


BD ProbeTec™ ET *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* Amplified DNA Assays

English: pages 1 – 21
 Français : pages 22 – 42
 Deutsch: Seiten 42 – 62

Italiano: pagine 63 – 82
 Español: páginas 83 – 103

 0336 3300754
 2005/07

Patent Numbers: 5,270,184, 5,455,166, 5,547,861, 5,648,211, 5,866,336 5,919,630,
 5,928,869, 5,935,791, 5,958,700, 5,962,273 6,090,552, 6,117,635

See symbol glossary at end of insert. / Viz popis symbolů na konci příbalového letáku. / Se symbolglossaret i slutningen af indlægssedlen. / Zie lijst met symbolen aan het einde van de bijsluiter. / Vaadake sūmbolite seletust infolehe lõpus. / Katsõ pakkausselosteen lopussa olevaa kuvamerkkien sanastoa. / Voir le glossaire des symboles à la fin de la notice. / Siehe Symbol-Erklärungen am Ende der Packungsbeilage. / Δείτε το γλωσσάριο των συμβόλων στο τέλος του ένθετου. / A jelmagyarázat a használati utasítás végén található. / Vedere il glossario dei simboli alla fine del foglio illustrativo. / Zr. informacino lapelio pabaigoje pateikiamą simbolių glosarijų. / Se i symbolforklaringen på slutten av produktvedlegget. / Zobacz objaśnienie symboli na końcu ulotki. / Consulte o glossário de símbolos no fim do folheto informativo. / Pozri slovník symbolov na konci letáka. / Consulte el glosario de símbolos al final del prospecto. / Se symbolförteckningen vid slutet av bipacksedeln.

Pokyny vám poskytné místní zástupce společnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőjétől. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o seu representante local da BD para obter instruções. / Instrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Kontakta lokal Becton Dickinson-representant för anvisningar.

INTENDED USE

The **BD ProbeTec™ ET *Chlamydia trachomatis* (CT) and *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Amplified DNA Assays**, when tested with the **BD ProbeTec ET System**, use Strand Displacement Amplification (SDA) technology for the direct, qualitative detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* DNA in endocervical swabs, male urethral swabs, and in female and male urine specimens as evidence of infection with *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, or of co-infection with both *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae*. Specimens may be from symptomatic or asymptomatic females and males. A separate Amplification Control is an option for inhibition testing (**BD ProbeTec ET CT/GC/AC Reagent Pack**). The **BD ProbeTec ET CT/GC assays** may be performed using either the **BD ProbeTec ET System** or a combination of the **BD ProbeTec ET System** and **BD Viper™** instrument.

SUMMARY AND EXPLANATION

Chlamydia trachomatis and *Neisseria gonorrhoeae* infections are the most common sexually transmitted bacterial diseases in the United States. Approximately 4 million new chlamydia cases are estimated to occur each year in the United States with worldwide estimates of approximately 50 million new cases annually.¹⁻³ The incidence of chlamydial infections in women in the US in 1996 was 186.6 per 100,000. The total number of chlamydial infections and gonorrhea cases reported in the US in 1996 were 490,080 and 325,883, respectively.²

Chlamydiae are gram-negative, obligate intracellular bacteria. They form characteristic intracellular inclusions which can be observed in cell culture by light microscopy after special staining is applied.⁴ *Chlamydia trachomatis* causes cervicitis, urethritis, salpingitis, proctitis and endometritis in women and urethritis, epididymitis and proctitis in men. Acute infections are reported more frequently in men because women often have no symptoms of infection. It has been estimated that 70 – 80% of women and up to 50% of men who are infected experience no symptoms. Many chlamydial infections in women remain untreated which may result in low-grade inflammation in the Fallopian tubes, a leading contributor to infertility. This organism can also be transmitted in the birth canal, potentially resulting in infant conjunctivitis and/or chlamydial pneumonia in newborns.^{4,5}

Neisseria gonorrhoeae are gram-negative, oxidase positive diplococci which can be observed in Gram-stained smears of urethral discharges, usually within neutrophils. Culture of *N. gonorrhoeae* can be difficult because the organism does not survive long outside its host and is highly susceptible to adverse environmental conditions such as drying and extreme temperatures.⁶ *Neisseria gonorrhoeae* causes acute urethritis in males, which if untreated can develop into epididymitis, prostatitis, and urethral stricture. In females, the primary site of infection is the endocervix. An important complication in females is development of pelvic inflammatory disease which contributes to infertility.⁷ Asymptomatic infections occur often in females but infrequently in males.

The current methods for detection of *C. trachomatis* and/or *N. gonorrhoeae* include culture, immunoassays, non-amplified probes, and amplified probes.^{4,6,7} The development of amplified methods has demonstrated two advantages over non-amplified methods: increased sensitivity, and applicability to a variety of sample types. Historically, culture has been the "gold standard" for detection of *C. trachomatis*. However, the culture yield varies widely among laboratories, and culture in routine practice is less sensitive than amplified methods. Combining results from multiple methods of CT detection improves accuracy for evaluating new tests in that infected and uninfected patients can be more reliably identified. For identification of GC, optimized culture methods continue to be the standard for diagnosing patients with gonococcal infections.

The **BD ProbeTec ET *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* Amplified DNA Assays**, when used with the **BD ProbeTec ET System**, utilize homogeneous Strand Displacement Amplification (SDA) technology as the amplification method and fluorescent energy transfer (ET) as the detection method to test for the presence of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* DNA in clinical specimens.⁸⁻¹⁰

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

The **BD ProbeTec ET *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* Amplified DNA Assays** are based on the simultaneous amplification and detection of target DNA using amplification primers and a fluorescent labeled detector probe.^{9,10} The SDA reagents are dried in two separate disposable microwell strips. The processed sample is added to the Priming Microwell which contains the amplification primers, fluorescent labeled detector probe, and other reagents necessary for amplification. After incubation, the reaction mixture is transferred to the Amplification Microwell, which contains two enzymes (a DNA polymerase and a restriction endonuclease) necessary for SDA. The

Amplification Microwells are sealed to prevent contamination and then incubated in a thermally controlled fluorescent reader which monitors each reaction for the generation of amplified products. The presence or absence of CT and GC is determined by relating the **BD ProbeTec ET** MOTA (Method Other Than Acceleration) scores for the sample to pre-determined cutoff values. The MOTA score is a metric used to assess the magnitude of signal generated as a result of the reaction.

This insert describes the test procedures for two assay kit configurations - the CT/GC Reagent Pack and the CT/GC/AC Reagent Pack. If the CT/GC Reagent Pack is used, each sample and control are tested in two discrete microwells: one for *C. trachomatis* and one for *N. gonorrhoeae*. If the CT/GC/AC Reagent Pack is used, each sample and control are tested in three discrete microwells: *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, and the Amplification Control. The purpose of the Amplification Control is to identify a sample that may inhibit the SDA reaction.

REAGENTS

Each **BD ProbeTec ET** CT/GC Reagent Pack contains:

Chlamydia trachomatis (CT) Priming Microwells, 4 x 96:

4 Oligonucleotides ≥ 7 pmol; dNTP ≥ 35 nmol; Detector probe ≥ 25 pmol; with buffers and stabilizers.

Neisseria gonorrhoeae (GC) Priming Microwells, 4 x 96:

4 Oligonucleotides ≥ 7 pmol; dNTP ≥ 35 nmol; Detector probe ≥ 25 pmol; with buffers and stabilizers.

Chlamydia trachomatis (CT) Amplification Microwells, 4 x 96:

Restriction enzyme ≥ 30 Units; DNA Polymerase ≥ 25 Units; dNTP's ≥ 80 nmol; with buffers and stabilizers.

Neisseria gonorrhoeae (GC) Amplification Microwells, 4 x 96:

Restriction enzyme ≥ 15 Units; DNA Polymerase ≥ 2 Units; dNTP's ≥ 80 nmol; with buffers and stabilizers.

In addition to the above reagents, the **BD ProbeTec ET** CT/GC/AC Reagent Pack also contains:

Amplification Control (AC) Priming Microwells, 4 x 96:

4 Oligonucleotides ≥ 7 pmol; dNTP ≥ 35 nmol; Detector probe ≥ 25 pmol; $\geq 1,000$ copies per reaction of pGC10 linearized plasmid; with buffers and stabilizers.

Amplification Control (AC) Amplification Microwells, 4 x 96:

Restriction enzyme ≥ 15 Units; DNA Polymerase ≥ 2 Units; dNTP's ≥ 80 nmol; with buffers and stabilizers.

NOTE: Each microwell pouch contains one desiccant bag.

Accessories: Priming Covers; Amplification Sealers, 40 each; Disposal Bags, 20 each.

BD ProbeTec ET (CT/GC) Control Set, 20 CT/GC Positive Controls (50 μ L dried) containing 750 copies per reaction of pCT16 linearized plasmid* and 250 copies per reaction of pGC10 linearized plasmid* with ≥ 5 μ g Salmon testes DNA; 20 CT/GC Negative Controls (50 μ L dried) with ≥ 5 μ g Salmon testes DNA; **BD ProbeTec ET** CT/GC Diluent Tubes – 400 tubes each containing 2 mL of Sample Diluent, which contains potassium phosphate, DMSO, glycerol, Polysorbate 20, and 0.03% Proclin™ (preservative); **BD ProbeTec ET** Diluent (CT/GC) – 225 mL Sample Diluent which contains potassium phosphate, DMSO, glycerol, Polysorbate 20, and 0.03% Proclin (preservative).

* The concentration of this DNA was determined spectrophotometrically at 260 nm.

Instrument, equipment and supplies: **BD ProbeTec ET** Instrument and Instrument Plates, **BD ProbeTec ET** Lysing Heater, Lysing Rack and base, **BD ProbeTec ET** Priming and Warming Heater, **BD ProbeTec ET** Pipettor and Power Supply, **BD ProbeTec ET** Urine Processing Pouch, **BD ProbeTec** Urine Preservative Transport Kit, **BD ProbeTec ET** Sample Tubes, Caps, and Pipette Tips, **BD ProbeTec ET** *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) Amplified DNA Assay Endocervical Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit or **BD ProbeTec ET** CT/GC Amplified DNA Assay Collection Kit for Endocervical Specimens, **BD ProbeTec ET** *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* CT/GC Amplified DNA Assay Male Urethral Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit or **BD ProbeTec ET** CT/GC Amplified DNA Assay Collection Kit for Male Urethral Specimens.

Materials Required But Not Provided: Centrifuge capable of 2000 x g, vortex mixer, gloves, pipettes capable of delivering 1 mL, 2 mL and 4 mL, ELIMINase™, DNA AWAY™ or 1% (v/v) sodium hypochlorite with Alconox™*, clean container suitable for holding aliquotted Diluent, timer and absorbent paper, sterile urine specimen collection cups.

*Mix 200 mL of bleach with 800 mL of warm water. Add 7.5 g of Alconox and mix. Prepare fresh daily.

Storage and Handling Requirements: Reagents may be stored at 2 – 33°C. Unopened Reagent Packs are stable until the expiration date. Once a pouch is opened, the microwells are stable for 4 weeks if properly sealed or until the expiration date, whichever comes first. Do not freeze.

Warnings and Precautions:

For *in vitro* Diagnostic Use

1. This reagent pack is for testing endocervical and male urethral swabs and male and female urine specimens with the **BD ProbeTec ET** System.
2. For collection of endocervical swab specimens, only the **BD ProbeTec ET** *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) Amplified DNA Assay Endocervical Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit and the **BD ProbeTec ET** CT/GC Amplified DNA Assay Collection Kit for Endocervical Specimens have been validated.
3. For collection of male urethral swab specimens, only the **BD ProbeTec ET** *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) Amplified DNA Assay Male Urethral Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit and the **BD ProbeTec ET** CT/GC Amplified Assay Collection Kit for Male Urethral Specimens have been validated.
4. For urine specimens, only the **BD ProbeTec ET** Urine Processing Pouch (UPP), the **BD ProbeTec** Urine Preservative Transport (UPT), and unpreserved (neat) urine have been validated.
5. The **BD ProbeTec** Urine Preservative Transport (UPT) Kit contains **NAP Guard™** (≥ 742.5 mM K₂EDTA). **NAP Guard** may be irritating to the eyes, skin and respiratory system. In case of contact with eyes, rinse opened eye immediately with plenty of water and seek medical advice if symptoms persist. After contact with skin, wash immediately with plenty of soap and water. If inhaled, seek medical attention in case of problems.

6. Laboratories may validate other swab or urine collection and transport devices for use with the **BD ProbeTec ET** CT/GC assays according to the "Verification and Validation Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory," Cumitech 31, B.L. Elder et al., American Society for Microbiology, Washington D.C., February, 1997.
7. Do not test the CT/GC Diluent tube from the **BD ProbeTec ET** CT/GC Amplified Assay Collection Kits if received in the laboratory without the swab present. A false negative test result may occur.
8. Use only the **BD ProbeTec ET** Pipettor and **BD ProbeTec ET** Pipette tips for the transfer of processed samples to Priming Microwells and the transfer of samples from the Priming Microwells to the Amplification Microwells.
9. Do not interchange or mix kit reagents from kits with different lot numbers.
10. Pathogenic microorganisms, including hepatitis viruses and Human Immunodeficiency Virus, may be present in clinical specimens. "Standard Precautions" ¹¹⁻¹⁴ and institutional guidelines should be followed in handling all items contaminated with blood and other body fluids.
11. Use established laboratory practices when disposing of used pipette tips, sample tubes, Priming Microwells and other disposables. Discard disposables carefully. Seal and dispose of waste containers when they are 3/4 full or daily (whichever comes first).
12. The **BD ProbeTec ET** Diluent (CT/GC) and CT/GC Diluent tube contain dimethyl sulfoxide (DMSO). DMSO is harmful by inhalation, contact with skin or if swallowed. Avoid contact with eyes. In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice. After contact with skin, wash immediately with plenty of water.
13. Reagent pouches containing unused Priming Microwells and Amplification Microwells **MUST** be carefully resealed after opening. Verify that a desiccant is present prior to resealing the reagent pouches.
14. The plate containing the Amplification Microwells **MUST** be properly sealed with the Amplification Sealer prior to moving the plate from the **BD ProbeTec ET** Priming and Warming Heater to the **BD ProbeTec ET** Instrument. Sealing ensures a closed reaction for amplification and detection and is necessary to avoid contamination of the instrument and work area with amplification products. **Do not remove sealing material from microwells at any time.**
15. Priming Microwells with residual fluid (after transfer of fluid from the Priming Microwells to the Amplification Microwells) represent a source of target contamination. Carefully seal Priming Microwells with plate sealer prior to disposal.
16. To prevent contamination of the work environment with amplification products, use the disposal bags provided in the Reagent Packs to dispose of tested Amplification Microwells. Make sure the bags are properly closed before disposal.
17. Although dedicated work areas are not required because the **BD ProbeTec ET** design reduces the possibility of amplicon contamination in the testing environment, other precautions for controlling contamination, particularly to avoid contamination of specimens during processing, are necessary.
18. Because of the potential for false positivity with some non-gonococcal *Neisseria* found in the respiratory tract (see "Limitations of the Procedure," #19), contamination of reagents and specimens with respiratory aerosols should be avoided.
19. **CHANGE GLOVES** after removing and discarding caps from lysed samples and controls to avoid cross-contamination of specimens. If gloves come in contact with specimen or appear to be wet, immediately change gloves to avoid contaminating other specimens. Change gloves before leaving work area and upon entry into work area.
20. In the event of contamination of the work area or equipment with samples or controls, thoroughly clean the contaminated area with ELIMINase, DNA AWAY or 1% (v/v) sodium hypochlorite with Alconox and rinse thoroughly with water. Allow surface to dry completely before proceeding.
21. In case of a spill on the Lysing Rack: The rack may be immersed in ELIMINase, DNA AWAY or 1% sodium hypochlorite with Alconox for 1 - 2 min. Do not exceed 2 min. Thoroughly rinse the rack with water and allow to air dry.
22. Clean the entire work area – counter tops and instrument surfaces – with ELIMINase, DNA AWAY or 1% (v/v) sodium hypochlorite with Alconox on a daily basis. Thoroughly rinse with water. Allow surfaces to dry completely before proceeding with additional testing.
23. Contact Technical Services in the event of an unusual situation, such as a spill into the **BD ProbeTec ET** instrument or DNA contamination that cannot be removed by cleaning.

SAMPLE COLLECTION AND TRANSPORT

The **BD ProbeTec ET** System is designed to detect the presence of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in endocervical swabs, male urethral swabs and male and female urine specimens using the appropriate collection method.

The only devices that have been validated for collecting swab specimens for testing on the **BD ProbeTec ET** Instrument are:

- **BD ProbeTec ET** *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) Amplified DNA Assay Endocervical Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit
- **BD ProbeTec ET** *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) Amplified DNA Assay Male Urethral Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit
- **BD ProbeTec ET** *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) Amplified DNA Assay Collection Kit for Endocervical Specimens
- **BD ProbeTec ET** *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) Amplified Assay Collection Kit for Male Urethral Specimens

For U.S. and international shipments, specimens should be labeled in compliance with applicable state, federal, and international regulations covering the transport of clinical specimens and etiologic agents/infectious substances. Time and temperature conditions for storage must be maintained during transport.

Urine specimens must be collected in a sterile, plastic, preservative-free, specimen collection cup. For urine specimens, only the **BD ProbeTec ET Urine Processing Pouch (UPP)**, the **BD ProbeTec Urine Preservative Transport (UPT)**, and unpreserved (neat) urine have been validated.

Swab Specimen Collection

Endocervical Swab Specimen Collection using BD ProbeTec ET CT/GC Amplified DNA Assay Endocervical Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit:

1. Remove excess mucus from the cervical os with the large-tipped cleaning swab provided in the **BD ProbeTec ET CT/GC Amplified DNA Assay Endocervical Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit** and discard.
2. Insert the Endocervical Specimen Collection and DRY TRANSPORT swab into the cervical canal and rotate for 15 – 30 s.
3. Withdraw the swab carefully. Avoid contact with the vaginal mucosa.
4. Immediately place the cap/swab into the transport tube. Make sure the cap is tightly secured to the tube.
5. Label the tube with patient information and date/time collected.

Endocervical Swab Specimen Collection using BD ProbeTec ET CT/GC Amplified DNA Assay Collection Kit for Endocervical Specimens

1. Remove the cleaning swab from packaging.
2. Using cleaning swab, remove excess mucus from the cervical os.
3. **Discard** the used cleaning swab.
4. Remove the collection swab from packaging.
5. Insert the collection swab into the cervical canal and rotate for 15 - 30 s.
6. Withdraw the swab carefully. Avoid contact with the vaginal mucosa.
7. Uncap the CT/GC diluent tube.
8. Fully insert the collection swab into the CT/GC Diluent tube.
9. Break the shaft of the swab at the score mark. Use care to avoid splashing of contents.
10. **Tightly** recap the tube.
11. Label the tube with patient information and date/time collected.
12. Transport to laboratory.

Male Urethral Swab Specimen Collection using BD ProbeTec ET CT/GC Amplified DNA Assay Male Urethral Collection and DRY TRANSPORT Kit:

1. Insert the Male Urethral Collection and DRY TRANSPORT swab 2 – 4 cm into the urethra and rotate for 3 – 5 s.
2. Withdraw the swab and place the cap/swab into the transport tube. Make sure the cap is tightly secured to the tube.
3. Label the tube with patient information and date/time collected.

Male Urethral Swab Specimen Collection using BD ProbeTec ET CT/GC Amplified Assay Collection Kit for Male Urethral Specimens.

1. Remove the swab from packaging.
2. Insert the swab 2 - 4 cm into the urethra and rotate for 3 -5 s.
3. Withdraw the swab.
4. Uncap the CT/GC Diluent tube.
5. Fully insert the swab into the CT/GC Diluent tube.
6. Break the shaft of the swab at the score mark. Use care to avoid splashing of contents.
7. **Tightly** recap the tube.
8. Label the tube with patient information and date/time collected.
9. Transport to laboratory.

Swab Storage and Transport

After collection, the endocervical swabs and the male urethral swabs must be stored and transported to the laboratory and/or test site at 2 – 27°C within 4-6 days. Storage up to 4 days has been validated with clinical specimens; storage up to 6 days has been demonstrated with seeded specimens. Refer to "Performance Characteristics."

NOTE: If specimens cannot be transported directly to the testing laboratory under ambient temperatures (15 – 27°C) and must be shipped, an insulated container with ice should be used with either an overnight or 2-day delivery vendor.

Urine Specimen Collection, Storage and Transport

Collect urine specimen in a sterile, preservative-free collection cup. Urine specimens may be stored and transported in three ways – (1) unpreserved (neat), (2) using the **BD ProbeTec Urine Preservative Transport (UPT)** and (3) using the **BD ProbeTec ET Urine Processing Pouch (UPP)**. The following chart provides a summary of storage and transport conditions for neat urine, UPT, and UPP.

Urine Specimen Type to be Processed	NEAT			UPT			UPP		
				Urine Stored at 2-30°C - Transfer to UPT Within 8 Hours of Collection	Urine Stored at 2-8°C - Transfer to UPT Within 24 Hours of Collection		UPP Added at Specimen Collection Site		UPP Added at Testing Site
Temperature Condition for Transport to Test Site and Storage	2-30°C	2-8°C	-20°C	2-30°C	2-30°C	-20°C	Transport to Lab at 2-8°C	Transport to Lab at 15-27°C	Transport to Lab at 2-8°C
Process Specimen According to Instructions	Within 30 hours of collection	Within 7 days of collection	Within 2 months of collection	Within 30 days after transfer to UPT	Within 30 days after transfer to UPT	Within 2 months after transfer to UPT	Within 4-6 days of collection	Within 2 days of collection	Within 4-6 days of collection

Unpreserved (Neat) Urine

Collection

1. The patient should not have urinated for at least 1 h prior to specimen collection.
2. Collect the specimen in a sterile, preservative-free specimen collection cup.
3. The patient should collect the first 15-60 mL of voided urine (the first part of the stream – not midstream) into a urine collection cup.
4. Cap and label the urine collection cup with patient identification and date/time collected.

Storage and Transport

1. Store and transport neat urine from the collection site to the test site at 2-30°C.
2. Sample processing must be completed within 30 h of collection if stored at 2-30°C or within 7 days of collection if stored at 2-8°C.

NOTE: Specimens must be shipped in an insulated container with ice using either an overnight or 2-day delivery vendor. Storage up to 7 days at 2-8°C has been demonstrated with seeded specimens.

Using BD ProbeTec Urine Preservative Transport Kit (UPT)

Collection

1. The patient should not have urinated for at least 1 h prior to specimen collection.
2. Collect the specimen in a sterile, preservative-free specimen collection cup.
3. The patient should collect the first 15-60 mL of voided urine (the first part of the stream – not midstream) into a urine collection cup.
4. Cap and label the urine collection cup with patient identification and date/time collected.

Urine Transfer to UPT

NOTES: Urine should be transferred from collection cup to the UPT within 8 h of collection provided the urine has been stored at 2-30°C. Urine can be held for up to 24 h prior to transfer to the UPT provided that the urine has been stored at 2-8°C.

Wear clean gloves when handling the UPT and the urine specimen. If gloves come in contact with the specimen, immediately change gloves to prevent contamination of other specimens.

1. After the patient has collected the urine sample, label the urine collection cup.
2. Open the Urine Preservative Transport Kit and remove the UPT and the transfer pipette. Label the UPT with the patient identification and date/time collected.
3. Hold the UPT upright and firmly tap the bottom of the tube on a flat surface to dislodge any large drops from inside the cap. Repeat if necessary.
4. Uncap the UPT and use the transfer pipette to transfer urine into the tube. The correct volume of urine has been added when the fluid level is between the black lines on the fill window on the UPT label. This volume corresponds to approximately 2.5 - 3.45 mL of urine. DO NOT overfill or under fill the tube.
5. Discard the transfer pipette. NOTE: The transfer pipette is intended for use with a single specimen.
6. Tighten the cap securely on the UPT.
7. Invert the UPT 3 – 4 times to ensure that the specimen and reagent are well mixed.

UPT Storage and Transport

Store and transport urine specimens in UPT at 2-30°C and process within 30 days of collection. Specimens may be stored at -20°C for up to two months.

Using The BD ProbeTec ET Urine Processing Pouch (UPP)

The Urine Processing Pouch (UPP) can be added at either the test site or at the collection site. Instructions are provided for each option.

Urine Collection (UPP Added at Test Site)

1. The patient should not have urinated for at least 1 h prior to specimen collection.
2. Collect the specimen in a sterile, preservative-free specimen collection cup.

- The patient should collect the first 15-20 mL of voided urine (the first part of the stream – not midstream) into a urine collection cup.

NOTE: During the clinical evaluation, testing urine volumes up to 60 mL was included in the performance estimates.

- Cap and label the urine collection cup with patient identification and date/time collected.

Urine Storage and Transport (Addition of UPP at Test Site):

NOTE: Specimens must be shipped in an insulated container with ice using either an overnight or 2-day delivery vendor. Storage up to 4 days has been validated with clinical specimens; storage up to 6 days has been demonstrated with seeded specimens. Refer to "Performance Characteristics."

- Store and transport urine specimens to the test site at 2 – 8°C within 4-6 days of collection.
- Add the UPP to the urine specimen collection cup. Wear clean gloves when handling the UPP and urine specimen.

NOTE: Do not place UPP on any work surface. Remove UPP from pouch with a freshly gloved hand or with clean, sterile forceps.

NOTE: Add UPP carefully to avoid splashing.

- Cap the collection cup and swirl gently to ensure that the UPP is completely submerged in urine.
- The UPP must be in contact with the urine specimen for at least 2 h prior to processing.
- Do not freeze the urine specimen.

Urine Collection (UPP Added at Collection Site)

- The patient should not have urinated for at least 1 h prior to specimen collection.
- Collect specimen in a sterile, plastic, preservative-free specimen collection cup.
- The patient should collect the first 15 – 20 mL of voided urine (the first part of the stream – NOT midstream).
NOTE: During the clinical evaluation, testing urine volumes up to 60 mL was included in the performance estimates.
- Immediately add the UPP to the specimen collection cup. Wear clean gloves when handling the UPP and urine specimen.

NOTE: Do not place UPP on any work surface. Remove UPP from pouch with a freshly gloved hand or with clean, sterile forceps.

NOTE: Add UPP carefully to avoid splashing.

- Cap collection cup and swirl gently to ensure that the UPP is completely submerged in urine. Label with patient identification and date/time collected.

Urine Storage and Transport (UPP Added at Collection Site)

NOTE: If specimens cannot be transported directly to the testing laboratory under ambient temperatures (15 – 27°C) and must be shipped, an insulated container with ice should be used with either an overnight or 2-day delivery vendor. Storage up to 4 days has been validated with clinical specimens; storage up to 6 days has been demonstrated with seeded specimens. Refer to "Performance Characteristics."

- Store and transport urine specimens containing a UPP to the laboratory or test site at 2 – 8°C within 4-6 days of collection or at 15 – 27°C within 2 days of collection.
- Do not freeze the urine specimen.
- The UPP must be in contact with the urine specimen for at least 2 h prior to processing.

TEST PROCEDURE

Refer to the **BD ProbeTec ET System User's Manual** for specific instructions for operating and maintaining the components of the system. The optimum environmental conditions for the CT/GC assay were found to be 18 – 23°C at 25-75% Relative Humidity and 23 – 28°C at 25-50% Relative Humidity. The performance of the CT/GC assay at temperatures in excess of 28°C is not recommended. Refer to the **BD Viper Instrument User's Manual** for specific instructions for operating the instrument. Refer to the **BD ProbeTec ET CT/GC assay insert addendum** (in **BD Viper Instrument User's Manual**) for specific test procedures when using the **BD Viper** instrument.

A. Instrument Preparation:

- Instrument power must be on and instruments allowed to warm up prior to beginning the assay.
 - The Lysing Heater and the Priming and Warming Heater require approximately 90 min for warm-up and stabilization.
The Setpoint for the Lysing Heater is 114°C.
The Setpoint for the Priming component of the Priming and Warming Heater is 72.5°C.
The Setpoint for the Warming component of the Priming and Warming Heater is 54°C.
 - The **BD ProbeTec ET** instrument is under software control and requires approximately 30 min to warm-up.
- Heater temperatures must be checked prior to beginning the assay.
 - Lysing Heater
Remove the plastic cover and allow temperature to equilibrate for 15 min.
The thermometer must read between 112 – 116°C.
 - Priming and Warming Heater
The Priming Heater thermometer must read between 72 – 73°C.
The Warming Heater thermometer must read between 53.5 – 54.5°C.
- Check the temperature displayed on the **BD ProbeTec ET** screen. The temperature must read 47.5 – 55.0°C.

B. Pipettor:

Refer to the **BD ProbeTec ET System User's Manual** for detailed explanations of the **BD ProbeTec ET Pipettor** keypad functions.

The following programs are required for performing the CT/GC assays. Program 2 is used with the CT/GC Reagent Pack. It transfers liquid from the processed samples to the CT/GC Priming Microwells. Program 3 is used with the CT/GC/AC Reagent Pack. It transfers liquid from the processed samples to the CT/GC and AC Priming Microwells. Program 5 transfers liquid from the Priming Microwells to the Amplification Microwells.

Program the pipettor as follows:

Program 2:

1. Turn the pipettor ON. The pipettor will beep once, flash "ZERO," flash Software Version # and beep once more.
2. Press the blue "Prog" (Program) Key. Press the "Vol" (Volume) Key until "2" is displayed to select Program 2. Press "Enter."
3. To enter the programming mode, press and hold the "Prog" Key. While depressing the "Prog" Key, simultaneously press the Special Function Key with a pipette tip or the end of a paper clip.
4. Press "Fill." Press the up arrow until **400** is displayed. Press "Enter."
5. Press "Disp" (Dispense). Press the up arrow key until **150** is displayed. Press "Enter."
6. Press "Disp." Press the up arrow key until **150** is displayed. Press "Enter."
7. Press "Enter" a second time to save the program and exit. You should hear a "beep" to indicate that programming is complete.
8. Verify your program by pressing the trigger to advance through each step. As you go through each step, set the speed of aspiration/dispense using the "Vol" key. At each step, the Speed indicator appears. Use the "Vol" key to adjust the speed indicator to show 2 squares for the "Fill" and "Disp" steps.

Program 3:

1. Turn the pipettor ON. The pipettor will beep once, flash "ZERO," flash Software Version # and beep once more.
2. Press the blue "Prog" (Program) Key. Press the "Vol" (Volume) Key until "3" is displayed to select Program 3. Press "Enter."
3. To enter the programming mode, press and hold the "Prog" Key. While depressing the "Prog" Key, simultaneously press the Special Function Key with a pipette tip or the end of a paper clip.
4. Press "Fill." Press the up arrow until **600** is displayed. Press "Enter."
5. Press "Disp" (Dispense). Press the up arrow key until **150** is displayed. Press "Enter."
6. Press "Disp." Press the up arrow key until **150** is displayed. Press "Enter."
7. Press "Disp." Press the up arrow key until **150** is displayed. Press "Enter."
8. Press "Enter" a second time to save the program and exit. You should hear a "beep" to indicate that programming is complete.
9. Verify your program by pressing the trigger to advance through each step. As you go through each step, set the speed of aspiration/dispense using the "Vol" key. At each step, the Speed indicator appears. Use the "Vol" key to adjust the speed indicator to show 2 squares for the "Fill" and "Disp" steps.

Program 5

1. Press the "Prog" Key. Press the "Vol" Key until "5" is displayed to select Program 5. Press "Enter."
2. To enter the programming mode, press and hold the "Prog" Key. While depressing the "Prog" Key, simultaneously press the Special Function Key with a pipette tip or the end of a paper clip.
3. Press "Fill." Press the up arrow until **100** is displayed. Press "Enter."
4. Press "Disp." Press the up arrow key until **100** is displayed. Press "Enter."
5. Press "Mix." Press the up arrow key until **50** is displayed. Press "Enter."
6. Press "Enter" a second time to save the program and exit. You should hear a "beep" to indicate that programming is complete.
7. Verify your program by pressing the trigger to advance through each step. As you go through each step, set the speed of aspiration/dispense/mix using the "Vol" key. At each step, the speed indicator appears. Use the "Vol" key to adjust the speed indicator to show 2 squares for the aspiration and dispense functions. Use the "Vol" key to adjust the speed for the mix so that it shows 3 squares.

Program Review

The programs should be reviewed prior to beginning the procedure. To review the programs, turn the pipettor ON. Press the blue "Prog" (Program) Key. Press the "Vol" (Volume) key until the appropriate program number (2, 3 or 5) is displayed. Press the "Enter" key. Use the pipetting trigger to advance step by step through the program.

Program 2: This program aspirates 400 μL ; dispenses 150 μL into the CT microwell; dispenses 150 μL into the GC microwell. The pipettor display should read as follows:

Fill 400 μL - S ■■

Dispense 150 μL - S ■■

Dispense 150 μL - S ■■

Program 3: This program aspirates 600 µL; dispenses 150 µL into the CT microwell; dispenses 150 µL into the GC microwell; and dispenses 150 µL into the AC microwell. The pipettor display should read as follows:

Fill 600 µL - S ■■

Dispense 150 µL - S ■■

Dispense 150 µL - S ■■

Dispense 150 µL - S ■■

Review Program 5 in the same way:

Program 5: This program aspirates 100 µL; dispenses 100 µL; and mixes 50 µL three times. The pipettor display should read as follows:

Fill 100 µL - S ■■

Dispense 100 µL - S ■■

Mix 50 µL - S ■■■

Zero (flashes on and off)

C. Plate Layout:

The Plate Layout Report is generated from the **BD ProbeTec ET** instrument after the assay type, specimen identification, control lot numbers, and kit lot numbers are logged into the system. The Plate Layout Report shows the physical layout of specimens and controls for each plate to be tested. The system software groups adjacent plate locations for the wells required for a specific assay. For the CT/GC Amplified DNA Assay, columns are assigned as follows: CT/GC. For the CT/GC/AC Amplified Assay, columns are assigned as follows: CT/GC/AC. This orientation is used for both the Priming Microwell plate and the Amplification Microwell plate.

Priming Microwells are the **solid** colored microwell strips (CT - solid green; GC - solid yellow; AC - solid black, if applicable).

Amplification Microwells are the **striped** microwell strips (CT - striped green; GC - striped yellow; AC - striped black, if applicable).

D. Swab Processing:

Swab specimens must be processed within 4-6 days of collection if stored at 2-27°C.

NOTE: Swabs and CT/GC Diluent Tubes should be at room temperature prior to use.

Processing Procedure for swabs collected with the BD ProbeTec ET CT/GC Amplified DNA Assay Endocervical Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit or the BD ProbeTec ET CT/GC Amplified DNA Assay Male Urethral Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit :

1. Label a CT/GC Diluent Tube for each swab specimen to be processed.
2. Remove the cap from the tube and insert the swab. Mix by swirling the swab into diluent for 5 – 10 s.
3. Express the specimen swab along the inside of the tube so that the liquid runs back into the bottom of the tube.
4. Remove swab carefully to avoid splashing.
NOTE: Droplets may cause contamination of work area.
5. Place swab back into transport tube and discard.
6. Tightly replace the cap on the CT/GC Diluent tube.
7. Vortex tube for 5 s.
8. Using the Plate Layout Report, place tube in order in the Lysing Rack.
9. Repeat steps 1-8 for additional swab specimens.
10. Lock the samples into place in the Lysing Rack.
11. Specimens are ready to be lysed.

NOTE: Alternatively, if a multi-tube vortexer is available, skip step 7 and vortex the entire Lysing Rack for 15-20 s after step 10 and before Lysing.

NOTE: Specimens processed, but not yet lysed, may be stored at room temperature for up to 6 h or overnight at 2 – 8°C.

Processing Procedure for swabs collected with the BD ProbeTec ET CT/GC Amplified DNA Assay Collection Kit for Endocervical Specimens or the BD ProbeTec ET CT/GC Amplified DNA Assay Collection Kit for Male Urethral Specimens:

1. Vortex the CT/GC Diluent Tube for 5 s.
NOTE: Alternatively, if a multi-tube vortexer is available, perform steps 2 and 3; then vortex the entire Lysing Rack for 15-20 s and proceed to step 4.
2. Using the Plate Layout Report, place sample and control tubes in order in the Lysing Rack.
3. Lock the samples into place in the Lysing Rack.
4. Specimens are ready to be lysed.

NOTE: Specimens processed but not yet lysed, may be stored at room temperature for up to 6 h or overnight at 2-8°C.

E. Urine Processing:

Processing Procedure for Unpreserved (Neat) Urine Specimens

Neat urine specimens must be processed within 30 h of collection if stored at 2-30°C, within 7 days of collection if stored at 2-8°C, and within 2 months from the date of collection if stored at -20°C.

NOTES:

BD ProbeTec ET Diluent (CT/GC) should be at room temperature prior to use.

Aliquot the needed quantity of **BD ProbeTec ET Diluent (CT/GC)** into a clean container. To estimate the quantity needed, multiply the number of samples by 2 and add another 1 – 2 mL for pipetting ease. **To avoid contamination of the Diluent – Do Not Pour leftover Diluent back into the bottle.**

1. Label an empty **BD ProbeTec ET** Sample Tube for each urine to be processed.
2. Swirl the container to mix the urine and open carefully.
NOTE: Open carefully to avoid spills or droplets which may cause contamination of work area.
NOTE: Frozen urine specimens must be thawed and mixed completely before transfer to the Sample Tube.
3. Pipette 4.0 mL of urine into the appropriately labeled tube and tightly recap the tube.
4. Repeat steps 2 – 3 for additional neat urine samples. Use a new pipette or pipette tip for each sample.
5. Insert sample tubes into the **BD ProbeTec ET** Lysing Rack.
6. Insert the Lysing Rack into the Lysing Heater to pre-warm the samples.
7. Heat the samples for 10 min.
8. After 10 min, remove the Lysing Rack from the Lysing Heater and cool the tubes at room temperature for a minimum of 15 min, or a maximum of 6 h.
NOTE: Do not refrigerate or freeze the sample tubes after the 10 min pre-warm.
9. Centrifuge the tubes at 2000 x g for 30 min.
10. At the end of centrifugation, carefully remove the tubes from the centrifuge.
11. Uncap the first tube and carefully decant the supernatant. End the decanting motion with a gentle "flick" of the wrist to remove residual fluid from the tube.
NOTE: This is a critical step – excess residual specimen may cause inhibition. Tubes may be individually blotted on a separate sheet of absorbent paper to enhance removal of residual urine.
12. Place the cap loosely on the tube.
13. Repeat steps 11 – 12 for each centrifuged urine specimen.
14. Pipette 2.0 mL of Diluent into each tube. Use a new pipette or pipette tip for each tube.
15. Tightly recap the sample tubes and vortex 5 s to completely resuspend the sediment in the Diluent.
16. Samples are ready to be lysed.
NOTE: Specimens processed, but not yet lysed, may be stored at room temperature for up to 6 h or overnight at 2 – 8°C.

Processing Procedure Using Urine Specimens Collected Using the **BD ProbeTec Urine Preservative Transport Kit (UPT)**

NOTES:

UPT samples may be stored at 2 – 30°C and processed within 30 days of collection or frozen at -20°C and processed within 2 months of collection.

BD ProbeTec ET Diluent (CT/GC) should be at room temperature prior to use.

Aliquot the needed quantity of **BD ProbeTec ET Diluent (CT/GC)** into a clean container. To estimate the quantity needed, multiply the number of samples by 2 and add another 1 – 2 mL for pipetting ease. **To avoid contamination of the Diluent – Do Not Pour leftover Diluent back into the bottle.**

Make sure the urine volume in each tube falls between the lines indicated on the tube label. Under filling and over filling the tube may affect assay performance.

1. Insert UPT tubes into the **BD ProbeTec ET** Lysing Rack.
NOTE: If specimens were frozen, make sure they are thawed completely and mixed by inversion prior to heating.
2. Insert the Lysing Rack into the Lysing Heater to pre-warm the samples.
3. Heat the samples for 10 min.
4. After 10 min, remove the Lysing Rack from the Lysing Heater and cool the tubes at room temperature for a minimum of 15 min, or a maximum of 6 h.
NOTE: Do not refrigerate or freeze the sample tubes after the 10 min pre-warm.
5. Centrifuge the tubes at 2000 x g for 30 min.
6. At the end of centrifugation, carefully remove the tubes from the centrifuge.
7. Uncap the first UPT and carefully decant the supernatant. End the decanting motion with a gentle "flick" of the wrist to remove residual fluid from the tube and blot the tube on a separate piece of absorbent paper.
8. Place the cap loosely on the tube.
9. Repeat steps 7 – 8 for each centrifuged urine specimen.
10. Pipette 2.0 mL of Diluent into each tube. Use a new pipette or pipette tip for each tube.
11. Tightly recap the UPT tubes and vortex 5 s to completely resuspend the sediment in the Diluent.
12. Samples are ready to be lysed.
NOTE: Specimens processed, but not yet lysed, may be stored at room temperature for up to 6 h or overnight at 2 – 8°C.

Processing Procedure for Specimens Collected Using the **BD ProbeTec ET Urine Processing Pouch (UPP)**

Urine specimens must be processed within 4-6 days of collection if stored at 2 – 8°C (UPP added at either collection or testing site) or within 2 days of collection if stored at 15 – 27°C (UPP added at collection site).

NOTES:

BD ProbeTec ET Diluent (CT/GC) should be at room temperature prior to use.

Urine must be in contact with the UPP for at least 2 h before processing.

Aliquot the needed quantity of **BD ProbeTec ET Diluent (CT/GC)** into a clean container. To estimate the quantity needed, multiply the number of samples by 2 and add another 1 – 2 mL for pipetting ease. **To avoid contamination of the Diluent – Do Not Pour leftover Diluent back into the bottle.**

1. Label an empty **BD ProbeTec** ET Sample Tube for each urine to be processed.
2. Swirl the container to mix the urine and open carefully.
NOTE: Open carefully to avoid spills or droplets which may cause contamination of work area.
3. Pipette 4.0 mL of urine into the appropriately labeled tube and tightly recap the tube.
4. Repeat steps 2 – 3 for additional samples. Use a new pipette or pipette tip for each sample.
5. Centrifuge the tubes at 2000 x g for 30 min.
6. At the end of centrifugation, carefully remove the tubes from the centrifuge.
7. Uncap the first tube and carefully decant the supernatant. End the decanting motion with a gentle "flick" of the wrist to remove residual fluid from the tube.
NOTE: This is a critical step – excess residual specimen may cause inhibition. Tubes may be individually blotted on a separate sheet of absorbent paper to enhance removal of residual urine.
8. Place the cap loosely on the tube.
9. Repeat steps 7 – 8 for each centrifuged urine specimen.
10. Pipette 2.0 mL of Diluent into each tube. Use a new pipette or pipette tip for each tube.
11. Tightly recap the sample tubes and vortex 5 s to completely resuspend the sediment in the Diluent.
12. Samples are ready to be lysed.

NOTE: Specimens processed, but not yet lysed, may be stored at room temperature for up to 6 h or overnight at 2 – 8°C.

F. Quality Control Preparation:

NOTE: The **BD ProbeTec** ET (CT/GC) Controls and Diluent should be at room temperature prior to use.

1. For each run (plate) to be tested, prepare one CT/GC Negative Control Tube and one CT/GC Positive Control Tube. If a plate contains more than one Reagent Pack lot number, controls must be tested with each lot.
2. Remove the cap from the CT/GC Negative Control Tube. Using a new pipette tip or pipette, add 2.0 mL of Diluent.
3. Recap the tube and vortex for 5 s.
4. Remove the cap from the CT/GC Positive Control Tube. Using a new pipette tip or pipette, add 2.0 mL of Diluent.
5. Recap the tube and vortex for 5 s.
6. Controls are ready to be lysed.

G. Lysing the Samples and Controls

1. Insert the Lysing Rack into the Lysing Heater.
2. Heat the samples for 30 min.
3. After 30 min, remove the Lysing Rack from the Lysing Heater and allow to cool at room temperature for at least 15 min.

NOTE: After lysing samples:

- a. They may be stored at 18 – 30°C for up to 6 h and may be tested without re-lysing.
- b. They may be stored up to 5 days at 2 – 8°C. Samples must be vortexed and re-lysed prior to testing.
- c. They may be stored up to 98 days at -20°C. Samples must be thawed at room temperature, vortexed and re-lysed prior to testing. Lysed samples may be frozen and thawed twice.

H.1 Testing Procedure for the CT/GC Reagent Pack

NOTE: The Priming and Amplification Microwells should be at room temperature prior to use.

1. For specimens collected with the **BD ProbeTec** ET CT/GC Amplified DNA Assay Endocervical Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit or the **BD ProbeTec** ET CT/GC Amplified DNA Assay Male Urethral Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit, remove and discard the caps from the lysed and cooled samples and controls.
2. For swabs collected with the **BD ProbeTec** ET CT/GC Amplified DNA Assay Collection Kit for Endocervical Specimens or the **BD ProbeTec** ET CT/GC Amplified DNA Assay Collection Kit for Male Urethral Specimens, do the following:
 - a. Uncap the tube and gently press the swab against the side of the tube to remove excess fluid.
 - b. Pull the cap/swab out of the tube. Do not press against the wall of tube to avoid splattering droplets which may cause cross-contamination.
 - c. Discard the cap/swab.
3. For processed urine specimens, uncap the tube and discard the cap.
4. Change **gloves** before proceeding to avoid contamination.
5. Using the Plate Layout Report, prepare the priming plate. **The Priming Microwells must be placed in a plate in the following order:** CT (solid green microwells) then GC (solid yellow microwells). Repeat until plate is configured like the Plate Layout Report.
6. Re-seal the Microwell pouches as follows.
 - a. Place pouch on flat surface. Hold the open end flat with one hand.
 - b. While applying pressure, slide finger across outside of seal moving from one edge of pouch to other.
 - c. Inspect to ensure pouch is sealed.
7. Select **Program 2** on the **BD ProbeTec** ET Pipettor.
8. Pick up pipette tips. Expand the pipettor by pulling the spacing knob all the way out.
NOTE: Make sure tips are fitted securely on the pipettor to prevent leakage.
9. Aspirate 400 µL from the 1st column of samples.
10. Gently collapse the pipettor, touch pipette tips to sides of wells and dispense 150 µL into each of the 2 corresponding columns of Priming Microwells (1 A-H; 2 A-H).

NOTE: Do not collapse pipettor over samples or microwells as this may cause contamination. Abrupt movements may cause droplets or aerosols.

NOTE: It is important to dispense liquids against the inside wall of microwells to assure accuracy and precision and to avoid cross-contamination.

11. Discard tips. Depress the pipetting trigger to reset the pipettor.
NOTE: Discard tips carefully to avoid droplets or aerosols which may contaminate the work area.
12. Pick up new tips and aspirate 400 μ L from the 2nd column of samples.
13. Gently collapse the pipettor, touch pipette tips to sides of wells and dispense 150 μ L into each of the 2 corresponding columns of Priming Microwells (3 A-H; 4 A-H).
14. Discard tips.
15. Continue transferring the remaining samples for the run.
16. Cover the Priming Microwell plate with the Priming Cover and let plate incubate at room temperature for at least 20 min. (May incubate up to 6 h.)
NOTE: Recap the processed samples with new caps to retain the sample tubes.
17. At the end of the priming incubation prepare the amplification plate. Configure the Amplification Microwells in a plate to match the Plate Layout Report (same as the priming plate). Reseal the microwell pouches as described in step #4.
18. Remove the cover from the Priming Microwell plate and place the plate in the Priming Heater. **IMMEDIATELY** place the Amplification Microwell plate in the Warming Heater to pre-warm.
19. **Set timer for 10 min. (NOTE: This step is time critical.)**
20. At the end of the 10 min (+/- 1 min) incubation, select **Program 5** on the pipettor.
21. Pick up tips and transfer 100 μ L from column 1 of the Priming Microwell plate to column 1 of the Amplification Microwell plate. Allow pipette tips to touch sides of wells and dispense the liquid. After dispensing, allow pipettor to automatically mix the liquid in the wells. Carefully lift the pipettor away from the plate. Avoid touching other wells.
22. Discard tips. Pick up new tips and continue to transfer the reaction mixture from the Priming Microwells to the Amplification Microwells, column by column, using new tips for each column.
23. When the last column has been transferred, remove the backing from an Amplification Sealer (remove one half of the sealer backing if 6 or fewer columns are occupied by microwells; remove the entire backing if 7 or more columns are occupied by microwells). Hold the sealer by the edges and center over the plate. Use the guides on the Warming Heater to assist you in centering the sealer. The sealer will extend over the microwells on both sides of the plate. Press downward on sealer to ensure that all microwells are completely sealed.
24. At the **BD ProbeTec ET** user interface, move the carrier out and open the doors. **IMMEDIATELY** (within 30 s) transfer the **sealed** Amplification Microwell plate to the **BD ProbeTec ET** Instrument and initiate the run. (Refer to the **BD ProbeTec ET** System User's Manual for detailed instructions.)
25. After initiating the run, complete the following portion of the clean-up procedure:
 - a. Seal the Priming Microwells with an Amplification Sealer and remove plate from the Priming and Warming Heater.
WARNING: Temperature is in excess of 70°C. Use the heat resistant glove to remove the plate.
 - b. Allow the plate to cool on the bench for 5 min.
 - c. Remove the sealed Priming Microwells from the plate by holding the top and bottom of the sealer and lifting the wells straight up as a unit. Place the Microwells into a Disposal Bag and seal.
 - d. Clean the metal plate:
Rinse the plate with ELIMINase, DNA AWAY or the 1% (v/v) sodium hypochlorite with Alconox solution.
Rinse the plate with water.
Wrap plate in a clean towel and allow to completely dry prior to re-use.
26. When the run is complete, a printout of the test results will be generated.
27. Move the plate carrier out of the stage, open the door, and remove the plate. Close the door and return the plate stage to the inside of the instrument.
28. Remove the sealed Amplification Microwells from the plate. **CAUTION: Do Not Remove Sealing Material from Microwells.** The sealed microwells may be easily removed as a unit by holding the sealer at the top and bottom and lifting straight up and out of the plate. Place the sealed microwells into the Disposal Bag. Seal the bag.
29. Clean the metal plate:
Rinse the plate with ELIMINase, DNA AWAY or 1% (v/v) sodium hypochlorite with Alconox solution.
Rinse the plate with water.
Wrap plate in a clean towel and allow to completely dry prior to re-use.
30. After the last run of the day, perform the following clean-up procedures:
 - a. Saturate paper towels or gauze pads with ELIMINase, DNA AWAY or the 1% (v/v) sodium hypochlorite with Alconox solution and apply to countertops and the exterior surfaces of the Lysing Heater, Priming and Warming Heater, and the **BD ProbeTec ET** Instrument. Allow the solution to remain on surfaces for 2 – 3 min. Saturate paper towels or gauze pads with water and remove cleaning solution. Change towels or gauze frequently when applying cleaning solution and when rinsing with water. Dampen paper towels or gauze pads with ELIMINase, DNA AWAY or 1% (v/v) sodium hypochlorite with Alconox and wipe the Pipettor handle (**ONLY THE HANDLE**). After 2 - 3 min wipe the handle with paper towels or gauze pads dampened with water.
 - b. Immerse the Lysing Rack, Lysing Rack base, Lysing Rack cover and plates in ELIMINase, DNA AWAY or 1% sodium hypochlorite with Alconox for 1 – 2 min. Rinse thoroughly with water and allow to air dry.

- c. Recharge the Pipettor.
- d. Dispose of sealed Disposal Bag and biohazard bag according to established procedures for disposal of contaminated biological waste material.

H.2. Testing Procedure for the CT/GC/AC Reagent Pack

NOTE: The Priming and Amplification Microwells should be at room temperature prior to use.

1. For specimens collected with the **BD ProbeTec ET CT/GC Amplified DNA Assay Endocervical Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit** or the **BD ProbeTec ET CT/GC Amplified DNA Assay Male Urethral Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit**, remove and discard the caps from the lysed and cooled samples and controls.
2. For swabs collected with the **BD ProbeTec ET CT/GC Amplified DNA Assay Collection Kit for Endocervical Specimens** or the **BD ProbeTec ET CT/GC Amplified DNA Assay Collection Kit for Male Urethral Specimens**, do the following:
 - a. Uncap the tube and gently press the swab against the side of the tube to remove excess fluid.
 - b. Pull the cap/swab out of the tube. Do not press against the wall of tube to avoid splattering droplets which may cause cross-contamination.
 - c. Discard the cap/swab.
3. For processed urine specimens uncap the tube and discard the cap.
4. **Change gloves** before proceeding to avoid contamination.
5. Using the Plate Layout Report, prepare the priming plate. **The Priming Microwells must be placed in a plate in the following order:** CT (solid green microwells), GC (solid yellow microwells), and AC (solid black microwells). Repeat until plate is configured like the Plate Layout Report.
6. Re-seal the Microwell pouches as follows.
 - a. Place pouch on flat surface. Hold the open end flat with one hand.
 - b. While applying pressure, slide finger across outside of seal moving from one edge of pouch to other.
 - c. Inspect to ensure pouch is sealed.
7. Select **Program 3** on the **BD ProbeTec ET Pipettor**.
8. Pick up pipette tips. Expand the pipettor by pulling the spacing knob all the way out.

NOTE: Make sure tips are fitted securely on the pipettor to prevent leakage.
9. Aspirate 600 µL from 1st column of samples.
10. Gently collapse the pipettor, touch pipette tips to sides of wells and dispense 150 µL into each of the 3 corresponding columns of Priming Microwells (1 A-H; 2 A-H; 3 A-H).

NOTE: Do not collapse pipettor over samples or microwells as this may cause contamination. Abrupt movements may cause droplets or aerosols.

NOTE: It is important to dispense liquids against the inside wall of microwells to assure accuracy and precision and to avoid cross-contamination.
11. Discard tips. Depress the pipetting trigger to reset the pipettor.

NOTE: Discard tips carefully to avoid droplets or aerosols which may contaminate the work area.
12. Pick up new tips and aspirate 600 µL from the 2nd column of samples.
13. Gently collapse the pipettor, touch pipette tips to sides of wells and dispense 150 µL into each of the 3 corresponding columns of Priming Microwells (4 A-H; 5 A-H; 6 A-H).
14. Discard tips.
15. Continue transferring the remaining samples for the run.
16. Cover the Priming Microwell plate with the Priming cover and let plate incubate at room temperature for at least 20 min. (May incubate up to 6 h.)

NOTE: Recap the processed samples with new caps to retain the sample tubes.
17. At the end of the priming incubation prepare the amplification plate. Configure the Amplification Microwells in a plate to match the Plate Layout Report (same as the priming plate). Reseal the Microwell pouches as described in step #4.
18. Remove the cover from the Priming Microwell plate and place the plate in the Priming Heater. **IMMEDIATELY** place the Amplification Microwell plate in the Warming Heater to pre-warm.
19. **Set timer for 10 min. (NOTE: This step is time critical.)**
20. At the end of the 10 min (+/- 1 min) incubation, select **Program 5** on the pipettor.
21. Pick up tips and transfer 100 µL from column 1 of the Priming Microwell plate to column 1 of the Amplification Microwell plate. Allow pipette tips to touch sides of wells and dispense the liquid. After dispensing, allow pipettor to automatically mix the liquid in the wells. Carefully lift the pipettor away from the plate. Avoid touching other wells.
22. Discard tips. Pick up new tips and continue to transfer the reaction mixture from the Priming Microwells to the Amplification Microwells, column by column, using new tips for each column.
23. When the last column has been transferred, remove the backing from an Amplification sealer (remove one half of the sealer backing if 6 or fewer columns are occupied by microwells; remove the entire backing if 7 or more columns are occupied by microwells). Hold the sealer by the edges and center over the plate. Use the guides on the Warming Heater to assist you in centering the sealer. The sealer will extend over the microwells on both sides of the plate. Press downward on sealer to ensure that all microwells are completely sealed.
24. At the **BD ProbeTec ET** user interface, move the carrier out and open the doors. **IMMEDIATELY** (within 30 s) transfer the **sealed** Amplification Microwell plate to the **BD ProbeTec ET Instrument** and initiate the run. (Refer to the **BD ProbeTec ET System User's Manual** for detailed instructions.)
25. After initiating the run, complete the following portion of the clean-up procedure:

- a. Seal the Priming Microwells with an Amplification Sealer and remove plate from the Priming and Warming Heater.

WARNING: Temperature is in excess of 70°C. - Use the heat resistant glove to remove the plate.
- b. Allow the plate to cool on the bench for 5 min.
- c. Remove the sealed Priming Microwells from the plate by holding the outer edges of the sealer and lifting the wells straight up as a unit. Place the Microwells into a Disposal Bag and seal.
- d. Clean the metal plate:

Rinse the plate with ELIMINase, DNA AWAY or the 1% (v/v) sodium hypochlorite with Alconox solution.

Rinse the plate with water.

Wrap plate in a clean towel and allow to completely dry prior to re-use.
26. When the run is complete, a printout of the test results will be generated.
27. Move the plate carrier out of the stage, open the door, and remove the plate. Close the door and return the plate stage to the inside of the instrument.
28. Remove the sealed Amplification Microwells from the plate. **CAUTION: Do Not Remove Sealing Material from Microwells.** The sealed microwells may be easily removed as a unit by holding the top and bottom of the sealer and lifting straight up and out of the plate. Place the sealed microwells into the Disposal Bag. Seal the bag.
29. Clean the metal plate:

Rinse the plate with ELIMINase, DNA AWAY or 1% (v/v) sodium hypochlorite with Alconox solution.

Rinse the plate with water.

Wrap plate in a clean towel and allow to completely dry prior to re-use.
30. After the last run of the day, perform the following clean-up procedures:
 - a. Saturate paper towels or gauze pads with ELIMINase, DNA AWAY or the 1% (v/v) sodium hypochlorite with Alconox solution and apply to countertops and the exterior surfaces of the Lysing Heater, Priming and Warming Heater, and the **BD ProbeTec ET Instrument**. Allow the solution to remain on surfaces for 2 – 3 min. Saturate paper towels or gauze pads with water and remove cleaning solution. Change towels or gauze frequently when applying cleaning solution and when rinsing with water. Dampen paper towels or gauze pads with ELIMINase, DNA AWAY or 1% (v/v) sodium hypochlorite with Alconox and wipe the Pipettor handle (**ONLY THE HANDLE**). After 2 - 3 min wipe the handle with paper towels or gauze pads dampened with water.
 - b. Immerse the Lysing Rack, Lysing Rack base, Lysing Rack cover and plates in ELIMINase, DNA AWAY or 1% (v/v) sodium hypochlorite with Alconox for 1 – 2 min. Rinse thoroughly with water and allow to air dry.
 - c. Recharge the Pipettor.
 - d. Dispose of sealed Disposal Bag and biohazard bag according to established procedures for disposal of contaminated biological waste material.

QUALITY CONTROL

The **BD ProbeTec ET** *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* positive and negative control set is provided separately. One positive and one negative control must be included in each assay run and for each new reagent kit lot number. Controls may be randomly positioned. The CT/GC positive control will monitor for substantial reagent failure only. The CT/GC negative control monitors for reagent and/or environmental contamination.

The positive control has both cloned CT and GC target regions that are not necessarily representative of organism target DNA detected by the assay nor do they represent specimen matrices (urine and epithelial cell suspensions) indicated for use with the **BD ProbeTec ET System**. These controls may be used for internal quality control or users may develop their own internal quality control material, as described by NCCLS C24-A2.¹⁵ Additional controls may be tested according to guidelines or requirements of local, state, and/or federal regulations or accrediting organizations. Refer to NCCLS C24-A2 for additional guidance on appropriate internal quality control testing practices. The positive control contains 750 copies per reaction of pCT16 linearized plasmid and 250 copies per reaction of pGC10 linearized plasmid. Both organisms have multiple copies of the target. The **BD ProbeTec ET** amplification reaction volume is 100 µL of rehydrated control.

Because the CT/GC positive control is used for both CT and GC testing, correct positioning of the microwell strips is important for proper result reporting. Refer to Section H of the "Test Procedure" for correct microwell strip positioning.

The CT/GC positive and CT/GC negative control must test as positive and negative, respectively, in order to report patient results. If controls do not perform as expected, the assay run is considered invalid and patient results will not be reported by the instrument. If the QC does not meet the expected results, repeat the entire run using a new set of controls, new microwells, and the processed specimens. If the repeat QC does not provide the expected results, contact Technical Services. (See "Interpretation of Results.")

Refer to Section F of the "Test Procedure" for directions on preparing the controls. Once the controls have been prepared, continue with testing as described in Section G of the "Test Procedure."

A separate Amplification Control (AC) is an option for inhibition testing and is available in the CT/GC/AC Reagent Pack. When the CT/GC/AC Reagent Pack is used, the AC must be included for each patient sample and control. The Amplification Control microwells contain ≥ 1000 copies per reaction of pGC10 linearized plasmid that should be amplified in the sample matrix. The amplification control is designed to identify samples that may contain amplification inhibitors that could prevent detection of CT or GC DNA if present. (See "Interpretation of Results.")

Intepretation of Control Results:**Control Interpretation without the AC**

	CT or GC MOTA Score	Result
CT/GC Positive Control	MOTA \geq 2000	Acceptable
CT/GC Negative Control	MOTA < 2000	Acceptable

Control Interpretation with the AC

	CT or GC MOTA Score	AC MOTA Score*	Result
CT/GC Positive Control	MOTA \geq 2000	MOTA \geq 1000	Acceptable
CT/GC Negative Control	MOTA < 2000	MOTA \geq 1000	Acceptable

* If the AC fails (MOTA < 1000), the control fails.

Specimen Processing Controls:

Specimen processing controls may be tested in accordance with the requirements of appropriate accrediting organizations. A positive control should test the entire assay system. For this purpose, known positive specimens can serve as controls by being processed and tested in conjunction with unknown specimens. Specimens used as processing controls must be stored, processed, and tested according to the package insert. As an alternative to using positive specimens, specimen processing controls simulating urine processing can be prepared as described below.

***Chlamydia trachomatis*:**

If a known positive specimen is not available, another approach is to assay a stock culture of *C. trachomatis* LGV2 (ATCC™# VR-902B) prepared as described below:

1. Thaw a vial of *C. trachomatis* LGV2 cells received from ATCC.
2. Prepare 10-fold serial dilutions to a 10⁵ dilution (at least 5 mL final volume) in phosphate buffered saline (PBS).
3. Place 4 mL of 10⁵ dilution in a **BD ProbeTec** ET sample tube.
4. Process as a urine sample starting at Section E, step 5 of the "Test Procedure."
5. After processing, lyse sample as described in Section G of the "Test Procedure."
6. Continue testing as described in Section H of the "Test Procedure."

***Neisseria gonorrhoeae*:**

If a known positive specimen is not available, another approach is to assay a stock culture of *N. gonorrhoeae* (available from the ATCC, strain # 19424) prepared as described below:

1. Thaw a vial of *N. gonorrhoeae* stock culture, received from ATCC and immediately inoculate a chocolate agar plate.
2. Incubate at 37°C in 3 – 5% CO₂ for 24 – 48 h.
3. Resuspend colonies from the chocolate agar plate with phosphate buffered saline (PBS).
4. Dilute cells in PBS to a 1.0 McFarland turbidity standard (approximately 3 X 10⁸ cells/mL).
5. Prepare 10-fold serial dilutions to a 10⁵ dilution of the McFarland (at least 5 mL final volume) in PBS.
6. Place 4 mL of the 10⁵ dilution in a **BD ProbeTec** ET sample tube.
7. Process as a urine sample starting at Section E, step 5 of the "Test Procedure."
8. After processing, lyse sample as described in Section G of the "Test Procedure."
9. Continue testing as described in Section H of the "Test Procedure."

Monitoring for the Presence of DNA Contamination

At least monthly, the following test procedure should be performed to monitor the work area and equipment surfaces for the presence of DNA contamination. Environmental monitoring is essential to detect contamination prior to the development of a problem.

1. For each area to be tested, use a clean collection swab from either of the **BD ProbeTec** ET Endocervical specimen collection and transport systems and a CT/GC Diluent tube. [Alternatively, a sample tube containing 2 mL of Diluent (CT/GC), may be used.]
2. Dip the swab into the CT/GC Diluent and wipe the first area* using a broad sweeping motion.
3. Express the swab in the CT/GC Diluent tube. Recap the tube and vortex for 5 s.
4. Repeat for each desired area.
5. After all swabs have been collected, expressed in diluent and vortexed, the tubes are ready to be lysed (Section G) and assayed (Section H) according to the "Test Procedure."

*Recommended areas to test include: surface of the Lysing Heater, Lysing Rack, Priming and Warming Heater, black microwell trays, pipettor handle, instrument touch keys, instrument keyboard, instrument door release (teal key) centrifuge drum, and work bench(es) including sample processing areas.

If an area gives a positive result, clean the area with fresh ELIMINase, DNA AWAY or 1% (v/v) sodium hypochlorite with Alconox. Make sure the entire area is wetted with the solution and allowed to remain on the surface for at least two min or until dry. If necessary, remove excess cleaning solution with a clean towel. Wipe the area with a clean towel saturated with water and allow the surface to dry. Retest the area. Repeat until negative results are obtained. If the contamination does not resolve, contact Technical Services for additional information.

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

The **BD ProbeTec** ET *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* Amplified DNA Assay uses fluorescent energy transfer as the detection method to test for the presence of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* in clinical specimens. All calculations are performed automatically by the instrument software.

The presence or absence of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* is determined by relating the **BD ProbeTec ET** MOTA scores for the specimen to pre-determined cutoff values. The MOTA score is a metric used to assess the magnitude of signal generated as a result of the reaction. The magnitude of the MOTA score is not indicative of the level of organism in the specimen.

If assay controls are not as expected, patient results should not be reported. See QC section for expected control values. Reported results are determined as follows.

For the CT/GC Reagent Pack:

***C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* Result Interpretation Without AC**

CT or GC MOTA Score	Report	Interpretation	Result
≥ 10,000	<i>C. trachomatis</i> plasmid DNA and/or <i>N. gonorrhoeae</i> DNA detected by SDA	Positive for <i>C. trachomatis</i> and/or <i>N. gonorrhoeae</i> . <i>C. trachomatis</i> and/or <i>N. gonorrhoeae</i> organism viability and/or infectivity cannot be inferred since target DNA may persist in the absence of viable organisms.	Positive ¹
2,000-9,999	<i>C. trachomatis</i> plasmid DNA and/or <i>N. gonorrhoeae</i> detected by SDA	<i>C. trachomatis</i> and/or <i>N. gonorrhoeae</i> likely. Supplemental testing may be useful for verifying presence of <i>C. trachomatis</i> and/or <i>N. gonorrhoeae</i> . ²	Low Positive ^{1,2,3}
< 2000	<i>C. trachomatis</i> plasmid DNA and/or <i>N. gonorrhoeae</i> not detected by SDA	Presumed negative for <i>C. trachomatis</i> and/or <i>N. gonorrhoeae</i> . A negative result does not preclude <i>C. trachomatis</i> and/or <i>N. gonorrhoeae</i> infection because results are dependent on adequate specimen collection, absence of inhibitors, and sufficient DNA to be detected.	Negative

¹ According to CDC guidelines, "consideration should be given to routine additional testing for persons with positive *C. trachomatis* or *N. gonorrhoeae* screening tests when risk-factor information or actual surveys indicate that the prevalence is low, resulting in a lower PPV (e.g., < 90%)." Regardless of the screening method used (e.g. NAAT, DFA, EIA, Nucleic Acid Probe)," all positive screening tests should be considered presumptive evidence of infection." ¹⁶ Refer to CDC guidelines for details on additional testing and patient management after a positive screening test.

² Refer to cutoff description below and Figures 2 and 3 in "Performance Characteristics" for additional information on the distribution of CT and GC MOTA values by specimen type observed in the clinical trials.

³ The magnitude of the MOTA score is not indicative of the level of organism in the specimen.

For the CT/GC/AC Reagent Pack:

***C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* Result Interpretation with AC**

CT or GC AC MOTA Score	MOTA Score	Report	Interpretation	Result
≥ 10,000	Any	<i>C. trachomatis</i> plasmid DNA and/or <i>N. gonorrhoeae</i> DNA detected by SDA	Positive for <i>C. trachomatis</i> and/or <i>N. gonorrhoeae</i> . <i>C. trachomatis</i> and/or <i>N. gonorrhoeae</i> organism viability and/or infectivity cannot be inferred since target DNA may persist in the absence of viable organisms.	Positive ¹
2000 – 9,999	Any	<i>C. trachomatis</i> plasmid DNA and/or <i>N. gonorrhoeae</i> detected by SDA	<i>C. trachomatis</i> and/or <i>N. gonorrhoeae</i> likely. Supplemental testing may be useful for verifying presence of <i>C. trachomatis</i> and/or <i>N. gonorrhoeae</i> . ²	Low Positive ^{1,2,3}
< 2000	≥ 1000	<i>C. trachomatis</i> plasmid DNA and/or <i>N. gonorrhoeae</i> not detected by SDA	Presumed negative for <i>C. trachomatis</i> and/or <i>N. gonorrhoeae</i> . A negative result does not preclude <i>C. trachomatis</i> and/or <i>N. gonorrhoeae</i> infection because results are dependent on adequate specimen collection, absence of inhibitors, and sufficient DNA to be detected.	Negative
< 2000	< 1000	Amplification control inhibited. Repeat test ⁴	Repeatedly inhibitory specimen. <i>C. trachomatis</i> or <i>N. gonorrhoeae</i> , if present, would not be detectable using SDA. Submit another specimen for testing.	Indeterminate

¹ According to CDC guidelines, "consideration should be given to routine additional testing for persons with positive *C. trachomatis* or *N. gonorrhoeae* screening tests when risk-factor information or actual surveys indicate that the prevalence is low, resulting in a lower PPV (e.g., < 90%)." Regardless of the screening method used (e.g. NAAT, DFA, EIA, Nucleic Acid Probe)," all positive screening tests should be considered presumptive evidence of infection." ¹⁶ Refer to CDC guidelines for details on additional testing and patient management after a positive screening test.

² Refer to cutoff description below and Figures 2 and 3 in "Performance Characteristics" for additional information on the distribution of CT and GC MOTA values by specimen type observed in the clinical trials.

³ The magnitude of the MOTA score is not indicative of the level of organism in the specimen.

⁴ Repeat **BD ProbeTec ET** test. For urines, repeat from the original specimen. If original specimen not available, repeat from the processed sample tube. For swabs, repeat from the processed sample tube. If repeat result is either positive or negative, interpret as described above. If results repeat as indeterminate, a new specimen should be requested.

Determination of CT/GC/AC Cutoff:

The assay and amplification control cutoffs for CT and GC specimen results were determined based on Receiver Operating Characteristic (ROC) curve analysis of MOTA values obtained with patient specimens (male urethral swab, female endocervical swab, male and female urine) tested using both the **BD ProbeTec ET** CT/GC assay and another

amplified method during preclinical studies. The cutoffs were confirmed in clinical studies by using the **BD ProbeTec ET CT/GC** assay and culture, Direct Fluorescence Antibody (DFA) (CT only) and another amplified method. These studies show that for the majority of the time, CT and/or GC MOTA values greater than 2,000 will indicate the presence of *C. trachomatis* and/or *N. gonorrhoeae*. CT and/or GC MOTA values less than 2000 correlate with negative *C. trachomatis* and/or *N. gonorrhoeae* culture results the majority of the time. Male urethral swab, female endocervical swab and male urine specimens with CT MOTA values between 2,000 and 4,000 had a decreased likelihood of being true positive compared to results with MOTA values above 4,000. For female urine specimens, CT positive results with MOTA values between 2,000 and 10,000 also had a decreased likelihood of being true positive compared to results with MOTA values above 10,000. GC positive results with MOTA values between 2,000 and 10,000 also had a decreased likelihood of being true positive compared to results with MOTA values above 10,000. Refer to Figures 2 and 3 for the distribution of CT and GC MOTA values by specimen type observed in the clinical study. The positive predictive value (PPV) for the data in these figures was calculated using the following formula: True Positive/True Positive + False Positive. The data are not adjusted for prevalence. CT results between 2,000-10,000 MOTA had a PPV ranging from 56%-83% compared to a PPV range of 82%-100% for MOTA values above 10,000. GC results between 2,000-10,000 MOTA had a PPV ranging from 44%-75% compared to a PPV range of 90%-100% for MOTA values above 10,000. Depending on the types of specimens tested, populations sampled, and laboratory practices, supplemental testing for specimens with MOTA values between 2,000-10,000 may be useful. Refer to CDC guidelines for details on additional testing and patient management after a positive screening test.

N. cinerea has been shown to cross-react in the **BD ProbeTec ET GC** assay and other *Neisseria* species may also cause false positive results. In settings with a high prevalence of sexually transmitted disease, positive assay results have a high likelihood of being truly positive. In settings with a low prevalence of sexually transmitted disease, or in any setting in which a patient's clinical signs and symptoms or risk factors are inconsistent with gonococcal or chlamydial urogenital infection, positive results should be carefully assessed and the patient retested by other methods (e.g., culture for GC) if appropriate.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. This method has been tested only with endocervical swabs, male urethral swabs, and male and female urine specimens. Performance with other specimen types has not been assessed.
2. Optimal performance of the test requires adequate specimen collection and handling. Refer to the "Sample Collection and Transport" sections of this insert.
3. Endocervical specimen adequacy can only be assessed by microscopic visualization of columnar epithelial cells in the specimens.
4. Collection and testing of urine specimens with the **BD ProbeTec ET Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae** Amplified DNA Assay is not intended to replace cervical exam and endocervical sampling for diagnosis of urogenital infection. Cervicitis, urethritis, urinary tract infections and vaginal infections may result from other causes or concurrent infections may occur.
5. The **BD ProbeTec ET Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae** Amplified DNA Assay for male and female urine testing should be performed on first catch random urine specimens (defined as the first 15 – 20 mL of the urine stream when using the UPP). During the clinical evaluation, testing urine volumes up to 60 mL was included in the performance estimates. Dilutional effects of larger urine volumes may result in reduced assay sensitivity. The effects of other variables such as mid-stream collection have not been determined. Performance has not been established when the UPP is added to the collection cup prior to collection.
6. The effects of other potential variables such as vaginal discharge, use of tampons, douching, and specimen collection variables have not been determined.
7. A negative test result does not exclude the possibility of infection because test results may be affected by improper specimen collection, technical error, specimen mix-up, concurrent antibiotic therapy, or the number of organisms in the specimen which may be below the sensitivity of the test.
8. As with many diagnostic tests, results from the **BD ProbeTec ET Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae** Amplified DNA Assay should be interpreted in conjunction with other laboratory and clinical data available to the physician.
9. The **BD ProbeTec ET Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae** Amplified DNA Assay does not detect plasmid-free variants of *C. trachomatis*.
10. The **BD ProbeTec ET Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae** Amplified DNA Assay should not be used for the evaluation of suspected sexual abuse or for other medico-legal indications. Additional testing is recommended in any circumstance when false positive or false negative results could lead to adverse medical, social, or psychological consequences.
11. The **BD ProbeTec ET** system cannot be used to assess therapeutic success or failure since nucleic acids from *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* may persist following antimicrobial therapy.
12. The **BD ProbeTec ET Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae** Amplified DNA Assay provides qualitative results. No correlation can be drawn between the magnitude of MOTA score and the number of cells in an infected sample.
13. The predictive value of an assay depends on the prevalence of the disease in any particular population. See Tables 1 and 2 for hypothetical predictive values when testing varied populations.
14. Because the CT/GC positive control is used for both CT and GC testing, correct positioning of the microwell strips is important for final results reporting. Refer to Section H of the "Test Procedure" for correct microwell strip positioning.
15. Use of the **BD ProbeTec ET Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae** Amplified DNA Assay is limited to personnel who have been trained in the assay procedure and the **BD ProbeTec ET** system.
16. In laboratory studies, blood > 5% (v/v) was shown to cause indeterminate (inhibitory) results in both urine and swab specimens (with AC) and false negative results in urine specimens (with and without AC). Blood > 5% (v/v) may cause false negative results in swab specimens (with and without AC). Specimens with moderate to gross

- blood may interfere with **BD ProbeTec ET CT/GC Assay** results. Refer to "Performance Characteristics" for specific performance of female swab specimens with observed blood.
17. The presence of highly pigmented substances in urine, such as bilirubin (10 mg/mL) and Phenazopyridine (10 mg/mL), may cause indeterminate or false negative results.
 18. Leukocytes in excess of 250,000 cells/mL (swab specimens) may cause indeterminate or false negative results.
 19. The presence of serum, feminine deodorant sprays or talcum powder may cause false negative results (urine specimens).
 20. The **BD ProbeTec ET C. trachomatis/N. gonorrhoeae Amplified DNA Assays** may cross-react with *N. cinerea* and *N. lactamica*. Refer to "Performance Characteristics" for further information.
 21. The reproducibility of the **BD ProbeTec ET CT/GC Assay** was established using seeded swab specimens and seeded buffer to simulate urine specimens. These specimens were inoculated with both *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae*. Reproducibility when testing urine samples and samples with *C. trachomatis* only and *N. gonorrhoeae* only has not been determined.
 22. Performance characteristics for detecting *N. gonorrhoeae* in males are based on testing patients with infection rates of 0-43%; the male populations sampled were primarily from STD clinics where the prevalence of GC is higher than in other clinical settings. In males, 16 gonococcal infections were identified in the low prevalence setting (0-8% prevalence). Likewise, the majority of females in the study with GC infections were from STD clinics. In females, only six gonococcal infections were identified in the low prevalence setting (1.2% prevalence). Positive results in low prevalence populations should be interpreted carefully in conjunction with clinical signs and symptoms, patient risk profile, and other findings with the understanding that the likelihood of a false positive may be higher than a true positive.
 23. Testing urine specimens from female patients as the sole test for identifying chlamydial or gonococcal infections may miss infected individuals (17/100 or 17% of females with CT-positive cultures and 11/80 or 13.8% of females with GC-positive cultures had negative results when urine only was tested) with the **BD ProbeTec ET CT/GC Assay**.
 24. Because the AC uses GC target, the efficacy of the AC for detecting inhibition is reduced in GC infected samples. Refer to "Performance Characteristics" for results with co-infected patients.
 25. Performance has not been established for UPT fill volumes other than volumes falling within the black lines on the fill window (approximately 2.5 mL to 3.45 mL).
 26. UPT performance has not been established on **BD Viper** instruments that do not have onboard readers (Cat # 440740).

EXPECTED RESULTS

A. Prevalence

The prevalence of positive *C. trachomatis* or *N. gonorrhoeae* specimens in patient populations depends on: clinic type, age, risk factors, gender, and test method. The prevalence observed with the **BD ProbeTec ET CT/GC amplified DNA assay** during a multi-center clinical trial ranged from 4.5 to 28.6% for CT (Table 6 page 113) and from 0 to 42.9% for GC (Table 12 page 121). Coinfections ranged from 0% to 5.4%.

B. Positive and Negative Predictive Values

Hypothetical positive and negative predictive values (PPV & NPV) for the **BD ProbeTec ET CT/GC amplified DNA assays** are shown in Tables 1 and 2 (page 109), respectively. These calculations are based on hypothetical prevalence and overall CT sensitivity and specificity (as compared to the patient infected status) of 90.7 and 96.6%, respectively, and overall GC sensitivity and specificity of 96.0 and 98.8%, respectively. In addition, PPV and NPV based on actual prevalence, sensitivity and specificity are shown in Table 6 (page 113) and Table 12 (page 121).

C. MOTA Score Frequency Distribution

A total of 5119 specimens collected from clinics in nine different geographic locations were assayed with the **BD ProbeTec ET system** for *C. trachomatis* and/or *N. gonorrhoeae* in seven clinical laboratories. A frequency distribution of the initial MOTA scores for AC is shown in Figure 1 by specimen type (page 106).

A total of 4108 **BD ProbeTec ET C. trachomatis** results were evaluated at seven clinical sites. A frequency distribution of the initial MOTA scores for CT is shown in Figure 2 (see page 107). The distribution of uniquely **BD ProbeTec ET** false positive (test which was positive in the **BD ProbeTec ET** but not positive by cell culture, DFA or AMP1 in either specimen type) and false negative results are shown below Figure 2, page 107.

A total of 5093 **BD ProbeTec ET N. gonorrhoeae** results were evaluated at nine clinical sites. A frequency distribution of the initial MOTA scores for GC is shown in Figure 3 (see page 108). The distribution of uniquely **BD ProbeTec ET** false positive (test which was positive in the **BD ProbeTec ET** but not positive by culture or AMP1 in either specimen type) and false negative results are shown below Figure 3, page 108.

D. Controls

During the clinical evaluation, CT/GC positive control failures were observed in 22 of 518 CT and GC assay runs. For the negative CT/GC control, failures were observed in 19 of 518 CT assay runs and in 12 of 518 GC assay runs. Eight of these observed CT and GC control failures occurred as a result of the operator switching the positive and negative control.

The CT/GC positive and negative control MOTA scores observed in the clinical trials are shown in the following table.

Control	Range	5th Percentile	MOTA Score		
			Mean	Median	95th Percentile
CT Negative	0 – 499	0	113	109.5	262
CT Positive	2055 – 67281	8222	26816	24681	52725
GC Negative	0 – 800	0	90	71.5	245
GC Positive	2013 - 54240	7404	22452	21228	41405

PERFORMANCE CHARACTERISTICS:**Clinical Performance**

Performance characteristics for the **BD ProbeTec ET** *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* (CT/GC) Amplified DNA Assay were established in a multi-center study at seven geographically diverse clinical sites. Each site was required to pass a proficiency panel prior to enrolling patients in the study. The study included 4131 specimens collected from 2109 patients attending sexually transmitted disease (STD) clinics, OB/GYN Clinics, Family Planning Clinics, Adolescent Clinics, and Emergency Rooms. A total of 22 CT results were excluded from the data analysis due to cell culture contamination. One additional specimen was excluded due to a missing DFA result. A total of 26 GC results were excluded from the data analysis. Of these 26, 15 were excluded due to culture contamination and 11 were excluded due to failure to collect a swab for culture. Therefore, a total of 4108 CT and 4105 GC results from 2109 patients were used in the final data analysis. Paired specimens (swab and urine) were collected from 2020 of the 2109 patients. The majority of these were from patients in STD and family planning clinics. Four endocervical swabs and one urine specimen were collected from female patients. The swabs were tested by cell culture for CT, culture for GC, the **BD ProbeTec ET** assay, and a commercially available amplification method (AMP1). The endocervical swab collection order was rotated throughout the study to minimize effects of collection order. For males, two urethral swabs and one urine specimen were collected. The first swab was used for GC culture and then the **BD ProbeTec ET** assay. The second swab was used for CT cell culture. The UPP was added to the urine at the collection site prior to transporting to the laboratory.

C. trachomatis was detected by cell culture of endocervical and male urethral swabs. Positivity was based on detecting at least one inclusion-forming unit (IFU) in either first or second passage. Female and male urine **BD ProbeTec ET** results were compared to culture results of endocervical and male urethral swab specimens, respectively. In addition, a commercially available amplification assay (AMP1) was performed on all endocervical swabs and urine specimens. If cell culture was negative but either amplification assay was positive, a DFA test was performed from the cell culture transport medium. For male urethral swab specimens, testing included cell culture but not the AMP1 method. If the cell culture was negative, but **BD ProbeTec ET** (swab or urine) and/or the AMP1 CT urine test were positive, DFA was performed from the cell culture transport medium. A different commercially available amplification assay (AMP2) was performed from culture transport medium for those male patients who had a positive urine AMP1 test and the corresponding swabs were culture negative.

N. gonorrhoeae was detected by recovery of gram-negative, oxidase-positive colonies on agar. Culture identification was confirmed by two methods, one biochemical and one either immunological or fluorometric. **BD ProbeTec ET** assay results were compared to culture and a commercially available amplification assay (AMP1). All GC cultures were incubated between 48 - 72 h prior to reporting a final result.

