Morganella morganii*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria denitrificans*, *Neisseria elongata*, *Neisseria flava*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria mucosa*, *Neisseria perflava*, *Neisseria polysaccharea*, *Neisseria sicca*, and *Neisseria subflava*.

**TESTS FOR INTERFERING SUBSTANCES**

The following chemical substances, at the specified saturated solvent/diluent concentrations, do not interfere with test results: Acetylsalicylic Acid (4 mg/mL), Acetaminophen (3.2 mg/mL), and Feminine Body Powder (2.5% w/v).

The following biological substances, at the specified saturated solvent/diluent concentrations, do not interfere with test results: Acidic Urine [pH 4, (100% v/v)], Alkaline Urine [pH 9, (100% v/v)], Beta Estradiol (0.07 mg/mL), Human DNA (3.333 ng/mL), Leukocytes ( $1.04 \times 10^6$  cells/mL), Mucin [bovine submaxillary gland type I-S (0.2% w/v)], Progesterone (7 mg/mL), Seminal Fluid (5.0% v/v), Whole Blood (0.3% v/v).

# alethia<sup>®</sup>

## Gonorrhea

DNA Amplification Assay

Test di amplificazione del DNA  
per il rilevamento di *Neisseria gonorrhoeae*

REF 480850

IVD

### FINALITÀ D'USO

Il test Alethia Gonorrhea (NG), eseguito sull'Incubatore/Lettore Alethia, è un dispositivo diagnostico in vitro per il rilevamento di *Neisseria gonorrhoeae* in tamponi endocervicali raccolti dal medico (o da un altro professionista sanitario specializzato), in campioni prelevati con tampone vaginale raccolti dalla paziente in ambienti clinici, in campioni di urina maschili e di urina femminile.

Il test Alethia NG utilizza la tecnologia LAMP (amplificazione isoterma del DNA loop-mediata) per rilevare *Neisseria gonorrhoeae* attraverso l'identificazione di un segmento del genoma di *Neisseria gonorrhoeae*. I risultati del test Alethia NG possono essere usati come ausilio nella diagnosi dell'infezione urogenitale gonococcica in soggetti sintomatici ed asintomatici. Questo test non è da utilizzarsi per il monitoraggio dei pazienti sottoposti al trattamento delle infezioni gonococciche.

Il test Alethia NG è destinato all'uso nei laboratori ospedalieri, statali o di riferimento. Il dispositivo non è destinato all'uso presso i punti di assistenza (point of care).

### SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

Il test molecolare Alethia Gonorrhea è basato sulla tecnologia LAMP (amplificazione loop mediata).<sup>1</sup> Il test amplifica una sequenza di 194 paia di basi (bp) del genoma di *Neisseria gonorrhoeae*. La sequenza bersaglio del DNA si trova in un gene proteico associato a un fago putativo e si ritrova in tutti e tre i genomi completi di *N. Gonorrhoeae* rilevati.

L'amplificazione loop-mediata utilizza primers appositamente disegnati per ottenere la specifica e continua amplificazione isoterma del DNA. Un sotto-prodotto del processo di amplificazione del DNA è la formazione di magnesio pirofosfato, che si evidenzia grazie alla comparsa di un precipitato bianco che rende torbida la soluzione di reazione. Le caratteristiche di assorbanza della soluzione di reazione vengono lette dall'incubatore/lettore Meridian Alethia II cambiamento nelle caratteristiche di assorbanza della soluzione di reazione, determinato dalla precipitazione del magnesio pirofosfato, indica quindi la presenza del target specifico. L'assenza del DNA target fa sì che non vi sia un cambiamento significativo nell'assorbanza del campione.

Il kit Alethia Gonorrhea include il Reagente di Controllo per il test Alethia Chlamydia/Gonorrhea, i Dispositivi Test Alethia Gonorrhea ed Olio Minerale. Il Reagente di Controllo Alethia, utilizzato per la diluizione e la preparazione del campione, è una soluzione tampone contenente cellule di *E. coli* trattate con formalina che ospitano il DNA di *Staphylococcus aureus*. Il Dispositivo Test Alethia Gonorrhea contiene, in ognuna delle due camere, una microsfera di reagente di amplificazione liofilizzato: la camera del TEST contiene i primer specifici per la Gonorrhea, la camera del CONTROLLO contiene i primer specifici per *S. aureus*. Il DNA di *S. aureus* del Reagente di Controllo e i primer specifici per *S. aureus* nella camera del CONTROLLO funzionano come controllo interno della procedura. Durante la preparazione del campione, ciascun campione del paziente viene diluito con il reagente di controllo contenente il DNA target di *S. aureus*. L'aggiunta del DNA di *S. aureus* al campione biologico del paziente consente di effettuare un trattamento parallelo del DNA target e del DNA di controllo attraverso la preparazione del campione, l'amplificazione e il rilevamento. Il controllo interno serve a monitorare l'efficienza dell'estrazione del DNA, l'eventuale inibizione dell'amplificazione, le prestazioni dei reagenti e l'efficacia del processamento del campione. La sequenza target di *S. aureus* deve essere amplificata e rilevata nella reazione finale, altrimenti il test viene considerato invalido e i risultati del paziente non vengono refertati.

L'incubatore/lettore Alethia monitora le variazioni nelle caratteristiche di assorbanza misurando la trasmissione della luce attraverso le soluzioni di reazione contenute nelle provette Test e Controllo. La trasmissione della luce viene misurata all'inizio (Signal<sub>initial</sub>, S<sub>i</sub>) nonché alla fine della procedura di amplificazione (Signal<sub>final</sub>, S<sub>f</sub>). Il lettore Alethia calcola la variazione nella trasmissione della luce fra la fine e l'inizio dell'analisi (S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub>) e confronta il rapporto con un valore stabilito di cut-off.

I valori di cut-off stabiliti per la provetta TEST sono utilizzati per riportare i risultati del campione. I rapporti S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub> della provetta TEST inferiori all'82% sono riportati come "POSITIVI"; i rapporti S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub> della provetta TEST superiori o pari all'82% sono riportati come "NEGATIVI". I valori numerici ottenuti non sono riportati.

I valori di cut-off stabiliti per la provetta CONTROLLO sono utilizzati per determinare la validità del test. I rapporti S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub> della provetta CONTROLLO inferiori al 90% sono considerati validi e consentono la refertazione dei risultati ottenuti nella provetta TEST (POSITIVI, NEGATIVI). I rapporti S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub> della provetta CONTROLLO superiori o pari al 90% sono considerati non validi e impediscono la refertazione dei risultati della provetta TEST. Le reazioni della provetta CONTROLLO non valide sono riportate come "NON VALIDO". I valori numerici non sono riportati.

Alla lettura della reazione della provetta CONTROLLO vengono applicati criteri di cut-off più stringenti al fine di garantire che l'amplificazione del campione non sia stata inibita, che i reagenti reagiscano come previsto e che il processamento del campione sia stato effettuato correttamente

### PRINCIPI BIOLOGICI

L'infezione causata da *Neisseria gonorrhoeae* è una tra le infezioni batteriche sessualmente trasmesse più comuni al mondo. L'Organizzazione Mondiale della Sanità stima che ogni anno si verificano 62 milioni di casi di infezione di *N. gonorrhoeae*.<sup>2</sup> Nel 2010 sono stati segnalati 309.341 casi di gonorrea negli Stati Uniti, il che rende la gonorrea la seconda malattia infettiva sessualmente trasmissibile più comunemente segnalata negli Stati Uniti.<sup>3</sup>

*N. gonorrhoeae* è un diplococco Gram negativo non mobile. La maggior parte delle infezioni uretrali causate da *N. gonorrhoeae* negli uomini producono sintomi che li inducono a cercare un trattamento prima che si verifichino gravi sequele.<sup>4</sup> Nelle donne, l'infezione è spesso asintomatica e può portare a complicazioni come la malattia infiammatoria pelvica (PID), la gravidanza ectopica e l'infertilità.<sup>4</sup> Una piccola percentuale di persone con infezioni gonococciche può sviluppare un'infezione gonococcica disseminata (DGI).<sup>4</sup> La *N. gonorrhoeae* può essere trasmessa anche ai bambini nel canale del parto, provocando congiuntivite neonatale.<sup>4</sup>

La *N. gonorrhoeae* è diventata resistente a molti antibiotici di uso comune, tra cui penicillina, tetraciclina e, più recentemente, chinoloni. L'uso improprio di antibiotici rappresenta una delle principali preoccupazioni, perché la resistenza ai regimi orali monodose più efficaci per *N. gonorrhoeae* è diffusa. Attualmente, le cefalosporine sono l'unico antimicrobico raccomandato per il trattamento della gonorrea dai Centri statunitensi per il Controllo delle Malattie (CDC).<sup>4</sup>

### REAGENTI/MATERIALI FORNITI

Il numero massimo di analisi eseguibili con questo kit è indicato sulla confezione esterna.

- Reagente di Controllo Alethia Chlamydia/Gonorrhea (Controllo Interno) (articolo #4823-01):** soluzione tampone fosfato contenente cellule di *E. coli* trattate con formalina e colorante blu che ospitano all'interno un plasmide contenente un segmento del genoma di *S. aureus*, con sodio azide (0,09%) come conservante. Confezionato in fiasco con puntale contagocce.
- Dispositivo Test Alethia Gonorrhea (articolo #2790):** dispositivo a due camere confezionato in busta di alluminio contenente i reagenti di amplificazione liofilizzati (DNA polimerasi, deossinucleotidi trifosfati) e i primer specifici per la clamidia (camera del TEST) o i primer di controllo (camera del CONTROLLO).
- Olio minerale (articolo #14298-01)**
- Pipette di trasferimento (articolo #11515A)**

## MATERIALS PROVIDED SEPARATELY

**M-prep**<sup>®</sup>- Kit Meridian Bioscience per la preparazione del campione di DNA. Numero di catalogo: 281110

## MATERIALI NON FORNITI

1. Guanti in lattice monouso, senza talco
2. Puntali con filtro resistenti all'aerosol, DNase/RNase-free, per pipetta di precisione
3. Contenitori sterili in plastica per la raccolta di urine, senza conservanti
4. MSwab<sup>™</sup>: Sistema di raccolta, conservazione e trasporto del campione per applicazioni molecolari e colturali, Copan Flock Technologies Srl, Numero di Catalogo 6E028N.MER
5. Controlli ESTERNI Zeptomatrix: NATrol<sup>™</sup> *Neisseria gonorrhoeae* (ceppo Z017), Numero di catalogo NATNG-ERCL
6. Tampone Tris-EDTA (TE) per biologia molecolare
7. Provette per microcentrifuga da 2 mL, nucleasi-free

## STRUMENTI NON FORNITI

1. Microcentrifuga, velocità 2000 ± 250 rcf (2000 ± 250 x g)
2. Incubatore/lettore Alethia, Meridian Bioscience, Inc. Numero di catalogo: 610189
3. Micropipette di precisione in grado di dispensare 50 µL e 250 µL
4. Timer

## PRECAUZIONI

1. Tutti i reagenti sono esclusivamente per uso diagnostico in vitro.
2. Non scambiare tra lotti il Reagente di Controllo Alethia o i Dispositivi Test. L'olio minerale è intercambiabile tra lotti sempre che si utilizzi entro la data di scadenza indicata.
3. Durante i test applicare le precauzioni di Bio Sicurezza di Livello 2 e le Buone Pratiche di Laboratorio (GLP).<sup>5</sup> Manipolare come potenzialmente infetti tutti i campioni e i Dispositivi Test usati. Non mangiare, bere o fumare in aree in cui vengono manipolati i campioni o i reagenti del kit.
4. Indossare guanti monouso per la manipolazione dei campioni e lavarsi accuratamente le mani al termine dell'analisi.
5. Si suggerisce di adottare programmi di controllo di qualità esterni (VEQ) per i Laboratori di Biologia Molecolare
6. Il Dispositivo Test Alethia Gonorrhoea contiene reagenti liofilizzati. La busta protettiva non deve essere aperta fino a quando non si è pronti ad eseguire il test.
7. Il Dispositivo Test Alethia Gonorrhoea comprende un sistema di chiusura ideato per prevenire la contaminazione dell'area di lavoro con il prodotto di amplificazione. NON utilizzare Dispositivi Test con linguette di chiusura rotte.
8. Smaltire i Dispositivi Test Alethia subito dopo l'uso, lasciando chiusa la linguetta del dispositivo. NON aprire il Dispositivo Test dopo l'uso. L'apertura del Dispositivo Test dopo l'amplificazione potrebbe causare la contaminazione dell'area di lavoro con il prodotto di amplificazione.
9. Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo deve essere segnalato a Meridian Bioscience, Inc., 3471 River Hills Drive, Cincinnati, Ohio 45244 USA o al Centro di assistenza tecnica al numero 1-800-343-3858 e all'autorità competente dello Stato membro dell'UE in cui si trovano il medico e/o il paziente.
10. **IMPORTANTE:** per ulteriori informazioni sulla sicurezza e sui pericoli, consultare la SDS.

## DICHIARAZIONI DI PERICOLO E PRUDENZA

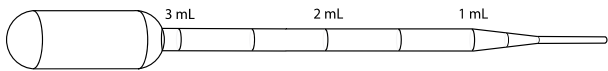
Per le nostre attuali conoscenze, non ci sono rischi associati a questo prodotto.

## STABILITÀ E CONSERVAZIONE

La data di scadenza è riportata sull'etichetta del kit. Conservare il kit a 2-30 C.

## NOTE PROCEDURALI

Le pipette di trasferimento incluse nel kit Alethia Gonorrhoea sono confezionate singolarmente e sono in grado di dispensare fino a 3 mL. La pipetta è illustrata nel disegno sottostante.



## PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Assicurarsi che i reagenti del kit siano a temperatura ambiente (19-30 C) prima dell'uso. Se i reagenti non hanno raggiunto la temperatura ambiente prima dell'uso, si possono ottenere risultati non corretti.

## RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

**Tipi di Campione:** Tamponi endocervicali raccolti dal medico, tamponi vaginali raccolti dalle pazienti (in ambienti clinici), urina maschile e femminile.

### Raccolta dei Campioni con Tampone Vaginale ed Endocervicale

I campioni ottenuti da tampone vaginale ed endocervicale dovrebbero essere raccolti da operatori sanitari formati, ai sensi delle linee guida istituzionali.

I campioni ottenuti da tampone vaginale possono essere raccolti dalla paziente dietro istruzione e supervisione di un operatore sanitario formato. Devono essere seguite le linee guida istituzionali.

### Raccolta dei Campioni di Urina

I campioni di urina devono essere raccolti in un apposito contenitore sterile, in plastica, senza conservanti. Per garantire la qualità del campione, devono essere rispettate le seguenti procedure:

1. Il paziente deve avere la vescica piena da almeno 1 ora prima della raccolta del campione.
2. Chiedere al paziente di raccogliere nel contenitore i primi 10-30 mL di urina (il primo flusso, non quello intermedio).
3. Chiudere il contenitore ed apporvi l'etichetta con le informazioni del paziente e della raccolta.

Dopo la raccolta i campioni di urina e i tamponi devono essere conservati in frigorifero (2-8 C). I campioni refrigerati possono essere conservati per un massimo di 7 giorni prima di eseguire il test. Non congelare i campioni.

## PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

**NOTA:** accendere l'incubatore/lettore Alethia. Prima di avviare la PREPARAZIONE DEL CAMPIONE assicurarsi che siano state completate le verifiche prestazionali richieste dallo strumento. Consultare il Manuale dell'Operatore del lettore Alethia per ulteriori informazioni sulla configurazione e sul funzionamento dello strumento.

**Consultare le istruzioni per l'uso nel kit M-prep per la preparazione del campione di DNA per informazioni su preparazione, orientamento e uso delle colonne.** Usare 1 colonna **M-prep** per ogni campione. Rimuovere il cappuccio superiore della colonna e solo successivamente rimuovere la punta inferiore ruotandola ed inserire poi la colonna **M-prep** in una provetta di raccolta **M-prep**. Le colonne **M-prep** drenate devono essere usate entro 1 ora dall'apertura.

Accertarsi che i campioni siano a temperatura ambiente (19-30 C) prima della preparazione.

### Preparazione del campione ottenuto da tampone

1. Per miscelare il campione ruotare il tampone nel terreno o capovolgere il contenitore. Aprire il contenitore del terreno con attenzione.
2. Usando una pipetta di trasferimento, trasferire 1,5 mL del terreno di trasporto del tampone in una provetta **M-prep** da 2,0 mL per microcentrifuga con tappo a vite. Gettare la pipetta di trasferimento.
3. Agitare brevemente con vortex il Reagente di Controllo Alethia Chlamydia/Gonorrhoea.
4. Aggiungere 1 goccia del Reagente di Controllo alla provetta **M-prep** contenente il campione. **Dopo aver aggiunto il Reagente di Controllo, il campione preparato acquisirà una colorazione azzurra.**
5. Chiudere la provetta **M-prep** contenente il campione.

#### Preparazione del campione di urine

1. Ruotare il contenitore di raccolta delle urine per miscelare. Aprire il contenitore di urine con attenzione.
2. Usando una pipetta di trasferimento, trasferire 1,5 mL di urine in una provetta **M-prep** da 2,0 mL per microcentrifuga con tappo a vite. Gettare la pipetta di trasferimento.
3. Agitare brevemente con vortex il Reagente di Controllo Alethia Chlamydia/Gonorrhea. Aggiungere 1 goccia del Reagente di Controllo alla provetta **M-prep** contenente il campione. **Dopo aver aggiunto il Reagente di Controllo, il campione preparato acquisirà una colorazione azzurra.**
4. Chiudere la provetta **M-prep** contenente il campione.

#### Preparazione del controllo positivo esterno

1. Agitare con vortex la provetta di Controllo Esterno NATrol™ *Neisseria gonorrhoeae*.
2. Trasferire 1,5 mL di Tampone TE in una provetta per microcentrifuga nucleasi-free da 2,0 mL.
3. Usando una micropipetta, aggiungere 250 µL di Controllo Esterno alla provetta contenente il tampone TE.
4. Agitare brevemente con vortex il Reagente di Controllo Alethia Chlamydia/Gonorrhea. Aggiungere 1 goccia del Reagente di Controllo alla provetta **M-prep** contenente il Campione di Controllo Positivo Esterno.
5. Chiudere la provetta per microcentrifuga contenente il Campione di Controllo Esterno.

#### Preparazione del controllo negativo esterno

1. Trasferire 1,75 mL di Tampone TE in una provetta per microcentrifuga nucleasi-free da 2,0 mL.
2. Agitare brevemente con vortex il Reagente di Controllo Alethia Chlamydia/Gonorrhea. Aggiungere 1 goccia del Reagente di Controllo alla provetta **M-prep** contenente il Tampone TE.
3. Chiudere la provetta per microcentrifuga contenente il Controllo Esterno.

#### Processamento del Campione

**NOTA:** la quantità di campione ottenuto al termine della procedura di Processamento del Campione deve essere sufficiente a completare 2 test Alethia.