Performance characteristics for CT and GC were calculated both with and without the amplification control (AC). All data are presented without the amplification control. Assay interpretation differences resulting from use of the amplification control are footnoted at the bottom of each table. For true CT and/or GC positives, the target level is generally high enough to overcome the inhibitory effects of the specimen matrix. These specimens are interpreted as positive by the instrument algorithm even if the AC is negative (MOTA < 1000). All initially indeterminate results were repeated. Performance was calculated based on the results of repeat testing. Specimens were classified as positive, negative or indeterminate. Repeatedly inhibitory specimens were considered uninterpretable and excluded from sensitivity and specificity calculations. To calculate performance without the AC, indeterminate results (results with negative AC) were interpreted as negative for CT and/or GC. The numbers of initial and final indeterminate results by patient infected status are shown in Table 3 (CT) and Table 4 (GC). The numbers of initial and final indeterminate results by specimen type are shown in Table 5 (CT) and Table 11 (GC).

In the previous multi-center study, the seven sites collected 183 and 184 asymptomatic male GC swab and urine specimens, respectively. To supplement this data, a similar study was conducted at three clinical sites; one of which participated in the original evaluation. The study included specimens collected from two STD clinics and a teaching hospital. The male patients attending the STD clinics may have had a prior STD infection, an infected partner, or attending for a routine visit. A total of 560 patients were enrolled in the study, 41 of which were excluded from the data analysis due to noncompliance issues (e.g. patients enrolled prior to proficiency completed, symptomatic patients enrolled, GC culture not performed). From the remaining 519 patients, 1038 paired specimens (swab and urine) were collected. A total of 50 specimens were excluded for various reasons (e.g. urine frozen prior to testing, incomplete proficiency testing, specimens older than six days). Therefore, a total of 988 specimens collected from 519 patients were used in the final data analysis. The swab specimen was used for GC culture and then the **BD ProbeTec ET** assay. The urine specimen was tested using both the **BD ProbeTec ET** assay and a commercially available amplification assay (AMP1). The UPP was added to the urine at the test site. The **BD ProbeTec ET** urine results were compared to the culture results of the male urethral swab specimens. Results were combined with the data collected in the original multicenter study and are included in the data presented in Figures 1 and 3 and Tables 2, 4, 11, 12, 13, 14, and 16.

In a prospective clinical agreement study, four geographically diverse clinical sites evaluated the performance of neat urine specimens and urine specimens processed with the UPT for both CT and GC against urine specimens processed with the UPP. These urine specimens were collected from both symptomatic and asymptomatic males and females. A total of 1183 compliant CT urine specimens and 1181 compliant GC urine specimens were collected and divided between neat urine, the UPT and the UPP and were included in the indeterminate analysis. For performance without the AC, a total of 1182 compliant CT neat/UPP and UPT/UPP paired specimens and 1181 compliant GC neat/UPP and UPT/UPP paired specimens were included. Performance with the Amplification Control was calculated for 1171 compliant CT neat/UPP paired specimens and 1169 compliant GC neat/UPP paired specimens. Performance with the AC was calculated for 1164 compliant CT UPT/UPP paired specimens and 1162 compliant GC UPT/UPP paired specimens. The agreement results of neat urine compared to UPP for CT and GC, both with and without the AC, are summarized in Table 22. The agreement results of UPT compared to UPP for CT and GC, both with and without AC, are summarized in Table 23.

C. trachomatis

BD ProbeTec ET *C. trachomatis* results were compared to culture and patient infected status. Performance estimates for each specimen type and symptomatic status are shown in Table 5. A patient was considered infected if (1) the

culture was positive, or (2) positive results were obtained for both AMP1 (in either the swab or urine) and DFA, or (3) AMP1 was positive in both swab and urine paired specimens. Data on pregnant females are footnoted at the bottom of Table 5. Of the 1,419 female swab specimens tested in the clinical evaluations by the **BD ProbeTec ET CT Assay**, 101 (7.1%) were classified as grossly bloody and 242 (17.1%) as moderately bloody. Assay performance with moderately to grossly bloody swabs was not statistically different than assay performance with non-bloody or lightly bloody swabs. Table 6 shows performance estimates for the **BD ProbeTec ET CT assay** as compared to patient infected status for each clinical site differentiated by specimen type.

In the clinical trial, the AMP1 assay was performed on all endocervical swabs and urine specimens (males and females). A comparison of the **BD ProbeTec ET assay** and AMP1 CT assay to culture and DFA (on culture negative, assay positive specimens) is presented in Table 7. Table 8 shows the percent agreement between **BD ProbeTec ET CT results** and AMP1 results.

A summary of test results on paired specimens is contained in Tables 9 (females) and 10 (males). Patient infected status is also shown in these tables.

N. gonorrhoeae

BD ProbeTec ET *N. gonorrhoeae* results were compared to culture and patient infected status. Performance estimates for each specimen type and symptomatic status are shown in Table 11. A patient was considered infected if (1) the culture was positive or (2) in females, if AMP1 was positive in both swab and urine (paired specimens). Data on pregnant females are footnoted at the bottom of Table 11. Of the 1,411 female swab specimens tested in the clinical evaluations by the **BD ProbeTec ET GC assay**, 102 (7.2%) were classified as grossly bloody and 242 (17.2%) as moderately bloody. Assay performance with moderately to grossly bloody swabs was not statistically different than assay performance with non-bloody or lightly bloody swabs. Table 12 shows performance estimates for the **BD ProbeTec ET GC assay** as compared to patient infected status for each clinical site differentiated by specimen type.

In the clinical trial the AMP1 assay was performed on all endocervical swabs and urine specimens (males and females). A comparison of the **BD ProbeTec ET assay** and AMP1 GC assay against culture is presented in Table 13. Table 14 shows the percent agreement between **BD ProbeTec ET GC results** and AMP1 results.

A summary of test results on paired specimens is contained in Tables 15 (females) and 16 (males). Patient infected status is also shown in these tables.

***C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* co-infection**

In the clinical trial, both **BD ProbeTec ET CT** and GC results were available for 4082 specimens. A summary of **BD ProbeTec ET** performance for detecting both CT and GC in specimens from patients considered co-infected by the patient infected status is presented in Table 17.

Analytical Studies

Note: The **BD ProbeTec ET CT/GC** amplification reaction volume is 100 μ L of processed sample.

Precision

Precision of the **BD ProbeTec ET CT/GC Amplified DNA Assays** was demonstrated by testing a five-member panel consisting of four dilutions co-inoculated with *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* in Diluent (CT/GC) and a negative (uninoculated Diluent). The five member panel was made up of samples containing 0-100 *C. trachomatis* Elementary Bodies per reaction (EBs/rxn) and 0-100 *N. gonorrhoeae* cells/rxn. This precision panel was run at two clinical sites and internally. Six replicates of each panel were run twice a day for three days. Because no significant run-to-run or site-to-site variability was observed, the data were combined and presented in Table 18. No positive or negative CT/GC control failures were observed in the Precision study.

Proficiency / Reproducibility

Prior to data collection for the clinical trial, each technologist processed and performed two proficiency panels. One panel consisted of seeded swab specimens; the other panel consisted of seeded buffer to simulate testing urine specimens. Each 30-member swab panel contained 12 replicates of a level seeded with both 500 EBs/rxn (CT) and 500 cells/rxn (GC), 12 replicates of a level seeded with both 50 EBs/rxn (CT) and 30 cells/rxn (GC) and six unseeded samples. Each 30 member urine panel contained 12 replicates of a level seeded with both 600 EBs/rxn (CT) and 500 cells/rxn (GC), 12 replicates of a level seeded with both 115 EBs/rxn (CT) and 100 cells/rxn (GC) and six unseeded samples.

Results from this proficiency study were combined across 23 operators and across all sample levels (negative, low level, high-level) to estimate reproducibility. Reproducibility estimates are presented in Table 19 as percent correct versus expected results. No positive or negative CT/GC control failures were observed in the Proficiency/Reproducibility study. At three of the clinical sites designated technologists with various levels of experience ran panels twice in one day to show that multiple runs in the same room do not adversely affect results. No decrease in correct results was seen between first and second runs. Separate chi-square tests were performed to compare the two runs for swab and urine samples. No statistical differences were observed (p-value for swab samples: 0.1769; p-value for urine samples: 0.7691).

Specimen Stability Studies

Transport and storage of specimens for testing were evaluated using the information collected during the clinical studies as well as by conducting internal analytical studies. The majority of the clinical specimens were transported to the laboratory within one day and held refrigerated or at room temperature and tested within four days of collection.

Recommendations to support an additional two days of specimen stability at 2 - 8°C were based on in-house studies that were conducted by seeding swabs and human urine with approximately 200 CT EBs and 200 GC cells per reaction. Both seeded and unseeded swabs and urine were held at refrigerated conditions and tested on Days 0, 1, 2, 4, 5 and 6. Each positive and negative sample was tested in triplicate for a total of 18 positive and nine negative data points on each day. The data demonstrated that both swabs and urines were stable up to Day 6. Recommendations to support an additional two days of swab specimen stability at 15 - 27°C were based on in-house studies that were conducted as described above. The data demonstrated that the swabs were stable up to Day 6.

In addition, a separate stability study was conducted at two clinical sites to verify room temperature stability with clinical swabs and urine specimens. Five swabs were collected from female patients (one for AMP1 and four for **BD ProbeTec ET**). Urine specimens were collected from both male and female patients. Baseline (Day 0) specimens were

processed within 24 h of collection. Additional samples were held at room temperature and processed on Days 2, 4 and 5. Each timepoint was compared to **BD ProbeTec** ET results on Day 0. **CT Results:** Of the 101 swab specimens, 29 were positive and 57 negative at each time point. The remaining 15 specimens (14.9%) were variable from day to day. Of the 107 urine specimens, 27 were positive and 68 negative at each time point. The remaining 12 urine specimens (11.2%) varied between days. **GC Results:** Of the 101 swab specimens, 28 were positive and 67 negative at each time point. The remaining 7 swab specimens (6.9%) were variable from day to day. Of the 107 urine specimens, 30 were positive and 69 negative at all time points. The remaining 8 specimens (7.5%) varied from day to day. **Conclusion:** Day to day variability for both swabs and urines ranged from 5.6-10.9% for CT and 1.9-5.9% for GC. It is unknown whether specimens stored at 2-8°C would have less variability in day to day testing.

Analytical Sensitivity

The analytical sensitivity (Limit of Detection or LOD) of the **BD ProbeTec** ET *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* Amplified DNA Assay was determined by diluting 15 *C. trachomatis* serovars and 39 *N. gonorrhoeae* strains in Diluent (CT/GC). Quantitated CT cultures were diluted to 0,5,15,35,70 and 200 EBs per reaction for each serovar. Quantitated GC cultures were diluted to 0,5,10,15 and 25 cells per reaction for each strain. Samples were processed and assayed in triplicate.

The LOD of the *C. trachomatis* serovars ranged from 5-200 EBs per reaction with a median of 35 EBs per reaction. The 15 CT serovars, with the corresponding LOD for each in parentheses (expressed as EBs/reaction) are as follows: A (15), B (35), Ba (35), C (5), D (70), E (35), F (200), G (35), H (15), I (200), J (70), K (200), LGV-1 (35), LGV-2 (15), LGV-3 (35).

Quantitation of *C. trachomatis* (CT) based on EBs was found to be more accurate and reproducible than quantitation by inclusion-forming units (IFU). Quantitation of IFU tends to be variable and consistently gives a lower number when compared with direct (DFA) quantitation of EBs. To determine the correlation between quantitation by DFA and IFU titers, all 15 CT serovars were grown in tissue culture, then the EBs were collected and quantitated by both DFA and IFU. The ratio of the EB counts (from DFA) to IFU titers for each serovar was calculated. The mean EB to IFU ratio for the 15 CT serovars (A through LGV-3) was determined to be 167 EBs per IFU. For the STD group (CT serovars D-K), the mean ratio was 317 EBs per IFU. These ratios are representative of the variation found between serovars. With these conversions, the analytical sensitivity of the CT assay would be < 1 IFU.

The LOD of the 39 *N. gonorrhoeae* strains ranged from 5-25 cells per reaction with a median of 10 cells per reaction. These strains included 14 ATCC strains (including six different *N. gonorrhoeae* auxotypes) and 25 clinical isolates obtained from geographically diverse sites.

Analytical Specificity

Table 20 (see page 130) identifies the bacteria, viruses, and yeasts evaluated using the **BD ProbeTec** ET *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* Amplified DNA Assays. Bacterial isolates were tested using at least 10⁸ Colony Forming Units (CFU)/mL or equivalent copies of genomic DNA except as indicated. Viruses were tested using at least 10⁸ Plaque Forming Units (PFU)/mL or equivalent copies of genomic DNA. The tested organisms include those commonly found in the urogenital tract as well as others.

For *Chlamydia trachomatis*, all results were negative as expected.

Three *N. cinerea* strains were tested in the **BD ProbeTec** ET GC assay. Of these, two were repeatedly positive. Sixteen *N. subflava* strains were tested in triplicate. Two strains were positive in one of three replicates. When the two strains were prepared and tested again, all results were negative. Eight *N. lactamica* strains were tested in triplicate. One strain was positive in one of the three replicates. When that strain was prepared and tested again, all results were negative.

Interfering Substances

Potential interfering substances which may be encountered in swab and/or urine specimens were tested with the **BD ProbeTec** ET *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* Amplified DNA Assay. Potential interfering substances were evaluated in the absence of target or with 200 CT EBs per reaction (i.e., 1000 EBs/mL of urine or 4000 EBs per swab) and 200 GC cells per reaction (i.e., 1000 cells/mL of urine or 4000 cells per swab). Results are summarized in Table 21 (see page 131).

AVAILABILITY

The following **BD ProbeTec**™ ET products are also available:

CAT. NO.	DESCRIPTION
220142	BD ProbeTec ™ ET <i>Chlamydia trachomatis</i> / <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (CT/GC) Amplified DNA Assay Collection Kit for Endocervical Specimens, 100 units.
220143	BD ProbeTec ™ ET <i>Chlamydia trachomatis</i> / <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (CT/GC) Amplified DNA Assay Collection Kit for Male Urethral Specimens, 100 units.
440450	BD ProbeTec ™ ET CT/GC/AC Reagent Pack, 384 tests.
440451	BD ProbeTec ™ ET CT/GC Control Set, 20 positive and 20 negative.
440452	BD ProbeTec ™ ET CT/GC Diluent Tubes, 2 mL x 400.
440453	BD ProbeTec ™ ET Diluent (CT/GC), 4 x 225 mL.
440455	BD ProbeTec ™ ET Sample Tubes and Caps, 4 x 100.
440456	BD ProbeTec ™ ET Caps, 4 x 100.
440457	BD ProbeTec ™ ET Accessories (20 Primer covers, Amplification sealers and Disposal bags, 20 each).
440458	BD ProbeTec ™ ET Pipette Tips, 6 x 120.
440461	BD ProbeTec ™ ET <i>Chlamydia trachomatis</i> / <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (CT/GC) Amplified DNA Assay Male Urethral Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit, 1 x 100.
440476	BD ProbeTec ™ ET <i>Chlamydia trachomatis</i> / <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (CT/GC) Amplified DNA Assay Endocervical Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit, 100 each.
440454	BD ProbeTec ™ ET Urine Processing Kit, 4 x 25.
440474	BD ProbeTec ™ ET CT/AC Reagent Pack, 384 tests.

- 440477 **BD ProbeTec™** ET Instrument, Ex U.S.
- 440478 **BD ProbeTec™** ET Instrument, U.S. and Canada.
- 440479 **BD ProbeTec™** ET Priming and Warming Heater, 220V.
- 440480 **BD ProbeTec™** ET Priming and Warming Heater, 120V.
- 440482 **BD ProbeTec™** ET Lysing Heater, 220V.
- 440483 **BD ProbeTec™** ET Lysing Heater, 120V.
- 440487 **BD ProbeTec™** ET Pipettor.
- 440502 **BD ProbeTec™** ET Lysing Rack.
- 440704 **BD ProbeTec™** ET CT Reagent Pack, 384 tests.
- 440705 **BD ProbeTec™** ET CT/GC Reagent Pack, 384 tests.
- 440928 **BD ProbeTec™** Urine Preservative Transport Kit, 100/box.

The following strains are available from:

American Type Culture Collection (ATCC™)
 10801 University Boulevard
 Manassas, VA 20110-2209, USA.
 ATCC # VR-902B *Chlamydia trachomatis* LGV2
 ATCC Strain # 19424 *Neisseria gonorrhoeae*

REFERENCES

1. Black, C. M. 1997. Current Methods of Laboratory Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* Infections. Clin. Microbiol. Rev. 10 (1): 160 – 184.
2. Division of STD Prevention. September 1997. Sexually Transmitted Disease Surveillance, 1996. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta.
3. Centers for Disease Control and Prevention. 1993. Recommendations for the Prevention and Management of *Chlamydia trachomatis* Infections, 1993. MMWR 42(No. RR-12): 1-39.
4. Schachter J., Stamm, W. E. 1999. *Chlamydia*, p. 795-806. In Murray P. R., Baron, M. J., Tenover F. C., and Tenover R. H.(ed.), Manual of Clinical Microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Centers for Disease Control and Prevention. 1998. 1998 Guidelines for Treatment of Sexually Transmitted Diseases. MMWR 47(No. RR-1): 1-116.
6. Knapp, J. S., Koumans, E.H. 1999. *Neisseria* and *Branhamella*, p. 586-603. In Murray P. R., Baron, M. J., Tenover F. C., and Tenover R. H.(ed.), Manual of Clinical Microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P. C., Winn, W. C., Jr. 1997. *Neisseria* Species and *Moraxella catarrhalis*, p. 491-537. In Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th ed. Lippincott - Raven Publishers, Philadelphia.
8. Walker, G. T., Frasier, M. S., Schram, J. L., Little, M. C., Nadeau, J. G., Malinowski, D. P. 1992. Strand Displacement Amplification – an Isothermal, *in vitro* DNA Amplification Technique. Nucleic Acids Res. 20(7): 1691 – 1696.
9. Little, M.C., et. al 1999. Strand Displacement Amplification and Homogeneous Real-Time Detection Incorporated in a Second-Generation DNA Probe System, **BD ProbeTec** ET. Clin. Chem. 45(6): 777-784.
10. Spargo, C. A., Frasier M. S., Van Cleve, M., Wright, D. J., Nycz, C. M., Spears, P. A., Walker, G.T. 1996. Detection of *M. tuberculosis* DNA Using Thermophilic Strand Displacement Amplification. Mol. Cell. Probes 10: 247 – 256.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
12. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80.
13. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
14. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
15. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1999. Approved Standard, C24-A2. Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Principles and Definitions, NCCLS, Wayne, PA.
16. Centers for Disease Control and Prevention. 2002. Screening tests to detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections, MMWR 51 (No. RR-15):1-29.

BD Tests de détection d'ADN amplifié BD ProbeTec ET pour *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae*

Français

APPLICATION

Utilisés avec le système **BD ProbeTec ET**, les tests de détection d'ADN amplifié **BD ProbeTec ET** pour *Chlamydia trachomatis* (CT) et *Neisseria gonorrhoeae* (GC) font appel à la technologie d'amplification par déplacement de brin (SDA) pour permettre la détection qualitative directe de l'ADN de *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* à partir de prélèvements endocervicaux, de prélèvements urétraux chez l'homme et de d'échantillons d'urine chez l'homme et la femme, comme preuve d'infection à *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, ou de co-infection à *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae*. Les échantillons peuvent provenir de patients symptomatiques ou asymptomatiques, chez l'homme ou la femme. Il est possible d'utiliser un témoin d'amplification séparé pour le test d'inhibition (jeu de réactifs CT/GC/TA **BD ProbeTec ET**). Les tests **BD ProbeTec ET** CT/GC peuvent être réalisés à l'aide du système **BD ProbeTec ET** utilisé seul ou associé à l'instrument **BD Viper**.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Les infections à *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* sont les maladies bactériennes sexuellement transmissibles les plus fréquentes aux États-Unis. On estime à 4 millions le nombre de nouveaux cas d'infection à chlamydia chaque année aux États-Unis, pour 50 millions environ de nouveaux cas chaque année dans le monde.¹⁻³ L'incidence des infections à chlamydia chez la femme était de 186,6 pour 100 000 en 1996 aux États-Unis. La prévalence globale des infections à chlamydia et des gonococcies était de 490 080 et 325 883 cas, respectivement, en 1996 aux États-Unis.²

Les chlamydia sont des bactéries intracellulaires obligatoires à Gram négatif. Elles forment des inclusions intracellulaires caractéristiques qui peuvent être observées par microscopie optique en culture sur cellules après coloration spécifique.⁴ *Chlamydia trachomatis* cause des cervicites, urétrites, salpingites, rectites et endométrites chez la femme et des urétrites, épидидymites et rectites chez l'homme. Les cas d'infection aiguë sont plus fréquents chez l'homme, l'infection étant souvent asymptomatique chez la femme. On estime que 70 à 80 % des femmes et jusqu'à 50 % des hommes infectés ne développent aucun symptôme. De nombreux cas d'infection à chlamydia chez la femme ne sont pas soignés et peuvent se traduire par des inflammations basses des trompes de Fallope, une cause majeure d'infertilité. Ce microorganisme peut également être transmis par la filière pelvigénitale, risquant ainsi d'entraîner une conjonctivite chez le nourrisson et/ou une pneumonie à chlamydia chez le nouveau-né.^{4,5}

Neisseria gonorrhoeae est un diplocoque oxydase-positif à Gram négatif qui peut être observé dans les frottis de Gram réalisés à partir de pertes urétrales, habituellement au sein des neutrophiles. La culture de *N. gonorrhoeae* peut s'avérer difficile car le microorganisme survit peu de temps en dehors de l'hôte et se montre très sensible aux conditions environnementales défavorables comme la déshydratation du milieu ou les températures extrêmes.⁶ *Neisseria gonorrhoeae* cause une urétrite aiguë chez l'homme qui, si elle n'est pas soignée, peut évoluer en épидидymite ou prostatite et aboutir à la striction de l'urètre. Chez la femme, le site d'infection primaire est l'endocervix. Une complication importante chez la femme est le développement d'une maladie inflammatoire pelvienne qui contribue à l'infertilité.⁷ Les infections asymptomatiques sont fréquentes chez la femme, mais plus rares chez l'homme.

Les méthodes actuelles de dépistage de *C. trachomatis* et/ou *N. gonorrhoeae* sont notamment la culture sur cellules, les dosages immunologiques, les sondes non amplifiées et les sondes amplifiées.^{4,6,7} Les méthodes d'amplification présentent deux avantages par rapport aux méthodes non amplifiées : sensibilité accrue et applicabilité à divers types d'échantillons. Historiquement, la culture sur cellules a été la méthode de dépistage de référence de *C. trachomatis*. Cependant, la culture sur cellules aboutit à des résultats très différents suivant les laboratoires et la culture sur cellules en routine est moins sensible que les méthodes amplifiées. Le fait de combiner les résultats de plusieurs méthodes de dépistage de CT améliore la précision de l'évaluation de nouveaux tests, car les patients infectés et non infectés peuvent être identifiés plus sûrement. Pour le dépistage de GC, les procédés de culture optimisés constituent encore la méthode diagnostique standard des gonococcies.

Utilisés avec le système **BD ProbeTec ET**, les tests de détection d'ADN amplifié pour *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** font appel à la technologie d'amplification par déplacement de brin (SDA) homogène comme méthode d'amplification et au transfert d'énergie (ET) de fluorescence comme méthode de détection, pour tester la présence de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* dans les échantillons cliniques.⁸⁻¹⁰

PRINCIPES DE LA MÉTHODE

Les tests de détection d'ADN amplifié **BD ProbeTec ET** pour *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* sont basés sur l'amplification et la détection simultanées de l'ADN cible au moyen d'amorces d'amplification et d'une sonde de détection couplée à un marqueur fluorescent.^{9,10} Les réactifs SDA desséchés sont contenus dans deux barrettes distinctes de micropuits jetables. L'échantillon traité est ajouté au micropuit d'amorçage, qui contient les amorces d'amplification, la sonde de détection couplée à un marqueur fluorescent et d'autres réactifs nécessaires à l'amplification. À l'issue de l'incubation, le mélange réactionnel est transféré dans le micropuit d'amplification, lequel contient deux enzymes (une ADN polymérase et une endonucléase de restriction) nécessaires au SDA. Les micropuits d'amplification sont scellés avec une bande d'étanchéité pour empêcher la contamination, puis incubés dans un lecteur de fluorescence thermorégulé qui évalue la génération de produits amplifiés dans chaque réaction. La présence de CT et GC est déterminée en comparant les scores MOTA (Method Other Than Acceleration) **BD ProbeTec ET** de l'échantillon aux valeurs limites d'inclusion prédéterminées. Le score MOTA est une valeur utilisée pour évaluer la grandeur du signal généré en réponse à la réaction.

Cette notice décrit les procédures de test de deux configurations de trousse de test – le jeu de réactifs CT/GC et le jeu de réactifs CT/GC/TA. Si le jeu de réactifs CT/GC est utilisé, chaque échantillon et témoin est testé dans deux micropuits distincts : un pour *C. trachomatis* et un pour *N. gonorrhoeae*. Si le jeu de réactifs CT/GC/TA est utilisé, chaque échantillon et témoin est testé dans trois micropuits distincts : *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* et le témoin d'amplification. L'objectif du témoin d'amplification est d'identifier un échantillon susceptible d'inhiber la réaction SDA.

RÉACTIFS

Chaque jeu de réactifs CT/GC **BD ProbeTec ET** contient :

Micropuits d'amorçage pour *Chlamydia trachomatis* (CT), 4 x 96 :

4 oligonucléotides ≥ 7 pmole ; dNTP ≥ 35 nmole ; sonde de détection ≥ 25 pmole ; avec tampons et stabilisants.

Micropuits d'amorçage pour *Neisseria gonorrhoeae* (GC), 4 x 96 :

4 oligonucléotides ≥ 7 pmole ; dNTP ≥ 35 nmole ; sonde de détection ≥ 25 pmole ; avec tampons et stabilisants.

Micropuits d'amplification pour *Chlamydia trachomatis* (CT), 4 x 96 :

Enzyme de restriction ≥ 30 unités ; ADN polymérase ≥ 25 unités ; dNTPs ≥ 80 nmole ; avec tampons et stabilisants.

Micropuits d'amplification pour *Neisseria gonorrhoeae* (GC), 4 x 96 :

Enzyme de restriction ≥ 15 unités ; ADN polymérase ≥ 2 unités ; dNTPs ≥ 80 nmole ; avec tampons et stabilisants.

En plus des réactifs énumérés ci-dessus, le jeu de réactifs CT/GC/TA **BD ProbeTec ET** contient également :

Micropuits d'amorçage pour témoin d'amplification (TA), 4 x 96 :

4 oligonucléotides ≥ 7 pmole ; dNTP ≥ 35 nmole ; sonde de détection ≥ 25 pmole ; ≥ 1000 exemplaires de plasmide pGC10 linéarisé par réaction ; avec tampons et stabilisants.

Micropuits d'amorçage pour témoin d'amplification (TA), 4 x 96 :

Enzyme de restriction ≥ 15 unités ; ADN polymérase ≥ 2 unités ; dNTPs ≥ 80 nmole ; avec tampons et stabilisants.

REMARQUE : Chaque sachet de micropuits contient un sachet de dessiccatif.

Accessoires : Couvercles d'amorçage ; bandes d'étanchéité pour l'amplification, 40 de chaque ; sacs à déchets, 20 de chaque.

Jeu de témoins **BD ProbeTec ET (CT/GC),** 20 témoins positifs CT/GC (50 μ L desséché) contenant 750 exemplaires de plasmide linéarisé pCT16* par réaction et 250 exemplaires de plasmide linéarisé pGC10* par réaction avec ≥ 5 μ g d'ADN de testicules de saumon ; 20 témoins négatifs CT/GC (50 μ L, desséché) avec ≥ 5 μ g d'ADN de testicules de saumon ; tubes de diluant CT/GC **BD ProbeTec ET** – 400 tubes contenant chacun 2 mL de diluant d'échantillon, qui contient du phosphate de potassium, du DMSO, du glycérol, du polysorbate 20 et 0,03 % de Proclin (conservateur) ; diluant **BD ProbeTec ET** (CT/GC) – 225 mL de diluant d'échantillon, qui contient du phosphate de potassium, du DMSO, du glycérol, du polysorbate 20 et 0,03 % de Proclin (conservateur).

* La concentration de cet ADN a été déterminée par lecture spectrophotométrique à 260 nm.

Instrument, matériel et consommables : Instrument et plaques pour instrument **BD ProbeTec ET**, bloc chauffant de lyse **BD ProbeTec ET**, portoir et socle de lyse, bloc chauffant d'amorçage et de préchauffage **BD ProbeTec ET**, multipipette et source d'alimentation **BD ProbeTec ET**, trousse de traitement de l'urine **BD ProbeTec ET**, **BD ProbeTec Urine Preservative Transport Kit**, tubes échantillon, bouchons et embouts de pipette **BD ProbeTec ET**, trousse de prélèvement et de TRANSPORT À SEC d'échantillons endocervicaux **BD ProbeTec ET** pour le test de détection d'ADN amplifié de *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC), ou trousse de prélèvement d'échantillons endocervicaux **BD ProbeTec ET** pour le test de détection d'ADN amplifié de *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC), trousse de prélèvement et de TRANSPORT À SEC d'échantillons urétraux chez l'homme **BD ProbeTec ET** pour le test de détection d'ADN amplifié de *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC), ou trousse de prélèvement d'échantillons urétraux chez l'homme **BD ProbeTec ET** pour le test de détection d'ADN amplifié de *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC).

Matériaux requis mais non fournis : Centrifugeuse 2000 x g, agitateur à vortex, gants, pipettes de 1 mL, 2 mL et 4 mL, ELIMINase, DNA AWAY ou solution d'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v) avec Alconox*, récipient propre pouvant contenir le diluant aliquote, minuterie, papier absorbant, godets de prélèvement d'échantillons d'urine stériles.

*Mélanger 200 mL d'hypochlorite de sodium avec 800 mL d'eau tiède. Ajouter 7,5 g d'Alconox et mélanger. Préparer une nouvelle solution chaque jour.

Impératifs de manipulation et de conservation : Conserver les réactifs à une température comprise entre 2 et 33 °C. Les jeux de réactifs non entamés restent stables jusqu'à la date de péremption. Une fois qu'un sachet est ouvert, les micropuits restent stables pendant 4 semaines si le sachet est correctement refermé ou jusqu'à la date d'expiration, la première condition remplie prévalant. Ne pas congeler.

Avertissements et Précautions :

Réservé au diagnostic *in vitro*.

1. Ce jeu de réactifs est destiné à tester des prélèvements endocervicaux et urétraux chez l'homme, ainsi que des échantillons d'urine chez l'homme et la femme, avec le système **BD ProbeTec ET**.
2. Pour réaliser des écouvillonnages endocervicaux, seules la trousse de prélèvement et de TRANSPORT À SEC d'échantillons endocervicaux **BD ProbeTec ET** pour le test de détection d'ADN amplifié (CT/GC) de *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* et la trousse de prélèvement d'échantillons endocervicaux **BD ProbeTec ET** pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC ont été validées.
3. Pour réaliser des écouvillonnages urétraux chez l'homme, seules la trousse de prélèvement et de TRANSPORT À SEC d'échantillons urétraux chez l'homme **BD ProbeTec ET** pour le test de détection d'ADN amplifié (CT/GC) de *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* et la trousse de prélèvement d'échantillons urétraux chez l'homme **BD ProbeTec ET** pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC ont été validées.
4. Seules la trousse de traitement de l'urine **BD ProbeTec ET** (UPP), la trousse **BD ProbeTec Urine Preservative Transport** (UPT) et l'urine sans conservateurs (pure) ont été validées pour les échantillons d'urine.
5. La trousse **BD ProbeTec Urine Preservative Transport** (UPT) Kit contient du **NAP Guard** ($\geq 742,5$ mM K_2EDTA). **NAP Guard** peut être irritant pour les yeux, la peau et l'appareil respiratoire. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement l'œil ouvert à grande eau et consulter un médecin si les symptômes persistent. Après tout contact avec la peau, laver immédiatement à grande eau et au savon. En cas d'inhalation, consulter un médecin si des problèmes se développent.
6. Les laboratoires peuvent valider d'autres dispositifs de prélèvement et de transport d'écouvillons ou d'urine avec les tests **BD ProbeTec ET** CT/GC en suivant les procédures indiquées dans " Verification and Validation Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory ", Cumitech 31, B.L. Elder et al., American Society for Microbiology, Washington D.C., February, 1997.
7. Ne pas tester le tube de diluant CT/GC des trousse de prélèvement **BD ProbeTec ET** pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC s'il a été acheminé jusqu'au laboratoire sans l'écouvillon correspondant. Un faux-négatif pourrait être obtenu.
8. Utiliser exclusivement la multipipette **BD ProbeTec ET** et les embouts de pipette **BD ProbeTec ET** pour transférer les échantillons traités dans les micropuits d'amorçage et transférer les échantillons des micropuits d'amorçage aux micropuits d'amplification.
9. Ne pas échanger ou mélanger les réactifs de la trousse avec ceux de trousse portant des numéros de lot différents.
10. Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les « Précautions standard »¹¹⁻¹⁴ et les consignes en vigueur dans votre établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques.
11. Suivre les procédures de laboratoire homologuées pour éliminer les embouts de pipette usagés, les tubes échantillon, les micropuits d'amorçage et les autres consommables. Éliminer les consommables avec prudence. Fermer et éliminer les récipients à déchets lorsqu'ils sont pleins au 3/4 ou quotidiennement (la première condition remplie prévalant).

12. Le diluant **BD ProbeTec** ET (CT/GC) et le tube de diluant CT/GC contiennent du diméthyl sulfoxyde (DMSO). Le diméthylsulfoxyde est nocif par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Éviter le contact avec les yeux. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste. Éviter le contact avec la peau ; laver immédiatement et abondamment avec de l'eau.
13. Les sachets de réactifs contenant des micropuits d'amorçage et des micropuits d'amplification non utilisés DOIVENT être refermés soigneusement après ouverture. Vérifier la présence du dessiccant avant de refermer les sachets de réactifs.
14. La plaque contenant les micropuits d'amplification DOIT être convenablement scellée avec la bande d'étanchéité d'amplification avant de déplacer la plaque du bloc chauffant d'amorçage et de préchauffage **BD ProbeTec** ET jusqu'à l'instrument **BD ProbeTec** ET. La bande d'étanchéité garantit un milieu réactionnel clos pour l'amplification et la détection. Elle est indispensable pour éviter la contamination de l'instrument et de la paillasse par des produits d'amplification. **Ne retirer à aucun moment les bandes d'étanchéité placées sur les micropuits.**
15. Les micropuits d'amorçage contenant du liquide résiduel (après transfert du liquide des micropuits d'amorçage aux micropuits d'amplification) représentent une source de contamination cible. Sceller soigneusement les micropuits d'amorçage avec la bande d'étanchéité avant de les jeter.
16. Pour empêcher la contamination de la paillasse par des produits d'amplification, utiliser les sachets à déchets fournis avec les jeux de réactifs pour éliminer les micropuits d'amplification analysés. Vérifier que les sachets sont convenablement fermés avant de les éliminer.
17. Même s'il n'est pas nécessaire de disposer de postes de travail dédiés, car la conception de **BD ProbeTec** ET réduit la possibilité de contamination par le produit d'amplification dans l'environnement de travail, d'autres précautions s'imposent pour éviter la contamination, en particulier pour éviter la contamination des échantillons au cours du traitement.
18. En raison des risques d'obtention de faux-positifs avec certaines souches de *Neisseria* non gonocoques présentes dans les voies respiratoires (voir « Limites de la méthode », paragraphe 19), la contamination des réactifs et des échantillons par des aérosols respiratoires doit être évitée.
19. CHANGER DE GANTS après avoir ôté et éliminé les bouchons des échantillons et des témoins lysés pour éviter la contamination croisée des échantillons. Si les gants entrent en contact avec un échantillon ou semblent humides, en changer immédiatement pour éviter de contaminer d'autres échantillons. Changer de gants en arrivant à la paillasse et avant de la quitter.
20. En cas de contamination de la paillasse ou du matériel avec les échantillons ou les témoins, nettoyer complètement la zone contaminée avec ELIMINase, DNA AWAY ou une solution d'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v) contenant de l'Alconox et rincer soigneusement à l'eau. Laisser sécher complètement la surface avant de poursuivre.
21. En cas d'éclaboussure sur le portoir de lyse : le portoir peut être immergé dans ELIMINase, DNA AWAY ou une solution d'hypochlorite de sodium à 1% contenant de l'Alconox pendant 1 à 2 min. Ne pas dépasser 2 min. Rincer soigneusement le portoir avec de l'eau et laisser sécher à l'air.
22. Nettoyer entièrement la paillasse chaque jour – dessus du compteur et surface des instruments – avec ELIMINase, DNA AWAY ou une solution d'hypochlorite à 1% (v/v) contenant de l'Alconox. Rincer soigneusement à l'eau. Laisser sécher complètement les surfaces avant de poursuivre avec d'autres tests.
23. Contacter les services techniques en cas de situation inhabituelle, comme un déversement dans l'instrument **BD ProbeTec** ET ou une contamination par de l'ADN impossible à éliminer par nettoyage.

PRÉLÈVEMENT ET TRANSPORT DES ÉCHANTILLONS

Le système **BD ProbeTec** ET est conçu pour le dépistage de *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* à partir de prélèvements endocervicaux, de prélèvements urétraux chez l'homme et d'échantillons d'urine chez l'homme et la femme en utilisant la méthode de prélèvement appropriée.

Les seuls instruments ayant été validés pour effectuer les écouvillonnages à tester avec l'instrument **BD ProbeTec** ET sont :

- Trousse de prélèvement et de TRANSPORT À SEC d'échantillons endocervicaux **BD ProbeTec** ET pour le test de détection d'ADN amplifié de *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC)
- Trousse de prélèvement et de TRANSPORT À SEC d'échantillons urétraux chez l'homme **BD ProbeTec** ET pour le test de détection d'ADN amplifié de *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC)
- Trousse de prélèvement d'échantillons endocervicaux **BD ProbeTec** ET pour le test de détection d'ADN amplifié de *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC)
- Trousse de prélèvement d'échantillons urétraux chez l'homme **BD ProbeTec** ET pour le test de détection d'ADN amplifié de *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC)

Pour les envois nationaux et internationaux, étiqueter les échantillons conformément à la réglementation nationale ou internationale concernant le transport d'échantillons cliniques et d'agents étiologiques ou de produits infectieux. La température nécessaire à la conservation doit être maintenue en cours de transport et les délais respectés.

Recueillir impérativement les échantillons d'urine dans un godet à urine en plastique, stérile, exempt de conservateurs. Seules la trousse de traitement de l'urine **BD ProbeTec** ET (UPP), la trousse **BD ProbeTec** Urine Preservative Transport (UPT) et l'urine sans conservateurs (pure) ont été validées pour les échantillons d'urine.

Écouvillonnages

Prélèvement endocervical au moyen de la trousse de prélèvement et de TRANSPORT À SEC d'échantillons endocervicaux **BD ProbeTec ET pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC :**

1. Éliminer le mucus en excès au niveau de l'orifice cervical avec l'écouvillon de nettoyage à embout large fourni dans la trousse de prélèvement et de TRANSPORT À SEC d'échantillons endocervicaux **BD ProbeTec** ET pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC et jeter.
2. Introduire l'écouvillon de prélèvement et de TRANSPORT À SEC d'échantillons endocervicaux dans le canal cervical et le faire tourner pendant 15 à 30 s.
3. Retirer délicatement l'écouvillon. Éviter de toucher la muqueuse vaginale.
4. Placer immédiatement l'écouvillon dans le tube de transport et boucher celui-ci. S'assurer que le tube est bien bouché.
5. Reporter les informations relatives au patient, ainsi que la date et l'heure de prélèvement, sur l'étiquette du tube.

Prélèvement endocervical au moyen de la trousse de prélèvement d'échantillons endocervicaux BD ProbeTec ET pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC

- Sortir l'écouvillon de nettoyage de l'emballage.
- Éliminer le mucus en excès de l'orifice cervical à l'aide de l'écouvillon de nettoyage.
- Jeter** l'écouvillon de nettoyage usagé.
- Sortir l'écouvillon de prélèvement de l'emballage.
- Introduire l'écouvillon de prélèvement dans le canal cervical et le faire tourner pendant 15 à 30 s.
- Retirer délicatement l'écouvillon. Éviter de toucher la muqueuse vaginale.
- Déboucher le tube de diluant CT/GC.
- Introduire complètement l'écouvillon de prélèvement dans le tube de diluant CT/GC.
- Briser le corps de l'écouvillon au niveau de la marque de scorage. Prendre soin de ne pas éclabousser le contenu.
- Bien reboucher** le tube.
- Reporter les informations relatives au patient, ainsi que la date et l'heure de prélèvement, sur l'étiquette du tube.
- Acheminer jusqu'au laboratoire.

Prélèvement urétral chez l'homme au moyen de la trousse de prélèvement et de TRANSPORT À SEC d'échantillons urétraux chez l'homme BD ProbeTec ET pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC :

- Introduire de 2 à 4 cm l'écouvillon de prélèvement et de TRANSPORT À SEC d'échantillons urétraux chez l'homme dans l'urètre et le faire tourner pendant 3 à 5 s.
- Retirer l'écouvillon, le placer immédiatement dans le tube de transport et boucher celui-ci. S'assurer que le tube est bien bouché.
- Reporter les informations relatives au patient, ainsi que la date et l'heure de prélèvement, sur l'étiquette du tube.

Prélèvement urétral chez l'homme au moyen de la trousse de prélèvement d'échantillons urétraux chez l'homme BD ProbeTec ET pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC.

- Sortir l'écouvillon de l'emballage.
- Introduire de 2 à 4 cm l'écouvillon dans l'urètre et le faire tourner pendant 3 à 5 s.
- Retirer l'écouvillon.
- Déboucher le tube de diluant CT/GC.
- Introduire complètement l'écouvillon dans le tube de diluant CT/GC.
- Briser le corps de l'écouvillon au niveau de la marque de scorage. Prendre soin de ne pas éclabousser le contenu.
- Bien reboucher** le tube.
- Reporter les informations relatives au patient, ainsi que la date et l'heure de prélèvement, sur l'étiquette du tube.
- Acheminer jusqu'au laboratoire.

Conservation et transport des écouvillons

Conserver les prélèvements endocervicaux et urétraux (chez l'homme) à une température comprise entre 2 et 27 °C et les acheminer au laboratoire dans les 4 à 6 jours. Les études montrent que la conservation peut aller jusqu'à 4 jours avec un échantillon clinique et jusqu'à 6 jours avec un échantillon ensemencé. Se reporter aux « Caractéristiques de performances ».

REMARQUE : Si les échantillons ne peuvent pas être acheminés directement au laboratoire d'analyses à température ambiante (15 à 27 °C) et doivent être expédiés, employer un récipient isolé, rempli de glace, et faire appel à un service de livraison sous 48 h maximum.

Prélèvement, conservation et transport des échantillons d'urine

Recueillir l'échantillon d'urine dans un godet à urine stérile, exempt de conservateurs. Les échantillons d'urine peuvent être conservés et transportés de trois manières - (1) sans conservateurs (pure), (2) au moyen de la trousse BD ProbeTec Urine Preservative Transport (UPT) et (3) en utilisant la trousse de traitement de l'urine BD ProbeTec ET (UPP). Le tableau suivant résume les conditions de conservation et de transport pour l'urine pure, l'UPT et l'UPP.

Type de l'échantillon d'urine à traiter	PURE			UPT			UPP		
				Urine conservée de 2 à 30 °C - Transférer dans l'UPT dans les 8 heures suivant le prélèvement	Urine conservée de 2 à 8 °C - Transférer dans l'UPT dans les 24 heures suivant le prélèvement		UPP ajouté aux lieux du prélèvement de l'échantillon	UPP ajouté au laboratoire d'analyses	
Température pour le transport jusqu'au laboratoire d'analyses et la conservation	2 à 30 °C	2 à 8 °C	-20 °C	2 à 30 °C	2 à 30 °C	-20 °C	Transport jusqu'au lab de 2 à 8 °C	Transport jusqu'au lab de 15 à 27 °C	Transport jusqu'au lab de 2 à 8 °C
Traitement de l'échantillon conformément aux instructions	Dans les 30 heures suivant le prélèvement	Dans les 7 jours suivant le prélèvement	Dans les 2 mois suivant le prélèvement	Dans les 30 jours suivant le transfert dans l'UPT	Dans les 30 jours suivant le transfert dans l'UPT	Dans les 2 mois suivant le transfert dans l'UPT	Dans les 4 à 6 jours suivant le prélèvement	Dans les 2 jours suivant le prélèvement	Dans les 4 à 6 jours suivant le prélèvement

Urine sans conservateurs (pure)**Prélèvement**

1. Le patient ne devra pas avoir uriné dans l'heure qui précède le prélèvement de l'échantillon.
2. Recueillir l'échantillon dans un godet à urine stérile, exempt de conservateurs.
3. Le patient doit recueillir les premiers 15 à 60 mL d'urine (du premier jet d'urine et non des jets suivants) dans un godet à urine.
4. Boucher le godet à urine et inscrire sur son étiquette les informations relatives au patient ainsi que la date et l'heure de prélèvement.

Conservation et transport

1. Conserver et transporter l'urine pure du site de prélèvement jusqu'au laboratoire d'analyses à une température de 2 à 30 °C.
2. Le traitement de l'échantillon doit être achevé dans les 30 h suivant le prélèvement si l'échantillon est conservé à une température de 2 à 30 °C ou dans les 7 jours suivant le prélèvement s'il est conservé à une température de 2 à 8 °C.

REMARQUE : Expédier les échantillons dans un récipient isolé, rempli de glace, et faire appel à un service de livraison sous 48 h maximum. La conservation jusqu'à 7 jours à une température de 2 à 8 °C a été validée pour les échantillons ensemencés.

En utilisant la trousse BD ProbeTec Urine Preservative Transport Kit (UPT)**Prélèvement**

1. Le patient ne devra pas avoir uriné dans l'heure qui précède le prélèvement de l'échantillon.
2. Recueillir l'échantillon dans un godet à urine stérile, exempt de conservateurs.
3. Le patient doit recueillir les premiers 15 à 60 mL d'urine (du premier jet d'urine et non des jets suivants) dans un godet à urine.
4. Boucher le godet à urine et inscrire sur son étiquette les informations relatives au patient ainsi que la date et l'heure de prélèvement.

Transfert de l'urine dans l'UPT

REMARQUES : L'urine doit être transférée du godet à urine dans l'UPT dans les 8 h suivant le prélèvement, à condition qu'elle soit maintenue entre 2 et 30 °C. L'urine peut être conservée jusqu'à 24 h avant transfert à l'UPT, à condition qu'elle soit maintenue entre 2 et 8 °C.

Porter des gants propres pour manipuler l'UPT et l'échantillon d'urine. Si les gants entrent en contact avec l'échantillon, en changer immédiatement pour éviter de contaminer d'autres échantillons.

1. Une fois que le patient a recueilli son échantillon d'urine, étiqueter le godet à urine.
2. Ouvrir la trousse Urine Preservative Transport Kit et sortir l'UPT et la pipette de transfert. Inscrive sur l'UPT les informations relatives au patient, ainsi que la date et l'heure de prélèvement.
3. Tenir l'UPT en position verticale et tapoter fermement le fond du tube sur une surface plane afin de déloger les grosses gouttes éventuellement présentes à l'intérieur du bouchon. Répéter si nécessaire.
4. Déboucher l'UPT et utiliser la pipette de transfert pour transférer l'urine dans le tube. Le volume correct d'urine a été ajouté lorsque le niveau de liquide se situe entre les lignes noires de la fenêtre de remplissage située sur l'étiquette de l'UPT. Ce volume correspond à environ 2,5 à 3,45 mL d'urine. NE PAS remplir le tube de manière excessive ou insuffisante.
5. Jeter la pipette de transfert. **REMARQUE :** La pipette de transfert est destinée à être utilisée avec un seul échantillon.
6. Bien serrer le bouchon sur l'UPT.
7. Inverser 3 à 4 fois l'UPT pour assurer un mélange correct de l'échantillon et du réactif.

Conservation et transport de l'UPT

Conserver et transporter les échantillons d'urine dans l'UPT à une température comprise entre 2 et 30 °C et les traiter dans les 30 jours suivant le prélèvement. Les échantillons peuvent être conservés à -20 °C pendant au plus deux mois.

En utilisant la trousse de traitement de l'urine BD ProbeTec (UPP)

Le sachet de traitement de l'urine (UPP) peut être ajouté à l'issue du prélèvement ou au laboratoire d'analyses. Les instructions sont données pour chaque option.

Prélèvement de l'urine (UPP ajouté aux lieux du prélèvement)

1. Le patient ne devra pas avoir uriné dans l'heure qui précède le prélèvement de l'échantillon.
2. Recueillir l'échantillon dans un godet à urine stérile, exempt de conservateurs.
3. Le patient doit recueillir les premiers 15 à 20 mL d'urine (du premier jet d'urine et non des jets suivants) dans un godet à urine.
REMARQUE : Au cours de l'évaluation clinique, des volumes d'urine allant jusqu'à 60 mL ont été analysés pour estimer les performances du test.
4. Boucher le godet à urine et inscrire sur son étiquette les informations relatives au patient ainsi que la date et l'heure de prélèvement.

Conservation et transport de l'urine (ajout de l'UPP au laboratoire d'analyses) :

REMARQUE : Expédier les échantillons dans un récipient isolé, rempli de glace, et faire appel à un service de livraison sous 48 h maximum. Les études montrent que la conservation peut aller jusqu'à 4 jours avec un échantillon clinique et jusqu'à 6 jours avec un échantillon ensemencé. Se reporter aux « Caractéristiques de performances ».

1. Conserver et transporter les échantillons d'urine jusqu'au laboratoire d'analyses à une température comprise entre 2 et 8 °C, dans les 4 à 6 jours suivant le prélèvement.
2. Ajouter l'UPP au godet à urine. Porter des gants propres pour manipuler l'UPP et l'échantillon d'urine.
REMARQUE : Ne pas placer l'UPP sur une surface de travail. Revêtir un gant propre pour sortir l'UPP du sachet ou employer une pince stérile.
REMARQUE : Ajouter délicatement l'UPP pour éviter les éclaboussures.
3. Boucher le godet à urine et faire doucement tourner le liquide afin que l'UPP soit entièrement plongé dans l'urine.
4. L'UPP doit rester au contact de l'échantillon d'urine pendant une durée minimale de deux heures avant de procéder à l'analyse.

5. Ne pas congeler l'échantillon d'urine.

Prélèvement de l'urine (UPP ajouté aux lieux du prélèvement)

1. Le patient ne devra pas avoir uriné dans l'heure qui précède le prélèvement de l'échantillon.
2. Recueillir l'échantillon dans un godet à urine en plastique, stérile, exempt de conservateurs.
3. Le patient doit recueillir les premiers 15 à 20 mL d'urine (du premier jet d'urine et NON des jets suivants).
REMARQUE : Au cours de l'évaluation clinique, des volumes d'urine allant jusqu'à 60 mL ont été analysés pour estimer les performances du test.
4. Ajouter l'UPP au godet à urine immédiatement après le prélèvement. Porter des gants propres pour manipuler l'UPP et l'échantillon d'urine.
REMARQUE : Ne pas placer l'UPP sur une surface de travail. Revêtir un gant propre pour sortir l'UPP du sachet ou employer une pince stérile.
REMARQUE : Ajouter délicatement l'UPP pour éviter les éclaboussures.
5. Boucher le godet à urine et faire doucement tourner le liquide afin que l'UPP soit entièrement plongé dans l'urine. Reporter les informations relatives au patient, ainsi que la date et l'heure de prélèvement.

Conservation et transport de l'urine (UPP ajouté aux lieux du prélèvement)

REMARQUE : Si les échantillons ne peuvent pas être acheminés directement au laboratoire d'analyses à température ambiante (15 à 27 °C) et doivent être expédiés, employer un récipient isolé, rempli de glace, et faire appel à un service de livraison sous 48 h maximum. Les études montrent que la conservation peut aller jusqu'à 4 jours avec un échantillon clinique et jusqu'à 6 jours avec un échantillon ensemencé. Se reporter aux « Caractéristiques de performances ».

1. Conserver et transporter les échantillons d'urine contenant un UPP jusqu'au laboratoire d'analyses à une température comprise entre 2 et 8 °C, dans les 4 à 6 jours suivant le prélèvement, ou à une température comprise entre 15 et 27 °C dans les deux jours suivant le prélèvement.
2. Ne pas congeler l'échantillon d'urine.
3. L'UPP doit rester au contact de l'échantillon d'urine pendant une durée minimale de deux heures avant de procéder à l'analyse.

MODE OPÉRATEUR DU TEST

Consulter le manuel d'utilisation du système **BD ProbeTec ET** pour connaître les instructions détaillées de fonctionnement et de maintenance des éléments du système. Les conditions optimales de température et d'humidité relative pour le test de dépistage de CT/GC sont une température de 18 à 23 °C pour une humidité relative de 25 à 75 % et une température de 23 à 28 °C pour une humidité relative de 25 à 50 %. Il est déconseillé d'effectuer le test de dépistage de CT/GC à une température supérieure à 28 °C. Se reporter au Manuel d'utilisation de l'instrument **BD Viper** pour obtenir des instructions détaillées sur le fonctionnement de l'instrument. Se reporter à l'addenda de la notice du test **BD ProbeTec ET CT/GC** dans le Manuel d'utilisation de l'instrument **BD Viper** pour obtenir les modes opératoires de test spécifiques à l'instrument **BD Viper**.

A. Préparation de l'instrument :

1. Mettre les instruments sous tension et les laisser préchauffer avant de débiter le test.
 - a. Le préchauffage et la stabilisation de la température du bloc chauffant de lyse et du bloc chauffant d'amorçage et de préchauffage nécessitent environ 90 min.
Le point de consigne statique du bloc chauffant de lyse est de 114 °C.
Le point de consigne statique de l'élément d'amorçage du bloc chauffant d'amorçage et de préchauffage est de 72,5 °C.
Le point de consigne statique de l'élément de préchauffage du bloc chauffant d'amorçage et de préchauffage est de 54 °C.
 - b. L'instrument **BD ProbeTec ET** est commandé par ordinateur et nécessite environ 30 min de préchauffage.
2. Contrôler la température des blocs chauffants avant de débiter le test.
 - a. Bloc chauffant de lyse
Retirer le capot de plastique et laisser la température s'équilibrer pendant 15 min.
Le thermomètre doit indiquer une température comprise entre 112 et 116 °C.
 - b. Bloc chauffant d'amorçage et de préchauffage
Le thermomètre du bloc chauffant d'amorçage doit indiquer une température comprise entre 72 et 73 °C.
Le thermomètre du bloc de préchauffage doit indiquer une température comprise entre 53,5 et 54,5 °C.
3. Contrôler la température affichée sur l'écran du **BD ProbeTec ET**. La température indiquée doit être comprise entre 47,5 et 55,0 °C.

B. Multipipette :

Consulter le manuel d'utilisation du système **BD ProbeTec ET** pour plus d'informations sur les fonctions du clavier de la multipipette **BD ProbeTec ET**.

Les programmes suivants sont nécessaires pour réaliser les tests de dépistage de CT/GC. Le programme 2 est utilisé avec le jeu de réactifs CT/GC. Il transfère le liquide des échantillons traités vers les micropuits d'amorçage CT/GC. Le programme 3 est utilisé avec le jeu de réactifs CT/GC/TA. Il transfère le liquide des échantillons traités vers les micropuits d'amorçage CT/GC et TA. Le programme 5 transfère le liquide des micropuits d'amorçage aux micropuits d'amplification.

Programmer la multipipette comme suit :

Programme 2 :

1. Mettre la multipipette sous tension (ON). La multipipette émet un bip, fait clignoter « ZERO », puis le numéro de version du logiciel et émet de nouveau un bip.
2. Appuyer sur la touche « Prog » (Programme). Pour sélectionner le programme 2, appuyer sur la touche « Vol » (Volume) jusqu'à ce que le chiffre « 2 » s'affiche. Appuyer sur « Enter ».
3. Pour entrer dans le mode de programmation, maintenir enfoncée la touche « Prog ». Tout en gardant la touche « Prog » enfoncée, appuyer sur la touche de fonction spéciale avec un embout de pipette ou l'extrémité d'un trombone.
4. Appuyer sur « Fill » (Remplir). Appuyer sur la flèche dirigée vers le haut jusqu'à ce que **400** s'affiche. Appuyer sur « Enter ».
5. Appuyer sur « Disp » (Distribuer). Appuyer sur la flèche dirigée vers le haut jusqu'à ce que **150** s'affiche. Appuyer sur « Enter ».
6. Appuyer sur « Disp » (Distribuer). Appuyer sur la flèche dirigée vers le haut jusqu'à ce que **150** s'affiche. Appuyer sur « Enter ».

7. Appuyer une seconde fois sur « Enter » pour enregistrer le programme et quitter. Un bip doit retentir pour indiquer que la programmation est terminée.
8. Vérifier le programme en appuyant sur la gâchette de pipetage pour progresser à travers chaque étape. À chaque étape, définir la vitesse d'aspiration/ de distribution à l'aide de la touche « Vol ». L'indicateur de vitesse apparaît à chaque étape. Utiliser la touche « Vol » pour ajuster l'indicateur de vitesse afin de faire apparaître 2 segments aux étapes « Fill » et « Disp ».

Programme 3 :

1. Mettre la multipipette sous tension (ON). La multipipette émet un bip, fait clignoter « ZERO », puis le numéro de version du logiciel et émet de nouveau un bip.
2. Appuyer sur la touche « Prog » (Programme). Pour sélectionner le programme 3, appuyer sur la touche « Vol » (Volume) jusqu'à ce que le chiffre « 3 » s'affiche. Appuyer sur « Enter ».
3. Pour entrer dans le mode de programmation, maintenir enfoncée la touche « Prog ». Tout en gardant la touche « Prog » enfoncée, appuyer sur la touche de fonction spéciale avec un embout de pipette ou l'extrémité d'un trombone.
4. Appuyer sur « Fill » (Remplir). Appuyer sur la flèche dirigée vers le haut jusqu'à ce que **600** s'affiche. Appuyer sur « Enter ».
5. Appuyer sur « Disp » (Distribuer). Appuyer sur la flèche dirigée vers le haut jusqu'à ce que **150** s'affiche. Appuyer sur « Enter ».
6. Appuyer sur « Disp » (Distribuer). Appuyer sur la flèche dirigée vers le haut jusqu'à ce que **150** s'affiche. Appuyer sur « Enter ».
7. Appuyer sur « Disp » (Distribuer). Appuyer sur la flèche dirigée vers le haut jusqu'à ce que **150** s'affiche. Appuyer sur « Enter ».
8. Appuyer une seconde fois sur « Enter » pour enregistrer le programme et quitter. Un bip doit retentir pour indiquer que la programmation est terminée.
9. Vérifier le programme en appuyant sur la gâchette de pipetage pour progresser à travers chaque étape. À chaque étape, définir la vitesse d'aspiration/ de distribution à l'aide de la touche « Vol ». L'indicateur de vitesse apparaît à chaque étape. Utiliser la touche « Vol » pour ajuster l'indicateur de vitesse afin de faire apparaître 2 segments aux étapes « Fill » et « Disp ».

Programme 5 :

1. Appuyer sur la touche « Prog ». Pour sélectionner le programme 5, appuyer sur la touche « Vol » jusqu'à ce que le chiffre « 5 » s'affiche. Appuyer sur « Enter ».
2. Pour entrer dans le mode de programmation, maintenir enfoncée la touche « Prog ». Tout en gardant la touche « Prog » enfoncée, appuyer sur la touche de fonction spéciale avec un embout de pipette ou l'extrémité d'un trombone.
3. Appuyer sur « Fill » (Remplir). Appuyer sur la flèche dirigée vers le haut jusqu'à ce que **100** s'affiche. Appuyer sur « Enter ».
4. Appuyer sur « Disp » (Distribuer). Appuyer sur la flèche dirigée vers le haut jusqu'à ce que **100** s'affiche. Appuyer sur « Enter ».
5. Appuyer sur « Mix » (Mélanger). Appuyer sur la flèche dirigée vers le haut jusqu'à ce que **50** s'affiche. Appuyer sur « Enter ».
6. Appuyer une seconde fois sur « Enter » pour enregistrer le programme et quitter. Un bip doit retentir pour indiquer que la programmation est terminée.
7. Vérifier le programme en appuyant sur la gâchette de pipetage pour progresser à travers chaque étape. À chaque étape, définir la vitesse d'aspiration/distribution/mélange à l'aide de la touche « Vol ». L'indicateur de vitesse apparaît à chaque étape. Utiliser la touche « Vol » pour ajuster l'indicateur de vitesse afin de faire apparaître 2 segments pour les fonctions d'aspiration et de distribution. Utiliser la touche « Vol » pour ajuster la vitesse de mélange afin de faire apparaître 3 segments.

Contrôle des programmes

Contrôler les programmes avant de lancer la procédure. Pour contrôler, mettre la multipipette sous tension (ON). Appuyer sur la touche « Prog » (Programme) bleue. Appuyer sur la touche « Vol » (Volume) jusqu'à ce que le numéro de programme approprié (2, 3 ou 5) s'affiche. Appuyer sur la touche « Enter ». Utiliser la gâchette de pipetage pour progresser à travers les étapes du programme.

Programme 2 : Ce programme aspire 400 µL, distribue 150 µL dans le micropuit CT et distribue 150 µL dans le micropuit GC. L'écran de la multipipette doit indiquer :

Fill 400 µL - S ■■

Dispense 150 µL - S ■■

Dispense 150 µL - S ■■

Programme 3 : Ce programme aspire 600 µL, distribue 150 µL dans le micropuit CT, distribue 150 µL dans le micropuit GC et distribue 150 µL dans le micropuit du TA. L'écran de la multipipette doit indiquer :

Fill 600 µL - S ■■

Dispense 150 µL - S ■■

Dispense 150 µL - S ■■

Dispense 150 µL - S ■■

Contrôler le programme 5 de la même façon :

Programme 5 : Ce programme aspire 100 µL, distribue 100 µL et mélange 50 µL trois fois. L'écran de la multipipette doit indiquer :

Fill 100 µL - S ■■

Dispense 100 µL - S ■■

Mix 50 µL - S ■■■

Zero (clignote)

C. Configuration de plaque :

Le rapport de configuration de la plaque est créé par l'instrument **BD ProbeTec ET** une fois que le type de test, l'identification de l'échantillon, les numéros de lots de témoins et les numéros de lots de trousses ont été entrés dans le système. Le rapport de configuration indique la disposition physique des échantillons et des témoins pour chaque plaque à tester. Le logiciel système groupe des emplacements de plaque adjacentes pour les micropuits nécessaires pour un test donné. Pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC, les colonnes sont attribuées comme suit : CT/GC. Pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC/TA, les colonnes sont attribuées comme suit : CT/GC/TA. Cette orientation est utilisée à la fois pour la plaque d'amorçage et la plaque d'amplification.

Les **micropuits d'amorçage** sont les barrettes de micropuits colorés **unis** (CT – vert uni ; GC – jaune uni ; TA – noir uni, le cas échéant).

Les micropuits d'amplification sont les barrettes de micropuits colorés striés (CT – vert strié ; GC – jaune strié ; TA – noir strié, le cas échéant).

D. Traitement des écouvillonnages :

Traiter les écouvillonnages dans les 4 à 6 jours suivant le prélèvement s'ils sont conservés à une température comprise entre 2 et 27 °C.

REMARQUE : Laisser les écouvillons et les tubes de diluant CT/GC s'équilibrer à température ambiante avant l'emploi.

Procédure de traitement des écouvillonnages réalisés avec la trousse de prélèvement et de TRANSPORT À SEC d'échantillons endocervicaux BD ProbeTec ET pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC ou la trousse de prélèvement et de TRANSPORT À SEC d'échantillons urétraux chez l'homme BD ProbeTec ET pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC :

1. Étiqueter un tube de diluant CT/GC pour chaque écouvillonnage à traiter.
2. Déboucher le tube et introduire l'écouvillon. Mélanger en faisant tourner l'écouvillon dans le diluant pendant 5 à 10 s.
3. Presser l'écouvillon contre la paroi interne du tube pour faire retomber le liquide au fond du tube.
4. Sortir délicatement l'écouvillon pour éviter les éclaboussures.

REMARQUE : Les gouttelettes peuvent contaminer la paillasse.

5. Replacer l'écouvillon dans le tube de transport et jeter l'ensemble.
6. Bien reboucher le tube de diluant CT/GC.
7. Vortexer le tube pendant 5 s.
8. En suivant le rapport de configuration de la plaque, placer le tube à l'endroit indiqué dans le portoir de lyse.
9. Répéter les étapes 1 à 8 pour les autres écouvillonnages.
10. Immobiliser les échantillons dans le portoir de lyse.
11. Les échantillons sont prêts à être lysés.

REMARQUE : Si un mélangeur à vortex multitube est disponible, passer l'étape 7 et vortexer le portoir entier pendant 15 à 20 s après l'étape 10, avant de procéder à la lyse.

REMARQUE : Les échantillons traités non encore lysés peuvent être conservés à température ambiante pendant 6 h au maximum, ou une nuit entre 2 et 8 °C.

Procédure de traitement des écouvillonnages réalisés avec la trousse de prélèvement d'échantillons endocervicaux BD ProbeTec ET pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC ou la trousse de prélèvement d'échantillons urétraux chez l'homme BD ProbeTec ET pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC :

1. Vortexer le tube de diluant CT/GC pendant 5 s.
- REMARQUE :** Si un mélangeur à vortex multitube est disponible, effectuer les étapes 2 et 3, puis vortexer le portoir de lyse entier pendant 15 à 20 s et passer à l'étape 4.
2. En suivant le rapport de configuration de la plaque, placer les tubes échantillon et témoin dans l'ordre dans le portoir de lyse.
 3. Immobiliser les échantillons dans le portoir de lyse.
 4. Les échantillons sont prêts à être lysés.

REMARQUE : Les échantillons traités non encore lysés peuvent être conservés à température ambiante pendant 6 h au maximum ou une nuit entre 2 et 8 °C.

E. Traitement de l'urine :

Procédure de traitement des échantillons d'urine sans conservateurs (pure)

Les échantillons d'urine pure doivent être traités dans les 30 h suivant le prélèvement s'ils sont conservés entre 2 et 30 °C, dans les 7 jours suivant le prélèvement s'ils sont conservés entre 2 et 8 °C et dans les deux mois suivant le prélèvement s'ils sont conservés à -20 °C.

REMARQUES :

Laisser le diluant **BD ProbeTec ET** (CT/GC) s'équilibrer à température ambiante avant l'emploi.

Aliqueter la quantité de diluant **BD ProbeTec ET** (CT/GC) nécessaire dans un récipient propre. Pour estimer la quantité nécessaire, multiplier le nombre d'échantillons par 2 et rajouter encore 1 à 2 mL pour faciliter le pipetage. **Pour éviter la contamination du diluant, ne pas reverser le diluant résiduel dans le flacon.**

1. Étiqueter un tube échantillon **BD ProbeTec ET** pour chaque échantillon d'urine à analyser.
 2. Faire tourner le récipient pour mélanger l'urine et ouvrir avec précaution.
- REMARQUE :** Ouvrir avec précaution pour éviter les éclaboussures ou les gouttelettes, sources de contamination de la paillasse.
- REMARQUE :** Les échantillons d'urine congelés doivent être complètement dégelés et mélangés avant leur transfert dans le tube échantillon.
3. Pipeter 4,0 mL d'urine dans le tube approprié et bien reboucher le tube.
 4. Répéter les étapes 2 à 3 pour les autres échantillons d'urine pure. Changer de pipette ou d'embout de pipette entre chaque échantillon.
 5. Introduire les tubes échantillons dans le portoir de lyse **BD ProbeTec ET**.
 6. Insérer le portoir de lyse dans le bloc chauffant de lyse afin de préchauffer les échantillons.
 7. Faire chauffer les échantillons pendant 10 min.
 8. Au bout de 10 min, retirer le portoir de lyse du bloc chauffant de lyse et laisser les tubes refroidir à température ambiante pendant au moins 15 min, ou un maximum de 6 h.
- REMARQUE :** Ne pas réfrigérer ni congeler les tubes après les 10 min de préchauffage.
9. Centrifuger les tubes à 2000 x g pendant 30 min.
 10. À la fin de la centrifugation, sortir avec précaution les tubes de la centrifugeuse.
 11. Déboucher le premier tube et éliminer délicatement le surnageant. Terminer cette opération d'un léger revers du poignet pour éliminer le liquide résiduel dans le tube.

REMARQUE : Cette étape est déterminante - un excès d'urine résiduelle peut entraîner une inhibition. Si nécessaire, sécher individuellement les tubes sur du papier absorbant pour éliminer l'urine résiduelle, en prenant soin de changer de papier entre chaque tube.

12. Boucher le tube sans enfoncer le bouchon.
13. Répéter les étapes 11 à 12 pour chaque échantillon d'urine centrifugé.
14. Pipeter 2,0 mL de diluant dans chaque tube. Changer de pipette ou d'embout de pipette entre chaque tube.
15. Bien reboucher les tubes échantillon et vortexer pendant 5 s pour remettre en suspension complètement le culot dans le diluant.
16. Les échantillons sont prêts à être lysés.

REMARQUE : Les échantillons traités non encore lysés peuvent être conservés à température ambiante pendant 6 h au maximum, ou une nuit entre 2 et 8 °C.

Procédure de traitement des échantillons d'urine prélevés au moyen de la trousse BD ProbeTec Urine Preservative Transport Kit (UPT)

REMARQUES :

Les échantillons UPT peuvent être conservés de 2 à 30 °C et traités dans les 30 jours suivants le prélèvement ou congelés à -20 °C et traités dans les 2 mois suivant le prélèvement.

Laisser le diluant **BD ProbeTec ET (CT/GC)** s'équilibrer à température ambiante avant de l'utiliser.

Aliquoter la quantité de diluant **BD ProbeTec ET (CT/GC)** nécessaire dans un récipient propre. Pour estimer la quantité nécessaire, multiplier le nombre d'échantillons par 2 et rajouter encore 1 à 2 mL pour faciliter le pipetage. **Pour éviter la contamination du diluant, ne pas verser le diluant résiduel dans le flacon.**

S'assurer que le volume d'urine dans chaque tube est compris entre les lignes marquées sur l'étiquette du tube. Un volume excessif ou insuffisant peut affecter la performance du test.

1. Introduire les tubes UPT dans le portoir de lyse **BD ProbeTec ET**.

REMARQUE : Si les échantillons étaient congelés, s'assurer qu'ils sont complètement dégelés et les mélanger par inversion avant de les préchauffer.
2. Insérer le portoir de lyse dans le bloc chauffant de lyse afin de préchauffer les échantillons.
3. Faire chauffer les échantillons pendant 10 min.
4. Au bout de 10 min, retirer le portoir de lyse du bloc chauffant de lyse et laisser les tubes refroidir à température ambiante pendant au moins 15 min, ou un maximum de 6 h.

REMARQUE : Ne pas réfrigérer ni congeler les tubes après les 10 minutes de préchauffage.
5. Centrifuger les tubes à 2000 x g pendant 30 min.
6. À la fin de la centrifugation, sortir avec précaution les tubes de la centrifugeuse.
7. Déboucher le premier tube UPT et éliminer avec précaution le surnageant. Terminer cette opération d'un léger revers du poignet afin d'éliminer le liquide résiduel du tube et sécher le tube sur une feuille de papier absorbant, en prenant soin de changer de feuille de papier entre chaque tube.
8. Boucher le tube sans enfoncer le bouchon.
9. Répéter les étapes 7 à 8 pour chaque échantillon d'urine centrifugé.
10. Pipeter 2,0 mL de diluant dans chaque tube. Changer de pipette ou d'embout de pipette entre chaque tube.
11. Bien reboucher les tubes UPT et vortexer pendant 5 s pour remettre en suspension complètement le culot dans le diluant.
12. Les échantillons sont prêts à être lysés.

REMARQUE : Les échantillons traités non encore lysés peuvent être conservés à température ambiante pendant 6 h au maximum, ou une nuit entre 2 et 8 °C.

Procédure de traitement pour les échantillons prélevés avec la trousse de traitement d'urine BD ProbeTec ET (UPP)

Les échantillons d'urine doivent être traités dans les 4 à 6 jours suivant le prélèvement s'ils sont conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C (UPP ajouté à l'issue du prélèvement ou au laboratoire d'analyses) ou dans les jours suivant le prélèvement s'ils sont conservés à une température comprise entre 15 et 27 °C (UPP ajouté à l'issue du prélèvement).

REMARQUES :

Laisser le diluant **BD ProbeTec ET (CT/GC)** s'équilibrer à température ambiante avant l'emploi.

L'urine doit rester au contact de l'UPP pendant une durée minimale de deux heures avant de procéder à l'analyse.

Aliquoter la quantité de diluant **BD ProbeTec ET (CT/GC)** nécessaire dans un récipient propre. Pour estimer la quantité nécessaire, multiplier le nombre d'échantillons par 2 et rajouter 1 à 2 mL pour faciliter le pipetage. **Pour éviter la contamination du diluant – Ne pas verser le diluant résiduel dans le flacon.**

1. Étiqueter un tube échantillon **BD ProbeTec ET** pour chaque échantillon d'urine à analyser.
2. Faire tourner le récipient pour mélanger l'urine et ouvrir avec précaution.

REMARQUE : Ouvrir avec précaution pour éviter les éclaboussures ou les gouttelettes, sources de contamination de la paille.
3. Pipeter 4,0 mL d'urine dans le tube approprié et bien reboucher le tube.
4. Répéter les étapes 2 à 3 pour les autres échantillons. Changer de pipette ou de embout de pipette entre chaque échantillon.
5. Centrifuger les tubes à 2000 x g pendant 30 min.
6. À la fin de la centrifugation, sortir avec précaution les tubes de la centrifugeuse.
7. Déboucher le premier tube et éliminer délicatement le surnageant. Terminer cette opération d'un léger revers du poignet pour éliminer le liquide résiduel dans le tube.

REMARQUE : Cette étape est déterminante – un excès d'urine résiduelle peut entraîner une inhibition. Si nécessaire, renverser individuellement les tubes sur du papier absorbant pour éliminer l'urine résiduelle, en prenant soin de changer de papier entre chaque tube.

8. Boucher le tube sans enfoncer le bouchon.
9. Répéter les étapes 7 à 8 pour chaque échantillon d'urine centrifugé.
10. Pipeter 2,0 mL de diluant dans chaque tube. Changer de pipette ou de embout de pipette entre chaque tube.
11. Bien reboucher les tubes échantillon et vortexer pendant 5 s pour remettre en suspension complètement le culot dans le diluant.
12. Les échantillons sont prêts à être lysés.

REMARQUE : Les échantillons traités non encore lysés peuvent être conservés à température ambiante pendant 6 h au maximum, ou une nuit entre 2 et 8 °C.

F. Préparation du contrôle de qualité :

REMARQUE : Laisser le diluant et les témoins **BD ProbeTec ET (CT/GC)** s'équilibrer à température ambiante avant l'emploi.

1. Pour chaque série (plaque) à tester, préparer un tube témoin négatif CT/GC et un tube témoin positif CT/GC. Si une plaque contient plus d'un numéro de lot de jeu de réactifs, tester les témoins avec chaque lot.
2. Déboucher le tube témoin négatif CT/GC. Changer de pipette ou de embout de pipette, puis ajouter 2,0 mL de diluant.
3. Reboucher le tube et vortexer pendant 5 s.
4. Déboucher le tube témoin positif CT/GC. Changer de pipette ou de embout de pipette, puis ajouter 2,0 mL de diluant.
5. Reboucher le tube et vortexer pendant 5 s.
6. Les témoins sont prêts à être lysés.

G. Lysér les échantillons et les témoins

1. Introduire le portoir de lyse dans le bloc chauffant de lyse.
2. Faire chauffer les échantillons pendant 30 min.
3. Au bout de 30 min, sortir le portoir de lyse du bloc chauffant de lyse et le laisser refroidir à température ambiante pendant au moins 15 min.

REMARQUE : Après avoir lysé les échantillons.

- a. Les échantillons peuvent être conservés jusqu'à 6 h à une température comprise entre 18 et 30 °C et testés sans devoir être lysés de nouveau.
- b. Les échantillons peuvent être conservés jusqu'à 5 jours à une température comprise entre 2 et 8 °C. Dans ce cas, ils doivent être vortexés et lysés de nouveau avant de procéder au test.
- c. Les échantillons peuvent être conservés jusqu'à 98 jours à une température de -20 °C. Dans ce cas, ils doivent être décongelés à température ambiante, vortexés et lysés de nouveau avant de procéder au test. Les échantillons lysés peuvent être congelés et décongelés deux fois.

H.1 Mode opératoire du test pour le jeu de réactifs CT/GC

REMARQUE : Laisser les micropuits d'amorçage et d'amplification s'équilibrer à température ambiante avant l'emploi.

1. Pour les écouvillonnages réalisés avec la trousse de prélèvement et de TRANSPORT À SEC d'échantillons endocervicaux **BD ProbeTec ET** pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC ou la trousse de prélèvement et de TRANSPORT À SEC d'échantillons urétraux chez l'homme **BD ProbeTec ET** pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC, déboucher les tubes d'échantillons et de témoins lysés et refroidis et jeter les bouchons.
2. Pour les écouvillonnages réalisés avec la trousse de prélèvement d'échantillons endocervicaux **BD ProbeTec ET** pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC ou la trousse de prélèvement d'échantillons urétraux chez l'homme **BD ProbeTec ET** pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC, procéder comme suit :
 - a. Déboucher le tube et presser délicatement l'écouvillon contre la paroi interne du tube pour éliminer le liquide en excès.
 - b. Déboucher le tube et sortir l'écouvillon. Ne pas presser contre la paroi du tube pour éviter les éclaboussures, qui pourraient engendrer une contamination croisée.
 - c. Jeter le bouchon et l'écouvillon.
3. Pour les échantillons d'urine traités, déboucher le tube et jeter le bouchon.
4. **Changer de gants** avant de poursuivre pour éviter la contamination.
5. En suivant le rapport de configuration de la plaque, préparer la plaque de lyse. **Les micropuits d'amorçage doivent être placés dans la plaque dans l'ordre suivant :** CT (micropuits vert uni) puis GC (micropuits jaune uni). Renouveler l'opération pour arranger la plaque conformément au rapport de configuration correspondant.
6. Procéder comme suit pour refermer les sachets de micropuits.
 - a. Placer le sachet sur une surface plane. D'une main, maintenir à plat le côté ouvert.
 - b. En appliquant une pression, faire glisser les doigts à l'extérieur de la fermeture, en allant d'un bord à l'autre du sachet.
 - c. Vérifier que le sachet est fermé.
7. Sélectionner le **Programme 2** sur la multipipette **BD ProbeTec ET**.
8. Prélever des embouts de pipette. Développer la multipipette en tirant le bouton de développement sur toute sa longueur.

REMARQUE : Vérifier que les cônes sont bien en place sur la multipipette pour éviter les fuites.
9. Aspirer 400 µL dans la première colonne d'échantillons.
10. Replier doucement la multipipette, appliquer les embouts de pipette contre les parois des micropuits et distribuer 150 µL dans chacune des deux colonnes de micropuits d'amorçage correspondantes (1 A-H ; 2 A-H).

REMARQUE : Ne pas replier la multipipette au-dessus des échantillons ou des micropuits pour ne pas risquer d'entraîner une contamination. Des mouvements brusques peuvent former des gouttelettes ou des aérosols.

REMARQUE : Il est important de distribuer les liquides contre la paroi interne des micropuits pour garantir l'exactitude et la précision et pour éviter une contamination croisée.
11. Jeter les embouts de pipette. Relâcher la gâchette de pipetage pour réinitialiser la multipipette.

Remarque : Jeter les embouts de pipette avec précaution pour éviter la formation de gouttelettes ou d'aérosols susceptibles de contaminer la paillasse.

12. Prélever de nouveaux embouts de pipette et aspirer 400 µL dans la 2^{ème} colonne d'échantillons.
13. Replier doucement la multipipette, appliquer les embouts de pipette contre les parois des micropuits et distribuer 150 µL dans chacune des deux colonnes de micropuits d'amorçage correspondantes (3 A-H ; 4 A-H).
14. Jeter les embouts de pipette.
15. Poursuivre le transfert des autres échantillons de la série.
16. Couvrir la plaque de micropuits d'amorçage avec le couvercle d'amorçage et laisser incuber la plaque à température ambiante pendant au moins 20 min (jusqu'à 6 h d'incubation).
REMARQUE : Reboucher les échantillons traités avec de nouveaux bouchons pour préserver les tubes échantillon.
17. À l'issue de l'incubation d'amorçage, préparer la plaque d'amplification. Arranger les micropuits d'amplification dans la plaque conformément au rapport de configuration de la plaque (identique à la plaque d'amorçage). Refermer les sachets de micropuits comme expliqué à l'étape 4.
18. Retirer le couvercle de la plaque de micropuits d'amorçage et placer celle-ci dans le bloc chauffant d'amorçage. Placer **IMMÉDIATEMENT** la plaque de micropuits d'amplification dans le bloc chauffant de préchauffage.
19. Régler la minuterie à 10 min. (**REMARQUE :** Cette étape est déterminante).
20. À l'issue des 10 min (+/- 1 min) d'incubation, sélectionner le **Programme 5** de la multipipette.
21. Prélever des embouts de pipette et transférer 100 µL de la colonne 1 de la plaque de micropuits d'amorçage à la colonne 1 de la plaque de micropuits d'amplification. Appliquer l'extrémité des embouts de pipette contre la paroi des micropuits et distribuer le liquide. Laisser ensuite la multipipette mélanger automatiquement le liquide présent dans les micropuits. Soulever délicatement la multipipette et l'écartier de la plaque. Ne pas toucher les autres micropuits.
22. Jeter les embouts de pipette. Prélever de nouveaux embouts de pipette pour transférer le mélange réactionnel des micropuits d'amorçage aux micropuits d'amplification, colonne par colonne, en changeant de cônes entre chaque colonne.
23. Lorsque la dernière colonne a été transférée, retirer la face protectrice d'une bande d'étanchéité d'amplification (retirer la moitié de la face protectrice s'il y a moins de 7 colonnes de micropuits ; retirer la face protectrice en totalité s'il y a 7 colonnes de micropuits ou plus). Tenir la bande d'étanchéité par les bords et la centrer sur la plaque. Utiliser les guides présents sur le bloc chauffant de préchauffage pour faciliter le centrage de la bande d'étanchéité. La bande d'étanchéité devra couvrir complètement les micropuits en dépassant aux extrémités de la plaque. Appuyer sur la bande pour assurer l'étanchéité des micropuits.
24. À l'interface utilisateur **BD ProbeTec ET**, faire sortir la platine et ouvrir les portes. Transférer **IMMÉDIATEMENT** (dans les 30 s) la plaque de micropuits d'amplification scellée dans l'instrument **BD ProbeTec ET** et lancer le test (consulter le manuel d'utilisation du système **BD ProbeTec ET** pour plus d'informations).
25. Après avoir lancé le test, accomplir les étapes de la procédure de nettoyage qui suivent :
 - a. Sceller les micropuits d'amorçage avec une bande d'étanchéité d'amplification et sortir la plaque du bloc chauffant d'amorçage et de préchauffage.
AVERTISSEMENT : Température supérieure à 70 °C. Utiliser le gant antichaleur pour sortir la plaque.
 - b. Laisser refroidir la plaque sur la paillasse pendant 5 min.
 - c. Sortir les micropuits d'amorçage scellés de la plaque en saisissant la bande d'étanchéité par le haut et le bas, puis en soulevant verticalement les micropuits ensemble. Placer les micropuits dans un sac à déchets et fermer le sac.
 - d. Nettoyer la plaque métallique :
Rincer la plaque avec ELIMINase, DNA AWAY ou une solution d'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v) contenant de l'Alconox.
Rincer la plaque à l'eau.
Entourer la plaque d'une serviette en papier propre et laisser sécher complètement avant de réutiliser.
26. Lorsque la série est terminée, les résultats des tests s'impriment.
27. Faire sortir la platine, ouvrir la porte et retirer la plaque. Refermer la porte et replacer la platine à l'intérieur de l'instrument.
28. Sortir les micropuits d'amplification scellés de la plaque. **MISE EN GARDE : Ne pas retirer la bande d'étanchéité apposée sur les micropuits.** Les micropuits scellés peuvent aisément être sortis ensemble de la plaque en saisissant la bande d'étanchéité par le haut et le bas, puis en soulevant l'ensemble verticalement hors de la plaque. Placer les micropuits scellés dans un sac à déchets. Fermer le sac.
29. Nettoyer la plaque métallique :
Rincer la plaque avec ELIMINase, DNA AWAY ou une solution d'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v) contenant de l'Alconox.
Rincer la plaque à l'eau.
Entourer la plaque d'une serviette en papier propre et laisser sécher complètement avant de réutiliser.
30. À l'issue de la dernière série, accomplir les procédures de nettoyage suivantes :
 - a. Imbiber des serviettes en papier ou des compresses avec ELIMINase, DNA AWAY ou une solution d'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v) contenant de l'Alconox et frotter la paillasse et les surfaces externes du bloc chauffant de lyse, du bloc chauffant d'amorçage et de préchauffage et de l'instrument **BD ProbeTec ET**. Laisser la solution au contact des surfaces pendant 2 à 3 min. Imbiber des serviettes en papier ou des compresses avec de l'eau et rincer la solution de nettoyage. Changer fréquemment de serviette ou de compresse pour appliquer la solution de nettoyage et rincer à l'eau. Humidifier des serviettes en papier ou des compresses avec ELIMINase, DNA AWAY ou une solution d'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v) contenant de l'Alconox et essuyer la poignée de la multipipette (**UNIQUEMENT LA POIGNÉE**). Après 2 à 3 min, essuyer la poignée avec des serviettes en papier ou des compresses humidifiées avec de l'eau.
 - b. Immerger le portoir de lyse ainsi que le socle, le capot et les plaques du portoir de lyse dans ELIMINase, DNA AWAY ou une solution d'hypochlorite de sodium à 1 % pendant 1 à 2 min. Rincer soigneusement à l'eau et laisser sécher à l'air.
 - c. Recharger la multipipette.
 - d. Éliminer le sac à déchets scellé et le sac à risque biologique conformément aux procédures d'élimination des déchets contaminés présentant un risque biologique homologués.

H.2. Mode opératoire du test pour le jeu de réactifs CT/GC/TA

REMARQUE : Laisser les micropuits d'amorçage et d'amplification s'équilibrer à température ambiante avant l'emploi.

1. Pour les écouvillonnages réalisés avec la trousse de prélèvement et de TRANSPORT À SEC d'échantillons endocervicaux **BD ProbeTec ET** pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC ou la trousse de prélèvement et de TRANSPORT À SEC

- d'échantillons urétraux chez l'homme **BD ProbeTec ET** pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC, déboucher les tubes d'échantillons et de témoins lysés et refroidis et jeter les bouchons.
2. Pour les écouvillonnages réalisés avec la trousse de prélèvement d'échantillons endocervicaux **BD ProbeTec ET** pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC ou la trousse de prélèvement d'échantillons urétraux chez l'homme **BD ProbeTec ET** pour le test de détection d'ADN amplifié CT/GC, procéder comme suit :
 - a. Déboucher le tube et presser délicatement l'écouvillon contre la paroi interne du tube pour éliminer le liquide en excès.
 - b. Déboucher le tube et sortir l'écouvillon. Ne pas presser contre la paroi du tube pour éviter les éclaboussures, qui pourraient engendrer une contamination croisée.
 - c. Jeter le bouchon et l'écouvillon.
 3. Pour les échantillons d'urine traités, déboucher le tube et jeter le bouchon.
 4. **Changer de gants** avant de poursuivre pour éviter la contamination.
 5. En suivant le rapport de configuration de la plaque, préparer la plaque de lyse. **Les micropuits d'amorçage doivent être placés dans la plaque dans l'ordre suivant** : CT (micropuits vert uni), GC (micropuits jaune uni) et TA (micropuits noir uni). Renouveler l'opération pour arranger la plaque conformément au rapport de configuration correspondant.
 6. Procéder comme suit pour refermer les sachets de micropuits.
 - a. Placer le sachet sur une surface plane. D'une main, maintenir à plat le côté ouvert.
 - b. En appliquant une pression, faire glisser les doigts à l'extérieur de la fermeture, en allant d'un bord à l'autre du sachet.
 - c. Vérifier que le sachet est fermé.
 7. Sélectionner le **Programme 3** sur la multipipette **BD ProbeTec ET**.
 8. Prélever des embouts de pipette. Développer la multipipette en tirant le bouton de développement sur toute sa longueur. **REMARQUE** : Vérifier que les cônes sont bien en place sur la multipipette pour éviter les fuites.
 9. Aspirer 600 µL dans la première colonne d'échantillons.
 10. Replier doucement la multipipette, appliquer les embouts de pipette contre les parois des micropuits et distribuer 150 µL dans chacune des 3 colonnes de micropuits d'amorçage correspondantes (1 A-H ; 2 A-H ; 3 A-H). **REMARQUE** : Ne pas replier la multipipette au-dessus des échantillons ou des micropuits pour ne pas risquer d'entraîner une contamination. Des mouvements brusques peuvent former des gouttelettes ou des aérosols. **REMARQUE** : Il est important de distribuer les liquides contre la paroi interne des micropuits pour garantir l'exactitude et la précision et pour éviter une contamination croisée.
 11. Jeter les embouts de pipette. Relâcher la gâchette de pipetage pour réinitialiser la multipipette. **REMARQUE** : Jeter les embouts de pipette avec précaution pour éviter la formation de gouttelettes ou d'aérosols susceptibles de contaminer la paillasse.
 12. Prélever de nouveaux embouts de pipette et aspirer 600 µL dans la 2^{ème} colonne d'échantillons.
 13. Replier doucement la multipipette, appliquer les embouts de pipette contre les parois des micropuits et distribuer 150 µL dans chacune des 3 colonnes de micropuits d'amorçage correspondantes (4 A-H ; 5 A-H ; 6 A-H).
 14. Jeter les embouts de pipette.
 15. Poursuivre le transfert des autres échantillons de la série.
 16. Couvrir la plaque de micropuits d'amorçage avec le couvercle d'amorçage et laisser incuber la plaque à température ambiante pendant au moins 20 min (jusqu'à 6 h d'incubation). **REMARQUE** : Reboucher les échantillons traités avec de nouveaux bouchons pour préserver les tubes échantillon.
 17. À l'issue de l'incubation d'amorçage, préparer la plaque d'amplification. Arranger les micropuits d'amplification dans la plaque conformément au rapport de configuration de la plaque (identique à la plaque d'amorçage). Refermer les sachets de micropuits comme expliqué à l'étape 4.
 18. Retirer le couvercle de la plaque de micropuits d'amorçage et placer celle-ci dans le bloc chauffant d'amorçage. Placer **IMMÉDIATEMENT** la plaque de micropuits d'amplification dans le bloc chauffant de préchauffage.
 19. **Régler la minuterie à 10 min. (REMARQUE : Cette étape est déterminante).**
 20. À l'issue des 10 min (+/- 1 min) d'incubation, sélectionner le **Programme 5** de la multipipette.
 21. Prélever des embouts de pipette et transférer 100 µL de la colonne 1 de la plaque de micropuits d'amorçage à la colonne 1 de la plaque de micropuits d'amplification. Appliquer l'extrémité des embouts de pipette contre la paroi des micropuits et distribuer le liquide. Laisser ensuite la multipipette mélanger automatiquement le liquide présent dans les micropuits. Soulever délicatement la multipipette et l'écarter de la plaque. Ne pas toucher les autres micropuits.
 22. Jeter les embouts de pipette. Prélever de nouveaux embouts de pipette pour transférer le mélange réactionnel des micropuits d'amorçage aux micropuits d'amplification, colonne par colonne, en changeant de cônes entre chaque colonne.
 23. Lorsque la dernière colonne a été transférée, retirer la face protectrice d'une bande d'étanchéité d'amplification (retirer la moitié de la face protectrice s'il y a moins de 6 colonnes de micropuits ; retirer la face protectrice en totalité s'il y a 7 colonnes de micropuits ou plus). Tenir la bande d'étanchéité par les bords et la centrer sur la plaque. Utiliser les guides présents sur le bloc chauffant de préchauffage pour faciliter le centrage de la bande d'étanchéité. La bande d'étanchéité devra couvrir complètement les micropuits en dépassant aux extrémités de la plaque. Appuyer sur la bande pour assurer l'étanchéité des micropuits.
 24. À l'interface utilisateur **BD ProbeTec ET**, faire sortir la platine et ouvrir les portes. Transférer **IMMÉDIATEMENT** (dans les 30 s) la plaque de micropuits d'amplification scellée dans l'instrument **BD ProbeTec ET** et lancer le test (consulter le manuel d'utilisation du système **BD ProbeTec ET** pour plus d'informations).
 25. Après avoir lancé le test, accomplir les étapes de la procédure de nettoyage qui suivent :
 - a. Sceller les micropuits d'amorçage avec une bande d'étanchéité d'amplification et sortir la plaque du bloc chauffant d'amorçage et de préchauffage. **AVERTISSEMENT** : Température supérieure à 70 °C. Utiliser le gant antichaleur pour sortir la plaque.
 - b. Laisser refroidir la plaque sur la paillasse pendant 5 min.
 - c. Sortir les micropuits d'amorçage scellés de la plaque en saisissant la bande d'étanchéité par le haut et le bas, puis en soulevant verticalement les micropuits ensemble. Placer les micropuits dans un sac à déchets et fermer le sac.
 - d. Nettoyer la plaque métallique :

- Rincer la plaque avec ELIMINase, DNA AWAY ou une solution d'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v) contenant de l'Alconox.
Rincer la plaque à l'eau.
Entourer la plaque d'une serviette en papier propre et laisser sécher complètement avant de réutiliser.
26. Lorsque la série est terminée, les résultats des tests s'impriment.
27. Faire sortir la platine, ouvrir la porte et retirer la plaque. Refermer la porte et replacer la platine à l'intérieur de l'instrument.
28. Sortir les micropuits d'amplification scellés de la plaque. **MISE EN GARDE : Ne pas retirer la bande d'étanchéité apposée sur les micropuits.** Les micropuits scellés peuvent aisément être sortis ensemble de la plaque en saisissant la bande d'étanchéité par le haut et le bas, puis en soulevant l'ensemble verticalement hors de la plaque. Placer les micropuits scellés dans un sac à déchets. Fermer le sac.
29. Nettoyer la plaque métallique :
Rincer la plaque avec ELIMINase, DNA AWAY ou une solution d'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v) contenant de l'Alconox.
Rincer la plaque à l'eau.
Entourer la plaque d'une serviette en papier propre et laisser sécher complètement avant de réutiliser.
30. À l'issue de la dernière série, accomplir les procédures de nettoyage suivantes :
- Imbiber des serviettes en papier ou des compresses avec ELIMINase, DNA AWAY ou une solution d'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v) contenant de l'Alconox et frotter la paillasse et les surfaces externes du bloc chauffant de lyse, du bloc chauffant d'amorçage et de préchauffage et de l'instrument **BD ProbeTec ET**. Laisser la solution au contact des surfaces pendant 2 à 3 min. Imbiber des serviettes en papier ou des compresses avec de l'eau et rincer la solution de nettoyage. Changer fréquemment de serviette ou de compresse pour appliquer la solution de nettoyage et rincer à l'eau. Humidifier des serviettes en papier ou des compresses avec ELIMINase, DNA AWAY ou une solution d'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v) contenant de l'Alconox et essuyer la poignée de la multipipette (**UNIQUEMENT LA POIGNÉE**). Après 2 à 3 min, essuyer la poignée avec des serviettes en papier ou des compresses humidifiées avec de l'eau.
 - Immerger le portoir de lyse ainsi que le socle, le capot et les plaques du portoir de lyse dans ELIMINase, DNA AWAY ou une solution d'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v) contenant de l'Alconox pendant 1 à 2 min. Rincer soigneusement à l'eau et laisser sécher à l'air.
 - Recharger la multipipette.
 - Éliminer le sac à déchets scellé et le sac à risque biologique conformément aux procédures d'élimination des déchets contaminés présentant un risque biologique homologués.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Le jeu de témoins positif et négatif **BD ProbeTec ET** pour *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* est fourni séparément. Inclure un témoin positif et un témoin négatif dans chaque série de tests et pour chaque nouveau numéro de lot de trousse de réactifs. Les témoins peuvent être disposés au hasard. Le témoin positif CT/GC ne peut révéler qu'une non conformité significative du réactif. Le témoin négatif CT/GC révèle une contamination du réactif et(ou) de l'environnement.

Le témoin positif possède des régions cibles CT et GC clonées qui ne sont pas nécessairement représentatives de l'ADN cible du microorganisme détecté par le test et qui ne représentent pas non plus les matrices d'échantillon (suspensions d'urine et de cellules épithéliales) dont l'utilisation est recommandée avec le système **BD ProbeTec ET**. Ces témoins peuvent être utilisés pour effectuer le contrôle de qualité interne. Les utilisateurs peuvent également développer leurs propres outils de contrôle de qualité interne, conformément à la norme C24-A2 de la NCCLS.¹⁵ D'autres témoins peuvent être testés conformément aux directives ou aux exigences des réglementations nationale ou internationale ou des organismes normatifs. Se reporter à la norme C24-A2 de la NCCLS pour plus d'informations sur les modalités d'évaluation du contrôle de qualité interne. Le témoin positif contient 750 exemplaires de plasmide linéarisé pCT16 par réaction et 250 exemplaires de plasmide linéarisé pGC10 par réaction. Les deux microorganismes possèdent plusieurs exemplaires de la cible. Le volume réactionnel d'amplification **BD ProbeTec ET** est de 100 µL de témoin reconstitué.

Comme le témoin positif CT/GC est utilisé à la fois pour les tests CT et GC, le bon positionnement des barrettes de micropuits est important pour garantir la conformité des résultats rapportés. Se reporter à la section H du « Mode opératoire du test » pour connaître le bon positionnement des barrettes de micropuits.

Les témoins positif et négatif CT/GC doivent donner un résultat positif et négatif, respectivement, pour que les résultats des échantillons puissent être considérés. Si les témoins ne produisent pas les résultats escomptés, la série de tests est considérée comme non valide et l'instrument ne rapporte pas les résultats correspondants. Si le CQ ne donne pas les résultats escomptés, reprendre la totalité de la série en utilisant un nouveau jeu de témoins, de nouveaux micropuits et les échantillons traités. Si le nouveau CQ ne donne pas les résultats escomptés, contacter le service technique (voir « Interprétation des résultats »).

Se reporter à la section F du « Mode opératoire du test » pour connaître les directives de préparation des témoins. Une fois que les témoins ont été préparés, poursuivre les tests comme décrit à la section G du « Mode opératoire du test ».

Il est possible d'utiliser un témoin d'amplification séparé (TA), fourni avec le jeu de réactifs CT/GC/TA, pour le test d'inhibition. Lorsque le jeu de réactifs CT/GC/TA est utilisé, le TA doit être inclus pour chaque échantillon clinique et témoin. Les micropuits de témoin d'amplification contiennent ≥ 1000 exemplaires de plasmide linéarisé pGC10 par réaction qui doit être amplifié dans la matrice d'échantillon. Le témoin d'amplification est conçu pour identifier les échantillons susceptibles de contenir des inhibiteurs d'amplification qui pourraient empêcher la détection de l'ADN CT ou GC éventuellement présent (voir « Interprétation des résultats »).

Interprétation des résultats des témoins :

Interprétation des témoins sans TA

	Score MOTA CT ou GC	Résultat
Témoin positif CT/GC	MOTA ≥ 2000	Acceptable
Témoin négatif CT/GC	MOTA < 2000	Acceptable

Interprétation des témoins avec TA

	Score MOTA CT ou GC	Score MOTA TA*	Résultat
Témoin positif CT/GC	MOTA ≥ 2000	MOTA ≥ 1000	Acceptable
Témoin négatif CT/GC	MOTA < 2000	MOTA ≥ 1000	Acceptable

* Si le TA n'est pas conforme (MOTA < 1000), le témoin n'est pas conforme.

Témoins de traitement des échantillons :

Les témoins de traitement des échantillons peuvent être testés conformément aux exigences des organismes normatifs concernés. Un témoin positif doit valider l'ensemble du système de test. À cette fin, les échantillons connus pour être positifs peuvent servir de témoins en étant traités et testés conjointement avec les échantillons indéterminés. Les échantillons utilisés comme témoins de traitement doivent être conservés, traités et testés conformément à la notice d'emploi. Au lieu d'utiliser des échantillons positifs, des témoins de traitement des échantillons simulant le traitement de l'urine peuvent être préparés comme suit :

***Chlamydia trachomatis* :**

Si aucun échantillon connu pour être positif n'est disponible, une autre approche consiste à tester une culture mère de la souche LGV2 de *C. trachomatis* (réf. ATCC VR-902B) préparée comme suit :

1. Décongeler un tube de souche ATCC LGV2 de *C. trachomatis*.
2. Réaliser une série de dilutions au 1/10^{ème} pour aboutir à une dilution 10⁵ (avec un volume final de 5 mL au minimum) dans du sérum physiologique tamponné au phosphate (PBS).
3. Distribuer 4 mL de dilution 10⁵ dans un tube échantillon **BD ProbeTec ET**.
4. Traiter comme un échantillon d'urine en commençant à la section E, étape 5, du « Mode opératoire du test ».
5. Après le traitement, lyser l'échantillon préparé comme décrit à la section G du « Mode opératoire du test ».
6. Poursuivre le test comme décrit à la section H du « Mode opératoire du test ».

***Neisseria gonorrhoeae* :**

Si aucun échantillon connu pour être positif n'est disponible, une autre approche consiste à tester une culture mère de *N. gonorrhoeae* (souche ATCC 19424) préparée comme suit :

1. Décongeler un flacon de culture mère de *N. gonorrhoeae* de l'ATCC et inoculer immédiatement sur Agar au chocolat en boîte de pétri.
2. Incuber à 37 °C sous 3 – 5 % de CO₂ pendant 24 à 48 h.
3. Remettre en suspension les colonies à partir de la boîte de pétri d'Agar au chocolat avec du sérum physiologique tamponné au phosphate (PBS).
4. Diluer les cellules dans du PBS jusqu'à un standard de turbidité McFarland n° 1 (environ 3 X 10⁸ cellules/mL).
5. Réaliser une série de dilutions au 1/10^{ème} pour aboutir à une dilution 10⁵ du standard de turbidité McFarland (avec un volume final de 5 mL au minimum) dans du PBS.
6. Distribuer 4 mL de la dilution 10⁵ dans un tube échantillon **BD ProbeTec ET**.
7. Traiter comme un échantillon d'urine en commençant à la section E, étape 5, du « Mode opératoire du test ».
8. Après le traitement, lyser l'échantillon préparé comme décrit à la section G du « Mode opératoire du test ».
9. Poursuivre le test comme décrit à la section H du « Mode opératoire du test ».

Dépister la présence d'ADN contaminant

Au moins une fois par mois, accomplir la procédure de test suivante pour dépister la présence d'ADN contaminant sur la pailleuse et le matériel. Le contrôle du poste de travail est essentiel pour détecter une contamination avant la survenue d'un problème.

1. Pour chaque zone à tester, utiliser un écouvillon de prélèvement propre provenant de l'un des systèmes de prélèvement et de transport d'échantillons endocervicaux **BD ProbeTec ET** et un tube de diluant CT/GC (un tube échantillon contenant 2 mL de diluant (CT/GC) peut également être utilisé).
2. Tremper l'écouvillon dans le diluant CT/GC et essuyer la première zone* d'un mouvement ample.
3. Presser l'écouvillon dans le tube de diluant CT/GC. Reboucher le tube et vortexer pendant 5 s.
4. Renouveler l'opération pour chaque zone à tester.
5. Une fois que tous les écouvillons ont été recueillis, pressés dans le diluant et vortexés, les tubes sont prêts à être lysés (section G) et testés (section H) conformément au « Mode opératoire du test ».

*Les zones qu'il est recommandé de tester sont notamment : la surface du bloc chauffant de lyse, du portoir de lyse, du bloc chauffant d'amorçage et de préchauffage, des plateaux noirs à micropuits, de la poignée de la multipipette, des touches sensibles de l'instrument, du clavier de l'instrument, du tambour centrifuge d'ouverture de la porte (clé de couleur sarcelle) et des pailleuses, y compris les zones de traitement des échantillons.

Si une zone donne un résultat positif, nettoyer la zone avec ELIMINASE, DNA AWAY ou une solution d'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v) contenant de l'Alconox fraîchement préparée. S'assurer que la zone est humidifiée sur toute sa surface et laisser reposer la solution pendant deux minutes au minimum ou jusqu'à ce que la surface soit sèche. Si nécessaire, éliminer la solution de nettoyage en excès à l'aide d'une serviette en papier propre. Essuyer la zone avec une serviette en papier imbibée d'eau et laisser sécher. Tester de nouveau la zone. Renouveler l'opération jusqu'à ce que le test soit négatif. Si la contamination persiste, contacter le service technique pour plus d'informations.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS DU TEST

Les tests de détection d'ADN amplifié **BD ProbeTec ET** pour *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* utilisent le transfert d'énergie de fluorescence comme méthode de détection pour tester la présence de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* dans les échantillons cliniques. Tous les calculs sont effectués automatiquement par le logiciel de l'instrument.

La présence de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* est déterminée en comparant les scores MOTA **BD ProbeTec ET** de l'échantillon aux valeurs limites d'inclusion prédéterminées. Le score MOTA est une valeur utilisée pour évaluer la grandeur du signal généré par la réaction. La grandeur du score MOTA n'est pas corrélative de la concentration du microorganisme dans l'échantillon.

Si les témoins du test ne donnent pas les résultats escomptés, les résultats obtenus avec les échantillons cliniques ne doivent pas être pris en considération. Voir la section CQ pour connaître les valeurs attendues pour les témoins. Les résultats rapportés sont déterminés comme suit.

Pour le jeu de réactifs CT/GC :

Interprétation des résultats pour *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* sans TA

Score MOTA CT ou GC	Rapport	Interprétation	Résultat
≥ 10 000	ADN plasmidique de <i>C. trachomatis</i> et(ou) ADN de <i>N. gonorrhoeae</i> détecté par SDA	Positif pour <i>C. trachomatis</i> et(ou) <i>N. gonorrhoeae</i> . La viabilité et(ou) l'inféctivité de <i>C. trachomatis</i> / <i>N. gonorrhoeae</i> ne peut pas être affirmée car l'ADN cible peut avoir persisté en l'absence de microorganismes viables.	Positif ¹
2000 – 9999	ADN plasmidique de <i>C. trachomatis</i> et(ou) ADN de <i>N. gonorrhoeae</i> détecté par SDA	Présence probable de <i>C. trachomatis</i> et(ou) <i>N. gonorrhoeae</i> . Des tests complémentaires peuvent s'avérer utiles pour vérifier la présence de <i>C. trachomatis</i> et(ou) <i>N. gonorrhoeae</i> . ²	Faiblement positif ^{1,2,3}
< 2000	ADN plasmidique de <i>C. trachomatis</i> et(ou) ADN de <i>N. gonorrhoeae</i> non détecté par SDA	Présumé négatif pour <i>C. trachomatis</i> et(ou) <i>N. gonorrhoeae</i> . Un résultat négatif n'écarte pas la possibilité d'une infection à <i>C. trachomatis</i> et(ou) <i>N. gonorrhoeae</i> car les résultats sont conditionnés par la qualité du prélèvement, l'absence d'inhibiteurs et la présence d'une quantité suffisante d'ADN à détecter.	Négatif

¹ Selon les directives du CDC, " il est important d'envisager des tests supplémentaires de routine pour les patients dont les tests de dépistage de *C. trachomatis* ou *N. gonorrhoeae* sont positifs, lorsque les informations concernant les facteurs de risque ou les études elles-mêmes indiquent que la prévalance est faible, d'où une valeur prédictive positive (VPP) plus basse (c.-à-d. moins de 90 %). " Quelle que soit la méthode de dépistage utilisée (NAAT, DFA, EIA, sonde à l'acide nucléique, etc.), " tous les tests de dépistage positifs doivent être considérés comme indiquant une infection présumée ".¹⁶ Se reporter aux directives du CDC pour obtenir plus de renseignements concernant des tests supplémentaires et la prise en charge des patients après un test de dépistage positif.

² Se reporter à la description des valeurs limites d'inclusion et les figures 2 et 3 des « Caractéristiques de performances » pour plus d'informations sur la distribution des scores MOTA CT et GC par type d'échantillon observée dans les essais cliniques.

³ La grandeur du score MOTA n'est pas corrélative de la concentration du microorganisme dans l'échantillon.

Pour le jeu de réactifs CT/GC/TA :

Interprétation des résultats pour *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* avec TA

Score MOTA CT ou GC	Score MOTA TA	Rapport	Interprétation	Résultat
≥ 10 000	Indifférent	ADN plasmidique de <i>C. trachomatis</i> et(ou) ADN de <i>N. gonorrhoeae</i> détecté par SDA	Positif pour <i>C. trachomatis</i> et(ou) <i>N. gonorrhoeae</i> . La viabilité et(ou) l'inféctivité de <i>C. trachomatis</i> / <i>N. gonorrhoeae</i> ne peut pas être affirmée car l'ADN cible peut avoir persisté en l'absence de microorganismes viables.	Positif ¹
2000 – 9999	Indifférent	ADN plasmidique de <i>C. trachomatis</i> et(ou) ADN de <i>N. gonorrhoeae</i> détecté par SDA	Présence probable de <i>C. trachomatis</i> et(ou) <i>N. gonorrhoeae</i> . Des tests complémentaires peuvent s'avérer utiles pour vérifier la présence de <i>C. trachomatis</i> et(ou) <i>N. gonorrhoeae</i> . ²	Faiblement positif ^{1,2,3}
< 2000	≥ 1000	ADN plasmidique de <i>C. trachomatis</i> et(ou) ADN de <i>N. gonorrhoeae</i> non détecté par SDA	Présumé négatif pour <i>C. trachomatis</i> et(ou) <i>N. gonorrhoeae</i> . Un résultat négatif n'écarte pas la possibilité d'une infection à <i>C. trachomatis</i> et(ou) <i>N. gonorrhoeae</i> car les résultats sont conditionnés par la qualité du prélèvement, l'absence d'inhibiteurs et la présence d'une quantité suffisante d'ADN à détecter.	Négatif
< 2000	< 1000	Inhibition du témoin d'amplification. Renouveler le test ⁴	Échantillon systématiquement inhibiteur. La présence de <i>C. trachomatis</i> ou <i>N. gonorrhoeae</i> ne pourrait pas être détectée par SDA. Soumettre un autre échantillon au test.	Indéterminé

¹ Selon les directives du CDC, " il est important d'envisager des tests supplémentaires de routine pour les patients dont les tests de dépistage de *C. trachomatis* ou *N. gonorrhoeae* sont positifs, lorsque les informations concernant les facteurs de risque ou les études elles-mêmes indiquent que la prévalance est faible, d'où une valeur prédictive positive (VPP) plus basse (c.-à-d. moins de 90 %). " Quelle que soit la méthode de dépistage utilisée (NAAT, DFA, EIA, sonde à l'acide nucléique, etc.), " tous les tests de dépistage positifs doivent être considérés comme indiquant une infection présumée ".¹⁶ Se reporter aux directives du CDC pour obtenir plus de renseignements concernant des tests supplémentaires et la prise en charge des patients après un test de dépistage positif.

² Se reporter à la description des valeurs limites d'inclusion et les figures 2 et 3 des « Caractéristiques de performances » pour plus d'informations sur la distribution des scores MOTA CT et GC par type d'échantillon observée dans les essais cliniques.

³ La grandeur du score MOTA n'est pas corrélative de la concentration du microorganisme dans l'échantillon.

⁴ Renouveler le test **BD ProbeTec** ET. Pour les urines, renouveler le test avec l'échantillon d'origine. Si l'échantillon d'origine n'est pas disponible, renouveler le test à partir du tube d'échantillon traité. Pour les écouvillonnages, renouveler le test à partir du tube d'échantillon traité. Si le résultat est positif ou négatif, interpréter comme décrit ci-dessus. En cas de nouveau résultat indéterminé, solliciter un nouvel échantillon.

Détermination des valeurs limites d'inclusion CT/GC/TA :

Les valeurs limites d'inclusion du test et des témoins d'amplification pour les résultats obtenus avec les échantillons CT et GC ont été déterminées sur la base d'une analyse de la courbe de fonction d'efficacité de l'observateur des scores MOTA obtenus avec les échantillons cliniques (prélèvement urétral chez l'homme, prélèvement endocervical chez la femme, échantillons d'urine chez l'homme et la femme) testés avec le test **BD ProbeTec ET** pour CT/GC et une autre méthode d'amplification au cours des études précliniques. Les valeurs limites d'inclusion ont été confirmées dans les études cliniques en utilisant le test **BD ProbeTec ET** pour CT/GC, la culture sur cellules, l'immunofluorescence directe (CT uniquement) et une autre méthode d'amplification. Ces études montrent que des scores MOTA CT et(ou) GC supérieurs à 2000 indiquent habituellement la présence de *C. trachomatis* et(ou) *N. gonorrhoeae*. Un score MOTA CT et(ou) GC inférieur à 2000 est généralement corrélatif d'un résultat négatif de culture sur cellules pour *C. trachomatis* et(ou) *N. gonorrhoeae*. Pour un échantillon obtenu par prélèvement urétral chez l'homme, prélèvement endocervical chez la femme ou un échantillon d'urine chez l'homme et la femme, un score MOTA CT compris entre 2000 et 4000 présente une probabilité moins élevée de constituer un vrai-positif comparativement aux scores MOTA supérieurs à 4000. Pour un échantillon d'urine chez la femme, un résultat CT positif dont le score MOTA est compris entre 2000 et 10000 présente une probabilité moins élevée de constituer un vrai-positif comparativement aux scores MOTA supérieurs à 10000. Un résultat GC positif dont le score MOTA est compris entre 2000 et 10000 présente une probabilité moins élevée de constituer un vrai-positif comparativement aux scores MOTA supérieurs à 10000. Se reporter aux figures 2 et 3 pour connaître la distribution des scores MOTA CT et GC par type d'échantillon observée dans l'étude clinique. Dans les données ci-dessous, la valeur prédictive positive (VPP) a été calculée selon la formule suivante : vrai positif / (vrai positif + faux positif). Les données ne sont pas ajustées en fonction de la prévalence. Les résultats CT compris entre 2 000 et 10 000 MOTA avaient une VPP comprise entre 56 et 83 %, par rapport à une VPP comprise entre 82 et 100 % pour les valeurs de MOTA supérieures à 10 000. Les résultats GC compris entre 2 000 et 10 000 MOTA avaient une VPP comprise entre 44 et 75 %, par rapport à une VPP comprise entre 90 et 100 % pour les valeurs de MOTA supérieures à 10 000. En fonction des types d'échantillons testés, des populations échantillonnées et des méthodes de laboratoire, des tests complémentaires peuvent s'avérer utiles pour les échantillons dont le score MOTA est compris entre 2000 et 10000. Se reporter aux directives du CDC pour obtenir plus de renseignements concernant des tests supplémentaires et la prise en charge des patients après un test de dépistage positif.

N. cinerea présente une réaction croisée avec le test de détection **BD ProbeTec ET** pour GC ; d'autres souches de *Neisseria* peuvent également donner des faux-positifs. Lorsque la prévalence des maladies sexuellement transmissibles est élevée, un résultat positif pour le test présente une probabilité élevée de constituer un vrai-positif. Lorsque la prévalence des maladies sexuellement transmissibles est faible ou lorsque le tableau clinique du patient ou les facteurs de risque ne sont pas évocateurs d'infection urogénitale à chlamydia ou de gonococcie, un résultat positif doit être évalué avec circonspection et d'autres méthodes de test doivent être employées (ex. : culture sur cellules pour GC), le cas échéant.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

1. Cette méthode n'a été testée que sur des échantillons obtenus par prélèvement endocervical ou prélèvement urétral chez l'homme ainsi que sur des échantillons d'urine chez l'homme et la femme. Les performances du test avec d'autres types d'échantillon n'ont pas été évaluées.
2. Une performance optimale du test nécessite un prélèvement et une manipulation adéquate des échantillons. Se reporter à la section « Prélèvement et transport de l'échantillon » de cette notice.
3. La qualité des prélèvements endocervicaux ne peut être évaluée que par visualisation microscopique des cellules épithéliales cylindriques présentes dans les échantillons.
4. Le prélèvement et le test d'échantillons d'urine avec le test de détection d'ADN amplifié **BD ProbeTec ET** pour *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* n'est pas conçu pour se substituer à un examen du col et à une biopsie endocervicale à des fins de dépistage d'infection urogénitale. La cervicite, l'urétrite, les infections des voies urinaires et les infections vaginales peuvent résulter d'autres causes ou des infections concomitantes peuvent survenir.
5. Le test de détection d'ADN amplifié **BD ProbeTec ET** pour *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* appliqué aux échantillons d'urine chez l'homme et la femme doit être effectué sur des échantillons de premier jet d'urine pris au hasard (définis comme les premiers 15 à 20 mL du premier jet d'urine lorsque l'on utilise l'UPP). Au cours de l'évaluation clinique, des volumes d'urine allant jusqu'à 60 mL ont été analysés pour estimer les performances du test. L'incidence de la dilution sur des volumes plus importants peut se traduire par une moindre sensibilité du test. L'incidence d'autres variables comme un prélèvement postérieur au premier jet d'urine n'a pas été déterminée. Les performances n'ont pas été évaluées lorsque l'UPP est ajouté au godet à urine avant le prélèvement.
6. L'incidence d'autres variables potentielles, comme les pertes vaginales, l'utilisation de tampons, le lavage vaginal et les variables de prélèvement des échantillons, n'a pas été évaluée.
7. Un résultat négatif n'exclut pas l'éventualité d'une infection car les résultats du test peuvent être affectés par un prélèvement inapproprié des échantillons, une erreur technique, une substitution d'échantillons, une antibiothérapie concomitante ou une concentration de microorganismes dans l'échantillon inférieure à la sensibilité du test.
8. Comme pour la plupart des tests diagnostiques, les résultats du test de détection d'ADN amplifié **BD ProbeTec ET** pour *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* doivent être interprétés conjointement avec les autres données de laboratoire et les autres données cliniques disponibles.
9. Le test de détection d'ADN amplifié **BD ProbeTec ET** pour *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* ne détecte pas les souches de *C. trachomatis* dépourvues de plasmides.
10. Le test de détection d'ADN amplifié **BD ProbeTec ET** pour *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* ne doit pas être utilisé pour l'évaluation d'une agression sexuelle présumée ou pour fournir d'autres indications médico-légales. Il est recommandé de procéder à des analyses complémentaires lorsqu'un faux positif ou un faux négatif peut avoir des conséquences médicales, sociales ou psychologiques graves.
11. Le système **BD ProbeTec ET** ne peut pas être utilisé pour évaluer le succès ou l'échec d'un traitement car les acides nucléiques de *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* peuvent avoir persisté à l'issue de l'antibiothérapie.
12. Le test de détection d'ADN amplifié **BD ProbeTec ET** pour *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* fournit des résultats qualitatifs. La grandeur du score MOTA n'est pas corrélative du nombre de bactéries présentes dans l'échantillon infecté.
13. La valeur prédictive d'un test dépend de la prévalence de la maladie dans une population donnée. Les valeurs prédictives hypothétiques en fonction des populations testées sont indiquées dans les tableaux 1 et 2.
14. Comme le témoin positif CT/GC est utilisé à la fois pour les tests CT et GC, le bon positionnement des barrettes de micropuits est important pour garantir la conformité des résultats rapportés. Se reporter à la section H du « Mode opératoire du test » pour connaître le bon positionnement des barrettes de micropuits.

15. L'utilisation du test de détection d'ADN amplifié **BD ProbeTec ET** pour *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* est réservée aux personnes ayant reçu une formation adaptée pour réaliser ce test et familiarisées avec le système **BD ProbeTec ET**.
16. Les études de laboratoire ont montré que la présence de sang à une concentration supérieure à 5 % (v/v) entraîne des résultats indéterminés (par inhibition) avec les échantillons d'urine et les écouvillonnages (avec TA) et des faux-négatifs avec les échantillons d'urine (avec ou sans TA). La présence de sang à une concentration supérieure à 5 % (v/v) peut conduire à des faux-négatifs avec les écouvillonnages (avec ou sans TA). La présence de sang à une concentration moyenne ou élevée dans un échantillon peut interférer avec les résultats du test **BD ProbeTec ET** pour CT/GC. Se reporter aux « Caractéristiques de performances » pour connaître les performances spécifiques du test sur des écouvillonnages contenant du sang chez la femme.
17. La présence de substances fortement pigmentées dans l'urine, comme la bilirubine (10 mg/mL) ou la phénazopyridine (10 mg/mL), peut produire des résultats indéterminés ou des faux-négatifs.
18. La présence de leucocytes à une concentration supérieure à 250 000 cellules/mL (écouvillonnages) peut produire des résultats indéterminés ou faux-négatifs.
19. La présence de sérum, de déodorants féminins ou de poudre de talc peut donner des résultats faussement négatifs (échantillons d'urine).
20. *N. cinerea* et *N. lactamica* présentent une réaction croisée avec le test de détection **BD ProbeTec ET** pour *C. trachomatis/N. gonorrhoeae*. Se reporter aux « Caractéristiques de performances » pour plus d'informations.
21. La reproductibilité du test **BD ProbeTec ET** pour CT/GC a été établie en utilisant des écouvillonnages ensemencés et du tampon ensemencé pour simuler des échantillons d'urine. Ces échantillons ont été inoculés conjointement avec *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae*. La reproductibilité du test sur les échantillons d'urine et les échantillons contenant uniquement *C. trachomatis* ou *N. gonorrhoeae* n'a pas été déterminée.
22. Les caractéristiques de performances du test de dépistage de *N. gonorrhoeae* chez l'homme ont été établies sur des populations où la prévalence de l'infection varie de 0 à 43 % ; les échantillons ont été recueillis principalement dans les centres de prévention des MST où la prévalence des gonococcies est plus élevée qu'en milieu hospitalier. Chez l'homme, 16 cas de gonococcies ont été identifiés dans le milieu à faible prévalence (0 à 8 %). De même, la plupart des échantillons positifs pour GC prélevés chez la femme dans cette étude provenait de centres de prévention des MST. Chez la femme, 6 cas de gonococcies seulement ont été identifiés dans le milieu à faible prévalence (1,2 %). Les résultats positifs observés dans les populations à faible prévalence doivent être interprétés avec prudence, en y associant le tableau clinique, le profil de risque du patient et d'autres résultats, sachant que la probabilité d'obtention d'un faux-positif peut être plus élevée que celle d'un vrai-positif.
23. L'utilisation du test sur des échantillons d'urine obtenus chez la femme comme seul test de dépistage d'une infection à chlamydia ou d'une gonococcie peut s'avérer insuffisante pour identifier les patientes infectées dont le test **BD ProbeTec ET** était positif pour CT/GC (17 % [17/100] des femmes pour lesquelles la culture sur cellules était positive pour CT et 13,8 % [11/80] des femmes pour lesquelles la culture sur cellules était positive pour GC ont eu un résultat négatif lorsque seule l'urine a été testée).
24. Comme le TA utilise la cible GC, l'efficacité du TA pour détecter l'inhibition est réduite dans les échantillons positifs pour GC. Se reporter aux « Caractéristiques de performances » pour connaître les résultats chez les patients co-infectés.
25. La performance n'a pas été établie pour des volumes de remplissage de l'UPT autres que ceux compris entre les lignes noires de la fenêtre de remplissage (environ 2,5 mL à 3,45 mL).
26. La performance de l'UPT n'a pas été établie sur les instruments **BD Viper** qui ne possèdent pas de lecteurs intégrés (réf. 440740).

RÉSULTATS ATTENDUS

A. Prévalence

La prévalence d'échantillons positifs pour *C. trachomatis* ou *N. gonorrhoeae* dans les populations étudiées dépend du tableau clinique, de l'âge, des facteurs de risques, du sexe et de la méthode de test. La prévalence observée avec le test de détection d'ADN amplifié **BD ProbeTec ET** CT/GC au cours d'un essai clinique multicentrique était de 4,5 à 28,6 % pour CT (tableau 6, page 113) et de 0 à 42,9 % pour GC (tableau 12, page 121). Le pourcentage de co-infection était de 0 à 5,4 %.

B. Valeurs positives et négatives prédictives

Les valeurs positives prédictives (VPP) et les valeurs négatives prédictives (VNP) hypothétiques des tests de détection d'ADN amplifié **BD ProbeTec ET** pour CT/GC sont indiquées dans les tableaux 1 et 2 (voir page 109), respectivement. Ces calculs se basent sur une prévalence hypothétique et une sensibilité et spécificité globales pour CT (comparativement à la condition du patient vis-à-vis de l'infection) de 90,7 et 96,6 %, respectivement, et une sensibilité et spécificité globales pour GC de 96,0 et 98,8 %, respectivement. En outre, la VPP et la VNP basées sur la prévalence, la sensibilité et la spécificité réelles sont indiquées dans les tableaux 6 (page 113) et 12 (page 121).

C. Distribution de fréquences des scores MOTA

5119 échantillons cliniques provenant de neuf centres investigateurs éloignés géographiquement ont été testés avec le système **BD ProbeTec ET** pour la présence de *C. trachomatis* et/ou *N. gonorrhoeae* dans sept laboratoires d'analyses. Une distribution de fréquences des scores MOTA initiaux pour TA est représentée à la figure 1 par type d'échantillon (page 106).

4108 résultats obtenus avec le système **BD ProbeTec ET** pour *C. trachomatis*, répartis sur sept centres investigateurs, ont été évalués. Une distribution de fréquences des scores MOTA initiaux pour CT est représentée à la figure 2 (voir page 107). La distribution des faux-positifs obtenus avec le système **BD ProbeTec ET** (test positif avec **BD ProbeTec ET** mais non-positif en culture sur cellules, en immunofluorescence directe ou AMP1, pour tout type d'échantillon) et des faux-négatifs est indiquée sous la figure 2, page 107.

5093 résultats obtenus avec le système **BD ProbeTec ET** pour *N. gonorrhoeae*, répartis sur neuf centres investigateurs, ont été évalués. Une distribution de fréquences des scores MOTA initiaux pour GC est représentée à la figure 3 (voir page 108). La distribution des faux-positifs obtenus avec le système **BD ProbeTec ET** (test positif avec **BD ProbeTec ET** mais non-positif en culture sur cellules ou AMP1, pour tout type d'échantillon) et des faux-négatifs est donnée sous la figure 3, page 108.

D. Témoins

Au cours de l'évaluation clinique, un résultat non conforme pour le témoin positif CT/GC a été obtenu dans 22 séries de tests de dépistage de CT et GC sur 518. Un résultat non conforme pour le témoin négatif CT/GC a été observé dans 19 séries de tests de dépistage de CT sur 518 et dans 12 séries de tests de dépistage de GC sur 518. Parmi ces résultats non conformes obtenus pour les témoins CT et GC, huit provenaient d'une substitution des témoins positif et négatif par l'opérateur.

Les scores MOTA des témoins positif et négatif CT/GC obtenus dans les essais cliniques sont résumés dans le tableau suivant.

Témoïn	Intervalle	Score MOTA			
		5 ^{ème} percentile	Moyenne	Médiane	95 ^{ème} percentile
Négatif pour CT	0 – 499	0	113	109,5	262
Positif pour CT	2055 – 67281	8222	26816	24681	52725
Négatif pour GC	0 – 800	0	90	71,5	245
Positif pour GC	2013 – 54240	7404	22452	21228	41405

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES :

Performances cliniques

Les caractéristiques de performances du test de détection d'ADN amplifié **BD ProbeTec ET** pour *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* (CT/GC) ont été établies au cours d'une étude multicentrique associant sept centres investigateurs éloignés géographiquement. Chaque centre a dû se soumettre à un essai d'aptitude avant de pouvoir inclure des patients dans l'étude. L'étude a inclus 4131 échantillons recueillis auprès de 2109 patients dans des centres de prévention des MST, des services d'obstétrique et de gynécologie, des centres de planification familiale, des services de médecine infantile et des services d'urgence. 22 résultats CT ont été exclus de l'analyse des données à cause d'une contamination des cultures sur cellules. Un autre échantillon a été exclu en raison d'une mesure d'immunofluorescence directe manquante. 26 résultats GC ont été exclus de l'analyse des données. Parmi ces 26 résultats, 15 ont été exclus en raison d'une contamination des cultures sur cellules, et 11 ont été exclus en l'absence d'écouvillonnage destiné à réaliser une culture sur cellules. Par conséquent, 4108 résultats CT et 4105 résultats GC obtenus sur 2109 patients ont été exploités dans l'analyse statistique finale. Des échantillons appariés (écouvillon et urine) ont été obtenus auprès de 2020 patients sur 2109. La plupart de ces prélèvements ont été effectués dans les centres de prévention des MST et les centres de planification familiale. Chez les patientes, quatre prélèvements endocervicaux ont été réalisés et un échantillon d'urine a été prélevé. La présence de CT ou de GC dans les écouvillonnages a été testée par culture sur cellules, par le système **BD ProbeTec ET** et par une méthode d'amplification commercialisée (AMP1). Une rotation dans l'ordre des prélèvements endocervicaux a été opérée tout au long de l'étude pour minimiser l'incidence de l'ordre de prélèvement. Chez l'homme, deux prélèvements urétraux ont été effectués et un échantillon d'urine a été recueilli. Le premier écouvillonnage a été utilisé pour la culture de GC sur cellules, puis pour le test **BD ProbeTec ET**. Le deuxième écouvillonnage a été utilisé pour la culture de CT sur cellules. L'UPP a été ajoutée dans l'urine à l'issue du prélèvement avant d'acheminer l'échantillon au laboratoire.

C. trachomatis a été détectée en culture sur cellules réalisée à partir de prélèvements endocervicaux et de prélèvements urétraux chez l'homme. La positivité était basée sur la détection d'une unité formatrice d'inclusion au moins au premier ou au second passage. Les résultats obtenus avec le système **BD ProbeTec ET** sur des échantillons d'urine prélevés chez l'homme et la femme ont été comparés aux résultats de mise en culture d'échantillons endocervicaux et d'échantillons urétraux chez l'homme, respectivement. En outre, un test par amplification commercialisé (AMP1) a été effectué sur l'ensemble des prélèvements endocervicaux et des échantillons d'urine. Si la culture sur cellules était négative, mais que l'un des tests par amplification était positif, un test d'immunofluorescence directe était effectué à partir du milieu de transport des cultures cellulaires. Pour les prélèvements urétraux chez l'homme, les tests comprenaient une culture sur cellules, mais pas la méthode AMP1. Si la culture sur cellules était négative alors que le test **BD ProbeTec ET** (écouvillon ou urine) et/ou le test CT AMP1 sur l'urine était positif, un test d'immunofluorescence directe était effectué sur le milieu de transport des cultures cellulaires. Un autre test par amplification commercialisé (AMP2) a été effectué sur le milieu de transport des cultures pour les patients dont l'urine était positive avec le test AMP1 alors que la culture sur cellules réalisée à partir des écouvillons correspondants était négative.

N. gonorrhoeae a été détectée par récupération de colonies oxydase-positives à Gram négatif sur Agar. L'identification en culture a été confirmée par deux méthodes : une méthode biochimique et une méthode immunologique ou fluorométrique. Les résultats obtenus avec **BD ProbeTec ET** ont été comparés à ceux de la culture sur cellules et ceux d'une méthode d'amplification commercialisée (AMP1). Toutes les cultures de GC sur cellules ont été incubées pendant 48 à 72 h avant de rapporter les résultats définitifs.

Les caractéristiques de performances pour CT et GC ont été calculées avec et sans témoin d'amplification (TA). Toutes les données sont présentées sans témoin d'amplification. Les différences d'interprétation du test résultant de l'utilisation d'un témoin d'amplification sont explicitées dans les notes correspondant à chaque tableau. Pour les échantillons vrais-positifs pour CT et/ou GC, le niveau cible est généralement suffisamment élevé pour compenser les effets inhibiteurs de la matrice de l'échantillon. Ces échantillons sont interprétés comme positifs par l'algorithme de l'instrument même si le TA est négatif (MOTA < 1000). Tous les tests ayant produit un résultat indéterminé ont été répétés. Les performances ont été calculées sur la base des résultats des tests répétés. Les échantillons ont été classés comme positifs, négatifs ou indéterminés. Les échantillons systématiquement inhibiteurs ont été considérés comme non interprétables pour les calculs de sensibilité et de spécificité. Pour calculer les performances sans TA, les résultats indéterminés (résultats dont le TA était négatif) ont été interprétés comme négatifs pour CT et/ou GC. Les tableaux 3 (CT) et 4 (GC) indiquent le nombre de résultats indéterminés initialement et finalement par condition du patient vis-à-vis de l'infection. Les tableaux 5 (CT) et 11 (GC) indiquent le nombre de résultats indéterminés initialement et finalement par type d'échantillon.

Dans la précédente étude multicentrique, les sept centres investigateurs avaient recueilli 183 prélèvements urétraux et 184 échantillons d'urine GC auprès d'hommes asymptomatiques. Pour compléter ces données, une étude similaire a été effectuée dans trois centres investigateurs dont l'un avait participé à l'évaluation initiale. L'étude a inclus des échantillons recueillis auprès de deux centres de prévention des MST et d'un CHU. Les patients recrutés dans les centres de prévention des MST avaient parfois des antécédents de MST, un partenaire infecté ou se soumettaient à un dépistage de routine. 560 patients au total ont été inclus dans l'étude, parmi lesquels 41 ont été exclus de l'analyse des données en raison de problèmes d'observance (ex. : patients inclus avant la fin du test d'aptitude, inclusion de patients symptomatiques, absence de culture de GC sur cellules). 1038 échantillons appariés (écouvillon et urine) ont été recueillis auprès des 519 patients restants. 50 échantillons ont été exclus pour diverses raisons (ex. : urine congelée avant le test, test d'aptitude inachevé, échantillons âgés de plus de six jours). Par conséquent, 988 échantillons prélevés sur 519 patients ont été exploités dans l'analyse statistique finale. L'écouvillonnage a été utilisé pour la culture de GC sur cellules, puis pour le test **BD ProbeTec ET**. L'échantillon d'urine a été testé à la fois par le système **BD ProbeTec ET** et par une méthode d'amplification commercialisée (AMP1). L'UPP a été ajoutée dans l'urine au laboratoire d'analyses. Les résultats obtenus avec le système **BD ProbeTec ET** sur des échantillons d'urine ont été comparés aux résultats de mise en culture d'échantillons urétraux chez l'homme. Les résultats ont été combinés avec les données recueillies dans l'étude multicentrique initiale et inclus au données présentées dans les figures 1 et 3 et les tableaux 2, 4, 11, 12, 13, 14 et 16.

Dans une étude clinique prospective de concordance, menée sur quatre sites cliniques géographiquement variés, la performance des échantillons d'urine pure et des échantillons d'urine traités avec UPT a été comparée à celle des échantillons d'urine traités avec UPP pour les tests CT et GC. Les échantillons d'urine ont été prélevés sur des hommes et des femmes présentant des symptômes et des hommes et des femmes ne présentant pas de symptômes. Un total de 1183 échantillons

d'urine fidèles au test CT et de 1181 échantillons d'urine fidèles au test GC ont été prélevés, répartis entre l'urine pure, l'UPT et l'UPP et inclus dans l'analyse non déterminée. Pour l'évaluation de la performance sans TA, on a utilisé un total de 1182 paires d'échantillons pure/UPP et UPT/UPP fidèles à CT et de 1181 paires d'échantillons pure/UPP et UPT/UPP fidèles à GC. La performance avec le témoin d'amplification a été calculée sur 1171 paires d'échantillons pure/UPP fidèles à CT et 1169 paires d'échantillons pure/UPP fidèles à GC. La performance avec le témoin d'amplification a été calculée sur 1164 paires d'échantillons UPT/UPP fidèles à CT et 1162 paires d'échantillons UPT/UPP fidèles à GC. Les résultats de concordance entre l'urine pure et l'UPP pour CT et GC, avec et sans témoin d'amplification sont donnés dans le tableau 22. Le tableau 23 donne les résultats de la concordance entre l'UPT et l'UPP pour CT et GC, en présence ou en absence de témoin d'amplification.

C. trachomatis

Les résultats obtenus avec **BD ProbeTec ET** pour *C. trachomatis* ont été comparés aux résultats de culture sur cellules et à la condition du patient vis-à-vis de l'infection. Les évaluations de performance pour chaque type d'échantillon et chaque état symptomatique sont indiquées dans le tableau 5. Un patient était considéré comme infecté si (1) la culture sur cellules était positive, ou (2) un résultat positif était obtenu à la fois avec le test AMP1 (sur l'écouvillon ou l'urine) et le test d'immunofluorescence directe, ou (3) le test AMP1 était positif pour l'urine et l'écouvillon pour les échantillons appariés. Les données concernant les femmes enceintes sont indiquées en note de bas de page au tableau 5. Parmi les 1419 écouvillonnages réalisés chez la femme pour l'évaluation clinique du test **BD ProbeTec ET** pour CT, 101 (7,1 %) ont été classés comme fortement contaminés par du sang et 242 (17,1 %) comme modérément contaminés. Les performances du test sur des écouvillonnages modérément ou fortement contaminés par du sang n'étaient pas statistiquement différentes des performances du test sur des écouvillonnages non contaminés ou faiblement contaminés par du sang. Le tableau 6 indique les performances du test **BD ProbeTec ET** pour CT comparativement à la condition du patient vis-à-vis de l'infection, pour chaque centre investigateur différencié par type d'échantillon.

Lors de l'essai clinique, le test AMP1 a été effectué sur l'ensemble des prélèvements endocervicaux et des échantillons d'urine (chez l'homme et la femme). Le tableau 7 présente une comparaison du test **BD ProbeTec ET** et du test AMP1 de dépistage de CT avec la culture sur cellules et l'immunofluorescence directe (sur des échantillons négatifs en culture sur cellules et positifs avec le test). Le tableau 8 indique le pourcentage de concordance entre les résultats obtenus avec **BD ProbeTec ET** et AMP1 pour le dépistage de CT.

Un récapitulatif des résultats des tests effectués sur les échantillons appariés est présenté dans les tableaux 9 (femmes) et 10 (hommes). La condition des patients vis-à-vis de l'infection est également indiquée dans ces tableaux.

N. gonorrhoeae

Les résultats obtenus avec **BD ProbeTec ET** pour *N. gonorrhoeae* ont été comparés aux résultats de culture sur cellules et à la condition du patient vis-à-vis de l'infection. Les évaluations de performance pour chaque type d'échantillon et chaque état symptomatique sont indiquées dans le tableau 11. Un patient a été considéré comme infecté si (1) la culture sur cellules était positive ou (2) chez la femme, si le test AMP1 était positif à la fois pour l'urine et l'écouvillon (échantillons appariés). Les données concernant les femmes enceintes sont indiquées en note de bas de page au tableau 11. Parmi les 1411 écouvillonnages réalisés chez la femme pour l'évaluation clinique du test **BD ProbeTec ET** pour GC, 102 (7,2%) ont été classés comme fortement contaminés par du sang et 242 (17,2%) comme modérément contaminés. Les performances du test sur des écouvillonnages modérément ou fortement contaminés par du sang n'étaient pas statistiquement différentes des performances du test sur des écouvillonnages non contaminés ou faiblement contaminés par du sang. Le tableau 12 indique les performances du test **BD ProbeTec ET** pour GC comparativement à la condition du patient vis-à-vis de l'infection, pour chaque centre investigateur, différencié par type d'échantillon.

Lors de l'essai clinique, le test AMP1 a été effectué sur l'ensemble des prélèvements endocervicaux et des échantillons d'urine (chez l'homme et la femme). Le tableau 13 présente une comparaison du test **BD ProbeTec ET** et du test AMP1 de dépistage de GC avec la culture sur cellules. Le tableau 14 indique le pourcentage de concordance entre les résultats obtenus avec **BD ProbeTec ET** et AMP1 pour le dépistage de GC.

Un récapitulatif des résultats des tests effectués sur les échantillons appariés est présenté dans les tableaux 15 (femmes) et 16 (hommes). La condition des patients vis-à-vis de l'infection est également indiquée dans ces tableaux.

Co-infection à *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae*

Dans l'essai clinique, 4082 échantillons ont été testés à la fois pour CT et GC avec le système **BD ProbeTec ET**. Un récapitulatif des performances du système **BD ProbeTec ET** pour la détection conjointe de CT et GC dans les prélèvements effectués chez les patients considérés comme co-infectés d'après leur condition vis-à-vis de l'infection est présenté dans le tableau 17.

Études analytiques

Remarque : Le volume réactionnel d'amplification de **BD ProbeTec ET** pour CT/GC est de 100 µL d'échantillon traité.

Précision

La précision des tests de détection d'ADN amplifié **BD ProbeTec ET** pour CT/GC a été démontrée en testant un groupe de cinq membres comprenant quatre dilutions co-inoculées avec *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* dans du diluant (CT/GC) et un témoin négatif (diluant non inoculé). Le groupe de cinq membres se composait d'échantillons contenant 0 à 100 corps d'inclusion de *C. trachomatis* par réaction (Cl/réact.) et 0 à 100 cellules *N. gonorrhoeae*/réact. Ce groupe de précision a été testé dans deux centres investigateurs et en interne. Chaque groupe a été testé en sextuple exemplaire deux fois par jour pendant trois jours. Comme aucune variabilité significative inter-série ou inter-centre n'a été constatée, les données ont été combinées et sont présentées dans le tableau 18. Aucune témoin positif ou négatif CT/GC non conforme n'a été observé dans l'étude de précision.

Aptitude/reproductibilité

Avant la collecte des données destinées à l'essai clinique, chaque technicien a traité et testé deux groupes d'aptitude. Un groupe se composait d'écouvillonnages ensemencés et l'autre groupe de tampon ensemencé pour simuler le test des échantillons d'urine. Chaque groupe d'écouvillonnages de 30 membres contenait 12 exemplaires par niveau, ensemencés avec 500 Cl/réact. (CT) et 500 cellules/réact. (GC), 12 exemplaires par niveau, ensemencés avec 50 Cl/réact. (CT) et 30 cellules/réact. (GC), ainsi que six échantillons non ensemencés. Chaque groupe d'échantillons d'urine de 30 membres contenait 12 exemplaires par niveau, ensemencés avec 600 Cl/réact. (CT) et 500 cellules/réact. (GC), 12 exemplaires par niveau, ensemencés avec 115 Cl/réact. (CT) et 100 cellules/réact. (GC), ainsi que six échantillons non ensemencés.

Les résultats de cette étude d'aptitude ont été combinés sur l'ensemble des 23 opérateurs et pour l'ensemble des échantillons (négatif, faiblement positif, fortement positif) pour évaluer la reproductibilité. Les estimations de reproductibilité sont présentées dans le tableau 19 en pourcentage obtenu comparativement au résultat attendu. Aucun témoin positif ou négatif CT/GC non conforme n'a été observé dans l'étude d'aptitude/reproductibilité. Dans trois centres investigateurs, des techniciens ayant différents niveaux d'expérience ont été désignés pour tester des groupes deux fois par jour afin de démontrer que la réalisation de plusieurs séries dans la même pièce le même jour est sans incidence sur les résultats. Aucune diminution de

nombre de résultats corrects n'a été constatée entre la première et la deuxième série. Des tests du khi² ont été effectués séparément pour comparer les écouvillonnages et les échantillons d'urine dans les deux séries. Aucune différence statistiquement significative n'a été observée (valeur de p pour les écouvillonnages : 0,1769 ; valeur de p pour les échantillons d'urine : 0,7691).

Études de stabilité de l'échantillon

Le transport et le stockage des échantillons à tester ont été évalués en utilisant les informations recueillies au cours des études cliniques et en réalisant des études analytiques internes. La majorité des échantillons cliniques ont été acheminés jusqu'au laboratoire sous 24 h, puis conservés réfrigérés ou à température ambiante et testés dans les quatre jours suivant le prélèvement.

Les recommandations allant dans le sens de deux jours de stabilité supplémentaires à une température comprise entre 2 et 8 °C sont basées sur des études internes effectuées sur des écouvillonnages et des échantillons d'urine ensemencés avec 200 CI de CT et 200 cellules GC environ par réaction. Les écouvillonnages et les échantillons d'urine ensemencés et non ensemencés ont été conservés dans des conditions réfrigérées et testés aux jours 0, 1, 2, 4, 5 et 6. Chaque échantillon positif ou négatif a été testé en triple exemplaire pour un total de 18 points expérimentaux positifs et 9 points expérimentaux négatifs chaque jour. Les données ont démontré que les écouvillonnages et les échantillons d'urine restaient stables jusqu'au jour 6. Les recommandations allant dans le sens de deux jours de stabilité supplémentaires de l'échantillon à une température comprise entre 15 et 27 °C sont basées sur des études internes réalisées comme décrit plus haut. Les données ont démontré que les écouvillonnages restaient stables jusqu'au jour 6.

En outre, une étude de stabilité distincte a été réalisée dans deux centres investigateurs pour vérifier la stabilité à température ambiante des écouvillonnages et des échantillons d'urine. Cinq écouvillonnages ont été effectués chez la femme (un pour AMP1 et quatre pour **BD ProbeTec ET**). Les échantillons d'urine ont été prélevés chez l'homme et la femme. Les échantillons de référence (jour 0) ont été traités dans les 24 h suivant le prélèvement. D'autres échantillons ont été maintenus à température ambiante et traités aux jours 2, 4 et 5. Chaque point a été comparé aux résultats obtenus avec **BD ProbeTec ET** le jour 0. **Résultats CT** : Parmi les 101 écouvillonnages, 29 étaient positifs et 57 négatifs à chaque point. Les résultats obtenus sur les 15 échantillons restants (14,9 %) présentaient une variabilité au jour le jour. Parmi les 107 échantillons d'urine, 27 étaient positifs et 68 négatifs à chaque point. Les résultats obtenus sur les 12 échantillons d'urine restants (11,2 %) présentaient une variabilité au jour le jour. **Résultats GC** : Parmi les 101 écouvillonnages, 28 étaient positifs et 67 négatifs à chaque point. Les résultats obtenus sur les 7 écouvillonnages restants (6,9%) présentaient une variabilité au jour le jour. Parmi les 107 échantillons d'urine, 30 étaient positifs et 69 négatifs à chaque point. Les résultats obtenus sur les 8 échantillons restants (7,5%) présentaient une variabilité au jour le jour. **Conclusion** : La variabilité au jour le jour pour les écouvillonnages et les échantillons d'urine allait de 5,6 à 10,9 % pour CT et 1,9 à 5,9 % pour GC. La variabilité au jour le jour des échantillons conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C n'a pas été étudiée.

Sensibilité analytique

La sensibilité analytique (limite de détection ou LDD) du test de détection d'ADN amplifié **BD ProbeTec ET** pour *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* a été déterminée en diluant 15 sérotypes de *C. trachomatis* et 39 souches de *N. gonorrhoeae* dans du diluant (CT/GC). Les cultures sur cellules titrées de CT ont été diluées à 0, 5, 15, 35, 70 et 200 CI par réaction pour chaque sérotype. Les cultures de CG sur cellules titrées ont été diluées à 0, 5, 10, 15 et 25 cellules par réaction pour chaque souche. Les échantillons ont été traités et dosés en triple exemplaire.

La LDD des sérotypes de *C. trachomatis* allait de 5 à 200 CI par réaction avec une médiane de 35 CI par réaction. Les 15 sérotypes de CT et la LDD correspondante indiquée entre parenthèses (exprimée en CI/réaction) sont les suivants : A (15), B (35), Ba (35), C (5), D (70), E (35), F (200), G (35), H (15), I (200), J (70), K (200), LGV-1 (35), LGV-2 (15), LGV-3 (35). La détermination quantitative de *C. trachomatis* (CT) sur la base des CI s'est avérée plus efficace et reproductible que le dosage par les unités formatrices d'inclusion (UFI). La détermination quantitative des UFI tend à plus de variabilité et donne toujours un résultat plus faible comparativement à la détermination quantitative des CI par immunofluorescence directe. Pour déterminer la corrélation entre la détermination quantitative par immunofluorescence directe et les titres UFI, tous les sérotypes ont été cultivés en culture tissulaire, puis les CI ont été prélevés et quantifiés par immunofluorescence directe et détermination quantitative des UFI. Pour chaque sérotype, le ratio des CI (quantifiés par immunofluorescence directe) sur les titres UFI a été calculé. Le ratio CI sur UFI moyen pour les 15 sérotypes (A à LGV-3) était de 167 CI par UFI. Pour le groupe STD (sérotypes CT D-K), le ratio moyen était de 317 CI par UFI. Les ratios sont représentatifs de la variation trouvée entre les sérotypes. Avec ces conversions, la sensibilité analytique du test pour CT serait < 1 UFI.

La LDD des 39 souches de *N. gonorrhoeae* allait de 5 à 25 cellules par réaction avec une médiane de 10 cellules par réaction. Ces souches comprenaient 14 souches ATCC (parmi lesquelles six auxotypes différents de *N. gonorrhoeae*) et 25 isolats cliniques recueillis dans des centres investigateurs éloignés géographiquement.

Spécificité analytique

Le tableau 20 (voir page 130) identifie les bactéries, virus et levures évalués avec les tests de détection d'ADN amplifié **BD ProbeTec ET** pour *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae*. Les isolats bactériens ont été testés en utilisant 10⁸ bactéries souches (CFU)/mL ou un nombre équivalent d'exemplaires d'ADN génomique, sauf indication contraire. Les virus ont été testés en utilisant 10⁸ unités donnant naissance à une plaque (PFU)/mL ou un nombre équivalent d'exemplaires d'ADN génomique. Les microorganismes testés comprennent ceux habituellement présents dans l'appareil urogénital ainsi que d'autres voies.

Pour *Chlamydia trachomatis*, tous les résultats étaient négatifs comme prévu.

Trois souches *N. cinerea* ont été testées avec le test **BD ProbeTec ET** pour GC. Parmi celles-ci, deux étaient systématiquement positives. Seize souches de *N. subflava* ont été testées en triple exemplaire. Deux souches étaient positives dans l'un des trois exemplaires testés. Lorsque les deux souches étaient préparées et testées de nouveau, tous les résultats étaient négatifs. Huit souches de *N. lactamica* ont été testées en triple exemplaire. Une souche était positive dans l'un des trois exemplaires testés. Lorsque la souche était préparée et testée de nouveau, tous les résultats étaient négatifs.

Substances interférentes

Les substances interférentes potentielles susceptibles d'être présentes dans les écouvillonnages et/ou dans les échantillons d'urine ont été testées avec le test de détection d'ADN amplifié **BD ProbeTec ET** pour *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae*. Les substances interférentes potentielles ont été évaluées en l'absence de cible ou avec 200 CI de CT par réaction (c.-à-d., 1000 CI/mL d'urine ou 4000 CI par écouvillonnage) et 200 cellules GC par réaction (c.-à-d., 1000 cellules/mL d'urine ou 4000 cellules par écouvillonnage). Les résultats sont résumés dans le tableau 21 (voir page 131).

CONDITIONNEMENT

Les produits **BD ProbeTec ET** suivants sont disponibles :

Réf.	Description
220142	Trousse de prélèvement d'échantillons endocervicaux BD ProbeTec ET pour le test de détection d'ADN amplifié de <i>Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae</i> (CT/GC), 100 unités.
220143	Trousse de prélèvement d'échantillons urétraux chez l'homme BD ProbeTec ET pour le test de détection d'ADN amplifié de <i>Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae</i> (CT/GC), 100 unités.
440450	Jeu de réactifs CT/GC/TA BD ProbeTec ET , 384 tests.
440451	Jeu de témoins CT/GC/TA BD ProbeTec ET , 20 témoins positifs et 20 témoins négatifs
440452	Tubes de diluant CT/GC/TA BD ProbeTec ET , 2 mL x 400.
440453	Diluant BD ProbeTec ET (CT/GC), 4 x 225 mL.
440455	Tubes échantillon et bouchons BD ProbeTec ET , 4 x 100.
440456	Bouchons BD ProbeTec ET , 4 x 100.
440457	Accessoires BD ProbeTec ET (20 couvercles d'amorçage, bandes d'étanchéité pour l'amplification et sacs à déchets, 20 de chaque).
440458	Embouts de pipette BD ProbeTec ET , 6 x 120.
440461	Trousse de prélèvement et de TRANSPORT À SEC d'échantillons urétraux chez l'homme BD ProbeTec ET pour le test de détection d'ADN amplifié de <i>Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae</i> (CT/GC), 1 x 100.
440476	Trousse de prélèvement et de TRANSPORT À SEC d'échantillons endocervicaux BD ProbeTec ET pour le test de détection d'ADN amplifié de <i>Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae</i> (CT/GC), 100 de chaque.
440454	Trousse de traitement de l'urine BD ProbeTec ET , 4 x 25.
440474	Jeu de réactifs CT/TA BD ProbeTec ET , 384 tests.
440477	Instrument BD ProbeTec ET ; sauf États-Unis.
440478	Instrument BD ProbeTec ET ; États-Unis et Canada.
440479	Bloc chauffant d'amorçage et de préchauffage BD ProbeTec ET , 220 V.
440480	Bloc chauffant d'amorçage et de préchauffage BD ProbeTec ET , 120 V.
440482	Bloc chauffant de lyse BD ProbeTec ET , 220 V.
440483	Bloc chauffant de lyse BD ProbeTec ET , 120 V.
440487	Multipipette BD ProbeTec ET .
440502	Portoir de lyse BD ProbeTec ET .
440704	Jeu de réactifs CT BD ProbeTec ET , 384 tests.
440705	Jeu de réactifs CT/GC BD ProbeTec ET , 384 tests.
440928	BD ProbeTec Urine Preservative Transport Kit , 100/boîte.

Les souches suivantes sont disponibles auprès de

American Type Culture Collection (ATCC)
10801 University Boulevard
Manassas, VA 20110-2209, USA.
Chlamydia trachomatis LGV2, réf. ATCC VR-902B
Neisseria gonorrhoeae, réf. ATCC 19424.

RÉFÉRENCES

Voir la section « References » dans la notice en anglais.

BD Amplifizierte DNA-Tests BD ProbeTec ET für *Chlamydia trachomatis* und *Neisseria gonorrhoeae*

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Die amplifizierten DNA-Tests **BD ProbeTec ET** für *Chlamydia trachomatis* (CT) und *Neisseria gonorrhoeae* (GC) verwenden für Tests mit dem **BD ProbeTec ET**-System die Technologie der Strangverdrängungsamplifizierung (SDA) für den direkten, qualitativen Nachweis von *Chlamydia trachomatis*- und *Neisseria gonorrhoeae*-DNA in Endozervikalabstrichen, in männlichen Harnröhrenabstrichen sowie in Urinproben von Frauen und Männern als Anzeichen einer Infektion mit *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* oder gleichzeitigen Infektionen mit *C. trachomatis* und *N. gonorrhoeae*. Es können Proben von symptomatischen und asymptomatischen weiblichen und männlichen Patienten verwendet werden. Eine separate Amplifizierungskontrolle steht optional für Inhibitionstests zur Verfügung (**BD ProbeTec ET CT/GC/AC**-Reagenzienpackung). Die **BD ProbeTec ET CT/GC**-Tests können entweder nur mit dem **BD ProbeTec ET**-System oder mit der Kombination aus **BD ProbeTec ET**-System und **BD Viper**-Gerät durchgeführt werden.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Infektionen mit *Chlamydia trachomatis* und *Neisseria gonorrhoeae* stellen in den USA die am häufigsten übertragenen bakteriellen Geschlechtskrankheiten dar. In den Vereinigten Staaten treten jährlich schätzungsweise 4 Millionen neue Chlamydia-Fälle auf und weltweit etwa 50 Millionen neue Fälle pro Jahr.¹⁻³ Im Jahre 1996 betrug die Häufigkeit von Chlamydia-Infektionen bei Frauen in den USA 186,6 pro 100.000. Die Gesamtanzahl der in den USA im Jahre 1996 gemeldeten Chlamydia-Infektionen und Gonorrhoe-Fälle betrug 490.080 bzw. 325.883.²

Chlamydiae sind gramnegative, obligate intrazelluläre Bakterien. Sie bilden charakteristische intrazelluläre Einschlüsse, die nach spezieller Färbung unter dem Lichtmikroskop in der Zellkultur erkennbar sind.⁴ *Chlamydia trachomatis* verursacht bei Frauen Zervixentzündung, Harnleiterentzündung, Eileiterentzündung, Mastdarmentzündung und Gebärmutter-schleimhautentzündung; bei Männern kommt es zu Harnleiterentzündung, Nebenhodenentzündung und Mastdarmentzündung. Akute Infektionen werden öfter bei Männern berichtet, da die Infektion bei Frauen oftmals keine Symptome zeigt. Schätzungen zufolge bemerken 70 – 80 % der infizierten Frauen und bis zu 50 % der infizierten Männer keine Symptome. Bei Frauen bleiben viele Chlamydia-Infektionen unbehandelt, was zu einer leichten Entzündung der Eileiter und damit zu einem der wichtigsten Unfruchtbarkeitsfaktoren führen kann. Außerdem kann der Organismus auch innerhalb des Geburtskanals übertragen werden und somit evtl. beim Säugling zu Bindehautentzündung und/oder zu Chlamydienpneumonie führen.^{4,5}

Neisseria gonorrhoeae sind gramnegative, oxidasepositive Diplokokken, die in gram-gefärbten Ausstrichen von Harnröhrenauscheidungen (gewöhnlich in Neutrophilen) zu finden sind. Die Kultivierung von *N. gonorrhoeae* kann schwierig

sein, da der Organismus außerhalb des Wirts nicht lange lebensfähig bleibt und äußerst anfällig für abträgliche Umgebungsbedingungen, wie z.B. Trockenheit und extreme Temperaturen, ist.⁶ *Neisseria gonorrhoeae* verursacht bei Männern akute Harnleiterentzündungen, die sich bei ausbleibender Behandlung zu Nebenhodenentzündung, Prostataentzündung und Harnröhrenstriktur fortentwickeln können. Bei Frauen ist der primäre Entzündungsbereich der Zervikalkanal. Eine bedeutende Komplikation bei Frauen ist die Entwicklung von ascendierender Adnexitis (Pelvic inflammatory disease, PID), einem Unfruchtbarkeitsfaktor.⁷ Asymptomatische Infektionen liegen bei Frauen häufig, bei Männern selten vor.

Zu den aktuellen Nachweismethoden für *C. trachomatis* und/oder *N. gonorrhoeae* zählen Kultivierung, Immunoassays, nicht amplifizierte Abstriche und amplifizierte Abstriche.^{4,6,7} Die Entwicklung der Methoden mit Amplifizierung machte zwei Vorteile gegenüber Methoden ohne Amplifizierung offensichtlich: erhöhte Empfindlichkeit und Anwendbarkeit auf eine Reihe von Probenarten. Bisher war die Kultivierung der „goldene Standard“ für den Nachweis von *C. trachomatis*. Jedoch fielen die Kultur-Ergebnisse von Labor zu Labor stark unterschiedlich aus, und die Kultivierung als routinemäßige Maßnahme ist außerdem weniger empfindlich als Amplifizierungsmethoden. Durch Kombination der Ergebnisse mehrerer CT-Nachweismethoden erhöht sich die Auswertungsgenauigkeit neuer Tests, da infizierte und nicht infizierte Patienten zuverlässiger identifiziert werden können. Was die Identifizierung von GC betrifft, so sind auch weiterhin optimierte Kultivierungsmethoden die standardmäßige Vorgehensweise zur Diagnostizierung von Patienten mit Gonokokken-Infektionen.

Die amplifizierten DNA-Tests **BD ProbeTec ET** für *Chlamydia trachomatis* und *Neisseria gonorrhoeae* verwenden für Tests mit dem **BD ProbeTec ET**-System die Technologie der homogenen Strangverdrängungsamplifizierung (SDA) als Amplifizierungsmethode und den Fluoreszenz-Energietransfer (ET) als Nachweismethode bei Tests auf *C. trachomatis*- und *N. gonorrhoeae*-DNA in klinischen Proben.⁸⁻¹⁰

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Die amplifizierten DNA-Tests **BD ProbeTec ET** für *Chlamydia trachomatis* und *Neisseria gonorrhoeae* beruhen auf dem gleichzeitigen Amplifizieren und Nachweisen der Ziel-DNA mit Hilfe von Amplifizierungs-Primern und einer mit fluoreszierendem Farbstoff markierten Nachweissonde.^{9,10} Die SDA-Reagenzien werden in zwei separaten verwerfaren Streifen mit Mikroschälchen getrocknet. Die aufbereitete Probe wird in das Priming-Mikroschälchen gegeben, das bereits die Amplifizierungs-Primer, eine mit fluoreszierendem Farbstoff markierte Nachweissonde und sonstige, für die Amplifizierung erforderliche Reagenzien enthält. Nach einer Inkubation wird das Reaktionsgemisch in das Amplifizierungs-Mikroschälchen transferiert, das zwei für die SDA-Reaktion erforderliche Enzyme enthält (eine DNA-Polymerase und eine Restriktionsendonuklease). Die Amplifizierungs-Mikroschälchen werden verschlossen, um Kontaminierungen zu vermeiden und anschließend in einem temperaturregulierten Fluoreszenzmeßgerät inkubiert, das jede Reaktion im Hinblick auf die Entstehung von Amplifizierungsprodukten überwacht. Das Vorliegen bzw. die Abwesenheit von CT und GC wird anhand des Bezugs zwischen den Werten der **BD ProbeTec ET-MOTA** (Methode, bei der es sich nicht um eine Beschleunigungsmethode handelt) und bereits festgelegten Schwellenwerten erkannt. Der MOTA-Wert ist ein Maßstab zur Beurteilung der Stärke des sich bei der Reaktion ergebenden Signals.

Diese Packungsbeilage erläutert die Testverfahren für zwei Assay-Kitkonfigurationen: für die CT/GC-Reagenzienpackung und für die CT/GC/AC-Reagenzienpackung. Bei Verwendung der CT/GC-Reagenzienpackung werden die einzelnen Proben und Kontrollen in zwei separaten Mikroschälchen getestet: einem für *C. trachomatis* und einem für *N. gonorrhoeae*. Bei Verwendung der CT/GC/AC-Reagenzienpackung werden die einzelnen Proben und Kontrollen in drei separaten Mikroschälchen getestet: einem für *C. trachomatis*, einem für *N. gonorrhoeae* und einem für die Amplifizierungskontrolle. Die Amplifizierungskontrolle dient zur Identifizierung von Proben, die die SDA-Reaktion hemmen könnten.

REAGENZIEN

Jede **BD ProbeTec ET** CT/GC-Reagenzienpackung enthält:

Priming-Mikroschälchen für *Chlamydia trachomatis* (CT), 4 x 96:

4 Oligonukleotide ≥ 7 pmol; dNTP ≥ 35 nmol; Nachweissonde ≥ 25 pmol; Puffer und Stabilisatoren.

Priming-Mikroschälchen für *Neisseria gonorrhoeae* (GC), 4 x 96:

4 Oligonukleotide ≥ 7 pmol; dNTP ≥ 35 nmol; Nachweissonde ≥ 25 pmol; Puffer und Stabilisatoren.

Amplifizierungs-Mikroschälchen für *Chlamydia trachomatis* (CT), 4 x 96:

Restriktionsenzym ≥ 30 Einheiten; DNA-Polymerase ≥ 25 Einheiten; dNTPs ≥ 80 nmol; Puffer und Stabilisatoren.

Amplifizierungs-Mikroschälchen für *Neisseria gonorrhoeae* (GC), 4 x 96:

Restriktionsenzym ≥ 15 Einheiten; DNA-Polymerase ≥ 2 Einheiten; dNTPs ≥ 80 nmol; Puffer und Stabilisatoren.

Neben den obengenannten Reagenzien enthält die **BD ProbeTec ET-CT/GC/AC-Reagenzienpackung** außerdem:

Priming-Mikroschälchen für Amplifizierungskontrolle (AC), 4 x 96:

4 Oligonukleotide ≥ 7 pmol; dNTP ≥ 35 nmol; Nachweissonde ≥ 25 pmol; ≥ 1000 Kopien pro Reaktion eines linearisierten pGC10-Plasmids; Puffer und Stabilisatoren.

Amplifizierungs-Mikroschälchen für Amplifizierungskontrolle (AC), 4 x 96:

Restriktionsenzym ≥ 15 Einheiten; DNA-Polymerase ≥ 2 Einheiten; dNTPs ≥ 80 nmol; Puffer und Stabilisatoren.

HINWEIS: Außerdem enthält jeder Beutel mit Mikroschälchen einen Trockenmittelbeutel.

Zubehör: Priming-Abdeckungen; Amplifizierungsdeckelsiegel, je 40; Entsorgungsbeutel, je 20.

BD ProbeTec ET (CT/GC)-Kontrollen-Set, 20 CT/GC-positive Kontrollen (50 μ L, getrocknet), mit 750 Kopien pro Reaktion des linearisierten pCT16-Plasmids* und 250 Kopien pro Reaktion des linearisierten pGC10-Plasmids* mit ≥ 5 μ g Lachshoden-DNA; 20 CT/GC-negative Kontrollen (50 μ L, getrocknet) mit ≥ 5 μ g Lachshoden-DNA; **BD ProbeTec ET** CT/GC-Verdünnungsmittlröhrchen – 400 Röhrchen mit je 2 mL Probenverdünnungsmittel, das Kaliumphosphat, DMSO, Glycerol, Polysorbat 20 und 0,03 % Proclin (Konservierungsmittel) enthält; **BD ProbeTec ET** Verdünnungsmittel (CT/GC) – 225 mL Probenverdünnungsmittel, das Kaliumphosphat, DMSO, Glycerol, Polysorbat 20 und 0,03 % Proclin (Konservierungsmittel) enthält.

*Die Konzentration dieser DNA wurde mit Hilfe eines Spektralphotometers bei 260 nm ermittelt.

Gerät, Utensilien und Verbrauchsmaterialien: **BD ProbeTec ET**-Gerät und Geräteplatten, **BD ProbeTec ET**-Lysierblock, Lysierständer und Sockel, **BD ProbeTec ET**-Priming- und Wärmeblock, **BD ProbeTec ET**-Pipette und Stromversorgung, **BD ProbeTec ET**-Urinaufbereitungsbeutel, **BD ProbeTec** Urinkonservierungs- und -Transportkit, **BD ProbeTec ET**-Probenröhrchen, Kappen und Pipettenspitzen, Kit für die endozervikale Entnahme und den TROCKENTRANSPORT von Proben für den amplifizierten DNA-Test oder für die endozervikale Entnahme von Proben für den amplifizierten DNA-Test **BD ProbeTec ET** für *Chlamydia*

trachomatis/Neisseria gonorrhoeae (CT/GC), Kit für die urethrale (m) Entnahme und den TROCKENTRANSPORT von Proben für den amplifizierten DNA-Test oder Kit für die urethrale (m) Entnahme von Proben für den amplifizierten DNA-Test.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Material: Zentrifuge mit einer Leistung von 2000 x g, Vortexmischer, Handschuhe, Pipetten mit Abgabekapazitäten von 1 mL, 2 mL and 4 mL, ELIMINase, DNA AWAY oder 1-%iges (V/V) Natriumhypochlorit mit Alconox*, saubere Behälter für die Aufnahme der Verdünnungsmittel-Aliquots, Zeitschaltuhr und saugfähiges Papier, sterile Urinprobenentnahmegefäße.