1. Centrifugare ciascuna provetta **M-prep** contenente il Campione per 3 minuti a  $2000 \pm 250$  rcf ( $2000 \pm 250 \times g$ ).
2. Rimuovere la provetta **M-prep** dalla microcentrifuga. Decantare manualmente il fluido sovrannatante senza staccare il pellet formatosi durante la centrifugazione.
3. Usando una micropipetta, aggiungere 250 µL del Tampone I **M-prep** alla provetta **M-prep**. Gettare il puntale della pipetta. Agitare con vortex per 10 secondi.
4. Usando una micropipetta impostata su 250 µL, trasferire tutto il campione preparato nella parte superiore di una colonna **M-prep** adeguatamente allestita ed etichettata. Attendere circa 2 minuti o finché il campione è stato assorbito dalla colonna ed il flusso si è esaurito. Questo passaggio non deve durare più di 30 minuti.
5. Usando una micropipetta, aggiungere alla parte superiore della colonna **M-prep** 250 µL di Tampone II **M-prep**. Gettare il puntale della pipetta. **Dopo l'aggiunta del Tampone II M-prep, la colonna acquisirà un colore rosso.** Attendere circa 2 minuti o finché il Tampone II di colore rosso è stato assorbito dalla colonna ed il flusso si è esaurito. Questo passaggio non deve durare più di 30 minuti.
6. Togliere l'ultima goccia di liquido dalla punta inferiore della colonna usando la provetta **M-prep**. Gettare la provetta.
7. Inserire una provetta **M-prep** pulita sotto la colonna **M-prep**. Usando una micropipetta, aggiungere 250 µL di Tampone III **M-prep** alla parte superiore della colonna **M-prep**. Gettare il puntale della pipetta. Attendere circa 2 minuti o finché il campione è stato assorbito dalla colonna ed il flusso si è esaurito. Questo passaggio non deve durare più di 30 minuti.
8. Togliere l'ultima goccia di liquido dalla punta inferiore della colonna usando la provetta **M-prep**. Etichettare la provetta con le informazioni identificative del campione e proseguire alla Procedura del Test.

#### PROCEDURA DEL TEST

**NOTA:** Nell' incubatore/lettore Alethia è possibile processare un massimo di 10 dispositivi test per singola seduta.

1. Rimuovere 1 Dispositivo Test Alethia Gonorrhoea dalla corrispondente busta protettiva. Aprire con attenzione il dispositivo sollevando il fermo, tenendolo diritto in maniera tale che i reagenti liofilizzati non fuoriescano al momento dell'apertura. Collocare il dispositivo su una superficie piatta o su un rack in grado di contenere il dispositivo.
2. Trasferire 50 µL di campione nella camera del TEST (Sinistra/microsfera bianca) e 50 µL nella camera del CONTROLLO (Destra/microsfera gialla) del Dispositivo Test Alethia. Prestare attenzione a non introdurre bolle d'aria nella miscela di reazione. Non miscelare la soluzione di reazione con la pipetta.
3. Aggiungere 1 goccia di olio minerale alla camera del TEST e alla camera del CONTROLLO. Chiudere il Dispositivo Test Alethia e chiudere saldamente la linguetta di chiusura.
4. Picchiettare il dispositivo sul bancone o agitarlo per rimuovere le bolle d'aria. Esaminare attentamente il Dispositivo Test per verificare la dissoluzione della microsfera di controllo/test e per escludere la presenza di bolle d'aria residue nella provetta e di liquido nella parte superiore del dispositivo. Se si nota la presenza di microsfere non disciolte, bolle d'aria o liquido nella parte superiore del dispositivo, picchiettare il dispositivo sul bancone e ripetere l'ispezione visiva. L'amplificazione e il rilevamento devono iniziare entro 15 minuti.
5. Inserire il Dispositivo Test Alethia nel lettore Alethia ed iniziare la corsa. I risultati saranno visualizzati al termine della corsa.

#### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

ID campione	Risultato riportato	Interpretazione
Campione del paziente	POSITIVO	Il campione contiene il DNA target di <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .
	NEGATIVO	Nessun DNA di <i>Neisseria gonorrhoeae</i> rilevato.
	NON VALIDO	<b>Nessun risultato refertabile. Ripetere il test utilizzando il campione originale del paziente.</b> Campione del paziente con effetto inibitorio, preparazione del campione non corretta, deterioramento del reagente, guasto dello strumento o fallimento del controllo interno.
Controllo positivo	POSITIVO	Risultato del controllo positivo valido. Reagenti reattivi al momento dell'uso, Alethia lettore correttamente funzionante.
	NEGATIVO	<b>Risultato del controllo non corretto.</b> Ripetere i test di controllo come prima opzione per identificare la causa del fallimento. Se il fallimento dei test di controllo dovesse ripetersi, contattare il Servizio di Assistenza tecnica Meridian (negli USA 001-800-343-3858) o il Distributore Locale (in Italia +390331433636).
	NON VALIDO	<b>Nessun risultato refertabile. Ripetere l'intero ciclo di analisi usando i campioni originali.</b> Preparazione del campione non corretta, deterioramento del reagente, guasto dello strumento o fallimento del controllo interno.
Controllo negativo	POSITIVO	<b>Risultato del controllo non corretto.</b> Ripetere i test di controllo come prima opzione per identificare la causa del fallimento. Se il fallimento dei test di controllo dovesse ripetersi, contattare il Servizio di Assistenza tecnica Meridian (negli USA 001-800-343-3858) o il Distributore Locale (in Italia +390331433636).
	NEGATIVO	Risultato del controllo negativo valido. Reagenti reattivi al momento dell'uso, lettore Alethia correttamente funzionante.
	NON VALIDO	<b>Nessun risultato refertabile. Ripetere l'intero ciclo di analisi usando i campioni originali.</b> Preparazione del campione non corretta, deterioramento del reagente, guasto dello strumento o fallimento del controllo interno.
POZZETTO VUOTO	NESSUNO	Nessun dispositivo di analisi Alethia nel pozzetto del lettore Alethia. <b>OPPURE</b> Il dispositivo di analisi Alethia presente è compromesso a causa di un errore nella preparazione del campione, dispositivo sporco o dispositivo non propriamente alloggiato. <b>Ripetere il test utilizzando il campione originale.</b>

## CONTROLLO QUALITÀ

### Il test va eseguito conformemente ai requisiti stabiliti dai competenti enti locali, regionali, nazionali o dagli enti di accreditamento.

- Ogni dispositivo contiene un controllo interno che controlla l'inibizione dell'amplificazione, i reagenti di analisi e l'efficacia del trattamento del campione.
- La buona pratica di laboratorio raccomanda l'uso di materiali di controllo. Gli operatori devono attenersi alle appropriate linee guida federali, statali e locali riguardanti l'utilizzo dei controlli di qualità esterni.
- Si raccomanda di verificare la reattività di ciascun nuovo lotto e di ogni nuova spedizione di Alethia Gonorrhoea al momento della ricezione e prima dell'uso. I test di controllo esterni possono essere eseguiti successivamente, in conformità con le appropriate linee guida regionali, statali e locali. Il kit del test Alethia Gonorrhoea non va utilizzato per l'analisi dei pazienti se i controlli esterni non producono i risultati corretti.
- Occorre utilizzare un Dispositivo Test separato per ciascun reagente di controllo esterno.

## VALORI ATTESI

L'incidenza di *Neisseria gonorrhoeae* rilevata dal test Alethia Gonorrhoea in campioni non selezionati, raccolti in modo prospettico durante il periodo degli studi clinici è risultata pari allo 0,9% (1/107) con tamponi endocervicali e al 9,0% (41/454) nelle urine. Tutti i tamponi vaginali inclusi nello studio (n=102) hanno prodotto risultati negativi per Alethia Gonorrhoea.

## LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

- Questo prodotto può essere usato solo con lo strumento Alethia.
- Il test Alethia Gonorrhoea è un test qualitativo e non fornisce valori quantitativi o informazioni relative alla carica batterica dell'organismo.
- La prestazione del test Alethia Gonorrhoea con tamponi endocervicali e vaginali è stata determinata utilizzando il sistema Copan MSwab™ per la Raccolta, Conservazione e Trasporto del campione per applicazioni molecolari e colturali, N. Cat. 6E028N.MER. L'uso di altri sistemi di raccolta dei tamponi può causare risultati errati e non è raccomandato.
- Il rilevamento degli acidi nucleici dipende dall'adeguatezza delle procedure di prelievo, manipolazione, trasporto, conservazione e preparazione dei campioni. Il mancato rispetto della procedura appropriata per ciascuna di queste fasi può portare a risultati errati.
- Gli acidi nucleici degli organismi possono persistere *in vivo* indipendentemente dalla vitalità degli organismi stessi. Il test Alethia Gonorrhoea non distingue tra organismi vitali e non vitali.
- Come per tutti i test diagnostici molecolari, (A) i risultati Falsi negativi possono verificarsi in presenza di inibitori, errori tecnici, scambio di campioni o basso numero di organismi nel campione clinico, (B) i risultati Falsi positivi possono verificarsi in presenza di contaminazione crociata da parte degli organismi bersaglio, dei rispettivi acidi nucleici o del prodotto di amplificazione nonché da segnali aspecifici.

## PRESTAZIONI SPECIFICHE

Il test di amplificazione del DNA Alethia Gonorrhoea è stato valutato tra luglio e settembre 2014. La raccolta dei campioni clinici è stata eseguita da tre strutture indipendenti rappresentanti regioni geografiche distinte all'interno degli Stati Uniti. I tamponi endocervicali raccolti dal medico, i tamponi vaginali raccolti dalla paziente e i campioni maschili e femminili di urina sono stati raccolti in modo prospettico da pazienti sintomatici e asintomatici. Lo studio è stato integrato con campioni clinici di urina ottenuti da pazienti per i quali il medico aveva ordinato un test per la clamidia e/o gonorrhoea. I campioni clinici sono stati analizzati con Alethia Gonorrhoea dal produttore.

Le prestazioni di Alethia Gonorrhoea sono state confrontate con un test PCR consolidato disponibile in commercio per il rilevamento di *Neisseria gonorrhoeae* e con un metodo di confronto da un laboratorio di riferimento indipendente. Di seguito sono riportate le informazioni sullo studio clinico.

Tabella 1 Caratteristiche prestazionali – *N. gonorrhoeae*

Confronto	Alethia Gonorrhoea Tutti i campioni combinati, tutti i pazienti Tamponi endocervicali femminili, tamponi vaginali femminili, urina femminile, urina maschile			
	Positivo	Negativo	Non Valido	Mancato flusso
Positivo	29	2	3	0
Negativo	12	594	11	6
Non testato	1	9	0	0
Totale	42	605	14	6
				95% CI
Sensibilità	29/31	93.5%	79.3 - 98.2%	
Specificità	594/606	98.0%	96.6 - 98.9%	
Correlazione	623/637	97.8%	96.3 - 98.7%	
Percentuale di Invalidi	14/667	2.1 %	1.3 - 3.5%	

Quattordici campioni hanno prodotto risultati non validi, cinque tamponi e nove urine. Sei campioni non sono fluiti attraverso la colonna **M-Prep** e non hanno prodotto risultati Alethia.

I campioni utilizzati nello studio sono stati ottenuti da pazienti per i quali il medico aveva prescritto un test per la clamidia e/o gonorrhoea. Centodiciassette (25,0%) pazienti sono stati considerati asintomatici e 55 (11,8%) sono stati considerati sintomatici. I rimanenti 295 pazienti non sono stati classificati.

Le informazioni relative all'età erano note per 466 pazienti i cui campioni sono stati sottoposti ad analisi. L'età dei pazienti andava da 14 anni a 66 anni. Sono stati esclusi dallo studio i pazienti di età inferiore a 14 anni. Duecentonovantanove (60,5%) pazienti avevano tra i 14 e i 21 anni di età; 166 (33,6%) avevano tra i 21 e i 65 anni; e 1 (0,2%) aveva più di 65 ma meno di 90 anni. L'età di 1 (0,2%) paziente era sconosciuta. Non sono state notate differenze nelle prestazioni in base all'età.

La popolazione dello studio includeva 277 (59,3%) pazienti di sesso femminile e 190 (40,7%) pazienti di sesso maschile. Non si prevedono differenze nelle prestazioni del test Alethia Gonorrhoea in base al sesso del paziente.

## SENSIBILITÀ ANALITICA

La sensibilità analitica o Limite di Rilevabilità per il test Alethia Gonorrhoea è stato determinato per un ceppo di *N. gonorrhoeae*. Il Limite di Rilevabilità stato determinato usando 60 repliche e una probabilità dichiarata (per es.: 95% dove 57/60 repliche sono positive) di ottenere risposte positive. L'analisi della sensibilità analitica è sintetizzata qui di seguito.

Ceppo	Concentrazione (CFU/mL)
ATCC 31426	240

**REATTIVITÀ DEL TEST**

Sono stati analizzati i seguenti ceppi di *N. gonorrhoeae* che hanno prodotto una reazione positiva con Alethia Gonorrhoea alle concentrazioni indicate:

Ceppo	Concentrazione (CFU/mL)
ATCC 9826	240
ATCC 9827	1477
ATCC 9828	120
ATCC 9830	120
ATCC 19424	120
ATCC 31356	15
ATCC 43069	120
ATCC 43070	120
ATCC 49226	15
ATCC 49498	240
ATCC 49981	480

**RIPRODUCIBILITÀ**

Gli studi di riproducibilità sono stati condotti da tre diversi laboratori. Ai laboratori partecipanti sono stati forniti pannelli di 10 campioni codificati in cieco. I campioni sono stati ordinati casualmente all'interno di ciascun pannello per mascherare le identità dei campioni. I pannelli includevano campioni artificialmente prodotti artificialmente come campioni positivi moderati ( $2,88 \times 10^4$  IFU/mL), campioni positivi bassi (960 IFU/mL) e campioni negativi alti (7,5 IFU/mL). Il pannello comprendeva anche un campione negativo, un controllo positivo e un controllo negativo. L'analisi è stata condotta da diversi operatori in ciascun laboratorio lo stesso giorno (variabilità intra-analisi) per cinque giorni (variabilità inter-analisi). Tre lotti di Alethia Gonorrhoea e 13 strumenti Alethia sono stati utilizzati in questo studio. I Controlli Positivi e Negativi sono stati analizzati ogni giorno di analisi. I risultati sono mostrati nella tabella seguente:

Tipo di campione	Laboratorio 1		Laboratorio 2		Laboratorio 3		Totale	
	Percentuale di Concordanza		Percentuale di Concordanza		Percentuale di Concordanza		Percentuale di Concordanza	
<b>Positivo Moderato</b>	30/30	100,0%	29/30	96,7%	27/30	90,0%	86/90	95,6%
<b>Basso Positivo</b>	30/30	100,0%	28/30	93,3%	28/30	93,3%	86/90	95,6%
<b>Alto Negativo</b>	24/30	80,0%	29/30	96,7%	28/30	93,3%	81/90	90,0%
<b>Negativo</b>	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%
<b>Controllo Negativo</b>	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%
<b>Controllo Positivo</b>	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%

**CROSS-REATTIVITÀ**

Sono stati eseguiti studi di reattività crociata con campioni di urina positivi e negativi inoculati con microorganismi ad una concentrazione finale di  $1,2 \times 10^6$  CFU/mL. Nessuno dei seguenti organismi ha reagito con Alethia Gonorrhoea: *Acinetobacter lwoffii*, *Alcaligenes faecalis*, *Bacteroides fragilis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Morganella morganii*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria denitrificans*, *Neisseria elongata*, *Neisseria flava*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria mucosa*, *Neisseria perflava*, *Neisseria polysaccharea*, *Neisseria sicca*, e *Neisseria subflava*.

**ANALISI DI SOSTANZE INTERFERENTI**

Le seguenti sostanze chimiche, alle specifiche concentrazioni saturate di solvente/diluyente, non interferiscono con i risultati del test: Acido acetilsalicilico (4 mg/mL), acetaminofene (3,2 mg/mL) e Polvere per il Corpo Femminile (2,5% peso/volume).

Le seguenti sostanze biologiche, alle specifiche concentrazioni saturate di solvente/diluyente, non interferiscono con i risultati del test: Urina Acida [pH 4, (100% v/v)], Urina Alcalina [pH 9, (100% v/v)], Beta Estradiolo (0,07 mg/mL), DNA Umano (3,333 ng/mL), Leucociti ( $1,04 \times 10^6$  cellule/mL), Mucina [ghiandola sottomandibolare bovina, tipo I-S (0,2% peso/volume)], Progesterone (7 mg/mL), Liquido Seminale (5,0% v/v), Sangue Intero (0,3% v/v).

# alethia®

## Gonorrhea

DNA Amplification Assay

Test d'amplification de l'ADN  
pour la détection du *Neisseria gonorrhoeae*

REF 480850

IVD

### BUT DE LA METHODE

Le test Alethia Gonorrhea (NG), réalisé sur l'Incubateur/Lecteur Alethia, est un dispositif de diagnostic in vitro pour la détection de *Neisseria gonorrhoeae* dans des échantillons de frottis endocervicaux prélevés par un médecin (ou autre professionnel de santé formé) dans des prélèvements vaginaux obtenus en environnement clinique, dans des échantillons d'urine masculine et d'urine féminine.

Le test Alethia NG utilise la technique d'amplification isotherme de l'ADN facilitée par boucle (en anglais, loop-mediated isothermal DNA amplification ou LAMP) pour détecter *Neisseria gonorrhoeae* en ciblant un segment du génome de *Neisseria gonorrhoeae*. Les résultats du test Alethia NG peuvent servir d'aide au diagnostic d'une infection urogénitale gonococcique chez les patients asymptomatiques et symptomatiques. Ce test n'est pas destiné pour la surveillance des patients sous traitement d'infections à gonococciques.

Le test Alethia NG est conçu pour les laboratoires hospitaliers, de référence ou dans les laboratoires d'état. Le dispositif n'est pas destiné à une utilisation en centre de soins.

### RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Le test moléculaire Alethia Gonorrhea repose sur la technique d'amplification génique isotherme (LAMP).<sup>1</sup> Il vise une séquence de 194 paires de base (pb) du génome *Neisseria gonorrhoeae*. La séquence d'ADN cible se trouve dans un gène putatif de protéine associée à des phages et se retrouve dans chacun des trois génomes complets de *N. gonorrhoeae* présente.

L'amplification génique isotherme utilise des amorces conçues spécialement pour fournir une amplification isotherme continue de l'ADN. Le pyrophosphate de magnésium est un produit secondaire de cette amplification, et forme un précipité blanc qui trouble la solution de réaction. Les caractéristiques d'absorbance de la solution de réaction sont lues par Incubateur/Lecteur Alethia de Meridian. La présence de l'ADN cible est indiquée par la modification des caractéristiques d'absorbance de la solution de réaction en raison de la précipitation du pyrophosphate de magnésium. En l'absence de l'ADN cible, aucune modification significative de l'absorbance de l'échantillon n'est observée.