*200 mL Bleiche mit 800 mL warmem Wasser mischen. 7,5 g Alconox zugeben und mischen. Täglich frisch herstellen.

Aufbewahrung und Handhabung: Die Reagenzien können bei 2 – 33 °C aufbewahrt werden. Ungeöffnet sind die Reagenzienpackungen bis zum Verfallsdatum stabil. Nach dem Öffnen des Beutels sind die ordnungsgemäß verschlossenen Mikroschälchen 4 Wochen lang stabil bzw. bis zum Verfallsdatum (es gilt der jeweils frühere Zeitpunkt). Nicht einfrieren.

Warnhinweise und Sicherheitshinweise:

in-vitro-Diagnostikum.

1. Diese Reagenzienpackung ist zur Verwendung für Endozervikal-Abstriche und Abstriche aus der männlichen Harnröhre sowie für Urinproben von Männern und Frauen bestimmt, die mit Hilfe des **BD ProbeTec** ET-Systems getestet werden sollen.
2. Für die Entnahme von Endozervikalabstrichen wurden ausschließlich der Kit für die endozervikale Entnahme und den TROCKENTRANSPORT von Proben für den amplifizierten DNA-Test **BD ProbeTec** ET für *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) und der Kit für die endozervikale Entnahme von Proben für den amplifizierten DNA-Test **BD ProbeTec** ET für *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) validiert.
3. Für die Abstrichentnahme aus der männlichen Harnröhre wurden ausschließlich der Kit für die urethrale (m) Entnahme und den TROCKENTRANSPORT von Proben für den amplifizierten DNA-Test **BD ProbeTec** ET für *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) und der Kit für die urethrale (m) Entnahme von Proben für den amplifizierten DNA-Test **BD ProbeTec** ET für *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) validiert.
4. Für Urinproben wurden nur der **BD ProbeTec** ET Urinaufbereitungsbeutel (UPP), der **BD ProbeTec** Urin-Konservierungs- und -Transportkit (UPT) sowie nicht konservierter (unverdünnter) Urin validiert.
5. Das **BD ProbeTec** Urinkonservierungs- und -Transportkit (UPT) enthält **NAP Guard** ($\geq 742,5$ mM K_2EDTA). **NAP Guard** kann Augen, Haut und Atemwege reizen. Bei Berührung mit den Augen sofort das geöffnete Auge gründlich mit Wasser spülen und bei Anhalten der Symptome Arzt konsultieren. Bei Hautkontakt sofort mit viel Seife und Wasser abwaschen. Bei Einatmen Arzt konsultieren, wenn Probleme auftreten.
6. Andere Abstrich- oder Urinentnahme und -transportsysteme können laborintern zur Verwendung mit den **BD ProbeTec** ET CT/GC-Tests validiert werden, wobei folgende Richtlinien zu beachten sind: "Verification and Validation Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory", Cumitech 31, B.L. Elder et al., American Society for Microbiology, Washington D.C., February, 1997.
7. Das Labor sollte CT/GC-Verdünnungsmittelröhrchen der Entnahme-Kits für den amplifizierten Test **BD ProbeTec** ET CT/GC nur bei Vorliegen des Tupferstäbchens analysieren. Ansonsten kann es zu fälschlicherweise negativen Testergebnissen kommen.
8. Für den Transfer aufbereiteter Proben in die Priming-Mikroschälchen und den Probentransfer aus den Priming-Mikroschälchen in die Amplifizierungs-Mikroschälchen ausschließlich die **BD ProbeTec** ET-Pipette und **BD ProbeTec** ET-Pipettenspitzen verwenden.
9. Reagenzien aus Kits mit verschiedenen Chargennummern nicht gegeneinander austauschen oder kombinieren.
10. Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z.B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“¹¹⁻¹⁴ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten.
11. Bei der Entsorgung gebrauchter Pipettenspitzen, Probenröhrchen, Priming-Mikroschälchen und sonstiger Einmal-Artikel sind etablierte einschlägige Laborverfahren anzuwenden. Die Einmal-Artikel sorgfältig entsorgen. Abfallbehälter verschließen und entsorgen, sobald sie zu 3/4 gefüllt sind oder auch täglich (je nachdem, was früher zutrifft).
12. Das **BD ProbeTec** ET-Verdünnungsmittel (CT/GC) und das CT/GC-Verdünnungsmittelröhrchen enthalten Dimethylsulfoxid (DMSO). DMSO ist beim Einatmen, bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken gesundheitsschädlich. Kontakt mit den Augen vermeiden. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztliche Hilfe hinzuziehen. Falls es zu Hautkontakt kommt, sofort mit reichlich Wasser abwaschen.
13. Reagenzienbeutel mit nicht verwendeten Priming-Mikroschälchen und Amplifizierungs-Mikroschälchen nach dem Öffnen UNBEDINGT wieder sorgfältig verschließen. Vor dem Verschließen der Reagenzienbeutel sicherstellen, daß Trockenmittel vorhanden ist.
14. Die Platte mit den Amplifizierungs-Mikroschälchen MUSS vor dem Verlegen der Platte aus dem **BD ProbeTec** ET-Priming- und Wärmeblock in das **BD ProbeTec** ET-Gerät mit Amplifizierungsdeckelsiegeln verschlossen werden. Das Verschließen sorgt für einen geschlossenen Reaktionsverlauf von Amplifizierung und Nachweis und ist notwendig, um eine Kontaminierung des Geräts und des Arbeitsbereichs mit Amplifizierungsprodukten zu verhüten. **Die Abdeckung keinesfalls von den Mikroschälchen entfernen.**
15. Priming-Mikroschälchen mit Flüssigkeitsresten (nach dem Transfer der Flüssigkeit aus den Priming-Mikroschälchen in die Amplifizierungs-Mikroschälchen) stellen eine mögliche Ziel-Kontaminierungsquelle dar. Die Priming-Mikroschälchen vor dem Entsorgen gut mit Plattendeckelsiegeln verschließen.
16. Zur Entsorgung der Amplifizierungs-Mikroschälchen nach dem Test die in den Reagenzienpackungen enthaltenen Entsorgungsbeutel verwenden, um eine Kontaminierung des Arbeitsbereichs mit Amplifizierungsprodukten zu verhüten. Vor der Entsorgung sicherstellen, daß die Beutel ordnungsgemäß verschlossen sind.
17. Aufgrund der **BD ProbeTec** ET-Konstruktion, die das Amplifizierungs-Kontaminierungsrisiko im Testbereich reduziert, ist zwar kein dedizierter Arbeitsbereich erforderlich, jedoch müssen anderweitige Vorsichtsmaßnahmen, insbesondere zur Verhütung von Probenkontaminationen während der Aufbereitung, getroffen werden.
18. Aufgrund des Potentials für fälschlicherweise positive Ergebnisse bei einigen nicht auf Gonokokken zurückführbaren *Neisseria*-Infektionen der Atemwege (siehe Punkt 19 unter „Verfahrensbeschränkungen“), ist eine Kontaminierung von Reagenzien und Proben mit Atemwegs-Aerosolen zu vermeiden.
19. Nach dem Entfernen und Verwerfen der Kappen von lysierten Proben und Kontrollen die HANDSCHUHE WECHSELN, um eine Kreuzkontaminierung der Proben zu verhüten. Sollten die Handschuhe mit den Proben in Berührung kommen oder feucht erscheinen, sind sie unverzüglich zu wechseln, um keine anderen Proben zu kontaminieren. Handschuhe vor dem Verlassen des Arbeitsbereichs und beim erneuten Betreten des Arbeitsbereichs wechseln.

20. Sollten Arbeitsbereich oder Gerätschaften durch Proben oder Kontrollen kontaminiert werden, den kontaminierten Bereich mit ELIMINase, DNA AWAY oder 1-%igem (V/V) Natriumhypochlorit mit Alconox reinigen und gründlich mit Wasser spülen. Die Fläche vor weiteren Arbeiten vollständig trocknen lassen.
21. Bei Verschüttungen am Lysierständer: Der Ständer kann 1 – 2 min lang in ELIMINase, DNA AWAY oder 1-%igem (V/V) Natriumhypochlorit mit Alconox getaucht werden, jedoch nicht länger als 2 min lang. Den Ständer gründlich mit Wasser spülen und an der Luft trocknen lassen.
22. Den gesamten Arbeitsbereich (Arbeitsflächen und Geräteoberflächen) täglich mit ELIMINase, DNA AWAY oder 1-%igem (V/V) Natriumhypochlorit mit Alconox reinigen. Gründlich mit Wasser spülen. Vor weiteren Tests alle Flächen vollständig trocknen lassen.
23. In Sonderfällen, wie bspw. bei Verschüttungen im **BD ProbeTec** ET-Gerät oder DNA-Kontaminierungen, die sich nicht bereinigen lassen, den technischen Kundendienst verständigen.

PROBENENTNAHME UND TRANSPORT

Das **BD ProbeTec** ET-System dient zum Nachweis von *Chlamydia trachomatis* und *Neisseria gonorrhoeae* in Endozervikalabstrichen, Harnröhrenabstrichen von Männern sowie in Urinproben von Männern und Frauen (gewonnen mit der jeweils geeigneten Entnahmemethode).

Zur Entnahme von Abstrichproben für Tests am **BD ProbeTec** ET-Gerät wurden ausschließlich folgende Vorrichtungen validiert:

- Kit für die endozervikale Entnahme und den TROCKENTRANSPORT von Proben für den amplifizierte DNA-Test **BD ProbeTec** ET für *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC)
- Kit für die urethrale (m) Entnahme und den TROCKENTRANSPORT von Proben für den amplifizierte DNA-Test **BD ProbeTec** ET für *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC)
- Kit für die endozervikale Entnahme von Proben für den amplifizierte DNA-Test **BD ProbeTec** ET für *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC)
- Kit für Entnahme von Harnröhrenabstrichproben von Männern für den amplifizierte DNA-Test **BD ProbeTec** ET für *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC)

Für den Versand im In- und Ausland sind die Proben gemäß den jeweils geltenden gesetzlichen Bestimmungen für den Transport von medizinischen Proben und Krankheitserregern bzw. infektiösen Substanzen zu beschriften. Für den Transport sind die maximalen Lagerzeiten und die Temperaturbedingungen für die Lagerung einzuhalten.

Urinproben in einem sterilen Kunststoff-Probennahmegefäß ohne Konservierungsmittel auffangen. Für Urinproben wurden nur die **BD ProbeTec** ET Urinaufbereitungsbeutel (UPP), die **BD ProbeTec** Urin-Konservierungs- und -Transportkits (UPT) sowie nicht konservierter (unverdünnter) Urin validiert.

Entnahme von Abstrichproben

Entnahme von Endozervikalabstrichproben mit Hilfe des Kits für die endozervikale Entnahme und den TROCKENTRANSPORT von Proben für den amplifizierte DNA-Test **BD ProbeTec** ET CT/GC:

1. Überschüssigen Schleim mit dem großen Reinigungstopfer des Kits für die endozervikale Entnahme und den TROCKENTRANSPORT von Proben für den amplifizierte DNA-Test **BD ProbeTec** ET CT/GC vom Os cervicale entfernen und entsorgen.
2. Das Stäbchen für die endozervikale Probenentnahme und den TROCKENTRANSPORT in den Zervikalkanal einführen und dort 15 bis 30 s lang drehen.
3. Das Stäbchen vorsichtig herausziehen. Kontakt mit der Vaginalschleimhaut vermeiden.
4. Das Stäbchen mit der Kappe sofort in das Transportröhrchen einführen. Dabei darauf achten, daß das Röhrchen fest mit der Kappe verschlossen ist.
5. Das Röhrchen mit Patientendaten und Datum/Uhrzeit der Probenentnahme beschriften.

Entnahme von Endozervikalabstrichproben mit Hilfe des Kits für die endozervikale Entnahme von Proben für den amplifizierte DNA-Test **BD ProbeTec** ET CT/GC:

1. Den Reinigungstopfer aus der Packung nehmen.
2. Überschüssigen Schleim mit dem Reinigungstopfer vom Os cervicale entfernen und entsorgen.
3. Den gebrauchten Reinigungstopfer **entsorgen**.
4. Das Probenentnahmestäbchen aus der Packung nehmen.
5. Das Probenentnahmestäbchen in den Zervikalkanal einführen und dort 15 bis 30 s lang drehen.
6. Das Stäbchen vorsichtig herausziehen. Kontakt mit der Vaginalschleimhaut vermeiden.
7. Die Kappe des CT/GC-Verdünnungsmittelröhrchens entfernen.
8. Das Probenentnahmestäbchen vollständig in das CT/GC-Verdünnungsmittelröhrchen einführen.
9. Den Schaft des Stäbchens an der Einkerbung abbrechen. Darauf achten, daß der Inhalt nicht verspritzt.
10. Das Röhrchen wieder **fest** verschließen.
11. Das Röhrchen mit Patientendaten und Datum/Uhrzeit der Probenentnahme beschriften.
12. Zum Labor transportieren.

Entnahme von Harnröhrenabstrichproben von Männern mit Hilfe des Kits für die urethrale (m) Entnahme und den TROCKENTRANSPORT von Proben für den amplifizierte DNA-Test **BD ProbeTec** ET CT/GC:

1. Das Stäbchen für die Probenentnahme aus der männlichen Harnröhre und den TROCKENTRANSPORT 2 bis 4 cm weit in die Harnröhre einführen und dort 3 bis 5 s lang drehen.
2. Das Stäbchen herausziehen und mit der Kappe sofort in das Transportröhrchen einführen. Dabei darauf achten, daß das Röhrchen fest mit der Kappe verschlossen ist.
3. Das Röhrchen mit Patientendaten und Datum/Uhrzeit der Probenentnahme beschriften.

Entnahme von Harnröhrenabstrichproben von Männern mit Hilfe des Kits für die urethrale (m) Entnahme für den amplifizierte DNA-Test **BD ProbeTec** ET CT/GC:

1. Das Stäbchen aus der Packung nehmen.
2. Das Probenentnahmestäbchen 2 bis 4 cm weit in die Harnröhre einführen und dort 3 bis 5 s lang drehen.
3. Das Stäbchen vorsichtig herausziehen.

4. Die Kappe des CT/GC-Verdünnungsmittelröhrchens entfernen.
5. Das Stäbchen vollständig in das CT/GC-Verdünnungsmittelröhrchen einführen.
6. Den Schaft des Stäbchens an der Einkerbung abbrechen. Darauf achten, daß der Inhalt nicht verspritzt.
7. Das Röhrchen wieder **fest** verschließen.
8. Das Röhrchen mit Patientendaten und Datum/Uhrzeit der Probenentnahme beschriften.
9. Zum Labor transportieren.

Lagerung und Transport des Stäbchens

Nach der Probenentnahme sind die Stäbchen für die endozervikale Probenentnahme bzw. die Probenentnahme aus der männlichen Harnröhre bei 2 bis 27 °C aufzubewahren und innerhalb von 4 bis 6 Tagen zum Labor oder Testzentrum zu transportieren. Die Lagerung bis zu 4 Tagen wurde anhand klinischer Proben validiert. Die Lagermöglichkeit bis zu 6 Tagen wurde anhand von künstlich kontaminierten Proben nachgewiesen. Siehe „Leistungsmerkmale“.

HINWEIS: Wenn die Proben nicht direkt bei Raumtemperatur (15 – 27 °C) ins Testlabor gebracht werden können, sondern versandt werden müssen, sollte dies in einem isolierten Behälter mit Eis erfolgen, und zwar durch einen Kurierdienst, der eine 24- oder jedenfalls 48-h-Zustellung anbietet.

Entnahme, Aufbewahrung und Transport von Urinproben

Die Probe in einem sterilen, konservierungsmittelfreien Probenentnahmegefäß aus Kunststoff sammeln. Urinproben können auf drei verschiedene Arten aufbewahrt und transportiert werden - (1) nicht konserviert (unverdünnt), (2) unter Verwendung des **BD ProbeTec** Urin-Konservierungsmittel- und -Transportkits (UPT) und (3) unter Verwendung des **BD ProbeTec ET** Urinaufbereitungsbeutels (UPP). Die folgende Tabelle bietet eine Zusammenfassung von Aufbewahrungs- und Transportbedingungen für unverdünnten Urin, UPT und UPP.

Art der zu verarbeitenden Urinprobe	UNVERDÜNT			UPT			UPP		
				Bei 2-30 °C gelagerter Urin - Innerhalb von 8 h nach Entnahme in UPT überführen	Bei 2-8 °C gelagerter Urin - Innerhalb von 24 h nach Entnahme in UPT überführen		UPP am Entnahmeort hinzugefügt		UPP am Testzentrum hinzugefügt
Temperaturbedingungen für Transport zum Testzentrum und Lagerung	2-30 °C	2-8 °C	- 20 °C	2-30 °C	2-30 °C	-20 °C	Transport zum Labor bei 2-8 °C	Transport zum Labor bei 15-27 °C	Transport to zum Labor bei 2-8° C
Proben nach Anweisung verarbeiten	Innerhalb von 30 h nach Entnahme	Innerhalb von 7 Tagen nach Entnahme	Innerhalb von 2 Monaten nach Entnahme	Innerhalb 30 Tagen nach Überführung in UPT	Innerhalb 30 Tagen nach Überführung in UPT	Innerhalb 2 Monaten nach Überführung in UPT	Innerhalb von 4-6 Tagen nach Entnahme	Innerhalb von 2 Tagen nach Entnahme	Innerhalb von 4-6 Tagen nach Entnahme

Nicht konservierter, (unverdünnter) Urin

Entnahme

1. Der Patient sollte vor der Probenentnahme mindestens 1 h lang den Harn verhalten haben.
2. Die Probe in einem sterilen, konservierungsmittelfreien Urinentnahmegefäß aus Kunststoff sammeln.
3. Der Patient sollte die ersten 15-60 mL Urin (Teil des ersten Urinstrahls - NICHT den Mittelstrahl) in einem Urinentnahmegefäß sammeln.
4. Das Urinentnahmegefäß mit Deckel versehen und mit Patientendaten und Datum/Zeit der Entnahme beschriften.

Lagerung und Transport

1. Unverdünnten Urin vom Entnahmeort zum Testzentrum bei 2-30 °C lagern und transportieren.
2. Probenverarbeitung muss bei Lagerung bei 2-30 °C innerhalb von 30 h nach Entnahme erfolgen, oder bei Lagerung bei 2-8 °C innerhalb von 7 Tagen nach Entnahme.

HINWEIS: Der Probenversand sollte in einem isolierten Behälter mit Eis erfolgen, und zwar durch einen Kurierdienst, der eine 24- oder 48-H-Zustellung anbietet. Lagerung von bis zu 7 Tagen bei 2-8 °C wurde an kontaminierten Proben gezeigt.

Bei Verwendung eines **BD ProbeTec** Urin-Konservierungs und -Transportkits (UPT)

Entnahme

1. Der Patient sollte vor der Probenentnahme mindestens 1 h lang den Harn verhalten haben.
2. Die Probe in einem sterilen, konservierungsmittelfreien Urinentnahmegefäß aus Kunststoff sammeln.
3. Der Patient sollte die ersten 15-60 mL Urin (Teil des ersten Urinstrahls - NICHT den Mittelstrahl) in einem Urinentnahmegefäß sammeln.
4. Das Urinentnahmegefäß mit Deckel versehen und mit Patienten-Identifizierung und Datum/Zeit der Entnahme beschriften.

Überführung von Urin zu UPT

HINWEIS: Urin sollte bei einer Lagerung bei 2-30 °C innerhalb von 8 h nach der Probenentnahme aus dem Entnahmegefäß in das UPT übertragen werden. Urin kann bei einer Temperatur von 2-8°C für bis zu 24 h aufbewahrt werden, bevor er in das UPT übertragen wird.

Bei der Handhabung des UPT und der Urinprobe saubere Handschuhe tragen. Sollten die Handschuhe mit den Proben in Berührung kommen, sind sie unverzüglich zu wechseln, um keine weiteren Proben zu kontaminieren.

1. Nachdem der Patient die Urinprobe gesammelt hat, das Urinentnahmegefäß beschriften.
2. Das Urin-Konservierungs- und -Transportkit öffnen und das UPT und die Transferpipette entnehmen. Das UPT mit Patientendaten und Datum/Uhrzeit der Probenentnahme beschriften.

3. Das UPT aufrecht halten und mit dem Boden des Röhrchens einige Male fest auf eine ebene Fläche klopfen, um eventuelle größere Tropfen aus dem Inneren der Kappe zu entfernen. Diesen Schritt, falls erforderlich, wiederholen.
4. Die Kappe des UPT entfernen und mit der Transferpipette Urin in das Röhrchen übertragen. Es wurde die korrekte Urinmenge überführt, wenn sich der Flüssigkeitsstand zwischen den schwarzen Linien im Füllfenster des UPT-Etiketts befindet. Dieses Volumen entspricht ungefähr 2,5-3,45 mL Urin. Das Röhrchen DARF NICHT über- oder unterfüllt werden.
5. Die Transferpipette entsorgen. HINWEIS: Die Transferpipette ist nur für den Einmalgebrauch mit einer einzelnen Probe bestimmt.
6. Die Kappe wieder fest auf das UPT aufsetzen.
7. Das UPT 3 - 4mal umdrehen, um eine gründliche Mischung von Probe und Reagens zu gewährleisten.

Aufbewahrung und Transport des UTP

Urinproben müssen im UPT bei 2-30 °C gelagert, transportiert und innerhalb von 30 Tagen nach der Probenentnahme verarbeitet werden. Proben können tief gefroren bei -20 °C bis zu zwei Monaten gelagert werden.

Bei Verwendung eines BD ProbeTec Urinaufbereitungsbeutels (UPP)

Der Urinaufbereitungsbeutel (UPP) kann entweder im Testzentrum oder am Entnahmeort hinzugegeben werden. Für beide Optionen werden Anleitungen aufgeführt.

Urinentnahme (UPP am Testzentrum zugefügt)

1. Der Patient sollte vor der Probenentnahme mindestens 1 h lang den Harn verhalten haben.
2. Die Probe in einem sterilen, konservierungsmittelfreien Urinentnahmegefäß aus Kunststoff sammeln.
3. Der Patient sollte die ersten 15-20 mL Urin (Teil des ersten Urinstrahls - NICHT den Mittelstrahl) in einem Urinentnahmegefäß sammeln.
HINWEIS: Bei den klinischen Auswertungsstudien zur Leistungseinschätzung wurden Urinvolumina von bis zu 60 mL getestet.
4. Das Urinentnahmegefäß mit Deckel versehen und mit Patientendaten und Datum/Zeit der Entnahme beschriften.

Aufbewahrung und Transport von Urin (UPP-Zugabe im Testzentrum):

HINWEIS: Der Probenversand sollte in einem isolierten Behälter mit Eis erfolgen, und zwar durch einen Kurierdienst, der eine 24- oder jedenfalls 48-h-Zustellung anbietet. Die Lagerung bis zu 4 Tagen wurde anhand klinischer Proben validiert. Die Lagermöglichkeit bis zu 6 Tagen wurde anhand von künstlich kontaminierten Proben nachgewiesen. Siehe „Leistungsmerkmale“.

1. Die Urinproben sind bei 2 – 8 °C zu lagern und müssen innerhalb von 4 bis 6 Tagen nach Entnahme im Testzentrum eintreffen.
2. Den UPP in das Urinprobennahmegefäß geben. Bei der Handhabung von UPP und Urinprobe saubere Handschuhe tragen.
HINWEIS: Den UPP nicht auf einer Arbeitsfläche ablegen. Den UPP mit einer frisch behandschuhten Hand oder mit einer sauberen, sterilen Pinzette aus dem Aufbewahrungsbeutel nehmen.
HINWEIS: Den UPP vorsichtig hinzugeben, um Spritzer zu vermeiden.
3. Das Probennahmegefäß verschließen und behutsam schwenken, um sicherzustellen, daß der UPP vollständig mit Urin bedeckt wird.
4. Der UPP muß vor der Analyse der Probe mindestens 2 h lang Kontakt mit dem Urin haben.
5. Die Urinprobe nicht einfrieren.

Urinentnahme (UPP am Entnahmeort zugefügt)

1. Der Patient sollte vor der Probenentnahme mindestens 1 h lang den Harn verhalten haben.
2. Die Probe in einem sterilen Kunststoff-Probennahmegefäß ohne Konservierungsmittel auffangen.
3. Der Patient sollte die ersten 15 – 20 mL des Harnstrahls auffangen (d.h. den Beginn des Strahls – NICHT dessen mittleren Abschnitt).
HINWEIS: Bei den klinischen Auswertungsstudien zur Leistungseinschätzung wurden Urinvolumina von bis zu 60 mL getestet.
4. Den UPP unverzüglich in das Urinprobennahmegefäß geben. Bei der Handhabung von UPP und Urinprobe saubere Handschuhe tragen.
HINWEIS: Den UPP nicht auf einer Arbeitsfläche ablegen. Den UPP mit einer frisch behandschuhten Hand oder mit einer sauberen, sterilen Pinzette aus dem Aufbewahrungsbeutel nehmen.
HINWEIS: Den UPP vorsichtig hinzugeben, um Spritzer zu vermeiden.
5. Das Probennahmegefäß verschließen und behutsam schwenken, um sicherzustellen, daß der UPP vollständig mit Urin bedeckt wird. Mit Patientendaten und Datum/Uhrzeit der Probenentnahme beschriften.

Aufbewahrung und Transport von Urin (UPP am Entnahmeort zugefügt):

HINWEIS: Wenn die Proben nicht direkt bei Raumtemperatur (15 – 27 °C) ins Testlabor gebracht werden können, sondern versandt werden müssen, sollte dies in einem isolierten Behälter mit Eis erfolgen, und zwar durch einen Kurierdienst, der eine 24- oder jedenfalls 48-h-Zustellung anbietet. Die Lagerung bis zu 4 Tagen wurde anhand klinischer Proben validiert. Die Lagermöglichkeit bis zu 6 Tagen wurde anhand von künstlich kontaminierten Proben nachgewiesen. Siehe „Leistungsmerkmale“.

1. Die einen UPP enthaltenden Urinproben sind bei 2 – 8 °C zu lagern und transportieren und müssen innerhalb von 4 bis 6 Tagen nach Probenentnahme im Labor oder Testzentrum eintreffen (bzw. bei Lagerung bei 15 – 27 °C innerhalb von 2 Tagen nach Probenentnahme).
2. Die Urinprobe nicht einfrieren.
3. Der UPP muß vor der Analyse der Probe mindestens 2 h lang Kontakt mit dem Urin haben.

TESTVERFAHREN

Bezüglich spezifischer Anweisungen zum Systembetrieb und zur Wartung der Systemkomponenten, siehe das Benutzerhandbuch für das **BD ProbeTec ET**-System. Als optimale Umgebungsbedingungen für den CT/GC-Test befunden wurden 18 – 23 °C bei 25 – 75 % relativer Luftfeuchtigkeit und 23 – 28 °C bei 25 – 50 % relativer Luftfeuchtigkeit. Bei Temperaturen über 28 °C sollte der CT/GC-Test nicht durchgeführt werden. Spezifische Anweisungen zum Betrieb des Geräts sind im Benutzerhandbuch für das **BD Viper**-Gerät gegeben. Informationen über spezifische Testverfahren bei Verwendung des

BD Viper-Geräte sind in der **BD ProbeTec ET CT/GC-Packungsbeilage** (Nachtrag zum Benutzerhandbuch für das **BD Viper-Gerät**) gegeben.

A. Gerätevorbereitung:

1. Vor Testbeginn das Gerät einschalten und aufwärmen lassen.
 - a. Die Aufwärm- und Stabilisierungsdauer für Lysierblock und Priming- und Wärmeblock beträgt ca. 90 min.
 - Der Sollwert für den Lysierblock ist 114 °C.
 - Der Sollwert für die Priming-Komponente des Priming- und Wärmeblocks ist 72,5 °C.
 - Der Sollwert für die Wärmekomponente des Priming- und Wärmeblocks ist 54 °C.
 - b. Das **BD ProbeTec ET**-Gerät ist software-gesteuert; die Aufwärmdauer beträgt ca. 30 min.
2. Vor Testbeginn die Blocktemperaturen überprüfen.
 - a. Lysierblock
 - Die Kunststoffabdeckung entfernen und die Temperatur 15 min lang ausgleichen lassen.
 - Die Thermometertemperatur muß zwischen 112 und 116 °C liegen.
 - b. Priming- und Wärmeblock
 - Die Thermometertemperatur des Priming-Blocks muß zwischen 72 und 73 °C liegen.
 - Die Thermometertemperatur des Wärmeblocks muß zwischen 53,5 und 54,5 °C betragen.
3. Die auf dem **BD ProbeTec ET**-Bildschirm angezeigte Temperatur überprüfen. Der Temperaturwert muß 47,5 – 55,0 °C betragen.

B. Pipette:

Bezüglich ausführlicher Erläuterungen zu den Tastaturfunktionen für die **BD ProbeTec ET**-Pipette, siehe das Benutzerhandbuch für das **BD ProbeTec ET**-System.

Zur Durchführung des **CT/GC-Tests** sind die folgenden Programme erforderlich. Programm 2 wird mit der **CT/GC-Reagenzienpackung** verwendet. Es dient zum Transfer von Flüssigkeit aus den aufbereiteten Proben in die **CT/GC-Priming-Mikroschälchen**. Programm 3 wird mit der **CT/GC/AC-Reagenzienpackung** verwendet. Es dient zum Transfer von Flüssigkeit aus den aufbereiteten Proben in die **CT/GC- und AC-Priming-Mikroschälchen**. Programm 5 dient zum Transfer von Flüssigkeit aus den **Priming-Mikroschälchen** in die **Amplifizierungs-Mikroschälchen**.

Die Pipette folgendermaßen programmieren:

Programm 2:

1. Pipette EINSchalten. Die Pipette gibt einen Piepton aus, es blinkt „NULL“, es blinkt die Software-Versionsnummer, und es erfolgt ein weiterer Piepton.
2. Die blaue „Prog“-Taste (Programm) drücken. Die „Vol“-Taste (Volumen) solange drücken, bis „2“ für die Wahl von Programm 2 angezeigt wird. „Enter“ (Eingabe) drücken.
3. Zum Aufrufen des Programmierungsmodus die „Prog“-Taste drücken und gedrückt halten. Bei gedrückter „Prog“-Taste die Sonderfunktionstaste mit einer Pipettenspitze oder dem Ende einer Heftklammer drücken.
4. „Fill“ (Füllen) drücken. Solange die Nach-Oben-Taste drücken, bis **400** angezeigt wird. „Enter“ (Eingabe) drücken.
5. „Disp“ (Dispensieren) drücken. Solange die Nach-Oben-Taste drücken, bis **150** angezeigt wird. „Enter“ (Eingabe) drücken.
6. „Disp“ (Dispensieren) drücken. Solange die Nach-Oben-Taste drücken, bis **150** angezeigt wird. „Enter“ (Eingabe) drücken.
7. Erneut „Enter“ (Eingabe) drücken, um das Programm zu speichern und den Modus zu beenden. Der Abschluß der Programmierung sollte durch einen Piepton angezeigt werden.
8. Zur Überprüfung des Programms den Auslöser drücken, um die einzelnen Schritte zu durchlaufen. Beim Durchlaufen der einzelnen Schritte die Aspirations-/Dispensierrate mit Hilfe der „Vol“-Taste einstellen. Mit jedem Schritt erscheint die Geschwindigkeitsanzeige. Mit Hilfe der „Vol“-Taste die Geschwindigkeitsanzeige so einstellen, daß 2 Quadrate für die Schritte „Fill“ (Füllen) und „Disp“ (Dispensieren) erscheinen.

Programm 3:

1. Pipette EINSchalten. Die Pipette gibt einen Piepton aus, es blinkt „NULL“, es blinkt die Software-Versionsnummer, und es erfolgt ein weiterer Piepton.
2. Die blaue „Prog“-Taste (Programm) drücken. Die „Vol“-Taste (Volumen) solange drücken, bis „3“ für die Wahl von Programm 3 angezeigt wird. „Enter“ (Eingabe) drücken.
3. Zum Aufrufen des Programmierungsmodus die „Prog“-Taste drücken und gedrückt halten. Bei gedrückter „Prog“-Taste die Sonderfunktionstaste mit einer Pipettenspitze oder dem Ende einer Heftklammer drücken.
4. „Fill“ (Füllen) drücken. Solange die Nach-Oben-Taste drücken, bis **600** angezeigt wird. „Enter“ (Eingabe) drücken.
5. „Disp“ (Dispensieren) drücken. Solange die Nach-Oben-Taste drücken, bis **150** angezeigt wird. „Enter“ (Eingabe) drücken.
6. „Disp“ (Dispensieren) drücken. Solange die Nach-Oben-Taste drücken, bis **150** angezeigt wird. „Enter“ (Eingabe) drücken.
7. „Disp“ (Dispensieren) drücken. Solange die Nach-Oben-Taste drücken, bis **150** angezeigt wird. „Enter“ (Eingabe) drücken.
8. Erneut „Enter“ (Eingabe) drücken, um das Programm zu speichern und den Modus zu beenden. Der Abschluß der Programmierung sollte durch einen Piepton angezeigt werden.
9. Zur Überprüfung des Programms den Auslöser drücken, um die einzelnen Schritte zu durchlaufen. Beim Durchlaufen der einzelnen Schritte die Aspirations-/Dispensierrate mit Hilfe der „Vol“-Taste einstellen. Mit jedem Schritt erscheint die Geschwindigkeitsanzeige. Mit Hilfe der „Vol“-Taste die Geschwindigkeitsanzeige so einstellen, daß 2 Quadrate für die Schritte „Fill“ (Füllen) und „Disp“ (Dispensieren) erscheinen.

Programm 5:

1. Die „Prog“-Taste drücken. Die „Vol“-Taste (Volumen) solange drücken, bis „5“ für die Wahl von Programm 5 angezeigt wird. „Enter“ (Eingabe) drücken.
2. Zum Aufrufen des Programmierungsmodus die „Prog“-Taste drücken und gedrückt halten. Bei gedrückter „Prog“-Taste die Sonderfunktionstaste mit einer Pipettenspitze oder dem Ende einer Heftklammer drücken.
3. „Fill“ (Füllen) drücken. Solange die Nach-Oben-Taste drücken, bis **100** angezeigt wird. „Enter“ (Eingabe) drücken.

4. „Disp“ (Dispensieren) drücken. Solange die Nach-Oben-Taste drücken, bis **100** angezeigt wird. „Enter“ (Eingabe) drücken.
5. „Mix“ (Mischen) drücken. Solange die Nach-Oben-Taste drücken, bis **50** angezeigt wird. „Enter“ (Eingabe) drücken.
6. Erneut „Enter“ (Eingabe) drücken, um das Programm zu speichern und den Modus zu beenden. Der Abschluß der Programmierung sollte durch einen Piepton angezeigt werden.
7. Zur Überprüfung des Programms den Auslöser drücken, um die einzelnen Schritte zu durchlaufen. Beim Durchlaufen der einzelnen Schritte die Aspirations-/Dispensier-/Mischrate mit Hilfe der „Vol“-Taste einstellen. Mit jedem Schritt erscheint die Geschwindigkeitsanzeige. Mit Hilfe der „Vol“-Taste die Geschwindigkeitsanzeige so einstellen, daß 2 Quadrate für die Schritte „Fill“ (Füllen) und „Disp“ (Dispensieren) erscheinen. Mit Hilfe der „Vol“-Taste die Misch-Geschwindigkeitsanzeige so einstellen, daß 3 Quadrate erscheinen.

Überprüfen von Programmen

Vor Beginn des Verfahrens sollten die Programme überprüft werden. Zum Überprüfen von Programmen die Pipette EINSchalten. Die blaue „Prog“-Taste (Programm) drücken. Die „Vol“-Taste (Volumen) solange drücken, bis die entsprechende Programmnummer (2, 3 oder 5) angezeigt wird. „Enter“ (Eingabe) drücken. Mit Hilfe des Pipettier-Auslösers das Programm Schritt für Schritt durchlaufen.

Programm 2: Dieses Programm aspiriert 400 µL, dispensiert 150 µL in das CT-Mikroschälchen und dispensiert 150 µL in das GC-Mikroschälchen. Die Pipettenanzeige sollte folgendermaßen aussehen:

Fill 400 µL – S ■■

Dispense 150 µL – S ■■

Dispense 150 µL – S ■■

Programm 3: Dieses Programm aspiriert 600 µL, dispensiert 150 µL in das CT-Mikroschälchen, dispensiert 150 µL in das GC-Mikroschälchen und dispensiert 150 µL in das AC-Mikroschälchen. Die Pipettenanzeige sollte folgendermaßen aussehen:

Fill 600 µL – S ■■

Dispense 150 µL – S ■■

Dispense 150 µL – S ■■

Dispense 150 µL – S ■■

Programm 5 in der gleichen Weise überprüfen:

Programm 5: Dieses Programm aspiriert 100 µL, dispensiert 100 µL und mischt 50 µL dreimal. Die Pipettenanzeige sollte folgendermaßen aussehen:

Fill 100 µL – S ■■

Dispense 100 µL – S ■■

Mix 50 µL – S ■■■

Null (blinkt)

C. Platten-Layout:

Der Plattenanordnungsbericht wird vom **BD ProbeTec ET**-Gerät ausgegeben, nachdem Testart, Proben-ID, Kontrollchargennummern und Kit-Chargennummern in das System eingegeben sind. Der Plattenanordnungsbericht zeigt die physische Anordnung der Proben und Kontrollen auf jeder zu testenden Platte. Die System-Software gruppiert benachbarte Plattenpositionen für Schälchen, die für einen bestimmten Test notwendig sind. Für den amplifizierten DNA-Test CT/GC werden die Spalten folgendermaßen zugewiesen: CT/GC. Für den amplifizierten DNA-Test CT/GC/AC werden die Spalten folgendermaßen zugewiesen: CT/GC/AC. Diese Ausrichtung wird sowohl für die Priming-Mikrotiterplatte als auch für die Amplifizierungs-Mikrotiterplatte verwandt.

Die **Priming-Mikroschälchen** sind die **durchgehend** farbigen Streifen mit Mikroschälchen (CT – durchgehend grün; GC – durchgehend gelb; AC – durchgehend schwarz, falls verwendet).

Die **Amplifizierungs-Mikroschälchen** sind die farbig **gestreiften** Mikroschälchen-Streifen (CT – grün gestreift; GC – gelb gestreift; AC – schwarz gestreift, falls verwendet).

D. Abstrichanalyse:

Bei 2 – 27 °C aufbewahrte Abstrichproben müssen innerhalb von 4 – 6 Tagen nach der Entnahme analysiert werden.

HINWEIS: Die Stäbchen und CT/GC-Verdünnungsmittelröhrchen sollten vor Gebrauch Raumtemperatur aufweisen.

Analyseverfahren für Abstrichproben, die mit dem Kit für die endozervikale Entnahme und den TROCKENTRANSPORT von Proben für den amplifizierten DNA-Test BD ProbeTec ET CT/GC oder dem Kit für die urethrale (m) Entnahme und den TROCKENTRANSPORT von Proben für den amplifizierten DNA-Test BD ProbeTec ET CT/GC entnommen wurden:

1. Für jedes zu analysierende Probenstäbchen ein CT/GC-Verdünnungsmittelröhrchen etikettieren.
2. Die Kappe vom Röhrchen entfernen und das Stäbchen einführen. Das Stäbchen zum Mischen 5 – 10 s lang im Verdünnungsmittel schwenken.
3. Das Abstrichprobenstäbchen an der Röhrcheninnenwand auspressen, so daß sich die Flüssigkeit am Röhrchenboden sammelt.
4. Das Stäbchen vorsichtig entfernen, um Spritzer zu vermeiden.

HINWEIS: Durch Tröpfchen könnte der Arbeitsbereich kontaminiert werden.

5. Das Stäbchen wieder in das Transportröhrchen geben und entsorgen.

6. Die Kappe wieder fest auf dem CT/GC-Verdünnungsmittelröhrchen anbringen.

7. Das Röhrchen 5 s lang mit dem Vortexmischer mischen.

8. Anhand des Plattenanordnungsberichts das Röhrchen an der korrekten Stelle in den Lysierständer einsetzen.

9. Für weitere Abstrichproben die Schritte 1 – 8 wiederholen.

10. Die Proben am Lysierständer arretieren.

11. Damit sind die Proben zur Lyse bereit.

HINWEIS: Steht ein mehrere Röhrchen fassender Vortexmischer zur Verfügung, kann Schritt 7 ausgelassen und der gesamte Lysierständer nach Schritt 10 und vor der Lyse 15 – 20 s lang mit dem Vortexmischer gemischt werden.

HINWEIS: Bearbeitete, jedoch noch nicht lysierte Proben können bei Raumtemperatur bis zu 6 h lang oder über Nacht bei 2 – 8 °C aufbewahrt werden.

Analyseverfahren für Abstrichproben, die mit dem Kit für die endozervikale Entnahme von Proben für den amplifizierten DNA-Test BD ProbeTec ET CT/GC oder dem Kit für die urethrale (m) Entnahme von Proben für den amplifizierten DNA-Test BD ProbeTec ET CT/GC entnommen wurden:

- Das CT/GC-Verdünnungsmittelröhrchen 5 s lang mit dem Vortexmischer mischen.
HINWEIS: Steht ein mehrere Röhrchen fassender Vortexmischer zur Verfügung, die Schritte 2 und 3 durchführen. Anschließend den gesamten Lysierständer 15 – 20 s lang mit dem Vortexmischer mischen und dann mit Schritt 4 fortfahren.
- Anhand des Plattenanordnungsberichts die Proben- und Kontrollröhrchen an den korrekten Stellen in den Lysierständer einsetzen.
- Die Proben am Lysierständer arretieren.
- Damit sind die Proben zur Lyse bereit.

HINWEIS: Bearbeitete, jedoch noch nicht lysierte Proben können bei Raumtemperatur bis zu 6 h lang oder über Nacht bei 2 – 8 °C aufbewahrt werden.

E. Urinanalyse:

Verarbeitung nicht konservierter (unverdünnter) Urinproben

Unverdünnte Urinproben müssen bei Lagerung bei 2-30 °C innerhalb von 30 h nach Entnahme verarbeitet werden, bei Lagerung bei 2-8 °C innerhalb von 7 Tagen nach Entnahme und innerhalb von 2 Monaten ab Entnahme bei Lagerung bei -20 °C.

HINWEISE:

Das **BD ProbeTec ET**-Verdünnungsmittel (CT/GC) sollte vor Gebrauch Raumtemperatur haben.

Die benötigte Teilmenge **BD ProbeTec ET**-Verdünnungsmittel (CT/GC) in einen sauberen Behälter geben. Zur Abschätzung der benötigten Menge die Anzahl der Proben mit 2 multiplizieren und für leichteres Pipettieren weitere 1 - 2 mL addieren. Zum Vermeiden einer Kontaminierung des Verdünnungsmittels Reste nicht in die Flasche zurück gießen.

- Für jede zu analysierende Urinprobe ein leeres **BD ProbeTec ET**-Probenröhrchen beschriften.
- Zum Mischen des Urins den Behälter schwenken und vorsichtig öffnen.
HINWEIS: Vorsichtig öffnen, um ein Verschütten oder Verspritzen zu vermeiden, das zur Kontaminierung des Arbeitsbereichs führen könnte.
HINWEIS: Gefrorene Urinproben müssen vollständig aufgetaut und vor Transfer in das Probenröhrchen gemischt werden.
- 4,0 mL Urin in ein entsprechend beschriftetes Röhrchen pipettieren und das Röhrchen wieder fest verschließen.
- Für weitere unverdünnte Urinproben die Schritte 2 - 3 wiederholen. Für jede Probe eine neue Pipette oder Pipettenspitze verwenden.
- Probenröhrchen in den **BD ProbeTec ET** Lysierständer setzen.
- Zum Vorwärmen der Proben den Lysierständer in den Lysierblock setzen.
- Die Proben 10 min erwärmen.
- Den Lysierständer nach 10 min. aus dem Lysierblock nehmen und für mindestens 15 min. doch maximal 6 h bei Raumtemperatur abkühlen lassen.
HINWEIS: Die Probenröhrchen nach der 10-min Vorwärmphase nicht in den Kühlschrank stellen oder einfrieren.
- Die Röhrchen 30 min bei 2000 x g zentrifugieren.
- Die Röhrchen nach dem Zentrifugieren vorsichtig aus der Zentrifuge nehmen.
- Die Kappe des ersten Röhrchens entfernen und den Überstand vorsichtig abgießen. Die Abgußbewegung mit sanftem Handgelenkschwung abschließen, um Flüssigkeitsreste vom Röhrchen zu entfernen.
HINWEIS: Dieser Schritt ist äußerst wichtig - überschüssige Flüssigkeit kann hemmend wirken. Jedes Röhrchen einzeln auf einem frischen saugfähigen Papier abtupfen, um noch gründlicher Urinreste zu entfernen.
- Die Kappe locker auf das Röhrchen aufsetzen.
- Für jede zentrifugierte Urinprobe die Schritte 11-12 wiederholen.
- In jedes Röhrchen 2,0 mL Verdünnungsmittel pipettieren. Für jedes Röhrchen eine neue Pipette oder Pipettenspitze verwenden.
- Die Probenröhrchen wieder fest verschließen und 5 s mit dem Vortexmischer mischen, um das Sediment im Verdünnungsmittel wieder zu suspendieren.
- Damit sind die Proben zur Lyse bereit.

HINWEIS: Bearbeitete, jedoch noch nicht lysierte Proben können bei Raumtemperatur bis zu 6 h. oder über Nacht bei 2 - 8°C aufbewahrt werden.

Verarbeitung von in BD ProbeTec Urin-Konservierungs- und -Transportkit (UPT) gesammelten Urinproben

HINWEISE:

UPT-Proben können bei 2 - 30 °C aufbewahrt innerhalb von 30 Tagen nach Entnahme, oder bei -20 °C eingefroren innerhalb von 2 Monaten nach Entnahme verarbeitet werden.

Das **BD ProbeTec ET**-Verdünnungsmittel (CT/GC) sollte vor Gebrauch Raumtemperatur haben.

Die benötigte Teilmenge **BD ProbeTec ET**-Verdünnungsmittel (CT/GC) in einen sauberen Behälter geben. Zur Abschätzung der benötigten Menge die Anzahl der Proben mit 2 multiplizieren und für leichteres Pipettieren weitere 1 - 2 mL addieren. Zum Vermeiden einer Kontaminierung des Verdünnungsmittels Reste nicht in die Flasche zurück gießen.

Sicherstellen, dass sich in jedem Röhrchen die Urinmenge zwischen den auf dem Probenetikett angezeigten Linien befindet. Ein Über- oder Unterfüllen des Röhrchens kann die Testleistung beeinträchtigen.

- UPT-Röhrchen in den **BD ProbeTec ET** Lysierständer setzen.
HINWEIS: Bei gefrorenen Proben sicherstellen, dass sie vor dem Wärmen vollständig aufgetaut und durch Umkehren gut gemischt sind.
- Zum Vorwärmen der Proben den Lysierständer in den Lysierblock setzen.
- Die Proben 10 min erwärmen.
- Den Lysierständer nach 10 min aus dem Lysierblock nehmen und für mindestens 15 min doch maximal 6 h bei Raumtemperatur abkühlen lassen.

HINWEIS: Die Probenröhrchen nach der 10-min Vorwärmphase nicht in den Kühlschrank stellen oder einfrieren.

5. Die Röhrchen 30 min bei 2000 x g zentrifugieren.
6. Die Röhrchen nach dem Zentrifugieren vorsichtig aus der Zentrifuge nehmen.
7. Die Kappe des ersten UPT entfernen und den Überstand vorsichtig abgießen. Die Abgubewegung mit sanftem Handgelenkschwung abschließen, um Flüssigkeitsreste vom Röhrchen zu entfernen und jedes Röhrchen auf einem eigenen Stück saugfähigem Papier abtupfen.
8. Die Kappe locker auf das Röhrchen aufsetzen.
9. Für jede zentrifugierte Urinprobe die Schritte 7-8 wiederholen.
10. In jedes Röhrchen 2,0 mL Verdünnungsmittel pipettieren. Für jedes Röhrchen eine neue Pipette oder Pipettenspitze verwenden.
11. Die Probenröhrchen wieder fest verschließen und 5 s mit dem Vortexmischer mischen, um das Sediment im Verdünnungsmittel wieder zu suspendieren.
12. Damit sind die Proben zur Lyse bereit.

HINWEIS: Bearbeitete, jedoch noch nicht lysierte Proben können bei Raumtemperatur bis zu 6 h. oder über Nacht bei 2 - 8 °C aufbewahrt werden.

Verarbeitung von in BD ProbeTec ET Urinaufbereitungsbeutel (UPP) gesammelte Proben

Bei 2 - 8 °C gelagerte Urinproben müssen innerhalb von 4 - 6 Tagen nach Probenentnahme analysiert werden (UPP-Zugabe entweder am Entnahmeort oder im Testzentrum) bzw. bei Lagerung bei 15 - 27 °C innerhalb von 2 Tagen analysiert werden (UPP-Zugabe am Entnahmeort).

HINWEISE:

Das **BD ProbeTec** ET-Verdünnungsmittel (CT/GC) sollte vor Gebrauch Raumtemperatur aufweisen.

Der Urin muß vor der Analyse mindestens 2 h lang Kontakt mit dem UPP haben.

Die benötigte Teilmenge **BD ProbeTec** ET-Verdünnungsmittel (CT/GC) in einen sauberen Behälter geben. Zur Abschätzung der benötigten Menge die Anzahl der Proben mit 2 multiplizieren und zur Erleichterung der Pipettierung weitere 1 - 2 mL hinzuzählen. **Um Kontaminationen des Verdünnungsmittels zu vermeiden, Verdünnungsmittelreste nicht in die Flasche zurückgießen.**

1. Für jede zu analysierende Urinprobe ein leeres **BD ProbeTec** ET-Probenröhrchen etikettieren.
2. Den Behälter schwenken, um den Urin zu mischen, und vorsichtig öffnen.

HINWEIS: Vorsichtig öffnen, um Verschüttungen oder Tröpfchenbildung zu vermeiden, die zur Kontamination des Arbeitsbereichs führen könnten.

3. 4,0 mL Urin in ein entsprechend etikettiertes Röhrchen pipettieren und das Röhrchen wieder fest verschließen.
4. Für weitere Proben die Schritte 2 - 3 wiederholen. Für jede Probe eine neue Pipette oder Pipettenspitze verwenden.
5. Die Röhrchen 30 min lang bei 2000 x g zentrifugieren.
6. Die Röhrchen nach dem Zentrifugieren vorsichtig aus der Zentrifuge nehmen.
7. Die Kappe des ersten Röhrchens entfernen und den Überstand vorsichtig abgießen. Die Abgubewegung mit sanftem Handgelenkschwung abschließen, um Flüssigkeitsreste vom Röhrchen zu entfernen.

HINWEIS: Dieser Schritt ist äußerst wichtig - überschüssige Flüssigkeitsreste können hemmend wirken. Die Röhrchen können auf separaten saugfähigen Papierstücken einzelnen abgetupft werden, um Urinreste noch gründlicher zu entfernen.

8. Die Kappe locker auf das Röhrchen aufsetzen.
9. Für jede zentrifugierte Urinprobe die Schritte 7 - 8 wiederholen.
10. In jedes Röhrchen 2,0 mL Verdünnungsmittel pipettieren. Für jedes Röhrchen eine neue Pipette oder Pipettenspitze verwenden.
11. Die Probenröhrchen wieder fest verschließen und 5 s lang mit dem Vortexmischer mischen, um den Satz im Verdünnungsmittel wieder zu suspendieren.
12. Damit sind die Proben zur Lyse bereit.

HINWEIS: Bearbeitete, jedoch noch nicht lysierte Proben können bei Raumtemperatur bis zu 6 h lang oder über Nacht bei 2 - 8 °C aufbewahrt werden.

F. Qualitätskontrollenvorbereitung:

HINWEIS: Die **BD ProbeTec** ET-Kontrollen und Verdünnungsmittel (CT/GC) sollten vor Gebrauch Raumtemperatur aufweisen.

1. Für jeden Lauf (jede zu testende Platte) ein Röhrchen negative CT/GC-Kontrolle und ein Röhrchen positive CT/GC-Kontrolle vorbereiten. Sollte die Platte mehr als eine Reagenzienpackung-Chargennummer umfassen, sind für jede Charge Kontrollen mitzuführen.
2. Die Kappe des Röhrchens mit der negativen CT/GC-Kontrolle entfernen. Mit Hilfe einer neuen Pipettenspitze oder Pipette 2,0 mL Verdünnungsmittel hinzugeben.
3. Das Röhrchen wieder verschließen und 5 s lang mit dem Vortexmischer mischen.
4. Die Kappe des Röhrchens mit der positiven CT/GC-Kontrolle entfernen. Mit Hilfe einer neuen Pipettenspitze oder Pipette 2,0 mL Verdünnungsmittel hinzugeben.
5. Das Röhrchen wieder verschließen und 5 s lang mit dem Vortexmischer mischen.
6. Damit sind die Kontrollen zur Lyse bereit.

G. Lyse von Proben und Kontrollen:

1. Den Lysierständer in den Lysierblock einsetzen.
2. Die Proben 30 min erwärmen.
3. Den Lysierständer nach 30 min aus dem Lysierblock nehmen und mindestens 15 min lang auf Raumtemperatur abkühlen lassen.

HINWEIS: Nach der Lyse der Proben:

- a. Können diese bis zu 6 h lang bei 18 - 30 °C aufbewahrt werden, ohne daß eine erneute Lyse erforderlich ist.

- b. Können diese bis zu 5 Tage lang bei 2 – 8 °C aufbewahrt werden. Vor dem Testen müssen die Proben mit dem Vortexmischer gemischt und erneut lysiert werden.
- c. Können diese bis zu 98 Tage lang bei -20 °C aufbewahrt werden. Vor dem Testen müssen die Proben bei Raumtemperatur aufgetaut, mit dem Vortexmischer gemischt und erneut lysiert werden. Lyse-Proben können zweimal eingefroren und aufgetaut werden.

H.1 Testverfahren für die CT/GC-Reagenzienpackung

HINWEIS: Die Priming- und Amplifizierungs-Mikroschälchen sollten vor Gebrauch Raumtemperatur aufweisen.

1. Bei Proben, die mit Hilfe des Kits für die endozervikale Entnahme und den TROCKENTRANSPORT von Proben für den amplifizierten DNA-Test **BD ProbeTec ET CT/GC** oder des Kits für die urethrale (m) Entnahme und den TROCKENTRANSPORT von Proben für den amplifizierten DNA-Test **BD ProbeTec ET CT/GC** entnommen wurden, die Kappen von den lysierten und abgekühlten Proben und Kontrollen entfernen und entsorgen.
2. Bei Abstrichproben, die mit Hilfe des Kits für die endozervikale Entnahme von Proben für den amplifizierten DNA-Test **BD ProbeTec ET CT/GC** oder des Kits für die urethrale (m) Entnahme für den amplifizierten DNA-Test **BD ProbeTec ET CT/GC** entnommen wurden, folgendermaßen vorgehen:
 - a. Die Kappe des Röhrchens entfernen und das Stäbchen behutsam an die Röhrchenwand pressen, um überschüssige Flüssigkeit zu entfernen.
 - b. Kappe/Stäbchen aus dem Röhrchen herausziehen. Nicht gegen die Röhrchenwand drücken, um Tröpfchenbildung, die zur Kreuzkontaminierung führen könnte, zu vermeiden.
 - c. Kappe/Stäbchen verwerfen.
3. Von bereits verarbeiteten Proben den Deckel entfernen und entsorgen.
4. Vor dem weiteren Vorgehen **die Handschuhe wechseln**, um Kontaminierungen zu vermeiden.
5. Anhand des Plattenanordnungsberichts die Priming-Platte vorbereiten. **Die Priming-Mikroschälchen folgendermaßen auf der Platte anordnen:** CT (durchgehend grüne Mikroschälchen), dann GC (durchgehend gelbe Mikroschälchen). Die Platte muß gemäß des Plattenanordnungsberichts konfiguriert sein.
6. Die Beutel mit den Mikroschälchen wieder folgendermaßen verschließen.
 - a. Den Beutel auf eine ebene Fläche legen. Das offene Ende mit einer Hand flach halten.
 - b. Unter Druckausübung mit dem Finger über den Außenrand der Dichtung fahren (von Beutelrand zu Beutelrand).
 - c. Sicherstellen, daß der Beutel fest verschlossen ist.
7. An der **BD ProbeTec ET-Pipette Programm 2** wählen.
8. Pipettenspitzen aufnehmen. Die Pipette ausfahren; dazu den Abstandsregler vollständig herausziehen.

HINWEIS: Sicherstellen, daß die Spitzen fest auf der Pipette sitzen, um Sickerverlust zu vermeiden.
9. Aus der 1. Probenspalte 400 µL aspirieren.
10. Die Pipette behutsam kollabieren, die Pipettenspitzen an den Schälchenrändern abstreifen und 150 µL in jede der beiden entsprechenden Spalten der Priming-Mikroschälchen (1 A-H; 2 A-H) dispensieren.

HINWEIS: Die Pipette nicht über Proben oder Mikroschälchen kollabieren, da dies zu Kontaminierung führen könnte. Durch abrupte Bewegungen können Tröpfchen oder Aerosole entstehen.

HINWEIS: Es ist wichtig, daß Flüssigkeiten an der Innenwand der Mikroschälchen abgestreift werden, um Genauigkeit und Präzision zu gewährleisten und Kreuzkontaminierung zu verhüten.
11. Die Spitzen auswerfen. Die Pipette durch Drücken des Pipettenauslösers zurücksetzen.

HINWEIS: Die Spitzen vorsichtig auswerfen, um die Bildung von Tröpfchen oder Aerosolen zu vermeiden, durch die der Arbeitsbereich kontaminiert werden könnte.
12. Neue Spitzen aufnehmen und 400 µL aus der 2. Probenspalte aspirieren.
13. Die Pipette behutsam kollabieren, die Pipettenspitzen an den Schälchenrändern abstreifen und 150 µL in jede der beiden entsprechenden Spalten der Priming-Mikroschälchen (3 A-H; 4 A-H) dispensieren.
14. Die Spitzen auswerfen.
15. Die restlichen Proben für den Lauf transferieren.
16. Die Priming-Mikrotiterplatte mit der Priming-Abdeckung bedecken und mindestens 20 min lang bei Raumtemperatur inkubieren. (Kann bis zu 6 h lang inkubiert werden.)

HINWEIS: Die verarbeiteten Proben mit neuen Kappen verschließen, so daß die Probenröhrchen erneut verwendet werden können.
17. Zum Abschluß der Priming-Inkubation die Amplifizierungsplatte vorbereiten. Die Amplifizierungs-Mikroschälchen auf einer Platte konfigurieren, so daß sie dem Plattenanordnungsbericht entsprechen (wie bei der Priming-Platte). Die Beutel mit den Mikroschälchen wieder verschließen, wie in Schritt 4 beschrieben.
18. Die Abdeckung der Priming-Mikrotiterplatte entfernen und die Platte in den Priming-Block geben. Die Amplifizierungs-Mikrotiterplatte **SOFORT** zum Vorwärmen in den Wärmeblock geben.
19. **Den Zeitgeber auf 10 min einstellen. (HINWEIS: Bei diesem Schritt ist die genaue Zeiteinhaltung ausschlaggebend.)**
20. Nach Ablauf der Inkubation von 10 min (+/- 1 min.) an der Pipette das **Programm 5** wählen.
21. Spitzen aufnehmen und 100 µL aus Spalte 1 der Priming-Mikrotiterplatte in Spalte 1 der Amplifizierungs-Mikrotiterplatte transferieren. Die Pipettenspitzen an den Schälchenrändern abstreifen und die Flüssigkeit dispensieren. Nach dem Dispensieren die Flüssigkeit in den Schälchen von der Pipette automatisch mischen lassen. Die Pipette vorsichtig von der Platte abheben. Darauf achten, daß keine sonstigen Schälchen berührt werden.
22. Die Spitzen auswerfen. Neue Spitzen aufnehmen und das Reaktionsgemisch weiterhin Spalte für Spalte aus den Priming-Mikroschälchen in die Amplifizierungs-Mikroschälchen transferieren (dabei für jede Spalte neue Spitzen verwenden).
23. Nach dem Transfer aus der letzten Spalte die Rückseite von einem Amplifizierungsdeckelsiegel entfernen (sind maximal 6 Spalten mit Mikroschälchen belegt, die Hälfte der Deckelsiegelrückseite entfernen; sind mindestens 7 Spalten mit Mikroschälchen belegt, die gesamte Deckelsiegelrückseite entfernen). Das Deckelsiegel an den Kanten fassen und über der Platte zentrieren. Die Führungen am Wärmeblock erleichtern das Zentrieren des Deckelsiegels. Das Deckelsiegel erstreckt sich über die Mikroschälchen auf beiden Seiten der Platte. Das Deckelsiegel nach unten andrücken, um sicherzustellen, daß sämtliche Mikroschälchen vollständig verschlossen sind.

24. Mit Hilfe der **BD ProbeTec** ET-Benutzeroberfläche den Träger ausfahren und die Klappen öffnen. Die **verschlossene** Amplifizierungs-Mikrotiterplatte **SOFORT** (innerhalb von 30 s) in das **BD ProbeTec** ET-Gerät stellen und den Lauf einleiten. (Bezüglich ausführlicher Anweisungen, siehe das Benutzerhandbuch für das **BD ProbeTec** ET-System.)
25. Nach dem Einleiten des Laufs den folgenden Teil der Aufräumarbeiten erledigen:
- Die Priming-Mikroschälchen mit einem Amplifizierungsdeckelsiegel verschließen und die Platte aus dem Priming- und Wärmeblock entnehmen.
WARNHINWEIS: Die Temperatur liegt über 70 °C. Daher zum Entnehmen der Platte Wärmeschutzhandschuhe anlegen.
 - Die Platte auf der Arbeitsfläche 5 min lang abkühlen lassen.
 - Die verschlossenen Priming-Mikroschälchen aus der Platte entfernen; dazu das Deckelsiegel oben und unten fassen und die Schälchen gemeinsam gerade nach oben herausheben. Die Mikroschälchen in einen Entsorgungsbeutel geben und verschließen.
 - Die Metallplatte säubern:
Die Platte mit einer Lösung aus ELIMINase, DNA AWAY oder 1-%igem (V/V) Natriumhypochlorit und Alconox spülen.
Die Platte mit Wasser spülen.
Die Platte in ein sauberes Tuch wickeln und vor dem erneuten Gebrauch vollständig trocknen lassen.
26. Nach Abschluß des Laufs wird ein Ausdruck der Testergebnisse erstellt.
27. Den Plattenträger aus der Bühne heraus bewegen, die Tür öffnen und die Platte entnehmen. Die Tür schließen und die Plattenbühne wieder in das Gerät bewegen.
28. Die verschlossenen Amplifizierungs-Mikroschälchen aus der Platte entfernen. **VORSICHT: Das Deckelsiegel nicht von den Mikroschälchen entfernen.** Die verschlossenen Mikroschälchen können leicht gemeinsam entnommen werden; dazu das Deckelsiegel oben und unten fassen und gerade nach oben herausheben. Die verschlossenen Mikroschälchen in den Entsorgungsbeutel geben. Den Beutel verschließen.
29. Die Metallplatte säubern:
Die Platte mit einer Lösung aus ELIMINase, DNA AWAY oder 1-%igem (V/V) Natriumhypochlorit mit Alconox spülen.
Die Platte mit Wasser spülen.
Die Platte in ein sauberes Tuch wickeln und vor dem erneuten Gebrauch vollständig trocknen lassen.
30. Nach dem letzten Lauf des Tages die folgenden Reinigungsmaßnahmen durchführen:
- Papiertücher oder Gazekissen mit der Lösung aus ELIMINase, DNA AWAY oder 1-%igem (V/V) Natriumhypochlorit und Alconox tränken und auf Arbeitsflächen und die Außenflächen des Lysierblocks, des Priming- und Wärmeblocks und des **BD ProbeTec** ET-Geräts auftragen. Die Lösung 2 – 3 min lang auf den Flächen belassen. Papiertücher oder Gazekissen mit Wasser tränken und die Reinigungslösung entfernen. Beim Auftragen der Reinigungslösung und beim Spülen mit Wasser die Tücher oder Gazekissen häufig wechseln. Papiertücher oder Gazekissen mit einer Lösung aus ELIMINase, DNA AWAY oder 1-%igem (V/V) Natriumhypochlorit mit Alconox befeuchten und den Pipettengriff damit abwischen (**AUSSCHLIESSLICH DEN GRIFF**). Den Griff nach 2 – 3 min mit Papiertüchern oder Gazekissen abwischen, die mit Wasser befeuchtet wurden.
 - Den Lysierständer, den Lysierständersockel, die Lysierständerabdeckung und die Platten 1 – 2 min lang in ELIMINase, DNA AWAY oder 1-%iges Natriumhypochlorit mit Alconox einlegen. Gründlich mit Wasser spülen und an der Luft trocknen lassen.
 - Die Pipette aufladen.
 - Den verschlossenen Entsorgungsbeutel und den Beutel mit Biomüll gemäß der etablierten Verfahren für kontaminierten biogefährlichen Abfall entsorgen.

H.2. Testverfahren für die CT/GC/AC-Reagenzienpackung

HINWEIS: Die Priming- und Amplifizierungs-Mikroschälchen sollten vor Gebrauch Raumtemperatur aufweisen.

- Bei Proben, die mit Hilfe des Kits für die endozervikale Entnahme und den TROCKENTRANSPORT von Proben für den amplifizierten DNA-Test **BD ProbeTec** ET CT/GC oder des Kits für die urethrale (m) Entnahme und den TROCKENTRANSPORT von Proben für den amplifizierten DNA-Test **BD ProbeTec** ET CT/GC entnommen wurden, die Kappen von den lysierten und abgekühlten Proben und Kontrollen entfernen und entsorgen.
- Bei Abstrichproben, die mit Hilfe des Kits für die endozervikale Entnahme von Proben für den amplifizierten DNA-Test **BD ProbeTec** ET CT/GC oder des Kits für die urethrale (m) Entnahme für den amplifizierten DNA-Test **BD ProbeTec** ET CT/GC entnommen wurden, folgendermaßen vorgehen:
 - Die Kappe des Röhrchens entfernen und das Stäbchen behutsam an die Röhrchenwand pressen, um überschüssige Flüssigkeit zu entfernen.
 - Kappe/Stäbchen aus dem Röhrchen herausziehen. Nicht gegen die Röhrchenwand drücken, um Tröpfchenbildung, die zur Kreuzkontaminierung führen könnte, zu vermeiden.
 - Kappe/Stäbchen verwerfen.
- Von bereits verarbeiteten Proben den Deckel entfernen und entsorgen.
- Vor dem weiteren Vorgehen die **Handschuhe wechseln**, um Kontaminierungen zu vermeiden.
- Anhand des Plattenanordnungsberichts die Priming-Platte vorbereiten. Die **Priming-Mikroschälchen folgendermaßen auf der Platte anordnen:** CT (durchgehend grüne Mikroschälchen), GC (durchgehend gelbe Mikroschälchen) und AC (durchgehend schwarze Mikroschälchen). Die Platte muß gemäß des Plattenanordnungsberichts konfiguriert sein.
- Die Beutel mit den Mikroschälchen wieder folgendermaßen verschließen.
 - Den Beutel auf eine ebene Fläche legen. Das offene Ende mit einer Hand flach halten.
 - Unter Druckausübung mit dem Finger über den Außenrand der Dichtung fahren (von Beutelrand zu Beutelrand).
 - Sicherstellen, daß der Beutel fest verschlossen ist.
- An der **BD ProbeTec** ET-Pipette **Programm 3** wählen.
- Pipettenspitzen aufnehmen. Die Pipette ausfahren; dazu den Abstandsregler vollständig herausziehen.
HINWEIS: Sicherstellen, daß die Spitzen fest auf der Pipette sitzen, um Sickerverlust zu vermeiden.
- Aus der 1. Probenspalte 600 µL aspirieren.
- Die Pipette behutsam kollabieren, die Pipettenspitzen an den Schälchenrändern abstreifen und 150 µL in jede der drei entsprechenden Spalten der Priming-Mikroschälchen (1 A-H; 2 A-H; 3 A-H) dispensieren.

HINWEIS: Die Pipette nicht über Proben oder Mikroschälchen kollabieren, da dies zu Kontaminierung führen könnte. Durch abrupte Bewegungen können Tröpfchen oder Aerosole entstehen.

HINWEIS: Es ist wichtig, daß Flüssigkeiten an der Innenwand der Mikroschälchen abgestreift werden, um Genauigkeit und Präzision zu gewährleisten und Kreuzkontaminierung zu verhüten.

11. Die Spitzen auswerfen. Die Pipette durch Drücken des Pipettenauslösers zurücksetzen.
HINWEIS: Die Spitzen vorsichtig auswerfen, um die Bildung von Tröpfchen oder Aerosolen zu vermeiden, durch die der Arbeitsbereich kontaminiert werden könnte.
12. Neue Spitzen aufnehmen und 600 µL aus der 2. Probenspalte aspirieren.
13. Die Pipette behutsam kollabieren, die Pipettenspitzen an den Schälchenrändern abstreifen und 150 µL in jede der drei entsprechenden Spalten der Priming-Mikroschälchen (4 A-H; 5 A-H; 6 A-H) dispensieren.
14. Die Spitzen auswerfen.
15. Die restlichen Proben für den Lauf transferieren.
16. Die Priming-Mikrotiterplatte mit der Priming-Abdeckung bedecken und mindestens 20 min lang bei Raumtemperatur inkubieren. (Kann bis zu 6 h lang inkubiert werden.)
HINWEIS: Die verarbeiteten Proben mit neuen Kappen verschließen, so daß die Probenröhrchen erneut verwendet werden können.
17. Zum Abschluß der Priming-Inkubation die Amplifizierungsplatte vorbereiten. Die Amplifizierungs-Mikroschälchen auf einer Platte konfigurieren, so daß sie dem Plattenanordnungsbericht entsprechen (wie bei der Priming-Platte). Die Beutel mit den Mikroschälchen wieder verschließen, wie in Schritt 4 beschrieben.
18. Die Abdeckung der Priming-Mikrotiterplatte entfernen und die Platte in den Priming-Block geben. Die Amplifizierungs-Mikrotiterplatte **SOFORT** zum Vorwärmen in den Wärmeblock geben.
19. **Den Zeitgeber auf 10 min einstellen. (HINWEIS: Bei diesem Schritt ist die genaue Zeiteinhaltung ausschlaggebend.)**
20. Nach Ablauf der Inkubation von 10 min (+/- 1 min.) an der Pipette das **Programm 5** wählen.
21. Spitzen aufnehmen und 100 µL aus Spalte 1 der Priming-Mikrotiterplatte in Spalte 1 der Amplifizierungs-Mikrotiterplatte transferieren. Die Pipettenspitzen an den Schälchenrändern abstreifen und die Flüssigkeit dispensieren. Nach dem Dispensieren die Flüssigkeit in den Schälchen von der Pipette automatisch mischen lassen. Die Pipette vorsichtig von der Platte abheben. Darauf achten, daß keine sonstigen Schälchen berührt werden.
22. Die Spitzen auswerfen. Neue Spitzen aufnehmen und das Reaktionsgemisch weiterhin Spalte für Spalte aus den Priming-Mikroschälchen in die Amplifizierungs-Mikroschälchen transferieren (dabei für jede Spalte neue Spitzen verwenden).
23. Nach dem Transfer aus der letzten Spalte die Rückseite von einem Amplifizierungsdeckelsiegel entfernen (sind maximal 6 Spalten mit Mikroschälchen belegt, die Hälfte der Deckelsiegelrückseite entfernen; sind mindestens 7 Spalten mit Mikroschälchen belegt, die gesamte Deckelsiegelrückseite entfernen). Das Deckelsiegel an den Kanten fassen und über der Platte zentrieren. Die Führungen am Wärmeblock erleichtern das Zentrieren des Deckelsiegels. Das Deckelsiegel erstreckt sich über die Mikroschälchen auf beiden Seiten der Platte. Das Deckelsiegel nach unten andrücken, um sicherzustellen, daß sämtliche Mikroschälchen vollständig verschlossen sind.
24. Mit Hilfe der **BD ProbeTec ET**-Benutzeroberfläche den Träger ausfahren und die Klappen öffnen. Die **verschlossene** Amplifizierungs-Mikrotiterplatte **SOFORT** (innerhalb von 30 s) in das **BD ProbeTec ET**-Gerät stellen und den Lauf einleiten. (Bezüglich ausführlicher Anweisungen, siehe das Benutzerhandbuch für das **BD ProbeTec ET**-System.)
25. Nach dem Einleiten des Laufs den folgenden Teil der Aufräumarbeiten erledigen:
 - a. Die Priming-Mikroschälchen mit einem Amplifizierungsdeckelsiegel verschließen und die Platte aus dem Priming- und Wärmeblock entnehmen.
WARNHINWEIS: Die Temperatur liegt über 70 °C. Daher zum Entnehmen der Platte Wärmeschutzhandschuhe anlegen.
 - b. Die Platte auf der Arbeitsfläche 5 min lang abkühlen lassen.
 - c. Die verschlossenen Priming-Mikroschälchen aus der Platte entfernen; dazu das Deckelsiegel oben und unten fassen und die Schälchen gemeinsam gerade nach oben herausheben. Die Mikroschälchen in einen Entsorgungsbeutel geben und verschließen.
 - d. Die Metallplatte säubern:
Die Platte mit einer Lösung aus ELIMINase, DNA AWAY oder 1-%igem (V/V) Natriumhypochlorit und Alconox spülen.
Die Platte mit Wasser spülen.
Die Platte in ein sauberes Tuch wickeln und vor dem erneuten Gebrauch vollständig trocknen lassen.
26. Nach Abschluß des Laufs wird ein Ausdruck der Testergebnisse erstellt.
27. Den Plattenträger aus der Bühne heraus bewegen, die Tür öffnen und die Platte entnehmen. Die Tür schließen und die Plattenbühne wieder in das Gerät bewegen.
28. Die verschlossenen Amplifizierungs-Mikroschälchen aus der Platte entfernen. **VORSICHT: Das Deckelsiegel nicht von den Mikroschälchen entfernen.** Die verschlossenen Mikroschälchen können leicht gemeinsam entnommen werden; dazu das Deckelsiegel oben und unten fassen und gerade nach oben herausheben. Die verschlossenen Mikroschälchen in den Entsorgungsbeutel geben. Den Beutel verschließen.
29. Die Metallplatte säubern:
Die Platte mit einer Lösung aus ELIMINase, DNA AWAY oder 1-%igem (V/V) Natriumhypochlorit mit Alconox spülen.
Die Platte mit Wasser spülen.
Die Platte in ein sauberes Tuch wickeln und vor dem erneuten Gebrauch vollständig trocknen lassen.
30. Nach dem letzten Lauf des Tages die folgenden Reinigungsmaßnahmen durchführen:
 - a. Papiertücher oder Gazekissen mit der Lösung aus ELIMINase, DNA AWAY oder 1-%igem (V/V) Natriumhypochlorit und Alconox tränken und auf Arbeitsflächen und die Außenflächen des Lysierblocks, des Priming- und Wärmeblocks und des **BD ProbeTec ET**-Geräts auftragen. Die Lösung 2 – 3 min lang auf den Flächen belassen. Papiertücher oder Gazekissen mit Wasser tränken und die Reinigungslösung entfernen. Beim Auftragen der Reinigungslösung und beim Spülen mit Wasser die Tücher oder Gazekissen häufig wechseln. Papiertücher oder Gazekissen mit einer Lösung aus ELIMINase, DNA AWAY oder 1-%igem (V/V) Natriumhypochlorit mit Alconox befeuchten und den Pipettengriff damit abwischen (**AUSSCHLIESSLICH DEN GRIFF**). Den Griff nach 2 – 3 min mit Papiertüchern oder Gazekissen abwischen, die mit Wasser befeuchtet wurden.

- b. Den Lysierständer, den Lysierständersockel, die Lysierständerabdeckung und die Platten 1 – 2 min lang in ELIMINase, DNA AWAY oder 1-%iges (V/V) Natriumhypochlorit mit Alconox einlegen. Gründlich mit Wasser spülen und an der Luft trocknen lassen.
- c. Die Pipette aufladen.
- d. Den verschlossenen Entsorgungsbeutel und den Beutel mit Biomüll gemäß der etablierten Verfahren für kontaminiertenbiogefährlichen Abfall entsorgen.

QUALITÄTSKONTROLLE

Der positive und negative Kontrollen-Set für **BD ProbeTec ET** für *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* wird getrennt geliefert. Bei jedem Testlauf und für jede neue Reagenzien-Kit-Chargennummer müssen je eine positive Kontrolle und eine negative Kontrolle mitgeführt werden. Die Kontrollen können randomisiert plaziert werden. Die positive CT/GC-Kontrolle dient nur zur Überprüfung erheblichen Reagenzienversagens. Die negative CT/GC-Kontrolle dient zur Überprüfung von Reagenzien- und/oder Umgebungskontaminierung.

Die positive Kontrolle enthält klonierte CT- und GC-Zielbereiche, die nicht unbedingt die durch den Test nachgewiesene Ziel-DNA des Organismus repräsentieren und die auch nicht die Probenmatrices repräsentieren (Urin und Epithelzellsuspensionen), die für die Verwendung mit dem **BD ProbeTec ET**-System angezeigt sind. Diese Kontrollen können zur internen Qualitätskontrolle verwendet werden, oder Benutzer können ihr eigenes internes Qualitätskontrollmaterial entwickeln, wie in NCCLS C24-A2 beschrieben.¹⁵ Zusätzliche Kontrollen können in Übereinstimmung mit den Richtlinien oder Auflagen der örtlich, landesweit und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder Akkreditierungsorganisationen geprüft werden. Weitere Richtlinien bezüglich geeigneter interner QK-Testverfahren enthält NCCLS-Dokument C24-A2. Pro Reaktion enthält die positive Kontrolle 750 Kopien linearisiertes pCT16-Plasmid und 250 Kopien linearisiertes pGC10-Plasmid. Beide Organismen besitzen mehrfache Kopien der Zielsequenz. Das Volumen für die **BD ProbeTec ET**-Amplifizierungsreaktion ist 100 µL rehydrierte Kontrolle.

Da die positive CT/GC-Kontrolle sowohl für den CT- als auch für den GC-Test verwendet wird, ist die korrekte Positionierung der Streifen mit Mikroschälchen für die korrekte Ergebnisausgabe ausschlaggebend. Bezüglich der korrekten Positionierung der Streifen mit den Mikroschälchen, siehe Abschnitt H des „Testverfahrens“.

Die positive CT/GC-Kontrolle und die negative CT/GC-Kontrolle muß positiv bzw. negativ ausfallen, damit Probenergebnisse berichtet werden können. Wenn die Kontrollen nicht wie erwartet ausfallen, ist der Testlauf ungültig und die Patientenergebnisse werden vom Gerät nicht berichtet. Wenn die Qualitätskontrolle nicht die erwarteten Ergebnisse liefert, den gesamten Lauf mit einem neuen Kontrollen-Set, neuen Mikroschälchen und den aufbereiteten Proben wiederholen. Liefert die wiederholte Qualitätskontrolle immer noch nicht die erwarteten Ergebnisse, bitte den technischen Kundendienst verständigen. (Siehe „Interpretation der Ergebnisse“.)

Bezüglich Anweisungen zur Kontrollenvorbereitung, siehe Abschnitt F unter „Testverfahren“. Nach der Vorbereitung der Kontrollen die Analyse fortsetzen, wie in Abschnitt G unter „Testverfahren“ beschrieben.

Eine separate Amplifizierungskontrolle (AC) bietet die Möglichkeit zur Hemmungsprüfung und ist in der CT/GC/AC-Reagenzienpackung enthalten. Bei Verwendung der CT/GC/AC-Reagenzienpackung muß die AC für jede Patientenprobe und Kontrolle verwendet werden. Die Amplifizierungskontrolle-Mikroschälchen enthalten pro Reaktion ≥ 1000 Kopien des in der Probenmatrix zu amplifizierenden linearisierten pGC10-Plasmids. Die Amplifizierungskontrolle dient zur Identifizierung von Proben mit Amplifizierungshemmstoffen, deren Vorliegen den Nachweis der CT- oder GC-DNA verhindern könnten. (Siehe „Interpretation der Ergebnisse“.)

Interpretation der Kontrollergebnisse:

Interpretation der Kontrolle ohne AC

	CT- oder GC-MOTA-Wert	Ergebnis
Positive CT/GC-Kontrolle	MOTA ≥ 2000	Akzeptabel
Negative CT/GC-Kontrolle	MOTA < 2000	Akzeptabel

Interpretation der Kontrolle mit AC

	CT- oder GC-MOTA-Wert	AC-MOTA-Wert*	Ergebnis
Positive CT/GC-Kontrolle	MOTA ≥ 2000	MOTA ≥ 1000	Akzeptabel
Negative CT/GC-Kontrolle	MOTA < 2000	MOTA ≥ 1000	Akzeptabel

*Bei AC-Versagen (MOTA < 1000) versagt die Kontrolle.

Proben als Verfahrenskontrollen:

Probenkontrollen können in Übereinstimmung mit den Anforderungen der jeweiligen Akkreditierungsorganisationen getestet werden. Das gesamte Testsystem sollte mit einer positiven Kontrolle getestet werden. Zu diesem Zweck können als positiv bekannte Proben als Kontrollen dienen, indem sie mit unbekanntenen Proben aufbereitet und getestet werden. Proben, die als Verfahrenskontrollen verwendet werden, müssen gemäß den Angaben in der Packungsbeilage aufbewahrt, aufbereitet und getestet werden. Alternativ zu positiven Proben können Probenverarbeitungskontrollen, die Urinverarbeitung simulieren, wie unten beschrieben hergestellt werden.

Chlamydia trachomatis:

Falls keine als positiv bekannte Probe zur Verfügung steht, kann als Alternative eine Stammkultur von *C. trachomatis* LGV2 (ATCC-Nr. VR-902B) getestet werden, die wie nachstehend beschrieben hergestellt wurde:

1. Ein Fläschchen *C. trachomatis* LGV2-Zellen von der ATCC auftauen.
2. 10fache Serienverdünnungen bis auf eine 10^5 -Verdünnung (Endvolumen von wenigstens 5 mL) in phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) herstellen.
3. 4 mL der 10^5 -Verdünnung in ein **BD ProbeTec ET**-Probenröhrchen geben.
4. Wie eine Urinprobe aufbereiten, und zwar gemäß Abschnitt E unter „Testverfahren“, ab Schritt 5.
5. Die Probe nach der Aufbereitung lysieren, und zwar gemäß Abschnitt G unter „Testverfahren“.
6. Test wie in Abschnitt H unter „Testverfahren“ beschrieben weiterführen.

Neisseria gonorrhoeae:

Falls keine als positiv bekannte Probe zur Verfügung steht, kann als Alternative eine Stammkultur von *N. gonorrhoeae* (erhältlich von der ATCC, Stamm-Nr. 19424) getestet werden, die wie nachstehend beschrieben hergestellt wurde:

1. Ein Fläschchen *N. gonorrhoeae*-Stammkultur von der ATCC auftauen und sofort eine Schokoladenagar-Platte inokulieren.

2. Bei 37 °C in 3- bis 5-%igem CO₂ 24 bis 48 h lang inkubieren.
3. Die Kolonien von der Schokoladenagar-Platte mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) wieder suspendieren.
4. Die Zellen in PBS auf einen McFarland-Trübheitsstandard von 1,0 (ca. 3 x 10⁸ Zellen/mL) verdünnen.
5. 10fache Serienverdünnungen des Mc-Farland-Materials bis auf eine 10⁵-Verdünnung (Endvolumen von wenigstens 5 mL) in phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) herstellen.
6. 4 mL der 10⁵-Verdünnung in ein **BD ProbeTec** ET-Probenröhrchen geben.
7. Wie eine Urinprobe aufbereiten, und zwar gemäß Abschnitt E unter „Testverfahren“, ab Schritt 5.
8. Die Probe nach der Aufbereitung lysieren, und zwar gemäß Abschnitt G unter „Testverfahren“.
9. Test wie in Abschnitt H unter „Testverfahren“ beschrieben weiterführen.

Überprüfung auf Vorliegen von DNA-Kontaminationen

Das folgende Testverfahren sollte mindestens einmal im Monat durchgeführt werden, um den Arbeitsbereich und die Geräteoberflächen auf das Vorliegen von DNA-Kontaminationen zu überprüfen. Die Überprüfung des Umfelds ist äußerst wichtig, um eine Kontamination bereits vor der Entstehung von Schwierigkeiten zu erkennen.

1. Für jeden zu testenden Bereich ein sauberes Probenentnahmestäbchen aus dem Endozervikal-**BD ProbeTec** ET-Entnahme- und Transportsystem und ein CT/GC-Verdünnungsmittelröhrchen verwenden. (Als Alternative kann auch ein Probenröhrchen mit 2 mL CT/GC-Verdünnungsmittel verwendet werden.)
2. Das Stäbchen in das CT/GC-Verdünnungsmittel eintauchen und in langen Zügen über den ersten Bereich* streichen.
3. Das Stäbchen an der CT/GC-Röhrcheninnenwand auspressen. Das Röhrchen wieder verschließen und 5 s lang mit dem Vortexmischer mischen.
4. Für jeden gewünschten Bereich wiederholen.
5. Nach Entnahme aller Abstriche, dem Auspressen in Verdünnungsmittel und dem Mischen im Vortex-Mischer können die Röhrchen wie unter „Testverfahren“ beschrieben lysiert (Abschnitt G) und getestet (Abschnitt H) werden.

*Es wird empfohlen u. a. folgende Bereiche zu testen: Oberfläche des Lysierblocks, Lysierständer, Priming- und Wärmeblock, schwarze Mikroschälchen, Pipettengriff, Berührungstasten des Geräts, Geräte-Tastatur, Geräte-Türsicherung (graugüne Taste), Zentrifugentrommel und Arbeitsfläche(n), einschließlich Aufbereitungsbereichen.

Wenn ein Bereich ein positives Resultat zeigt, diesen mit ELIMINase, DNA AWAY oder frischem 1-%igem (V/V) Natriumhypochlorit mit Alconox säubern. Sicherstellen, daß der gesamte Bereich mit der Lösung benetzt wird und die Lösung mindestens 2 min lang bzw. bis zum Trocknen einwirken lassen. Falls erforderlich, überschüssige Lösung mit einem sauberen Tuch aufnehmen. Den Bereich mit einem sauberen, mit Wasser getränkten Tuch abwischen und trocknen lassen. Den Bereich erneut testen. Bis zum Erhalt negativer Ergebnisse wiederholen. Läßt sich die Kontamination nicht beseitigen, bitte zusätzliche Informationen vom technischen Kundendienst anfordern.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Der amplifizierte DNA-Test **BD ProbeTec** ET für *Chlamydia trachomatis* und *Neisseria gonorrhoeae* nutzt den Fluoreszenz-Energietransfer als Nachweismethode zur Prüfung auf das Vorliegen von *C. trachomatis* und *N. gonorrhoeae* in klinischen Proben. Alle Berechnungen werden von der Geräte-Software automatisch durchgeführt.

Das Vorliegen bzw. die Abwesenheit von *C. trachomatis* und *N. gonorrhoeae* wird anhand des Vergleichs der Werte der **BD ProbeTec** ET-MOTA (Methode, bei der es sich nicht um eine Beschleunigungsmethode handelt) mit bereits vorher festgelegten Schwellenwerten erkannt. Der MOTA-Wert ist ein Maßstab zur Beurteilung der Stärke des sich bei der Reaktion ergebenden Signals. Die Höhe des MOTA-Werts gibt keinen Aufschluß über die Konzentration des Organismus in der Probe.

Falls die Testkontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse liefern, sollten keine Patientenergebnisse berichtet werden. Bezüglich der erwarteten Kontrollwerte, siehe den Abschnitt zur Qualitätskontrolle. Zu berichtende Ergebnisse werden wie folgt bestimmt.

Bei der CT/GC-Reagenzienpackung:

C. trachomatis- und *N. gonorrhoeae*-Ergebnisinterpretation ohne AC

CT- oder GC-MOTA-Wert	Bericht	Interpretation	Ergebnis
≥ 10.000	<i>C. trachomatis</i> -Plasmid-DNA und/oder <i>N. gonorrhoeae</i> -DNA, Nachweis mittels SDA	Positiv für <i>C. trachomatis</i> und/oder <i>N. gonorrhoeae</i> -DNA. Die Lebensfähigkeit und/oder Infektiosität der Organismen <i>C. trachomatis</i> und/oder <i>N. gonorrhoeae</i> läßt sich nicht bestimmen, da die Ziel-DNA auch bei Abwesenheit lebensfähiger Organismen vorliegen kann.	Positiv ¹
2.000 – 9.999	<i>C. trachomatis</i> -Plasmid-DNA und/oder <i>N. gonorrhoeae</i> -DNA, Nachweis mittels SDA	<i>C. trachomatis</i> und/oder <i>N. gonorrhoeae</i> wahrscheinlich. Evtl. zusätzliches Testen zur Bestätigung des Vorliegens von <i>C. trachomatis</i> und/oder <i>N. gonorrhoeae</i> ratsam. ²	Schwach positiv ^{1,2,3}
< 2000	<i>C. trachomatis</i> -Plasmid-DNA und/oder <i>N. gonorrhoeae</i> -DNA, kein Nachweis mittels SDA	Als negativ für <i>C. trachomatis</i> und/oder <i>N. gonorrhoeae</i> anzunehmen. Ein negatives Ergebnis schließt eine Infektion mit <i>C. trachomatis</i> und/oder <i>N. gonorrhoeae</i> nicht aus, da die Ergebnisse von korrekter Probenentnahme, Abwesenheit von Inhibitoren und einer zum Nachweis ausreichenden DNA-Menge abhängig sind.	Negativ

¹ Laut CDC-Richtlinien "sollten bei Personen mit positivem Suchtest auf *C. trachomatis* oder *N. gonorrhoeae* weitere Routinetests in Erwägung gezogen werden, wenn sich aufgrund fehlender Risikofaktoren oder einer geringen Prävalenz bei Reihenuntersuchungen ein niedrigerer positiver Vorhersagewert ergibt (z. B. < 90 %)". Ungeachtet der Testmethode (z. B. NAAT, DFA, EIA, Nukleinsäuresonde) "sollten alle positiven Suchtests als ein präsumtiver Infektionsnachweis betrachtet werden"¹⁶ Ausführliche Informationen über weitere Tests und die Behandlung von Patienten nach einem positiven Suchtest sind in den CDC-Richtlinien gegeben.

² Zusätzliche Informationen zur Verteilung der in den klinischen Versuchsstudien beobachteten CT- und GC-MOTA-Werte nach Probenart sind der nachstehenden Beschreibung der Schwellenwerte und den Abbildungen 2 und 3 im Abschnitt „Leistungsmerkmale“ zu entnehmen.

³ Die Höhe des MOTA-Werts gibt keinen Aufschluß über die Konzentration des Organismus in der Probe.

Bei der CT/CG/AC-Reagenzienpackung:

C. trachomatis- und N. gonorrhoeae-Ergebnisinterpretation mit AC

CT- oder GC- MOTA-Wert	AC- MOTA-Wert	Bericht	Interpretation	Ergebnis
≥ 10.000	Alle	C. trachomatis-Plasmid-DNA und/oder N. gonorrhoeae-DNA, Nachweis mittels SDA	Positiv für C. trachomatis und/oder N. gonorrhoeae. Die Lebensfähigkeit und/oder Infektiosität der Organismen C. trachomatis und/oder N. gonorrhoeae läßt sich nicht bestimmen, da die Ziel-DNA auch bei Abwesenheit lebensfähiger Organismen vorliegen kann.	Positiv ¹
2.000 – 9.999	Alle	C. trachomatis-Plasmid-DNA und/oder N. gonorrhoeae-DNA, Nachweis mittels SDA	C. trachomatis und/oder N. gonorrhoeae wahrscheinlich. Evtl. zusätzliches Testen zur Bestätigung des Vorliegens von C. trachomatis und/oder N. gonorrhoeae ratsam. ¹	Schwach positiv ^{1,2,3}
< 2000	≥ 1000	C. trachomatis-Plasmid-DNA und/oder N. gonorrhoeae-DNA, kein Nachweis mittels SDA	Als negativ für C. trachomatis und/oder N. gonorrhoeae anzunehmen. Ein negatives Ergebnis schließt eine Infektion mit C. trachomatis und/oder N. gonorrhoeae nicht aus, da die Ergebnisse von korrekter Probenentnahme, Abwesenheit von Inhibitoren und einer zum Nachweis ausreichenden DNA-Menge abhängig sind.	Negativ
< 2000	< 1000	Amplifizierungskontrolle gehemmt. Test wiederholen ⁴	Wiederholte Probenhemmung. Vorhandene C. trachomatis und/oder N. gonorrhoeae wären mittels SDA nicht nachweisbar. Eine andere Probe zum Testen einreichen.	Unbestimmt

¹ Laut CDC-Richtlinien "sollten bei Personen mit positivem Suchtest auf C. trachomatis oder N. gonorrhoeae weitere Routinetests in Erwägung gezogen werden, wenn sich aufgrund fehlender Risikofaktoren oder einer geringen Prävalenz bei Reihenuntersuchungen ein niedrigerer positiver Vorhersagewert ergibt (z. B. < 90 %)". Ungeachtet der Testmethode (z. B. NAAT, DFA, EIA, Nukleinsäuresonde) "sollten alle positiven Suchtests als ein präsumtiver Infektionsnachweis betrachtet werden"¹⁶ Ausführliche Informationen über weitere Tests und die Behandlung von Patienten nach einem positiven Suchtest sind in den CDC-Richtlinien gegeben.

² Zusätzliche Informationen zur Verteilung der in den klinischen Versuchsstudien beobachteten CT- und GC-MOTA-Werte nach Probenart sind der nachstehenden Beschreibung der Schwellenwerte und den Abbildungen 2 und 3 im Abschnitt „Leistungsmerkmale“ zu entnehmen.

³ Die Höhe des MOTA-Werts gibt keinen Aufschluß über die Konzentration des Organismus in der Probe.

⁴ Den **BD ProbeTec** ET-Test wiederholen. Bei Urinproben anhand der ursprünglichen Probe wiederholen. Ist die ursprüngliche Probe nicht verfügbar, anhand der aufbereiteten Röhrenprobe wiederholen. Bei Abstrichproben anhand der aufbereiteten Röhrenprobe wiederholen. Wenn das Wiederholungsergebnis positiv oder negativ ausfällt, ist es wie oben zu interpretieren. Wenn das Wiederholungsergebnis unbestimmt ausfällt, eine neue Probe anfordern.

Bestimmung des CT/GC/AC-Schwellenwerts:

Die Schwellenwerte für den Test und die Amplifizierungskontrolle für CT- und GC-Probenergebnisse wurden anhand einer ROC-Kurvenanalyse (Receiver Operating Characteristic) der MOTA-Werte bestimmt, die aus Patientenproben (Urethralabstriche von Männern, Endozervikalabstriche von Frauen, Urin von Männern und Frauen) erhalten wurden, die sowohl mit Hilfe des **BD ProbeTec** ET CT/GC-Tests als auch mit einer anderen Amplifizierungsmethode im Rahmen vorklinischer Studien getestet wurden. Die Schwellenwerte wurden in den klinischen Studien mit Hilfe des **BD ProbeTec** ET CT/GC-Tests und durch Kultivierung, mit Hilfe der Fluoreszenzantikörper-Direktmethode (DFA, nur für CT) und einer anderen Amplifizierungsmethode bestätigt. Diese Studien zeigen, daß CT- und/oder GC-MOTA-Werte über 2000 zumeist das Vorliegen von C. trachomatis und/oder N. gonorrhoeae anzeigen. Ein CT- und/oder GC-MOTA-Wert unter 2000 korreliert zumeist mit negativen C. trachomatis- und/oder N. gonorrhoeae-Kulturergebnissen. Bei Harnröhrenabstrichen von Männern, Endozervikalabstrichen von Frauen und Urinproben von Männern mit CT-MOTA-Werten zwischen 2000 und 4000 war die Wahrscheinlichkeit korrekterweise positiver Ergebnisse geringer, als bei Ergebnissen mit MOTA-Werten über 4000. Bei Urinproben von Frauen zeigten positive CT-Ergebnisse mit MOTA-Werten zwischen 2000 und 10.000 ebenfalls eine geringere Wahrscheinlichkeit, korrekterweise positiv zu sein, als bei Ergebnissen mit MOTA-Werten über 10.000. Die in der klinischen Untersuchung beobachtete Verteilung der CT- und GC-MOTA-Werte nach Probenart ist in den Abbildungen 2 und 3 dargestellt. Der positive Vorhersagewert (PVW) für die Daten in diesen Abbildungen wurde anhand der folgenden Formel berechnet: Tatsächlich positiv/tatsächlich positiv + falsch-positiv. Die Prävalenz wurde bei diesen Daten nicht berücksichtigt. CT-Ergebnisse zwischen 2.000 und 10.000 MOTA hatten einen PVW zwischen 56 % und 83 %. Bei MOTA-Werten über 10.000 lag der PVW dagegen zwischen 82 % und 100 %. GC-Ergebnisse zwischen 2.000 und 10.000 MOTA hatten einen PVW zwischen 44 % und 75 %. Bei MOTA-Werten über 10.000 lag der PVW dagegen zwischen 90 % und 100 %. Für Proben mit MOTA-Werten zwischen 2000 und 10.000 kann je nach Probenart, der untersuchten Population und der verwendeten Laborpraktiken zusätzliches Testen von Nutzen sein. Ausführliche Informationen über weitere Tests und die Behandlung von Patienten nach einem positiven Suchtest sind in den CDC-Richtlinien gegeben.

N. cinerea zeigte beim **BD ProbeTec** ET-GC-Test Kreuzreaktionen, und auch andere Neisseria-Spezies können zu fälschlicherweise positiven Ergebnissen führen. Bei hoher Prävalenz von Geschlechtskrankheiten sind positive Testergebnisse mit großer Wahrscheinlichkeit tatsächlich positiv. Bei geringer Prävalenz von Geschlechtskrankheiten oder bei Patienten, deren klinisches Erscheinungsbild, klinische Symptome oder Risikofaktoren nicht auf Gonokokken- oder Chlamydien-Infektion hindeuten, sind positive Testergebnisse sorgfältig zu beurteilen und ggf. mit anderen Methoden (z.B. GC-Kultivierung) erneut zu testen.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

1. Diese Methode wurde nur für Endozervikalabstriche, Harnröhrenabstriche von Männern sowie Urinproben von Männern und Frauen überprüft. Das Verhalten bei anderen Probenarten wurde nicht untersucht.
2. Voraussetzung für eine optimale Testleistung ist die ordnungsgemäße Probenentnahme und Handhabung. Siehe den Abschnitt „Probenentnahme und Transport“ in dieser Packungsbeilage.
3. Die Eignung der Endozervikalprobe kann nur durch mikroskopische Sichtbarmachung der säulenförmigen Epithelzellen in den Proben beurteilt werden.
4. Die Entnahme und das Testen von Urinproben mit Hilfe des amplifizierten DNA-Tests **BD ProbeTec ET** für *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* soll nicht die Zervikaluntersuchung und die Endozervikalprobenentnahme zur Diagnose von Urogenitalinfektionen ersetzen. Zervixentzündung, Harnleiterentzündung, Harnwegsinfektionen und Vaginalinfektionen können andere Ursachen haben oder mit Begleitinfektionen einhergehen.
5. Der amplifizierte DNA-Test **BD ProbeTec ET** für *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* für männliche und weibliche Urinproben ist mit randomisierten Proben aus dem ersten Teil des Urinstrahls durchzuführen (d.h. anhand der ersten 15 - 20 mL des Urinstrahls bei Verwendung von UPP). Bei den klinischen Auswertungsstudien zur Leistungseinschätzung wurden Urinvolumina von bis zu 60 mL getestet. Der Verdünnungseffekt bei größeren Urinvolumina kann die Testempfindlichkeit senken. Die Auswirkungen anderer Variablen, wie z. B. Sammlung des Mittelstrahlurins, wurden bisher noch nicht ermittelt. Die Leistung wurde nicht bestimmt, wenn der UPP dem Probenahmegefäß vor der Entnahme zugegeben wurde.
6. Die Auswirkungen anderer potentieller Variablen, wie z. B. Fluor, Verwendung von Tampons, Vaginalduschen und Probenentnahmevariablen, wurden bisher noch nicht ermittelt.
7. Ein negatives Testergebnis schließt die Möglichkeit einer Infektion nicht aus, da die Testergebnisse durch unsachgemäße Probenentnahme, technische Fehler, Probenverwechslung, gleichzeitige Antibiotika-Therapie oder eine Zahl der Mikroorganismen unterhalb der Nachweisgrenze beeinträchtigt werden können.
8. Wie bei zahlreichen anderen diagnostischen Tests sollten die Ergebnisse des amplifizierten DNA-Tests **BD ProbeTec ET** für *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* in Verbindung mit anderen dem behandelnden Arzt zur Verfügung stehenden Labordaten und klinischen Daten interpretiert werden.
9. Der amplifizierte DNA-Test **BD ProbeTec ET** für *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* kann plasmid-freie Varianten von *C. trachomatis* nicht nachweisen.
10. Der amplifizierte DNA-Test **BD ProbeTec ET** für *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* darf bei Verdacht auf sexuellen Mißbrauch oder bei anderen medizinisch-rechtlichen Indikationen nicht zur Beurteilung verwendet werden. In allen Fällen, in denen fälschlicherweise positive oder fälschlicherweise negative Ergebnisse nachteilige medizinische, soziale oder psychologische Konsequenzen haben könnten, sind zusätzliche Tests angeraten.
11. Das **BD ProbeTec ET**-System kann nicht zur Beurteilung eines Therapieerfolgs oder -versagens verwendet werden, da Nukleinsäuren von *Chlamydia trachomatis* und *Neisseria gonorrhoeae* auch im Anschluß an eine antimikrobielle Therapie vorliegen können.
12. Der amplifizierte DNA-Test **BD ProbeTec ET** für *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* liefert qualitative Ergebnisse. Die Höhe des MOTA-Werts erlaubt keinen Aufschluß über die Zahl der Organismen in einer infizierten Probe.
13. Die Aussagekraft des Tests hängt vom Krankheitsvorkommen in der jeweiligen Population ab. Hypothetische Vorhersagewerte bei der Prüfung verschiedener Populationen sind in den Tabellen 1 und 2 dargestellt.
14. Da die positive CT/GC-Kontrolle sowohl für den CT- als auch für den GC-Test verwendet wird, ist die korrekte Positionierung der Streifen mit Mikroschälchen für die Ausgabe der Endergebnisse ausschlaggebend. Bezüglich der korrekten Positionierung der Streifen mit den Mikroschälchen, siehe Abschnitt H des „Testverfahrens“.
15. Die Verwendung des amplifizierten DNA-Tests **BD ProbeTec ET** für *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* beschränkt sich auf Personal, das im Testverfahren geschult und mit dem **BD ProbeTec ET**-System vertraut ist.
16. Bei Laborstudien ergab Blut > 5 % (V/V) unbestimmte (Hemm-) Ergebnisse für Urin- und Abstrichproben (mit AC) und fälschlicherweise negative Ergebnisse für Urinproben (mit und ohne AC). Blut > 5 % (V/V) kann bei Abstrichproben (mit und ohne AC) fälschlicherweise negative Ergebnisse verursachen. Mäßig oder stark blutige Proben können die Ergebnisse des **BD ProbeTec ET** CT/GC-Tests beeinträchtigen. Bezüglich der spezifischen Leistung von offensichtlich blutigen Abstrichproben von Frauen, siehe den Abschnitt „Leistungsmerkmale“.
17. Das Vorliegen stark pigmentierter Substanzen im Urin wie z.B. Bilirubin (10 mg/mL) und Phenazopyridin (10 mg/mL) kann zu unbestimmten oder fälschlicherweise negativen Ergebnissen führen.
18. Leukozytenmengen von mehr als 250.000 Zellen/mL (Abstrichproben) können unbestimmte oder fälschlicherweise negative Ergebnisse verursachen.
19. Anwesenheit von Serum, Deodorants für die Frau oder Talkumpuder können falsch negative Ergebnisse verursachen (Urinproben).
20. Mit den amplifizierten DNA-Tests **BD ProbeTec ET** für *C. trachomatis/N. gonorrhoeae* kann es bei *N. cinerea* und *N. lactamica* zu Kreuzreaktionen kommen. Bezüglich weiterer Informationen, siehe den Abschnitt „Leistungsmerkmale“.
21. Die Reproduzierbarkeit des **BD ProbeTec ET** CT/GC-Tests wurde mit Hilfe von künstlich kontaminierten Abstrichproben und Puffern ermittelt, die Urinproben simulieren sollten. Diese Proben wurden sowohl mit *C. trachomatis* als auch mit *N. gonorrhoeae* inokuliert. Die Reproduzierbarkeit bei Tests von Urinproben und Proben mit lediglich *C. trachomatis* sowie Proben mit lediglich *N. gonorrhoeae* wurde nicht ermittelt.
22. Die Leistungsdaten für den Nachweis von *N. gonorrhoeae* bei Männern beruhen auf Tests für Patienten mit Infektionsraten von 0 – 43 %; Die Männer der Testpopulation stammten hauptsächlich aus Kliniken für Geschlechtskrankheiten, deren GC-Prävalenz größer als in anderen Kliniken ist. Bei Männern wurden im Umfeld mit geringer Prävalenz 16 Gonokokken-Infektionen identifiziert (Prävalenz von 0 – 8 %). Auch der Großteil der an der Studie beteiligten Frauen mit GC-Infektionen stammten aus Kliniken für Geschlechtskrankheiten. Bei Frauen wurden im Umfeld mit geringer Prävalenz nur 6 Gonokokken-Infektionen identifiziert (Prävalenz von 1,2 %). Bei Populationen mit geringer Prävalenz von Geschlechtskrankheiten sind positive Testergebnisse sorgfältig und in Anbetracht des klinischen Erscheinungsbilds, der klinischen Symptome des Risikoprofils des Patienten und sonstigen Befunden zu beurteilen, da die Wahrscheinlichkeit eines fälschlicherweise positiven Ergebnisses höher ist, als die eines tatsächlichen positiven Ergebnisses.
23. Beim Testen von Urinproben weiblicher Patienten mit Hilfe des **BD ProbeTec ET** CT/GC-Tests als alleinigem Test zur Identifizierung von Chlamydien- und Gonokokken-Infektionen werden u. U. infizierte Personen nicht erfaßt (17/100 oder 17 % der Frauen mit positiven CT-Kulturen und 11/80 oder 13,8 % der Frauen mit positiven GC-Kulturen zeigten negative Ergebnisse, wenn lediglich Urinproben untersucht wurden).

24. Da AC als Ziel GC verwendet, ist die Wirksamkeit von AC beim Nachweis von Hemmung bei Proben mit GC-Infekt reduziert. Bezüglich Ergebnissen bei Patienten mit gleichzeitigen Infektionen, siehe „Leistungsmerkmale“.
25. Für andere UPT-Füllvolumina außer denen, die sich innerhalb der schwarzen Linien auf dem Füllfenster befinden (ca. 2,5 - 3,45 mL) liegen keine Erfahrungen über die Testleistung vor.
26. Die UPT-Leistung an **BD Viper** Geräte, die keine integrierten Lesegeräte haben (Kat. Nr. 440740), wurde nicht bestimmt.

ZU ERWARTENDE ERGEBNISSE

A. Prävalenz

Die Prävalenz positiver *C. trachomatis*- oder *N. gonorrhoeae*-Proben in Patientenpopulationen ist abhängig von: Art der Klinik, Alter, Risikofaktoren, Geschlecht und Testmethode. Die im Rahmen einer in mehreren Zentren durchgeführten klinischen Versuchsstudie beim amplifizierten DNA-Assay **BD ProbeTec ET**-CT/GC beobachtete Prävalenz reichte von 4,5 bis 28,6 % für CT (Tabelle 6, Seite 113) und von 0 bis 42,9 % für GC (Tabelle 12, Seite 121). Das Vorliegen gleichzeitiger Infektionen reichte von 0 % bis 5,4 %.

B. Positive und negative Vorhersagewerte

Die hypothetischen positiven und negativen Vorhersagewerte (PVW und NVW) für den amplifizierten DNA-Test **BD ProbeTec ET** CT/GC sind in den Tabellen 1 bzw. 2 dargestellt (Seite 109). Diese Berechnungen beruhen auf der hypothetischen Prävalenz und einer CT-Gesamtempfindlichkeit und -Spezifität (relativ zum Infektionsstatus der Patienten) von 90,7 bzw. 96,6 % sowie einer GC-Gesamtempfindlichkeit und -Spezifität von 96,0 bzw. 98,8 %. Außerdem sind in Tabelle 6 (Seite 113) und Tabelle 12 (Seite 121) die auf der tatsächlichen Prävalenz, Empfindlichkeit und Spezifität basierenden PVW und NVW dargestellt.

C. MOTA-Wert-Häufigkeitsverteilung

Insgesamt 5119 Proben aus Kliniken neun verschiedener geografischer Regionen wurden mit Hilfe des **BD ProbeTec ET**-Systems für *C. trachomatis* und/oder *N. gonorrhoeae* in sieben klinischen Labors getestet. Eine Häufigkeitsverteilung der anfänglichen MOTA-Werte für AC nach Probenart ist in Abbildung 1 dargestellt (Seite 106).

Insgesamt wurden 4108 Ergebnisse für **BD ProbeTec ET** *C. trachomatis* an sieben klinischen Standorten ausgewertet. Eine Häufigkeitsverteilung der anfänglichen MOTA-Werte für CT ist in Abbildung 2 dargestellt (siehe Seite 107). Die Verteilung von fälschlicherweise einzeln positiven (d.h. von Tests, die sich mit dem **BD ProbeTec ET** als positiv erweisen, jedoch nicht positiv bei Zellkultur, mit dem DFA-Test oder dem AMP1-Test für irgendeine Probenart) und fälschlicherweise negativen Ergebnissen ist nachstehend in Abbildung 2 auf Seite 107 dargestellt.

Insgesamt wurden 5093 Ergebnisse für **BD ProbeTec ET** *N. gonorrhoeae* an neun klinischen Standorten ausgewertet. Eine Häufigkeitsverteilung der anfänglichen MOTA-Werte für GC ist in Abbildung 3 dargestellt (siehe Seite 108). Die Verteilung von fälschlicherweise einzeln positiven (d.h. von Tests, die sich mit dem **BD ProbeTec ET** als positiv erweisen, jedoch nicht positiv bei Zellkultur oder mit dem AMP1-Test für irgendeine Probenart) und fälschlicherweise negativen Ergebnissen ist nachstehend in Abbildung 3 auf Seite 108 dargestellt.

D. Kontrollen

Während der klinischen Auswertung wurde bei 22 von 518 CT- und GC-Testläufen ein Versagen der positiven CT/GC-Kontrolle beobachtet. Die negative CT/GC-Kontrolle zeigte ein Versagen bei 19 von 518 CT-Testläufen und bei 12 von 518 GC-Testläufen. Acht dieser beobachteten Versagen der CT- und GC-Kontrolle traten auf, weil der Anwender die positiven und negativen Kontrollen vertauschte.

Die bei den klinischen Studien beobachteten MOTA-Werte für die positive und negative CT/GC-Kontrolle sind in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

Kontrolle	Bereich	MOTA-Wert			
		5. Perzentil	Mittelwert	Medianwert	95. Perzentil
CT-negativ	0 – 499	0	113	109,5	262
CT-positiv	2055 – 67.281	8222	26.816	24.681	52.725
GC-negativ	0 – 800	0	90	71,5	245
GC-positiv	2013 – 54.240	7404	22.452	21.228	41.405

LEISTUNGSMERKMALE:

Klinische Leistung

Die Leistungsmerkmale für den amplifizierten DNA-Test **BD ProbeTec ET** für *C. trachomatis* und *N. gonorrhoeae* (CT/GC) wurden in einer in mehreren klinischen Zentren in sieben verschiedenen geografischen Regionen durchgeführten Studie ermittelt. Vor der Aufnahme von Patienten in die Studie mußte jeder Standort eine Leistungstestbatterie bestehen. Die Studie umfaßte 4131 Proben von 2109 Patienten, die Kliniken für Geschlechtskrankheiten, Kliniken für Geburtshilfe und Frauenleiden, Familienplanungskliniken, Kliniken für Heranwachsende und Notaufnahmen aufsuchten. Insgesamt wurden 22 CT-Ergebnisse aufgrund von Kontaminierung der Zellkultur von der Datenanalyse ausgeschlossen. Eine weitere Probe wurde ausgeschlossen, weil kein DFA-Ergebnis vorlag. Insgesamt wurden 26 GC-Ergebnisse von der Datenanalyse ausgeschlossen. Von diesen 26 Ergebnissen wurden 15 aufgrund von Kontaminierung der Zellkultur und 11 aufgrund einer unterlassenen Abstrichnahme für die Kultur ausgeschlossen. Für die endgültige Datenanalyse wurden daher insgesamt 4108 CT-Ergebnisse und 4105 GC-Ergebnisse von 2109 Patienten herangezogen. Von 2020 der 2109 Patienten wurden Probenpaare (Abstrich und Urin) entnommen. Die Mehrzahl dieser Proben stammte von Patienten von Kliniken für Geschlechtskrankheiten und von Familienplanungskliniken. Bei weiblichen Patienten wurden vier Endozervikal-Abstriche und eine Urinprobe entnommen. Die Abstriche wurden unter Verwendung von Zellkulturen, des **BD ProbeTec ET**-Tests und einer im Handel erhältlichen Amplifizierungsmethode (AMP1) auf CT und GC getestet. Die Reihenfolge der Entnahme von Endozervikalabstrichen wurde über die gesamte Studiendauer hinweg geändert, um eine Beeinflussung durch die Entnahmereihenfolge so gering wie möglich zu halten. Bei männlichen Patienten wurden zwei Harnröhrenabstriche und eine Urinprobe entnommen. Der erste Abstrich wurde für die GC-Kultur und anschließend für den **BD ProbeTec ET**-Test verwendet. Der zweite Abstrich wurde für die CT-Zellkultur verwendet. Der UPP wurde der Urinprobe am Entnahmeort, d.h. vor dem Transport in das Labor zugesetzt.

C. trachomatis wurde durch Zellkultivierung der Endozervikalabstriche und der männlichen Harnröhrenabstriche nachgewiesen. Positivität basierte auf dem Nachweis mindestens einer einschlußbildenden Einheit (EBE) beim ersten oder zweiten Durchgang. Die **BD ProbeTec ET**-Ergebnisse für Urinproben von Männern und Frauen wurden mit den Kulturergebnissen aus Endozervikalabstrichen von Frauen bzw. Harnröhrenabstrichen von Männern verglichen. Außerdem wurden alle Endozervikalabstriche und Urinproben mit einem im Handel erhältlichen Amplifizierungstest (AMP1) getestet. Wenn die Zellkultur negativ ausfiel, jedoch einer der Amplifizierungstests positiv, wurde ein DFA-Test aus dem Zellkultur-Transportmedium durchgeführt. Die männlichen Harnröhrenabstriche wurden u.a. mittels Zellkultur, jedoch nicht mit dem AMP1 getestet. Wenn die Zellkultur negativ ausfiel, der **BD ProbeTec ET** (Abstrich oder Urin) und/oder der AMP1 CT-Urintest jedoch positiv, wurde ein

DFA-Test aus dem Zellkultur-Transportmedium durchgeführt. Bei männlichen Patienten, die einen positiven AMP1-Urintest zeigten, deren zugehörige Abstriche jedoch kulturnegativ waren, wurde ein anderer im Handel erhältlicher Amplifizierungstest (AMP2) aus dem Zellkultur-Transportmedium durchgeführt.

N. gonorrhoeae wurde durch Isolierung gramnegativer, oxidasepositiver Kolonien auf Agar nachgewiesen. Die Kulturidentifizierung wurde anhand zweier Methoden bestätigt: einer biochemischen und einer entweder immunologischen oder fluorometrischen. Die Ergebnisse des **BD ProbeTec ET**-Tests wurden mit den Kulturergebnissen und den Ergebnissen eines im Handel erhältlichen Amplifizierungstests (AMP1) verglichen. Alle GC-Kulturen wurden vor der endgültigen Ergebnisausgabe 48 bis 72 h inkubiert.

Die Leistungsmerkmale für CT und GC wurden sowohl mit als auch ohne Amplifizierungskontrolle (AC) berechnet. Alle Daten repräsentieren ohne die Amplifizierungskontrolle erhaltene Werte. Unterschiedliche Testergebnisinterpretationen, die sich aus der Anwendung der Amplifizierungskontrolle ergaben, sind durch eine Fußnote unter jeder Tabelle ausgewiesen. Bei wahrhaft positiven CT- und/oder GC-Werten ist die Zielkonzentration generell hoch genug, um die Hemmwirkung der Probenmatrix zu beheben. Der Geräte-Logarithmus interpretiert derartige Proben als positiv, selbst wenn der AC-Wert negativ ist (MOTA < 1000). Alle Proben mit zunächst unbestimmten Ergebnissen wurden erneut getestet. Die Leistung wurde anhand der Ergebnisse des Wiederholungstests berechnet. Die Proben wurden als positiv, negativ oder unbestimmt eingestuft. Wiederholt Hemmung zeigende Proben wurden als nicht interpretierbar eingestuft und bei der Berechnung der Empfindlichkeit und Spezifität ausgeschlossen. Zur Berechnung der Leistung ohne AC wurden unbestimmte Ergebnisse (AC-negative Ergebnisse) als negativ für CT und/oder GC interpretiert. Die Zahlenwerte der anfänglich und letztendlich unbestimmten Ergebnisse nach Infektionsstatus des Patienten sind in Tabelle 3 (CT) und Tabelle 4 (GC) aufgeführt. Die Zahlenwerte der anfänglich und letztendlich unbestimmten Ergebnisse nach Probenart sind in Tabelle 5 (CT) und Tabelle 11 (GC) aufgeführt.

Bei der früheren, in mehreren Zentren durchgeführten Studie, wurden in sieben Zentren 183 asymptomatische GC-Abstriche bzw. 184 Urinproben von Männern entnommen. Zur Ergänzung dieser Daten wurde eine ähnliche Studie in drei klinischen Zentren durchgeführt, von denen ein Zentrum an der ursprünglichen Auswertung beteiligt war. Die Studie umfaßte Proben, die in zwei Kliniken für Geschlechtskrankheiten und in einem Lehrkrankenhaus entnommen worden waren. Die männlichen Patienten der Kliniken für Geschlechtskrankheiten hatten evtl. bereits vorliegende Geschlechtskrankheiten, einen infizierten Partner oder einen Routinetermin. Insgesamt waren 560 Patienten an der Studie beteiligt. Davon wurden 41 wegen „Nichteinhaltung“ aus der Datenanalyse ausgeschlossen (z.B. vor Abschluß der Leistungstests aufgenommene Patienten, bei der Aufnahme symptomatische Patienten, Unterlassung der GC-Kultivierung). Von den übrigen 519 Patienten wurden 1038 Probenpaare (Abstrich und Urinprobe) entnommen. Insgesamt wurden 50 Proben ausgeschlossen, und zwar aus verschiedenen Gründen (z.B. vor dem Testen gefrorene Urinproben, unvollständige Leistungstests, mehr als sechs Tage alte Proben). Für die endgültige Datenanalyse wurden daher insgesamt 988 Proben von 519 Patienten herangezogen. Die Abstrichproben wurden für die GC-Kultivierung und anschließend für den **BD ProbeTec ET**-Test herangezogen. Die Urinproben wurden sowohl mit dem **BD ProbeTec ET**-Test als auch mit einem im Handel erhältlichen Amplifizierungstest (AMP1) getestet. Die Zugabe des UPP zum Urin erfolgte im Testzentrum. Die **BD ProbeTec ET**-Urintestergebnisse wurden mit den Kulturergebnissen männlicher Harnröhrenabstrichproben verglichen. Die Ergebnisse wurden mit den Daten der ursprünglichen, in mehreren Zentren durchgeführten Studie kombiniert. Sie sind unter den Daten der Abbildungen 1 und 3 sowie der Tabellen 2, 4, 11, 12, 13, 14 und 16 zu finden.

In einer prospektiven klinischen Übereinstimmungsstudie haben 4 geografisch unterschiedlich gelegene, klinische Prüfzentren die Leistung unverdünnter Urinproben und mit UPT bearbeitete Urinproben sowohl für CT als auch GC im Vergleich mit UPP bearbeiteten Urinproben bewertet. Diese Urinproben wurden von symptomatischen sowie asymptomatischen Männern und Frauen gesammelt. Es wurden insgesamt 1183 verträgliche CT-Urinproben und 1181 verträgliche GC-Urinproben gesammelt, in unverdünnten Urin, UPT und UPP aufgeteilt, und in die nicht bestimmte Analyse eingeschlossen. Für die Leistung ohne AC wurden insgesamt 1182 verträgliche CT unverdünnt/UPP und gepaarte UPT/UPP Proben sowie 1181 verträgliche GC unverdünnt/UPP und gepaarte UPT/UPP Proben eingeschlossen. Die Leistung mit Amplifizierungskontrolle (AC) wurde für 1171 verträgliche CT gepaarte unverdünnte/UPP Proben und 1169 verträgliche GC gepaarte unverdünnte/UPP Proben berechnet. Die Leistung mit AC wurde für 1164 verträgliche CT gepaarte unverdünnte/UPP Proben und 1162 verträgliche GC gepaarte unverdünnte/UPP Proben berechnet. Die Übereinstimmungsergebnisse der unverdünnten Urine verglichen mit UPP für CT und GC (beide mit und ohne AC) sind in Tabelle 22 zusammengefasst. Die Übereinstimmungsergebnisse von UPT verglichen mit UPP für CT und GC (beide mit und ohne AC) sind in Tabelle 23 zusammengefasst.

C. trachomatis

BD ProbeTec ET C. trachomatis-Ergebnisse wurden mit der Kultur und dem Infektionsstatus des Patienten verglichen. Die Leistungseinschätzungen für die einzelnen Probenarten und den symptomatischen Status sind in Tabelle 5 aufgeführt. Ein Patient galt dann als infiziert, wenn (1) die Kultur positiv war oder (2) positive Ergebnisse für AMP1 (im Abstrich oder im Urin) und mit dem DFA-Test erhalten wurden oder (3) AMP1 für Abstrich-/Urinproben-Paare positiv war. Daten für schwangere Frauen sind in der Fußnote von Tabelle 5 vermerkt. Von 1419 weiblichen Abstrichproben, die im Rahmen der klinischen Untersuchungen mit dem **BD ProbeTec ET CT**-Test untersucht wurden, wurden 101 (7,1 %) als stark blutig und 242 (17,1 %) als mäßig blutig eingestuft. Die Testleistung bei mäßig bis stark blutigen Abstrichen unterschied sich statistisch nicht von der Testleistung bei unblutigen oder schwach blutigen Abstrichen. Tabelle 6 zeigt die Leistungsabschätzungen für den **BD ProbeTec ET CT**-Test im Vergleich zum Infektionsstatus der Patienten für jeden klinischen Untersuchungsort nach Probenart.

In der klinischen Studie wurde der AMP1-Test bei allen Endozervikalabstrichen und Urinproben (männlich und weiblich) durchgeführt. Ein Vergleich des **BD ProbeTec ET**-Tests und des AMP1 CT-Tests mit Kultur und DFA (mit kulturnegativen, testpositiven Proben) ist in Tabelle 7 dargestellt. Tabelle 8 zeigt die prozentuale Übereinstimmung zwischen den **BD ProbeTec ET CT**-Ergebnissen und den AMP1-Ergebnissen.

Eine Zusammenfassung der Testergebnisse von Probenpaaren enthält Tabelle 9 (Frauen) und Tabelle 10 (Männer). In diesen Tabellen ist außerdem der Infektionsstatus der Patienten angegeben.

N. gonorrhoeae

BD ProbeTec ET N. gonorrhoeae-Ergebnisse wurden mit der Kultur und dem Infektionsstatus des Patienten verglichen. Die Leistungseinschätzungen für die einzelnen Probenarten und den symptomatischen Status sind in Tabelle 11 aufgeführt. Ein Patient galt dann als infiziert, wenn (1) die Kultur positiv war oder (2) positive Ergebnisse für AMP1-Probenpaare von Frauen (sowohl im Abstrich als auch im Urin) erhalten wurden. Daten für schwangere Frauen sind in der Fußnote von Tabelle 11 vermerkt. Von 1411 weiblichen Abstrichproben, die im Rahmen der klinischen Untersuchungen mit dem **BD ProbeTec ET GC**-Test untersucht wurden, wurden 102 (7,2%) als stark blutig und 242 (17,2 %) als mäßig blutig eingestuft. Die Testleistung bei mäßig bis stark blutigen Abstrichen unterschied sich statistisch nicht von der Testleistung bei unblutigen oder schwach blutigen Abstrichen. Tabelle 12 zeigt die Leistungsabschätzungen für den **BD ProbeTec ET GC**-Test im Vergleich zum Infektionsstatus der Patienten für jeden klinischen Untersuchungsort nach Probenart.

In der klinischen Versuchsstudie wurde der AMP1-Test bei allen Endozervikalabstrichen und Urinproben (männlich und weiblich) durchgeführt. Ein Vergleich des **BD ProbeTec ET**-Tests und des AMP1 GC-Tests mit Kulturen ist in Tabelle 13 dargestellt. Tabelle 14 zeigt die prozentuale Übereinstimmung zwischen den **BD ProbeTec ET GC**-Ergebnissen und den AMP1-Ergebnissen.

Eine Zusammenfassung der Testergebnisse von Probenpaaren enthält Tabelle 15 (Frauen) und Tabelle 16 (Männer). In diesen Tabellen ist außerdem der Infektionsstatus der Patienten angegeben.

Gleichzeitige *C. trachomatis*- und *N. gonorrhoeae*-Infektionen

In der klinischen Versuchsstudie lagen für 4082 Proben sowohl **BD ProbeTec ET**-CT- als auch -GC-Ergebnisse vor. Eine Zusammenfassung der **BD ProbeTec ET**-Leistung beim Nachweis von sowohl CT als auch GC in Proben von Patienten mit anzunehmenderweise gleichzeitig vorliegenden Infektionen nach Infektionsstatus des Patienten enthält Tabelle 17.

Analytische Studien

HINWEIS: Das Volumen für die **BD ProbeTec ET** CT/GC-Amplifizierungsreaktion beträgt 100 µL der aufbereiteten Probe.

Präzision

Die Präzision des amplifizierten DNA-Tests **BD ProbeTec ET** CT/GC wurde durch Prüfung eines Testpanels erwiesen, das aus vier mit *C. trachomatis* und *N. gonorrhoeae* inokulierten Verdünnungen in Verdünnungsmittel (CT/GC) und einer negativen Kontrolle (nicht-inokuliertes Verdünnungsmittel) bestand. Das 5er-Testprofil bestand aus Proben, die 0 – 100 *C. trachomatis*-Elementarkörperchen pro Reaktion (EK/RKt) und 0 – 100 *N. gonorrhoeae*-Zellen (Zellen/RKt) enthielten. Dieses Präzisionsprofil wurde an zwei klinischen Standorten und intern getestet. Sechs Replikate jedes Testprofils wurden drei Tage lang zweimal täglich analysiert. Da keine nennenswerten Schwankungen von Lauf zu Lauf bzw. von Standort zu Standort beobachtet wurden, wurden die Daten kombiniert und in Tabelle 18 zusammengefaßt. Ein Versagen der positiven oder negativen CT/GC-Kontrollen wurde bei der Präzisionsstudie nicht beobachtet.

Leistung/Reproduzierbarkeit

Vor der Datensammlung für die klinische Studie verarbeitete und testete jeder Labortechniker zwei Leistungsprofile. Dabei bestand ein Profil aus künstlich kontaminierten Abstrichproben und das andere aus künstlich kontaminierten Puffern, um Urinprobentests zu simulieren. Jedes 30er Abstrichprofil umfaßte 12 Replikate einer Konzentration mit Zuwaage von sowohl 500 (EK/RKt) (CT) als auch 500 Zellen/RKt (GC), 12 Replikate einer Konzentration mit Zuwaage von sowohl 50 (EK/RKt) (CT) als auch 30 Zellen/RKt (GC) und sechs Proben ohne Zuwaage. Jedes 30er Urinprofil umfaßte 12 Replikate einer Konzentration mit Zuwaage von sowohl 600 (EK/RKt) (CT) als auch 500 Zellen/RKt (GC), 12 Replikate einer Konzentration mit Zuwaage von sowohl 115 (EK/RKt) (CT) als auch 100 Zellen/RKt (GC) und sechs Proben ohne Zuwaage.

Die Ergebnisse dieser Leistungsstudie von 23 Labortechnikern und allen Probenkonzentrationen (negativ, schwache Konzentration, hohe Konzentration) wurden zusammengefaßt, um die Reproduzierbarkeit abzuschätzen. Schätzwerte der Reproduzierbarkeit sind in Tabelle 19 als prozentualer Anteil der korrekten Ergebnisse im Vergleich zu den erwarteten Ergebnissen dargestellt. Ein Versagen der positiven oder negativen CT/GC-Kontrolle wurde bei der Leistungs-/Reproduzierbarkeitsstudie nicht beobachtet. An drei der klinischen Standorte wurden die Profile von designierten Labortechnikern mit unterschiedlichen Erfahrungsgraden zweimal an einem Tag durchgeführt, um nachzuweisen, daß die Durchführung mehrerer Läufe im gleichen Raum und am selben Tag die Ergebnisse nicht beeinträchtigt. Zwischen den ersten und zweiten Läufen war kein Rückgang an korrekten Ergebnissen zu verzeichnen. Zum Vergleich der beiden Läufe mit Abstrich- und Urinproben wurden separate Chi-Quadrattests durchgeführt. Es zeigten sich keine statistischen Unterschiede (p-Wert für Abstrichproben: 0,1769; p-Wert für Urinproben: 0,7691).

Studien zur Probenstabilität

Transport und Aufbewahrung der Testproben wurden unter Berücksichtigung der bei den klinischen Studien gewonnenen Informationen sowie auch anhand interner analytischer Studien beurteilt. Der Großteil der klinischen Proben wurde innerhalb eines Tages in das Labor gebracht, gekühlt oder bei Raumtemperatur aufbewahrt und innerhalb von vier Tagen nach der Entnahme getestet.

Empfehlungen, wonach bei einer Temperatur von 2 – 8 °C zwei zusätzliche Tage der Probenstabilität gewährt sind, beruhen auf intern durchgeführten Studien, bei denen Abstrichen und Humanurin ungefähr 200 CT-EK und 200 GC-Zellen pro Reaktion zugewogen wurden. Abstriche und Urinproben mit und ohne Zuwaage wurden im Kühlschrank aufbewahrt und am 0, 1, 2, 4, 5, und 6. Tag getestet. Jede positive und negative Probe wurde im Dreifachansatz getestet, so daß täglich insgesamt 18 positive und neun negative Datenpunkte erhalten wurden. Die Daten zeigten, daß sowohl Abstrich- als auch Urinproben bis zum 6. Tag stabil blieben. Empfehlungen, wonach bei einer Temperatur von 15 – 27 °C zwei zusätzliche Tage der Stabilität von Abstrichproben gewährt sind, beruhen auf intern durchgeführten Studien, wie vorstehend beschrieben. Die Daten zeigten, daß die Abstriche bis zum 6. Tag haltbar sind.

Zusätzlich wurde an zwei klinischen Standorten eine separate Stabilitätsstudie durchgeführt, um die Stabilität von klinischen Abstrich- und Urinproben bei Raumtemperatur zu überprüfen. Fünf Abstriche wurden von weiblichen Patienten entnommen (einer für AMP1 und vier für **BD ProbeTec ET**). Urinproben wurden sowohl von männlichen als auch von weiblichen Patienten entnommen. Grundlinienproben (0. Tag) wurden innerhalb von 24 h nach Entnahme verarbeitet. Weitere Proben wurden bei Raumtemperatur aufbewahrt und am 2, 4, und 5. Tag getestet. Die Daten aller Zeitpunkte wurden mit den **BD ProbeTec ET**-Ergebnissen des 0. Tags verglichen. **CT-Ergebnisse:** Von den 101 Abstrichproben waren 29 positiv und 57 negativ (zu jedem Zeitpunkt). Die übrigen 15 Proben (14,9 %) zeigten Schwankungen von Tag zu Tag. Von den 107 Urinproben waren 27 positiv und 68 negativ (zu jedem Zeitpunkt). Die übrigen 12 Urinproben (11,2 %) zeigten Schwankungen von Tag zu Tag. **GC-Ergebnisse:** Von den 101 Abstrichproben waren 28 positiv und 67 negativ (zu jedem Zeitpunkt). Die übrigen 7 Abstrichproben (6,9 %) zeigten Schwankungen von Tag zu Tag. Von den 107 Urinproben waren 30 positiv und 69 negativ (zu jedem Zeitpunkt). Die übrigen 8 Proben (7,5 %) zeigten Schwankungen von Tag zu Tag. **Schlußfolgerung:** Die Schwankungen von Tag zu Tag für Abstrichproben und Urinproben betragen 5,6 – 10,9 % bei CT und 1,9 – 5,9 % bei GC. Es ist nicht bekannt, ob bei 2 – 8 °C aufbewahrte Proben geringere Schwankungen von Tag zu Tag aufweisen würden.

Testempfindlichkeit

Die Testempfindlichkeit (Nachweisgrenze) des amplifizierten DNA-Tests **BD ProbeTec ET** für *Chlamydia trachomatis* und *Neisseria gonorrhoeae* wurde durch Verdünnung von 15 *C. trachomatis*-Serovaren und 39 *N. gonorrhoeae*-Serovaren in Verdünnungsmittel (CT/GC) bestimmt. Quantitativ bestimmte CT-Kulturen wurden für jeden Serovar auf 0, 5, 15, 35, 70 und 200 EK pro Reaktion verdünnt. Quantitativ bestimmte GC-Kulturen wurden für jeden Serovar auf 0, 5, 10, 15 und 25 Zellen pro Reaktion verdünnt. Die Proben wurden verarbeitet und im Dreifachansatz getestet.

Die Nachweisgrenze der *C. trachomatis*-Serovaren lag zwischen 5 und 200 EK pro Reaktion, bei einem Medianwert von 35 EK pro Reaktion. Folgende 15 CT-Serovaren wurden geprüft, wobei die jeweilige Nachweisgrenze in Klammern (als EK pro Reaktion) angegeben ist: A (15), B (35), Ba (35), C (5), D (70), E (35), F (200), G (35), H (15), I (200), J (70), K (200), LGV-1 (35), LGV-2 (15), LGV-3 (35). Die quantitative Bestimmung von *C. trachomatis* (CT) mit Hilfe von Elementarkörperchen (EK) erwies sich als genauer und reproduzierbarer als die quantitative Bestimmung über einschlußbildende Einheiten (EBE). Die quantitative Bestimmung der EBE neigt zu Schwankungen und ergibt konsistent niedrigere Zahlen als die direkte quantitative Bestimmung (DFA) der Elementarkörperchen. Zur Auswertung der Korrelation zwischen der quantitativen Bestimmung mit Hilfe von DFA- bzw. EBE-Titern wurden alle 15 CT-Serovaren in Zellkultur gezüchtet, ihre Elementarkörperchen gesammelt und mit Hilfe von

DFA und EBE quantitativ bestimmt. Das Verhältnis der Anzahl der Elementarkörperchen (aus DFA) zu den EBE-Titern wurde für jedes Serovar berechnet. Das mittlere EK/EBE-Verhältnis für die 15 CT-Serovaren (A bis LGV-3) wurde als 167 EK pro EBE bestimmt. Für die STD-Gruppe (CT-Serovaren D-K) betrug das mittlere Verhältnis 317 EK pro EBE. Diese Verhältnisse sind repräsentativ für die Variabilität zwischen den verschiedenen Serovaren. Bei derartigen Verhältnissen betrüge die Empfindlichkeit des CT-Tests < 1 EBE.

Die Nachweisgrenze der 39 *N. gonorrhoeae*-Serovaren lag zwischen 5 und 25 Zellen pro Reaktion, bei einem Medianwert von 10 Zellen pro Reaktion. Diese Serovaren umfaßten 14 ATCC-Stämme (darunter sechs verschiedene *N. gonorrhoeae*-Auxotypen) und 25 klinische Isolate aus verschiedenen geografischen Zentren.

Testspezifität

Tabelle 20 (siehe Seite 130) identifiziert die Bakterien, Viren und Hefepilze, die mit Hilfe des amplifizierten DNA-Tests **BD ProbeTec ET** für *Chlamydia trachomatis* und *Neisseria gonorrhoeae* untersucht wurden. Soweit nicht anders angegeben, wurden Bakterienisolate mit wenigstens 10⁸ koloniebildenden Einheiten (KBE)/mL oder einer gleichwertigen Anzahl von Kopien genomischer DNA getestet. Viren wurden mit wenigstens 10⁸ Plaque-bildenden Einheiten (PBE)/mL oder einer gleichwertigen Anzahl von Kopien genomischer DNA getestet. Zu den getesteten Organismen zählten sowohl häufig im Urogenitaltrakt vorhandene als auch andere Organismen.

Alle Ergebnisse für *Chlamydia trachomatis* fielen erwartungsgemäß negativ aus.

Drei *N. cinerea*-Stämme wurden mit dem **BD ProbeTec ET-GC-Test** getestet. Von diesen erwiesen sich zwei wiederholt als positiv. Sechzehn *N. subflava*-Stämme wurden im Dreifachansatz getestet. Bei einem der drei Replikate erwiesen sich zwei Stämme als positiv. Bei Aufbereitung und erneutem Testen waren sämtliche Ergebnisse beider Stämme negativ. Acht *N. lactamica*-Stämme wurden im Dreifachansatz getestet. Bei einem der drei Replikate erwies sich ein Stamm als positiv. Bei Aufbereitung und erneutem Testen waren sämtliche Ergebnisse dieses Stamms negativ.

Störsubstanzen

Potentielle Störsubstanzen, die in Abstrich- und/oder Urinproben vorhanden sein können, wurden mit dem amplifizierten DNA-Test **BD ProbeTec ET** für *Chlamydia trachomatis* und *Neisseria gonorrhoeae* getestet. Potentielle Störsubstanzen wurden bei Abwesenheit der Zielsubstanz bzw. bei 200 CT/EK pro Reaktion (d.h. 1000 EK/mL Urin oder 4000 EK pro Abstrich) und 200 GC-Zellen pro Reaktion (d.h. 1000 Zellen/mL Urin oder 4000 Zellen pro Abstrich) beurteilt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 21 (siehe Seite 131) aufgeführt.

LIEFERBARE PRODUKTE

Die folgenden **BD ProbeTec ET**-Produkte sind ebenfalls erhältlich:

Best.- Nr.	Beschreibung
220142	Kit für die endozervikale Entnahme von Proben für den amplifizierten DNA-Test BD ProbeTec ET für <i>Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae</i> (CT/GC), 100 Einheiten.
220143	Kit für die Entnahme von Harnröhrenabstrichproben von Männern für den amplifizierten DNA-Test BD ProbeTec ET für <i>Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae</i> (CT/GC), 100 Einheiten.
440450	BD ProbeTec ET CT/GC/AC-Reagenzienpackung, 384 Tests.
440451	BD ProbeTec ET CT/GC-Kontrollen-Set, 20 positive und 20 negative Kontrollen.
440452	BD ProbeTec ET CT/GC-Verdünnungsmittelröhrchen, 2 mL x 400.
440453	BD ProbeTec ET -Verdünnungsmittel (CT/GC), 4 x 225 mL.
440455	BD ProbeTec ET -Probenröhrchen und Kappen, 4 x 100.
440456	BD ProbeTec ET -Kappen, 4 x 100.
440457	BD ProbeTec ET -Zubehör (Priming-Abdeckungen, Amplifizierungsdeckelsiegel und Entsorgungsbeutel, je 20).
440458	BD ProbeTec ET -Pipettenspitzen, 6 x 120.
440461	Kit für die urethrale (m) Entnahme und den TROCKENTRANSPORT von Proben für den amplifizierter DNA-Test BD ProbeTec ET für <i>Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae</i> , je 100.
440476	Kit für die Endozervikal-Entnahme und den TROCKENTRANSPORT von Proben für den amplifizierter DNA-Test BD ProbeTec ET für <i>Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae</i> (CT/GC), je 100.
440454	BD ProbeTec ET -Urinaufbereitungs-kit, 4 x 25.
440474	BD ProbeTec ET CT/AC-Reagenzienpackung, 384 Tests.
440477	BD ProbeTec ET -Gerät, Ausland.
440478	BD ProbeTec ET -Gerät, USA und Kanada.
440479	BD ProbeTec ET -Priming- und Wärmeblock, 220 V.
440480	BD ProbeTec ET -Priming- und Wärmeblock, 120 V.
440482	BD ProbeTec ET -Lysierblock, 220 V.
440483	BD ProbeTec ET -Lysierblock, 120 V.
440487	BD ProbeTec ET -Pipette.
440502	BD ProbeTec ET -Lysierständer.
440704	BD ProbeTec ET CT-Reagenzienpackung, 384 Tests.
440705	BD ProbeTec ET CT/GC-Reagenzienpackung, 384 Tests.
440928	BD ProbeTec Urine Preservative Transport Kit, 100 St./Packung.

Die folgenden Stämme sind erhältlich von:

American Type Culture Collection (ATCC)
10801 University Boulevard
Manassas, VA 20110-2209, USA.
ATCC-Nr. VR-902B *Chlamydia trachomatis* LGV2
ATCC-Stamm Nr. 19424, *Neisseria gonorrhoeae*

LITERATURNACHWEIS

Siehe den Abschnitt „References“ im englischen Text.

BD Dosaggi per DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* BD ProbeTec ET

Italiano

USO PREVISTO

I dosaggi per DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis* (CT) e *Neisseria gonorrhoeae* (GC) **BD ProbeTec ET**, quando effettuati con il sistema **BD ProbeTec ET**, utilizzano la tecnologia di Strand Displacement Amplification (SDA) (allungamento-spiazzamento degli spezzoni) per la determinazione qualitativa diretta di tamponi endocervicali, tamponi uretrali (uomo) e di campioni di urina di uomini e donne, per confermare l'infezione da *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, o l'infezione concomitante da *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae*. I campioni possono provenire da donne e uomini con infezioni sintomatiche o asintomatiche. Un controllo di amplificazione separato è disponibile su richiesta per il test di inibizione (Confezione di reagenti **BD ProbeTec ET** per CT/GC/AC). I dosaggi **BD ProbeTec ET** CT/GC possono essere eseguiti utilizzando il sistema **BD ProbeTec ET** da solo o in combinazione allo strumento **BD Viper**.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL METODO

Le infezioni da *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* costituiscono le affezioni batteriche a trasmissione sessuale più comuni negli Stati Uniti. L'incidenza approssimativa è di circa 4 milioni di nuovi casi all'anno di infezioni da clamidia negli Stati Uniti e di circa 50 milioni di nuovi casi all'anno in tutto il mondo.¹⁻³ Negli Stati Uniti, l'incidenza delle infezioni da clamidia nelle donne è stata di 186,6 per 100.000 nel 1996. Il totale dei casi di infezione da clamidia del 1996 negli USA è stato pari a 490.080; il totale dei casi di gonorrea nello stesso anno negli USA è stato pari a 325.883.²

Le clamidie sono batteri intracellulari obbligati, Gram-negativi, che formano inclusioni intracellulari caratteristiche, osservabili al microscopio nella coltura cellulare, dopo l'applicazione di una speciale colorazione.⁴ La *Chlamydia trachomatis* causa, nelle donne, cervicitis, uretrite, salpingite, proctite e endometrite e negli uomini, uretrite, epididimite e proctite. Le infezioni acute vengono riportate con maggiore frequenza negli uomini, dato che spesso nelle donne l'infezione è asintomatica. Si valuta che il 70 - 80% delle donne e fino al 50% degli uomini che hanno contratto l'infezione non presentino sintomi. Molte delle infezioni da clamidia nelle donne non vengono quindi trattate, con conseguente possibile infiammazione lieve delle tube di Falloppio, che costituisce uno dei principali fattori concomitanti dell'infertilità. Questo organismo può inoltre essere trasmesso nel canale del parto e causare congiuntivite neonatale e/o polmonite da clamidia nei neonati.^{4,5}

Le *Neisseria gonorrhoeae* sono diplococchi ossidasi positivi, Gram-negativi, reperibili, generalmente all'interno dei neutrofili, negli strisci con colorazione di Gram delle perdite uretrali. La coltura di *N. gonorrhoeae* può presentare difficoltà in quanto l'organismo non sopravvive a lungo fuori dall'ospite ed è particolarmente suscettibile alle condizioni ambientali sfavorevoli come l'essiccazione e le temperature estreme.⁶ La *Neisseria gonorrhoeae* causa negli uomini uretriti acute che, se non vengono trattate, possono dar luogo a epididimiti, prostatiti e stenosi uretrali. Nelle donne, il sito primario di infezione è l'endocervice. Una importante complicazione, nelle donne, è lo sviluppo della malattia infiammatoria pelvica che può contribuire all'infertilità.⁷ Le infezioni asintomatiche sono frequenti nelle donne, ma si verificano raramente negli uomini.

I metodi attualmente disponibili per la determinazione di *C. trachomatis* e/o *N. gonorrhoeae* includono colture, immunodosaggi, sonde non-amplificate e sonde amplificate.^{4,6,7} Lo sviluppo dei metodi amplificati ha messo in evidenza due vantaggi rispetto ai metodi non amplificati: maggiore sensibilità e applicabilità a svariati tipi di campione. Tradizionalmente, la coltura era considerata il "gold standard" per l'individuazione di *C. trachomatis*. Tuttavia i risultati delle colture variano considerevolmente da un laboratorio all'altro e in genere, la coltura è meno sensibile dei metodi amplificati. La combinazione dei risultati ottenuti con più metodi di determinazione per CT permette di valutare con maggiore accuratezza i nuovi metodi di analisi e di identificare in modo più attendibile i pazienti infetti e non infetti. Per l'identificazione di GC, i metodi ottimizzati di coltura continuano ad essere lo standard diagnostico per i pazienti con infezioni gonococciche.

I dosaggi per DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET**, quando effettuati con il sistema omonimo, utilizzano la tecnologia di Strand Displacement Amplification (SDA) come metodo di amplificazione e il trasferimento di energia fluorescente (ET) come procedimento di determinazione per individuare la presenza del DNA di *C. trachomatis* e di *N. gonorrhoeae* nei campioni clinici.⁸⁻¹⁰

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

I dosaggi per DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** si basano sulla simultanea amplificazione e determinazione del DNA bersaglio mediante primer di amplificazione e una sonda marcata con indicatore fluorescente.^{9,10} I reagenti SDA sono essiccati in due strisce separate di micropozzetti monouso. Il campione preparato viene aggiunto alla striscia di micropozzetti di priming che contiene i primer di amplificazione, la sonda marcata con indicatore fluorescente e gli altri reagenti necessari per l'amplificazione. Dopo l'incubazione, la miscela reattiva viene trasferita nella striscia di micropozzetti di amplificazione che contiene due enzimi (una DNA polimerasi e una endonucleasi di restrizione) necessari per l'SDA. I micropozzetti di amplificazione vengono sigillati per evitare la contaminazione e poi incubati in un lettore fluorescente termocontrollato che esegue il monitoraggio di ciascuna reazione per la formazione di prodotti amplificati. La presenza o l'assenza di CT e GC viene determinata confrontando i valori **BD ProbeTec ET** MOTA (Method Other Than Acceleration - Metodo diverso dall'accelerazione) a valori soglia predefiniti. Il MOTA è un valore metrico usato per valutare l'intensità del segnale generato dalla reazione.

Questo foglio illustrativo descrive le procedure di analisi per due configurazioni di kit di dosaggio - la confezione di reagenti per CT/GC e la confezione di reagenti per CT/GC/AC. Quando si usa il pacco reagenti CT/GC, ciascun campione e ciascun controllo viene analizzato in due micropozzetti diversi: uno per *C. trachomatis* e uno per *N. gonorrhoeae*. Quando si usa la confezione di reagenti CT/GC/AC, ciascun campione e ciascun controllo viene analizzato in due micropozzetti diversi: *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* e controllo di amplificazione. Lo scopo del controllo di amplificazione è quello di identificare un campione che potrebbe inibire la reazione SDA.

REAGENTI

Ciascuna confezione di reagenti **BD ProbeTec ET** per CT/GC contiene:

micropozzetti di priming per *Chlamydia trachomatis* (CT), 4 x 96:

4 oligonucleotidi ≥ 7 pmol; dNTP ≥ 35 nmol; sonda indicatrice ≥ 25 pmol; con tamponi e stabilizzanti.

micropozzetti di priming per *Neisseria gonorrhoeae* (GC), 4 x 96:

4 oligonucleotidi ≥ 7 pmol; dNTP ≥ 35 nmol; sonda indicatrice ≥ 25 pmol; con tamponi e stabilizzanti.

micropozzetti di amplificazione per *Chlamydia trachomatis* (CT), 4 x 96:

enzima di restrizione ≥ 30 unità; DNA polimerasi ≥ 25 unità; dNTP ≥ 80 nmol; con tamponi e stabilizzanti.

micropozzetti di priming per *Neisseria gonorrhoeae* (GC), 4 x 96:

enzima di restrizione ≥ 15 unità; DNA polimerasi ≥ 2 unità; dNTP ≥ 80 nmol; con tamponi e stabilizzanti.

Oltre ai reagenti sopra elencati, la confezione di reagenti **BD ProbeTec ET** per CT/GC/AC contiene:

micropozzetti di priming per controllo di amplificazione (AC), 4 x 96:

4 oligonucleotidi ≥ 7 pmol; dNTP ≥ 35 nmol; sonda indicatrice ≥ 25 pmol; ≥ 1000 copie di plasmide linearizzato pGC10; con tamponi e stabilizzanti;

micropozzetti di amplificazione per controllo di amplificazione (AC), 4 x 96:

enzima di restrizione ≥ 15 unità; DNA polimerasi ≥ 2 unità; dNTP ≥ 80 nmol; con tamponi e stabilizzanti.

N.B. Ciascuna busta di micropozzetti contiene un sacchetto di essiccante.

Accessori: copri-priming; sigillanti per amplificazione, 40 per confezione; buste per rifiuti, 20 per confezione.

Set di controllo **BD ProbeTec ET** (CT/GC), 20 controlli positivi per CT/GC (50 μ L essiccati) contenenti 750 copie per reazione di plasmide linearizzato pCT16* e 250 copie per reazione di plasmide linearizzato pGC10* con ≥ 5 μ g di DNA di scroto di salmone; 20 controlli negativi per CT/GC (50 μ L essiccati) con ≥ 5 μ g di DNA di scroto di salmone; provette di diluente **BD ProbeTec ET** per CT/GC – 400 provette contenenti ciascuna 2 mL di diluente per campioni a base di fosfato di potassio, DMSO, glicerolo, polisorbato 20 e 0,03% di Proclin (conservante); diluente **BD ProbeTec ET** (CT/GC) – 225 mL di diluente per campioni a base di fosfato di potassio, DMSO, glicerolo, polisorbato 20 e 0,03% di Proclin (conservante).

* La concentrazione di questo DNA è stata determinata mediante spettrofotometro a 260 nm.

Strumento, attrezzatura e materiali d'uso e consumo - Strumento e relative piastre **BD ProbeTec ET**, incubatore per lisi, portaprovette e base per lisi **BD ProbeTec ET**, incubatore per riscaldamento e priming **BD ProbeTec ET**, pipettatore e alimentatore **BD ProbeTec ET**, bustina di trattamento urina **BD ProbeTec ET**, kit di di trasporto e conservazione urina **BD ProbeTec ET**, provette per campioni, tappi e puntali per pipette **BD ProbeTec ET**, kit per raccolta di campioni endocervicali e TRASPORTO A SECCO per dosaggio di DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET** o kit per raccolta di campioni endocervicali per dosaggio di DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET**, kit per raccolta di campioni uretrali (uomo) e TRASPORTO A SECCO per dosaggio di DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET** o kit per raccolta di campioni uretrali (uomo) per dosaggio di DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET**.

Materiali necessari ma non forniti - Centrifuga in grado di raggiungere 2000 x g, vortex, guanti, pipette per dispensare 1 mL, 2 mL e 4 mL, ELIMINase, DNA AWAY oppure ipoclorito di sodio all'1% (v/v) con Alconox*, recipiente pulito adatto per contenere diluente in aliquote, cronometro e carta assorbente, contenitori sterili per la raccolta dei campioni di urina.

*Mescolare 200 mL di candeggina con 800 mL di acqua tiepida. Aggiungere 7,5 g di Alconox e mescolare. Preparare una miscela fresca ogni giorno.

Requisiti di preparazione e conservazione - I reagenti possono essere conservati a 2 – 33 °C. Non usare oltre la data di scadenza. Una volta aperta la busta, i micropozzetti sono stabili per 4 settimane, se opportunamente sigillati, o fino alla data di scadenza, a seconda di quale delle due si verifica prima. Non congelare.

Avvertenze e Precauzioni -

Per uso diagnostico *in vitro*.

- Questa confezione di reagenti trova impiego per l'analisi di tamponi endocervicali e uretrali (uomo) e di campioni di urina di donne e uomini con il sistema **BD ProbeTec ET**.
- Per la raccolta dei campioni mediante tampone endocervicale, sono stati validati solo il kit di raccolta campioni endocervicali per dosaggio di DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET** e TRASPORTO A SECCO e il kit di raccolta campioni endocervicali per dosaggio di DNA **BD ProbeTec ET** CT/GC.
- Per il prelievo dei campioni mediante tampone uretrale maschile, sono stati validati solo il kit di raccolta campioni uretrali maschili per dosaggio di DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET** e TRASPORTO A SECCO e il kit di raccolta campioni uretrali maschili per dosaggio di DNA **BD ProbeTec ET** CT/GC.
- Per campioni di urina, sono stati validati soltanto la bustina di trattamento urina **BD ProbeTec ET** (JPP), il kit di trasporto e conservazione urina **BD ProbeTec** (UPT) e l'urina non conservata (pura).
- Il kit di trasporto e conservazione urina **BD ProbeTec** (UPT) contiene **NAP Guard** ($\geq 742,5$ mM K₂EDTA). **NAP Guard** può essere irritante per gli occhi, la pelle e le vie respiratorie. In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua gli occhi aperti e consultare un medico, se i sintomi persistono. In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente e abbondantemente con acqua e sapone. In caso di inalazione, se insorgono problemi rivolgersi a un medico.
- I laboratori possono validare altri tamponi o dispositivi di raccolta e trasporto dell'urina per uso con i dosaggi **BD ProbeTec ET** CT/GC, secondo quanto illustrato in "Verification and Validation Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory," Cumitech 31, B.L. Elder et al., American Society for Microbiology, Washington D.C., February, 1997.
- Non analizzare la provetta di diluente per CT/GC inclusa nei kit di prelievo per il dosaggio di DNA amplificato di CT/GC **BD ProbeTec ET**, se è pervenuta al laboratorio senza il tampone, in quanto il test potrebbe dar luogo ad un risultato falso negativo.
- Per il trasferimento dei campioni trattati ai micropozzetti di priming e per trasferire i campioni dai micropozzetti di priming ai micropozzetti di amplificazione, usare solo pipette e puntali per pipette **BD ProbeTec ET**.
- Non scambiare o mescolare i reagenti provenienti da kit con numeri di lotto diversi.
- I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e il virus dell'immunodeficienza umana. Nel maneggiare qualsiasi oggetto contaminato con sangue o altri liquidi biologici, occorre attenersi alle direttive del presidio locale e alle "precauzioni standard".¹¹⁻¹⁴
- Per eliminare i prodotti usati, come i puntali per pipette, le provette dei campioni, i micropozzetti di priming e tutti gli articoli monouso, attenersi alle disposizioni stabilite dal laboratorio. Eliminare con attenzione tutti i prodotti monouso. Sigillare ed eliminare i contenitori dei rifiuti quando sono pieni per 3/4 o ogni giorno (a seconda di quale delle due condizioni si verifica prima).
- Il diluente (CT/GC) e la provetta del diluente per CT/GC **BD ProbeTec ET** contengono dimetilsolfossido (DMSO). Il DMSO (dimetilsolfossido) è nocivo per inalazione, contatto con la pelle e per ingestione. Evitare il contatto con gli occhi. In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare un medico. In caso di contatto con la pelle lavarsi immediatamente e abbondantemente con acqua.
- Una volta aperte, le buste dei reagenti che contengono micropozzetti di priming e micropozzetti di amplificazione non utilizzati DEVONO essere richiuse con attenzione. Prima di richiudere le buste dei reagenti, assicurarsi che contengano il sacchetto di essiccante.

14. Prima del trasferimento dall'incubatore per riscaldamento e priming **BD ProbeTec ET** allo strumento **BD ProbeTec ET** a piastra che contiene i micropozzetti di amplificazione DEVE essere opportunamente sigillata con il sigillante di amplificazione. La chiusura a tenuta della piastra garantisce una reazione chiusa per l'amplificazione e la determinazione ed è necessaria per evitare la contaminazione dello strumento e dall'area di lavoro con i prodotti di amplificazione. **Non rimuovere mai dai micropozzetti il materiale sigillante.**
15. I micropozzetti di priming che contengono liquido residuo dopo il trasferimento del liquido dai micropozzetti di priming a quelli di amplificazione costituiscono una fonte di contaminazione del bersaglio. Prima di eliminare i micropozzetti di priming, sigillarli accuratamente con il sigillante per piastra.
16. Per evitare di contaminare l'ambiente di lavoro con i prodotti di amplificazione, usare le buste dei rifiuti incluse nelle confezioni dei reagenti per smaltire i micropozzetti di amplificazione già analizzati. Prima dello smaltimento, assicurarsi che le buste siano ben chiuse.
17. Sebbene non siano richiesti ambienti di lavoro dedicati, dato che la configurazione del **BD ProbeTec ET** riduce la possibilità di contaminazione da amplicon nell'area di analisi, è tuttavia necessario prendere altre precauzioni per controllare la contaminazione, in particolare per evitare di contaminare i campioni durante la preparazione.
18. Per via della potenziale falsa positività di alcune neisserie non gonococciche reperibili nelle vie respiratorie (vedere "Limitazioni della procedura", n. 19), occorre evitare la contaminazione di reagenti e campioni con aerosol respiratori.
19. Per evitare la contaminazione crociata dei campioni, CAMBIARE I GUANTI dopo aver rimosso ed eliminato i tappi dai campioni e dai controlli lisati. Se i guanti sono venuti a contatto con i campioni o se appaiono bagnati, cambiarli immediatamente per evitare la contaminazione di altri campioni. Cambiare i guanti o lasciare l'area di lavoro e al momento di entrarvi.
20. Nel caso di contaminazione con campioni o controlli dell'area di lavoro o dell'attrezzatura, pulire accuratamente le superfici contaminate con ELIMINase, DNA AWAY o ipoclorito di sodio 1% (v/v) contenente Alconox e sciacquare abbondantemente con acqua. Prima di proseguire, lasciare asciugare completamente le superfici.
21. In caso di versamenti sul portaprovette per lisi, immergere il portaprovette in ELIMINase, DNA AWAY o ipoclorito di sodio all'1% contenente Alconox per non oltre 2 min. Sciacquarlo abbondantemente con acqua e lasciarlo asciugare all'aria.
22. Pulire ogni giorno l'intera area di lavoro – le superfici dei banchi e degli strumenti – con ELIMINase, DNA AWAY o ipoclorito di sodio all'1% (v/v) contenente Alconox. Sciacquare abbondantemente con acqua. Prima di procedere ad altre analisi, lasciare asciugare completamente le superfici.
23. In caso di situazioni insolite, come un versamento nello strumento **BD ProbeTec ET** o una contaminazione di DNA impossibile da eliminare con la pulizia, rivolgersi all'assistenza tecnica.

PRELIEVO E TRASPORTO DEI CAMPIONI

Il sistema **BD ProbeTec ET** è predisposto per rilevare la presenza di *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* nei tamponi endocervicali e uretrali (uomo) e nei campioni di urina di donne e uomini ottenuti con il metodo di prelievo appropriato.

Gli unici dispositivi validati per la raccolta di campioni su tampone per il test sullo strumento **BD ProbeTec ET** sono i seguenti.

- Kit per prelievo di campioni endocervicali e TRASPORTO A SECCO per dosaggio di DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET**
- Kit per prelievo di campioni uretrali (uomo) e TRASPORTO A SECCO per dosaggio di DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET**
- Kit per prelievo di campioni endocervicali per dosaggio di DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET**
- Kit per prelievo di campioni uretrali (uomo) per dosaggio di DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET**

Per le spedizioni nazionali (USA) ed internazionali, i campioni devono essere etichettati in osservanza delle norme regionali, nazionali e internazionali relative al trasporto di campioni clinici e agenti eziologici/sostanze infettanti. Durante il trasporto occorre rispettare le temperature di conservazione e i tempi stabiliti.

I campioni di urina devono essere raccolti in un contenitore di plastica sterile e senza conservanti. Per campioni di urina, sono stati validati soltanto la bustina di trattamento urina **BD ProbeTec ET** (UPP), il kit di trasporto e conservazione urina **BD ProbeTec** (UPT) e l'urina non conservata (pura).

Prelievo del campione mediante tampone

Prelievo dei campioni endocervicale mediante tampone utilizzando il kit per prelievo di campioni endocervicali e TRASPORTO A SECCO per dosaggio di DNA amplificato di CT/GC **BD ProbeTec ET**

1. Rimuovere il muco eccessivo dal canale cervicale usando il tampone di pulizia con punta grande incluso nel kit per prelievo di campioni endocervicali e TRASPORTO A SECCO per dosaggio di DNA amplificato di CT/GC **BD ProbeTec ET**; gettarlo dopo l'uso.
2. Introdurre nel canale cervicale il tampone per il prelievo del campione endocervicale e TRASPORTO A SECCO e ruotarlo per 15 – 30 s.
3. Estrarre con attenzione il tampone. Evitare il contatto con la mucosa vaginale.
4. Inserire immediatamente il tampone e il tappo nella provetta da trasporto. Assicurarsi che la provetta sia ben chiusa con il tappo.
5. Etichettare la provetta con le informazioni del paziente e la data/ora di prelievo

Prelievo dei campioni endocervicali mediante tampone utilizzando il kit per prelievo di campioni endocervicali per dosaggio di DNA amplificato di CT/GC **BD ProbeTec ET**

1. Estrarre dalla confezione il tampone di pulizia.
2. Con un tampone pulito, rimuovere l'eccesso di muco dal canale cervicale.
3. **Gettare** il tampone di pulizia usato.
4. Estrarre dalla confezione il tampone per il prelievo.
5. Introdurre nel canale cervicale il tampone per il prelievo e ruotarlo per 15 – 30 s.
6. Estrarre con attenzione il tampone. Evitare il contatto con la mucosa vaginale.
7. Togliere il tappo dalla provetta del diluente per CT/GC.
8. Introdurre completamente il tampone per prelievo nella provetta di diluente per CT/GC.

9. Spezzare il bastoncino del tampone in corrispondenza del contrassegno. Fare attenzione a non schizzare il contenuto.
10. Chiudere **bene** la provetta con il tappo.
11. Etichettare la provetta con le informazioni del paziente e la data/ora di prelievo.
12. Trasportar al laboratorio.

Prelievo dei campioni uretrali (uomo) mediante tampone utilizzando il kit per prelievo di campioni uretrali (uomo) e TRASPORTO A SECCO per dosaggio di DNA amplificato di CT/GC BD ProbeTec ET

1. Introdurre nell'uretra per 2 – 4 cm il tampone per il prelievo del campione uretrale e TRASPORTO A SECCO e ruotarlo per 3 – 5 s.
2. Retrarre il tampone ed inserire tampone e tappo nella provetta da trasporto. Assicurarsi che la provetta sia ben chiusa con il tappo.
3. Etichettare la provetta con le informazioni del paziente e la data/ora di prelievo

Prelievo dei campioni uretrali (uomo) mediante tampone utilizzando il kit per prelievo di campioni uretrali (uomo) per dosaggio di DNA amplificato di CT/GC BD ProbeTec ET.

1. Estrarre il tampone dalla confezione.
2. Introdurre nell'uretra il tampone fino a 2 – 4 cm e ruotarlo per 3 – 5 s.
3. Estrarre il tampone.
4. Togliere il tappo dalla provetta del diluente per CT/GC.
5. Introdurre completamente il tampone nella provetta di diluente per CT/GC.
6. Spezzare il bastoncino del tampone in corrispondenza del contrassegno. Fare attenzione a non schizzare il contenuto.
7. Chiudere **bene** la provetta con il tappo.
8. Etichettare la provetta con le informazioni del paziente e la data/ora di prelievo.
9. Trasportar al laboratorio.

Trasporto e conservazione dei tamponi

Dopo il prelievo, i tamponi endocervicali e i tamponi uretrali (uomo) devono essere conservati a 2 – 27 °C e trasportati al laboratorio e/o al centro di analisi entro 4 – 6 giorni dal prelievo. La conservazione fino a 4 giorni è stata convalidata utilizzando campioni clinici; la conservazione fino a 6 giorni è stata accertata usando campioni seminati. Consultare le Prestazioni metodologiche.

N.B. Se non è possibile trasportare i campioni direttamente al laboratorio di analisi in condizioni di temperatura ambiente (15 – 27 °C), ma è necessario spedirli, utilizzare un contenitore isolato sotto ghiaccio e un servizio di spedizione con consegna entro 1 o 2 giorni.

Prelievo, conservazione e trasporto dei campioni di urina

Raccogliere il campione di urina in un contenitore sterile e senza conservanti. I campioni di urina possono essere conservati e trasportati in tre modi: (1) non conservati (puri), (2), usando il kit di trasporto e conservazione urina **BD ProbeTec (UPT)** e la bustina di trattamento urina **BD ProbeTec ET (UPP)**. La tabella seguente riepiloga le condizioni di conservazione e trasporto per urina pura, UPT e UPP.