Le kit Alethia Gonorrhea comprend le contrôle de dosage Alethia Chlamydia/Gonorrhea, des dispositifs de test Alethia Gonorrhea et de l'huile minérale. Le contrôle de dosage Alethia, utilisé pour la dilution et la préparation des échantillons, est une solution tamponnée qui contient des cellules *E. coli* traitées au formol abritant de l'ADN de *Staphylococcus aureus*. Le dispositif de test Alethia Gonorrhea contient une bille de réactif d'amplification lyophilisé dans chacun des deux puits: un puits TEST avec des amorces spécifiques pour la chlamydia et un puits CONTRÔLE avec des amorces spécifiques pour *S. aureus*. L'ADN de *S. aureus* de contrôle et les amorces spécifiques pour *S. aureus* dans le puits CONTRÔLE jouent le rôle de contrôle interne du dosage. Pendant la préparation des échantillons, chaque échantillon de patient est dilué avec le réactif de contrôle contenant la cible contrôle *S. aureus*. L'ajout d'ADN de *S. aureus* à l'échantillon du patient permet de traiter en parallèle l'ADN cible et l'ADN de contrôle au cours de la préparation, l'amplification et de la détection de l'échantillon. Le contrôle interne est utilisé pour surveiller l'extraction de l'ADN, l'inhibition possible de l'amplification, la performance des réactifs du test et l'efficacité du processus pour l'échantillon. La séquence cible de *S. aureus* doit être amplifiée et détectée dans la réaction finale. Dans le cas contraire, le test est considéré comme étant non valide et les résultats du patient ne sont pas rendus.

L'Incubateur/Lecteur Alethia suit les modifications des caractéristiques d'absorbance en mesurant la transmission de la lumière à travers les solutions de réaction TEST et CONTRÔLE. La transmission de la lumière est mesurée au début (Signal<sub>initial</sub>, S<sub>i</sub>) et à la fin (Signal<sub>final</sub>, S<sub>f</sub>) du processus d'amplification. Le lecteur Alethia calcule la variation de la transmission de la lumière entre le début et la fin du processus d'amplification (S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub>) et compare le rapport à une valeur seuil prédéfinie.

Des valeurs seuil prédéfinies pour la chambre de TEST sont utilisées pour présenter les résultats des échantillons. Les rapports de la chambre de TEST S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub> inférieurs à 82 % sont présentés comme « POSITIFS »; les rapports de la chambre de S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub> supérieurs ou égaux à 82 % sont présentés comme « NÉGATIFS ». *Les valeurs numériques ne sont pas présentées.*

Des valeurs seuil prédéfinies pour le puits CONTRÔLE sont utilisées pour déterminer la validité du test. Les rapports S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub> du puits CONTRÔLE inférieurs à 90 % sont considérés valides et conduisent au rendu des résultats du puits TEST (POSITIF, NÉGATIF). Les rapports S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub> du puits CONTRÔLE égaux ou supérieurs à 90 % sont considérés non valides et empêchent le rendu des résultats du puits TEST. Les puits CONTRÔLE non valides entraînent un résultat patient « NON VALIDE ». *Les valeurs numériques ne sont pas présentées.*

Des critères d'exclusion plus sévères sont appliqués à la réaction du puits CONTRÔLE pour s'assurer que l'amplification n'est pas inhibée, que les réactifs fonctionnent comme prévu et que le processus d'amplification de l'échantillon s'est déroulé de manière appropriée.

### PRINCIPE DU TEST

*Neisseria gonorrhoeae* est l'une des infections bactériennes sexuellement transmissibles les plus répandues dans le monde. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime qu'il y a, chaque année, 62 millions de nouveaux cas d'infections à *N. gonorrhoeae*.<sup>2</sup> On comptait 309,341 cas déclarés de gonorrhée aux Etats-Unis en 2010, ce qui en faisait la deuxième maladie infectieuse sexuellement transmissible la plus courante aux Etats-Unis.<sup>3</sup>

*N. gonorrhoeae* est un diplocoque gram négatif non mobile. La majorité des infections de l'urètre provoquées par *N. gonorrhoeae* chez les hommes produit des symptômes qui les amènent à rechercher un traitement avant l'apparition de séquelles graves.<sup>4</sup> L'infection chez la femme est souvent asymptomatique et peut entraîner des complications telles que maladie inflammatoire pelvienne (MIP), grossesse extra-utérine et stérilité.<sup>4</sup> Un pourcentage plus faible de personnes atteintes d'infections gonococciques peut développer une infection gonococcique disséminée (IGD).<sup>4</sup> *N. gonorrhoeae* peut également être transmis dans le canal de naissance, provoquant une conjonctivite du nouveau-né.<sup>4</sup>

La bactérie *N. gonorrhoeae* est devenue résistante à de nombreux antibiotiques d'usage courant, notamment la pénicilline, la tétracycline et, plus récemment, les quinolones. L'utilisation inconsidérée des antibiotiques est un souci majeur, car la résistance à l'administration orale à dose unique, moyen le plus efficace pour lutter contre *N. gonorrhoeae*, s'est largement répandue. À l'heure actuelle, les céphalosporines sont les seuls antimicrobiens recommandés pour le traitement de la gonorrhée par les centres de prévention et de contrôle des maladies aux Etats-Unis.<sup>4</sup>

### MATERIEL FOURNI

Le nombre maximal de tests pouvant être réalisés à partir de ce coffret est indiqué sur la boîte.

- Contrôle du dosage Alethia Chlamydia/Gonorrhea (Contrôle de dosage) (article #4823-01):** solution tamponnée au phosphate contenant un colorant bleu et des cellules *E. coli* traitées au formol abritant un plasmide contenant un segment du génome de *S. aureus*, conservé à l'aide d'azide de sodium (0,09 %). Conditionné dans un flacon avec embout compte-gouttes.
- Dispositif de test Alethia Gonorrhea (article #2790):** dispositif à deux puits, conditionné dans un sachet en aluminium, contenant des réactifs d'amplification lyophilisés (ADN polymérase, désoxynucléotides triphosphates) et des amorces spécifiques de *N. gonorrhoeae* (puits TEST) ou des amorces de contrôle (puits CONTRÔLE).
- Huile minérale (article #14298-01)**
- Pipettes de transfert (article #11515A)**

## MATERIEL FOURNI SEPAREMENT

**M-prep**: Kit, Meridian Bioscience, Inc., de préparation d'échantillon d'ADN Numéro de catalogue: 281110

## MATERIEL NON FOURNI

1. Gants jetables en latex, non poudrés
2. Embouts de pipettes résistant aux aérosols, sans ADNase/ARNase
3. Récipients stériles, en plastique, pour la collecte d'urine, sans conservateur
4. MSwab™: système de collecte, conservation et transport pour applications moléculaires et pour culture, Copan Flock Technologies Srl, Numéro de catalogue 6E028N.MER
5. Contrôles externes NATrol™ *Neisseria gonorrhoeae* (Souche Z017), Zeptomatrix, Numéro de catalogue NATNG-ERCL
6. Tampon Tris-EDTA (TE) de qualité biologie moléculaire
7. Tubes de microcentrifugation sans nucléase, 2 mL

## EQUIPEMENT NON FOURNI

1. Microcentrifugeuse capable de 2000 ± 250 FCR (2000 ± 250 x g)
2. Incubateur/Lecteur Alethia, Meridian Bioscience, Inc. Numéro de catalogue: 610189
3. Micropipette(s) pouvant distribuer 50 µL et 250 µL
4. Minuteur

## PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Tous les réactifs sont pour un usage diagnostique in vitro.
2. Ne pas mélanger les réactifs de contrôle de dosage ou les dispositifs de test appartenant à des lots différents. L'huile minérale est interchangeable à condition de respecter les dates limites de péremption indiquées.
3. Respecter les recommandations de biosécurité de niveau 2 et les bonnes pratiques de laboratoire pendant l'analyse.<sup>5</sup> Traiter tous les échantillons et tous les dispositifs de tests usagés comme susceptibles de transmettre des agents infectieux. Ne pas manger, boire ou fumer dans les espaces où les échantillons ou les réactifs du kit sont manipulés.
4. Porter des gants jetables lors de la manipulation des échantillons. Se laver minutieusement les mains après la manipulation.
5. Suivre les programmes de contrôle de la qualité pour les laboratoires de diagnostic moléculaire.
6. Le dispositif de test Alethia Gonorrhoea contient des réactifs lyophilisés. Ne pas retirer la pochette de protection avant d'être prêt à effectuer le test.
7. Le dispositif de test Alethia Gonorrhoea comporte un loquet conçu pour éviter la contamination de la zone de test par le produit d'amplification. NE PAS utiliser les dispositifs de test dont le loquet est brisé.
8. Jeter les dispositifs de test Alethia utilisés immédiatement après le test en laissant le loquet bien en place. NE PAS ouvrir le dispositif de test après utilisation. L'ouverture du dispositif après l'amplification peut contaminer la zone de test avec le produit d'amplification.
9. Tout incident grave lié au dispositif doit être signalé à Meridian Bioscience, Inc., 3471 River Hills Drive, Cincinnati, Ohio 45244, États-Unis, ou au Centre de service clientèle au 1-800-343-3858 ainsi qu'à l'autorité compétente de l'État membre de l'UE où le du clinicien et/ou le patient sont établis.
10. IMPORTANT: Voir la fiche de sécurité pour des informations supplémentaires concernant la sécurité et les dangers.

## DANGER ET MISES EN GARDE

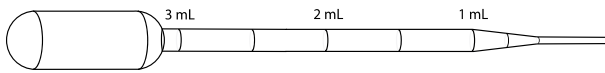
A notre connaissance, il n'y a pas de risque connu associé à ce produit.

## DUREE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date d'expiration figure sur l'étiquette du kit. Conserver le kit à une température comprise entre 2 C et 30 C.

## REMARQUES SUR LA PROCEDURE

La pipette de transfert incluse dans le kit Alethia Gonorrhoea est emballée séparément et peut distribuer jusqu'à 3 mL. La pipette se présente comme dans le schéma ci-dessous.



## PREPARATION DES REACTIFS

S'assurer que les réactifs du kit sont à température ambiante (19-30 C) avant leur emploi. Si les réactifs ne sont pas amenés à la température ambiante avant l'emploi, les résultats pourraient être erronés.

## PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

**Types d'échantillon:** frottis endocervicaux recueillis par un médecin, frottis vaginaux de patiente (en environnement clinique), urine masculine et urine féminine

### Collecte d'échantillons de frottis vaginaux et endocervicaux

Les échantillons de frottis vaginaux et endocervicaux doivent être recueillis par des professionnels médicaux, conformément aux directives de l'établissement

Des échantillons de frottis vaginal peuvent être recueillis par la patiente elle-même, à condition que cela soit fait selon les instructions et sous la supervision d'un professionnel de santé qualifié. Le respect des directives de l'établissement est essentiel

### Collecte d'échantillons d'urine

Les échantillons d'urine doivent être recueillis dans un récipient en plastique, stérile et sans agent de conservation. Pour garantir la qualité des échantillons, il convient d'appliquer la procédure suivante :

1. Ne pas laisser le patient/la patiente uriner pendant au moins 1 heure avant le prélèvement des échantillons.
2. Demander au patient de recueillir les 10 à 30 premiers millilitres d'urine émise (la première partie du flux, pas celle du milieu) directement dans le récipient de collecte.
3. Réfermer et étiqueter le récipient de collecte avec les informations concernant le patient et la collecte de l'échantillon

Les écouvillons et l'urine collectés doivent être conservés au réfrigérateur (2-8 C) après la collecte. Les échantillons réfrigérés peuvent être conservés jusqu'à 7 jours avant d'être analysés. Ne pas congeler les échantillons.

## PREPARATION DES ECHANTILLONS

**REMARQUE:** mettre en marche l'Incubateur/Lecteur Alethia. Veiller à ce que la vérification de performance requise-ait été effectuée avant le début de la PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS. Consulter le manuel de l'utilisateur du lecteur Alethia pour obtenir de plus amples renseignements sur l'installation et le fonctionnement de l'appareil.

Consulter la notice du kit de préparation des échantillons d'ADN **M-prep** pour des informations concernant la préparation, l'orientation et l'utilisation de la colonne. Utiliser 1 colonne **M-prep** par échantillon. Retirer le capuchon du haut de la colonne, puis l'embout à dévisser du bas, et placer l'embout de la colonne dans un tube **M-prep** pour la vider. Les colonnes **M-prep** drainées doivent être utilisées dans un délai de 1 heure.

S'assurer que les échantillons sont à température ambiante (19-30 C) avant la préparation des échantillons.

### Préparation des échantillons sur écouvillons

1. Pour mélanger l'échantillon, faire tourner l'écouvillon recueilli dans le milieu ou retourner le récipient. Ouvrir le récipient contenant le milieu avec précaution.
2. À l'aide d'une pipette de transfert, transférer 1,5 mL du milieu de transport de l'écouvillon dans un tube à microcentrifugation **M-prep** à bouchon à vis de 2,0 mL. Jeter la pipette de transfert.
3. Passer brièvement le contrôle de dosage Alethia Chlamydia/Gonorrhoea au Vortex.
4. Ajouter 1 goutte du contrôle de dosage dans le tube **M-prep** contenant l'échantillon. **L'échantillon préparé aura un aspect bleu clair après ajout du réactif de contrôle de dosage.**
5. Boucher le tube **M-prep** contenant l'échantillon.

### Préparation des échantillons d'urine

1. Faire tourner le récipient de collecte d'urine pour mélanger. Ouvrir le récipient d'urine avec précaution.
2. À l'aide d'une pipette de transfert, transférer 1,5 mL d'urine dans un tube de microcentrifugation **M-prep** à bouchon à vis. Jeter la pipette de transfert.
3. Passer brièvement le contrôle de dosage Alethia Chlamydia/Gonorrhoea au Vortex. Ajouter 1 goutte du contrôle de dosage dans le tube **M-prep** contenant l'échantillon. **L'échantillon préparé aura un aspect bleu clair après ajout du réactif de contrôle de dosage.**
4. Boucher le tube **M-prep** contenant l'échantillon.

### Préparation du contrôle positif externe

1. Passer le contrôle externe NATrol™ *Neisseria gonorrhoeae* au Vortex.
2. Transférer 1,5 mL de tampon TE dans un tube de microcentrifugation sans nucléase de 2,0 mL.
3. À l'aide d'une micropipette, ajouter 250 µL de Contrôle externe dans le tube contenant le tampon TE.
4. Passer brièvement le contrôle de dosage Alethia Chlamydia/Gonorrhoea au Vortex. Ajouter 1 goutte du contrôle de dosage dans le tube **M-prep** contenant l'échantillon.
5. Boucher le tube de microcentrifugation contenant le contrôle positif externe.

### Préparation du contrôle externe négatif

1. Transférer 1,75 mL de tampon TE dans un tube de microcentrifugation sans nucléase de 2,0 mL.
2. Passer brièvement le contrôle de dosage Alethia Chlamydia/Gonorrhoea au Vortex. Ajouter 1 goutte du contrôle de dosage dans le tube **M-prep** contenant l'échantillon.
3. Boucher le tube de microcentrifugation contenant le contrôle NEGATIF externe.

### Traitement des échantillons

**REMARQUE:** la quantité d'échantillon recueillie à la fin de la procédure de traitement des échantillons doit être suffisante pour réaliser 2 tests Alethia.

1. Centrifuger chaque tube **M-prep** contenant de l'échantillon pendant 3 minutes à 2000 ± 250 FCR (2000 ± 250 x g).
2. Retirer le tube **M-prep** de la microcentrifugeuse. Décanter manuellement le liquide surnageant sans perturber le culot formé pendant la centrifugation.
3. À l'aide d'une micropipette, ajouter 250 µL de tampon **M-prep I** dans le tube **M-prep**. Jeter l'embout de la pipette. Passer au Vortex pendant 10 secondes.
4. À l'aide d'une micropipette réglée sur 250 µL, transférer la totalité de ce volume d'échantillon préparé dans la partie supérieure d'une colonne **M-prep** étiquetée et préparée de façon appropriée. Attendre environ 2 minutes, ou jusqu'à ce que l'échantillon ait été absorbé par la colonne et que l'écoulement s'arrête. Cette étape ne devrait pas prendre plus de 30 minutes.
5. À l'aide d'une micropipette, ajouter 250 µL de tampon **M-prep II** dans la partie supérieure d'une colonne **M-prep**. Jeter l'embout de la pipette. **La colonne vira au rouge après l'ajout de tampon M-prep II.** Attendre environ 2 minutes, ou jusqu'à ce que le tampon de couleur rouge soit absorbé par la colonne et que l'écoulement s'arrête. Cette étape ne devrait pas prendre plus de 30 minutes.
6. Retirer la dernière goutte de liquide de l'embout de la colonne à l'aide du tube **M-prep**. Jeter le tube.
7. Placer un tube **M-prep** propre sous la colonne **M-prep**. À l'aide d'une micropipette, ajouter 250 µL de tampon **M-prep III** dans la partie supérieure de la colonne **M-prep**. Jeter l'embout de la pipette. Attendre environ 2 minutes ou jusqu'à ce que l'écoulement s'arrête. Cette étape ne devrait pas prendre plus de 30 minutes.
8. Retirer la dernière goutte de liquide de l'embout de la colonne à l'aide du tube **M-prep**. Etiqueter le tube avec les informations d'identification de l'échantillon et passer à la procédure de test.

### PROCEDURE DE TEST

**REMARQUE:** Incubateur/Lecteur Alethia peut traiter un maximum de 10 dispositifs de test par série.

1. Retirer 1 dispositif de test Alethia Gonorrhoea de son enveloppe de protection par échantillon. Ouvrir dispositif avec précaution en soulevant le loquet et en maintenant celui-ci bien droit afin que les réactifs lyophilisés ne tombent pas à l'ouverture. Placer le dispositif sur une surface plane ou dans un support adapté pour le recevoir.
2. Transférer 50 µL de chaque échantillon vers le puits TEST (gauche/bille blanche) et le puits CONTRÔLE (droite/bille jaune) du dispositif de test Alethia. Veiller à ne pas introduire de bulles d'air dans le mélange réactionnel. Ne pas mélanger les mélanges réactionnels à la pipette.
3. Ajouter 1 goutte d'huile minérale à la fois dans le puits TEST et dans le puits CONTRÔLE. Fermer le dispositif de test Alethia et verrouiller en rabattant le loquet.
4. Tapoter le dispositif sur la paillasse ou mélanger pour éliminer les bulles d'air. Examiner soigneusement le dispositif de test pour vérifier la réhydratation de la bille de contrôle/de test, l'absence de bulles d'air dans le puits et de liquide au sommet du dispositif. Si les billes ne sont pas dissoutes, en cas de présence de bulles d'air ou de liquide au sommet du dispositif, tapoter celui-ci sur la paillasse et répéter l'examen visuelle. L'amplification et la détection doivent commencer dans les 15 minutes.
5. Insérer le dispositif de test Alethia dans le lecteur Alethia et lancer l'opération. Les résultats seront affichés à la fin de l'exécution du test.