Campione di urina da trattare	PURA			UPT			UPP		
				Urina conservata a 2-30 °C - Trasferire in UPT entro 8 h dalla raccolta	Urina conservata a 2-8 °C - Trasferire in UPT entro 24 h dalla raccolta		UPP aggiunta nel sito di raccolta del campione	UPP aggiunta nel sito di test	
Condizioni di temperatura per il trasporto al sito di test e conservazione	2-30 °C	2-8 °C	-20 °C	2-30 °C	2-30 °C	-20 °C	Trasporto al laboratorio a 2-8 °C	Trasporto al laboratorio a 15-27 °C	Trasporto al laboratorio a 2-8 °C
Trattare il campione in conformità alle istruzioni	Entro 30 h dalla raccolta	Entro 7 giorni dalla raccolta	Entro 2 mesi dalla raccolta	Entro 30 giorni da trasferimento in UPT	Entro 30 giorni da trasferimento in UPT	Entro 2 mesi da trasferimento in UPT	Entro 4-6 giorni dalla raccolta	Entro 2 giorni dalla raccolta	Entro 4-6 giorni dalla raccolta

Urina non conservata (pura)

Raccolta

1. Il paziente non deve aver urinato per almeno 1 h prima del raccolta del campione.
2. Raccogliere il campione in un contenitore sterile e senza conservanti.
3. Il paziente deve raccogliere i primi 15-60 mL di urina escreta (il primo mitto e non quello intermedio) in un contenitore per la raccolta dell'urina.
4. Tappare ed etichettare il contenitore di raccolta dell'urina con l'identificativo del paziente e la data/ora di raccolta.

Conservazione e trasporto

1. Conservare e trasportare i campioni di urina pura dal sito di raccolta a quello di test alla temperatura di 2-30 °C.
2. Completare il trattamento dei campioni entro 30 h dalla raccolta in caso di conservazione a 2-30 °C oppure entro 7 giorni dalla raccolta se conservati a 2-8 °C.

NOTA: i campioni devono essere trasportati in un contenitore isolato sotto ghiaccio, tramite corriere con consegna entro uno o due giorni. Con campioni seminati, è stata dimostrata la conservazione sino a 7 giorni a una temperatura di 2-8 °C.

Uso del kit di trasporto e conservazione urina BD ProbeTec (UPT)**Raccolta**

1. Il paziente non deve aver urinato per almeno 1 h prima della raccolta del campione.
2. Raccogliere il campione in un contenitore sterile e senza conservanti.
3. Il paziente deve raccogliere i primi 15-60 mL di urina escreta (il primo mitto e non quello intermedio) in un contenitore per la raccolta dell'urina.
4. Tappare ed etichettare il contenitore di raccolta dell'urina con l'identificativo del paziente e la data/ora di raccolta.

Trasferimento dell'urina nell'UPT

NOTA: l'urina deve essere trasferita dal contenitore di raccolta all'UPT entro 8 h dalla raccolta, a condizione che sia stata conservata a 2-30 °C. L'urina può essere conservata fino a 24 h prima del trasferimento nell'UPT, purché sia stata conservata a 2-8 °C.

Indossare guanti puliti per manipolare l'UPT e il campione di urina. Se i guanti vengono a contatto con i campioni, cambiarli immediatamente per impedire la contaminazione di altri campioni.

1. Non appena il paziente abbia raccolto il campione di urina, etichettare il contenitore di raccolta dell'urina.
2. Aprire l'Urine Preservative Transport Kit e rimuovere l'UPT e la pipetta da trasporto. Etichettare l'UPT con l'identificativo del paziente e la data/ora di raccolta.
3. Tenere l'UPT in posizione verticale e picchiettare con decisione il fondo della provetta su una superficie piana per rimuovere eventuali gocce macroscopiche dalla parte interna del tappo. Se necessario, ripetere l'operazione.
4. Aprire l'UPT e utilizzare la pipetta da trasporto per trasferire l'urina nella provetta. Il raggiungimento del volume corretto di urina si ha quando il livello del liquido è compreso tra le linee nere sulla finestra di riempimento dell'etichetta UPT. Questo volume corrisponde a circa 2,5-3,45 mL di urina. NON riempire in modo eccessivo o insufficiente la provetta.
5. Gettare la pipetta da trasporto. **NOTA:** la pipetta da trasporto è destinata all'uso su un singolo campione.
6. Serrare bene il tappo sull'UPT.
7. Capovolgere l'UPT 3-4 volte per assicurare una miscelazione accurata del campione e del reagente.

Trasporto e conservazione dell'UPT

Conservare e trasportare i campioni di urina nell'UPT a 2-30 °C e trattare entro 30 giorni dalla raccolta. I campioni possono essere conservati a -20 °C per un massimo di due mesi.

Uso della bustina di trattamento urina BD ProbeTec (UPP)

La bustina di trattamento può essere aggiunta al campione di urina presso il centro o laboratorio di analisi oppure presso il sito di prelievo. Sono incluse le istruzioni per ciascuna di queste opzioni.

Raccolta dell'urina (UPP aggiunta nel sito del test)

1. Il paziente non deve aver urinato per almeno 1 h prima della raccolta del campione.
2. Raccogliere il campione in un contenitore sterile e senza conservanti.
3. Il paziente deve raccogliere i primi 15-20 mL di urina escreta (il primo mitto e non quello intermedio) in un contenitore per la raccolta dell'urina.

N.B. Nel corso della valutazione clinica, sono stati inclusi nelle stime di rendimento volumi fino a 60 mL di urina per analisi.

4. Tappare ed etichettare il contenitore di raccolta dell'urina con l'identificativo del paziente e la data/ora di raccolta.

Trasporto e conservazione dell'urina (aggiunta della bustina di trattamento per urina presso il centro di analisi).

N.B. I campioni devono essere trasportati in un contenitore isolato sotto ghiaccio, tramite un servizio di spedizione con consegna entro uno o due giorni. La conservazione fino a 4 giorni è stata convalidata utilizzando campioni clinici; la conservazione fino a 6 giorni è stata accertata usando campioni seminati. Consultare le Prestazioni metodologiche.

1. Conservare e trasportare i campioni di urina al centro di analisi entro 4 – 6 giorni dal prelievo, mantenendoli a 2 – 8 °C.
2. Immergere la bustina di trattamento per urina nel contenitore di raccolta del campione. Indossare guanti puliti per maneggiare la bustina di trattamento e il campione di urina.

N.B. Non appoggiare la bustina sulle superfici dei banchi di lavoro. Indossare un guanto pulito o usare una pinza pulita e sterile per estrarre la bustina di trattamento dalla busta di confezione.

N.B. Immergere con attenzione la bustina di trattamento, per evitare di schizzare.

3. Chiudere con il coperchio il contenitore di raccolta e rotolarlo leggermente per assicurarsi che la bustina di trattamento sia completamente immersa nell'urina.
4. La bustina di trattamento deve restare a contatto con il campione di urina per almeno 2 h prima dell'analisi.
5. Non congelare il campione di urina.

Raccolta dell'urina (UPP aggiunta nel sito di raccolta)

1. Il paziente non deve aver urinato per almeno 1 h prima del prelievo del campione.
2. Raccogliere il campione in un contenitore di plastica sterile e senza conservanti.
3. Il paziente deve raccogliere i primi 15 – 20 mL di urina escreta (la prima parte della minzione e NON quella intermedia).

N.B. Nel corso della valutazione clinica, sono stati inclusi nelle stime di rendimento volumi fino a 60 mL di urina per analisi.

4. Immergere immediatamente la bustina di trattamento per urina nel contenitore di raccolta del campione. Indossare guanti puliti per maneggiare la bustina di trattamento e il campione di urina.

N.B. Non appoggiare la bustina sulle superfici dei banchi di lavoro. Indossare un guanto pulito o usare una pinza pulita e sterile per estrarre la bustina di trattamento dalla busta di confezione.

N.B. Immergere con attenzione la bustina di trattamento, per evitare di schizzare.

5. Chiudere con il coperchio il contenitore di raccolta e rotolarlo leggermente per assicurarsi che la bustina di trattamento sia completamente immersa nell'urina. Etichettare il contenitore con l'identificativo del paziente e la data/ora di prelievo.

Trasporto e conservazione dell'urina (UPP aggiunta nel sito di raccolta)

N.B. Se non è possibile trasportare i campioni direttamente al laboratorio di analisi in condizioni di temperatura ambiente (15 – 27 °C), ma è necessario spedirli, utilizzare un contenitore isolato sotto ghiaccio e un servizio di spedizione con consegna

entro 1 o 2 giorni. La conservazione fino a 4 giorni è stata convalidata utilizzando campioni clinici; la conservazione fino a 6 giorni è stata accertata usando campioni seminati. Consultare le Prestazioni metodologiche.

1. I campioni di urina che contengono la bustina di trattamento devono essere conservati e trasportati al laboratorio o centro di analisi entro 4 – 6 giorni dal prelievo, se mantenuti a 2 – 8 °C, oppure entro 2 giorni dal prelievo, se mantenuti a 15 – 27 °C.
2. Non congelare il campione di urina.
3. La bustina di trattamento deve restare a contatto con il campione di urina per almeno 2 h prima dell'analisi.

PROCEDURA DI ANALISI

Per le istruzioni specifiche relative al funzionamento e alla manutenzione dei componenti del sistema, consultare il Manuale d'uso del sistema **BD ProbeTec ET**. È stato riscontrato che le condizioni ambientali ottimali per il dosaggio di CT/GC sono 18 – 23 °C con il 25 – 75% di umidità relativa e 23 – 28 °C con il 25 – 50% di umidità relativa. Le prestazioni del dosaggio di CT/GC a temperature superiori a 28 °C non sono affidabili. Per il funzionamento dello strumento **BD Viper**, consultare il manuale d'uso corrispondente. Per le procedure di analisi specifiche con l'utilizzo dello strumento **BD Viper**, consultare il foglio illustrativo del dosaggio **BD ProbeTec ET CT/GC** (nel manuale d'uso dello strumento **BD Viper**).

A. Preparazione dello strumento

1. Prima di iniziare il dosaggio, occorre accendere lo strumento e lasciarlo riscaldare.
 - a. Per riscaldare e stabilizzare l'incubatore per lisi e l'incubatore per riscaldamento e priming occorrono circa 90 min.
 - Il setpoint per l'incubatore per lisi è di 114 °C.
 - Il setpoint per il componente di priming dell'incubatore per riscaldamento e priming è di 72,5 °C.
 - Il setpoint per il componente di riscaldamento dell'incubatore è di 54 °C.
 - b. Lo strumento **BD ProbeTec ET** è controllato dal software e per riscaldarsi 30 min.
2. Prima di iniziare il dosaggio, controllare le temperature delle unità riscaldanti.
 - a. Incubatore per lisi
 - Togliere la copertura in plastica e lasciar equilibrare la temperatura per 15 min.
 - Il termometro deve indicare 112 – 116 °C.
 - b. Incubatore per riscaldamento e priming
 - Il termometro dell'unità riscaldante per priming deve indicare 72 – 73 °C.
 - Il termometro dell'unità riscaldante per riscaldamento deve indicare 53,5 – 54,5 °C.
3. Controllare la temperatura visualizzata sullo schermo del **BD ProbeTec ET**. La temperatura indicata deve essere di 47,5 – 55,0 °C.

B. Pipettatore

Per spiegazioni dettagliate relative alle funzioni del tastierino del pipettatore **BD ProbeTec ET**, consultare il Manuale d'uso del sistema **BD ProbeTec ET**.

Per eseguire i dosaggi CT/GC sono necessari i seguenti programmi. Con la confezione di reagenti per CT/GC si usa il Programma 2, che trasferisce il liquido dai campioni trattati ai micropozzetti di priming per CT/GC. Con la confezione di reagenti per CT/GC/AC si usa il Programma 3, che trasferisce il liquido dai campioni trattati ai micropozzetti di priming per CT/GC e AC. Il programma 5 trasferisce il liquido dai micropozzetti di priming ai micropozzetti di amplificazione.

Programmare il pipettatore nel modo seguente.

Programma 2

1. Accendere il pipettatore. Il pipettatore emetterà un bip, lampeggerà "ZERO", lampeggerà il numero di versione del software ed emetterà un altro bip.
2. Premere il tasto blu "Prog" (programmazione). Premere il tasto "Vol" (Volume) fino a quando viene visualizzato "2" per selezionare il Programma 2. Premere "Enter" (Invio).
3. Per accedere alla modalità di programmazione, tenere premuto il tasto "Prog" e spingere contemporaneamente il tasto Funzione speciale con la punta di una pipetta o di una graffetta.
4. Premere "Fill" (Riempimento) Premere la freccia Su fino a quando si visualizza 400. Premere "Enter" (Invio).
5. Premere "Disp" (Dispensazione). Premere la freccia Su fino a quando si visualizza 150. Premere "Enter" (Invio).
6. Premere "Disp". Premere la freccia Su fino a quando si visualizza 150. Premere "Enter" (Invio).
7. Premere "Enter" (Invio) una seconda volta per memorizzare il programma e uscire. Un "bip" dovrebbe indicare che la programmazione è completa.
8. Verificare il programma premendo il trigger per avanzare da ciascun passaggio al successivo e impostare per ciascun passaggio le velocità di aspirazione/dispensazione usando il tasto "Vol". Ad ogni passaggio appare l'indicatore di velocità. Usare il tasto "Vol" per regolare l'indicatore di velocità in modo che visualizzi 2 quadratini per i passaggi di "Fill" (Riempimento) e "Disp".

Programma 3

1. Accendere il pipettatore. Il pipettatore emetterà un bip, lampeggerà "ZERO", lampeggerà il numero di versione del software ed emetterà un altro bip.
2. Premere il tasto blu "Prog" (programmazione). Premere il tasto "Vol" (Volume) fino a quando viene visualizzato "3" per selezionare il Programma 3. Premere "Enter" (Invio).
3. Per accedere alla modalità di programmazione, tenere premuto il tasto "Prog" e spingere contemporaneamente il tasto Funzione speciale con la punta di una pipetta o di una graffetta.
4. Premere "Fill" (Riempimento) Premere la freccia Su fino a quando si visualizza 600. Premere "Enter" (Invio).
5. Premere "Disp" (Dispensazione). Premere la freccia Su fino a quando si visualizza 150. Premere "Enter" (Invio).
6. Premere "Disp". Premere la freccia Su fino a quando si visualizza 150. Premere "Enter" (Invio).
7. Premere "Disp". Premere la freccia Su fino a quando si visualizza 150. Premere "Enter" (Invio).
8. Premere "Enter" (Invio) una seconda volta per memorizzare il programma e uscire. Un "bip" dovrebbe indicare che la programmazione è completa.

- Verificare il programma premendo il trigger per avanzare da ciascun passaggio al successivo e impostare per ciascun passaggio le velocità di aspirazione/dispensazione usando il tasto "Vol". Ad ogni passaggio appare l'indicatore di velocità. Usare il tasto "Vol" per regolare l'indicatore di velocità in modo che visualizzi 2 quadratini per i passaggi di "Fill" (Riempimento) e "Disp".

Programma 5

- Premere il tasto "Prog". Premere il tasto "Vol" fino a quando viene visualizzato "5" per selezionare il Programma 5. Premere "Enter" (Invio).
- Per accedere alla modalità di programmazione, tenere premuto il tasto "Prog" e spingere contemporaneamente il tasto Funzione speciale con la punta di una pipetta o di una graffetta.
- Premere "Fill" (Riempimento) Premere la freccia Su fino a quando si visualizza **100**. Premere "Enter" (Invio).
- Premere "Disp". Premere la freccia Su fino a quando si visualizza **100**. Premere "Enter" (Invio).
- Premere "Mix". Premere la freccia Su fino a quando si visualizza **50**. Premere "Enter" (Invio).
- Premere "Enter" (Invio) una seconda volta per memorizzare il programma e uscire. Un "bip" dovrebbe indicare che la programmazione è completa.
- Verificare il programma premendo il trigger per avanzare da ciascun passaggio al successivo e impostare per ciascun passaggio le velocità di aspirazione/dispensazione/miscelazione usando il tasto "Vol" Ad ogni passaggio appare l'indicatore di velocità. Usare il tasto "Vol" per regolare l'indicatore di velocità in modo che visualizzi 2 quadratini per le funzioni di aspirazione e dispensazione. Usare il tasto "Vol" per regolare la velocità di miscelazione in modo che visualizzi 3 quadratini.

Revisione del programma

Prima di iniziare la procedura, accendere il pipettatore per rivedere tutti i programmi. Per rivedere i programmi, accendere il pipettatore. Premere il tasto blu "Prog" (programmazione). Premere il tasto "Vol" (volume) fino a quando viene visualizzato il numero del programma appropriato (2, 3 o 5). Premere il tasto "Enter" (Invio). Usare il trigger del pipettatore per avanzare nel programma da un passaggio al successivo.

Programma 2 Questo programma aspira 400 µL; dispensa 150 µL nel micropozzetto per CT e dispensa 150 µL nel micropozzetto GC. Il display del pipettatore deve visualizzare quanto segue.

Fill 400 µL - S ■■

Dispense 150 µL - S ■■

Dispense 150 µL - S ■■

Programma 3 Questo programma aspira 600 µL; dispensa 150 µL nel micropozzetto per CT; dispensa 150 µL nel micropozzetto GC e dispensa 150 µL nel micropozzetto AC. Il display del pipettatore deve visualizzare quanto segue.

Fill 600 µL - S ■■

Dispense 150 µL - S ■■

Dispense 150 µL - S ■■

Dispense 150 µL - S ■■

Rivedere nello stesso modo il Programma 5.

Programma 5 Questo programma aspira 100 µL; dispensa 100 µL e miscela 50 µL tre volte. Il display del pipettatore deve visualizzare quanto segue.

Fill 100 µL - S ■■

Dispense 100 µL - S ■■

Mix 50 µL - S ■■■

Zero (lampeggia)

C. Layout delle piastre

Il rapporto di layout delle piastre viene generato dallo strumento **BD ProbeTec ET** una volta caricati nel sistema il tipo di dosaggio, l'identificazione del campione, i numeri di lotto dei controlli e i numeri di lotto dei kit. Il rapporto di layout delle piastre mostra la disposizione fisica dei campioni e dei controlli per ciascuna piastra da analizzare. Il software del sistema raggruppa le posizioni adiacenti delle piastre per i pozzetti richiesti per un particolare dosaggio. Per il dosaggio di DNA amplificato di CT/GC, colonne adiacenti vengono assegnate come segue: CT/GC. Per il dosaggio di DNA amplificato di CT/GC/AC, colonne adiacenti vengono assegnate come segue: CT/GC/AC. Questo orientamento viene usato sia per la piastra di micropozzetti di priming che per la piastra di micropozzetti di amplificazione.

I micropozzetti di priming sono le strisce di micropozzetti di colori **compatti** (CT – verde compatto; GC – giallo compatto; AC – nero compatto, se presente).

I micropozzetti di amplificazione sono le strisce di micropozzetti **striati** (CT – verde striato; GC – giallo striato; AC – nero striato, se presente).

D. Preparazione dei tamponi

I campioni su tampone devono essere trattati entro 4 – 6 giorni dal prelievo, se conservati a 2 – 27 °C.

N.B. Prima dell'uso, i tamponi e le provette di diluente per CT/GC devono essere a temperatura ambiente.

Procedura di preparazione per i tamponi prelevati con il kit per prelievo di campioni endocervicali e TRASPORTO A SECCO per dosaggio di DNA amplificato di CT/GC BD ProbeTec ET o con il kit per prelievo di campioni uretrali (uomo) e TRASPORTO A SECCO per dosaggio di DNA amplificato di CT/GC BD ProbeTec ET.

- Etichettare una provetta di diluente per CT/GC per ogni tampone da trattare.
- Strappare la provetta e introdurla nel tampone. Miscelare roteando il tampone nel diluente per 5 – 10 s.
- Premere il tampone lungo le pareti interne della provetta in modo da far scorrere il liquido sul fondo.
- Rimuovere con attenzione il tampone per evitare di schizzare.

N.B. La dispersione di goccioline può contaminare l'area di lavoro.

- Rimettere il tampone nella provetta da trasporto e gettarlo.
- Richiudere bene con il tappo la provetta di diluente per CT/GC.
- Agitare con vortex per 5 s.

8. Usare il rapporto di layout delle piastre per disporre la provetta nella posizione stabilita nel portaprovette per lisi.
9. Ripetere i passaggi da 1 a 8 per altri tamponi.
10. Bloccare i campioni in posizione nel portaprovette per lisi.
11. I campioni sono pronti per essere lisati.

N.B. Alternativamente, se è disponibile un vortex multi-provette, saltare il passaggio 7 e, dopo il passaggio 10 e prima della lisi, agitare con vortex per 15 – 20 s l'intero portaprovette per lisi.

N.B. I campioni trattati ma non ancora lisati possono essere conservati a temperatura ambiente fino a 6 h, o fino al giorno successivo a 2 – 8 °C.

Procedura di preparazione per i tamponi prelevati con il kit per prelievo di campioni endocervicali per dosaggio di DNA amplificato di CT/GC BD ProbeTec ET o con il kit per prelievo di campioni uretrali (uomo) per dosaggio di DNA amplificato di CT/GC BD ProbeTec ET.

1. Agitare con vortex per 5 s la provetta di diluente per CT/GC.
N.B. Alternativamente, se è disponibile un vortex multi-provette, saltare i passaggi 2 e 3; agitare quindi con vortex per 15 – 20 s l'intero portaprovette per lisi e procedere con il passaggio 4.
2. Usare il rapporto di layout delle piastre per disporre le provette di campioni e di controlli nella posizione stabilita nel portaprovette per lisi.
3. Bloccare i campioni in posizione nel portaprovette per lisi.
4. I campioni sono pronti per essere lisati.

N.B. I campioni trattati ma non ancora lisati possono essere conservati a temperatura ambiente fino a 6 h, o fino al giorno successivo a 2 – 8 °C.

E. Preparazione dell'urina

Procedura di trattamento di campioni di urina non conservata (pura)

Trattare i campioni di urina pura entro 30 h dalla raccolta in caso di conservazione a 2-30 °C oppure entro 7 giorni dalla raccolta se conservati a 2-8 °C oppure entro 2 mesi dalla data della raccolta in caso di conservazione a -20 °C.

NOTA:

Prima dell'uso, il diluente **BD ProbeTec ET** (CT/GC) deve essere a temperatura ambiente.

Aliquotare la quantità necessaria di diluente **BD ProbeTec ET** (CT/GC) in un recipiente pulito. Per stimare l'aliquota necessaria, moltiplicare per 2 il numero di campioni e aggiungere 1-2 mL per agevolare il pipettaggio. **Per evitare la contaminazione del diluente, non versare nuovamente nel flacone il diluente residuo.**

1. Etichettare una provetta **BD ProbeTec ET** vuota per ciascun campione di urina da trattare.
2. Rotolare il recipiente per miscelare l'urina e aprirlo con attenzione.
NOTA: aprire con attenzione il recipiente per evitare fuoriuscite accidentali che potrebbero causare la contaminazione dell'area di lavoro.
NOTA: lasciare scongelare completamente i campioni di urina congelati e mescolarli prima di trasferirli nella provetta.
3. Pipettare 4,0 mL di urina nella provetta etichettata appropriata e tappare quindi accuratamente la provetta.
4. Ripetere i punti 2-3 per altri campioni di urina pura. Usare una pipetta o un puntale per pipetta nuovi per ciascun campione
5. Inserire le provette nel portaprovette per lisi **BD ProbeTec ET**.
6. Inserire il portaprovette per lisi nel rispettivo incubatore per preriscaldare i campioni.
7. Riscaldare i campioni per 10 min.
8. Dopo 10 min, rimuovere il portaprovette per lisi dall'incubatore e lasciare raffreddare le provette a temperatura ambiente per almeno 15 min o un massimo di 6 h.
NOTA: non refrigerare o congelare le provette contenenti i campioni dopo il preriscaldamento di 10 min.
9. Centrifugare le provette a 2000 x g per 30 min.
10. Terminata la centrifugazione, estrarre con cautela le provette dalla centrifuga.
11. Stappare la prima provetta e decantare con attenzione il sovrantante. Terminare l'operazione di decantazione con un movimento del polso leggero ma deciso in modo da rimuovere dalla provetta il liquido residuo.
NOTA: si tratta di un'operazione importante in quanto l'eccesso di campione residuo può causare inibizione. È possibile fare svuotare singolarmente la provetta su un foglio separato di carta assorbente per migliorare la rimozione dell'urina residua.
12. Posare il tappo sulla provetta, senza tapparla.
13. Ripetere i punti 11-12 per ciascun campione di urina centrifugato.
14. Pipettare 2,0 mL di diluente in ogni provetta. Usare una pipetta o un puntale per pipetta nuovi per ciascuna provetta.
15. Ritappare accuratamente le provette e vortexarle per 5 s per risospendere completamente il sedimento nel diluente.
16. I campioni sono pronti per essere lisati.

NOTA: i campioni trattati ma non ancora lisati possono essere conservati a temperatura ambiente per un massimo di 6 h, oppure fino al giorno successivo a 2-8 °C.

Procedura di trattamento con campioni di urina raccolta usando il kit di trasporto e conservazione urina BD ProbeTec (UPT)

NOTA:

I campioni UPT possono essere conservati a 2-30 °C e trattati entro 30 giorni dalla raccolta oppure congelati a -20 °C e trattati entro 2 mesi dalla raccolta. .

Prima dell'uso, il diluente **BD ProbeTec ET** (CT/GC) deve essere a temperatura ambiente.

Aliquotare la quantità necessaria di diluente **BD ProbeTec ET** (CT/GC) in un recipiente pulito. Per stimare l'aliquota necessaria, moltiplicare per 2 il numero di campioni e aggiungere 1-2 mL per agevolare il pipettaggio. **Per evitare la contaminazione del diluente, non versare nuovamente nel flacone il diluente residuo.**

Assicurarsi che il volume di urina in ogni provetta rientri tra le linee indicate sull'etichetta. Un riempimento insufficiente o eccessivo della provetta può influenzare le prestazioni dell'analisi.

1. Inserire le provette UPT nel portaprovette per lisi **BD ProbeTec ET**.
NOTA: in caso di campioni congelati, lasciali scongelare completamente e mescolarli capovolgendoli prima del riscaldamento.
2. Inserire il portaprovette per lisi nel rispettivo incubatore per preriscaldare i campioni.
3. Riscaldare i campioni per 10 min.
4. Dopo 10 min, rimuovere il portaprovette per lisi dall'incubatore e lasciare raffreddare le provette a temperatura ambiente per almeno 15 min o un massimo di 6 h.
NOTA: non refrigerare o congelare le provette contenenti i campioni dopo il preriscaldamento di 10 min.
5. Centrifugare le provette a 2000 x g per 30 min.
6. Terminata la centrifugazione, estrarre con cautela le provette dalla centrifuga.
7. Stappare la prima provetta UPT e decantare con attenzione il tensioattivo. Terminare l'operazione di decantazione con un movimento del polso leggero ma deciso in modo da rimuovere dalla provetta il liquido residuo e asciugare la provetta tamponandola su un pezzo di carta assorbente separato.
8. Posare il tappo sulla provetta, senza tapparla.
9. Ripetere i punti 7-8 per ciascun campione di urina centrifugato.
10. Pipettare 2,0 mL di diluente in ogni provetta. Usare una pipetta o un puntale per pipetta nuovi per ciascuna provetta.
11. Richiudere bene le provette UPT e agitarle con vortex per 5 s per risospendere completamente il sedimento nel diluente.
12. I campioni sono pronti per essere lisati.
NOTA: i campioni trattati ma non ancora lisati possono essere conservati a temperatura ambiente per un massimo di 6 ore, oppure fino al giorno successivo a 2 - 8 °C.

Procedura di trattamento per campioni raccolti usando la bustina di trattamento urina BD ProbeTec ET (UPP)

I campioni di urina devono essere trattati entro 4 – 6 giorni dal prelievo, se conservati a 2 – 8 °C (con la bustina di trattamento aggiunta nel sito di prelievo o nel centro di analisi), oppure entro 2 giorni dal prelievo, se conservati a 15 – 27 °C (con la bustina di trattamento aggiunta nel sito di prelievo).

NOTE

Prima dell'uso, il diluente **BD ProbeTec ET** (CT/GC) deve essere a temperatura ambiente.

L'urina deve restare a contatto con la bustina di trattamento per almeno 2 h prima dell'analisi.

Dispensare la quantità necessaria di diluente **BD ProbeTec ET** (CT/GC) in un recipiente pulito. Per stimare l'aliquota necessaria, moltiplicare per 2 il numero di campioni e aggiungere 1 – 2 mL in più per agevolare il pipettaggio. **Per evitare la contaminazione del diluente – Non versare di nuovo nel flacone il diluente residuo.**

1. Etichettare una provetta **BD ProbeTec ET** vuota per ciascun campione di urina da analizzare.
2. Roteare il recipiente per miscelare l'urina e aprirlo con attenzione.
N.B. Aprire con attenzione il recipiente per evitare versamenti, in quanto la dispersione di goccioline può contaminare l'area di lavoro.
3. Pipettare 4,0 mL di urina nella provetta etichettata appropriata e chiuderla bene con il tappo.
4. Ripetere i passaggi 2 – 3 per altri campioni. Usare una pipetta o un puntale per pipetta nuovi per ciascun campione
5. Centrifugare le provette a 2000 x g per 30 min.
6. Terminata la centrifugazione, estrarre con cautela le provette dalla centrifuga.
7. Stappare la prima provetta e decantare con attenzione il tensioattivo. Terminare il movimento di decantazione scuotendo leggermente il polso per rimuovere dalla provetta il liquido residuo.
N.B. Questo è un passaggio importante, in quanto l'eccesso di campione residuo può causare inibizione. È possibile far scolare individualmente la provetta su un foglio separato di carta assorbente per migliorare la rimozione dell'urina residua.
8. Appoggiare il tappo sulla provetta.
9. Ripetere i passaggi 7 – 8 per ciascun campione di urina centrifugato.
10. Pipettare 2,0 mL di diluente in ogni provetta. Usare una pipetta o un puntale per pipetta nuovi per ciascuna provetta.
11. Richiudere bene le provette e agitarle con vortex per 5 s per risospendere completamente il sedimento nel diluente.
12. I campioni sono pronti per essere lisati.
N.B. I campioni trattati ma non ancora lisati possono essere conservati a temperatura ambiente fino a 6 h, o fino al giorno successivo a 2 – 8 °C.

F. Preparazione del controllo di qualità

N.B. Prima dell'uso, il diluente e i controlli **BD ProbeTec ET** (CT/GC) devono essere a temperatura ambiente.

1. Per ciascuna serie (piastra) da analizzare, preparare una provetta di controllo negativo per CT/GC e una provetta di controllo positivo per CT/GC. Se la piastra contiene reagenti con numeri di lotto diversi, occorre testare i controlli per ciascun lotto.
2. Stappare la provetta di controllo negativo per CT/GC. Con una pipetta o un puntale per pipetta nuovi, dispensare 2,0 mL di diluente.
3. Richiudere la provetta con il tappo e agitare con vortex per 5 s.
4. Stappare la provetta di controllo positivo per CT/GC. Con una pipetta o un puntale per pipetta nuovi, dispensare 2,0 mL di diluente.
5. Richiudere la provetta con il tappo e agitare con vortex per 5 s.
6. I controlli sono pronti per essere lisati.

G. Lisi dei campioni e dei controlli

1. Inserire il portaprovette per lisi nel rispettivo incubatore.
2. Riscaldare i campioni per 30 min.
3. Dopo 30 min, rimuovere il portaprovette dall'incubatore e lasciarlo raffreddare a temperatura ambiente per almeno 15 min.

N.B. Dopo la lisi, i campioni possono essere:

- a. Conservati a 18 – 30 °C per 6 h al massimo e analizzati senza ripetere la lisi;
- b. Conservati a 2 – 8 °C fino a 5 giorni; Prima dell'analisi, questi campioni devono essere agitati con vortex e lisati nuovamente.
- c. Conservati a -20 °C fino a 98 giorni. Prima dell'analisi, questi campioni devono essere scongelati a temperatura ambiente, agitati con vortex e lisati nuovamente. I campioni lisati possono essere congelati e scongelati due volte.

H.1 Procedura di analisi per confezione di reagenti per CT/GC

N.B. Prima dell'uso, i micropozzetti di amplificazione e di priming devono essere a temperatura ambiente.

1. Per i campioni prelevati con il kit per prelievo di campioni endocervicali e TRASPORTO A SECCO per dosaggio di DNA amplificato di CT/GC **BD ProbeTec ET** o con il kit per prelievo di campioni uretrali (uomo) per dosaggio di DNA amplificato di CT/GC **BD ProbeTec ET**, rimuovere ed eliminare i tappi delle provette dei campioni e dei controlli lisati e raffreddati.
2. Per i tamponi prelevati con il kit per prelievo di campioni endocervicali per dosaggio di DNA amplificato di CT/GC **BD ProbeTec ET** o con il kit per prelievo di campioni uretrali (uomo) per dosaggio di DNA amplificato di CT/GC **BD ProbeTec ET**, procedere come segue.
 - a. Stappare la provetta e premere leggermente il tampone contro la parete interna della provetta per rimuovere il liquido in eccesso.
 - b. Estrarre dalla provetta il tappo e il tampone Non premere contro la parete della provetta per evitare di schizzare goccioline che potrebbero causare contaminazione crociata.
 - c. Gettare il tappo e il tampone.
3. Per campioni di urina trattati, togliere il tappo dalla provetta e gettarlo.
4. Per evitare la contaminazione, **cambiare i guanti** prima di procedere.
5. Preparare la piastra di priming come indicato nel rapporto di layout delle piastre. **I micropozzetti di priming devono essere collocati nella piastra nell'ordine seguente:** CT (micropozzetti verde compatto) e GC (micropozzetti giallo compatto). Ripetere fino a quando la piastra è configurata come indicato nel rapporto di layout delle piastre.
6. Procedere come segue per richiudere e sigillare le buste dei micropozzetti.
 - a. Mettere la busta su una superficie piatta. Appiattire con una mano l'estremità aperta.
 - b. Mantenendo la pressione, far scorrere un dito lungo l'esterno della chiusura, da un margine all'altro della busta.
 - c. Assicurarsi che la busta sia sigillata.
7. Selezionare il **Programma 2** sul pipettatore **BD ProbeTec ET**.
8. Sollevare i puntali delle pipette. Tirare completamente in fuori la manopola spaziatrice per espandere il pipettatore.

N.B. Per evitare perdite, assicurarsi che i puntali siano ben fissati sul pipettatore.
9. Aspirare 400 µL dalla prima colonna di campioni.
10. Abbassare con attenzione il pipettatore, portare i puntali delle pipette a contatto con le pareti dei pozzetti e dispensare 150 µL in ciascuna delle 2 colonne corrispondenti di micropozzetti di priming (1 A-H; 2 A-H).

N.B. Per evitare la contaminazione, non abbassare il pipettatore sui campioni o sui micropozzetti. I movimenti bruschi possono causare la dispersione di goccioline o aerosol.

N.B. Per garantire accuratezza e precisione e per evitare la contaminazione crociata, è importante dispensare i liquidi contro le pareti interne dei micropozzetti.
11. Eliminare i puntali. Premere il grilletto di pipettaggio per reimpostare il pipettatore.

N.B. Eliminare con attenzione i puntali per evitare la dispersione di goccioline o aerosol che potrebbero contaminare l'area di lavoro.
12. Prendere dei nuovi puntali e aspirare 400 µL dalla 2da colonna di campioni.
13. Abbassare con attenzione il pipettatore, portare i puntali delle pipette a contatto con le pareti dei pozzetti e dispensare 150 µL in ciascuna delle 2 colonne corrispondenti di micropozzetti di priming (3 A-H; 4 A-H).
14. Eliminare i puntali.
15. Continuare a trasferire gli altri campioni della serie.
16. Coprire la piastra di micropozzetti di priming con il rispettivo coperchio e lasciarla incubare a temperatura ambiente per almeno 20 min. (L'incubazione può essere protratta fino a 6 h).

N.B. Richiudere con tappi nuovi i campioni preparati per conservare le provette per campioni.
17. Al termine dell'incubazione della piastra di priming, preparare la piastra di amplificazione. Configurare i micropozzetti di amplificazione in una piastra, in modo che corrisponda alle indicazioni del rapporto di layout delle piastre (come per la piastra di priming). Richiudere e sigillare le buste dei micropozzetti come descritto al passaggio 4.
18. Togliere il coperchio dalla piastra di micropozzetti di priming e disporla nell'incubatore di priming. Mettere **IMMEDIATAMENTE** la piastra di micropozzetti di amplificazione nell'incubatore per pre-riscaldarla.
19. **Impostare il cronometro su 10 min. (N.B. Il tempo è importantissimo per questo passaggio.)**
20. Trascorsi i 10 min (+/- 1 min.) di incubazione, selezionare il **Programma 5** sul pipettatore.
21. Sollevare i puntali e trasferire 100 µL dalla colonna 1 dei micropozzetti di priming alla colonna 1 dei micropozzetti di amplificazione. Portare i puntali delle pipette a contatto con le pareti dei pozzetti e dispensare il liquido. Dopo la dispensazione, lasciare che il pipettatore mescoli automaticamente il liquido nei pozzetti. Sollevare con attenzione il pipettatore dalla piastra. Evitare il contatto con altri pozzetti.
22. Eliminare i puntali. Sollevare dei nuovi puntali e continuare a trasferire la miscela reattiva dai micropozzetti di priming ai micropozzetti di amplificazione, una colonna alla volta, usando nuovi puntali per ciascuna colonna.
23. Trasferita l'ultima colonna, rimuovere la pellicola protettiva dal sigillante di amplificazione (rimuovere una metà della pellicola se le colonne occupate dai micropozzetti sono 6 o meno, rimuovere l'intera pellicola se le colonne occupate sono

- 7 o più). Afferrare per i bordi il foglio di sigillante e centrarlo sulla piastra, servendosi delle guide che si trovano sull'incubatore. Il foglio di sigillante si estenderà oltre i micropozzetti da entrambi i lati della piastra. Premere sul sigillante per assicurarsi che tutti i micropozzetti siano completamente sigillati.
24. Sull'interfaccia utente **BD ProbeTec ET**, estrarre il portapiastre e aprire gli sportelli. **IMMEDIATAMENTE** (entro 30 s) trasferire la piastra **sigillata** di micropozzetti di amplificazione allo strumento **BD ProbeTec ET** e iniziare il ciclo di analisi. (Per spiegazioni dettagliate, consultare il Manuale d'uso del sistema **BD ProbeTec ET**.)
 25. Una volta iniziato il ciclo, completare la fase seguente della procedura di pulizia.
 - a. Sigillare i micropozzetti di priming con un foglio di sigillante di amplificazione e rimuovere la piastra dall'incubatore per riscaldamento e priming.

AVVERTENZA - La temperatura supera 70 °C. Per rimuovere la piastra, usare guanti resistenti al calore.
 - b. Lasciar raffreddare la piastra sul banco per 5 min.
 - c. Rimuovere dalla piastra i micropozzetti di priming sigillati afferrando la parte superiore e inferiore del sigillante e sollevando insieme tutti i pozzetti. Mettere i micropozzetti in una busta per rifiuti e sigillarla.
 - d. Pulire la piastra metallica.

Sciacquare la piastra con ELIMINase, DNA AWAY la soluzione di ipoclorito di sodio all'1% (v/v) e Alconox.
Sciacquare la piastra con acqua.
Avvolgerla quindi in un telo pulito e lasciarla asciugare completamente prima di riutilizzarla.
 26. Al termine del ciclo verranno stampati i risultati del test.
 27. Estrarre il portapiastre dalla stazione, aprire lo sportello e rimuovere la piastra. Chiudere lo sportello e rimettere il portapiastre nello strumento.
 28. Togliere dalla piastra i micropozzetti di amplificazione sigillati. **ATTENZIONE - Non rimuovere dai micropozzetti il materiale sigillante.** Per rimuovere tutti insieme i micropozzetti sigillati, afferrare la parte superiore e inferiore del sigillante e sollevare il tutto fuori dalla piastra. Mettere i micropozzetti sigillati nella busta per rifiuti e sigillarla.
 29. Pulire la piastra metallica.

Sciacquare la piastra con ELIMINase, DNA AWAY o la soluzione di ipoclorito di sodio all'1% (v/v) e Alconox.
Sciacquare la piastra con acqua.
Avvolgerla quindi in un telo pulito e lasciarla asciugare completamente prima di riutilizzarla.
 30. Dopo l'ultimo ciclo della giornata, eseguire le seguenti procedure di pulizia.
 - a. Con della carta assorbente o delle compresse di garza impregnate di ELIMINase, DNA AWAY o soluzione di ipoclorito di sodio 1% (v/v) e Alconox, pulire i piani di lavoro e le superfici esterne dell'incubatore per lisi, dell'incubatore per riscaldamento e priming e dello strumento **BD ProbeTec ET**. Lasciare la soluzione sulle superfici per 2 – 3 min. Impregnare di acqua della carta assorbente o delle compresse di garza e rimuovere la soluzione detergente. Durante l'applicazione della soluzione detergente ed il risciacquo con l'acqua cambiare frequentemente la carta assorbente o la garza. Con della carta assorbente o delle compresse di garza inumidite con ELIMINase, DNA AWAY o soluzione di ipoclorito di sodio 1% e Alconox pulire l'impugnatura del pipettatore (**SOLO L'IMPUGNATURA**). Trascorsi 2 – 3 min, passare sull'impugnatura della carta assorbente o delle compresse di garza inumidite con acqua.
 - b. Immergere in ELIMINase, DNA AWAY o ipoclorito di sodio all'1% (v/v) contenente Alconox, per non oltre 2 min, il portaprovette per lisi, la base del portaprovette e il relativo coperchio. Sciacquare abbondantemente con acqua e lasciare asciugare all'aria.
 - c. Ricaricare il pipettatore.
 - d. Eliminare la busta dei rifiuti sigillata e la busta del materiale a rischio biologico in osservanza delle procedure stabilite per lo smaltimento dei rifiuti biologici contaminati.

H.2. Procedura di analisi per confezione di reagenti per CT/GC/AC

N.B. Prima dell'uso, i micropozzetti di amplificazione e di priming devono essere a temperatura ambiente.

1. Per i campioni prelevati con il kit per prelievo di campioni endocervicali e TRASPORTO A SECCO per dosaggio di DNA amplificato di CT/GC **BD ProbeTec ET** o il kit per prelievo di campioni uretrali (uomo) per dosaggio di DNA amplificato di CT/GC **BD ProbeTec ET**, rimuovere ed eliminare i tappi delle provette dei campioni e dei controlli lisati e raffreddati.
2. Per i tamponi prelevati con il kit per prelievo di campioni endocervicali per dosaggio di DNA amplificato di CT/GC **BD ProbeTec ET** o con il kit per prelievo di campioni uretrali (uomo) e TRASPORTO A SECCO per dosaggio di DNA amplificato di CT/GC **BD ProbeTec ET**, procedere come segue.
 - a. Stappare la provetta e premere leggermente il tampone contro la parete interna della provetta per rimuovere il liquido in eccesso.
 - b. Estrarre dalla provetta il tappo e il tampone. Non premere contro la parete della provetta per evitare di schizzare goccioline che potrebbero causare contaminazione crociata.
 - c. Gettare il tappo e il tampone.
3. Per campioni di urina trattati, togliere il tappo dalla provetta e gettarlo.
4. Per evitare la contaminazione, **cambiare i guanti** prima di procedere.
5. Preparare la piastra di priming come indicato nel rapporto di layout delle piastre. **I micropozzetti di priming devono essere collocati nella piastra nell'ordine seguente:** CT (micropozzetti verde compatto), GC (micropozzetti giallo compatto) e AC (micropozzetti nero compatto). Ripetere fino a quando la piastra è configurata come indicato nel rapporto di layout delle piastre.
6. Procedere come segue per richiudere e sigillare le buste dei micropozzetti.
 - a. Mettere la busta su una superficie piatta. Appiattire con una mano l'estremità aperta.
 - b. Mantenendo la pressione, far scorrere un dito lungo l'esterno della chiusura, da un margine all'altro della busta.
 - c. Assicurarsi che la busta sia sigillata.
7. Selezionare il **Programma 3** sul pipettatore **BD ProbeTec ET**.
8. Sollevare i puntali delle pipette. Tirare completamente in fuori la manopola spaziatrice per espandere il pipettatore.

N.B. Per evitare perdite, assicurarsi che i puntali siano ben fissati sul pipettatore.
9. Aspirare 600 µL dalla 1ma colonna di campioni.

10. Abbassare con attenzione il pipettatore, portare i puntali delle pipette a contatto con le pareti dei pozzetti e dispensare 150 µL in ciascuna delle 3 colonne corrispondenti di micropozzetti di priming (1 A-H; 2 A-H; 3 A-H).
N.B. Per evitare la contaminazione, non abbassare il pipettatore sui campioni o sui micropozzetti. I movimenti bruschi possono causare la dispersione di goccioline o aerosol.
N.B. Per garantire accuratezza e precisione e per evitare la contaminazione crociata, è importante dispensare i liquidi contro le pareti interne dei micropozzetti.
11. Eliminare i puntali. Premere il grilletto di pipettaggio per reimpostare il pipettatore.
N.B. Eliminare con attenzione i puntali per evitare la dispersione di goccioline o aerosol che potrebbero contaminare l'area di lavoro.
12. Prendere dei nuovi puntali e aspirare 600 µL dalla 2da colonna di campioni.
13. Abbassare con attenzione il pipettatore, portare i puntali delle pipette a contatto con le pareti dei pozzetti e dispensare 150 µL in ciascuna delle 3 colonne corrispondenti di micropozzetti di priming (4 A-H; 5 A-H; 6 A-H).
14. Eliminare i puntali.
15. Continuare a trasferire gli altri campioni della serie.
16. Coprire la piastra di micropozzetti di priming con il rispettivo coperchio e lasciarla incubare a temperatura ambiente per almeno 20 min. (L'incubazione può essere protratta fino a 6 h).
N.B. Richiudere con tappi nuovi i campioni preparati per conservare le provette per campioni.
17. Al termine dell'incubazione della piastra di priming, preparare la piastra di amplificazione. Configurare i micropozzetti di amplificazione in una piastra, in modo che corrisponda alle indicazioni del rapporto di layout delle piastre (come per la piastra di priming). Richiudere e sigillare le buste dei micropozzetti come descritto al passaggio 4.
18. Togliere il coperchio dalla piastra di micropozzetti di priming e disporla nell'incubatore di priming. Mettere **IMMEDIATAMENTE** la piastra di micropozzetti di amplificazione nell'incubatore per pre-riscaldarla.
19. **Impostare il cronometro su 10 min. (N.B. Il tempo è importantissimo per questo passaggio.)**
20. Trascorsi i 10 min (+/- 1 min.) di incubazione, selezionare il **Programma 5** sul pipettatore.
21. Sollevare i puntali e trasferire 100 µL dalla colonna 1 dei micropozzetti di priming alla colonna 1 dei micropozzetti di amplificazione. Portare i puntali delle pipette a contatto con le pareti dei pozzetti e dispensare il liquido. Dopo la dispensazione, lasciare che il pipettatore mescoli automaticamente il liquido nei pozzetti. Sollevare con attenzione il pipettatore dalla piastra. Evitare il contatto con altri pozzetti.
22. Eliminare i puntali. Sollevare dei nuovi puntali e continuare a trasferire la miscela reattiva dai micropozzetti di priming ai micropozzetti di amplificazione, una colonna alla volta, usando nuovi puntali per ciascuna colonna.
23. Trasferita l'ultima colonna, rimuovere la pellicola protettiva dal sigillante di amplificazione (rimuovere una metà della pellicola se le colonne occupate dai micropozzetti sono 6 o meno, rimuovere l'intera pellicola se le colonne occupate sono 7 o più). Afferrare per i bordi il foglio di sigillante e centrarlo sulla piastra, servendosi delle guide che si trovano sull'incubatore. Il foglio di sigillante si estenderà oltre i micropozzetti da entrambi i lati della piastra. Premere sul sigillante per assicurarsi che tutti i micropozzetti siano completamente sigillati.
24. Sull'interfaccia utente **BD ProbeTec ET**, estrarre il portapiastre e aprire gli sportelli. **IMMEDIATAMENTE** (entro 30 s) trasferire la piastra **sigillata** di micropozzetti di amplificazione allo strumento **BD ProbeTec ET** e iniziare il ciclo di analisi. (Per spiegazioni dettagliate, consultare il Manuale d'uso del sistema **BD ProbeTec ET**.)
25. Una volta iniziato il ciclo, completare la fase seguente della procedura di pulizia.
 - a. Sigillare i micropozzetti di priming con un foglio di sigillante di amplificazione e rimuovere la piastra dall'incubatore per riscaldamento e priming.
AVVERTENZA - La temperatura supera 70 °C. Per rimuovere la piastra, usare guanti resistenti al calore.
 - b. Lasciar raffreddare la piastra sul banco per 5 min.
 - c. Rimuovere dalla piastra i micropozzetti di priming sigillati afferrando la parte superiore e inferiore del sigillante e sollevando insieme tutti i pozzetti. Mettere i micropozzetti in una busta per rifiuti e sigillarla.
 - d. Pulire la piastra metallica.
 Sciacquare la piastra con ELIMINase, DNA AWAY o la soluzione di ipoclorito di sodio all'1% (v/v) e Alconox.
 Sciacquare la piastra con acqua.
 Avvolgerla quindi in un telo pulito e lasciarla asciugare completamente prima di riutilizzarla.
26. Al termine del ciclo verranno stampati i risultati del test.
27. Estrarre il portapiastre dalla stazione, aprire lo sportello e rimuovere la piastra. Chiudere lo sportello e rimettere il portapiastre nello strumento.
28. Togliere dalla piastra i micropozzetti di amplificazione sigillati. **ATTENZIONE - Non rimuovere dai micropozzetti il materiale sigillante.** Per rimuovere tutti insieme i micropozzetti sigillati, afferrare la parte superiore e inferiore del sigillante e sollevare il tutto fuori dalla piastra. Mettere i micropozzetti sigillati nella busta per rifiuti e sigillarla.
29. Pulire la piastra metallica.
 Sciacquare la piastra con ELIMINase, DNA AWAY o la soluzione di ipoclorito di sodio all'1% (v/v) e Alconox.
 Sciacquare la piastra con acqua.
 Avvolgerla quindi in un telo pulito e lasciarla asciugare completamente prima di riutilizzarla.
30. Dopo l'ultimo ciclo della giornata, eseguire le seguenti procedure di pulizia.
 - a. Con della carta asciugamano o delle compresse di garza impregnate di ELIMINase, DNA AWAY o soluzione di ipoclorito di sodio 1% (v/v) e Alconox, pulire i piani di lavoro e le superfici esterne dell'incubatore per lisi, dell'incubatore per riscaldamento e priming e dello strumento **BD ProbeTec ET**. Lasciare la soluzione sulle superfici per 2 - 3 min. Impregnare di acqua della carta assorbente o delle compresse di garza e rimuovere la soluzione detergente. Durante l'applicazione della soluzione detergente ed il risciacquo con l'acqua cambiare frequentemente la carta assorbente o la garza. Con della carta assorbente o delle compresse di garza inumidite con ELIMINase, DNA AWAY o soluzione di ipoclorito di sodio 1% e Alconox pulire l'impugnatura del pipettatore (**SOLO L'IMPUGNATURA**). Trascorsi 2 - 3 min, passare sull'impugnatura della carta assorbente o delle compresse di garza inumidite con acqua.
 - b. Immergere in ELIMINase, DNA AWAY o ipoclorito di sodio all'1% (v/v) contenente Alconox, per non oltre 2 min, il portaprovette per lisi, la base del portaprovette e il relativo coperchio. Sciacquare abbondantemente con acqua e lasciare asciugare all'aria.

- c. Ricaricare il pipettatore.
 d. Eliminare la busta dei rifiuti sigillata e la busta del materiale a rischio biologico in osservanza delle procedure stabilite per lo smaltimento dei rifiuti biologici contaminati.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Il set di controllo negativo e positivo *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* BD ProbeTec ET viene fornito a parte. Includere un controllo positivo e un controllo negativo in ogni ciclo di dosaggio e in ogni kit di reagenti con un nuovo numero di lotto. La disposizione dei controlli può essere casuale. Il controllo positivo per CT/GC serve solo per il monitoraggio di fallimenti sostanziali del reagente. Il controllo negativo per CT/GC serve per il monitoraggio della contaminazione del reagente e/o dell'ambiente.

Entrambe le regioni bersaglio clonate di CT e GC del controllo positivo non sono necessariamente rappresentative del DNA bersaglio degli organismi individuati dal dosaggio, né rappresentano le matrici di campioni (urina e sospensioni di cellule epiteliali) indicate per l'uso con il sistema BD ProbeTec ET. È possibile usare questi controlli per il controllo di qualità interno oppure gli utenti possono sviluppare il proprio materiale di controllo di qualità interno, come descritto da NCCLS C24-A2.¹⁵ Altri controlli possono essere testati in osservanza delle direttive o dei requisiti delle norme locali, regionali e/o nazionali o di enti di accreditazione. Per ulteriori informazioni, fare riferimento alle disposizioni NCCLS C24-A2 sulle procedure di analisi appropriate per il controllo di qualità interno. Il controllo positivo contiene 750 copie di plasmide linearizzato pCT16 per reazione e 250 copie di plasmide linearizzato pGC10 per reazione. Entrambi gli organismi presentano copie multiple del bersaglio. Il volume della reazione di amplificazione BD ProbeTec ET è pari a 100 µL di controllo reidratato.

Dato che il controllo positivo CT/GC viene usato per entrambe le analisi di CT e GC, ai fini di una accurata refertazione dei risultati è importante che la disposizione delle strisce di micropozzetti sia corretta. Per la corretta disposizione delle strisce di micropozzetti, far riferimento alla sezione H della "Procedura di analisi".

Per la validità dei risultati dei campioni prelevati dai pazienti, l'analisi del controllo per CT/GC positivo e del controllo per CT/GC negativo deve risultare rispettivamente positiva e negativa. Se i controlli non si comportano come previsto, il dosaggio viene considerato non valido e lo strumento non include i risultati nel referto del paziente. Se il controllo di qualità non è conforme ai risultati previsti, ripetere l'intero ciclo di analisi utilizzando un nuovo set di controlli, nuovi micropozzetti e i campioni preparati. Se anche quando viene ripetuto, il controllo di qualità non fornisce i risultati previsti, rivolgersi all'assistenza tecnica. (Vedere "Interpretazione dei risultati".)

Per le istruzioni sulla preparazione dei controlli, far riferimento alla sezione H della "Procedura di analisi". Una volta preparati i controlli, proseguire con l'analisi come descritto nella sezione G della "Procedura di analisi".

Un controllo di amplificazione (AC) separato è un'opzione per il test di inibizione ed è disponibile nella confezione di reagenti per CT/GC/AC. Quando si usa la confezione di reagenti per CT/GC/AC, occorre includere il controllo di amplificazione per ogni campione e controllo. I micropozzetti di amplificazione contengono ≥ 1000 copie per reazione di plasmide linearizzato pGC10 che deve essere amplificato nella matrice del campione. Il controllo di amplificazione è predisposto per identificare i campioni che possono contenere inibitori capaci di impedire l'individuazione del DNA di CT o di GC presente. (Vedere "Interpretazione dei risultati".)

Interpretazione dei risultati dei controlli

Interpretazione dei controlli senza controllo di amplificazione

	Valore MOTA CT o GC	Risultato
Controllo positivo per CT/GC	MOTA ≥ 2000	Accettabile
Controllo negativo per CT/GC	MOTA < 2000	Accettabile

Interpretazione dei controlli con controllo di amplificazione

	Valore MOTA CT o GC	Valore MOTA AC*	Risultato
Controllo positivo per CT/GC	MOTA ≥ 2000	MOTA ≥ 1000	Accettabile
Controllo negativo per CT/GC	MOTA < 2000	MOTA ≥ 1000	Accettabile

* Se il controllo di amplificazione non è accettabile (MOTA < 1000), il controllo non è valido.

Controlli di analisi dei campioni

È possibile testare i controlli di analisi dei campioni in osservanza dei requisiti stabiliti dagli enti di accreditazione appropriati. Un controllo positivo deve poter testare l'intero sistema di dosaggio. A tale scopo, è possibile utilizzare come controlli dei campioni positivi noti, preparandoli e analizzandoli contestualmente a campioni non noti. I campioni usati con controlli di analisi devono essere conservati, preparati e analizzati secondo quanto indicato nel foglio illustrativo incluso nella confezione. In alternativa all'impiego di campioni positivi, è possibile adottare la procedura seguente per preparare controlli di trattamento dei campioni simulanti il trattamento dell'urina.

Chlamydia trachomatis

Se non è disponibile un campione noto, un altro metodo è quello di analizzare una stock-coltura di *C. trachomatis* LGV2 (ATCC n. VR-902B) preparata nel modo seguente.

1. Scongellare un flacone di cellule di *C. trachomatis* LGV2 ricevute da ATCC.
2. Preparare diluizioni seriali x10 in soluzione salina tamponata con fosfato (PBS), fino ad ottenere una diluizione di 10^5 (almeno 5 mL di volume finale).
3. Dispensare 4 mL di diluizione 10^5 in una provetta per campioni BD ProbeTec ET.
4. Trattare come un campione di urina, iniziando con la sezione E, passaggio 5 della "Procedura di analisi".
5. Dopo il trattamento, lisare il campione come descritto nella sezione G della "Procedura di analisi".
6. Continuare l'analisi come descritto nella sezione H della "Procedura di analisi".

Neisseria gonorrhoeae

Se non è disponibile un campione noto, un altro metodo è quello di analizzare una stock-coltura di *N. gonorrhoeae* (disponibile dal ATCC, ceppo n. 19424) preparata nel modo seguente.

1. Scongellare un flacone di stock coltura di *N. gonorrhoeae* ricevuta da ATCC e inoculare immediatamente una piastra di agar cioccolato.
2. Incubare a 37 °C in 3 – 5% di CO₂ per 24 – 48 h.
3. Risospendere con soluzione salina tamponata con fosfato (PBS) le colonie ottenute dalla piastra di agar cioccolato.

4. Diluire le cellule in PBS ad uno standard di torbidità McFarland di 1,0 (circa 3 X 10⁸ cellule/mL).
5. Preparare diluizioni seriali x10 in una diluizione di 10⁵ dello standard McFarland (almeno 5 mL di volume finale) in PBS.
6. Dispensare 4 mL della diluizione 10⁵ in una provetta per campioni **BD ProbeTec ET**.
7. Trattare come un campione di urina, iniziando con la sezione E, passaggio 5 della "Procedura di analisi".
8. Dopo il trattamento, lisare il campione come descritto nella sezione G della "Procedura di analisi".
9. Continuare l'analisi come descritto nella sezione H della "Procedura di analisi".

Monitoraggio della presenza di contaminazione da DNA

Almeno una volta al mese, effettuare la seguente procedura di analisi per individuare l'eventuale presenza di contaminazione da DNA sulle superfici dell'area di lavoro e delle attrezzature. Questo monitoraggio dell'ambiente è indispensabile per individuare la contaminazione prima che insorgano problemi.

1. Per ciascuna area da testare, usare un tampone pulito proveniente da uno dei sistemi di prelievo e di trasporto di campioni endocervicali **BD ProbeTec ET** e una provetta di diluente per CT/GC. [Alternativamente, è possibile usare una provetta per campione contenente 2,0 mL di diluente (CT/GC).]
2. Intingere il tampone nel diluente per CT/GC e passarlo sulla prima area* muovendolo in varie direzioni.
3. Introdurre il tampone nella provetta di diluente per CT/GC. Richiudere la provetta con il tappo e agitare con vortex per 5 s.
4. Ripetere questo passaggio per ciascuna area da testare.
5. Una volta che tutti i tamponi sono raccolti, immersi nel diluente e agitati con vortex, le provette sono pronte per essere lisate (sezione G) e analizzate (sezione H) secondo la "Procedura di analisi".

*Le aree raccomandate per il test includono: la superficie dell'incubatore per lisi, il portaprovette per lisi, l'incubatore per riscaldamento e priming, i vassoi di micropozzetti neri, l'impugnatura del pipettatore, i tasti a sfioramento dello strumento, la tastiera dello strumento, il dispositivo di sgancio dello sportello dello strumento (tasto alzata), l'equipaggiamento rotante della centrifuga e il banco (banchi) di lavoro, incluse le aree per la preparazione dei campioni.

Se per una delle aree si ottiene un risultato positivo, pulirla con ELIMINase, DNA AWAY o una soluzione fresca di ipoclorito di sodio all'1% (v/v) e Alconox. Assicurarsi che la soluzione copra l'intera area e resti sulla superficie per almeno 2 min o fino a quando si asciuga. Se necessario, rimuovere l'eccesso di soluzione con un asciugamano pulito. Passare sull'area un asciugamano pulito e imbevuto di acqua e lasciare quindi asciugare la superficie. Ripetere l'analisi dell'area fino a quando si ottengono risultati negativi. Se la contaminazione persiste, rivolgersi all'assistenza tecnica per ulteriori informazioni.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Il dosaggio per DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** utilizza il trasferimento di energia fluorescente come metodo di determinazione per individuare la presenza di *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae* in campioni clinici. Tutti i calcoli vengono eseguiti automaticamente dal software dello strumento.

La presenza o l'assenza di *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae* viene determinata confrontando i valori **BD ProbeTec ET** MOTA (Method Other Than Acceleration – Metodo diverso dall'accelerazione) dei campioni con valori soglia predefiniti. Il MOTA è un valore metrico usato per valutare l'intensità del segnale generato dalla reazione. L'entità del valore MOTA non è indicativa del livello di organismi nel campione.

Se i controlli di dosaggio non corrispondono ai valori previsti, i risultati non devono essere inclusi nel referto del paziente. Per i valori di controllo previsti, vedere la sezione Controllo di qualità. I risultati inclusi nel referto vengono determinati nel modo seguente.

Per la confezione dei reagenti per CT/GC:

Interpretazione dei risultati *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae* senza controllo di amplificazione

Valore MOTA CT o GC	Referto	Interpretazione	Risultato
≥10.000	DNA plasmidico di <i>C. trachomatis</i> e/o <i>N. gonorrhoeae</i> individuato mediante SDA	Positivo per <i>C. trachomatis</i> e/o <i>N. gonorrhoeae</i> . Non è possibile dedurre un risultato positivo per la vitalità e/o infettività dell'organismo <i>C. trachomatis</i> e/o <i>N. gonorrhoeae</i> dato che il DNA bersaglio può persistere anche in assenza di organismi vitali.	Positivo ¹
2000 – 9.999	DNA plasmidico di <i>C. trachomatis</i> e/o <i>N. gonorrhoeae</i> individuato mediante SDA	Probabile <i>C. trachomatis</i> e/o <i>N. gonorrhoeae</i> . Possono essere utili analisi aggiuntive per accertare la presenza di <i>C. trachomatis</i> e/o <i>N. gonorrhoeae</i> . ²	Basso positivo ^{1,2,3}
< 2000	DNA plasmidico di <i>C. trachomatis</i> e/o <i>N. gonorrhoeae</i> non individuato mediante SDA	Presunto negativo per <i>C. trachomatis</i> e/o <i>N. gonorrhoeae</i> . Un risultato negativo non preclude l'infezione da <i>C. trachomatis</i> e/o <i>N. gonorrhoeae</i> in quanto i risultati dipendono da un prelievo adeguato di campione, dall'assenza di inibitori e da una quantità di DNA sufficiente per l'individuazione.	Negativo

¹ Secondo le linee guida dei CDC, "è necessario prendere in considerazione test supplementari di routine a cui sottoporre i soggetti con test di screening positivi per *C. trachomatis* o *N. gonorrhoeae*, quando le informazioni sui fattori di rischio o i riscontri oggettivi indicano una bassa prevalenza, con conseguente valore predittivo positivo (PPV) inferiore (es., < 90%)". Indipendentemente dal metodo di screening utilizzato (es., NAA [test di amplificazione degli acidi nucleici], DFA [anticorpi a fluorescenza diretta], EIA [test immunoenzimatici], sonda di acidi nucleici), tutti i test di screening positivi devono essere considerati come evidenza presuntiva di infezione."¹⁶ Per informazioni dettagliate sui test supplementari e sul trattamento dei pazienti dopo un test di screening positivo, consultare le direttive dei CDC.

² Per ulteriori informazioni sulla distribuzione dei valori MOTA CT e GC per tipo di campione osservati negli studi di sperimentazione clinica, fare riferimento alla descrizione seguente dei valori soglia e alla Figura 2 e 3 in "Prestazioni metodologiche".

³ L'entità del valore MOTA non è indicativa del livello di organismi nel campione.

Per la confezione dei reagenti per CT/GC/AC:

Interpretazione dei risultati *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae* con controllo di amplificazione

Valore MOTA CT o GC	Valore MOTA AC	Referto	Interpretazione	Risultato
≥ 10.000	Qualsiasi	DNA plasmidico di <i>C. trachomatis</i> e/o <i>N. gonorrhoeae</i> individuato mediante SDA	Positivo per <i>C. trachomatis</i> e/o <i>N. gonorrhoeae</i> . Non è possibile dedurre un risultato positivo per la vitalità e/o infettività dell'organismo <i>C. trachomatis</i> e/o <i>N. gonorrhoeae</i> dato che il DNA bersaglio può persistere anche in assenza di organismi vitali.	Positivo ¹
2000 – 9.999	Qualsiasi	DNA plasmidico di <i>C. trachomatis</i> e/o <i>N. gonorrhoeae</i> individuato mediante SDA	Probabile <i>C. trachomatis</i> e/o <i>N. gonorrhoeae</i> . Possono essere utili analisi aggiuntive per accertare la presenza di <i>C. trachomatis</i> e/o <i>N. gonorrhoeae</i> . ²	Basso positivo ^{1,2,3}
< 2000	≥ 1000	DNA plasmidico di <i>C. trachomatis</i> e/o <i>N. gonorrhoeae</i> non individuato mediante SDA	Presunto negativo per <i>C. trachomatis</i> e/o <i>N. gonorrhoeae</i> . Un risultato negativo non preclude l'infezione da <i>C. trachomatis</i> e/o <i>N. gonorrhoeae</i> in quanto i risultati dipendono da un prelievo adeguato di campione, dall'assenza di inibitori e da una quantità di DNA sufficiente per l'individuazione.	Negativo
< 2000	< 1000	Controllo di amplificazione inibito. Ripetere l'analisi ⁴	Inibitori ripetutamente presenti nel campione. <i>La C. trachomatis</i> o <i>N. gonorrhoeae</i> , se presenti, non sarebbero rilevabili mediante SDA. Analizzare un altro campione.	Indeterminato

¹ Secondo le linee guida dei CDC, "è necessario prendere in considerazione test supplementari di routine a cui sottoporre i soggetti con test di screening positivi per *C. trachomatis* o *N. gonorrhoeae*, quando le informazioni sui fattori di rischio o i riscontri oggettivi indicano una bassa prevalenza, con conseguente valore predittivo positivo (PPV) inferiore (es., < 90%)". Indipendentemente dal metodo di screening utilizzato (es., NAAAT [test di amplificazione degli acidi nucleici], DFA [anticorpi a fluorescenza diretta], EIA [test immunoenzimatici], sonda di acidi nucleici), "tutti i test di screening positivi devono essere considerati come evidenza presuntiva di infezione."¹⁶ Per informazioni dettagliate sui test supplementari e sul trattamento dei pazienti dopo un test di screening positivo, consultare le direttive dei CDC.

² Per ulteriori informazioni sulla distribuzione dei valori MOTA CT e GC per tipo di campione osservati negli studi di sperimentazione clinica, fare riferimento alla descrizione seguente dei valori soglia e alla Figura 2 e 3 in "Prestazioni metodologiche".

³ L'entità del valore MOTA non è indicativa del livello di organismi nel campione.

⁴ Ripetere il dosaggio **BD ProbeTec ET**. Per l'urina, ripetere l'analisi usando il campione originale. Se il campione originale non è disponibile, ripetere l'analisi utilizzando la provetta di campione trattato. Per i tamponi, ripetere l'analisi usando la provetta del campione trattato. Se il risultato dell'analisi ripetuta è positivo o negativo, interpretarlo come descritto qui sopra. Se il risultato ripetuto è indeterminato, richiedere un nuovo campione.

Determinazione dei valori soglia di CT/GC/AC.

I valori soglia dei controlli di dosaggio e amplificazione per i risultati dei campioni di CT e GC sono stati determinati in base all'analisi della curva ROC (Receiver Operating Characteristic) di valori MOTA ottenuti da campioni prelevati da pazienti (tamponi uretrale [uomo], tamponi endocervicale e urina uomini e donne) e analizzati sia con il dosaggio **BD ProbeTec ET** per CT/GC che con altro metodo amplificato, durante studi preclinici. I valori soglia sono stati confermati da studi clinici utilizzando il dosaggio **BD ProbeTec ET** per CT/GC e coltura, anticorpi a fluorescenza diretta (DFA) (solo CT) e un altro metodo amplificato. Questi studi dimostrano che nella maggior parte dei casi, i valori MOTA CT e/o GC superiori a 2000 indicano la presenza di *C. trachomatis* e/o *N. gonorrhoeae*. Mentre valori MOTA CT e/o GC inferiori a 2000 corrispondono il più delle volte a risultati di coltura negativi per *C. trachomatis* e/o *N. gonorrhoeae*. I tamponi uretrali (uomo), i tamponi endocervicali e i campioni di urina (uomo) con valori MOTA CT compresi tra 2000 e 4000 hanno minori probabilità di essere veri positivi rispetto ai risultati con valori MOTA superiori a 4000. Ugualmente, per i campioni di urina di donne, i risultati CT positivi con valori MOTA compresi tra 2000 e 10.000 hanno minori probabilità di essere veri positivi rispetto ai risultati con valori MOTA superiori a 10.000. Ugualmente, i risultati GC positivi con valori MOTA compresi tra 2000 e 10.000 hanno minori probabilità di essere veri positivi rispetto ai risultati con valori MOTA superiori a 10.000. Vedere le Figure 2 e 3 per la distribuzione dei valori MOTA GC e CT per tipo di campione, osservati nello studio clinico. Il valore predittivo positivo (PPV) per i dati qui riportati è stato calcolato utilizzando la formula seguente: vero positivo/vero positivo + falso positivo. I dati non sono stati corretti per la prevalenza. Per i risultati CT con valori MOTA compresi tra 2.000 e 10.000, il PPV è risultato nel range da 56% a 83%, rispetto ad un PPV di 82% - 100% per i valori MOTA superiori a 10.000. Per i risultati GC con valori MOTA compresi tra 2.000 e 10.000, il PPV è risultato nel range da 44% a 75%, rispetto ad un PPV di 90% - 100% per i valori MOTA superiori a 10.000. A seconda del tipo di campioni analizzati, delle popolazioni campionate e delle prassi di laboratorio, potrebbe essere utile sottoporre ad analisi aggiuntive i campioni con valori MOTA tra 2000 e 10.000. Per informazioni dettagliate sui test supplementari e sul trattamento dei pazienti dopo un test di screening positivo, consultare le direttive dei CDC.

È stato dimostrato che la *N. cinerea* produce una reazione crociata nel dosaggio **BD ProbeTec ET** GC e che anche altre specie di *Neisseria* possono dar luogo a risultati falsi positivi. Nelle situazioni di elevata prevalenza di malattie sessualmente trasmesse, è molto probabile che i risultati positivi del dosaggio siano veri positivi. Nelle situazioni di bassa prevalenza di malattie sessualmente trasmesse, o in qualunque condizione in cui le manifestazioni cliniche e i sintomi del paziente o i fattori di rischio non siano coerenti con le infezioni genitourinarie da gonococco o da clamidia, i risultati positivi devono essere valutati con attenzione e, se opportuno, i campioni del paziente devono essere rianalizzati con altri metodi (ad esempio, coltura per GC).

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

1. Questo metodo è stato testato solo con i tamponi endocervicali, i tamponi uretrali (uomo) e con i campioni di urina di uomini e donne. Non ne sono state valutate le prestazioni con altri tipi di campione.
2. Per fornire prestazioni ottimali, il test richiede una tecnica corretta di prelievo e manipolazione dei campioni. A questo proposito, consultare le sezioni relative al "Prelievo e trasporto dei campioni" incluse in questo foglio illustrativo.
3. L'idoneità dei campioni endocervicali può essere stabilita solo mediante visualizzazione microscopica delle cellule dell'epitelio colonnare presenti nei campioni.
4. La raccolta e l'analisi dei campioni di urina con il dosaggio di DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** non sostituisce l'esame cervicale e il prelievo di campioni endocervicali per la diagnosi di infezioni genitourinarie. Le cervicitis, uretriti, infezioni delle vie urinarie e infezioni vaginali possono essere dovute ad altre cause o ad infezioni concomitanti.
5. Il dosaggio per DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** per l'analisi dell'urina di soggetti di sesso maschile e femminile deve essere eseguito su campioni di urina prelevati casualmente all'inizio della minzione (vale a dire i primi 15-20 mL del mitto, allorché si usa l'UPP). Nel corso della valutazione clinica, sono stati inclusi nelle stime di rendimento volumi fino a 60 mL di urina per analisi. Gli effetti della diluizione di volumi superiori di urina possono comportare una riduzione della sensibilità del dosaggio. Non sono stati ancora determinati gli effetti di altre variabili, come il prelievo del flusso intermedio della minzione. Non sono state valutate le prestazioni del dosaggio quando la bustina di trattamento per urina viene immessa nel contenitore prima del prelievo del campione.
6. Non sono stati ancora determinati gli effetti di altre eventuali variabili, come le perdite vaginali, l'uso di assorbenti interni, lavande vaginali e variabili ancora non determinate relative al prelievo dei campioni.
7. Un risultato negativo non esclude la possibilità di infezione, in quanto i risultati del dosaggio possono essere condizionati da errori di prelievo del campione, errori tecnici, scambio dei campioni, terapia antibiotica concomitante o dalla presenza nel campione di un numero di organismi inferiore alla soglia di sensibilità del test.
8. Come per molti altri test diagnostici, i risultati del dosaggio per DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** devono essere interpretati contestualmente agli altri dati clinici e di laboratorio a disposizione del medico.
9. Il dosaggio per DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** non rileva le varianti senza plasmidi di *C. trachomatis*.
10. Il dosaggio per DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** non deve essere utilizzato per la valutazione di condizioni sospette di abuso sessuale o per altre indicazioni medico-legali. Si raccomanda di eseguire ulteriori analisi ogniqualvolta risultati falsi positivi o falsi negativi potrebbero comportare conseguenze indesiderate dal punto di vista medico, sociale o psicologico.
11. Il sistema **BD ProbeTec ET** non può essere usato per valutare il successo o l'insuccesso terapeutico, in quanto la presenza di acidi nucleici da *Chlamydia trachomatis* e da *Neisseria gonorrhoeae* può persistere anche dopo la terapia antibiotica.
12. I risultati del dosaggio per DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** sono qualitativi. Quindi non esiste alcuna correlazione tra l'entità del valore MOTA e il numero di cellule presenti in un campione infetto.
13. Il valore predittivo del dosaggio dipende dalla prevalenza della malattia in una data popolazione. Vedere le Tabelle 1 e 2 per i valori predittivi ipotetici relativi al dosaggio eseguito su svariate popolazioni.
14. Dato che il controllo positivo CT/GC viene usato per entrambe le analisi di CT e GC, ai fini della refertazione dei risultati definitivi è importante che la disposizione delle strisce di micropozzetti sia corretta. Per la corretta disposizione delle strisce di micropozzetti, far riferimento alla sezione H della "Procedura di analisi".
15. Il dosaggio per DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** deve essere usato esclusivamente da personale che abbia ricevuto una preparazione adeguata per effettuare la procedura di dosaggio e utilizzare il sistema **BD ProbeTec ET**.
16. Studi di laboratorio hanno dimostrato che la presenza di sangue > 5% (v/v) produce risultati indeterminati (inibitori) sia nei campioni di urina che nei tamponi (con AC) e risultati falsi negativi nei campioni di urina (con o senza AC). La presenza di sangue > 5% (v/v) può dar luogo a risultati falsi negativi nei campioni su tampone (con o senza AC). I campioni contenenti quantità da moderate ad eccessive di sangue possono interferire con i risultati del dosaggio **BD ProbeTec ET** per CT/GC. Consultare le "Prestazioni metodologiche" per informazioni sulle prestazioni specifiche dei campioni di tamponi (donne) con presenza di sangue.
17. La presenza nell'urina di sostanze ad elevata pigmentazione, come la bilirubina (10 mg/mL) e la fenazopiridina (10 mg/mL), può dar luogo a risultati indeterminati o falsi negativi.
18. I leucociti in quantità superiore a 250.000 cellule/mL (campioni su tampone) possono dar luogo a risultati indeterminati o falsi negativi.
19. La presenza di siero, deodoranti femminili spray o talco in polvere può dare luogo a risultati falsamente negativi.
20. Il dosaggio per DNA amplificato di *C. trachomatis/N. gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** può evidenziare una reazione crociata con *N. cinerea* e *N. lactamica*. Per ulteriori informazioni, vedere "Prestazioni metodologiche".
21. La riproducibilità del dosaggio **BD ProbeTec ET** per CT/GC è stata determinata utilizzando tamponi con campioni seminati e soluzione tampone seminata per simulare i campioni di urina. Questi campioni sono stati inoculati sia con *C. trachomatis* che con *N. gonorrhoeae*. Non è stata determinata la riproducibilità delle analisi con campioni di urina e campioni contenenti solo *C. trachomatis* e solo *N. gonorrhoeae*.
22. Le prestazioni metodologiche per l'individuazione di *N. gonorrhoeae* negli uomini si basano sull'analisi di campioni di pazienti con tassi di infezione di 0 - 43%; le popolazioni campionate di uomini provenivano principalmente da ambulatori di malattie sessualmente trasmesse, nelle quali la prevalenza di GC è superiore a quella di altri centri clinici. Negli uomini, sono state individuate 16 infezioni gonococciche nei centri di bassa prevalenza (da 0 a 8%). Ugualmente, la maggior parte delle donne con infezioni da GC incluse nello studio proveniva da ambulatori di malattie sessualmente trasmesse. Nelle donne, sono state individuate solo sei infezioni da gonococco nei centri di bassa prevalenza (1,2%). I risultati positivi nelle popolazioni a bassa prevalenza devono essere interpretati con attenzione, contestualmente ad altre manifestazioni cliniche e sintomi, il profilo di rischio del paziente e ad altri reperti, tenendo presente che le probabilità di un risultato falso positivo possono essere superiori a quelle di un vero positivo.
23. Utilizzando solamente l'analisi di campioni di urina di pazienti donne per individuare le infezioni da clamidia o da gonococco, è possibile che soggetti infetti non vengano identificati (in 17/100 o nel 17% delle donne con colture CT-positive e in 11/80 o nel 13,8% delle donne con colture GC positive, si ottengono risultati negativi quando viene analizzata solamente l'urina) con il dosaggio **BD ProbeTec ET** per CT/GC.

24. Il controllo di amplificazione usa il target GC ed è quindi meno efficace per individuare l'inibizione nei campioni con infezione da GC. Per i risultati relativi ai pazienti con infezioni concomitanti, consultare le "Prestazioni metodologiche".
25. Non sono state stabilite le prestazioni per volumi di riempimento UPT diversi da volumi rientranti tra le linee nere sulla finestra di riempimento (circa da 2,5 mL a 3,45 mL).
26. Non sono state stabilite le prestazioni su strumenti **BD Viper** sprovvisti di lettori incorporati (n. cat. 440740).

RISULTATI PREVISTI

A. Prevalenza

La prevalenza di campioni positivi per *C. trachomatis* o *N. gonorrhoeae* nelle popolazioni di pazienti dipende dai seguenti fattori: profilo clinico, età, fattori di rischio, sesso e metodo di analisi. La prevalenza osservata con il dosaggio per DNA amplificato **CT/GC BD ProbeTec ET** nel corso di uno studio multicentrico di sperimentazione clinica è risultata compresa tra 4,5 e 28,6% per CT (vedere la Tabella 6 a pagina 113) e tra 0 e 42,9% per GC (Tabella 12 a pagina 121). Le infezioni concomitanti sono risultate comprese tra 0% e 5,4%.

B. Valori predittivi positivi e negativi

Nelle Tabelle 1 e 2 (pagina 109) sono illustrati i valori ipotetici predittivi positivi e negativi (PPV e NPV) per i dosaggi per DNA amplificato **BD ProbeTec ET** rispettivamente per CT/GC. I valori sono calcolati in base alla prevalenza ipotetica e alla sensibilità e specificità complessive della CT (rispetto ai pazienti affetti da infezione), rispettivamente del 90,7 and 96,6%, e ad una sensibilità e specificità complessive della GC rispettivamente di 96,0% e 98,8%. Inoltre, i valori predittivi positivi e negativi basati su prevalenza, sensibilità e specificità effettive, sono illustrati nella Tabella 6 (pagina 113) e nella Tabella 12 (pagina 121).

C. Distribuzione di frequenza del valore MOTA

In sette laboratori clinici sono stati analizzati, con il sistema di dosaggio **BD ProbeTec ET** per *C. trachomatis* e/o *N. gonorrhoeae*, 5119 campioni prelevati presso ambulatori situati in nove diverse aree geografiche. La Figura 1 illustra una distribuzione di frequenza dei valori MOTA iniziali per AC, per tipo di campione (pagina 106).

Presso sette centri clinici sono stati valutati 4108 risultati di dosaggi **BD ProbeTec ET** *C. trachomatis*. La Figura 2 illustra una distribuzione di frequenza dei valori MOTA iniziali per CT, per tipo di campione (pagina 107). La Figura 2 a pagina 107 illustra la distribuzione di risultati falsi positivi solo con **BD ProbeTec ET** (risultati positivi al dosaggio **BD ProbeTec ET** ma non a coltura cellulare, DFA o AMP1 in entrambi i tipi di campione) e falsi negativi.

Presso nove centri clinici sono stati valutati 5093 risultati di dosaggi **BD ProbeTec ET** *N. gonorrhoeae*. La Figura 3 illustra una distribuzione di frequenza dei valori MOTA iniziali per GC, per tipo di campione (pagina 108). La Figura 3 a pagina 108 illustra la distribuzione di risultati falsi positivi solo con **BD ProbeTec ET** (risultati positivi al dosaggio **BD ProbeTec ET** ma non a coltura cellulare, DFA o AMP1 in entrambi i tipi di campione) e falsi negativi.

D. Controlli

Nel corso della valutazione clinica, sono stati osservati errori dei controlli positivi per CT/GC in 22 di 518 dosaggi di CT e GC. Per i controlli negativi per CT/GC, gli errori osservati sono stati 19 di 518 dosaggi di CT e 12 di 518 dosaggi di GC. Otto di questi errori dei controlli per CT e GC si sono verificati perché l'operatore ha scambiato il controllo positivo e negativo.

I valori MOTA dei controlli positivi e negativi per CT/GC osservati negli studi di sperimentazione clinica sono illustrati nella tabella seguente.