### INTERPRETATION DES RESULTATS

ID échantillon	Résultats indiqués	Interprétation
Echantillon de patient	POSITIF	L'échantillon contient l'ADN cible du <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .
	NEGATIF	Aucun ADN de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> n'a été détecté.
	NON VALIDE	<b>Aucun rendu de résultat possible. Recommencer le test à l'aide des échantillons de patient d'origine.</b> Spécimen de patient inhibiteur, mauvaise préparation de l'échantillon, échec du réactif, erreur de l'instrument ou échec du contrôle interne.
Contrôle positif	POSITIF	Résultat de contrôle positif valide. Réactifs actifs au moment de l'utilisation, fonctionnement correct du lecteur Alethia.
	NEGATIF	<b>Résultat de contrôle non valide.</b> La première étape pour déterminer la cause de l'échec est de répéter les tests de contrôle. Contacter le Service Technique de Meridian Bioscience ou votre distributeur local pour assistance si les résultats de contrôle escomptés ne sont pas observés de façon répétée.
	NON VALIDE	<b>Aucun rendu de résultat possible. Recommencer l'intégralité de l'analyse à l'aide des échantillons d'origine.</b> Mauvaise préparation de l'échantillon, échec du réactif, erreur de l'instrument ou échec du contrôle interne.
Contrôle négatif	POSITIF	<b>Résultat de contrôle non valide.</b> La première étape pour déterminer la cause de l'échec est de répéter les tests de contrôle. Contacter le Service Technique de Meridian Bioscience ou votre distributeur local pour assistance si les résultats de contrôle escomptés ne sont pas observés de façon répétée.
	NEGATIF	Résultat de contrôle négatif valide. Réactifs actifs au moment de l'utilisation, fonctionnement correct du lecteur Alethia.
	NON VALIDE	<b>Aucun rendu de résultat possible. Recommencer l'intégralité de l'analyse à l'aide des échantillons d'origine.</b> Mauvaise préparation de l'échantillon, échec du réactif, erreur de l'instrument ou échec du contrôle interne.
PUITS VIDE	AUCUN	Aucun dispositif de test Alethia dans le puits du lecteur Alethia. <b>OU</b> le dispositif de test Alethia présent ne répond pas en raison d'une mauvaise préparation de l'échantillon, de saleté ou d'un mauvais positionnement du dispositif. <b>Recommencer le test à partir des échantillons d'origine.</b>

## CONTROLE DE QUALITE

**Ce test doit être réalisé en fonction des exigences des réglementations locales et / ou nationales ou des directives des organismes d'accréditation.**

1. Chaque dispositif contient un contrôle interne qui vérifie l'absence d'inhibition de l'amplification, l'efficacité des réactifs de test et le processus de test des échantillons.
2. Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent l'emploi de matériels de contrôle. Les utilisateurs doivent suivre les directives locales, nationales ou fédérales appropriées relatives à l'exécution de contrôles de qualité externes.
3. Il est recommandé de vérifier la réactivité de chaque nouveau lot et chaque nouvel envoi d'Alethia Gonorrhoea à la réception et avant l'emploi. Les tests de contrôle externe doivent être effectués par la suite conformément aux directives locales, nationales et fédérales. Le kit de test Alethia Gonorrhoea ne peut pas être utilisé pour tester les patients si les contrôles externes ne fournissent pas de résultats corrects.
4. Utiliser un dispositif de test séparé pour chaque réactif de contrôle externe.

## VALEURS ATTENDUES

L'incidence de de la bactérie *Neisseria gonorrhoeae* tel qu'elle a été détectée par le test Alethia Gonorrhoea sur des échantillons non sélectionnés, prélevés de manière prospective pendant la période d'études cliniques, a été de 0,9% (1/107) avec des écouvillons endocervicaux, 9,0% (41/454) dans l'urine. Tous les écouvillons vaginaux inclus dans cette étude (n=102) ont produit des résultats Alethia Gonorrhoea négatifs.

## LIMITES DU TEST

1. Ce produit ne peut être utilisé qu'avec l'instrument Alethia.
2. Le test Alethia Gonorrhoea est un test qualitatif et ne fournit pas de valeurs ou d'informations quantitatives sur la charge de l'organisme.
3. La performance du test Alethia Gonorrhoea avec des écouvillons endocervicaux et vaginaux a été établie à l'aide du système de collecte, de conservation et de transport Copan MSwab™ pour applications moléculaires et culture, Numéro de catalogue 6E028N.MER. L'utilisation de systèmes de collecte avec d'autres écouvillons peut conduire à des résultats erronés et n'est pas recommandée.
4. La détection de des acides nucléiques dépend de la réalisation correcte du prélèvement, de la manipulation, du transport, de la conservation et de la préparation de l'échantillon. Le non-respect de la procédure appropriée lors de l'une de ces étapes peut entraîner des résultats incorrects.
5. Les acides nucléiques de l'organisme peuvent persister *in vivo*, indépendamment de la viabilité de l'organisme. Le test Alethia Gonorrhoea ne fait de pas de distinction entre organismes viables et non viables.
6. Comme avec tous les tests de diagnostic moléculaire, (A) des résultats faussement négatifs peuvent se produire en raison de la présence d'inhibiteurs, d'une erreur techniques, d'un mélange d'échantillons ou de faibles quantités d'organismes dans l'échantillon clinique; (B) des résultats faussement positifs peuvent se produire en raison de la présence d'une contamination croisée par des organismes cibles, leurs acides nucléiques ou du produit amplifié, et en raison de signaux non spécifiques.

## PERFORMANCES DU TEST

L'Alethia Gonorrhoea, test par amplification de l'ADN a été évalué entre juillet et septembre 2014. Le prélèvement d'échantillons cliniques a été réalisé par trois entités indépendantes représentant des régions géographiquement distinctes aux Etats-Unis. Des écouvillonnages endocervicaux recueillis par un médecin, des écouvillonnages vaginaux de patiente, des échantillons d'urine féminine et d'urine masculine ont été recueillis de manière prospective chez des patients symptomatiques et asymptomatiques. L'étude a été complétée avec des restes d'échantillons cliniques d'urine prélevés chez des patients pour lesquels le dépistage de la chlamydia et/ou de la gonorrhée a été demandé par un médecin. Les échantillons cliniques ont été testés avec l'Alethia Gonorrhoea par le fabricant.

La performance d'Alethia Gonorrhoea a été comparée à un test PCR établi, disponible dans le commerce, pour la détection de *Neisseria gonorrhoeae* et à un procédé comparateur par un laboratoire de référence indépendant. Les informations cliniques de l'étude sont définies ci-dessous:

Tableau 1 Caractéristiques des performances – *N. gonorrhoeae*

Comparateur	Alethia Gonorrhoea			
	Tous les échantillons combinés, tous les Patients			
	Écouvillonnages endocervicaux, écouvillonnages vaginaux, échantillons d'urine féminine et d'urine masculine			
	Positif	Négatif	Non Valide	Pas d'écoulement
Positif	29	2	3	0
Négatif	12	594	11	6
Non testé	1	9	0	0
<b>Total</b>	<b>42</b>	<b>605</b>	<b>14</b>	<b>6</b>
			95% CI	
<b>Sensibilité</b>	29/31	93,5%	79,3 – 98,2%	
<b>Spécificité</b>	594/606	98,0%	96,6 – 98,9%	
<b>Corrélation</b>	623/637	97,8%	96,3 – 98,7%	
<b>Taux de résultats non valides</b>	14/667	2,1%	1,3 – 3,5%	

Quatorze échantillons ont produit des résultats non valides, cinq écouvillons et neuf échantillons d'urines. Cinq échantillons ne se sont pas écoulés à travers la colonne **M-prep** et n'ont pas produit de résultats Alethia.

L'étude a été réalisée avec des échantillons prélevés chez des patients pour lesquels le dépistage de la chlamydia et/ou de la gonorrhée a été prescrit par un médecin. Cent dix-sept patients (25,0 %) ont été considérés comme asymptomatiques et 55 (11,8 %) ont été considérés comme symptomatiques. Les 295 patients restants n'ont pas été classés.

Les données relatives à l'âge étaient connues pour 466 patients chez lesquels l'échantillon a été testé. L'âge des patients allait de 14 à 66 ans. Les patients de moins de 14 ans ont été exclus de l'étude. Deux cent quatre-vingt quinze (60,5 %) des patients avaient entre 14 et 21 ans; 166 (33,6 %) avaient entre 21 et 65 ans; et 1 (0,2 %) avait plus de 65 ans mais moins de 90 ans. L'âge de 1 (0,2 %) patient était inconnu. Aucune différence en raison de l'âge n'a été observée.

La population de l'étude comprenait 277 (59,3 %) patientes (femmes) et 190 (40,7 %) patientes (hommes). Aucune influence n'était attendue sur les caractéristiques de performance du test Alethia Gonorrhoea du fait du sexe des patients.

## SENSIBILITE ANALYTIQUE

La sensibilité analytique ou limite de détection du test Alethia Gonorrhoea a été déterminée pour une seule souche de *N. gonorrhoeae*. La limite de détection a été déterminée en utilisant 60 réplicats et une probabilité théorique (par exemple 95 %, où 57 sur 60 réplicats sont positifs) d'obtenir des réponses positives. La sensibilité analytique observée est résumée ci-dessous.

Souche	Concentration (CFU/mL)
ATCC 31426	240

**REACTIVITE DU TEST**

Les souches de *N. gonorrhoeae* suivantes ont été testées et ont produit une réaction positive avec Alethia Gonorrhoea aux concentrations indiquées:

Souche	Concentration (CFU/mL)
ATCC 9826	240
ATCC 9827	1477
ATCC 9828	120
ATCC 9830	120
ATCC 19424	120
ATCC 31356	15
ATCC 43069	120
ATCC 43070	120
ATCC 49226	15
ATCC 49498	240
ATCC 49981	480

**REPRODUCTIBILITE DU TEST**

Des études de reproductibilité ont été menées par trois laboratoires. Les laboratoires participants ont reçu des microplaques de 10 échantillons codées en aveugle. Les échantillons ont été triés au hasard pour chaque microplaque afin de masquer les identités. Ces microplaques comprenaient des échantillons artificiels fabriqués comme des échantillons positifs modérés ( $2,88 \times 10^4$  IFU/mL), des échantillons faiblement positifs (960 IFU/mL) et des échantillons fortement négatifs (7,5 IFU/mL). La microplaque comprenait également un échantillon négatif, un contrôle positif et un contrôle négatif. Les tests furent exécutés par des techniciens différents dans chaque centre, le même jour (variabilité intra-test), pendant cinq jours (variabilité inter-tests). Trois lots d'Alethia Gonorrhoea et 13 instruments Alethia furent utilisés pour cette étude. Les contrôles positifs et négatifs furent testés chaque jour de test. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous:

Type d'échantillon	Centre 1		Centre 2		Centre 3		Total	
	Concordance en pourcentage		Concordance en pourcentage		Concordance en pourcentage		Concordance en pourcentage	
<b>Modérément positif</b>	30/30	100,0 %	29/30	96,7 %	27/30	90,0 %	86/90	95,6 %
<b>Faiblement Positif</b>	30/30	100,0 %	28/30	93,3 %	28/30	93,3 %	86/90	95,6 %
<b>Fortement Negative</b>	24/30	80,0 %	29/30	96,7 %	28/30	93,3 %	81/90	90,0 %
<b>Négatif</b>	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	30/30	100,0 %
<b>Contrôle négatif</b>	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	30/30	100,0 %
<b>Contrôle positif</b>	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	30/30	100,0 %

**REACTIONS CROISEES**

Des études de réactivité croisée furent réalisées avec des échantillons d'urine positifs et négatifs dans lesquels avaient été inoculés des micro-organismes à une concentration finale de  $1,2 \times 10^6$  UFC/mL. Aucun des organismes suivants n'a réagi avec l'Alethia Gonorrhoea: *Acinetobacter lwoffii*, *Alcaligenes faecalis*, *Bacteroides fragilis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Morganella morganii*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria denitrificans*, *Neisseria elongata*, *Neisseria flava*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria mucosa*, *Neisseria perflava*, *Neisseria polysaccharea*, *Neisseria sicca*, et *Neisseria subflava*.

**TESTS POUR LES SUBSTANCES INTERFERENTES**

Les substances chimiques suivantes, aux concentrations de saturation des solvant/diluant spécifiées, n'influencent pas les résultats de test: Acide acétylsalicylique (4 mg/mL), acétaminophène (3,2 mg/mL) et poudre pour le corps pour femmes (2,5 % poids/vol.).

Les substances biologiques suivantes, aux concentrations de saturation solvant/diluant spécifiées, n'influencent pas les résultats de test: urine acide [pH 4, (100 % v/v)], urine alcaline [pH 9, (100 % v/v)], estradiol (0,07 mg/mL), ADN humain (3,333 ng/mL), leucocytes ( $1,04 \times 10^6$  cellules/mL), mucine [glande submandibulaire bovine type I-S (0,2 % w/v)], progestérone (7 mg/mL), liquide séminal (5,0 % v/v), sang total (0,3 % v/v).

# alethia<sup>®</sup>

## Gonorrhea

### DNA Amplification Assay

Ensayo de amplificación de ADN para la detección de *Neisseria gonorrhoeae*

REF 480850

IVD

#### USO INDICADO

El ensayo Alethia Gonorrhea (NG), que se realiza en el incubador/lector Alethia, es un dispositivo de diagnóstico in vitro para la detección de *Neisseria gonorrhoeae* en hisopos endocervicales obtenidos por un médico (u otro profesional de la salud con formación adecuada), en muestras vaginales obtenidas con un hisopo por la paciente en el ámbito clínico, en muestras de orina masculina y en muestras de orina femenina.

El ensayo Alethia NG utiliza la tecnología de amplificación isotérmica de ADN mediante tallo-bucle (loop-mediated isothermal DNA amplification, LAMP) para la detección de *Neisseria gonorrhoeae* tomando como diana un segmento del genoma de *Neisseria gonorrhoeae*. Los resultados del ensayo Alethia NG pueden utilizarse como ayuda para el diagnóstico de la infección urogenital por clamidias en individuos asintomáticos y sintomáticos. Este ensayo no ha sido concebido para el control del tratamiento de las infecciones por clamidias.

El ensayo Alethia NG ha sido concebido para uso en laboratorios hospital, estatales o de referencia. Este dispositivo no ha sido concebido para uso a punto de cuidado.

#### RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El ensayo molecular Alethia Gonorrhea se basa en la tecnología de amplificación mediante tallo-bucle (LAMP).<sup>1</sup> La diana del ensayo es una secuencia de 194 pares de bases (pb) del genoma de *Neisseria gonorrhoeae*. La secuencia diana de ADN se encuentra en el gen putativo de una proteína asociada a un bacteriófago, y está presente en los tres genomas completos de *N. gonorrhoeae* que se ha notificado.

La amplificación mediante tallo-bucle utiliza cebadores especialmente diseñados para proporcionar una amplificación isotérmica de ADN continua y específica. Un subproducto de la amplificación es la formación de pirofosfato de magnesio, que forma un precipitado blanco que provoca turbidez en la solución de reacción. Las características de absorbancia de la solución de reacción son monitorizadas por el incubador/lector Alethia de Meridian. Los cambios en las características de absorbancia de la solución de reacción creados por la precipitación del pirofosfato de magnesio indican la presencia del ADN diana. La ausencia del ADN diana tiene como resultado un cambio no significativo en la absorbancia de la muestra.

El kit Alethia Gonorrhea incluye el control de ensayos Alethia Chlamydia/Gonorrhea, dispositivos de prueba Alethia Gonorrhea y aceite mineral. El control de ensayos Alethia, utilizado para la dilución y preparación de muestras, es una solución tamponada que contiene células de *E. coli* tratadas con formol que albergan ADN de *Staphylococcus aureus*. El dispositivo de prueba Alethia Gonorrhea contiene una microesfera de reactivo de amplificación liofilizado en cada una de las dos cámaras: una cámara de PRUEBA con cebadores específicos para Gonorrhea y una cámara de CONTROL con cebadores específicos para *S. aureus*. El ADN de *S. aureus* del reactivo de control y los cebadores específicos para *S. aureus* de la cámara de CONTROL funcionan como control interno para el ensayo. Durante la preparación de las muestras, la muestra de cada paciente se diluye con el reactivo de control que contiene la diana *S. aureus* de control. La adición de ADN de *S. aureus* a la muestra del paciente permite el procesamiento paralelo del ADN diana y del ADN de control durante la preparación, la amplificación y la detección de la muestra. El control interno verifica la extracción del ADN, la inhibición de la amplificación, el rendimiento de los reactivos del ensayo y la eficacia del procesamiento de la muestra. La diana *S. aureus* de control debe amplificarse y detectarse en la reacción final, en caso contrario la prueba se considerará no válida y no se notificarán los resultados del paciente.

El incubador/lector Alethia monitoriza los cambios en las características de absorbancia mediante la medición de la transmisión de la luz a través de las soluciones de reacción de Prueba y Control. La transmisión de la luz se comprueba al inicio del proceso del ensayo (señal inicial, S<sub>i</sub>) y al final del proceso del ensayo (señal final, S<sub>f</sub>). El lector Alethia calcula el cambio producido en la transmisión de la luz entre el final del proceso y el inicio del proceso (S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub>) y compara el cociente con un valor de corte fijo.

Los valores de corte fijos de la cámara de PRUEBA se utilizan para notificar los resultados de las muestras. Los cocientes de la cámara de PRUEBA S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub> inferiores al 82 % se muestran como 'POSITIVO'; los cocientes de la cámara de PRUEBA S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub> superiores o iguales al 82 % se muestran como 'NEGATIVO'. No se notifican valores numéricos.

Los valores de corte fijos de la cámara de CONTROL se utilizan para determinar la validez. Los cocientes S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub> de la cámara de CONTROL inferiores al 90 % se consideran válidos y permiten notificar los resultados de la cámara de PRUEBA (POSITIVO, NEGATIVO). Los cocientes S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub> de la cámara de CONTROL superiores o iguales al 90 % se consideran no válidos e impiden notificar los resultados de la cámara de PRUEBA. Las reacciones no válidas de la cámara de CONTROL se notifican como 'NO VÁLIDAS'. No se notifican valores numéricos.

Los criterios de corte más rigurosos se aplican a la reacción de la cámara de CONTROL para garantizar que no se inhiba la amplificación, que los reactivos tengan el rendimiento esperado y que el procesamiento de muestras se haya realizado adecuadamente.

#### PRINCIPIOS BIOLÓGICOS

La infección por *Neisseria gonorrhoeae* es una de las infecciones bacterianas de transmisión sexual más frecuentes del mundo. La Organización Mundial de la Salud estima que se registran cada año 62 millones de casos de infección por *N. gonorrhoeae*.<sup>2</sup> Se notificaron 309.341 casos de gonorrea en los EE. UU. En 2010, lo que la convierte en la segunda enfermedad infecciosa de transmisión sexual por frecuencia de notificación en los Estados Unidos.<sup>3</sup>

*N. gonorrhoeae* es un diplococo no mótil gramnegativo. La mayoría de las infecciones uretrales causadas por *N. gonorrhoeae* en hombres producen síntomas que les inducen a buscar tratamiento antes de que se presenten secuelas graves.<sup>4</sup> La infección en mujeres es con frecuencia asintomática y puede dar lugar a complicaciones como enfermedad inflamatoria pélvica (EIP), embarazo ectópico e infertilidad.<sup>4</sup> Un pequeño porcentaje de personas con infecciones gonocócicas pueden desarrollar infección gonocócica diseminada (IGD).<sup>4</sup> *N. gonorrhoeae* puede también transmitirse a los lactantes en el canal del parto, causando conjuntivitis neonatal.<sup>4</sup>

*N. gonorrhoeae* se ha vuelto resistente a muchos antibióticos de uso frecuente, como la penicilina, la tetraciclina y, más recientemente, las quinolonas. El uso inadecuado de los antibióticos es un motivo grave de preocupación, ya que se ha generalizado la resistencia a los tratamientos orales de una sola dosis más eficaces para *N. gonorrhoeae*. En la actualidad, las cefalosporinas son los únicos antibióticos recomendados para el tratamiento de la gonorrea por los centros para la prevención y el control de enfermedades (CDC) estadounidenses.<sup>4</sup>

#### REACTIVOS/MATERIALES PROPORCIONADOS

El número máximo de pruebas que se puede obtener con este equipo está indicado en el exterior de la caja

1. **Control de ensayos Alethia Chlamydia/Gonorrhea (control de ensayos) (artículo #4823-01):** Solución tamponada con fosfato que contiene un tinte azul y células de *E. coli* tratadas con formol que albergan un plásmido que contiene un segmento del genoma de *S. aureus*, con azida sódica (0,09 %) como conservante. Envasada en un frasco con punta cuentagotas.
2. **Dispositivo de prueba Alethia Gonorrhea (artículo #2790):** Dispositivo de dos cámaras, envasado en una bolsa de papel aluminio, que contiene reactivos de amplificación liofilizados (ADN-polimerasa, trifosfatos de desoxirribonucleótidos) y, o bien cebadores específicos para *N. gonorrhoeae* (cámara de PRUEBA) o bien cebadores de control (cámara de CONTROL).
3. **Aceite Mineral (artículo #14298-01)**
4. **Pipetas de transferencia (artículo #11515A)**

#### MATERIALES PROPORCIONADOS POR SEPARADO

Kit de preparación de muestras de ADN *M-prep*<sup>®</sup> Meridian Bioscience, Inc. Número de catálogo: 281110

## MATERIALES NO PROPORCIONADOS

1. Guantes desechables de látex, sin polvo
2. Puntas de pipeta resistentes a los aerosoles, sin ribonucleasa/desoxirribonucleasa
3. Botes para la recogida de muestras de orina, estériles, de plástico y sin conservantes
4. MSwab™ Sistema de recogida, conservación y transporte para aplicaciones moleculares y de cultivo, Copan Flock Technologies Srl, Número de catálogo 6E028N.MER
5. NATrol™ *Neisseria gonorrhoeae* Controles externos del proceso (Cepa Z017), Zeptomatrix, Número de catálogo NATNG-ERCL
6. Tampón Tris-EDTA (TE) para biología molecular
7. Tubos para microcentrifugadora sin nucleasas, 2 mL

## EQUIPO NO PROPORCIONADO

1. Microcentrifugadora de 2000 ± 250 FCR (2000 ± 250 x g)
2. Incubador/Lector Alethia Meridian Bioscience, Inc. Número de catálogo: 610189
3. Micropipeta(s) para dispensar 50 µL y 250 µL
4. Reloj de intervalos

## PRECAUCIONES

1. Todos los reactivos son sólo para uso diagnóstico in vitro.
2. No intercambiar los reactivos de control de ensayos ni los dispositivos de prueba de diferentes lotes. El aceite mineral es intercambiable siempre que no haya caducado cuando se utilice.
3. Siga las buenas prácticas de laboratorio y las prácticas del nivel 2 de bioseguridad durante la prueba.<sup>5</sup> Trate todas las muestras y los dispositivos de prueba usados como posibles transmisores de agentes infecciosos. No coma, beba ni fume en las zonas donde se manipulen los reactivos del kit o las muestras.
4. Utilice guantes desechables cuando manipule las muestras y lávese bien las manos después.
5. Deberían emplearse programas de control de calidad para laboratorios de pruebas moleculares.
6. El dispositivo de prueba Alethia Gonorrhea contiene reactivos liofilizados. La bolsa de protección no debería abrirse hasta que se esté listo para realizar el ensayo.
7. El dispositivo de prueba Alethia Gonorrhea incluye un sistema de cierre diseñado para evitar la contaminación de la zona de pruebas con el producto de amplificación. NO utilice dispositivos de prueba con cierres rotos.
8. Deseche los dispositivos de prueba usados Alethia inmediatamente después de su procesamiento, dejando el dispositivo bien cerrado. NO abra el dispositivo de prueba después de su procesamiento. Abrir el dispositivo después de la amplificación puede provocar una contaminación de la zona de pruebas con el producto de amplificación.
9. Cualquier incidente grave que haya podido producirse en relación con el producto debe notificarse a Meridian Bioscience, Inc., 3471 River Hills Drive, Cincinnati, Ohio 45244 EE. UU., o llamando al teléfono del Centro de Asistencia Técnica (1-800-343-3858), y a las autoridades competentes del Estado Miembro de la UE en el que resida el médico y/o el paciente.
10. IMPORTANTE: Consulte la FDS para obtener información adicional sobre la seguridad y los riesgos.

## DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN

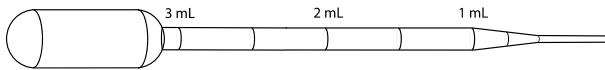
No se conoce ningún riesgo asociado con este producto.

## VIDA UTIL Y ALMACENAMIENTO

La fecha de caducidad se indica en la etiqueta del equipo. Almacene el equipo a una temperatura entre 2 y 30 C.

## NOTAS PARA EL PROCEDIMIENTO

La pipeta de transferencia incluida en el kit Alethia Gonorrhea está envuelta individual y puede dispensar hasta 3 mL. Se incluye más abajo un diagrama de la pipeta.



## PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Asegúrese de que los reactivos del kit estén a temperatura ambiente (19-30 C) antes de utilizarlos. Se pueden obtener resultados incorrectos si los reactivos no están a temperatura ambiente antes del uso.

## RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

**Tipos de muestras:** Hisopos endocervicales obtenidos por un médico, hisopos vaginales obtenidos por la paciente (en ámbitos clínicos), orina masculina y orina femenina

### Obtención de muestras endocervicales y vaginales con hisopo

Las muestras en hisopos endocervicales y vaginales deben ser obtenidas por profesionales de la salud debidamente formados, de acuerdo con las directrices del centro.

Las muestras en hisopos vaginales pueden ser obtenidas por la propia paciente cuando un profesional de la salud con la debida formación le proporcione instrucción y supervisión. Deben seguirse las directrices del centro

### Obtención de las muestras de orina

Las muestras de orina deben recogerse en envases estériles de plástico para dicho fin sin conservantes. Deben seguirse los siguientes pasos para asegurar la calidad de las muestras:

1. El paciente no debe orinar durante al menos 1 hora antes de la recogida de muestras.
2. Pida al paciente que recoja los primeros 10-30 mL de orina (la primera parte del chorro, no la parte central) directamente en el bote de recogida.
3. Tape y etiquete el envase de recogida con información sobre el paciente y la obtención de la muestra

Las muestras tomadas con hisopo y las de orina deben almacenarse refrigeradas (2-8 C) tras su obtención. Las muestras refrigeradas pueden guardarse hasta 7 días antes de realizar las pruebas. No congelar las muestras.

## PREPARACIÓN DE MUESTRA

**NOTA:** Encienda el incubador/lector Alethia. Asegúrese de que se hayan completado las verificaciones de funcionamiento necesarias antes de iniciar la PREPARACIÓN DE LA MUESTRA. Consulte el Manual del operador del Alethia lector para obtener más información acerca de la instalación y el funcionamiento del instrumento.

**Consulte el prospecto de envase del kit de preparación de muestras de ADN M-prep para más información sobre la preparación de columnas, orientación y uso.** Utilice 1 columna **M-prep** por muestra. Retire la tapa superior de la columna, y a continuación desenrosque la punta inferior, y coloque la punta de la columna en un tubo **M-prep** para su drenaje. Las columnas **M-prep** drenadas deben utilizarse en el plazo de 1 hora.

Asegúrese de que las muestras están a temperatura ambiente (19-30 C) antes de la preparación de las muestras.

### Preparación de la muestras en hisopo

1. Agitar con movimientos circulares o invertir el hisopo obtenido en el medio para mezclar. Abrir con cuidado el contenedor del medio
2. Utilizando una pipeta de transferencia, transferir 1,5 mL del medio del hisopo a un tubo de 2,0 mL y tapón de rosca para microcentrifugadora **M-prep**. Desechar la pipeta de transferencia.
3. Mezclar brevemente en vórtex el control del ensayo Alethia Chlamydia/Gonorrhea.
4. Añadir 1 gota del control del ensayo al tubo **M-prep** que contiene el medio de la muestra. **La muestra preparada tendrá un aspecto azul claro tras la adición del reactivo de control del ensayo.**
5. Tapar el tubo **M-prep** que contiene la muestra.

### Preparación de la muestra de orina

1. Agitar con movimientos circulares el envase para la recogida de orina para mezclar. Abrir el contenedor de orina con cuidado.
2. Utilizando una pipeta de transferencia, transferir 1,5 mL de orina a un tubo de 2,0 mL y tapón de rosca para microcentrifugadora **M-prep**. Desechar la pipeta de transferencia.
3. Mezclar brevemente en vórtex el control del ensayo Alethia Chlamydia/Gonorrhea. Añadir 1 gota del control del ensayo al tubo **M-prep** que contiene el medio de la muestra. **La muestra preparada tendrá un aspecto azul claro tras la adición del reactivo de control del ensayo.**
4. Tapar el tubo **M-prep** que contiene la muestra.

### Preparación del control positivo externo

1. Mezclar en vórtex el control externo del proceso NATrol™ *Neisseria gonorrhoeae*.
2. Transferir 1,5 mL de tampón TE a un tubo de 2,0 mL para microcentrifugadora sin nucleasas.
3. Utilizando una micropipeta, añadir 250 µL de control externo del proceso al tubo que contiene tampón TE
4. Mezclar brevemente en vórtex el control del ensayo Alethia Chlamydia/Gonorrhea. Añadir 1 gota del control del ensayo al tubo **M-prep** que contiene el medio de la muestra.
5. Tapar el tubo para microcentrifugadora que contiene el control externo.

### Preparación del control negativo externo

1. Transferir 1,75 mL de tampón TE a un tubo de 2,0 mL para microcentrifugadora sin nucleasas.
2. Mezclar brevemente en vórtex el control del ensayo Alethia Chlamydia/Gonorrhea. Añadir 1 gota del control del ensayo al tubo **M-prep** que contiene el medio de la muestra.
3. Tapar el tubo para microcentrifugadora que contiene el control externo NEGATIVO.

### Procesamiento de la muestra

**NOTA:** La cantidad de muestra preparada que se obtiene al final de los pasos de procesamiento de la muestra debe ser suficiente para completar 2 pruebas Alethia.

1. Centrifugar cada tubo **M-prep** que contiene una muestra durante 3 minutos a 2000 ± 250 FCR (2000 ± 250 x g).
2. Retirar el tubo **M-prep** de la microcentrifugadora. Decantar manualmente el sobrenadante sin alterar el sedimento formado durante la centrifugación.
3. Utilizando una micropipeta, añadir 250 µL de tampón I **M-prep** al tubo **M-prep**. Desechar la punta de pipeta. Mezclar en vórtex 10 segundos.
4. Utilizando una micropipeta para 250 µL, transferir toda la muestra preparada a la parte superior de una columna **M-prep** adecuadamente etiquetada y preparada. Esperar aproximadamente 2 minutos, o hasta que la muestra haya sido absorbida por la columna y se detenga el flujo. Este paso no debería durar más de 30 minutos.
5. Utilizando una micropipeta, añadir 250 µL de tampón II **M-prep** a la parte superior de la columna **M-prep**. Desechar la punta de pipeta. **La columna tendrá un aspecto rojo tras la adición de tampón II M-prep.** Esperar aproximadamente 2 minutos, o hasta que el tampón rojo haya sido absorbido por la columna y se detenga el flujo. Este paso no debería durar más de 30 minutos.
6. Retirar la última gota de líquido de la punta de la columna con el tubo **M-prep**. Desechar el tubo.
7. Colocar un tubo **M-prep** limpio bajo la columna **M-prep**. Utilizando una micropipeta, añadir 250 µL de tampón III **M-prep** a la parte superior de la columna **M-prep**. Desechar la punta de pipeta. Esperar aproximadamente 2 minutos o hasta que se detenga el flujo. Este paso no debería durar más de 30 minutos.
8. Retirar la última gota de líquido de la punta de la columna con el tubo **M-prep**. Etiquetar el tubo con la información de identificación de la muestra y pasar al procedimiento de prueba.

### PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

**NOTA:** Se pueden procesar un máximo de 10 dispositivos de prueba en cada proceso del incubador/lector Alethia.

1. Saque 1 dispositivo de prueba Alethia Gonorrhea de su bolsa de protección por muestra. Abra el dispositivo con cuidado, levantando el cierre y, manteniéndolo vertical de modo que los reactivos liofilizados no se salgan al abrir el dispositivo. Coloque el dispositivo sobre una superficie plana o en una gradilla que pueda albergar el dispositivo.
2. Transfiera 50 µL de muestra a la cámara TEST (lado izquierdo/Perla Blanca) y a la cámara CONTROL (lado derecho/Perla Amarilla) del dispositivo de prueba Alethia. Tenga cuidado de no introducir aire en la mezcla de reacción. No mezcle las reacciones con pipeta.
3. Añada 1 gota de aceite mineral tanto a la cámara TEST como a la cámara CONTROL. Cierre el dispositivo de prueba Alethia y asegure bien el cierre.
4. Dé unos golpecitos en la parte plana superior del dispositivo o mezcle para quitar las burbujas de aire. Examine con cuidado en el dispositivo de prueba la rehidratación del micro esferas de control y prueba, y la presencia de burbujas de aire en la cámara y de líquido en la parte superior del dispositivo. Si advierte micro esferas sin disolver, burbujas de aire o líquido en la parte superior del dispositivo, dé unos golpecitos en la parte plana superior del dispositivo y repita la inspección visual. La amplificación y la detección deben comenzar en un plazo de 15 minutos.
5. Introduzca el dispositivo de prueba Alethia en el lector Alethia e inicie el proceso. Los resultados se mostrarán al final del proceso.

### INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

ID de la muestra	Resultado notificado	Interpretación
Muestra de la paciente	POSITIVO	La muestra contiene ADN del <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .
	NEGATIVO	No se ha detectado ADN del <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .
	NO VÁLIDO	<b>Sin resultados notificables. Repita la prueba usando la muestra de la paciente original.</b> Muestra de la paciente inhibitoria, preparación de la muestra inadecuada, fallo del reactivo, fallo del instrumento a fallo de control interno.
Control positivo	POSITIVO	Resultado de control positivo válido. Reactivos activos en el momento del uso, el lector Alethia funciona correctamente.
	NEGATIVO	<b>Resultado de control incorrecto.</b> Repita la prueba de control como primer paso para determinar la causa de la falla. Si se repite la falla luego de repetir el control contacte el Departamento de Servicios Técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (USA) o su distribuidor local.
	NO VÁLIDO	<b>Sin resultados notificables. Repita todo el proceso de ensayo usando las muestras originales.</b> Preparación de la muestra inadecuada, fallo del reactivo, fallo del instrumento o fallo de control interno.
Control negativo	POSITIVO	<b>Resultado de control incorrecto.</b> Repita la prueba de control como primer paso para determinar la causa de la falla. Si se repite la falla luego de repetir el control contacte el Departamento de Servicios Técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (USA) o su distribuidor local.
	NEGATIVO	Resultado de control negativo válido. Reactivos activos en el momento del uso, el lector Alethia funciona correctamente.
	NO VÁLIDO	<b>Sin resultados notificables. Repita todo el proceso de ensayo usando las muestras originales.</b> Preparación de la muestra inadecuada, fallo del reactivo, fallo del instrumento o fallo de control interno.
POCILLO VACIO	NINGUNO	No hay ningún dispositivo de prueba de Alethia en el pocillo del lector Alethia <b>O</b> El dispositivo de prueba del Alethia no funciona bien debido a un fallo en la preparación de la muestra o a que el dispositivo está sucio o mal colocado. <b>Repita la prueba usando la muestra original.</b>

### CONTROL DE CALIDAD

**Este ensayo debe ser realizado siguiendo las regulaciones de acreditación locales, estatales o federales.**

1. Cada dispositivo contiene un control interno que verifica la inhibición de la amplificación y la eficacia de los reactivos del ensayo y del procesamiento de la muestra.
2. Las buenas prácticas de laboratorio recomiendan el uso de materiales de control. Los usuarios deberían seguir las directrices federales, estatales y locales adecuadas relativas a la ejecución de controles de calidad externos.
3. Se recomienda que la reactividad de cada nuevo lote y cada nuevo envío de Alethia Gonorrhea se verifique a la recepción y antes de su uso. Se debe realizar pruebas de control externo a partir de ese momento, de conformidad con las directrices federales, estatales y locales adecuadas. El kit de prueba Alethia Gonorrhea no debería utilizarse en pacientes si los controles externos no ofrecen los resultados correctos.
4. Se debe utilizar un dispositivo de prueba independiente para cada reactivo de control externo.

### VALORES ESPERADOS

La incidencia de *Neisseria gonorrhoeae* detectada por el ensayo Alethia Gonorrhea en muestras sin seleccionar obtenidas prospectivamente durante el periodo de los estudios clínicos fue del 0,9 % (1/107) en hisopos endocervicales y del 9,0 % (41/454) en orina. Todos los hisopos vaginales incluidos en el estudio (n=102) produjeron resultados negativos con Alethia Gonorrhea.