Controllo	Range	Valore MOTA			
		5 percentile	Media	Mediana	95 percentile
CT negativo	0 – 499	0	113	109,5	262
CT positivo	2055 – 67281	8222	26816	24681	52725
GC negativo	0 – 800	0	90	71,5	245
GC positivo	2013 – 54240	7404	22452	21228	41405

PRESTAZIONI METODOLOGICHE

Prestazioni metodologiche

Le prestazioni metodologiche del dosaggio per DNA amplificato **BD ProbeTec ET** per *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae* (CT/GC) sono state stabilite in uno studio multicentrico condotto in sette centri clinici in diverse aree geografiche. Prima di arruolare i pazienti nello studio, ogni centro ha dovuto superare una selezione di idoneità. Sono stati inclusi nello studio 4131 campioni prelevati da 2109 pazienti trattati presso ambulatori di malattie sessualmente trasmesse (STD), di ostetricia e ginecologia, consultori per la pianificazione della famiglia, consultori per adolescenti e servizi di pronto soccorso. Dall'analisi dei dati sono stati esclusi 22 risultati CT a causa di contaminazione della coltura cellulare. Un altro campione è stato escluso per via della mancanza di un risultato DFA. Dall'analisi dei dati sono stati esclusi 26 risultati GC a causa di contaminazione della coltura cellulare. Di questi 26, 15 sono stati esclusi a causa di contaminazione della coltura e 11 sono stati esclusi per mancato prelievo di un tampone per la coltura. Nell'analisi finale dei dati, sono stati quindi usati 4108 risultati CT e 4105 risultati GC da campioni di 2109 pazienti. Da 2020 dei 2109 pazienti sono state prelevate coppie di campioni (tampone e urina). Si trattava per lo più di pazienti trattati presso ambulatori di malattie sessualmente trasmesse e consultori per la pianificazione della famiglia. Dalle pazienti (donne) sono stati prelevati quattro tamponi endocervicali e un campione di urina. I tamponi sono stati analizzati mediante coltura cellulare per CT, coltura cellulare per GC, dosaggio **BD ProbeTec ET** per CT e con un metodo di amplificazione disponibile in commercio (AMP1). Per ridurre al minimo gli effetti dell'ordine di prelievo, nel corso dello studio, si è provveduto all'avvicendamento dei prelievi dei campioni endocervicali. Dai pazienti uomini, sono stati prelevati due tamponi uretrali e un campione di urina. Il primo tampone è stato usato per la coltura GC e successivamente per il dosaggio **BD ProbeTec ET**. Il secondo tampone è stato usato per la coltura cellulare di CT. La bustina di trattamento per urina è stata aggiunta al campione presso il sito di prelievo, prima del trasporto al laboratorio.

La presenza di *C. trachomatis* è stata individuata mediante coltura cellulare dei tamponi endocervicali e dei tamponi uretrali (uomo). La positività è stata determinata sulla base di almeno una unità formante inclusione nel primo o nel secondo passaggio. I risultati dei campioni di urina di uomini e donne analizzati con il dosaggio **BD ProbeTec ET** sono stati confrontati rispettivamente ai risultati ottenuti dalla coltura dei tamponi endocervicali e uretrali. Inoltre, tutti i tamponi endocervicali e i campioni di urina sono stati analizzati con un dosaggio di amplificazione (AMP1) disponibile in commercio. Nei casi in cui la coltura cellulare era negativa, ma uno dei dosaggi di amplificazione era positivo, è stato eseguito un test DFA utilizzando il terreno di trasporto della coltura cellulare. I tamponi uretrali (uomo) sono stati sottoposti a coltura cellulare, ma non sono stati analizzati con il metodo AMP1. Nei casi in cui la coltura cellulare era negativa, ma i risultati del dosaggio **BD ProbeTec ET** (tampone o urina) e/o del test dell'urina con AMP1 per CT erano positivi, è stato eseguito un test DFA utilizzando il terreno di trasporto della coltura cellulare. Per i pazienti uomini con urina positiva al test AMP1 e coltura negativa dei tamponi

corrispondenti, è stato utilizzato un diverso dosaggio di amplificazione disponibile in commercio (AMP2) per testare il terreno di trasporto delle colture.

La *N. gonorrhoeae* è stata individuata mediante recupero di colonie ossidasi positive Gram negative su agar. L'identificazione della coltura è stata confermata mediante due metodi, uno biochimico e uno immunologico o fluorimetrico. I risultati del dosaggio **BD ProbeTec ET** per *C. trachomatis* sono stati confrontati a quelli delle colture e di un dosaggio di amplificazione disponibile in commercio (AMP1). Tutte le colture di GC sono state incubate per 48 – 72 h prima di registrare un risultato definitivo.

Le prestazioni metodologiche per CT e GC sono state calcolate con e senza il controllo di amplificazione (AC). Tutti i dati sono presentati senza il controllo di amplificazione. Le differenze di interpretazione dei dosaggi dovute all'uso del controllo di amplificazione sono elencate nelle note in calce a ciascuna tabella. Per i risultati CT e/o GC veri positivi, il livello target è generalmente abbastanza elevato da superare gli effetti inibitori della matrice del campione. Questi campioni vengono interpretati come positivi dall'algoritmo dello strumento, anche se il controllo di amplificazione è negativo (MOTA < 1000). Sono stati rianalizzati tutti i campioni che hanno fornito inizialmente risultati indeterminati. Le prestazioni sono state calcolate in base ai risultati dei test ripetuti. I campioni sono stati classificati come positivi, negativi o indeterminati. I campioni con inibitori ricorrenti sono stati considerati non interpretabili ed esclusi dai calcoli di sensibilità e specificità. Per il calcolo delle prestazioni senza controllo di amplificazione, i risultati indeterminati (con AC negativo) sono stati interpretati come CT e/o GC negativi. I valori dei risultati indeterminati iniziali e finali in base alle condizioni di infezione dei pazienti sono illustrati nelle Tabelle 3 (CT) e 4 (GC). I valori dei risultati indeterminati iniziali e finali in base alle condizioni di infezione dei pazienti sono illustrati nelle Tabelle 5 (CT) e 11 (GC).

Nel precedente studio multicentrico, presso i sette centri sono stati raccolti rispettivamente 183 e 184 tamponi e campioni di urina da uomini senza sintomi di GC. A complemento di questi dati, è stato condotto uno studio simile presso tre centri clinici, uno dei quali aveva partecipato alla valutazione originale. Lo studio ha incluso campioni raccolti da due ambulatori di malattie sessualmente trasmesse e da un ospedale universitario. I pazienti uomini seguiti dagli ambulatori di malattie sessualmente trasmesse potevano aver avuto una precedente infezione da STD, avere un partner infetto o presentarsi per una visita di controllo. Sono stati inclusi nello studio 560 pazienti, di cui 41 sono stati esclusi dall'analisi dei dati per motivi di mancata adesione alle disposizioni (ad esempio, pazienti arruolati prima di aver completato l'idoneità, inclusione di pazienti sintomatici, mancata esecuzione della coltura per GC). Dai rimanenti 519 pazienti sono stati prelevati 1038 coppie di campioni (tamponi e campioni di urina). 50 campioni sono stati esclusi per varie ragioni (come, urina congelata prima dell'analisi, prove di idoneità incomplete, campioni conservati per oltre 6 giorni). Nell'analisi finale dei dati, sono stati quindi usati 988 campioni prelevati da 519 pazienti. Il tampone è stato usato per la coltura GC e successivamente per il dosaggio **BD ProbeTec ET**. Il campione di urina è stato analizzato sia mediante dosaggio **BD ProbeTec ET** per CT che con un dosaggio di amplificazione disponibile in commercio (AMP1). La bustina di trattamento per urina è stata aggiunta nel contenitore del campione presso il centro di analisi. I risultati dei campioni di urina analizzati con il dosaggio **BD ProbeTec ET** sono stati confrontati ai risultati ottenuti dalla coltura dei tamponi uretrali (uomo). I risultati sono stati combinati con i dati raccolti nello studio multicentrico originali e sono stati inclusi nei dati presentati nelle Figure 1 e 3 e nelle Tabelle 2, 4, 11, 12, 13, 14 e 16.

In uno studio clinico prospettico di concordanza, quattro centri clinici in aree geografiche diverse hanno valutato le prestazioni di campioni di urina pura e campioni di urina trattati con UPT sia per CT che GC rispetto a campioni di urina trattati con UPP. Tali campioni di urina erano stati prelevati da pazienti di sesso maschile e femminile sia sintomatici che asintomatici. Sono stati complessivamente raccolti 1183 campioni di urina CT-conformi e 1181 campioni di urina GC-conformi, a loro volta suddivisi tra urina pura, UPT e UPP e inclusi in un'analisi indeterminata. Ai fini delle prestazioni senza AC, sono stati complessivamente inclusi 1182 campioni CT-conformi accoppiati di urina pura/UPP e UPT/UPP e 1181 campioni GC-conformi accoppiati di urina pura/UPP e UPT/UPP. Le prestazioni con il controllo di amplificazione (Amplification Control, AC) sono state calcolate per 1171 campioni CT-conformi accoppiati di urina pura/UPP e 1169 campioni GC-conformi accoppiati di urina pura/UPP. Le prestazioni senza AC sono state a loro volta calcolate per 1164 campioni CT-conformi accoppiati di UPT/UPP e 1162 campioni GC-conformi accoppiati di UPT/UPP. La Tabella 22 riepiloga i risultati di concordanza relativi a urina pura rispetto a UPP per CT e GC, sia con che senza AC, mentre i risultati di concordanza relativi a UPT rispetto a UPP per CT e GC, anch'essi con e senza AC, sono riepilogati nella Tabella 23.

C. *trachomatis*

I risultati dei dosaggi **BD ProbeTec ET** per *C. trachomatis* sono stati confrontati a quelli delle colture e alle condizioni di infezione dei pazienti. Le prestazioni previste per ogni tipo di campione e condizione sintomatica sono illustrate nella Tabella 5. I pazienti sono stati considerati affetti da infezione se (1) la coltura è risultata positiva, (2) sia il metodo AMP1 (per il tampone o l'urina) che il metodo DFA hanno prodotto risultati positivi, oppure (3) il metodo AMP1 ha fornito risultati positivi per le coppie di tampone e campione di urina. I dati relativi alle donne in gravidanza sono inclusi nella nota in calce alla Tabella 5. Dei 1419 tamponi endocervicali analizzati mediante dosaggio the **BD ProbeTec ET** per CT nel corso di valutazioni cliniche, 101 (7,1%) sono stati classificati ad elevato contenuto di sangue e 242 (17,1%) a moderato contenuto di sangue. Le prestazioni dei dosaggi su tamponi ad elevato o medio contenuto di sangue non sono state statisticamente diverse da quelle dei dosaggi su tamponi con sangue minimo o assente. La Tabella 6 illustra le prestazioni previste per il dosaggio **BD ProbeTec ET** per CT rispetto alle condizioni di infezione dei pazienti per ciascun centro clinico, in base al tipo di campione.

Nello studio di sperimentazione clinica, tutti i tamponi endocervicali e i campioni di urina (uomini e donne) sono stati analizzati con il dosaggio di amplificazione (AMP1). Nella Tabella 7, i dosaggi **BD ProbeTec ET** e AMP1 per CT vengono confrontati con la coltura e il metodo DFA (su campioni negativi alla coltura e positivi al dosaggio). La Tabella 8 mostra la percentuale di accordo tra i risultati **BD ProbeTec ET** per CT e i risultati AMP1.

La Tabella 9 (donne) e la Tabella 10 (uomini) contengono un riepilogo dei risultati dei test su coppie di campioni. Queste tabelle indicano anche le condizioni di infezione dei pazienti.

N. *gonorrhoeae*

I risultati dei dosaggi **BD ProbeTec ET** per *N. gonorrhoeae* sono stati confrontati a quelli delle colture e alle condizioni di infezione dei pazienti. Le prestazioni previste per ogni tipo di campione e condizione sintomatica sono illustrate nella Tabella 11. I pazienti sono stati considerati affetti da infezione se (1) la coltura è risultata positiva, oppure (2) nelle donne, se il metodo AMP1 ha fornito risultati positivi per il tampone e il campione di urina (coppie di campioni). I dati relativi alle donne in gravidanza sono inclusi nella nota in calce alla Tabella 11. Dei 1411 tamponi endocervicali analizzati mediante dosaggio the **BD ProbeTec ET** per GC nel corso di valutazioni cliniche, 102 (7,2%) sono stati classificati ad elevato contenuto di sangue e 242 (17,2%) a moderato contenuto di sangue. Le prestazioni dei dosaggi su tamponi ad elevato o medio contenuto di sangue non sono state statisticamente diverse da quelle dei dosaggi su tamponi con sangue minimo o assente. La Tabella 12 illustra le prestazioni previste per il dosaggio **BD ProbeTec ET** per GC rispetto alle condizioni di infezione dei pazienti per ciascun centro clinico, in base al tipo di campione.

Nello studio di sperimentazione clinica, tutti i tamponi endocervicali e i campioni di urina (uomini e donne) sono stati analizzati con il dosaggio di amplificazione (AMP1). Nella Tabella 13, vengono confrontati i dosaggi **BD ProbeTec ET** e AMP1 per GC. La Tabella 14 mostra la percentuale di accordo tra i risultati **BD ProbeTec ET** per GC e i risultati AMP1.

La Tabella 15 (donne) e la Tabella 16 (uomini) contengono un riepilogo dei risultati dei test su coppie di campioni. Queste tabelle indicano anche le condizioni di infezione dei pazienti.

Infezione concomitante da *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae*

Nello studio clinico, sono stati utilizzati i risultati disponibili del dosaggio **BD ProbeTec ET** per CT e GC per 4082 campioni. La Tabella 17 presenta un riepilogo delle prestazioni del dosaggio **BD ProbeTec ET** per l'individuazione di CT e GC in campioni prelevati da pazienti considerati affetti da infezione concomitante in base alle condizioni dell'infezione.

Studi analitici

N.B. Il volume della reazione di amplificazione **BD ProbeTec ET** per CT/GC è pari a 100 µL di campione trattato.

Precisione

La precisione dei dosaggi per DNA amplificato **BD ProbeTec ET** per CT/GC è stata dimostrata analizzando un pannello a cinque elementi di cui quattro erano diluizioni co-inoculate con *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae* in diluente (CT/GC) e uno era negativo (diluente non inoculato). Il pannello a cinque elementi è costituito da campioni contenenti da 0 a 100 organismi elementari *C. trachomatis* per reazione (EBS/rxn) e 0 - 100 cellule/rxn di *N. gonorrhoeae*. Questo pannello di precisione è stato analizzato presso due centri clinici e nel laboratorio interno. Sei repliche di ciascun pannello sono state analizzate due volte al giorno per tre giorni. Non essendo stata osservata una variabilità significativa tra le analisi o tra i laboratori, i dati sono stati combinati e sono presentati nella Tabella 18. Nello studio di precisione non sono stati osservati errori dei controlli per CT/GC positivi o negativi.

Idoneità/Riproducibilità

Prima di raccogliere i dati per lo studio di sperimentazione clinica, ciascun tecnico ha preparato ed eseguito due pannelli di idoneità, uno di tamponi seminati e l'altro di soluzione tampone seminata per simulare campioni per analisi di urina. Ciascun pannello da 30 elementi per tamponi conteneva 12 repliche di un livello seminato con 500 EBS/rxn (CT) e 500 cellule/rxn (GC) 12 repliche di un livello seminato con 50 EBS/rxn (CT) e 30 cellule/rxn (GC), e sei campioni non seminati. Ciascun pannello da 30 elementi per urina conteneva 12 repliche di un livello seminato con 600 EBS/rxn (CT) e 500 cellule/rxn (GC) 12 repliche di un livello seminato con 115 EBS/rxn (CT) e 100 cellule/rxn (GC), e sei campioni non seminati.

Per valutare la riproducibilità, i risultati di questo studio di idoneità sono stati combinati tra 23 operatori e tutti i livelli di campioni (negativo, livello basso, livello alto). I valori di riproducibilità previsti per CT sono presentati nella Tabella 19 come percentuale corretta rispetto ai risultati previsti. Nello studio di idoneità/riproducibilità non sono stati osservati errori dei controlli CT/GC positivi o negativi. Presso tre dei centri clinici, tecnici designati con vari livelli di esperienza hanno eseguito i pannelli due volte in un giorno per dimostrare che analisi multiple eseguite lo stesso giorno nella stessa stanza non influiscono negativamente sui risultati. Non è stata osservata alcuna riduzione dei risultati corretti tra le prime e le seconde analisi. Sono stati eseguiti calcoli separati del chi-quadro per confrontare le due analisi dei tamponi e dei campioni di urina. Non sono state osservate differenze statistiche (valore-p per i tamponi: 0,1769; valore-p per i campioni di urina: 0,7691).

Studi di stabilità dei campioni

Per la valutazione della conservazione e del trasporto dei campioni da analizzare sono state utilizzate sia le informazioni raccolte durante gli studi clinici che altri studi analitici condotti nel laboratorio interno. Per la maggior parte, i campioni clinici sono stati trasportati al laboratorio entro un giorno, conservati in frigorifero o a temperatura ambiente e analizzati entro quattro giorni dal prelievo.

Le raccomandazioni a favore di altri due giorni di stabilità dei campioni a 2 - 8 °C si basano su studi interni condotti seminando tamponi e campioni di urina umana con circa 200 organismi elementari CT per reazione e 200 cellule GC per reazione. I tamponi seminati e non seminati e i campioni di urina sono stati mantenuti in frigorifero e analizzati nei giorni 0, 1, 2, 4, 5 e 6. Ogni giorno, sono state analizzate tre aliquote di ciascun campione positivo e negativo, per un totale di 18 punti di rilevamento positivi e 9 negativi al giorno. I dati hanno dimostrato che entrambi i tamponi e i campioni di urina erano stabili fino al giorno 6. Le raccomandazioni a favore di altri due giorni di stabilità dei tamponi a 15 - 27 °C si basano su studi interni condotti come descritto qui sopra. I dati hanno dimostrato che i tamponi erano stabili fino al giorno 6.

È stato inoltre condotto un altro studio di stabilità presso due centri clinici, per verificare la stabilità a temperatura ambiente di tamponi clinici e campioni di urina. Dalle pazienti (donne) sono stati prelevati cinque tamponi (uno per il metodo AMP1 e quattro per il dosaggio **BD ProbeTec ET**). I campioni di urina sono stati prelevati sia da pazienti donne che uomini. I campioni di baseline (giorno 0) sono stati analizzati entro 24 h dal prelievo. Altri campioni sono stati conservati a temperatura ambiente e analizzati nei giorni 2, 4 e 5. Il risultato di ciascun giorno di rilevamento è stato confrontato con i risultati del dosaggio **BD ProbeTec ET** del giorno 0. **Risultati CT** - Dei 101 tamponi, 29 sono risultati positivi e 57 negativi in corrispondenza di ciascun giorno di rilevamento. Gli altri 15 campioni (14,9%) sono risultati variabili da un giorno all'altro. Dei 107 campioni di urina, 27 sono risultati positivi e 68 negativi in corrispondenza di ciascun giorno di rilevamento. Gli altri 12 campioni di urina (11,2%) sono risultati variabili da un giorno all'altro. **Risultati GC** - Dei 101 tamponi, 28 sono risultati positivi e 67 negativi in corrispondenza di ciascun giorno di rilevamento. Gli altri 7 tamponi (6,9%) sono risultati variabili da un giorno all'altro. Dei 107 campioni di urina, 30 sono risultati positivi e 69 negativi in corrispondenza di tutti i giorni di rilevamento. Gli altri 8 campioni (7,5%) sono risultati variabili da un giorno all'altro. **Conclusioni** - La variabilità giornaliera per i tamponi e i campioni di urina è risultata compresa tra 5,6 e 10,9% per CT e tra 1,9 e 5,8% per GC. Non è stato stabilito se i campioni conservati a 2 - 8 °C avrebbero evidenziato una minore variabilità nelle analisi giornaliere.

Sensibilità analitica

La sensibilità analitica (limite di rilevamento) del dosaggio per DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** è stata determinata diluendo 15 serovar di *C. trachomatis* e 39 ceppi di *N. gonorrhoeae* nel diluente (CT/GC). Per ogni serovar, le colture di CT quantificate sono state diluite a 0,5, 15, 35, 70 e 200 EBS per reazione. Per ogni ceppo, le colture di GC quantificate sono state diluite a 0,5, 10, 15 e 25 cellule per reazione per ciascun ceppo. I campioni sono stati analizzati in triplicato.

I limiti di rilevamento per i serovar di *C. trachomatis* sono risultati compresi tra 5 e 200 EBS per reazione, con una mediana di 35 EBS per reazione. Seguono i valori dei 15 serovar CT con i rispettivi limiti di rilevamento in parentesi (espressi come EBS/reazione): A (15), B (35), Ba (35), C (5), D (70), E (35), F (200), G (35), H (15), I (200), J (70), K (200), LGV-1 (35), LGV-2 (15), LGV-3 (35). È stato riscontrato che la quantificazione di *C. trachomatis* (CT) basata sugli organismi elementari (EBS) è più accurata e riproducibile della quantificazione mediante unità formanti inclusione (IFU). La quantificazione di unità di inclusione tende ad essere più variabile e produce regolarmente un valore inferiore rispetto alla quantificazione diretta degli organismi elementari. Per determinare la correlazione tra quantificazione mediante DFA e titolazioni IFU, tutti i 15 serovar CT sono stati sottoposti a coltura su tessuto; gli organismi elementari sono stati quindi raccolti e sottoposti ad analisi quantitativa mediante DFA e IFU. Per ciascun serovar, è stato calcolato il rapporto tra i conteggi degli organismi elementari (da DFA) e le titolazioni IFU. È stato determinato che il rapporto medio tra EBS e IFU per i 15 serovar CT (da A a LGV-3) è di 167 EB per IFU. Per il gruppo STD (serovar CT da D a K), il rapporto medio è risultato di 317 EBS per IFU. Questi rapporti sono rappresentativi delle variazioni riscontrate tra i serovar. Con queste conversioni, la sensibilità analitica del dosaggio di CT sarebbe < 1 IFU.

I limiti di rilevamento per 39 ceppi di *N. gonorrhoeae* sono risultati compresi tra 5 e 25 cellule per reazione, con una mediana di 10 cellule per reazione. Questi ceppi includevano 14 ceppi ATCC (inclusi sei diversi auxotipi di *N. gonorrhoeae*) e 25 isolati clinici ottenuti da centri clinici in diverse aree geografiche.

Specificità analitica

Nella Tabella 20 (pagina 130) sono identificati i batteri, i virus e i miceti valutati mediante i dosaggi per DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET**. Gli isolati batterici sono stati analizzati usando almeno 10⁸ unità formanti colonie (CFU)/mL o copie equivalenti di DNA genomico, ad eccezione dei casi specificati. I virus sono stati analizzati usando almeno 10⁸ unità formanti placche (PFU)/mL o copie equivalenti di DNA genomico. Gli organismi analizzati includono sia quelli comunemente reperibili nel tratto genitourinario che altri.

Per *Chlamydia trachomatis*, tutti i risultati sono stati negativi, come previsto.

Tre ceppi di *N. cinerea* sono stati analizzati con il dosaggio **BD ProbeTec ET** per GC. Di questi ceppi, due sono risultati ripetutamente positivi. Sedici ceppi di *N. subflava* sono stati analizzati in triplicato. Di questi ceppi, due sono risultati positivi in una delle tre repliche. Quando i due ceppi sono stati nuovamente preparati e analizzati, tutti sono risultati negativi. Otto ceppi di *N. lactamica* sono stati analizzati in triplicato. Di questi ceppi, uno è risultato positivo in una delle tre repliche. Quando questo ceppo è stato nuovamente preparato e analizzato, tutti i risultati sono stati negativi.

Sostanze interferenti

Sono state analizzate con il dosaggio per DNA amplificato di *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** le sostanze potenzialmente interferenti reperibili nei tamponi e/o campioni di urina. Tali sostanze sono state valutate in assenza di target oppure con 200 organismi elementari (EBs) di CT per reazione (vale a dire, 1000 EBs per 1 mL di urina o 4000 EBs per tampone) e 200 cellule GC per reazione (vale a dire, 1000 cellule/mL di urina o 4000 cellule per tampone). I risultati sono riassunti nella Tabella 21 (pagina 131).

DISPONIBILITÀ

Sono inoltre disponibili i seguenti prodotti **BD ProbeTec ET**

N. di cat.	Descrizione
220142	Kit per prelievo di campioni endocervicali per dosaggio di DNA amplificato di <i>Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae</i> (CT/GC) BD ProbeTec ET , 100 unità.
220143	Kit per prelievo di campioni uretrali (uomo) per dosaggio di DNA amplificato di <i>Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae</i> (CT/GC) BD ProbeTec ET , 100 unità.
440450	Confezione di reagenti BD ProbeTec ET per CT/GC/AC, 384 test.
440451	Set di controlli BD ProbeTec ET per CT/GC, 20 positivi e 20 negativi.
440452	Provette di diluente BD ProbeTec ET per CT/GC, 2 mL x 400.
440453	Provette di diluente BD ProbeTec ET (CT/GC), 4 x 225 mL.
440455	Provette per campioni e tappi BD ProbeTec ET , 4 x 100.
440456	Tappi BD ProbeTec ET , 4 x 100.
440457	Accessori BD ProbeTec ET (20 copri priming, sigillanti per amplificazione e buste per rifiuti, 20 di ciascuno).
440458	Puntali per pipette BD ProbeTec ET , 6 x 120.
440461	Kit per prelievo di campioni uretrali (uomo) e TRASPORTO A SECCO per dosaggio di DNA amplificato di <i>Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae</i> (CT/GC) BD ProbeTec ET , 100 ciascuno.
440476	Kit per prelievo di campioni endocervicali e TRASPORTO A SECCO per dosaggio di DNA amplificato di <i>Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae</i> (CT/GC) BD ProbeTec ET , 100 ciascuno.
440454	Kit per analisi dell'urina BD ProbeTec ET , 4 x 25.
440474	Confezione di reagenti BD ProbeTec ET per CT/AC, 384 test.
440477	Strumento BD ProbeTec ET , per uso fuori dagli USA.
440478	Strumento BD ProbeTec ET , per uso in USA e Canada.
440479	Incubatore per priming e riscaldamento BD ProbeTec ET , 220V.
440480	Incubatore per priming e riscaldamento BD ProbeTec ET , 120V.
440482	Incubatore per lisi BD ProbeTec ET , 220V.
440483	Incubatore per lisi BD ProbeTec ET , 120V.
440487	Pipettatore BD ProbeTec ET .
440502	Portaprovette per lisi BD ProbeTec ET
440704	Confezione di reagenti BD ProbeTec ET per CT, 384 test.
440705	Confezione di reagenti BD ProbeTec ET per CT/GC, 384 test.
440928	BD ProbeTec Urine Preservative Transport Kit , 100/scatola.

I seguenti ceppi sono disponibili presso:

American Type Culture Collection (ATCC)
10801 University Boulevard
Manassas, VA 20110-2209, USA.
ATCC n. VR-902B *Chlamydia trachomatis* LGV2
ATCC ceppo n. 19424 *Neisseria gonorrhoeae*

RIFERIMENTI

Verdere la sezione "References" nel testo inglese.

BD Análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* BD ProbeTec ET

Español

USO PREVISTO

Los análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis* (CT) y *Neisseria gonorrhoeae* (GC) **BD ProbeTec ET**, cuando se realizan con el sistema **BD ProbeTec ET**, emplean la tecnología de amplificación con desplazamiento de cadenas (SDA, Strand Displacement Amplification) para la detección cualitativa directa de ADN de *Chlamydia trachomatis* y de *Neisseria gonorrhoeae* en muestras de torunda endocervicales, muestras de torunda uretrales masculinas y muestras de orina masculinas y femeninas como prueba de infección por *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* o de coinfección por *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae*. Las muestras pueden proceder de mujeres y varones sintomáticos o asintomáticos. Para el análisis de inhibición puede utilizarse un control de amplificación diferente (juego de reactivos CT/GC/AC **BD ProbeTec ET**). Los análisis CT/GC **BD ProbeTec ET** se pueden realizar utilizando el sistema **BD ProbeTec ET** o una combinación del sistema **BD ProbeTec ET System** y el instrumento **BD Viper**.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Las infecciones por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* son las enfermedades bacterianas de transmisión sexual más frecuentes en Estados Unidos. Se estima que se producen cerca de 4 millones de casos nuevos de infección por *Chlamydia* cada año en Estados Unidos, mientras que las estimaciones mundiales son de aproximadamente 50 millones de casos nuevos por año¹⁻³. La incidencia de infecciones por *Chlamydia* en las mujeres de Estados Unidos en 1996 fue de 186,6 por 100.000. El número total de infecciones por *Chlamydia* y de casos de gonorrea comunicados en Estados Unidos en 1996 fue de 490.080 y de 325.883, respectivamente⁴.

Las clamidias son bacterias intracelulares obligadas gramnegativas. Forman cuerpos de inclusión intracelulares característicos que pueden observarse en cultivos celulares mediante microscopía óptica tras la aplicación de una tinción especial⁴. *Chlamydia trachomatis* causa cervicitis, uretritis, salpingitis, proctitis y endometritis en las mujeres, y uretritis, epididimitis y proctitis en los varones. La comunicación de infecciones agudas es más frecuente en varones, ya que las mujeres a menudo no tienen síntomas de infección. Se ha estimado que el 70-80% de las mujeres y hasta el 50% de los varones infectados no experimentan síntomas. Muchas infecciones por *Chlamydia* en mujeres no son tratadas, lo cual puede dar lugar a una inflamación de bajo grado de las trompas de Falopio, un factor causal importante de esterilidad. Este microorganismo también puede transmitirse en el canal del parto, lo cual puede dar lugar a conjuntivitis en el lactante y a neumonía por clamidias en el recién nacido^{4,5}.

Neisseria gonorrhoeae son diplococos gramnegativos, oxidasa-positivos, que pueden observarse mediante tinción de Gram en extensiones de secreciones uretrales, habitualmente en el interior de neutrófilos. Puede ser difícil cultivar *N. gonorrhoeae*, debido a que este microorganismo no sobrevive mucho tiempo fuera de su huésped y es muy sensible a las condiciones ambientales adversas, como la desecación y las temperaturas extremas⁶. *Neisseria gonorrhoeae* causa uretritis aguda en los varones; sin tratamiento, la uretritis aguda puede desembocar en epididimitis, prostatitis y estenosis uretral. En las mujeres, el sitio principal de infección es el endocervix. Una complicación importante en las mujeres es el desarrollo de enfermedad inflamatoria pélvica, un trastorno que contribuye a la esterilidad⁷. Las infecciones asintomáticas son frecuentes en las mujeres, pero infrecuentes en los varones.

Los métodos actuales para la detección de *C. trachomatis* y/o *N. gonorrhoeae* son los cultivos, el inmunoanálisis, las sondas no amplificadas y las sondas amplificadas^{4,6,7}. El desarrollo de métodos con amplificación ha mostrado dos ventajas en comparación con los métodos sin amplificación: aumento de la sensibilidad y posibilidad de aplicación a diversos tipos de muestras. Históricamente, el cultivo ha sido el método habitual para la detección de *C. trachomatis*. Sin embargo, los resultados del cultivo varían notablemente de un laboratorio a otro, y en la práctica habitual este método es menos sensible que los métodos con amplificación. La combinación de los resultados de varios métodos de detección de CT mejora la precisión para la evaluación de nuevas pruebas debido a que la identificación de pacientes infectados y no infectados es más fiable. Para la identificación de GC, los métodos de cultivo optimizados siguen siendo el sistema de referencia para el diagnóstico de los pacientes con infecciones gonocócicas.

Los análisis de ADN amplificado **BD ProbeTec ET** para *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*, cuando se emplean con el sistema **BD ProbeTec ET**, utilizan la tecnología de amplificación con desplazamiento de cadenas (SDA) como método de amplificación y la transferencia de energía (ET, energy transfer) fluorescente como método de detección para investigar la presencia de ADN de *C. trachomatis* y de *N. gonorrhoeae* en muestras clínicas⁸⁻¹⁰.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Los análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** se basan en la amplificación y detección simultáneas del ADN diana mediante cebadores de amplificación y una sonda detectora marcada con fluorescencia^{9,10}. Los reactivos de SDA se desecan en dos tiras de micropocillos desechables diferentes. La muestra procesada se añade al micropocillo de cebado que contiene los cebadores de amplificación, la sonda detectora marcada con fluorescencia y otros reactivos necesarios para la amplificación. Tras la incubación, se transfiere la mezcla de reacción al micropocillo de amplificación, que contiene dos enzimas (una ADN polimerasa y una endonucleasa de restricción) necesarias para la SDA. Los micropocillos de amplificación se cubren herméticamente para evitar la contaminación y, a continuación, se incuban en un lector fluorescente con control térmico que controla en cada reacción la formación de productos amplificados. La presencia o ausencia de CT y GC se determina relacionando las puntuaciones MOTA (Method Other Than Acceleration, método diferente a la aceleración) **BD ProbeTec ET** de la muestra con valores límite predeterminados. La puntuación MOTA es una medida utilizada para valorar la magnitud de la señal generada como resultado de la reacción.

Este documento describe los procedimientos de análisis para dos configuraciones de equipo de análisis: el juego de reactivos CT/GC y el juego de reactivos CT/GC/AC. Si se utiliza el juego de reactivos CT/GC, cada muestra y control se analizan en dos micropocillos diferentes: uno para *C. trachomatis* y uno para *N. gonorrhoeae*. Si se utiliza el juego de reactivos CT/GC/AC, cada muestra y control se analizan en dos micropocillos diferentes: *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* y el control de amplificación (AC, amplification control). El objetivo del control de amplificación es identificar una muestra que pueda inhibir la reacción de SDA.

REACTIVOS

Cada juego de reactivos CT/GC **BD ProbeTec ET** contiene:

Micropocillos de cebado para *Chlamydia trachomatis* (CT), 4 x 96:

4 oligonucleótidos ≥ 7 pmol; dNTP ≥ 35 nmol; sonda detectora ≥ 25 pmol; con tampones y estabilizadores.

Micropocillos de cebado para *Neisseria gonorrhoeae* (CT), 4 x 96:

4 oligonucleótidos ≥ 7 pmol; dNTP ≥ 35 nmol; sonda detectora ≥ 25 pmol; con tampones y estabilizadores.

Micropocillos de amplificación para *Chlamydia trachomatis* (CT), 4 x 96:
enzima de restricción ≥ 30 unidades; ADN polimerasa ≥ 25 unidades; dNTP ≥ 80 nmol; con tampones y estabilizadores.

Micropocillos de amplificación para *Neisseria gonorrhoeae* (GC), 4 x 96:
enzima de restricción ≥ 15 unidades; ADN polimerasa ≥ 2 unidades; dNTP ≥ 80 nmol; con tampones y estabilizadores.

Además de los reactivos anteriormente mencionados, el juego de reactivos CT/GC/AC **BD ProbeTec ET** también contiene:
Micropocillos de cebado de control de amplificación (AC), 4 x 96:
4 oligonucleótidos ≥ 7 pmol; dNTP ≥ 35 nmol; sonda detectora ≥ 25 pmol; ≥ 1.000 copias por reacción de plásmido pGC10 linealizado; con tampones y estabilizadores.

Micropocillos de amplificación de control de amplificación (AC), 4 x 96:
enzima de restricción ≥ 15 unidades; ADN polimerasa ≥ 2 unidades; dNTP ≥ 80 nmol; con tampones y estabilizadores.

NOTA: Cada bolsita de micropocillos contiene una bolsa con secante.

Accesorios: Cubiertas de cebado; cierres herméticos de amplificación, 1 x 40; bolsas de desecho, 1 x 20.

Juego de controles (CT/GC) **BD ProbeTec ET**, 20 controles positivos CT/GC (50 μ L desecados) con 750 copias por reacción de plásmido pCT16 linealizado* y 250 copias por reacción de plásmido pGC10 linealizado* con ≥ 5 μ g de ADN de testículos de salmón; 20 controles negativos CT/GC (50 μ L desecados) con ≥ 5 μ g de ADN de testículos de salmón; tubos de diluyente CT/GC **BD ProbeTec ET**: 1 x 400 tubos que contienen 2 mL de diluyente para muestras compuesto por fosfato potásico, DMSO, glicerol, polisorbato 20 y Proclin al 0,03% (conservante); diluyente (CT/GC) **BD ProbeTec ET**: 225 mL de diluyente para muestras compuesto por fosfato potásico, DMSO, glicerol, polisorbato 20 y Proclin al 0,03% (conservante).

*La concentración de este ADN se determinó mediante espectrofotometría a 260 nm.

Instrumento, equipo y material: Instrumento y placas del instrumento **BD ProbeTec ET**, estufa de lisis **BD ProbeTec ET**, gradilla y base de lisis, estufa de cebado y calentamiento **BD ProbeTec ET**, pipeta y fuente de alimentación **BD ProbeTec ET**, bolsa para procesamiento de orina **BD ProbeTec ET**, kit de transporte y conservación de orina **BD ProbeTec ET**, tubos de muestras, tapones y puntas de pipeta **BD ProbeTec ET**, kit de recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras endocervicales para análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET** o kit de recogida de muestras endocervicales para análisis de ADN amplificado para CT/GC **BD ProbeTec ET**, kit de recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras uretrales masculinas para análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET** o kit de recogida de muestras uretrales masculinas para análisis de ADN amplificado para CT/GC **BD ProbeTec ET**.

Materiales necesarios pero no suministrados: Centrifugadora con capacidad de 2.000 x g, agitadora vortical, guantes, pipetas con capacidad para 1 mL, 2 mL y 4 mL, ELIMINase, DNA AWAY o hipoclorito sódico al 1% (v/v) con Alconox*, contenedor limpio apropiado para guardar diluyente distribuido en partes alicuotas, cronómetro y papel absorbente, recipientes estériles para la recogida de muestras de orina.

*Mezclar 200 mL de lejía con 800 mL de agua tibia. Añadir 7,5 g de Alconox y mezclar. Preparar en fresco diariamente.

Requisitos de conservación y manipulación: Los reactivos pueden conservarse a una temperatura de 2–33 °C. Los juegos de reactivos sin abrir son estables hasta la fecha de caducidad. Una vez abierta una bolsa, los micropocillos son estables durante 4 semanas si se cierran de manera apropiada o hasta la fecha de caducidad, lo que suceda antes. No congelar.

Advertencias y Precauciones:

Para uso diagnóstico *in vitro*.

- Este juego de reactivos debe utilizarse para el análisis de muestras de torunda endocervicales, muestras de torunda uretrales masculinas y muestras de orina masculinas y femeninas con el sistema **BD ProbeTec ET**.
- Para la recogida de muestras en torunda endocervicales, se ha validado solamente el equipo de recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras endocervicales para análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET** y el equipo de recogida de muestras endocervicales para análisis de ADN amplificado CT/GC **BD ProbeTec ET**.
- Para la recogida de muestras en torunda uretrales masculinas, se ha validado exclusivamente el equipo de recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras uretrales masculinas para análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET** y el equipo de recogida de muestras uretrales masculinas para análisis de ADN amplificado CT/GC **BD ProbeTec ET**.
- Para las muestras de orina, sólo han sido validados la bolsa para procesamiento de orina (UPP) **BD ProbeTec ET**, el kit de transporte y conservación de orina (UPT) **BD ProbeTec ET** y la orina sin conservantes (pura).
- El kit de transporte y conservación de orina (UPT) **BD ProbeTec ET** contiene **NAP Guard** ($\geq 742,5$ mM de K_2EDTA). El **NAP Guard** puede producir irritaciones en los ojos, en la piel y en el sistema respiratorio. En caso de contacto con los ojos, aclarar inmediatamente los ojos abiertos con agua abundante y consultar a un médico si los síntomas persisten. Tras el contacto con la piel, lavar la zona inmediatamente con abundante agua y jabón. En caso de inhalación, acudir a un médico si hay problemas.
- Los laboratorios pueden validar otros dispositivos de recogida y transporte de muestras en torunda u orina para uso con los análisis CT/GC **BD ProbeTec ET** según "Verification and Validation Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory," Cumitech 31, B.L. Elder et al., American Society for Microbiology, Washington D.C., February, 1997.
- No analizar el tubo de diluyente CT/GC de los equipos de recogida para análisis de ADN amplificado para CT/GC **BD ProbeTec ET** si se ha recibido en el laboratorio sin la torunda presente. Podría producirse un resultado falso negativo del análisis.
- Utilizar únicamente la pipeta **BD ProbeTec ET** y las puntas de pipeta **BD ProbeTec ET** para la transferencia de muestras procesadas a los micropocillos de cebado y de éstos a los micropocillos de amplificación.
- No intercambiar ni mezclar reactivos de equipos que tengan números de lote diferentes.
- En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las "Precauciones estándar"¹¹⁻¹⁴ y las directrices del centro.
- Seguir los procedimientos de laboratorio habituales al desechar las puntas de pipeta usadas, los tubos de muestras, los micropocillos de cebado y otros materiales desechables. Eliminar con cuidado los materiales desechables. Cerrar herméticamente y desechar los recipientes de desechos cuando estén llenos en 3/4 de su capacidad o diariamente (lo que ocurra antes).
- El diluyente (CT/GC) **BD ProbeTec ET** y el tubo de diluyente CT/GC contienen dimetilsulfóxido (DMSO). El DMSO es nocivo por inhalación, contacto con la piel o ingestión. Evitar el contacto con los ojos. En caso de contacto con los ojos, lávese

- inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. En caso de contacto con la piel, lávese inmediata y abundantemente con agua.
13. Las bolsas de reactivos que contienen micropocillos de cebado y micropocillos de amplificación sin usar DEBEN volver a cerrarse herméticamente con cuidado después de abrirlos. Debe verificarse que hay un secante antes de volver a cerrar herméticamente las bolsas de reactivos.
 14. La placa que contiene los micropocillos de amplificación DEBE cerrarse herméticamente de manera apropiada con el cierre hermético de amplificación antes de transferir la placa de la estufa de cebado y calentamiento **BD ProbeTec ET** al instrumento **BD ProbeTec ET**. El cierre hermético garantiza una reacción cerrada para amplificación y detección y es necesario para evitar la contaminación del instrumento y del área de trabajo con productos de amplificación. **No retirar el material de cierre hermético de los micropocillos en ningún momento.**
 15. Los micropocillos de cebado con líquido residual (tras la transferencia de líquido de éstos a los micropocillos de amplificación) representan una fuente de contaminación objeto de investigación. Los micropocillos de cebado deben cerrarse herméticamente con cuidado con el cierre hermético de placa antes de su eliminación.
 16. Para evitar la contaminación del entorno de trabajo con productos de amplificación, deben utilizarse las bolsas de desechos suministradas en los juegos de reactivos para desechar los micropocillos de amplificación analizados. Antes de desechar las bolsas hay que asegurarse de que están correctamente cerradas.
 17. Aunque no se requieren áreas de trabajo específicas, ya que el diseño de **BD ProbeTec ET** reduce la posibilidad de contaminación con productos de amplificación en el entorno de análisis, es preciso observar otras precauciones para controlar la contaminación, especialmente para evitar la contaminación de las muestras durante su procesamiento.
 18. Debido a la posibilidad de que se produzcan falsos positivos con algunas especies no gonocócicas de *Neisseria* presentes en el tracto respiratorio (véase "Limitaciones del procedimiento", n.º 19), debe evitarse la contaminación de los reactivos y las muestras con aerosoles respiratorios.
 19. DEBEN CAMBIARSE LOS GUANTES después de eliminar y desechar los tapones de las muestras sometidas a lisis y los controles para evitar la contaminación cruzada de las muestras. Si los guantes entran en contacto con muestras o parecen estar húmedos, deben reemplazarse inmediatamente para evitar la contaminación de otras muestras. Deben cambiarse los guantes antes de salir del área de trabajo y al entrar en ella.
 20. En caso de contaminación del área de trabajo o del equipo con muestras o controles, limpiar a conciencia el área contaminada con ELIMINase, DNA AWAY o hipoclorito sódico al 1% (v/v) con Alconox y aclarar a conciencia con agua. Antes de continuar debe dejarse que se seque completamente la superficie.
 21. En caso de salpicadura de la gradilla de lisis: sumergir la gradilla en ELIMINase, DNA AWAY o hipoclorito sódico al 1% con Alconox durante 1–2 min. No superar los 2 min. Aclarar a conciencia la gradilla con agua y dejarla secar al aire.
 22. Limpiar diariamente toda el área de trabajo (encimeras y superficies de instrumentos) con ELIMINase, DNA AWAY o hipoclorito sódico al 1% (v/v) con Alconox. Aclarar a conciencia con agua. Antes de proceder a realizar nuevos análisis deben dejarse secar completamente las superficies.
 23. Contáctese con los servicios técnicos en caso de una situación inusual, como una salpicadura en el instrumento **BD ProbeTec ET** o contaminación por ADN que no puede eliminarse mediante los procedimientos de limpieza.

RECOGIDA Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

El sistema **BD ProbeTec ET** ha sido diseñado para detectar la presencia de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* en muestras de torunda endocervicales, muestras de torunda uretrales masculinas y muestras de orina masculinas y femeninas obtenidas por medio del método de recogida apropiado.

Los únicos dispositivos que se han validado para recoger muestras en torunda para su análisis en el instrumento **BD ProbeTec ET** son:

- Equipo de recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras endocervicales para análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET**.
- Equipo de recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras uretrales masculinas para análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET**.
- Equipo de recogida de muestras endocervicales para análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET**.
- Equipo de recogida de muestras uretrales masculinas para análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET**.

Para los envíos dentro de Estados Unidos e internacionales, las muestras deben etiquetarse en cumplimiento de la normativa estatal, federal e internacional aplicable al transporte de muestras clínicas y agentes etiológicos/sustancias infecciosas. Durante el transporte deben mantenerse las condiciones de tiempo y temperatura para la conservación de las muestras.

Las muestras de orina deben recogerse en una copa de recogida de muestras estéril, de plástico y sin conservantes. Para las muestras de orina, sólo han sido validados la bolsa para procesamiento de orina (UPP) **BD ProbeTec ET**, el kit de transporte y conservación de orina (UPT) **BD ProbeTec ET** y la orina sin conservantes (pura).

Recogida de muestras con torunda

Recogida de muestras endocervicales con torunda utilizando el equipo de recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras endocervicales para análisis de ADN amplificado para CT/GC **BD ProbeTec ET**:

1. Retirar el exceso de moco del orificio del útero con la torunda de limpieza de cabeza grande suministrada en el equipo de recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras endocervicales para análisis de ADN amplificado para CT/GC **BD ProbeTec ET** y desecharla.
2. Introducir la torunda de recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras endocervicales en el conducto cervical y girarla durante 15–30 s.
3. Retirar con cuidado la torunda. Evitar que entre en contacto con la mucosa vaginal.
4. Insertar de inmediato el tapón/torunda en el tubo de transporte. Debe confirmarse que el tapón está firmemente fijado al tubo.
5. Etiquetar el tubo con la información de la paciente y la fecha/hora de recogida de la muestra.

Recogida de muestras endocervicales con torunda utilizando el equipo de recogida de muestras endocervicales para análisis de ADN amplificado para CT/GC **BD ProbeTec ET**:

1. Extraer la torunda de limpieza del envase.

2. Eliminar el exceso de moco del orificio cervical utilizando la torunda de limpieza.
3. **Desechar** la torunda de limpieza usada.
4. Extraer la torunda de recogida del envase.
5. Introducir la torunda de recogida en el conducto cervical y girarla durante 15–30 s.
6. Retirar con cuidado la torunda. Evitar que entre en contacto con la mucosa vaginal.
7. Quitar el tapón al tubo de diluyente CT/GC.
8. Insertar totalmente la torunda de recogida en el tubo de diluyente CT/GC.
9. Romper el soporte de la torunda por la marca. Debe tenerse cuidado de evitar salpicar el contenido.
10. Volver a cerrar **con fuerza** el tubo.
11. Etiquetar el tubo con la información de la paciente y la fecha/hora de recogida de la muestra.
12. Transportar al laboratorio.

Recogida de muestras uretrales masculinas con torunda utilizando el equipo de recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras uretrales masculinas para análisis de ADN amplificado para CT/GC BD ProbeTec ET:

1. Introducir la torunda para recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras uretrales masculinas 2–4 cm en la uretra y girarla durante 3–5 s.
2. Retirar la torunda e insertar el tapón/torunda en el tubo de transporte. Debe confirmarse que el tapón está firmemente fijado al tubo.
3. Etiquetar el tubo con la información del paciente y la fecha/hora de recogida de la muestra.

Recogida de muestras uretrales masculinas con torunda utilizando el equipo de recogida de muestras uretrales masculinas para análisis de ADN amplificado para CT/GC BD ProbeTec ET:

1. Extraer la torunda del envase.
2. Introducir la torunda 2–4 cm en la uretra y girarla durante 3–5 s.
3. Retirar la torunda.
4. Quitar el tapón al tubo de diluyente CT/GC.
5. Insertar totalmente la torunda en el tubo de diluyente CT/GC.
6. Romper el soporte de la torunda por la marca. Debe tenerse cuidado de evitar salpicar el contenido.
7. Volver a cerrar **con fuerza** el tubo.
8. Etiquetar el tubo con la información del paciente y la fecha/hora de recogida de la muestra.
9. Transportar al laboratorio.

Conservación y transporte de las torundas

Las torundas endocervicales y las torundas uretrales masculinas deben conservarse y transportarse al laboratorio o centro de análisis a una temperatura de 2–27 °C en los 4–6 días siguientes a la recogida de la muestra. Se ha validado la conservación durante un máximo de 4 días con muestras clínicas, y se ha demostrado la conservación durante un máximo de 6 días con muestras sembradas. Consúltense el apartado “Características de rendimiento”.

NOTA: Si no es posible llevar las muestras directamente al laboratorio de análisis a temperatura ambiente (15–27 °C) y es preciso enviarlas al mismo, debe utilizarse un recipiente aislado con hielo con un servicio de entrega de un día para otro o en un plazo de 2 días.

Recogida, conservación y transporte de muestras de orina

Recoger la muestra de orina en un recipiente de recogida estéril sin conservantes. Las muestras de orina se pueden conservar y transportar de tres modos: (1) sin conservantes (puras), (2) utilizando el kit de transporte y conservación de orina (UPT) **BD ProbeTec** y (3) utilizando la bolsa de procesamiento de orina (UPP) **BD ProbeTec** ET. La siguiente tabla ofrece un resumen de las condiciones de conservación y transporte para la orina pura, el UPT y la UPP.

Tipo de muestra de orina a procesar	PURA			UPT			UPP		
				Orina conservada a 2-30 °C: Transferir al UPT en el plazo de 8 h desde la recogida	Orina conservada a 2-8 °C: Transferir al UPT en el plazo de 24 h desde la recogida		UPP añadida en el lugar de recogida de la muestra	UPP añadida en el centro de análisis	
Condiciones de temperatura para el transporte al centro de análisis y para la conservación	2-30 °C	2-8 °C	-20 °C	2-30 °C	2-30 °C	-20 °C	Transportar al laboratorio a 2-8 °C.	Transportar al laboratorio a 15-27 °C.	Transportar al laboratorio a 2-8 °C
Procesar la muestra según las instrucciones	En el plazo de 30 h desde la recogida	En el plazo de 7 días desde la recogida	En el plazo de 2 meses desde la recogida	En el plazo de 30 días desde la transferencia al UPT	En el plazo de 30 días desde la transferencia al UPT.	En el plazo de 2 meses desde la transferencia al UPT	En el plazo de 4-6 días desde la recogida	En el plazo de 2 días desde la recogida	En el plazo de 4-6 días desde la recogida

Orina sin conservantes (pura)**Recogida**

1. El paciente no debe haber orinado durante al menos 1 h antes de la recogida de la muestra.
2. Recoger la muestra en un envase de recogida de muestras estéril sin conservantes.
3. El paciente deberá recoger los primeros 15-60 mL de orina evacuada (la primera porción de la orina, no la porción media) en un recipiente de recogida de orina.
4. Tapar y etiquetar el recipiente de recogida de orina con la identificación del paciente y la fecha y hora de la recogida.

Conservación y transporte

1. Conservar y transportar la orina pura desde el lugar de recogida al centro de análisis a 2-30 °C.
2. El procesamiento de las muestras debe completarse en el plazo de 30 h desde la recogida si se conservan a 2-30 °C o en el plazo de 7 días si se conservan a 2-8 °C.

NOTA: Las muestras deben enviarse en un recipiente aislado con hielo mediante un servicio de entrega de un día para otro o en un plazo de dos días. Se ha demostrado la conservación hasta 7 días a 2-8 °C con muestras sembradas.

Uso del kit de transporte y conservación de orina (UPT) BD ProbeTec**Recogida**

1. El paciente no debe haber orinado durante al menos 1 h antes de la recogida de la muestra.
2. Recoger la muestra en un envase de recogida de muestras estéril sin conservantes.
3. El paciente deberá recoger los primeros 15-60 mL de orina evacuada (la primera porción de la orina, no la porción media) en un recipiente de recogida de orina.
4. Tapar y etiquetar el recipiente de recogida de orina con la identificación del paciente y la fecha y hora de la recogida.

Transferencia de la orina al UPT

NOTAS: La orina deberá transferirse del recipiente de recogida al UPT en el plazo de 8 h desde la recogida, siempre que se haya conservado a 2-30 °C. La orina se puede conservar hasta 24 h antes de transferirla al UPT, siempre que se haya conservado a 2-8 °C.

Ponerse guantes limpios para manipular el UPT y la muestra de orina. Si los guantes entran en contacto con la muestra, cambiarlos inmediatamente para evitar la contaminación de otras muestras.

1. Una vez que el paciente haya recogido la muestra de orina, etiquetar el recipiente de recogida de orina.
2. Abrir el kit de transporte y conservación de orina y extraer el UPT y la pipeta de transferencia. Etiquetar el UPT con la identificación del paciente y la fecha y hora de la recogida.
3. Mantener el UPT en posición vertical y golpear firmemente la parte inferior de tubo sobre una superficie plana para desplazar cualquier gota grande del interior del tapón. Repetir la operación si fuere necesario.
4. Retirar el tapón del UPT y utilizar la pipeta de transferencia para transferir la orina al tubo. Se habrá añadido el volumen correcto de orina cuando el nivel de líquido se encuentre entre las líneas negras de la ventana de llenado situada en la etiqueta del UPT. Este volumen corresponde aproximadamente a 2,5-3,45 mL de orina. NO llenar el tubo de más ni de menos.
5. Desechar la pipeta de transferencia. **NOTA:** La pipeta de transferencia está indicada para su uso con una sola muestra.
6. Apretar con firmeza el tapón del UPT.
7. Invertir el UPT 3 ó 4 veces para asegurar que la muestra y el reactivo se mezclen bien.

Conservación y transporte del UPT

Conservar y transportar las muestras de orina en el UPT a 2-30 °C y procesarlas en el plazo de 30 días desde la recogida. Las muestras también pueden conservarse a -20 °C hasta dos meses.

Uso de la bolsa de procesamiento de orina (UPP) BD ProbeTec

La bolsa para procesamiento de orina (UPP) puede añadirse en el centro de análisis o en el lugar de recogida de la muestra. Se proporcionan instrucciones para ambas opciones.

Recogida de la orina (adición de la UPP en el centro de análisis)

1. El paciente no debe haber orinado durante al menos 1 h antes de la recogida de la muestra.
2. Recoger la muestra en un envase de recogida de muestras estéril sin conservantes.
3. El paciente deberá recoger los primeros 15-20 mL de orina evacuada (la primera porción de la orina, no la porción media) en un recipiente de recogida de orina.

NOTA: Durante la evaluación clínica se incluyeron volúmenes de orina para análisis de hasta 60 mL en las estimaciones de rendimiento.

4. Tapar y etiquetar el recipiente de recogida de orina con la identificación del paciente y la fecha y hora de la recogida.

Conservación y transporte de la orina (adición de UPP en el centro de análisis):

NOTA: Las muestras deben enviarse en un recipiente aislado con hielo con un servicio de entrega de un día para otro o en un plazo de dos días. Se ha validado la conservación durante un máximo de 4 días con muestras clínicas, y se ha demostrado la conservación durante un máximo de 6 días con muestras sembradas. Consúltense el apartado "Características de rendimiento".

1. Conservar y transportar las muestras de orina al centro de análisis a una temperatura de 2-8 °C en los 4-6 días siguientes a su recogida.
2. Añadir la UPP a la copa de recogida de muestras de orina. Usar guantes limpios al manipular la UPP y la muestra de orina.
NOTA: No colocar la UPP sobre ninguna superficie de trabajo. Extraer la UPP de la bolsa con la mano con guantes recién colocados o utilizando unas pinzas limpias estériles.
NOTA: Añadir la UPP con cuidado para evitar salpicaduras.
3. Cerrar la copa de recogida y girarla suavemente para asegurarse de que la UPP está completamente sumergida en orina.
4. La UPP debe estar en contacto con la muestra de orina durante al menos 2 horas antes del procesamiento.
5. No congelar la muestra de orina.

Recogida de la orina (adición de la UPP en el lugar de recogida)

1. El paciente no debe haber orinado al menos en la hora anterior a la recogida de la muestra.
2. Recoger la muestra en una copa de recogida de muestras estéril, de plástico y sin conservantes.
3. El paciente debe recoger los primeros 15–20 mL de orina emitida (la primera parte del chorro de micción, NO la parte media).
NOTA: Durante la evaluación clínica se incluyeron volúmenes de orina para análisis de hasta 60 mL en las estimaciones de rendimiento.
4. Añadir la UPP a la copa de recogida de muestras. Usar guantes limpios al manipular la UPP y la muestra de orina.
NOTA: No colocar la UPP sobre ninguna superficie de trabajo. Extraer la UPP de la bolsa con la mano con guantes recién colocados o utilizando unas pinzas limpias estériles.
NOTA: Añadir la UPP con cuidado para evitar salpicaduras.
5. Cerrar la copa de recogida y girarla suavemente para asegurarse de que la UPP está completamente sumergida en orina. Etiquetar con la identificación del paciente y la fecha/hora de recogida de la muestra.

Conservación y transporte de la orina (adición de la UPP en el lugar de recogida)

NOTA: Si no es posible llevar las muestras directamente al laboratorio de análisis a temperatura ambiente (15–27 °C) y es preciso enviarlas al mismo, debe utilizarse un recipiente aislado con hielo con un servicio de entrega de un día para otro o en un plazo de 2 días. Se ha validado la conservación durante un máximo de 4 días con muestras clínicas, y se ha demostrado la conservación durante un máximo de 6 días con muestras sembradas. Consúltese el apartado “Características de rendimiento”.

1. Conservar y transportar las muestras de orina que contienen UPP al laboratorio o centro de análisis a una temperatura de 2–8 °C en los 4–6 días siguientes a la recogida o a 15–27 °C en los 2 días siguientes a la recogida.
2. No congelar la muestra de orina.
3. La UPP debe estar en contacto con la muestra de orina durante al menos 2 h antes del procesamiento.

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

Consúltese el manual del usuario del sistema **BD ProbeTec ET** para obtener instrucciones específicas sobre la utilización y el mantenimiento de los componentes del sistema. Se comprobó que las condiciones ambientales óptimas para el análisis de CT/GC son 18–23 °C con una humedad relativa del 25–75% y 23–28 °C con una humedad relativa del 25–50%. No se recomienda realizar el análisis de CT/GC a temperaturas superiores a 28 °C. Consultar las instrucciones específicas de funcionamiento del instrumento en el manual del usuario del instrumento **BD Viper**. Consultar los procedimientos de prueba específicos al utilizar el instrumento **BD Viper** en el apéndice del prospecto del análisis CT/GC **BD ProbeTec ET** (en el manual del usuario del instrumento **BD Viper**).

A. Preparación del instrumental:

1. Los instrumentos deben estar encendidos y debe dejarse que se calienten antes de iniciar el análisis.
 - a. La estufa de lisis y la estufa de cebado y calentamiento requieren aproximadamente 90 min para su calentamiento y estabilización.
El punto de ajuste para la estufa de lisis es 114 °C.
El punto de ajuste para el componente de cebado de la estufa de cebado y calentamiento es 72,5 °C.
El punto de ajuste para el componente de calentamiento de la estufa de cebado y calentamiento es 54 °C.
 - b. El instrumento **BD ProbeTec ET** está controlado por software y requiere aproximadamente 30 min para calentarse.
2. Deben controlarse las temperaturas de la estufa antes de iniciar el análisis.
 - a. Estufa de lisis
Retirar la cubierta de plástico y dejar que se establezca la temperatura durante 15 min.
El termómetro debe marcar entre 112 °C y 116 °C.
 - b. Estufa de cebado y calentamiento
El termómetro de la estufa de cebado debe marcar entre 72 °C y 73 °C.
El termómetro de la estufa de calentamiento debe marcar entre 53,5 °C y 54,5 °C.
3. Comprobar la temperatura mostrada en la pantalla del **BD ProbeTec ET**. La temperatura debe estar entre 47,5 °C y 55,0 °C.

B. Pipeta:

Consúltese el manual del usuario del sistema **BD ProbeTec ET** para obtener explicaciones detalladas sobre las funciones del teclado de la pipeta **BD ProbeTec ET**.

Para la realización de los análisis de CT/GC se requieren los siguientes programas. El programa 2 se utiliza con el juego de reactivos CT/GC. Transfiere líquido de las muestras procesadas a los micropocillos de cebado de CT/GC. El programa 3 se utiliza con el juego de reactivos CT/GC/AC. Transfiere líquido de las muestras procesadas a los micropocillos de cebado de CT/GC y AC. El programa 5 transfiere líquido de los micropocillos de cebado a los micropocillos de amplificación.

Programar la pipeta de la siguiente forma:

Programa 2:

1. Encender la pipeta. La pipeta emitirá un pitido una vez, mostrará parpadeando en pantalla “ZERO” y después el número de versión del software, y a continuación emitirá otro pitido.
2. Presionar la tecla “Prog” (Programa) azul. Presionar la tecla “Vol” (Volumen) hasta que aparezca en pantalla “2” para seleccionar el programa 2. Presionar “Enter” (Aceptar).
3. Para entrar en el modo de programación, mantener presionada la tecla “Prog”. Al presionar la tecla “Prog”, presionar al mismo tiempo la tecla de función especial con una punta de pipeta o con el extremo de un clip sujetapapeles.
4. Presionar “Fill” (Rellenar). Presionar la flecha hacia arriba hasta que se muestre en pantalla **400**. Presionar “Enter”.
5. Presionar “Disp” (Dispensar). Presionar la tecla de flecha hacia arriba hasta que se muestre en pantalla **150**. Presionar “Enter”.
6. Presionar “Disp” (Dispensar). Presionar la tecla de flecha hacia arriba hasta que se muestre en pantalla **150**. Presionar “Enter”.
7. Presionar “Enter” una segunda vez para guardar el programa y salir. Debe oírse un “pitido” que indica que la programación ha terminado.

8. Verificar el programa presionando el accionador para avanzar en cada etapa. A medida que se avanza en cada etapa, ajustar la velocidad de aspiración/dispensación utilizando la tecla "Vol". En cada etapa aparece el indicador de velocidad. Utilizar la tecla "Vol" para ajustar el indicador de velocidad para mostrar dos cuadrados para las etapas "Fill" (Rellenar) y "Disp" (Dispensar).

Programa 3:

1. Encender la pipeta. La pipeta emitirá un pitido una vez, mostrará parpadeando en pantalla "ZERO" y después el número de versión del software, y a continuación emitirá otro pitido.
2. Presionar la tecla "Prog" (Programa) azul. Presionar la tecla "Vol" (Volumen) hasta que aparezca en pantalla "3" para seleccionar el programa 3. Presionar "Enter" (Aceptar).
3. Para entrar en el modo de programación, mantener presionada la tecla "Prog". Al presionar la tecla "Prog", presionar al mismo tiempo la tecla de función especial con una punta de pipeta o con el extremo de un clip sujetapapeles.
4. Presionar "Fill" (Rellenar). Presionar la flecha hacia arriba hasta que se muestre en pantalla **600**. Presionar "Enter".
5. Presionar "Disp" (Dispensar). Presionar la tecla de flecha hacia arriba hasta que se muestre en pantalla **150**. Presionar "Enter".
6. Presionar "Disp" (Dispensar). Presionar la tecla de flecha hacia arriba hasta que se muestre en pantalla **150**. Presionar "Enter".
7. Presionar "Disp" (Dispensar). Presionar la tecla de flecha hacia arriba hasta que se muestre en pantalla **150**. Presionar "Enter".
8. Presionar "Enter" una segunda vez para guardar el programa y salir. Debe oírse un "pitido" que indica que la programación ha terminado.
9. Verificar el programa presionando el accionador para avanzar en cada etapa. A medida que se avanza en cada etapa, ajustar la velocidad de aspiración/dispensación utilizando la tecla "Vol". En cada etapa aparece el indicador de velocidad. Utilizar la tecla "Vol" para ajustar el indicador de velocidad para mostrar dos cuadrados para las etapas "Fill" (Rellenar) y "Disp" (Dispensar).

Programa 5:

1. Presionar la tecla "Prog" (Programa). Presionar la tecla "Vol" (Volumen) hasta que aparezca en pantalla "5" para seleccionar el programa 5. Presionar "Enter" (Aceptar).
2. Para entrar en el modo de programación, mantener presionada la tecla "Prog". Al presionar la tecla "Prog", presionar al mismo tiempo la tecla de función especial con una punta de pipeta o con el extremo de un clip sujetapapeles.
3. Presionar "Fill" (Rellenar). Presionar la flecha hacia arriba hasta que se muestre en pantalla **100**. Presionar "Enter".
4. Presionar "Disp" (Dispensar). Presionar la tecla de flecha hacia arriba hasta que se muestre en pantalla **100**. Presionar "Enter".
5. Presionar "Mix" (Mezclar). Presionar la tecla de flecha hacia arriba hasta que se muestre en pantalla **50**. Presionar "Enter".
6. Presionar "Enter" una segunda vez para guardar el programa y salir. Debe oírse un "pitido" que indica que la programación ha terminado.
7. Verificar el programa presionando el accionador para avanzar en cada etapa. A medida que se avanza en cada etapa, ajustar la velocidad de aspiración/dispensación/mezcla utilizando la tecla "Vol". En cada etapa aparece el indicador de velocidad. Utilizar la tecla "Vol" para ajustar el indicador de velocidad para mostrar dos cuadrados para las funciones de aspiración y dispensación. Utilizar la tecla "Vol" para ajustar la velocidad para la mezcla de forma que se muestren tres cuadrados.

Revisión de los programas

Deben revisarse los programas antes de iniciar el procedimiento. Para revisar los programas, encender la pipeta. Presionar la tecla "Prog" (Programa) azul. Presionar la tecla "Vol" (Volumen) hasta que se muestre en pantalla el número de programa apropiado (2, 3 ó 5). Presionar la tecla "Enter". Utilizar el accionador de pipeteado para avanzar etapa a etapa por el programa.

Programa 2: Este programa aspira 400 µL y dispensa 150 µL en el micropocillo de CT y 150 µL en el micropocillo de GC. La pantalla de la pipeta debe mostrar el siguiente mensaje:

Fill 400 µL - S ■■

Dispense 150 µL - S ■■

Dispense 150 µL - S ■■

Programa 3: Este programa aspira 600 µL y dispensa 150 µL en el micropocillo de CT, 150 µL en el micropocillo de GC y 150 µL en el micropocillo de AC. La pantalla de la pipeta debe mostrar el siguiente mensaje:

Fill 600 µL - S ■■

Dispense 150 µL - S ■■

Dispense 150 µL - S ■■

Dispense 150 µL - S ■■

Revisar el programa 5 de la misma forma:

Programa 5: Este programa aspira 100 µL, dispensa 100 µL y mezcla 50 µL tres veces. La pantalla de la pipeta debe mostrar el siguiente mensaje:

Fill 100 µL - S ■■

Dispense 100 µL - S ■■

Mix 50 µL - S ■■■

Zero (parpadeando)

C. Disposición de las placas:

El instrumento **BD ProbeTec ET** genera el informe de disposición de las placas una vez que se han registrado en el sistema el tipo de análisis, la identificación de las muestras, los números de lote de los controles y los números de lote de los equipos. El informe de disposición de las placas muestra la disposición física de las muestras y los controles para cada placa que se va a analizar. El software del sistema agrupa posiciones adyacentes de las placas para los pocillos necesarios para un análisis específico. Para el análisis de ADN amplificado de CT/GC, las columnas se asignan de la siguiente manera: CT/GC. Para el análisis de ADN amplificado de CT/GC/AC, las columnas se asignan de la siguiente manera: CT/GC/AC. Esta orientación se utiliza para la placa de micropocillos de cebado y para la placa de micropocillos de amplificación.

Los **micropocillos de cebado** son las tiras de micropocillos de colores **lisos** (CT – verde liso; GC – amarillo liso; AC – negro liso, si procede).

Los **micropocillos de amplificación** son las tiras de micropocillos de colores **a rayas** (CT – verde a rayas; GC – amarillo a rayas; AC – negro a rayas, si procede).

D. Procesamiento de las torundas:

Las muestras de torunda deben procesarse en los 4–6 días siguientes a su recogida si se conservan a 2–27 °C.

NOTA: Las torundas y los tubos de diluyente CT/GC deben estar a temperatura ambiente antes de su uso.

Procedimiento de procesamiento para muestras de torunda obtenidas con el equipo de recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras endocervicales para análisis de ADN amplificado para CT/GC BD ProbeTec ET o con el equipo de recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras uretrales masculinas para análisis de ADN amplificado para CT/GC BD ProbeTec ET:

1. Etiquetar un tubo de diluyente CT/GC para cada muestra de torunda que se desee procesar.
2. Quitar el tapón del tubo e introducir la torunda. Mezclar girando la torunda en el diluyente durante 5–10 s.
3. Exprimir la torunda de muestra a lo largo del interior del tubo de forma que el líquido discorra hacia la parte inferior del tubo.
4. Extraer la torunda con cuidado para evitar salpicaduras.
NOTA: Las gotitas puede causar contaminación del área de trabajo.
5. Introducir de nuevo la torunda en el tubo de transporte y desechar.
6. Volver a colocar con fuerza el tapón en el tubo de diluyente CT/GC.
7. Agitar el tubo durante 5 s.
8. Utilizando como referencia el informe de disposición de las placas, colocar el tubo en el orden correspondiente en la gradilla de lisis.
9. Repetir las etapas 1–8 para muestras de torunda adicionales.
10. Bloquear en su posición las muestras en la gradilla de lisis.
11. La muestras están listas para la lisis.

NOTA: De forma alternativa, si se dispone de una agitadora para múltiples tubos, se puede omitir la etapa 7 y agitar toda la gradilla de lisis durante 15–20 s después de la etapa 10 y antes de la lisis.

NOTA: Las muestras procesadas pero todavía no sometidas a lisis pueden conservarse a temperatura ambiente durante un máximo de 6 h o de un día para otro a 2–8 °C.

Procedimiento de procesamiento para muestras de torunda obtenidas con el equipo de recogida de muestras endocervicales para análisis de ADN amplificado para CT/GC BD ProbeTec ET o con el equipo de recogida de muestras uretrales masculinas para análisis de ADN amplificado para CT/GC BD ProbeTec ET:

1. Agitar el tubo de diluyente CT/GC durante 5 s.
NOTA: De forma alternativa, si se dispone de una agitadora para múltiples tubos, realizar las etapas 2 y 3, agitar toda la gradilla de lisis durante 15–20 s y continuar con la etapa 4.
2. Utilizando como referencia el informe de disposición de las placas, colocar los tubos de muestras y controles en el orden correspondiente en la gradilla de lisis.
3. Bloquear en su posición las muestras en la gradilla de lisis.
4. La muestras están listas para la lisis.

NOTA: Las muestras procesadas pero todavía no sometidas a lisis pueden conservarse a temperatura ambiente durante un máximo de 6 h o de un día para otro a 2–8 °C.

E. Procesamiento de orina:

Procedimiento de procesamiento para muestras de orina sin conservantes (pura)

Las muestras de orina pura deben procesarse en el plazo de 30 días desde su recogida si se conservan a 2–30 °C, en el plazo de 7 días desde su recogida si se conservan a 2–8 °C y en el plazo de 2 meses desde la fecha de recogida si se conservan a -20 °C.

NOTAS:

El diluyente (CT/GC) **BD ProbeTec ET** debe estar a temperatura ambiente antes de su uso.

Separar la cantidad necesaria de diluyente (CT/GC) **BD ProbeTec ET** en un recipiente limpio. Para estimar la cantidad necesaria, multiplicar el número de muestras por 2 y añadir otros 1 - 2 mL para facilitar el pipeteado. **Para evitar la contaminación del diluyente, no debe verse el diluyente sobrante de nuevo en el frasco.**

1. Etiquetar un tubo de muestras **BD ProbeTec ET** vacío para cada muestra de orina que se vaya a procesar.
2. Girar el recipiente para mezclar la orina y abrir con cuidado.
NOTA: Abrir con cuidado para evitar salpicaduras o la formación de gotitas que podrían contaminar el área de trabajo.
NOTA: Las muestras de orina congelada deben descongelarse y mezclarse completamente antes de su transferencia al tubo de muestras.
3. Pipetear 4,0 mL de orina en el tubo debidamente etiquetado y volver a tapar con fuerza el tubo.
4. Repetir los pasos 2 - 3 para otras muestras de orina pura. Utilizar una nueva pipeta o punta de pipeta para cada muestra.
5. Insertar los tubos de muestras en la gradilla de lisis **BD ProbeTec ET**.
6. Introducir la gradilla de lisis en la estufa de lisis para precalentar las muestras.
7. Calentar las muestras durante 10 min.
8. Al cabo de 10 min, retirar la gradilla de lisis de la estufa de lisis y enfriar los tubos a temperatura ambiente durante un mínimo de 15 min o un máximo de 6 h.
NOTA: No refrigerar ni congelar los tubos de muestras después del precalentamiento de 10 min.
9. Centrifugar los tubos a 2.000 x g durante 30 min.
10. Al final de la centrifugación, extraer con cuidado los tubos de la centrifugadora.
11. Quitar el tapón del primer tubo y decantar con cuidado el sobrenadante. Finalizar el movimiento de decantación con una sacudida suave de la muñeca para eliminar el líquido residual del tubo.

NOTA: Este paso es crucial: el exceso de muestra residual puede causar inhibición. Los tubos pueden secarse individualmente en una hoja separada de papel absorbente para mejorar la eliminación de la orina residual.

12. Colocar el tapón en el tubo sin apretar.
13. Repetir los pasos 11-12 para cada muestra de orina centrifugada.
14. Pipetear 2,0 mL de diluyente en cada tubo. Utilizar una nueva pipeta o punta de pipeta para cada tubo.
15. Volver a tapar con fuerza los tubos de muestras y agitarlos durante 5 s para suspender de nuevo el sedimento completamente en el diluyente.
16. La muestras están listas para la lisis.

NOTA: Las muestras procesadas pero todavía no sometidas a lisis pueden conservarse a temperatura ambiente durante un máximo de 6 h o de un día para otro a 2 - 8 °C.

Procedimiento de procesamiento utilizando muestras de orina recogidas mediante el kit de transporte y conservación de orina (UPT) BD ProbeTec

NOTAS:

Las muestras en el UPT pueden conservarse a 2 - 30 °C y procesarse en el plazo de 30 días desde su recogida o congelarse a -20 °C y procesarse en el plazo de 2 meses desde su recogida. .

El diluyente (CT/GC) **BD ProbeTec ET** debe estar a temperatura ambiente antes de su uso.

Separar la cantidad necesaria de diluyente (CT/GC) **BD ProbeTec ET** en un recipiente limpio. Para estimar la cantidad necesaria, multiplicar el número de muestras por 2 y añadir otros 1 - 2 mL para facilitar el pipeteado. **Para evitar la contaminación del diluyente, no debe verterse el diluyente sobrante de nuevo en el frasco.**

Verificar que el volumen de orina de cada tubo se sitúa entre las líneas indicadas en la etiqueta del tubo. El exceso o defecto de llenado del tubo pueden afectar al comportamiento del análisis.

1. Insertar los tubos de UPT en la gradilla de lisis **BD ProbeTec ET**.

NOTA: Si las muestras estaban congeladas, verificar que estén completamente descongeladas y mezcladas por inversión antes de su calentamiento.

2. Introducir la gradilla de lisis en la estufa de lisis para precalentar las muestras.
3. Calentar las muestras durante 10 min.
4. Al cabo de 10 min, retirar la gradilla de lisis de la estufa de lisis y enfriar los tubos a temperatura ambiente durante un mínimo de 15 min o un máximo de 6 h.

NOTA: No refrigerar ni congelar los tubos de muestras después del precalentamiento de 10 min.

5. Centrifugar los tubos a 2.000 x g durante 30 min.
6. Al final de la centrifugación, extraer con cuidado los tubos de la centrifugadora.
7. Quitar el tapón del primer UPT y decantar con cuidado el sobrenadante. Finalizar el movimiento de decantación con una sacudida suave de la muñeca para eliminar el líquido residual del tubo y secar el tubo en una hoja separada de papel absorbente.
8. Colocar el tapón en el tubo sin apretar.
9. Repetir los pasos 7-8 para cada muestra de orina centrifugada.
10. Pipetear 2,0 mL de diluyente en cada tubo. Utilizar una nueva pipeta o punta de pipeta para cada tubo.
11. Volver a tapar con fuerza los tubos de UPT y agitarlos durante 5 s para suspender de nuevo el sedimento completamente en el diluyente.
12. La muestras están listas para la lisis.

NOTA: Las muestras procesadas pero todavía no sometidas a lisis pueden conservarse a temperatura ambiente durante un máximo de 6 h o de un día para otro a 2 - 8 °C.

Procedimiento de procesamiento para las muestra recogidas mediante la bolsa de procesamiento de orina (UPP) BD ProbeTec ET

Las muestras de orina deben procesarse en los 4-6 días siguientes a su recogida si se conservan a 2-8 °C (UPP añadida en el lugar de recogida o en el centro de análisis) o en los 2 días siguientes a la recogida si se conservan a 15-27 °C (UPP añadida en el lugar de recogida).

NOTAS:

El diluyente (CT/GC) **BD ProbeTec ET** debe estar a temperatura ambiente antes de su uso.

La orina debe estar en contacto con la UPP durante al menos 2 h antes de su procesamiento.

Separar la cantidad necesaria de diluyente (CT/GC) **BD ProbeTec ET** en un recipiente limpio. Para estimar la cantidad necesaria, multiplicar el número de muestras por 2 y añadir otros 1-2 mL para facilitar el pipeteado. **Para evitar la contaminación del diluyente, no debe verterse de nuevo en el frasco la cantidad de diluyente sobrante.**

1. Etiquetar un tubo para muestras **BD ProbeTec ET** vacío para cada muestra de orina que se vaya a procesar.
2. Girar el recipiente para mezclar la orina y abrir con cuidado.

NOTA: Abrir con cuidado para evitar salpicaduras o la formación de gotitas que podrían contaminar el área de trabajo.
3. Pipetear 4,0 mL de orina en el tubo correctamente etiquetado y volver a cerrar con fuerza el tubo.
4. Repetir las etapas 2-3 para otras muestras. Utilizar una nueva pipeta o punta de pipeta para cada muestra.
5. Centrifugar los tubos a 2.000 x g durante 30 min.
6. Al final de la centrifugación, extraer con cuidado los tubos de la centrifugadora.
7. Quitar el tapón del primer tubo y decantar con cuidado el sobrenadante. Finalizar el movimiento de decantación con un movimiento rápido y suave de la muñeca para eliminar el líquido residual del tubo.

NOTA: Ésta es la etapa crítica: un exceso de muestra residual puede causar inhibición. Los tubos pueden secarse individualmente en una hoja aparte de papel absorbente para mejorar la eliminación de la orina residual.
8. Colocar el tapón laxamente en el tubo.
9. Repetir las etapas 7-8 para cada muestra de orina centrifugada.
10. Pipetear 2,0 mL de diluyente en cada tubo. Utilizar una nueva pipeta o punta de pipeta para cada tubo.

11. Volver a cerrar con fuerza los tubos de muestras y agitarlos durante 5 segundos para poner de nuevo el sedimento completamente en suspensión en el diluyente.

12. La muestras están listas para la lisis.

NOTA: Las muestras procesadas pero todavía no sometidas a lisis pueden conservarse a temperatura ambiente durante un máximo de 6 h o de un día para otro a 2-8 °C.

F. Preparación de los controles de calidad:

NOTA: Los controles y el diluyente (CT/GC) **BD ProbeTec ET** deben estar a temperatura ambiente antes de su uso.

1. Para cada serie (placa) que se vaya a analizar, preparar un tubo de control negativo CT/GC y un tubo de control positivo CT/GC. Si una placa contiene más de un número de lote de juegos de reactivos, los controles deben analizarse con cada lote.
2. Quitar el tapón del tubo de control negativo CT/GC. Utilizando una nueva pipeta o punta de pipeta, añadir 2,0 mL de diluyente.
3. Volver a colocar el tapón del tubo y agitar durante 5 s.
4. Quitar el tapón del tubo de control positivo CT/GC. Utilizando una nueva pipeta o punta de pipeta, añadir 2,0 mL de diluyente.
5. Volver a colocar el tapón del tubo y agitar durante 5 s.
6. Los controles están listos para la lisis.

G. Lisis de las muestras y los controles:

1. Introducir la gradilla de lisis en la estufa de lisis.
2. Calentar las muestras durante 30 min.
3. Después de 30 min, retirar la gradilla de lisis de la estufa de lisis y dejarla enfriar a temperatura ambiente durante al menos 15 min.

NOTA: Después de la lisis de las muestras:

- a. Pueden conservarse a 18-30 °C durante un máximo de 6 h y analizarse sin necesidad de repetir la lisis.
- b. Pueden conservarse durante un máximo de 5 días a 2-8 °C. Las muestras deben agitarse y volver a someterse a lisis antes del análisis.
- c. Pueden conservarse durante un máximo de 98 días a -20 °C. Las muestras deben descongelarse a temperatura ambiente, agitarse y volver a someterse a lisis antes de su análisis. Las muestras sometidas a lisis pueden congelarse y descongelarse dos veces.

H.1 Procedimiento de análisis para el juego de reactivos CT/GC

NOTA: Los micropocillos de cebado y de amplificación deben estar a temperatura ambiente antes de su uso.

1. Para las muestras obtenidas con el equipo de recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras endocervicales para análisis de ADN amplificado para CT/GC **BD ProbeTec ET** o con el equipo de recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras uretrales masculinas para análisis de ADN amplificado para CT/GC **BD ProbeTec ET**, quitar y desechar los tapones de los tubos de muestras y controles sometidos a lisis y enfriados.
2. Para las muestras de torunda obtenidas con el equipo de recogida de muestras endocervicales para análisis de ADN amplificado para CT/GC **BD ProbeTec ET** o con el equipo de recogida de muestras uretrales masculinas para análisis de ADN amplificado para CT/GC **BD ProbeTec ET**, realizar el siguiente procedimiento:
 - a. Quitar el tapón del tubo y presionar suavemente la torunda contra el lado del tubo para eliminar el exceso de líquido.
 - b. Extraer el tapón/torunda del tubo. No presionar contra la pared del tubo para evitar salpicar gotitas que podrían causar una contaminación cruzada.
 - c. Desechar el tapón/torunda.
3. Para las muestras de orina procesadas, destapar el tubo y desechar la tapa.
4. **Deben cambiarse los guantes** antes de continuar para evitar la contaminación.
5. Utilizando como referencia el informe de disposición de las placas, preparar la placa de cebado. **Los micropocillos de cebado deben colocarse en la placa en el siguiente orden:** CT (micropocillos de color verde liso) y GC (micropocillos de color amarillo liso). Repetir el proceso hasta que la placa esté configurada tal como se muestra en el informe de disposición de las placas.
6. Volver a cerrar herméticamente las bolsas de micropocillos de la siguiente manera.
 - a. Colocar la bolsa sobre una superficie plana. Mantener plano el extremo abierto con una mano.
 - b. Al tiempo que se aplica presión, deslizar los dedos por la superficie externa del cierre hermético desde un borde de la bolsa al otro.
 - c. Comprobar que la bolsa está cerrada herméticamente.
7. Seleccionar el **programa 2** en la pipeta **BD ProbeTec ET**.
8. Recoger puntas de pipeta. Expandir la pipeta tirando de la palanca de espaciamiento totalmente hacia fuera.

NOTA: Es preciso asegurarse de que las puntas están firmemente fijadas a la pipeta para evitar escapes.
9. Aspirar 400 µL de la primera columna de muestras.
10. Contraer suavemente la pipeta, tocar con las puntas de pipeta los lados de los pocillos y dispensar 150 µL en cada una de las dos columnas correspondientes de micropocillos de cebado (1 A-H; 2 A-H).