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Este producto solo se puede utilizar con el instrumento Alethia.
2. El ensayo Alethia Gonorrhoea es un ensayo cualitativo y no proporciona valores cuantitativos ni información sobre la cantidad de microorganismo.
3. El rendimiento del ensayo Alethia Gonorrhoea con hisopos endocervicales y vaginales se ha determinado utilizando el sistema Copan MSwab™ de recogida, conservación y transporte para aplicaciones moleculares y de cultivo, número de catálogo 6E028N.MER. El uso de sistemas alternos para la obtención de muestras con hisopo puede dar lugar a resultados inadecuados y no se recomienda.
4. La detección de ácidos nucleicos depende de una obtención, manipulación, transporte, almacenamiento y preparación adecuados de las muestras. El no seguir el procedimiento adecuado en cualquiera de estos pasos puede dar lugar a resultados incorrectos.
5. Los ácidos nucleicos de los microorganismos pueden persistir *in vivo*, independientemente de la viabilidad del microorganismo. El ensayo Alethia Gonorrhoea no distingue entre organismos viables y no viables.
6. Al igual que sucede con todas las pruebas de diagnóstico moleculares: (A) pueden producirse falsos resultados negativos debido a la presencia de inhibidores, a errores técnicos, a la mezcla de muestras o al escaso número de microorganismos presentes en la muestra clínica, y (B) pueden producirse falsos resultados positivos debido a la presencia de contaminación cruzada con los microorganismos objetivo, con sus ácidos nucleicos o con el producto amplificado, así como por señales inespecíficas.

## CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

El ensayo de amplificación del ADN Alethia Gonorrhoea se evaluó entre julio y septiembre de 2014. La obtención de muestras clínicas se realizó en tres centros independientes que representan regiones geográficamente diferentes de los Estados Unidos. Las muestras endocervicales obtenidas con hisopo por médicos, los hisopos vaginales obtenidos por pacientes, y las muestras de orina femenina y de orina masculina se recogieron de forma prospectiva en pacientes sintomáticos y asintomáticos. El estudio fue complementado con muestras clínicas sobrantes de orina obtenidas de pacientes a quienes un médico había prescrito la realización de una prueba de clamidias y/o gonorrea. Las pruebas en las muestras clínicas con Alethia Gonorrhoea fueron realizadas por el fabricante.

El rendimiento del ensayo Alethia Gonorrhoea se comparó con un ensayo PCR conocido y disponible comercialmente para la detección de *Neisseria gonorrhoeae* y con un método de comparación de un laboratorio independiente de referencia. La información del estudio clínico se describe a continuación:

Tabla 1 Características de funcionamiento – *N. gonorrhoeae*

Comparador	Alethia Gonorrhoea Todas las muestras combinadas, Todos los pacientes Hisopos endocervicales, hisopos vaginales, Orina femenina, Orina masculina			
	Positivo	Negativo	No válido	Sin flujo
Positivo	29	2	3	0
Negativo	12	594	11	6
No probado	1	9	0	0
<b>Total</b>	<b>42</b>	<b>605</b>	<b>14</b>	<b>6</b>
				95% CI
<b>Sensibilidad</b>	29/31	93,5%	79,3 – 98,2%	
<b>Especificidad</b>	594/606	98,0%	96,6 – 98,9%	
<b>Correlación</b>	623/637	97,8%	96,3 – 98,7%	
<b>Tasa de resultados no válidos</b>	14/667	2,1%	1,3 – 3,5%	

Catorce muestras produjeron resultados no válidos: cinco hisopos y nueve muestras de orina. Seis muestras no fluyeron a través de la columna **M-prep** y no produjeron resultados con Alethia.

Las muestras usadas en el estudio se obtuvieron de pacientes a quienes un médico había prescrito la realización de una prueba de clamidias y/o gonorrea. Ciento diecisiete (25,0 %) pacientes fueron considerados asintomáticos y 55 (11,8 %) fueron considerados sintomáticos. Los 295 pacientes restantes no fueron clasificados.

Se dispuso de información sobre la edad de 466 de los pacientes cuyas muestras fueron utilizadas para las pruebas. La edad de los pacientes osciló entre los 14 y los 66 años. Los pacientes menores de 14 años fueron excluidos del estudio. Doscientos noventa y nueve (60,5 %) pacientes tenían una edad comprendida entre los 14 y los 21 años; 166 (33,6 %) tenían entre 21 y 65 años; y 1 (0,2 %) tenía más de 65 años y menos de 90. No se dispuso de información sobre la edad de 1 (0,2 %) paciente. No se advirtieron diferencias de rendimiento basadas en la edad.

La población del estudio incluyó 277 (59,3 %) mujeres y 190 (40,7 %) hombres. No se espera que las características de rendimiento del ensayo Alethia Gonorrhoea se vean influidas por el sexo del paciente.

## SENSIBILIDAD ANALÍTICA

La sensibilidad analítica o límite de detección del ensayo Alethia Gonorrhoea se determinó para una cepa de *N. gonorrhoeae* que representaba el serotipo D. El límite de detección se determinó utilizando 60 copias y una determinada probabilidad (p. ej. 95 %, donde 57/60 copias son positivas) de obtener respuestas positivas. La prueba de sensibilidad analítica se resume a continuación.

Cepa	Concentración (CFU/mL)
ATCC 31426	240

## REACTIVIDAD DEL ENSAYO

Las siguientes cepas de *N. gonorrhoeae* se sometieron a prueba y dieron lugar a una reacción positiva con Alethia Gonorrhoea a las concentraciones indicadas:

Cepa	Concentración (CFU/mL)
ATCC 9826	240
ATCC 9827	1477
ATCC 9828	120
ATCC 9830	120
ATCC 19424	120
ATCC 31356	15
ATCC 43069	120
ATCC 43070	120
ATCC 49226	15
ATCC 49498	240
ATCC 49981	480

## REPRODUCIBILIDAD

Tres laboratorios realizaron estudios de reproducibilidad. Se suministraron paneles de 10 muestras codificados con enmascaramiento a los laboratorios participantes. Las muestras se distribuyeron aleatoriamente dentro de cada panel para enmascarar las identidades de las muestras. Los paneles incluyeron muestras fabricadas como positivas moderadas ( $2,88 \times 10^4$  IFU/mL), positivas bajas (960 IFU/mL) y negativas altas (7,5 IFU/mL). El panel incluyó también una muestra negativa, un control positivo y un control negativo. La prueba fue realizada por diferentes operadores en cada centro el mismo día (variabilidad intraensayo) durante cinco días (variabilidad interensayo). En este estudio se utilizaron tres lotes de Alethia Gonorrhoea y 13 instrumentos Alethia. Se probaron los controles negativos y positivos cada día de pruebas. Los resultados aparecen en la tabla que sigue:

Tipo de muestra	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Total	
	Acuerdo en porcentaje		Acuerdo en porcentaje		Acuerdo en porcentaje		Acuerdo en porcentaje	
Positivo moderado	30/30	100,0 %	29/30	96,7 %	27/30	90,0 %	86/90	95,6 %
Positivo bajo	30/30	100,0 %	28/30	93,3 %	28/30	93,3 %	86/90	95,6 %
Negativo alto	24/30	80,0 %	29/30	96,7 %	28/30	93,3 %	81/90	90,0 %
Negativo	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	30/30	100,0 %
Control negativo	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	30/30	100,0 %
Control positivo	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	30/30	100,0 %

## REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizaron estudios de reactividad cruzada con muestras positivas y negativas de orina inoculadas con microorganismos a una concentración final de  $1,2 \times 10^6$  CFU/mL. Ninguno de los siguientes organismos reaccionó con Alethia Gonorrhoea: *Acinetobacter lwoffii*, *Alcaligenes faecalis*, *Bacteroides fragilis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Morganella morganii*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria denitrificans*, *Neisseria elongata*, *Neisseria flava*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria mucosa*, *Neisseria perflava*, *Neisseria polysaccharea*, *Neisseria sicca* y *Neisseria subflava*.

## PRUEBAS PARA SUSTANCIAS INTERFERENTES

Las siguientes sustancias químicas, a las concentraciones saturadas de disolvente/diluyente especificadas, no interfirieron en los resultados de la prueba: Ácido acetilsalicílico (4 mg/mL), paracetamol (3,2 mg/mL) y desodorante en polvo vaginal (2,5 % m/v).

Las siguientes sustancias biológicas, a las concentraciones saturadas de disolvente/diluyente especificadas, no interfirieron en los resultados de la prueba: orina ácida [pH 4, (100 % v/v)], orina alcalina [pH 9, (100 % v/v)],  $\beta$ -estradiol (0,07 mg/mL), ADN humano (3,333 ng/mL), leucocitos ( $1,04 \times 10^6$  células/mL), mucina [glándula submaxilar bovina tipo I-S (0,2 % m/v)], progesterona (7 mg/mL), líquido seminal (5,0 % v/v), sangre completa (0,3 % v/v).

# alethia®

## Gonorrhoea

### DNA Amplification Assay

DNA-Amplifikationsassay zum  
Nachweis von *Neisseria gonorrhoeae*

REF 480850

IVD

#### VERWENDUNGSZWECK

Der Alethia Gonorrhoea (NG)-Assay, durchgeführt auf dem Alethia Inkubator-/Lesegerät, ist ein in-vitro-Diagnosenachweis zur Erkennung von *Neisseria gonorrhoeae* in endozervikalen Abstrichen, die vom Arzt (oder einem anderen trainierten medizinischen Fachpersonal) entnommen wurden, in vaginalen Abstrichen, die von der Patientin in klinischer Umgebung entnommen wurden, sowie Urinproben von Männern und Frauen.

Der Alethia NG-Assay nutzt die „Loop-Mediated Isothermal DNA Amplification“ (LAMP)-Technologie, bei der *Neisseria gonorrhoeae* durch gezielte Amplifikation eines bestimmten Segments des *Neisseria gonorrhoeae*-Genoms nachgewiesen werden. Die Ergebnisse des Alethia NG-Assays können als Unterstützung in der Diagnose von Gonokokkeninfektionen des Urogenitalsystems bei symptomatischen und asymptomatische Personen eingesetzt werden. Dieser Assay ist nicht für die Behandlungskontrolle bei Gonokokkeninfektionen vorgesehen.

Der Alethia NG-Assay ist für die Anwendung im Krankenhaus und in staatlichen oder Referenz-Laboren vorgesehen. Der Test soll nicht für die „Point-of-Care-Diagnostik“ verwendet werden.

#### ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Der Alethia Gonorrhoea-Molekular-Assay basiert auf der Loop-Mediated Isothermal DNA-Amplifikation (LAMP)-Technologie.<sup>1</sup> Der Assay zielt auf eine 194-Basenpaarsequenz (bp) des kryptischen *Neisseria gonorrhoeae*-Genoms ab. Die DNA-Zielsequenz ist in einem putativen Phage-assoziierten Protein-Gen zu finden, sowie in allen drei berichteten Kompletengenomen von *N. gonorrhoeae*.

Bei der LAMP-Methode werden spezielle Primer verwendet, um eine spezifische und kontinuierliche isothermale DNA-Amplifikation zu erzielen. Ein Nebenprodukt der Amplifikation ist Magnesiumpyrophosphat, das einen weißen Niederschlag bildet, wodurch eine trübe Reaktionslösung entsteht. Die Absorptionsmerkmale der Reaktionslösung werden von dem Meridian Alethia Inkubator-/Lesegerät überprüft. Die durch den Niederschlag von Magnesiumpyrophosphat erzeugten Änderungen der Absorptionsmerkmale der Reaktionslösung deuten auf die Anwesenheit der Ziel-DNA hin. Die Abwesenheit von Ziel-DNA bewirkt keine signifikante Änderung der Absorption des Probenmaterials.

Das Alethia Gonorrhoea-Kit enthält die Alethia Chlamydia/Gonorrhoea-Assay-Kontrolle, die Alethia Gonorrhoea-Analysegefäße und Mineralöl. Bei der Alethia Assay-Kontrolle, welche für die Verdünnung und Vorbereitung des Probenmaterials verwendet wird, handelt es sich um eine gepufferte Lösung mit Formalin-behandelten *E. coli*-Zellen, die *Staphylococcus aureus*-DNA beherbergen. Die Alethia Gonorrhoea-Analysegefäße enthalten ein lyophilisiertes Amplifikationsreagenzstückchen in jeder der beiden Kammern: eine TEST-Kammer mit Gonorrhoea-spezifischen Primern und eine KONTROLL-Kammer mit für *S. aureus*-spezifischen Primern. Zusammen funktionieren die *S. aureus*-DNA im Kontrollreagenz und die *S. aureus*-spezifischen Primer in der KONTROLL-Kammer als interne Kontrolle für den Assay. Bei der Vorbereitung des Probenmaterials wird jede Patientenprobe mit dem Kontrollreagenz verdünnt, welches das *S. aureus*-Kontrollziel enthält. Die Zugabe von *S. aureus*-DNA zur Patientenprobe ermöglicht die parallele Verarbeitung von Ziel-DNA und Kontroll-DNA durch die Präparation, Amplifikation und Detektion der Proben. Die DNA-Extraktion, die Amplifikationsinhibition, Assay-Reagenzleistung und die Effizienz der Probenverarbeitung werden von der internen Kontrolle überwacht. Das *S. aureus*-Kontrollziel muss amplifiziert und in der endgültigen Reaktion erkannt werden, oder der Test wird als ungültig erachtet und die Patientenergebnisse werden nicht ausgegeben.

Zur Beobachtung der Änderungen der Absorptionsmerkmale misst der Alethia Inkubator-/Lesegerät den Lichtdurchlass durch die Test- und Kontroll-Reaktionslösungen. Der Lichtdurchlass wird zu Beginn des Testdurchlaufs (Signal<sub>initial</sub>, S<sub>i</sub>) und am Ende des Testdurchlaufs (Signal<sub>final</sub>, S<sub>f</sub>) des Assays gemessen. Die Änderung des Lichtdurchlasses zwischen Ende und Beginn des Durchlaufs (S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub>) wird von dem Alethia Lesegerät gemessen, und das Verhältnis wird mit einem festgelegten Cutoff-Wert verglichen.

Die Probenergebnisse werden anhand festgelegter Cutoff-Werte für die TEST-Kammer gemeldet: S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub>-Verhältnisse der TEST-Kammer von weniger als 82 % werden als „POSITIV“, S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub>-Verhältnisse der TEST-Kammer größer als oder gleich 82 % werden als „NEGATIV“ gemeldet. *Es werden keine numerischen Werte gemeldet.*

Die Gültigkeit wird anhand fester Cutoff-Werte für die KONTROLL-Kammer beurteilt. S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub>-Verhältnisse der KONTROLL-Kammer von weniger als 90 % werden für gültig erachtet und lassen die Meldung der Ergebnisse der TEST-Kammer zu (POSITIV, NEGATIV). S<sub>f</sub>:S<sub>i</sub>-Verhältnisse der KONTROLL-Kammer größer als oder gleich wie 90 % werden für ungültig erachtet und verhindern die Meldung der Ergebnisse der TEST-Kammer. Ungültige Ergebnisse für die KONTROLL-Kammer werden als „UNGÜLTIG“ gemeldet. *Es werden keine numerischen Werte gemeldet.*

Die Cutoff-Kriterien für die KONTROLL-Kammer sind strenger, um zu gewährleisten, dass die Amplifikation nicht gehemmt wird, dass die Reagenzien bestimmungsgemäß funktionieren und dass die Probenverarbeitung sachgemäß durchgeführt wurde.

#### BIOLOGISCHE PRINZIPIEN

*Neisseria gonorrhoeae* ist eine der weltweit am häufigsten sexuell übertragenen Bakterieninfektionen. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) schätzt, dass es jährlich 62 Millionen Fälle von *N. gonorrhoeae* gibt.<sup>2</sup> 309.341 Gonorrhoe-Fälle wurden im Jahr 2010 in der USA gemeldet, wodurch Gonorrhoe somit als die zweithäufigste gemeldete, sexuell übertragene Infektion in den USA gilt.<sup>3</sup>

*N. gonorrhoeae* sind unbewegliche, gramnegative Diplokokken. Der Großteil der Harnröhreninfektionen verursacht durch *N. gonorrhoeae* bei Männern rufen Symptome hervor, die Anlass dazu geben, sich in ärztliche Behandlung zu begeben, bevor es zu ernstesten Folgeerkrankungen kommt.<sup>4</sup> Infektionen bei Frauen sind oft asymptomatisch und können zu Komplikationen führen, wie z.B. entzündliche Beckenerkrankungen (PID), Eileiterschwangerschaft und Unfruchtbarkeit.<sup>4</sup> Bei einem geringeren Prozentsatz von Personen kann sich eine disseminierte Gonokokken-Infektion (DGI) entwickeln.<sup>4</sup> *N. gonorrhoeae* kann auch auf Kinder im Geburtskanal übertragen werden, welches eine neonatale Konjunktivitis verursachen kann.<sup>4</sup>

*N. gonorrhoeae* ist gegen viele häufig verwendete Antibiotika resistent geworden, u.a. Penicillin, Tetracyclin und in jüngerer Zeit Chinolone. Die unangebrachte Verwendung von Antibiotika ist ein wesentliches Problem, da sich eine weitverbreitete Resistenz gegen die wirksamsten oralen Behandlungen per Einmalosis von *N. gonorrhoeae* entwickelt hat. Derzeit sind Cephalosporine die einzigen antimikrobiellen Substanzen, die vom United States Centers for Disease Control (CDC) zur Behandlung von Gonorrhö empfohlen werden.<sup>4</sup>

#### REAGENZIEN/ENTHALTENE MATERIALIEN

Die Höchstzahl der mit diesem Testkit durchführbaren Tests ist auf der Aussenseite der Packung angegeben.

- Alethia Chlamydia/Gonorrhoea-Assay-Kontrolle (item #4823-01):** Phosphatgepufferte Lösung mit blauem Farbstoff und mit Formalin behandelten *E. coli*-Zellen, die ein Plasmid mit einem Segment des *S. aureus*-Genoms in sich tragen, mit Natriumazid (0,09 %) als Konservierungsmittel. In Flaschen mit Tropfkappe verpackt.
- Alethia Gonorrhoea-Analysegefäße (article #2790):** Die in einem Schutzbeutel verpackten Gefäße mit zwei Kammern enthalten lyophilisierte Amplifikationsreagenzien (DNA-Polymerase, Deoxy nukleotidtriphosphate) und entweder *N. gonorrhoeae*-spezifische Primer (TEST-Kammer) oder Kontroll-Primer (KONTROLL-Kammer).
- Mineralöl (articolo #14298-01)**
- Transferpipetten (item #11515A)**

#### SEPARAT GELIEFERTE MATERIALIEN

**M-prep®** DNA-Probenvorbereitungskit, Bestellnummer von Meridian Bioscience, Inc.: 281110

## BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

1. Einweg-Latexhandschuhe, ungepudert
2. DNase/RNase-freie, aerosolbeständige Pipettenspitzen
3. Sterile, aus Kunststoff bestehende Urinprobensammelbehälter ohne Konservierungsmittel
4. MSwab™ Sammel-, Konservierungs- und Transportsystem für Molekular- und Kulturanwendungen, Bestellnummer von Copan Flock Technologies Srl: 6E028N.MER
5. Externe Laufkontrolle NATrol™ für *Chlamydia trachomatis* (Stamm Z017), Bestellnummer von Zeptomatrix: NATNG-ERCL
6. Tris-EDTA (TE)-Puffer für die Molekularbiologie
7. Nuklease-freie Mikrozentrifugengefäße, 2 mL

## NICHT MITGELIEFERTER AUSRÜSTUNG

1. Mikrozentrifuge für 2.000 ± 250 RCF (2.000 ± 250 × G)
2. Alethia Inkubator/-Lesegerät, Bestellnummer von Meridian Bioscience, Inc.: 610189
3. Mikropipette(n) zur Abgabe von 50 µL und 250 µL
4. Intervall-Stoppuhr

## VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
2. Das Assay-Kontrollreagenz und die Analysegefäße zwischen Chargen nicht austauschen. Das Mineralöl ist austauschbar unter der Voraussetzung, dass das Verfallsdatum beachtet wird.
3. Während des Tests müssen Verfahren gemäß der Biosicherheitsstufe 2 und die Grundsätze der Guten Laborpraxis eingehalten werden.<sup>5</sup> Alle Proben und verwendeten Analysegefäße müssen als potenzielle Überträger von Infektionserregern behandelt werden. In den Bereichen, in denen die Proben und Reagenzien der Kits bearbeitet werden, darf weder gegessen, noch getrunken oder geraucht werden.
4. Bei der Handhabung der Proben sind Einweghandschuhe zu tragen und anschließend sind die Hände gründlich zu waschen.
5. Qualitätskontrollprogramme für Labore, die Molekulartests durchführen, müssen eingesetzt werden.
6. Die Alethia Gonorrhoea-Analysegefäße enthalten lyophilisierte Reagenzien. Der Schutzbeutel darf erst dann geöffnet werden, wenn der Assay durchgeführt wird.
7. Die Alethia Gonorrhoea-Analysegefäße sind mit einer Sperrvorrichtung ausgestattet, die eine Kontamination des Testbereichs mit dem Amplifikationsprodukt verhindern soll. Analysegefäße mit defekter Sperrvorrichtung NICHT verwenden.
8. Gebrauchte Alethia Analysegefäße müssen sofort nach Gebrauch entsorgt und die Sperrvorrichtung muss sicher arretiert bleiben. Das Analysegefäß nach der Verarbeitung NICHT öffnen. Öffnen des Gefäßes nach der Amplifikation kann zur Kontamination des Testbereichs mit dem Amplifikationsprodukt führen.
9. Jeder schwerwiegende Vorfall, der in Verbindung mit dem Gerät aufgetreten ist, sollte Meridian Bioscience, Inc., 3471 River Hills Drive, Cincinnati, Ohio 45244 USA oder dem technischen Kundendienst unter 1 800.343.3858 und der zuständigen Behörde des EU-Mitgliedstaates, in dem der Arzt und/oder der Patient ansässig ist, gemeldet werden.
10. WICHTIG: Weitere Sicherheits- und Gefahrenhinweise sind im SDB enthalten.

## GEFÄHRDUNGEN UND SICHERHEITSHINWEISE

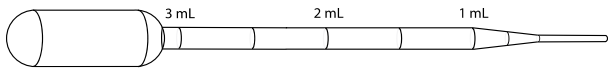
Es gibt keine bekannten Gefahren, die mit diesem Produkt verbunden sind.

## HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum ist auf dem Etikett des Kits angegeben. Kit bei 2-30 C aufbewahren.

## HINWEISE ZUR DURCHFÜHRUNG

Die dem Alethia Gonorrhoea-Kit beiliegende Transferpipette ist separat verpackt und für eine Abgabe von bis zu 3 mL geeignet. Die Pipette ist unten abgebildet.



## VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Sicherstellen, dass die Kitreagenzien vor Gebrauch Raumtemperatur (19–30 C) haben. Werden die Reagenzien vor Gebrauch nicht auf Raumtemperatur gebracht, kann es zu falschen Ergebnissen kommen.

## PROBENNAHME UND -VORBEREITUNG

**Probentypen:** Vom Arzt entnommene endozervikale Abstriche, von der Patientin (in klinischer Umgebung) entnommene vaginale Abstriche, Urinproben von Männern und Frauen.

### Probenahme von endozervikalen und vaginalen Abstrichen

Endozervikale und vaginale Abstriche sollten von einer geschulten medizinischen Fachkraft gemäß den Richtlinien der jeweiligen Einrichtung genommen werden.

Vaginale Abstriche können von der Patientin selbst genommen werden, wenn sie von einer geschulten medizinischen Fachkraft eingewiesen wird. Die Richtlinien der jeweiligen Einrichtung müssen beachtet werden.

### Sammeln von Urinproben

Urinproben müssen in einem sterilen, aus Kunststoff bestehenden Probensammelbehälter ohne Konservierungsmittel entnommen und aufbewahrt werden. Zur Sicherstellung der Probenqualität müssen folgende Schritte eingehalten werden:

1. Der Patient darf mindestens 1 Stunde vor Probenahme nicht urinieren.
2. Der Patient muss die ersten 10–30 mL des gelassenen Urins (erster Teil des Strahls, nicht der Mittelstrahlurin) direkt im Probensammelbehälter auffangen.
3. Den Probensammelbehälter verschließen und mit Patienten- und Probensammelinformationen beschriften.

Gesammelte Abstriche und Urinproben müssen nach der Probenahme gekühlt gelagert werden (bei 2 bis 8 C). Gekühlte Proben können bis zu 7 Tage vor dem Test aufbewahrt werden. Die Proben nicht einfrieren.

## VORBEREITUNG DER PROBEN

**HINWEIS:** Den Alethia Inkubator/-Lesegerät *anschalten*. Sicherstellen, dass die erforderlichen Leistungsverifizierungen vor der VORBEREITUNG DES PROBENMATERIALS abgeschlossen wurden. Weitere Informationen zur Einrichtung und zum Betrieb des Geräts sind dem Alethia Lesegerät Bedienerhandbuch zu entnehmen.

**Weitere Informationen zur Säulenvorbereitung, -ausrichtung und -verwendung sind der Bedienungsanleitung des M-prep-DNA-Probenpräparationskits zu entnehmen.** Eine **M-prep**-Säule pro Probe verwenden. Die obere Säulenkappe sowie den unteren Drehverschluss entfernen, und die Säulenspitze zum Abtropfen in einem **M-prep**-Röhrchen platzieren. Die abgetropften **M-prep**-Säulen müssen innerhalb von einer Stunde verwendet werden.

Sicherstellen, dass die Proben vor der Präparation Raumtemperatur (19–30 C) haben.

### Vorbereitung von Abstrichen

1. Den Abstrich im Medium zur Mischung drehen. Den Behälter mit dem Medium vorsichtig öffnen.
2. Mithilfe einer Transferpipette 1,5 mL des Abstrichmediums in ein 2,0-mL-**M-prep**-Mikrozentrifugenröhrchen mit Schraubverschluss pipettieren. Die Transferpipette anschließend entsorgen.
3. Die Alethia Chlamydia/Gonorrhoea-Assay-Kontrolle kurz vortexen.
4. Einen Tropfen der Assay-Kontrolle in das **M-prep**-Röhrchen mit dem Probenmedium geben. **Die präparierte Probe ist nach der Zugabe des Assay-Kontrollreagenz hellblau.**
5. Das **M-prep**-Röhrchen, das die Probe enthält, verschließen.

### Vorbereitung von Urinproben

1. Den Urinsammelbehälter kreisförmig schwenken, um den Urin zu vermischen. Den Urinsammelbehälter vorsichtig öffnen.
2. Mithilfe einer Transferpipette 1,5 mL des Urins in ein 2,0-mL-**M-prep**-Mikrozentrifugenröhrchen mit Schraubverschluss pipettieren. Die Transferpipette anschließend entsorgen.
3. Die Alethia Chlamydia/Gonorrhoea-Assay-Kontrolle kurz vortexen. Einen Tropfen der Assay-Kontrolle in das **M-prep**-Röhrchen mit dem Probenmedium hinzufügen. **Die vorbereitete Probe ist nach der Zugabe des Assay-Kontrollreagenz hellblau.**
4. Das **M-prep**-Röhrchen, das die Probe enthält, verschließen.

### Vorbereitung einer externen Positivkontrolle

1. Die externe Laufkontrolle NATrol™ für *Neisseria gonorrhoeae* vortexen.
2. 1,5 mL TE-Puffer in ein nuklease-freies 2,0-mL-Mikrozentrifugegefäß geben.
3. Mithilfe einer Mikropipette 250 µL externe Laufkontrolle in das Röhrchen mit dem TE-Puffer geben.
4. Die Alethia Chlamydia/Gonorrhoea-Assay-Kontrolle kurz vortexen. Einen Tropfen der Assay-Kontrolle in das **M-prep**-Röhrchen mit dem Probenmedium geben.
5. Das Mikrozentrifugenröhrchen, das die externe Kontrolle enthält, verschließen.

### Vorbereitung einer externen Negativkontrolle

1. 1,75 mL TE-Puffer in ein Nuklease-freies 2,0-mL-Mikrozentrifugegefäß überführen.
2. Die Alethia Chlamydia/Gonorrhoea-Assay-Kontrolle kurz vortexen. Einen Tropfen der Assay-Kontrolle in das **M-prep**-Röhrchen mit dem Probenmedium geben.
3. Verschließen Sie das Mikrozentrifugenröhrchen, das die externe NEGATIV-Kontrolle enthält.

### Probenverarbeitung

**HINWEIS:** Die Menge der vorbereiteten Probe, die am Ende der Probenverarbeitung gesammelt wird, muss ausreichend sein, um 2 Alethia-Tests durchführen zu können.

1. Jedes **M-prep**-Röhrchen, das eine Probe enthält, für 3 Minuten mit  $2.000 \pm 250$  RCF ( $2.000 \pm 250 \times G$ ) zentrifugieren.
2. Das **M-prep**-Röhrchen aus der Mikrozentrifuge entnehmen. Den Überstand abgießen, ohne die während der Zentrifugation entstandenen Pellets zu zerstören.
3. Mithilfe einer Mikropipette 250 µL **M-prep**-Puffer I in das **M-prep**-Röhrchen pipettieren. Die Pipettenspitze entsorgen. Die Mischung 10 Sekunden vortexen.
4. Mithilfe einer auf 250 µL eingestellten Mikropipette die gesamte vorbereitete Probe auf die Oberseite einer entsprechend beschrifteten und präparierten **M-prep**-Säule geben. Etwa 2 Minuten bzw. so lange warten, bis die Säule die Probe aufgesaugt hat und der Fluss stoppt. Dieser Schritt sollte nicht länger als 30 Minuten dauern.
5. Mithilfe einer Mikropipette 250 µL **M-prep**-Puffer II auf die Oberseite der **M-prep**-Säule geben. Die Pipettenspitze entsorgen. **Die Säule färbt nach der Zugabe des M-prep-Puffers II rot.** Etwa 2 Minuten bzw. so lange warten, bis die Säule den rot gefärbten Puffer aufgesaugt hat und der Fluss stoppt. Dieser Schritt sollte nicht länger als 30 Minuten dauern.
6. Mithilfe des **M-prep**-Röhrchens den letzten Tropfen der Flüssigkeit aus der Säulenspitze entfernen. Das Röhrchen entsorgen.
7. Ein sauberes **M-prep**-Röhrchen unter der **M-prep**-Säule platzieren. Mithilfe einer Mikropipette 250 µL **M-prep**-Puffer III auf die Oberseite der **M-prep**-Säule pipettieren. Die Pipettenspitze entsorgen. Etwa 2 Minuten bzw. so lange warten, bis der Fluss stoppt. Dieser Schritt sollte nicht länger als 30 Minuten dauern.
8. Mithilfe des **M-prep**-Röhrchens den letzten Tropfen der Flüssigkeit aus der Säulenspitze entfernen. Das Röhrchen mit den Probenidentifikationsinformationen beschriften und mit dem Test fortfahren.

### TESTDURCHFÜHRUNG

**HINWEIS:** In einem einzelnen Lauf auf dem Alethia Inkubator/-Lesegerät können maximal 10 Analysegefäße eingesetzt werden.

1. Für jede Probe ein Alethia Gonorrhoea-Analysegefäß aus dem Schutzbeutel nehmen. Öffnen Sie vorsichtig das Gerät, indem Sie die Sperrvorrichtung heben, und es aufrecht halten, so dass das lyophilisierte Reagenz beim Öffnen nicht herausfällt. Das Gefäß in einen passenden Probenständer stellen.
2. 50 µL der Probe in die TEST-Kammer (Links/weißes Kügelchen) und in die KONTROLL-Kammer (Rechts/gelbes Kügelchen) des Alethia-Analysegefäßes pipettieren. Darauf achten, dass keine Luft von außen in das Reaktionsgemisch eindringt. Mischen Sie die Reaktionen nicht mit der Pipette.
3. Einen Tropfen Mineralöl zur TEST- und KONTROLL-Kammer hinzufügen. Das Alethia-Analysegefäß verschließen und die Sperrvorrichtung sichern.
4. Das Gefäß leicht auf die Arbeitsfläche klopfen oder es mit dem Finger antippen, um ggf. Luftblasen zu entfernen. Das Kammern sorgfältig auf die Auflösung des Kontroll- und /Test-Kügelchen sowie auf Luftblasen und Flüssigkeit im oberen Teil des Analysegefäßes prüfen. Falls nicht gelöste Kügelchen, Luftblasen oder Flüssigkeit im Oberteil des Gefäßes zu erkennen sind, das Gefäß vorsichtig auf die Arbeitsfläche klopfen und die Sichtkontrolle wiederholen. Die Amplifikation und Detektion sollte innerhalb von 15 Minuten initiiert werden.
5. Das Alethia-Analysegefäß in das Alethia Lesegerät geben und den Lauf starten. Die Ergebnisse werden am Schluss des Laufs angezeigt.

### AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Proben-ID	Ausgegebenes Ergebnis	Interpretation
Patientenprobe	POSITIV	Probe enthält <i>Neisseria gonorrhoeae</i> -Ziel-DNA.
	NEGATIV	Keine <i>Neisseria gonorrhoeae</i> -DNA nachgewiesen.
	UNGÜLTIG	<b>Kein angezeigtes Ergebnis. Wiederholen Sie den Test unter Verwendung der originalen Patientenprobe.</b> Inhibitorische Patientenprobe, unsachgemäße Probenvorbereitung, Reagenzversagen, Instrumentenversagen oder interner Kontrollfehler.
Positivkontrolle	POSITIV	Gültiges positives Kontrollergebnis. Reagenzien, die zum Zeitpunkt der Verwendung aktiv sind, funktionieren mit dem Alethia Lesegerät korrekt.
	NEGATIV	<b>Falsches Kontrollergebnis.</b> Wiederholen Sie als ersten Schritt die Kontrolltests, um die Fehlerquelle zu ermitteln. Lassen sich auch bei wiederholten Tests die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, rufen Sie bitte den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Vertriebspartner.
	UNGÜLTIG	<b>Kein angezeigtes Ergebnis. Wiederholen Sie den gesamten Testlauf unter Verwendung der ursprünglichen Proben.</b> Falsche Probenvorbereitung, Reagenzversagen, Instrumentenversagen oder interner Kontrollfehler.
Negativkontrolle	POSITIV	<b>Falsches Kontrollergebnis.</b> Wiederholen Sie als ersten Schritt die Kontrolltests, um die Fehlerquelle zu ermitteln. Lassen sich auch bei wiederholten Tests die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, rufen Sie bitte den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Vertriebspartner.
	NEGATIV	Gültiges negatives Kontrollergebnis. Reagenzien, die zum Zeitpunkt der Verwendung aktiv sind, funktionieren mit dem Alethia Lesegerät korrekt.
	UNGÜLTIG	<b>Kein angezeigtes Ergebnis. Wiederholen Sie den gesamten – Testlauf unter Verwendung der ursprünglichen Proben.</b> Falsche Probenvorbereitung, Reagenzienversagen, Instrumentenversagen oder interner Kontrollfehler.
LEERER SCHACHT	KEINER	Kein Alethia-Analysegefäß in der Vertiefung des Alethia Lesegeräts. <b>ODER</b> Das vorhandene Alethia-Analysegefäß ist aufgrund fehlerhafter Probenvorbereitung, verunreinigtem Gefäß oder falsch aufgestelltem Gefäß beeinträchtigt. <b>Wiederholen Sie den Test unter Verwendung der ursprünglichen Proben.</b>

## QUALITÄTSKONTROLLE

**Führen Sie den Test gemäß der einschlägigen lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. zulassungsbehördlichen Auflagen durch.**

- Jedes Gefäß enthält eine interne Kontrolle, die die Amplifikationsinhibition, Assay-Reagenzien und die Effizienz der Probenverarbeitung überwacht.
- Gemäß Guter Laborpraxis ist die Anwendung von Kontrollmaterialien empfohlen. Anwender sollten die entsprechenden bundesstaatlichen, staatlichen und kommunalen Richtlinien zur Mitführung von externen Qualitätskontrollen befolgen.
- Es wird empfohlen, die Reaktivität jeder neuen Charge und jeder neuen Lieferung des Alethia-Gonorrhoea-Testkits vor Gebrauch zu überprüfen. Externe Kontrolltests sind danach gemäß bundestaatlichen, staatlichen und kommunalen Richtlinien durchzuführen. Das Alethia-Gonorrhoea-Testkit sollte nicht für Tests von Patientenproben verwendet werden, wenn die externen Kontrollen nicht die richtigen Ergebnisse erbringen.
- Für jedes externe Kontrollreagenz muss ein separates Analysegefäß verwendet werden.

## ERWARTETE WERTE

Die Inzidenz von *Neisseria gonorrhoeae*, die durch den Alethia-Gonorrhoea-Assay bei prospektiven, nicht ausgewählten Proben während des Zeitraums dieser klinischen Studien nachgewiesen wurde, betrug 0,9% (1/107) bei endozervikalen Abstrichen und 9,0% (41/454) im Urin. Sämtliche vaginale Abstriche dieser Studie (n=102) lieferten negative Ergebnisse hinsichtlich des Alethia Gonorrhoea-Assays.

## EINSCHRÄNKUNGEN

- Dieses Produkt kann nur mit dem Alethia-Instrument verwendet werden.
- Bei dem Alethia Gonorrhoea-Assay handelt es sich um einen qualitativen Assay, der keine quantitativen Ergebnisse oder Informationen zur Belastung mit den Organismen liefert.
- Die Leistung des Alethia Gonorrhoea-Assays bei endozervikalen und vaginalen Abstrichen wurde mithilfe des Sammel-, Konservierungs- und Transportsystems Copan MSwab™ für Molekular- und Kulturanwendungen (Bestellnummer: 6E028N.MER) bestimmt. Die Verwendung von alternativen Abstrichsammelsystemen kann zu falschen Ergebnissen führen und wird nicht empfohlen.
- Die Detektion von Nukleinsäuren hängt von der korrekten Probennahme sowie Handhabung, Transport, Lagerung und Präparation ab. Wird das ordnungsgemäße Verfahren bei einem dieser Schritte nicht eingehalten, kann dies zu falschen Ergebnissen führen.
- Die Nukleinsäuren des Organismus können unabhängig von der Lebensfähigkeit des Organismus *in vivo* fortbestehen. Der Alethia Gonorrhoea-Assay unterscheidet nicht zwischen lebensfähigen und nicht-lebensfähigen Organismen.
- Wie bei allen anderen diagnostischen Tests auf molekularer Grundlage können (A) falsch negative Ergebnisse infolge der Präsenz von Inhibitoren, technischen Fehlern, Vertauschen der Proben und geringer Organismenanzahl in der klinischen Probe entstehen, (B) falsch positive Ergebnisse infolge der Präsenz einer Kreuzkontamination mit Zielorganismen, deren Nukleinsäuren oder dem amplifizierten Produkt sowie von nicht-spezifischen Signalen produziert werden.

## LEISTUNGSMERKMALE

Der Alethia Gonorrhoea-DNA-Amplifikationsassay wurde zwischen Juli und September 2014 evaluiert. Die klinische Probenentnahme wurde von drei unabhängigen Einrichtungen durchgeführt, die geografisch unterschiedliche Regionen der USA repräsentieren. Es wurden endozervikale Abstriche vom Arzt, vaginale Abstriche von Patientinnen sowie Urinproben von Männern und Frauen genommen, die symptomatisch oder asymptomatisch waren. Die Studie wurde durch übrig gebliebene, klinische Urinproben ergänzt, die von Patienten stammen, deren Arzt einen Chlamydien- und/oder Gonorrhoea-Test angeordnet hatte. Die klinischen Proben wurden durch den Hersteller mit dem Alethia Gonorrhoea-Testkit getestet.

Die Leistung des Alethia Gonorrhoea-Assays wurde durch ein unabhängiges Referenzlabor mit einem etablierten, handelsüblichen PCR-Assay zur Feststellung von *Neisseria gonorrhoeae* und einer Vergleichsmethode verglichen. Informationen über die klinische Studie werden nachfolgend beschrieben.

**Tabelle 1** Leistungsmerkmale – *N. gonorrhoeae*

Komparator (Vergleichsrichtung)	Alethia Gonorrhoea Alle Proben kombiniert, alle Patienten Weibliche endozervikale Abstriche, weibliche vaginale Abstriche, Urinproben von Frauen und Männern			
	Positiv	Negativ	Ungültig	Kein Ausfluss
	Positiv	29	2	3
Negativ	12	594	11	6
Nicht getestet	1	9	0	0
<b>Gesamt</b>	<b>42</b>	<b>605</b>	<b>14</b>	<b>6</b>
			95% VI	
<b>Sensitivität</b>	29/31	93,5%	79,3 – 98,2%	
<b>Spezifität</b>	594/606	98,0%	96,6 – 98,9%	
<b>Korrelation</b>	623/637	97,8%	96,3 – 98,7%	
<b>Ungültigkeitsrate</b>	14/667	2,1%	1,3 – 3,5%	

Vierzehn Proben lieferten ungültige Ergebnisse, wobei es sich um fünf Abstriche und neun Urinproben handelte. Sechs Proben flossen nicht durch die **M-Prep**-Säule und brachten keine Alethia-Ergebnisse.

In der Studie verwendete Proben stammten von Patienten, deren Arzt einen Chlamydien- und/oder Gonorrhoea-Test angeordnet hatte. 117 Patienten (25,0%) wurden als asymptomatisch und 55 (11,8%) als symptomatisch angesehen. Die übrigen 295 Patienten wurden nicht eingestuft.

Bei 466 Patienten, deren Proben getestet wurden, lagen Informationen über das Alter vor. Das Patientenalter lag zwischen 14 und 66 Jahren. Patienten unter 14 Jahren wurden von der Studie ausgeschlossen. 299 Patienten (60,5%) waren zwischen 14 und 21 Jahre alt, 166 (33,6%) zwischen 21 und 65 Jahre, und einer (0,2%) war über 65 Jahre, jedoch unter 90 Jahre. Das Alter eines Patienten (0,2%) war unbekannt. Es wurden keine Leistungsunterschiede aufgrund des Alters festgestellt.

Die Studienpopulation umfasste 277 (59,3%) weibliche und 190 (40,7%) männliche Patienten. Es wird nicht erwartet, dass das Geschlecht der Patienten die Leistungsdaten des Alethia Gonorrhoea-Assay beeinflusst.

## ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Die analytische Sensitivität bzw. die Nachweisgrenze für den Alethia Gonorrhoea-Assay wurde für einen Stamm *N. gonorrhoeae* bestimmt. Die Nachweisgrenze wurde unter Verwendung von 60 Replikaten und einer angegebenen Wahrscheinlichkeit (z.B. 95%, von denen 57/60 Replikate positiv sind) des Erhalts von positiven Reaktionen bestimmt. Die Tests zur analytischen Sensitivität sind nachstehend zusammengefasst.

Stamm	Konzentrationen (KBE/mL)
ATCC 31426	240

## ASSAY-REAKTIVITÄT

Die folgenden *N. gonorrhoeae*-Stämme wurde getestet und ergaben eine positive Reaktion mit dem Alethia Gonorrhoea-Assay in den angegebenen Konzentrationen:

Stamm	Konzentrationen (KBE/mL)
ATCC 9826	240
ATCC 9827	1477
ATCC 9828	120
ATCC 9830	120
ATCC 19424	120
ATCC 31356	15
ATCC 43069	120
ATCC 43070	120
ATCC 49226	15
ATCC 49498	240
ATCC 49981	480

## REPRODUZIERBARKEIT

Reproduzierbarkeitsstudien wurden in drei Laboren durchgeführt. Dafür wurden den teilnehmenden Laboren verschlüsselte Panels von 10 Proben übergeben. Die Proben waren innerhalb jedes Panels nach dem Zufallsprinzip gereiht, um die Probenidentität zu maskieren. Die Panels umfassten künstliche Proben in Form von mittelpositiven Proben ( $2,88 \times 10^4$  IFU/mL), leicht positiven Proben (960 IFU/mL) und hoch negativen Proben (7,5 IFU/mL). Das Panel enthielt auch eine negative Probe, eine positive Kontrolle und eine negative Kontrolle. Die Tests wurden am selben Tag von verschiedenen Bedienern in jeder Einrichtung (Intra-Assay-Variabilität) fünf Tage lang (Inter-Assay-Variabilität) durchgeführt. In dieser Studie wurden drei Chargen von des Alethia-Gonorrhoea-Assays und 13 Alethia-Instrumente eingesetzt. An jedem Testtag wurden die Positiv- und Negativkontrollen getestet. Die Ergebnisse sind in der Tabelle unten angeführt:

Probenart	Einrichtung 1		Einrichtung 2		Einrichtung 3		Gesamt	
	Prozentuale Übereinstimmung		Prozentuale Übereinstimmung		Prozentuale Übereinstimmung		Prozentuale Übereinstimmung	
Mäßig positiv	30/30	100,0 %	29/30	96,7 %	27/30	90,0 %	86/90	95,6 %
Schwach Positiv	30/30	100,0 %	28/30	93,3 %	28/30	93,3 %	86/90	95,6 %
Sehr Negativ	24/30	80,0 %	29/30	96,7 %	28/30	93,3 %	81/90	90,0 %
Negativ	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	30/30	100,0 %
Negativkontrolle	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	30/30	100,0 %
Positivkontrolle	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	30/30	100,0 %

## KREUZREAKTIVITÄT

Kreuzreaktivitätsstudien wurden mit positiven und negativen Urinproben durchgeführt, die mit Mikroorganismen bis zu einer Endkonzentration von  $1,2 \times 10^6$  KBE/mL inokuliert waren. Keiner der folgenden Organismen reagierte mit dem Alethia Gonorrhoea-Assay: *Acinetobacter Iwoffii*, *Alcaligenes faecalis*, *Bacteroides fragilis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Morganella morganii*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria denitrificans*, *Neisseria elongata*, *Neisseria flava*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria mucosa*, *Neisseria perflava*, *Neisseria polysacchara*, *Neisseria sicca*, und *Neisseria subflava*.

## STÖRSUBSTANZEN-TESTS

Die folgenden chemischen Substanzen stören in den angegebenen gesättigten Lösungsmittel-/Verdünnungsmittelkonzentrationen die Testergebnisse nicht: Acetylsalicylsäure (4 mg/mL), Acetaminophen (3,2 mg/mL) und feminines Körperpuder (2,5 % w/v).

Die folgenden biologischen Substanzen stören in den angegebenen gesättigten Lösungsmittel-/Verdünnungsmittelkonzentrationen die Testergebnisse nicht: Saurer Urin [pH 4, (100% Volumenanteil)], alkalischer Urin [pH 9, (100% Volumenanteil)], Beta-Östradiol (0,07 mg/mL), menschliche DNA (3,333 ng/mL), Leukozyten ( $1,04 \times 10^6$  Zellen/mL), Mucin [bovin-submaxillärer Drüsentyp I-S (0,2% Massekonzentration)], Progesteron (7 mg/mL), Samenflüssigkeit (5,0% v/v), Vollblut (0,3% v/v).



## REFERENCES

1. Nagamine, K., Hase, T., Notoni, T. Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplifications using loop primers. *Mol Cell Probes* 2002;16:223-29.
2. World Health Organization. 2005. Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overview and estimates. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Surveillance 2010 Atlanta: U.S Department of Health and Human Services; 2011.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2010. *MMWR* 2010; 59(No. RR-12): [44-55].
5. US Department of Health and Human Services PHS/CDC/NIH. Biosafety in microbiology and biomedical laboratories, Washington DC: US Government Printing Office, 2007.



SN11033




















REV. 03/26

 <p><b>Manufactured By</b></p>	<p>Meridian Bioscience, Inc.  3471 River Hills Drive  Cincinnati, OHIO - 45244 USA  www.meridianbioscience.com</p> <p><u>Contacts:</u>  Main Telephone (+1) 513.271.3700  Customer Service/Orders 800.543.1980  Technical Support Center 800.343.3858  Information Fax: 513.272.5432  Ordering Fax: 513.271.0124  E-mail: <a href="mailto:info@meridianbioscience.com">info@meridianbioscience.com</a></p>
	<p>Meridian Bioscience Europe, SRL  Via Dell'Industria 7, 20035 Villa Cortese  (Milano) ITALY  www.meridianbioscience.com</p> <p><u>Contacts:</u>  Main Telephone (+39) 0331.433636  E-mail: <a href="mailto:info@meridianbioscience.eu">info@meridianbioscience.eu</a>  Technical Support: <a href="mailto:MBE-TechService@meridianbioscience.eu">MBE-TechService@meridianbioscience.eu</a>  Customer Service/Orders:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• For Italian Customers:  <a href="mailto:ordini@meridianbioscience.com">ordini@meridianbioscience.com</a></li> <li>• For Distributors / International Customers:  <a href="mailto:Export.CustomerService@meridianbioscience.eu">Export.CustomerService@meridianbioscience.eu</a></li> </ul>
<p><b>UK Authorised Representative</b></p>	<p>Launch Diagnostics Limited  Lakeview West  Crossways Business Park  Galleon Boulevard  Dartford  Kent DA2 6QE  United Kingdom</p>

**INTERNATIONAL SYMBOL USAGE**

You may see one or more of these symbols on the labeling/packaging of this product:

Key guide to symbols (Guida ai simboli, Guide des symboles, Guía de símbolos, Zeichenerklärung)

	Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusqu' à / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	<b>CONTROL +</b>	Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
<b>LOT</b>	Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / Chargennummer	<b>CONTROL -</b>	Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle
<b>IVD</b>	In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico-diagnostico in vitro / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Dispositif médical pour diagnostic in vitro / In-Vitro-Diagnostikum	<b>EC REP</b>	Authorized Representative in the European Community / Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea / Mandataire dans la Communauté européenne / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	Meridian products carrying the European Conformity (CE) mark fulfil the requirements of Directive 90/269/EEC or the Regulation 2017/746 on in-vitro diagnostic medical devices / I prodotti Meridian recanti il marchio di Conformità Europea (CE) soddisfanno i requisiti della Direttiva 90/269/CEE o del Regolamento 2017/746 sui dispositivi medico-diagnostici in vitro / Les produits Meridian portant la marque de Conformité européenne (CE) sont conformes aux exigences de la Directive 90/269/CEE ou du Règlement 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Los productos de Meridian que llevan la marca de conformidad europea (CE) cumplen los requisitos de la Directiva 90/269/CEE o del Reglamento 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro / Produkte von Meridian mit der CE-Kennzeichnung erfüllen die Anforderungen der EU-Richtlinie 90/269/EG bzw. der Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika	<b>SMP PREP DIL SPE</b>	Sample Preparation Apparatus containing Sample Diluent / Dispositivo per la preparazione del campione contenente il diluente del campione / Système pour la préparation de l'échantillon, diluant inclus / Aparato para Preparación de Muestra con Diluyente de Muestra / System zur Probenzubereitung, in dem sich Probenverdünnungsreagenzien befinden
		<b>STERILE R</b>	Sterilized by gamma irradiation / Sterilizzazione con raggi gamma / Stérilisation par irradiation aux rayons gamma / Esterilizado por irradiación gamma / Sterilisation durch Gammastrahlung
<b>REF</b>	Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Número de catálogo / Bestellnummer		Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht Einfrieren
	Consult Instructions for Use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulter les instructions d'utilisation / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten	<b>RoHS</b>	Restriction of Hazardous Substances / Restrizione all'uso di sostanze pericolose / Limitation de substances dangereuses / Restricción de Substancias Nocivas / Beschränkung der Verwendung bestimmter gefährlicher Stoffe
	Manufacturer / Fabricante / Fabricant / Fabricator / Hersteller		Caution, consult accompanying documents / Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso / Attention voir notice d'instructions / Atención, ver instrucciones de uso / Achtung, Begleitdokumente beachten
<b>SN</b>	Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer	<b>STERILE EO</b>	Sterilized by ethylene oxide / Sterilizzazione con etilene di ossido / Stérilisation par oxyde d'éthylène / Esterilizado por etileno de óxido / Sterilisation durch Ethylenoxid
	Contents sufficient for n+1 tests / Contenuto sufficiente per "n+1" saggi / Contenu suffisant pour "n+1" tests / Contenido suficiente para "n+1" ensayos / Inhalt ausreichend für "n+1" Prüfungen	<b>BUF RXN</b>	Reaction Buffer / Tampone di reazione / Solution de réaction tamponnée / Tampón de Reacción / Reaktionspuffer
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Limite de température / Temperaturbegrenzung		ETL Registered Mark Certified / Marchio di certificazione registrato a livello nazionale / Certifié Conforme ETL / Marca de Certificación Registrada Nacional / ETL Konform geprüfte
	Female / Femmineile / De sexe féminin / Herbin / Frau		Recycle - do not dispose of as general waste / Riciclare - non eliminare come rifiuto generico / Recycle - ne pas jeter dans une poubelle / Reciclo - no desecha como basura general / Recycling - dieses Produkt nicht über den Hausmüll entsorgen
	Single Use Only / Prodotto Monouso / A usage unique / Para Un Solo Uso / nur für die einmalige Anwendung	<b>HT TUBE</b>	Heat Treatment Tube / Provetta per il trattamento termico / Tube pour le traitement thermique / Tubo de tratamiento de calor / Röhrechen zur Hitzebehandlung
	Date of manufacture / Data di fabbricazione / Date de fabrication / Fecha de fabricación / Herstellungsdatum		For IVD Performance Evaluation Only / Solamente per valutazione delle prestazioni / Réserve IVD réservée à l'évaluation des performances / Sólo para evaluación del funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsbewertung
	LASER RADIATION: Avertis Exposed to Beam / RADIAZIONE LASER: Evitare l'esposizione al raggio / RAYONNEMENT LASER: Eviter toute exposition au faisceau / Radiación Laser: Evite Exposición a los Rayos / LASERSTRAHLUNG: Vermeiden Kontakt mit dem Strahl vermeiden		HOT SURFACE: Keep hands Away from Hot Surfaces / Superficie calda: tenere le mani lontane dalle superfici calde / SURFACES CHAUDES: Ne pas toucher les surfaces chaudes / Superficie Caliente: Mantenga las manos alejadas de la superficie caliente / Heiße Oberfläche: Kontakt mit heißen Oberflächen vermeiden
	CAUTION: Laser Radiation / ATTENZIONE: Radiazione Laser / AVERTISSEMENT: Rayonnement laser / Precaución: Radación Laser / WARNUNG: Lasereinstrahlung	<b>IPX-0</b>	CAUTION: Protect from water / ATTENZIONE: Proteggere dall'acqua / AVERTISSEMENT: Protéger de l'humidité / Precaución: Proteja del agua / WARNUNG: Vor Feuchtigkeit schützen
	CAUTION: Risk of Danger / ATTENZIONE: Pericolo / AVERTISSEMENT: Risque de danger / Precaución: Peligro / WARNUNG: Risikogefahr	<b>CONTROL</b>	Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest
<b>BUF</b>	Buffer / Soluzione tampone / Solution tamponnée / Tampón / Puffer		Warning / Avvertenze / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise
<b>MIN OIL</b>	Mineral Oil / Olio Minerale / Huile Minérale / Aceite Mineral / Mineralöl	<b>MEDIA</b>	Media / Tirreno di trasporto / Milieu / Medio / Medium
<b>ST TUBE</b>	Screw Top Tube / Provetta con tappo a vite / Tube à bouchon vissé / Tubo con tapa de rosca / Röhrechen mit Schnappverschluss	<b>COL</b>	Sample Preparation Column / Colonna di preparazione del campione / Colonne pour la préparation de l'échantillon / Columna de preparación de muestra / Säule zur Probenzubereitung
<b>BUF SMP</b>	Sample Buffer / Soluzione tampone per il campione / Tampon de l'échantillon / Tampón de muestra / Probenpuffer	<b>PRE REAG</b>	Pretreatment Reagent / Reagente di Pretrattamento / Réactif de prétraitement / Reactivo de pretratamiento / Reagenz für die Vorbehandlung
<b>R. Only</b>	Prescription Use Only / Par l'uso su prescrizione medica / Uniquement sur prescription / Solo Para Use Per Receta / verschreibungspflichtig	<b>SMP PREP</b>	Sample Preparation / Preparazione del campione / Préparation de l'échantillon / Preparación de Muestra / Probenzubereitung
<b>TUBE</b>	Empty Tube / Provetta vuota / Tube vide / Tubo vacío / Leeres Gefäß	<b>CH REP</b>	Swiss Authorized Representative / Mandatario svizzero / Mandataire Suisse / Representante Autorizado Suizo / Schweizer Bevollmächtigter

For technical assistance, call Technical Support Services at 800-343-3858 between the hours of 8AM and 6PM, USA Eastern Standard Time. To place an order, call Customer Service Department at 800-543-1980.