NOTA: No contraer la pipeta sobre las muestras o micropocillos, ya que esto podría causar contaminación. Los movimientos bruscos pueden causar la formación de gotitas o aerosoles.

NOTA: Es importante dispensar los líquidos contra la pared interna de los micropocillos para garantizar la exactitud y precisión del procedimiento y evitar la contaminación cruzada.
11. Desechar las puntas. Presionar el accionador de pipeteado para restablecer la pipeta.

NOTA: Desechar las puntas con cuidado para evitar la formación de gotitas o aerosoles que podrían contaminar el área de trabajo.
12. Recoger puntas nuevas y aspirar 400 µL de la segunda columna de muestras.

13. Contraer suavemente la pipeta, tocar con las puntas de pipeta los lados de los pocillos y dispensar 150 µL en cada una de las dos columnas correspondientes de micropocillos de cebado (3 A-H; 4 A-H).
14. Desechar las puntas.
15. Continuar la transferencia de las muestras restantes para el análisis.
16. Cubrir la placa de micropocillos de cebado con la cubierta de cebado y dejar incubar la placa a temperatura ambiente durante al menos 20 min (la incubación puede tener una duración máxima de 6 h).
NOTA: Volver a cerrar los tubos de muestras procesadas con los tapones nuevos para conservar los tubos.
17. Al final de la incubación de cebado, preparar la placa de amplificación. Configurar los micropocillos de amplificación en una placa tal como se indica en el informe de disposición de las placas (como en el caso de la placa de cebado). Volver a cerrar herméticamente las bolsas de micropocillos tal como se describe en la etapa 4.
18. Retirar la cubierta de la placa de micropocillos de cebado y colocar la placa en la estufa de cebado. Colocar **INMEDIATAMENTE** la placa de micropocillos de amplificación en la estufa de calentamiento para precalentarla.
19. **Ajustar el reloj a 10 min. (NOTA: El tiempo es crítico en esta etapa.)**
20. Al final del periodo de incubación de 10 min (+/- 1 min), seleccionar el **programa 5** en la pipeta.
21. Recoger puntas y transferir 100 µL de la columna 1 de la placa de micropocillos de cebado a la columna 1 de la placa de micropocillos de amplificación. Dejar que las puntas de pipetas toquen los lados de los pocillos y dispensar el líquido. Tras la dispensación, dejar que la pipeta mezcle automáticamente el líquido en los pocillos. Elevar con cuidado la pipeta respecto a la placa. Debe evitarse tocar otros pocillos.
22. Desechar las puntas. Recoger puntas nuevas y continuar la transferencia de la mezcla de reacción de los micropocillos de cebado a los micropocillos de amplificación, columna por columna, utilizando puntas nuevas para cada columna.
23. Una vez transferida la última columna, quitar la protección de un cierre hermético de amplificación (quitar la mitad de la protección del cierre hermético si hay 6 o menos columnas ocupadas por micropocillos; quitar toda la protección si hay 7 o más columnas ocupadas por micropocillos). Sujetar el cierre hermético por los bordes y centrarlo sobre la placa. Usar las guías de la estufa de calentamiento para facilitar el centrado del cierre hermético. El cierre hermético se extenderá sobre los micropocillos a ambos lados de la placa. Presionar hacia abajo sobre el cierre hermético para asegurarse de que todos los micropocillos quedan cerrados herméticamente.
24. En la interfaz del usuario del sistema **BD ProbeTec ET**, sacar el soporte y abrir las puertas. Transferir **INMEDIATAMENTE** (en los 30 s siguientes) la placa de micropocillos de amplificación **cerrada herméticamente** al instrumento **BD ProbeTec ET** e iniciar el análisis. (Consultese el manual del usuario del sistema **BD ProbeTec ET** para obtener instrucciones detalladas.)
25. Después de iniciar el análisis, completar la siguiente parte del procedimiento de limpieza:
 - a. Cerrar herméticamente los micropocillos de cebado con un cierre hermético de amplificación y extraer la placa de la estufa de cebado y calentamiento.
ADVERTENCIA: La temperatura es superior a 70 °C. Utilizar el guante termorresistente para extraer la placa.
 - b. Dejar que la placa se enfríe en el banco de trabajo durante 5 min.
 - c. Extraer de la placa los micropocillos de cebado cerrados herméticamente sujetando las partes superior e inferior del cierre hermético y extrayendo los pocillos en bloque sin inclinarlos. Colocar los micropocillos en una bolsa de desechos y cerrarla herméticamente.
 - d. Limpiar la placa metálica:
Lavar la placa con ELIMINase, DNA AWAY o la solución de hipoclorito sódico al 1% (v/v) con Alconox.
Aclarar la placa con agua.
Envolver la placa en una toalla limpia y dejarla secar completamente antes de volver a utilizarla.
26. Una vez completado el análisis, se generará una impresión de los resultados.
27. Extraer de la plataforma el soporte de la placa, abrir la puerta y extraer la placa. Cerrar la puerta y volver a colocar la plataforma de la placa en el interior del instrumento.
28. Extraer de la placa los micropocillos de amplificación cerrados herméticamente. **PRECAUCIÓN: No extraer el material de cierre hermético de los micropocillos.** Los micropocillos cerrados herméticamente pueden extraerse fácilmente en bloque sujetando el cierre hermético por las partes superior e inferior y extrayéndolos de la placa sin inclinarlos. Colocar los micropocillos cerrados herméticamente en la bolsa de desechos. Cerrar herméticamente la bolsa.
29. Limpiar la placa metálica:
Lavar la placa con ELIMINase, DNA AWAY o la solución de hipoclorito sódico al 1% (v/v) con Alconox.
Aclarar la placa con agua.
Envolver la placa en una toalla limpia y dejarla secar completamente antes de volver a utilizarla.
30. Después del último análisis del día, realizar los siguientes procedimientos de limpieza:
 - a. Empapar toallas de papel o gasas con ELIMINase, DNA AWAY o la solución de hipoclorito sódico al 1% (v/v) con Alconox y aplicarlas sobre las encimeras y las superficies externas de la estufa de lisis, de la estufa de cebado y calentamiento y del instrumento **BD ProbeTec ET**. Dejar la solución sobre las superficies durante 2–3 min. Empapar toallas de papel o gasas con agua y eliminar la solución de limpieza. Cambiar las toallas o gasas a menudo al aplicar la solución de limpieza y al aclarar con agua. Humedecer toallas de papel o gasas con ELIMINase, DNA AWAY o hipoclorito sódico al 1% (v/v) con Alconox y limpiar el mango de la pipeta (**SÓLO EL MANGO**). Después de 2–3 min, limpiar el mango con toallas de papel o gasas humedecidas con agua.
 - b. Sumergir la gradilla de lisis, la base de la gradilla de lisis, la cubierta de la gradilla de lisis y las placas en ELIMINase, DNA AWAY o hipoclorito sódico al 1% con Alconox durante 1–2 min. Aclarar a conciencia con agua y dejar secar al aire.
 - c. Recargar la pipeta.
 - d. Desechar la bolsa de desechos cerrada herméticamente y la bolsa de peligro biológico conforme a los procedimientos habituales para la eliminación de material de desecho biológico contaminado.

H.2. Procedimiento de análisis para el juego de reactivos CT/GC/AC

NOTA: Los micropocillos de cebado y de amplificación deben estar a temperatura ambiente antes de su uso.

1. Para las muestras obtenidas con el equipo de recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras endocervicales para análisis de ADN amplificado para CT/GC **BD ProbeTec ET** o con el equipo de recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras uretrales masculinas para análisis de ADN amplificado para CT/GC **BD ProbeTec ET**, quitar y desechar los tapones de los tubos de muestras y controles sometidos a lisis y enfriados.

2. Para las muestras de torunda obtenidas con el equipo de recogida de muestras endocervicales para análisis de ADN amplificado para CT/GC **BD ProbeTec ET** o con el equipo de recogida de muestras uretrales masculinas para análisis de ADN amplificado para CT/GC **BD ProbeTec ET**, realizar el siguiente procedimiento:
 - a. Quitar el tapón del tubo y presionar suavemente la torunda contra el lado del tubo para eliminar el exceso de líquido.
 - b. Extraer el tapón/torunda del tubo. No presionar contra la pared del tubo para evitar salpicar gotitas que podrían causar una contaminación cruzada.
 - c. Desechar el tapón/torunda.
3. Para las muestras de orina procesadas, destapar el tubo y desechar la tapa.
4. **Deben cambiarse los guantes** antes de continuar para evitar la contaminación.
5. Utilizando como referencia el informe de disposición de las placas, preparar la placa de cebado. **Los micropocillos de cebado deben colocarse en la placa en el siguiente orden:** CT (micropocillos de color verde liso), GT (micropocillos de color amarillo liso) y AC (micropocillos de color negro liso). Repetir el proceso hasta que la placa esté configurada tal como se muestra en el informe de disposición de las placas.
6. Volver a cerrar herméticamente las bolsas de micropocillos de la siguiente manera.
 - a. Colocar la bolsa sobre una superficie plana. Mantener plano el extremo abierto con una mano.
 - b. Al tiempo que se aplica presión, deslizar los dedos por la superficie externa del cierre hermético desde un borde de la bolsa al otro.
 - c. Comprobar que la bolsa está cerrada herméticamente.
7. Seleccionar el **programa 3** en la pipeta **BD ProbeTec ET**.
8. Recoger puntas de pipeta. Expandir la pipeta tirando de la palanca de espaciamiento totalmente hacia fuera.

NOTA: Es preciso asegurarse de que las puntas están firmemente fijadas a la pipeta para evitar escapes.
9. Aspirar 600 µL de la primera columna de muestras.
10. Contraer suavemente la pipeta, tocar con las puntas de pipeta los lados de los pocillos y dispensar 150 µL en cada una de las dos columnas correspondientes de micropocillos de cebado (1 A-H; 2 A-H; 3 A-H).

NOTA: No contraer la pipeta sobre las muestras o micropocillos, ya que esto podría causar contaminación. Los movimientos bruscos pueden causar la formación de gotitas o aerosoles.

NOTA: Es importante dispensar los líquidos contra la pared interna de los micropocillos para garantizar la exactitud y precisión del procedimiento y evitar la contaminación cruzada.
11. Desechar las puntas. Presionar el accionador de pipeteado para restablecer la pipeta.

NOTA: Desechar las puntas con cuidado para evitar la formación de gotitas o aerosoles que podrían contaminar el área de trabajo.
12. Recoger puntas nuevas y aspirar 600 µL de la segunda columna de muestras.
13. Contraer suavemente la pipeta, tocar con las puntas de pipeta los lados de los pocillos y dispensar 150 µL en cada una de las dos columnas correspondientes de micropocillos de cebado (4 A-H; 5 A-H; 6 A-H).
14. Desechar las puntas.
15. Continuar la transferencia de las muestras restantes para el análisis.
16. Cubrir la placa de micropocillos de cebado con la cubierta de cebado y dejar incubar la placa a temperatura ambiente durante al menos 20 min (la incubación puede tener una duración máxima de 6 h).

NOTA: Volver a cerrar los tubos de muestras procesadas con los tapones nuevos para conservar los tubos.
17. Al final de la incubación de cebado, preparar la placa de amplificación. Configurar los micropocillos de amplificación en una placa tal como se indica en el informe de disposición de las placas (como en el caso de la placa de cebado). Volver a cerrar herméticamente las bolsas de micropocillos tal como se describe en la etapa 4.
18. Retirar la cubierta de la placa de micropocillos de cebado y colocar la placa en la estufa de cebado. Colocar **INMEDIATAMENTE** la placa de micropocillos de amplificación en la estufa de calentamiento para precalentarla.
19. **Ajustar el reloj a 10 min. (NOTA: El tiempo es crítico en esta etapa.)**
20. Al final del período de incubación de 10 min (+/- 1 min), seleccionar el **programa 5** en la pipeta.
21. Recoger puntas y transferir 100 µL de la columna 1 de la placa de micropocillos de cebado a la columna 1 de la placa de micropocillos de amplificación. Dejar que las puntas de pipetas toquen los lados de los pocillos y dispensar el líquido. Tras la dispensación, dejar que la pipeta mezcle automáticamente el líquido en los pocillos. Elevar con cuidado la pipeta respecto a la placa. Debe evitarse tocar otros pocillos.
22. Desechar las puntas. Recoger puntas nuevas y continuar la transferencia de la mezcla de reacción de los micropocillos de cebado a los micropocillos de amplificación, columna por columna, utilizando puntas nuevas para cada columna.
23. Una vez transferida la última columna, quitar la protección de un cierre hermético de amplificación (quitar la mitad de la protección del cierre hermético si hay 6 o menos columnas ocupadas por micropocillos; quitar toda la protección si hay 7 o más columnas ocupadas por micropocillos). Sujetar el cierre hermético por los bordes y centrarlo sobre la placa. Usar las guías de la estufa de calentamiento para facilitar el centrado del cierre hermético. El cierre hermético se extenderá sobre los micropocillos a ambos lados de la placa. Presionar hacia abajo sobre el cierre hermético para asegurarse de que todos los micropocillos quedan cerrados herméticamente.
24. En la interfaz del usuario del sistema **BD ProbeTec ET**, sacar el soporte y abrir las puertas. Transferir **INMEDIATAMENTE** (en los 30 s siguientes) la placa de micropocillos de amplificación **cerrada herméticamente** al instrumento **BD ProbeTec ET** e iniciar el análisis. (Consúltese el manual del usuario del sistema **BD ProbeTec ET** para obtener instrucciones detalladas.)
25. Después de iniciar el análisis, completar la siguiente parte del procedimiento de limpieza:
 - a. Cerrar herméticamente los micropocillos de cebado con un cierre hermético de amplificación y extraer la placa de la estufa de cebado y calentamiento.

ADVERTENCIA: La temperatura es superior a 70 °C. Utilizar el guante termorresistente para extraer la placa.
 - b. Dejar que la placa se enfríe en el banco de trabajo durante 5 min.
 - c. Extraer de la placa los micropocillos de cebado cerrados herméticamente sujetando las partes superior e inferior del cierre hermético y extrayendo los pocillos en bloque sin inclinarlos. Colocar los micropocillos en una bolsa de desechos y cerrarla herméticamente.
 - d. Limpiar la placa metálica:

- Lavar la placa con ELIMINase, DNA AWAY o la solución de hipoclorito sódico al 1% (v/v) con Alconox.
Aclarar la placa con agua.
Envolver la placa en una toalla limpia y dejarla secar completamente antes de volver a utilizarla.
26. Una vez completado el análisis, se generará una impresión de los resultados.
27. Extraer de la plataforma el soporte de la placa, abrir la puerta y extraer la placa. Cerrar la puerta y volver a colocar la plataforma de la placa en el interior del instrumento.
28. Extraer de la placa los micropocillos de amplificación cerrados herméticamente. **PRECAUCIÓN: No extraer el material de cierre hermético de los micropocillos.** Los micropocillos cerrados herméticamente pueden extraerse fácilmente en bloque sujetando el cierre hermético por las partes superior e inferior y extrayéndolos de la placa sin inclinarlos. Colocar los micropocillos cerrados herméticamente en la bolsa de desechos. Cerrar herméticamente la bolsa.
29. Limpiar la placa metálica:
Lavar la placa con ELIMINase, DNA AWAY o la solución de hipoclorito sódico al 1% (v/v) con Alconox.
Aclarar la placa con agua.
Envolver la placa en una toalla limpia y dejarla secar completamente antes de volver a utilizarla.
30. Después del último análisis del día, realizar los siguientes procedimientos de limpieza:
- Empapar toallas de papel o gasas con ELIMINase, DNA AWAY o la solución de hipoclorito sódico al 1% (v/v) con Alconox y aplicarlas sobre las encimeras y las superficies externas de la estufa de lisis, de la estufa de cebado y calentamiento y del instrumento **BD ProbeTec ET**. Dejar la solución sobre las superficies durante 2–3 min. Empapar toallas de papel o gasas con agua y eliminar la solución de limpieza. Cambiar las toallas o gasas a menudo al aplicar la solución de limpieza y al aclarar con agua. Humedecer toallas de papel o gasas con ELIMINase, DNA AWAY o hipoclorito sódico al 1% (v/v) con Alconox y limpiar el mango de la pipeta (**SÓLO EL MANGO**). Después de 2–3 min, limpiar el mango con toallas de papel o gasas humedecidas con agua.
 - Sumergir la gradilla de lisis, la base de la gradilla de lisis, la cubierta de la gradilla de lisis y las placas en ELIMINase, DNA AWAY o hipoclorito sódico al 1% (v/v) con Alconox durante 1–2 min. Aclarar a conciencia con agua y dejar secar al aire.
 - Recargar la pipeta.
 - Desechar la bolsa de desechos cerrada herméticamente y la bolsa de peligro biológico conforme a los procedimientos habituales para la eliminación de material de desecho biológico contaminado.

CONTROL DE CALIDAD

El juego de controles positivo y negativo para *Chlamydia trachomatis*/*Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** se suministra por separado. En cada serie de análisis y para cada nuevo número de lote de juego de reactivos debe incluirse un control positivo y un control negativo. Los controles pueden colocarse de forma aleatoria. El control positivo CT/GC controlará únicamente un fracaso sustancial del reactivo. El control negativo CT/GC controla la contaminación por reactivos o ambiental.

El control positivo tiene regiones diana de CT y GC clonadas que no son necesariamente representativas del ADN diana del microorganismo detectado por el análisis ni representan matrices de muestras (suspensiones de orina y células epiteliales) indicadas para su uso con el sistema **BD ProbeTec ET**. Estos controles pueden utilizarse como control de calidad interno, pero los usuarios pueden desarrollar su propio material de control de calidad interno, como se describe en la norma NCCLS C24-A2¹⁵. Pueden analizarse otros controles conforme a las directrices o requisitos de las normativas u organismos acreditativos locales, estatales o federales. Consúltese la norma NCCLS C24-A2 para obtener instrucciones adicionales sobre los procedimientos apropiados de análisis de controles de calidad internos. El control positivo contiene 750 copias por reacción de plásmido pCT16 linealizado y 250 copias por reacción de plásmido pGC10 linealizado. Ambos microorganismos tienen múltiples copias de la diana. El volumen de reacción de amplificación del sistema **BD ProbeTec ET** es de 100 µL de control rehidratado.

Debido a que el control positivo CT/GC se utiliza tanto para el análisis de CT como de GC, es importante colocar correctamente las tiras de micropocillos para obtener informes apropiados de los resultados. Consúltese en la sección H del "Procedimiento de análisis" la colocación correcta de las tiras de micropocillos.

El control positivo CT/GC y el control negativo CT/GC deben dar un resultado positivo y negativo, respectivamente, en el análisis para informar los resultados del paciente. Si los controles no tienen el rendimiento esperado, la serie de análisis se considera no válida y el instrumento no informará los resultados del paciente. Si el control de calidad (CC) no cumple con los resultados previstos, repetir todo el análisis utilizando un juego de controles nuevo, micropocillos nuevos y las muestras procesadas. Si este segundo CC no proporciona los resultados previstos, contáctese con el servicio técnico. (Véase "Interpretación de los resultados".)

Consúltese la Sección F del "Procedimiento de análisis" para obtener instrucciones sobre la preparación de los controles. Una vez preparados los controles, continuar el análisis tal como se describe en la Sección G del "Procedimiento de análisis".

Para el análisis de inhibición puede utilizarse un control de amplificación (AC) aparte, disponible en el juego de reactivos CT/GC/AC. Si se utiliza el juego de reactivos CT/GC/AC, debe incluirse el AC para cada muestra de paciente y cada control. Los micropocillos del control de amplificación contienen ≥ 1.000 copias por reacción de plásmido pGC10 linealizado que debe amplificarse en la matriz de muestras. El control de amplificación ha sido diseñado para identificar muestras que pueden contener inhibidores de la amplificación que podrían impedir la detección de ADN de CT o GC si estuviera presente. (Véase "Interpretación de los resultados".)

Interpretación de los resultados de los controles:

Interpretación de los controles sin el AC

	Puntuación MOTA de CT o GC	Resultado
Control positivo CT/GC	MOTA ≥ 2000	Aceptable
Control negativo CT/GC	MOTA < 2000	Aceptable

Interpretación de los controles con el AC

	Puntuación MOTA de CT o GC	Puntuación MOTA de AC*	Resultado
Control positivo CT/GC	MOTA ≥ 2000	MOTA ≥ 1000	Aceptable
Control negativo CT/GC	MOTA < 2000	MOTA ≥ 1000	Aceptable

*Si falla el AC (MOTA < 1.000), falla el control.

Controles de procesamiento de muestras:

Los controles de procesamiento de muestras pueden analizarse conforme a los requisitos de organismos acreditativos adecuados. Un control positivo debe analizar todo el sistema de análisis. Con este propósito, las muestras positivas conocidas pueden servir como controles al ser procesadas y analizadas junto con muestras desconocidas. Las muestras empleadas como controles de procesamiento deben conservarse, procesarse y analizarse conforme a las instrucciones del prospecto correspondiente. Como alternativa al uso de muestras positivas, se pueden preparar controles de procesamiento de muestras que simulan el procesamiento de orina, como se describe más abajo.

Chlamydia trachomatis:

Si no se dispone de una muestra positiva conocida, otra posibilidad es analizar un cultivo de reserva de *C. trachomatis* LGV2 (ATCC n.º VR-902B) preparado tal como se describe a continuación:

1. Descongelar un vial de células LGV2 de *C. trachomatis* recibidas de ATCC.
2. Preparar diluciones seriadas por un factor de 10 hasta una dilución de 10^5 (al menos 5 mL de volumen final) en solución salina tamponada con fosfato (PBS).
3. Colocar 4 mL de una dilución 10^5 en un tubo de muestras **BD ProbeTec ET**.
4. Procesar como una muestra de orina a partir de la Sección E, etapa 5 del "Procedimiento de análisis".
5. Tras el procesamiento, someter la muestra a lisis tal como se describe en la Sección G del "Procedimiento de análisis".
6. Continuar el análisis tal como se describe en la Sección H del "Procedimiento de análisis".

Neisseria gonorrhoeae:

Si no se dispone de una muestra positiva conocida, otra posibilidad es analizar un cultivo de reserva de *N. gonorrhoeae* (puede solicitarse a ATCC, cepa n.º 19424) preparado tal como se describe a continuación:

1. Descongelar un vial de cultivo de reserva de *N. gonorrhoeae*, recibido de ATCC, e inocular inmediatamente una placa de agar chocolate.
2. Incubar a 37 °C en CO₂ al 3-5% durante 24-48 h.
3. Volver a poner en suspensión las colonias de la placa de agar chocolate con solución salina tamponada con fosfato (PBS).
4. Diluir las células en PBS hasta un patrón de turbidez de McFarland de 1,0 (aproximadamente 3×10^8 células/mL).
5. Preparar diluciones seriadas por un factor de 10 hasta una dilución de 10^5 de McFarland (al menos 5 mL de volumen final) en PBS.
6. Colocar 4 mL de la dilución 10^5 en un tubo de muestras **BD ProbeTec ET**.
7. Procesar como una muestra de orina a partir de la Sección E, etapa 5 del "Procedimiento de análisis".
8. Tras el procesamiento, someter la muestra a lisis tal como se describe en la Sección G del "Procedimiento de análisis".
9. Continuar el análisis tal como se describe en la Sección H del "Procedimiento de análisis".

Control de la presencia de contaminación por ADN

Al menos una vez al mes, debe realizarse el siguiente procedimiento de análisis para controlar el área de trabajo y las superficies de los equipos en busca de la presencia de contaminación por ADN. El control ambiental es esencial para detectar contaminación antes de que se desarrolle un problema.

1. Para cada área que se vaya a analizar, utilizar una torunda de recogida limpia de uno de los sistemas de recogida y transporte de muestras endocervicales **BD ProbeTec ET** y un tubo de diluyente CT/GC. (Otra posibilidad es utilizar un tubo de muestras que contenga 2 mL de diluyente [CT/GC].)
2. Impregnar la torunda en el diluyente CT/GC y pasarla por la primera área* con un movimiento de barrido amplio.
3. Exprimir la torunda en el tubo de diluyente CT/GC. Volver a colocar el tapón del tubo y agitar durante 5 s.
4. Repetir el proceso para cada área que se desee.
5. Una vez recogidas, exprimidas en el diluyente y agitadas todas las torundas, los tubos están listos para la lisis (Sección G) y el análisis (Sección H) conforme al "Procedimiento de análisis".

*Las áreas que se recomienda analizar son: superficie de la estufa de lisis, gradilla de lisis, estufa de cebado y calentamiento, bandejas de micropocillos negros, mango de la pipeta, teclas táctiles del instrumento, teclado del instrumento, sistema de apertura de la puerta del instrumento (tecla verde azulada), tambor de la centrifugadora y bancos de trabajo, incluidas las áreas de procesamiento de las muestras.

Si un área da un resultado positivo, limpiar el área con ELIMINase, DNA AWAY o hipoclorito sódico al 1% (v/v) con Alconox recién preparado. Asegurarse de que toda el área está humedecida con la solución y dejar ésta en la superficie durante al menos dos minutos o hasta que se seque. En caso necesario, eliminar el exceso de solución de limpieza con una toalla limpia. Limpiar el área con una toalla limpia empapada en agua y dejar que se seque la superficie. Volver a analizar el área. Repetir el proceso hasta obtener resultados negativos. Si la contaminación no desaparece, contáctese con los servicios técnicos para obtener más información.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL ANÁLISIS

El análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** utiliza la transferencia de energía fluorescente como método de detección para investigar la presencia de *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* en muestras clínicas. El software del instrumento realiza todos los cálculos automáticamente.

La presencia o ausencia de *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* se determina relacionando las puntuaciones MOTA **BD ProbeTec ET** para la muestra con valores límite predeterminados. La puntuación MOTA es una medida utilizada para valorar la magnitud de la señal generada como resultado de la reacción. La magnitud de la puntuación MOTA no es indicativa de la concentración del microorganismo en la muestra.

Si los controles del análisis no dan los resultados previstos, no deben informarse los resultados del paciente. Véanse en la sección de CC los valores de control previstos. Los resultados informados se determinan de la siguiente manera.

Para el juego de reactivos CT/GC:

Interpretación de los resultados de *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* sin AC

Puntuación MOTA de CT o GC	Informe	Interpretación	Resultado
≥ 10.000	ADN plasmídico de <i>C. trachomatis</i> y/o ADN de <i>N. gonorrhoeae</i> detectados por SDA.	Positivo para <i>C. trachomatis</i> y/o <i>N. gonorrhoeae</i> . No puede inferirse la viabilidad ni la infectividad de <i>C. trachomatis</i> y/o <i>N. gonorrhoeae</i> , ya que el ADN diana puede persistir en ausencia de microorganismos viables.	Positivo ¹
2.000–9.999	ADN plasmídico de <i>C. trachomatis</i> y/o ADN de <i>N. gonorrhoeae</i> detectados por SDA.	Probable presencia de <i>C. trachomatis</i> y/o <i>N. gonorrhoeae</i> . Puede ser útil un análisis complementario para verificar la presencia de <i>C. trachomatis</i> y/o <i>N. gonorrhoeae</i> ²	Positivo bajo ^{1,2,3}
< 2.000	ADN plasmídico de <i>C. trachomatis</i> y/o ADN de <i>N. gonorrhoeae</i> no detectados por SDA.	Supuestamente negativo para <i>C. trachomatis</i> y/o <i>N. gonorrhoeae</i> . Un resultado negativo no excluye la infección por <i>C. trachomatis</i> y/o <i>N. gonorrhoeae</i> , ya que los resultados dependen de una recogida adecuada de la muestra, de la ausencia de inhibidores y de la presencia de una cantidad suficiente de ADN para ser detectada.	Negativo

¹ Según las directrices de los CDC, "se debe contemplar la posibilidad de realizar análisis sistemáticos adicionales en las personas con resultado positivo a las pruebas de detección de *C. trachomatis* o *N. gonorrhoeae* cuando la información de factores de riesgo o los estudios efectuados indiquen una prevalencia baja, con el resultado de un VPP más bajo (por ej., < 90%)". Independientemente del método de detección utilizado (por ej., NAAT, DFA, EIA, sonda de ácido nucleico), "todas las pruebas de detección positivas deben considerarse como evidencia presuntiva de infección"¹⁶. Consultar en las directrices de los CDC los detalles acerca de los análisis adicionales y el tratamiento del paciente después de una prueba de detección positiva.

² Consúltase la descripción de valores límite presentada más adelante y las Figuras 2 y 3 en "Características de rendimiento" para obtener más información sobre la distribución de los valores MOTA de CT y GC por tipo de muestra observado en los ensayos clínicos.

³ La magnitud de la puntuación MOTA no es indicativa de la concentración del microorganismo en la muestra.

Para el juego de reactivos CT/GC/AC:

Interpretación de los resultados de *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* con AC

Puntuación MOTA de CT o GC	Puntuación MOTA de AC	Informe	Interpretación	Resultado
10.000	Cualquiera	ADN plasmídico de <i>C. trachomatis</i> y/o ADN de <i>N. gonorrhoeae</i> detectados por SDA.	Positivo para <i>C. trachomatis</i> y/o <i>N. gonorrhoeae</i> . No puede inferirse la viabilidad ni la infectividad de <i>C. trachomatis</i> y/o <i>N. gonorrhoeae</i> , ya que el ADN diana puede persistir en ausencia de microorganismos viables.	Positivo
2.000–9.999	Cualquiera	ADN plasmídico de <i>C. trachomatis</i> y/o ADN de <i>N. gonorrhoeae</i> detectados por SDA.	Probable presencia de <i>C. trachomatis</i> y/o <i>N. gonorrhoeae</i> . Puede ser útil un análisis complementario para verificar la presencia de <i>C. trachomatis</i> y/o <i>N. gonorrhoeae</i> ² .	Positivo bajo ^{1,2,3}
< 2.000	≥ 1.000	ADN plasmídico de <i>C. trachomatis</i> y/o ADN de <i>N. gonorrhoeae</i> no detectados por SDA.	Supuestamente negativo para <i>C. trachomatis</i> y/o <i>N. gonorrhoeae</i> . Un resultado negativo no excluye la infección por <i>C. trachomatis</i> y/o <i>N. gonorrhoeae</i> , ya que los resultados dependen de una recogida adecuada de la muestra, de la ausencia de inhibidores y de la presencia de una cantidad suficiente de ADN para ser detectada.	Negativo
< 2.000	< 1.000	Control de amplificación inhibido. Repetir el análisis ⁴ .	Muestra reiteradamente inhibidora. <i>C. trachomatis</i> o <i>N. gonorrhoeae</i> , si están presentes, no serían detectables mediante SDA. Enviar otra muestra para análisis.	Indeterminado

¹ Según las directrices de los CDC, "se debe contemplar la posibilidad de realizar análisis sistemáticos adicionales en las personas con resultado positivo a las pruebas de detección de *C. trachomatis* o *N. gonorrhoeae* cuando la información de factores de riesgo o los estudios efectuados indiquen una prevalencia baja, con el resultado de un VPP más bajo (por ej., < 90%)". Independientemente del método de detección utilizado (por ej., NAAT, DFA, EIA, sonda de ácido nucleico), "todas las pruebas de detección positivas deben considerarse como evidencia presuntiva de infección"¹⁶. Consultar en las directrices de los CDC los detalles acerca de los análisis adicionales y el tratamiento del paciente después de una prueba de detección positiva.

² Consúltase la descripción de valores límite presentada más adelante y las Figuras 2 y 3 en "Características de rendimiento" para obtener más información sobre la distribución de los valores MOTA de CT y GC por tipo de muestra observado en los ensayos clínicos.

³ La magnitud de la puntuación MOTA no es indicativa de la concentración del microorganismo en la muestra.

⁴ Repetir el análisis **BD ProbeTec ET**. Para muestras de orina, repetir el proceso a partir de la muestra original. Si no se dispone de la muestra original, repetir a partir del tubo de muestras procesado. Para las torundas, repetir a partir del tubo de

muestras procesado. Si el resultado del análisis repetido es positivo o negativo, interpretarlo tal como se describe anteriormente. Si los resultados vuelven a ser indeterminados, debe solicitarse una nueva muestra.

Determinación del límite de CT/GC/AC:

Los límites de control de amplificación y análisis para los resultados de muestras de CT y GC se determinaron basándose en el análisis de la curva de rendimiento diagnóstico (ROC, Receiver Operating Characteristic) de los valores MOTA obtenidos con las muestras del paciente (torunda uretral masculina, torunda endocervical femenina, y orina masculina y femenina) analizadas por medio del análisis de CT/GC **BD ProbeTec ET** y de otro método con amplificación durante los estudios preclínicos. Los límites se confirmaron en estudios clínicos utilizando el análisis y cultivo de CT/GC **BD ProbeTec ET**, la técnica de anticuerpos de fluorescencia directa (DFA, Direct Fluorescence Antibody) (sólo CT) y otro método con amplificación. Estos estudios muestran que la mayoría de las veces los valores MOTA de CT y/o GC superiores a 2.000 indican la presencia de *C. trachomatis*. Un valor MOTA de CT y/o GC inferior a 2.000 se correlaciona con resultados de cultivo negativos para *C. trachomatis* y/o *N. gonorrhoeae* la mayoría de las veces. Las muestras de torunda uretrales masculinas, las muestras de torunda endocervicales femeninas y las muestras de orina masculinas con valores MOTA de CT entre 2.000 y 4.000 tenían una probabilidad menor de ser positivos verdaderos en comparación con los resultados con valores MOTA superiores a 4.000. Para las muestras de orina femeninas, los resultados positivos para CT con valores MOTA entre 2.000 y 10.000 también tenían una probabilidad menor de ser positivos verdaderos en comparación con los resultados con valores MOTA superiores a 10.000. Los resultados positivos para GC con valores MOTA entre 2.000 y 10.000 también tenían una probabilidad menor de ser positivos verdaderos en comparación con los resultados con valores MOTA superiores a 10.000. Consúltense las Figuras 2 y 3 para ver la distribución de los valores MOTA de CT y GC por tipo de muestra observado en el estudio clínico. Dependiendo de los tipos de muestras analizadas, las poblaciones muestreadas y las prácticas de laboratorio, puede ser útil realizar análisis complementarios de las muestras con valores MOTA entre 2.000 y 10.000.

Se ha demostrado que *N. cinerea* presenta reacciones cruzadas en el análisis de GC **BD ProbeTec ET**, y otras especies de *Neisseria* también pueden causar resultados falsos positivos. En medios con una prevalencia elevada de enfermedades de transmisión sexual, los resultados positivos del análisis tienen una probabilidad alta de ser positivos verdaderos. En medios con una prevalencia baja de enfermedades de transmisión sexual, o si los síntomas y signos clínicos o los factores de riesgo de un paciente no son compatibles con una infección urogenital por gonococos o clamidias, los resultados positivos deben valorarse detenidamente y debe realizarse un nuevo análisis por otros métodos (p. ej., cultivo para GC) si procede.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Este método se ha probado únicamente con muestras de torunda endocervicales, muestras de torunda uretrales masculinas y muestras de orina masculinas y femeninas. No se ha evaluado el rendimiento con otros tipos de muestras.
2. El rendimiento óptimo del análisis requiere una recogida y una manipulación apropiadas de las muestras. Consúltense las secciones "Recogida y transporte de las muestras" de este documento.
3. La idoneidad de las muestras endocervicales sólo puede valorarse mediante la visualización endoscópica de células epiteliales cilíndricas en las muestras.
4. La recogida y análisis de muestras de orina con el análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** no tienen por objeto sustituir a la exploración del cuello uterino ni a la toma de muestras endocervicales para el diagnóstico de infecciones urogenitales. Las cervicitis, uretritis, infecciones de las vías urinarias e infecciones vaginales pueden deberse a otras causas, o la infección por clamidias puede coexistir con infecciones por otros microorganismos.
5. El análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** para muestras de orina masculinas y femeninas debe realizarse con muestras de orina aleatorias de la primera parte del chorro de micción (definida como los primeros 15-20 mL del chorro cuando se utiliza el UPP). Durante la evaluación clínica se incluyeron volúmenes de orina para análisis de hasta 60 mL en las estimaciones de rendimiento. Los efectos de dilución de volúmenes de orina mayores pueden reducir la sensibilidad del análisis. No se han determinado los efectos de otras variables como la recogida del chorro medio. No se ha determinado el rendimiento cuando se añade la UPP a la copa de recogida antes de la recogida de la muestra.
6. No se han determinado los efectos de otras posibles variables como el flujo vaginal, el uso de tampones, las irrigaciones vaginales y variables relativas a la recogida de la muestra.
7. Un resultado negativo del análisis no excluye la posibilidad de infección, ya que los resultados del análisis pueden verse afectados por una recogida inadecuada de la muestra, errores técnicos, la mezcla de muestras, tratamiento antibiótico concurrente o el número de microorganismos presentes en la muestra, que puede ser inferior al límite de sensibilidad del análisis.
8. Como en el caso de numerosas pruebas diagnósticas, los resultados del análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** debe interpretarse junto con otros datos analíticos y clínicos de los que disponga el médico.
9. El análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** no detecta variedades de *C. trachomatis* sin plásmidos.
10. El análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** no debe usarse para la evaluación de supuestos abusos sexuales ni para otras indicaciones medicolegales. Se recomienda realizar análisis adicionales en cualquier circunstancia en la que resultados falsos positivos o falsos negativos podrían tener consecuencias médicas, sociales o psicológicas adversas.
11. El sistema **BD ProbeTec ET** no puede utilizarse para evaluar el éxito o fracaso terapéutico, ya que los ácidos nucleicos de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* pueden persistir después del tratamiento antimicrobiano.
12. El análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** proporciona resultados cualitativos. No puede extraerse ninguna correlación entre la magnitud de la puntuación MOTA y el número de células presentes en una muestra infectada.
13. El valor diagnóstico de un análisis depende de la prevalencia de la enfermedad en una población específica. Véanse en las Tablas 1 y 2 los valores diagnósticos hipotéticos al analizar diversas poblaciones.
14. Debido a que el control positivo CT/GC se utiliza tanto para el análisis de CT como de GC, es importante colocar correctamente las tiras de micropocillos para obtener informes de los resultados finales. Consúltense en la sección H del "Procedimiento de análisis" la colocación correcta de las tiras de micropocillos.
15. El uso del análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** está limitado a personal con formación en el procedimiento de análisis y en el sistema **BD ProbeTec ET**.
16. En los estudios de laboratorio, se demostró que una concentración de sangre > 5% (v/v) causa resultados indeterminados (inhibidores) en muestras de orina y de torunda (con AC) y resultados falsos negativos en muestras de orina (con y sin AC).

- Una concentración de sangre > 5% (v/v) puede causar resultados falsos negativos en muestras de torunda (con y sin AC). Las muestras con una cantidad entre moderada y microscópica de sangre pueden interferir en los resultados del análisis para CT/GC **BD ProbeTec ET**. Consúltese el apartado "Características de rendimiento" para ver el rendimiento específico de las muestras de torunda femeninas con sangre macroscópica.
17. La presencia de sustancias muy pigmentadas en orina, como bilirrubina (10 mg/mL) y fenazopiridina (10 mg/mL), puede causar resultados indeterminados o falsos negativos.
 18. Una cantidad de leucocitos superior a 250.000 células/mL (muestras de torunda) puede causar resultados indeterminados o falsos negativos.
 19. La presencia de suero, pulverizadores desodorantes femeninos o polvos de talco puede provocar resultados falsos negativos (muestras de orina).
 20. Los análisis de ADN amplificado para *C. trachomatis*/*N. gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** pueden presentar reacciones cruzadas con *N. cinerea* y *N. lactamica*. Consúltese el apartado "Características de rendimiento" para obtener más información.
 21. La reproducibilidad del análisis de CT/GC **BD ProbeTec ET** se determinó utilizando muestras de torunda sembradas y tampón sembrado para simular muestras de orina. Estas muestras se inocularon con *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae*. No se ha determinado la reproducibilidad del análisis de muestras de orina y muestras con *C. trachomatis* sólo y *N. gonorrhoeae* sólo.
 22. Las características de rendimiento para la detección de *N. gonorrhoeae* en varones se basan en el análisis de pacientes con tasas de infección del 0–43%; las poblaciones de varones a las que se tomaron muestras correspondían principalmente a clínicas de ETS en las que la prevalencia de GC es mayor que en otros marcos clínicos. En varones, se identificaron 16 infecciones gonocócicas en el marco de prevalencia baja (prevalencia del 0–8%). Asimismo, la mayoría de las mujeres del estudio con infecciones por GC procedían de clínicas de ETS. En mujeres se identificaron sólo 6 infecciones gonocócicas en el marco de prevalencia baja (prevalencia del 1,2%). Los resultados positivos en poblaciones de prevalencia baja deben interpretarse con precaución junto con los síntomas y signos clínicos, el perfil de riesgo del paciente y otros hallazgos teniendo en cuenta que la probabilidad de un falso positivo puede ser mayor que la de un positivo verdadero.
 23. El análisis de muestras de orina de mujeres como único método para identificar las infecciones por clamidias o gonococos puede pasar por alto a personas infectadas (17/100 o el 17% de las mujeres con cultivos positivos para CT y 11/80 o el 13,8% de las mujeres con cultivos positivos para GC mostraron resultados negativos cuando sólo se analizó la orina) con el análisis de CT/GC **BD ProbeTec ET**.
 24. Debido a que el AC utiliza la diana de GC, la eficacia del AC para la detección de inhibición es menor en las muestras infectadas por GC. Consúltese el apartado "Características de rendimiento" para ver los resultados de pacientes con coinfección.
 25. El rendimiento no se ha establecido para volúmenes de llenado del UPT diferentes de los situados entre las líneas negras de la ventana de llenado (aproximadamente 2,5 mL a 3,45 mL).
 26. El rendimiento del UPT no se ha establecido en los instrumentos **BD Viper** que no tienen lectores integrados (Nº de cat. 440740).

RESULTADOS PREVISTOS

A. Prevalencia

La prevalencia de muestras positivas para *C. trachomatis* o *Neisseria gonorrhoeae* en las poblaciones de pacientes depende de: el tipo de clínica, la edad, los factores de riesgo, el sexo y el método de análisis. La prevalencia observada con el análisis de ADN amplificado para CT/GC **BD ProbeTec ET** durante un ensayo clínico multicéntrico varió entre el 4,5% y el 28,6% para CT (Tabla 6, pág. 113) y entre el 0% y el 42,9% para GC (Tabla 12, pág. 121). Las coinfecciones variaron entre el 0% y el 5,4%.

B. Valores diagnósticos de resultados positivos y negativos

Los valores diagnósticos hipotéticos de resultados positivos y negativos (VDP y VDN) para el análisis de ADN amplificado para CT/GC **BD ProbeTec ET** se muestran en las Tablas 1 y 2 (pág. 109), respectivamente. Estos cálculos se basan en la prevalencia hipotética y en la especificidad y sensibilidad globales para CT (en comparación con el estado de infección del paciente) del 90,7% y el 96,6%, respectivamente, y en la especificidad y sensibilidad globales para GC del 96,0% y el 98,8%, respectivamente. Además, en las Tablas 6 (pág. 113) y 12 (pág. 121) se muestran los VDP y VDN basados en la prevalencia real, la sensibilidad y la especificidad.

C. Distribución de frecuencias de las puntuaciones MOTA

Se analizó con el sistema **BD ProbeTec ET** para *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* un total de 5.119 muestras obtenidas en clínicas de nueve áreas geográficas diferentes en siete laboratorios clínicos. En la Figura 1 se muestra una distribución de frecuencias de las puntuaciones MOTA iniciales de AC por tipo de muestra (pág. 106).

Se evaluó un total de 4.108 resultados de *C. trachomatis* obtenidos con el sistema **BD ProbeTec ET** en siete centros clínicos. En la Figura 2 se muestra una distribución de frecuencias de las puntuaciones MOTA iniciales de CT (véase la pág. 107). En la Figura 2 (pág. 107) se muestra la distribución de resultados falsos positivos únicamente con **BD ProbeTec ET** (análisis positivo con el sistema **BD ProbeTec ET** pero no positivo mediante cultivo celular, DFA o AMP1 en cualquiera de los tipos de muestra) y falsos negativos.

Se evaluó en nueve centros clínicos un total de 5.093 resultados de *N. gonorrhoeae* obtenidos con el sistema **BD ProbeTec ET**. En la Figura 3 se muestra una distribución de frecuencias de las puntuaciones MOTA iniciales de GC (pág. 108). En la Figura 3 (pág. 108) se muestra la distribución de resultados falsos positivos únicamente con **BD ProbeTec ET** (análisis positivo con el sistema **BD ProbeTec ET** pero no positivo mediante cultivo o AMP1 en cualquiera de los tipos de muestra) y falsos negativos.

D. Controles

Durante la evaluación clínica se observaron fracasos del control positivo CT/GC en 22 de 518 series de análisis de CT y GC. Para el control negativo CT/GC, se observaron fracasos en 19 de 518 series de análisis de CT y en 12 de 518 series de análisis de GC. Ocho de estos fracasos de controles CT y GC observados se debieron a que el operador cambió los controles positivo y negativo.

En la siguiente tabla se muestran las puntuaciones MOTA de los controles positivo y negativo CT/GC observados en los ensayos clínicos.

Control	Intervalo	Percentil 5	Puntuación MOTA		
			Media	Mediana	Percentil 95
Negativo para CT	0-499	0	113	109,5	262
Positivo para CT	2055-67281	8222	26816	24681	52725
Negativo para GC	0-800	0	90	71,5	245
Positivo para GC	2013-54240	7404	22452	21228	41405

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO:

Rendimiento clínico

Las características de rendimiento del análisis de ADN amplificado para *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec ET** se determinaron en un estudio multicéntrico realizado en siete centros clínicos de diversas áreas geográficas. Cada centro debía superar un conjunto de pruebas de competencia antes de admitir a pacientes en el estudio. El estudio incluyó 4.131 muestras obtenidas de 2.109 pacientes que acudieron a clínicas para enfermedades de transmisión sexual (ETS), clínicas de ginecología y obstetricia, centros de planificación familiar, centros para adolescentes y servicios de urgencias. Se excluyó un total de 22 resultados de CT del análisis de los datos debido a contaminación de los cultivos celulares. Se excluyó otra muestra debido a que faltaba un resultado de DFA. Se excluyó del análisis de los datos un total de 26 resultados de GC. De estos 26 resultados, 15 se excluyeron debido a contaminación del cultivo y 11 debido a que no se obtuvo una torunda para cultivo. Por consiguiente, en el análisis final de los datos se utilizó un total de 4.108 resultados de CT y 4.105 resultados de GC de 2.109 pacientes. Se obtuvieron muestras pareadas (torunda y orina) de 2.020 de los 2.109 pacientes. La mayoría de ellos eran pacientes que acudieron a clínicas para ETS y centros de planificación familiar. Se obtuvieron cuatro muestras de torunda endocervicales y una muestra de orina de las mujeres. Las muestras de torunda se analizaron mediante cultivo celular para CT, cultivo para GC, análisis **BD ProbeTec ET** y un método de amplificación comercializado (AMP1). Se alternó el orden de recogida de las muestras de torunda endocervicales durante todo el estudio para reducir al mínimo los efectos del orden de recogida. Para los varones se recogieron dos muestras de torunda uretrales y una muestra de orina. La primera muestra de torunda se utilizó para el cultivo de GC y posteriormente para el análisis **BD ProbeTec ET**. La segunda muestra de torunda se utilizó para el cultivo celular para CT. Se añadió la UPP a la orina en el lugar de recogida de la muestra antes de su transporte al laboratorio.

Se detectó la presencia de *C. trachomatis* mediante el cultivo celular de las muestras de torunda endocervicales y uretrales masculinas. La positividad se basó en la detección de al menos una unidad formadora de cuerpos de inclusión (UFI) en el primer o segundo pase. Se compararon los resultados del análisis **BD ProbeTec ET** de orina femenina y masculina con los resultados de los cultivos de muestras de torundas endocervical y uretral masculina, respectivamente. Además, se realizó un análisis de amplificación comercializado (AMP1) de todas las muestras de torunda endocervicales y muestras de orina. Si el cultivo celular era negativo pero uno de los análisis de amplificación era positivo, se realizó una prueba DFA a partir del medio de transporte del cultivo celular. Para las muestras de torunda uretrales masculinas, el análisis incluyó el cultivo celular pero no el método AMP1. Si el cultivo celular era negativo, pero el análisis **BD ProbeTec ET** (torunda u orina) y/o el análisis de orina AMP1 para CT eran positivos, se realizó una prueba DFA a partir del medio de transporte de cultivo celular. Se realizó un análisis de amplificación comercializado diferente (AMP2) a partir del medio de transporte de cultivo para los pacientes varones que tenían un análisis de orina AMP1 positivo y un cultivo de las muestras de torunda correspondientes negativo.

Se detectó la presencia de *N. gonorrhoeae* mediante la recuperación de colonias gramnegativas oxidasa-positivas en agar. La identificación del cultivo se confirmó por dos métodos, uno bioquímico y otro inmunológico o fluorométrico. Se compararon los resultados del análisis **BD ProbeTec ET** con el cultivo y con un análisis de amplificación comercializado (AMP1). Todos los cultivos para GC se incubaron entre 48-72 h antes del informe del resultado final.

Las características de rendimiento para CT y GC se calcularon con y sin el control de amplificación (AC). Todos los datos se presentan sin el control de amplificación. Al final de cada tabla se incluyen notas al pie con las diferencias de interpretación de los análisis derivadas del uso del control de amplificación. Para los positivos verdaderos para CT y/o GC, el nivel elegido como objetivo suele ser suficientemente alto para superar los efectos inhibidores de la matriz de la muestra. El algoritmo del instrumento interpreta estas muestras como positivas aunque el AC sea negativo (MOTA < 1.000). Se repitió el análisis de todos los resultados indeterminados iniciales. El rendimiento se calculó basándose en los resultados del análisis repetido. Las muestras se clasificaron como positivas, negativas o indeterminadas. Las muestras reiteradamente inhibitorias se consideraron no interpretables y se excluyeron de los cálculos de la sensibilidad y la especificidad. Para calcular el rendimiento sin el AC, los resultados indeterminados (resultados con AC negativo) se interpretaron como negativos para CT y/o GC. En las Tablas 3 (CT) y 4 (GC) se presentan los números de resultados indeterminados iniciales y finales por estado de infección del paciente. En las Tablas 5 (CT) y 11 (GC) se presentan los números de resultados indeterminados iniciales y finales por tipo de muestra.

En el estudio multicéntrico previo, los siete centros recogieron, respectivamente, 183 y 184 muestras de torunda y de orina masculinas para GC de pacientes asintomáticos. Con el fin de complementar estos datos, se llevó a cabo un estudio similar en tres centros clínicos, uno de los cuales participó en el estudio original. El estudio incluyó muestras obtenidas en dos clínicas de ETS y en un hospital docente. Los pacientes varones que acudieron a las clínicas de ETS podían haber padecido una ETS previa, haber tenido una pareja sexual infectada o haber acudido para una consulta de reconocimiento. Se admitió en el estudio a un total de 560 pacientes, 41 de los cuales fueron excluidos del análisis de los datos debido a incumplimientos del protocolo (p. ej., pacientes admitidos antes de que se completaran las pruebas de competencia, admisión de pacientes sintomáticos, o no se realizó el cultivo para GC). De los 519 pacientes restantes se obtuvieron 1.038 muestras pareadas (torunda y orina). Se excluyó un total de 50 muestras por diversas razones (p. ej., congelación de la orina antes del análisis, pruebas de competencia incompletas, muestras de más de seis días de antigüedad). Por consiguiente, en el análisis final de los datos se utilizó un total de 988 muestras obtenidas de 519 pacientes. La muestra de torunda se utilizó para el cultivo de GC y posteriormente para el análisis **BD ProbeTec ET**. La muestra de orina se investigó con el análisis **BD ProbeTec ET** y con un análisis de amplificación comercializado (AMP1). La UPP se añadió a la orina en el centro de análisis. Se compararon los resultados del análisis **BD ProbeTec ET** de las muestras de orina con los resultados del cultivo de las muestras de torunda uretrales masculinas. Los resultados se combinaron con los datos obtenidos en el estudio multicéntrico original y se incluyen en los datos presentados en las Figuras 1 y 3 y en las Tablas 2, 4, 11, 12, 13, 14 y 16.

En un estudio prospectivo de concordancia clínica, cuatro centros clínicos en diversas áreas geográficas evaluaron el rendimiento de muestras de orina pura y muestras de orina procesadas con el UPT tanto para CT como para GC frente a muestras de orina procesadas con la UPP. Estas muestras de orina fueron recogidas de varones y mujeres tanto sintomáticos como asintomáticos. Se recogieron un total de 1.183 muestras de orina conformes para CT y 1.181 muestras de orina conformes para GC, se dividieron entre orina pura, el UPT y la UPP, y se incluyeron en el análisis indeterminado. Para el rendimiento sin el CA, se incluyeron un total de 1.182 muestras pareadas de pura/UPP y UPT/UPP conformes para CT y 1.181 muestras pareadas de pura/UPP y UPT/UPP conformes para GC. Se calculó el rendimiento con el control de amplificación para 1.171 muestras pareadas de pura/UPP conformes para CT y 1.169 muestras pareadas de pura/UPP conformes para GC. Se

calculó el rendimiento con el CA para 1.164 muestras pareadas de UPT/UPP conformes para CT y 1.162 muestras pareadas de UPT/UPP conformes para GC. Los resultados de concordancia para la orina pura comparada con la UPP para CT y GC, tanto con el CA como sin él, se resumen en la Tabla 22. Los resultados de concordancia para el UPT comparado con la UPP para CT y GC, tanto con el CA como sin él, se resumen en la Tabla 23.

C. trachomatis

Se compararon los resultados para *C. trachomatis* del análisis **BD ProbeTec ET** con los resultados del cultivo y con el estado de infección del paciente. En la Tabla 5 se muestran las estimaciones de rendimiento para cada tipo de muestra y el estado sintomático. Se consideró que un paciente estaba infectado si: 1) el cultivo era positivo, o bien 2) se obtenían resultados positivos para las pruebas AMP1 (en muestras de torunda o de orina) y DFA, o bien 3) la prueba AMP1 era positiva en las muestras de torunda y de orina pareadas. Los datos sobre mujeres embarazadas se muestran en notas al pie al final de la Tabla 5. De las 1.419 muestras de torunda femeninas analizadas en las evaluaciones clínicas mediante el análisis para **CT BD ProbeTec ET**, 101 (7,1%) fueron clasificadas como con sangre macroscópica y 242 (17,1%) como con sangre moderada. El rendimiento del análisis con torundas con una cantidad de sangre entre moderada y macroscópica no fueron estadísticamente diferentes del correspondiente a torundas con una cantidad de sangre mínima o nula. La Tabla 6 muestra las estimaciones de rendimiento para el análisis para **CT BD ProbeTec ET** en comparación con el estado de infección del paciente para cada centro clínico diferenciado por tipo de muestra.

En el ensayo clínico, el análisis AMP1 se realizó con todas las muestras de torunda endocervicales y de orina (masculinas y femeninas). En la Tabla 7 se presenta una comparación del análisis **BD ProbeTec ET** y el análisis para **CT AMP1** con el cultivo y el método DFA (en muestras con resultado negativo en el cultivo y resultado positivo en el análisis). La Tabla 8 muestra el porcentaje de coincidencia entre los resultados del análisis para **CT BD ProbeTec ET** y los resultados del análisis AMP1.

En las Tablas 9 (mujeres) y 10 (varones) se presenta un resumen de los resultados de análisis de muestras pareadas. En estas tablas también se muestra el estado de infección del paciente.

N. gonorrhoeae

Se compararon los resultados para *N. gonorrhoeae* del análisis **BD ProbeTec ET** con los resultados del cultivo y con el estado de infección del paciente. En la Tabla 11 se muestran las estimaciones de rendimiento por tipo de muestra y por estado sintomático. Se consideró que un paciente estaba infectado si: 1) el cultivo era positivo, o 2) en mujeres, si el análisis AMP1 era positivo tanto en la muestra de torunda como en la muestra de orina (muestras pareadas). Los datos sobre mujeres embarazadas se muestran en notas al pie al final de la Tabla 11. De las 1.411 muestras de torunda femeninas analizadas en las evaluaciones clínicas mediante el análisis para **GC BD ProbeTec ET**, 102 (7,2%) fueron clasificadas como con sangre macroscópica y 242 (17,2%) como con sangre moderada. El rendimiento del análisis con torundas con una cantidad de sangre entre moderada y macroscópica no fueron estadísticamente diferentes del correspondiente a torundas con una cantidad de sangre mínima o nula. La Tabla 12 muestra las estimaciones de rendimiento para el análisis para **GC BD ProbeTec ET** en comparación con el estado de infección del paciente para cada centro clínico diferenciado por tipo de muestra.

En el ensayo clínico, el análisis AMP1 se realizó con todas las muestras de torunda endocervicales y de orina (masculinas y femeninas). En la Tabla 13 se presenta una comparación del análisis **BD ProbeTec ET** y el análisis AMP1 para GC frente al cultivo. En la Tabla 14 se muestra el porcentaje de concordancia entre los resultados del análisis para **GC BD ProbeTec ET** y los resultados del análisis AMP1.

En las Tablas 15 (mujeres) y 16 (varones) se presenta un resumen de los resultados de análisis de muestras pareadas. En estas tablas también se muestra el estado de infección del paciente.

Coinfección por *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae*

En el ensayo clínico se dispuso de los resultados de CT y GC del análisis **BD ProbeTec ET** para 4.082 muestras. En la Tabla 17 se presenta un resumen del rendimiento del análisis **BD ProbeTec ET** para la detección de CT y GC en muestras de pacientes que se consideró que presentaban una coinfección en función del estado de infección del paciente.

Estudios analíticos

Nota: El volumen de reacción de amplificación para CT/GC del análisis **BD ProbeTec ET** es de 100 µL de muestra procesada.

Precisión

La precisión del análisis de ADN amplificado para CT/GC **BD ProbeTec ET** se demostró analizando un conjunto de cinco elementos constituido por cuatro diluciones coinoculadas con *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* en diluyente (CT/GC) y un elemento negativo (diluyente no inoculado). El conjunto de cinco elementos estaba constituido por muestras que contenían 0–100 cuerpos elementales de *C. trachomatis* por reacción (CE/reacción) y 0–100 células de *N. gonorrhoeae* por reacción. Este conjunto de precisión se analizó en dos centros clínicos y de forma interna. Se analizaron seis réplicas de cada conjunto dos veces al día durante tres días. Debido a que no se observó una variabilidad significativa entre series de análisis ni entre centros, se combinaron los datos, los cuales se presentan en la Tabla 18. No se observaron fracasos de control positivo o negativo CT/GC en el estudio de precisión.

Competencia/reproducibilidad

Antes de la recopilación de datos para el ensayo clínico, cada técnico procesó y analizó dos conjuntos de pruebas de competencia. Un conjunto estaba constituido por muestras de torunda sembradas y el otro por tampón sembrado para simular el análisis de muestras de orina. Cada conjunto de torundas de 30 elementos contenía 12 réplicas de un nivel sembrado con 500 CE/reacción (CT) y 500 células/reacción (GC), 12 réplicas de un nivel sembrado con 50 CE/reacción (CT) y 30 células/reacción (GC), y 6 muestras no sembradas. Cada conjunto de orina de 30 elementos contenía 12 réplicas de un nivel sembrado con 600 CE/reacción (CT) y 500 células/reacción (GC), 12 réplicas de un nivel sembrado con 115 CE/reacción (CT) y 100 células/reacción (GC), y 6 muestras no sembradas.

Los resultados de este estudio de competencia se combinaron entre 23 operadores y entre todos los niveles de muestra (negativa, nivel bajo, nivel alto) para estimar la reproducibilidad. Las estimaciones de reproducibilidad se presentan en la Tabla 19 como porcentaje correcto frente a los resultados previstos. No se observaron fracasos de control positivo o negativo para CT/GC en el estudio de competencia/reproducibilidad. En tres de los centros clínicos, técnicos seleccionados con diversos grados de experiencia procesaron conjuntos dos veces en un día para demostrar que la realización de múltiples series de análisis en la misma sala no afecta adversamente a los resultados. No se observó una disminución de los resultados correctos entre la primera y la segunda serie de análisis. Se realizaron pruebas de chi-cuadrado por separado para comparar las dos series de análisis para muestras de torunda y de orina. No se observaron diferencias estadísticas (valor *p* para las muestras de torunda: 0,1769; valor *p* para las muestras de orina: 0,7691).

Estudios de estabilidad de las muestras

El transporte y la conservación de las muestras para análisis se evaluaron utilizando la información recopilada durante los estudios clínicos y por medio de estudios analíticos internos. La mayoría de las muestras clínicas se transportaron al laboratorio

en el plazo de un día y se conservaron refrigeradas o a temperatura ambiente y se analizaron en los cuatro días siguientes a su recogida.

Las recomendaciones que respaldan dos días más de estabilidad de las muestras a 2–8 °C se basaban en estudios internos realizados sembrando muestras de torunda y de orina humana con aproximadamente 200 CE de CT y 200 células de GC por reacción. Las muestras de torunda y de orina sembradas y no sembradas se conservaron en condiciones de refrigeración y se analizaron los días 0, 1, 2, 4, 5 y 6. Cada muestra positiva y negativa se analizó por triplicado para un total de 18 datos puntuales positivos y 9 datos puntuales negativos cada día. Los datos demostraron que tanto las muestras de torunda como las muestras de orina fueron estables hasta el día 6. Las recomendaciones que respaldan dos días más de estabilidad de las muestras de torunda a 15–27 °C se basaban en estudios internos realizados tal como se describe anteriormente. Los datos demostraron que las muestras de torunda fueron estables hasta el día 6.

Además, se llevó a cabo un estudio de estabilidad aparte en dos centros clínicos para verificar la estabilidad a temperatura ambiente con muestras de orina y muestras de torunda clínicas. Se recogieron cinco muestras de torunda para las mujeres (una para AMP1 y cuatro para **BD ProbeTec ET**). Se recogieron muestras de orina de pacientes varones y mujeres. Las muestras basales (día 0) se procesaron en las 24 h siguientes a su recogida. Las muestras adicionales se conservaron a temperatura ambiente y se procesaron los días 2, 4 y 5. Se comparó cada momento de evaluación con los resultados del análisis **BD ProbeTec ET** el día 0. **Resultados para CT:** de las 101 muestras de torunda, 29 fueron positivas y 57 negativas en cada momento de evaluación. Las 15 muestras restantes (14,9%) fueron variables de un día para otro. De las 107 muestras de orina, 27 fueron positivas y 68 negativas en cada momento de evaluación. Las 12 muestras de orina restantes (11,2%) variaron de un día para otro. **Resultados para GC:** de las 101 muestras de torunda, 28 fueron positivas y 67 negativas en cada momento de evaluación. Las 7 muestras de torunda restantes (6,9%) fueron variables de un día para otro. De las 107 muestras de orina, 30 fueron positivas y 69 negativas en todos los momentos de evaluación. Las 8 muestras restantes (7,5%) variaron de un día para otro. **Conclusión:** La variabilidad de un día para otro para las muestras de torunda y las muestras de orina varió entre el 5,6% y el 10,9% para CT y entre el 1,9% y el 5,9% para GC. Se desconoce si las muestras conservadas a 2–8 °C tendrían una variabilidad menor en el análisis de una día para otro.

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica (límite de detección o LDD) del análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET** se determinó diluyendo 15 serotipos de *C. trachomatis* y 39 cepas de *N. gonorrhoeae* en diluyente (CT/GC). Los cultivos para CT cuantificados se diluyeron hasta 0, 5, 15, 35, 70 y 200 CE por reacción para cada serotipo. Los cultivos para GC cuantificados se diluyeron hasta 0, 5, 10, 15 y 25 células por reacción para cada cepa. Las muestras se procesaron y analizaron por triplicado.

El LDD de los serotipos de *C. trachomatis* varió entre 5 y 200 CE por reacción, con una mediana de 35 CE por reacción. Los 15 serotipos de CT, con el LDD correspondiente entre paréntesis (expresado como CE/reacción), son los siguientes: A (15), B (35), Ba (35), C (5), D (70), E (35), F (200), G (35), H (15), I (200), J (70), K (200), LGV-1 (35), LGV-2 (15), LGV-3 (35). Se demostró que la cuantificación de *C. trachomatis* (CT) basada en CE era más exacta y reproducible que la cuantificación por unidades formadoras de cuerpos de inclusión (UFI). La cuantificación de UFI tiende a ser variable y siempre da un número menor en comparación con la cuantificación directa (DFA) de CE. Para determinar la correlación entre la cuantificación por los valores de DFA y UFI, se hizo crecer los 15 serotipos de CT en cultivo tisular; a continuación, se recogieron los CE y se cuantificaron mediante DFA y UFI. Se calculó la relación entre los recuentos de CE (mediante DFA) y los valores de UFI para cada serotipo. Se determinó que la relación media entre CE y UFI para los 15 serotipos de CT (A a LGV-3) era de 167 CE por UFI. Para el grupo de ETS (serotipos D–K de CT), la relación media era de 317 CE por UFI. Estas relaciones son representativas de la variación observada entre los serotipos. Con estas conversiones, la sensibilidad analítica del análisis de CT sería < 1 UFI.

El LDD de las 39 cepas de *N. gonorrhoeae* varió entre 5 y 25 células por reacción, con una mediana de 10 células por reacción. Estas cepas comprendían 14 cepas de ATCC (incluidos seis auxotipos diferentes de *N. gonorrhoeae*) y 25 cepas clínicas obtenidas en centros de diversas áreas geográficas.

Especificidad analítica

En la Tabla 20 (pág. 130) se identifican las bacterias, virus y levaduras evaluadas por medio del análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET**. Las cepas clínicas bacterianas se analizaron utilizando al menos 10⁸ unidades formadoras de colonias (UFC)/mL o copias equivalentes de ADN genómico salvo que se indique lo contrario. Los virus se analizaron utilizando al menos 10⁸ unidades formadoras de placas (UFP)/mL o copias equivalentes de ADN genómico. Los microorganismos analizados incluyen aquéllos identificados habitualmente en el tracto urogenital además de otros.

Para *Chlamydia trachomatis*, todos los resultados fueron negativos tal como se esperaba.

En el análisis para GC **BD ProbeTec ET** se analizaron tres cepas de *N. cinerea*. De ellas, dos fueron reiteradamente positivas. Se analizaron 16 cepas de *N. subflava* por triplicado. Dos de ellas fueron positivas en una de las tres réplicas. Cuando se prepararon y analizaron de nuevo las dos cepas, todos los resultados fueron negativos. Se analizaron 8 cepas de *N. lactamica* por triplicado. Una de ellas fue positiva en una de las tres réplicas. Cuando se preparó y analizó de nuevo la cepa, todos los resultados fueron negativos.

Sustancias causantes de interferencias

Se analizaron sustancias potencialmente causantes de interferencias que podrían encontrarse en muestras de torunda o de orina por medio del análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* **BD ProbeTec ET**. Las sustancias potencialmente causantes de interferencia se evaluaron en ausencia de la diana o con 200 CE de CT por reacción (es decir, 1.000 CE/mL de orina o 4.000 CE por torunda) y 200 células de GC por reacción (es decir, 1.000 células/mL de orina o 4.000 células por torunda). Los resultados se resumen en la Tabla 21 (véase la pág. 131).

PRESENTACIÓN

Los siguientes productos **BD ProbeTec ET** también están disponibles:

N.º cat.	Descripción
220142	Equipo de recogida de muestras endocervicales para análisis de ADN amplificado para <i>Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae</i> (CT/GC) BD ProbeTec ET , 100 unidades.
220143	Equipo de recogida de muestras uretrales masculinas para análisis de ADN amplificado para <i>Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae</i> (CT/GC) BD ProbeTec ET , 100 unidades.
440450	Juego de reactivos CT/GC/AC BD ProbeTec ET , 384 análisis.
440451	Juego de controles CT/GC BD ProbeTec ET , 20 controles positivos y 20 controles negativos.

- 440452 Tubos de diluyente CT/GC **BD ProbeTec** ET, 2 mL x 400.
- 440453 Diluyente (CT/GC) **BD ProbeTec** ET, 4 x 225 mL.
- 440455 Tubos de muestras y tapones **BD ProbeTec** ET, 4 x 100.
- 440456 Tapones **BD ProbeTec** ET, 4 x 100.
- 440457 Accesorios **BD ProbeTec** ET (20 cubiertas de cebado, cierres herméticos de amplificación y bolsas de desecho, 1 x 20).
- 440458 Puntas de pipeta **BD ProbeTec** ET, 6 x 120.
- 440461 Equipo de recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras uretrales masculinas para análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec** ET, 1 x 100.
- 440476 Equipo de recogida y TRANSPORTE EN SECO de muestras endocervicales para análisis de ADN amplificado para *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (CT/GC) **BD ProbeTec** ET, 1 x 100.
- 440454 Equipo de procesamiento de orina **BD ProbeTec** ET, 4 x 25.
- 440474 Juego de reactivos CT/AC **BD ProbeTec** ET, 384 análisis.
- 440477 Instrumento **BD ProbeTec** ET, fuera de EE. UU.
- 440478 Instrumento **BD ProbeTec** ET, EE. UU. y Canadá.
- 440479 Estufa de cebado y calentamiento **BD ProbeTec** ET, 220 V.
- 440480 Estufa de cebado y calentamiento **BD ProbeTec** ET, 120 V.
- 440482 Estufa de lisis **BD ProbeTec** ET, 220 V.
- 440483 Estufa de lisis **BD ProbeTec** ET, 120 V.
- 440487 Pipeta **BD ProbeTec** ET.
- 440502 Gradilla de lisis **BD ProbeTec** ET.
- 440704 Juego de reactivos CT **BD ProbeTec** ET, 384 análisis.
- 440705 Juego de reactivos CT/GC **BD ProbeTec** ET, 384 análisis.
- 440928 **BD ProbeTec** Urine Preservative Transport Kit, 100/caja.

Pueden solicitarse las siguientes cepas a:

American Type Culture Collection (ATCC)
10801 University Boulevard
Manassas, VA 20110-2209, EE. UU.
ATCC n.º VR-902B *Chlamydia trachomatis* LGV2
ATCC Cepa n.º 19424 *Neisseria gonorrhoeae*

REFERENCIAS

Véase la sección "Referencias" en el texto inglés.

Interpretation of Tables / Interprétation des tableaux / Interpretation der Tabellen / Interpretazione delle tabelle / Interpretación de las tablas**Symbols, Abbreviation, Words and Terminology / Symboles, Abréviations, Termes et Terminologie / Symbole, Abkürzungen, Bezeichnungen und Terminologie / Simboli, abbreviazioni, definizioni e terminologia / Símbolos, abreviaturas, palabras y terminología****Symbols / Symboles / Symbole / Simboli / Símbolos**

(+)	positive / positif / positiv / positivo
(-)	negative / négatif / negativ / negativo
(=)	indeterminate / indéterminé / unbestimmt / indeterminato / indeterminado
#	number / nombre / Anzahl / numero / número
%	Percentage / Pourcentage / Prozentsatz / Percentuale / Porcentaje

Abbreviations / Abréviations / Abkürzungen / Abbreviazioni / Abreviaturas

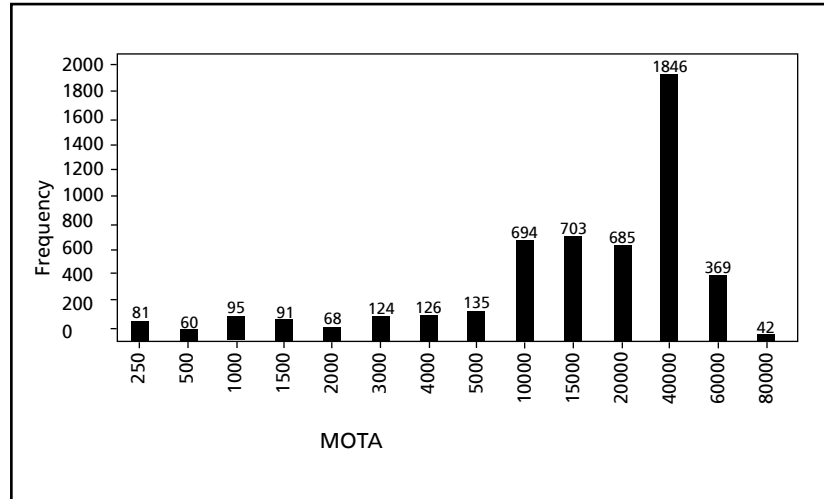
A	Asymptomatic / Asymptomatique / Asymptomatisch / Asintomatico / Asintomático
AMP1	Amplification method 1 / Méthode d'amplification 1 / Amplifikationsmethode 1 / Metodo di amplificazione 1 / Método de amplificación 1
AMP2	Amplification method 2 / Méthode d'amplification 2 / Amplifikationsmethode 2 / Metodo di amplificazione 2 / Método de amplificación 2
Cells/rxn	Cells per reaction / Cellules par réaction / Zellen pro Reaktion / Cellule per reazione / Células por reacción
CI	Confidence Interval / Intervalle de confiance / Vertrauensintervall / Intervallo di confidenza / Intervalo de confianza
CV	Coefficient of Variation / Coefficient de variation / Variationskoeffizient / Coefficiente di variazione / Coeficiente de variación
DFA	Direct Fluorescent / Fluorescence directe / Direkt fluoreszierend / Fluorescenza diretta / Fluorescencia directa
EBs/rxn	Elementary Bodies per reaction / Corps élémentaires par réaction / Elementarkörperchen pro Reaktion / Elementary Bodies (Corpi Elementari) per reazione / Cuerpos elementales por reacción
FN	False Negative / Faux Négatif / Falsch-negativ / Falso negativo
FP	False Positive / Faux Positif / Falschpositiv / Falso positivo
FS	Female swab / Ecouvillon féminin / Endozervikalabstrich / Tampone femminile / Muestra en torunda, femenina
FU	Female urine / Urine féminine / Weiblicher Urin / Urina femminile / Muestra de orina, femenina
Interp.	Interpretation / Interprétation / Interpretazione / Interpretación
MOTA	Method other than Acceleration / Méthode autre que accélération / Method other than Acceleration (Beschleunigungsfreie Methode) / Método diferente de la aceleración
MS	Male swab / Ecouvillon mâle / Männlicher Abstrich / Tampone maschile / Muestra en torunda, masculina
MU	Male Urine / Urine mâle / Männlicher Urin / Urina maschile / Muestra de orina, masculina
n	number / nombre / Anzahl / numero / número
na	non-applicable / non-applicable / Nicht zutreffend / non applicabile / no aplicable
NPA	Negative Percent Agreement / Pourcentage de concordance négatif / Negative prozentuale Übereinstimmung / Percentuale di concordanza negativa / Concordancia porcentual negativa
NPV	Negative Predictive Value / Valeur prédictive négative / Negativer Vorhersagewert / Negative Predictive Value (Valore predittivo negativo) / Valor predictivo negativo
NV	Negative variance component estimate / Estimation de la variance négative / Negativer Schätzwert der Varianzkomponente / Stima componente varianza negativa / Estimado del componente de la varianza negativo
PA	Percent Agreement / Pourcentage de concordance / Prozentuale Übereinstimmung / Percentuale di concordanza / Concordancia porcentual
PPA	Positive Percent Agreement / Pourcentage de concordance positif / Positive prozentuale Übereinstimmung / Percentuale di concordanza positiva / Concordancia porcentual positiva
PPV	Positive Predictive Value / Valeur prédictive positive / Positiver Vorhersagewert / Positive Predictive Value (Valore predittivo positivo) / Valor predictivo positivo
S	Symptomatic / Symptomatique / Symptomatisch / Sintomatico / Sintomático
SD	Standard Deviation / Ecart type / Standardabweichung / Deviazione standard / Desviación estándar

Words and Phrases / Termes et Phrases / Bezeichnungen und Begriffe / Parole e frasi / Palabras y frases

Agreement / Accord / Übereinstimmung / Concordanza / Concordancia
and / et / und / e / y
Between Run / Entre cycles / Zwischen Lauf / Tra sessioni / Entre ejecución
Buffer seed level / Niveau d'ensemencement du tampon / Pufferinokulatgehalt / Livello di PBS in terreno di coltura / Nivel de siembra de tampón
Clinical Site / Site clinique / Klinischer Untersuchungsort / Centro clinico / Centro clínico
Correct / Korrekt / Corretti / Correcta
Correct vs. Expected / Correct vs. Escompté / Korrekt gegen Erwartet / Corretti versus attesi / Correcto vs. Esperado
Endocervical culture / Culture d'écouvillon de col utérin / Endozervikalkultur / Coltura endocervicale / Cultivo de endocérvix

Final / Endgültig / Finale
Frequency / Fréquence / Häufigkeit / Frequenza / Frecuencia
Initial / Anfänglich / Iniziale / Inicial de
Mean / Moyenne / Mittel / Media
Patient Infected Status / Statut infecté du patient / Infektionsstatus des Patienten / Stato di infezione del paziente / Estado del paciente infectado
Patients / Patients / Pazienti / Pacientes
Performance Compared to Culture / Performance en référence à la culture / Leistungsmerkmale im Vergleich zur Kultur / Performance rispetto a coltura / Rendimiento comparado con el cultivo
Performance Compared to Patient Infected Status / Performance en référence au statut infecté du patient / Leistungsmerkmale im Vergleich zum Infektionsstatus des Patienten / Performance rispetto a stato di infezione del paziente / Rendimiento comparado con el estado del paciente infectado
Prevalence / Prévalence / Prävalenz / Prevalenza / Prevalencia
Repeat / Répétition / Wiederholen / Ripetizione / Repetir
Sensitivity / Sensibilité / Empfindlichkeit / Sensibilità / Sensibilidad
Specificity / Spécificité / Spezifität / Specificità / Especificidad
Specimen Type / Type d'échantillon / Probenart / Tipo di campione / Tipo de muestra
Swab / Ecouvillon / Abstrich / Tampone / Torunda
Total / Gesamt / Totale
Urethral culture / Culture d'écouvillon urétral / Urethalkultur / Coltura uretrale / Cultivo de uretra
Urine / Urin / Urina / Orina
With AC / avec AC / Mit AC / con AC / con AC
Within Run / Au sein d'un cycle / Innerhalb eines Laufs / Intra sessioni / En ejecución
Without AC / sans AC / ohne AC / senza AC / sin AC

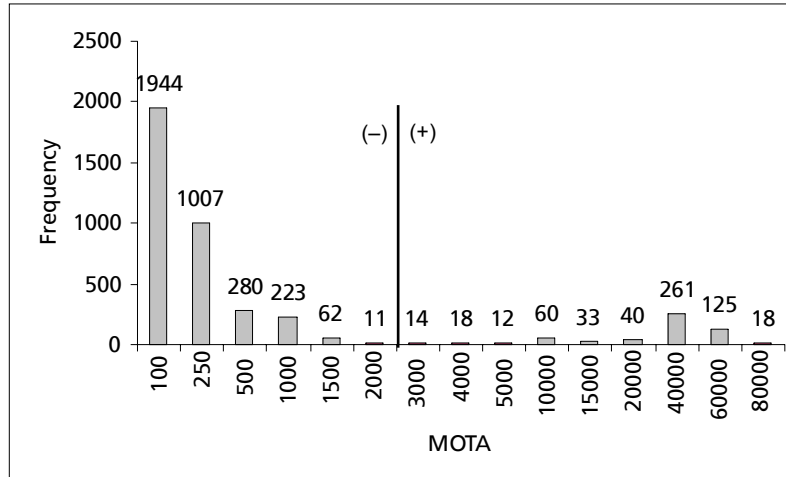
Figure / Abbildung / Figura 1: Frequency Distribution for BD ProbeTec™ ET AC Assay – Initial Results / Distribution de la fréquence pour le test à amplification d'ADN BD ProbeTec ET AC – Résultats initiaux / Häufigkeitsverteilung beim BD ProbeTec ET AC-Assay – Anfängliche Ergebnisse / Distribuzione della frequenza per il test AC BD ProbeTec ET – Risultati iniziali / Distribución de frecuencia para los resultados iniciales del análisis AC BD ProbeTec ET



AC MOTA (All Specimens) / MOTA AC (tous les échantillons) / AC-MOTA (Alle Proben) / AC MOTA (tutti i campioni) / MOTA AC (todas las muestras)

Specimen Type	0-250	251-500	501-1000	1001-1500	1501-2000	2001-3000	3001-4000	4001-5000	5001-10000	10001-15000	15001-20000	20001-40000	40001-60000	60001-80000	Total
FS	7	1	1	2	5	13	15	22	185	266	287	566	51	5	1426
FU	63	43	70	56	45	77	72	71	305	198	135	200	7	0	1342
MS	0	1	2	0	0	0	4	5	49	88	127	657	235	27	1195
MU	11	15	22	33	18	34	35	37	155	151	136	423	76	10	1156
Total	81	60	95	91	68	124	126	135	694	703	685	1846	369	42	5119

Figure / Abbildung / Figura 2: Frequency Distribution for BD ProbeTec™ ET CT Assay – Initial Results / Distribution de la fréquence pour le test à amplification d'ADN BD ProbeTec ET CT – Résultats initiaux / Häufigkeitsverteilung beim BD ProbeTec ET CT-Assay – Anfängliche Ergebnisse / Distribuzione della frequenza per il test CT BD ProbeTec ET – Risultati iniziali / Distribución de frecuencia para los resultados iniciales del análisis CT BD ProbeTec ET

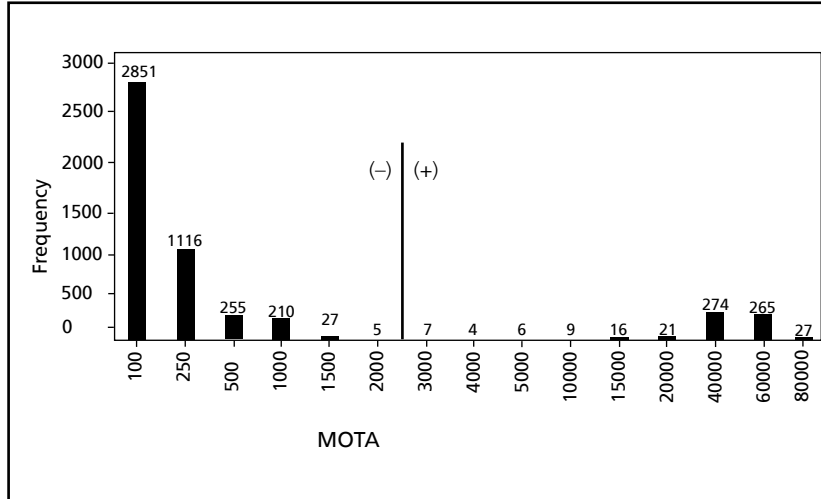


CT MOTA / MOTA CT / CT-MOTA

		0-100	101-250	251-500	501-1000	1001-1500	1501-2000	2001-3000	3001-4000	4001-5000	5001-10000	10001-15000	15001-20000	20001-40000	40001-60000	60001-80000
n		1944	1007	280	223	62	11	14	18	12	60	33	40	261	125	18
FP ¹	Total							5	8	2	15	6	4	10	2	0
	FS							3	3	0	3	0	1	3	0	0
	FU							0	1	0	6	1	0	3	0	0
	MS							1	1	0	5	0	3	3	1	0
	MU							1	3	2	1	5	0	1	1	0
FN	Total	24	12	4	3	2	2									
	FS	5	1	2	1	0	0									
	FU	14	6	1	1	0	2									
	MS	3	2	1	0	1	0									
	MU	2	3	0	1	1	0									

1 Includes only uniquely BD ProbeTec ET False Positives (specimens which are positive in the BD ProbeTec ET instrument, but not positive by cell culture, DFA, or AMP1 in either specimen type). / Comprend seulement les faux positifs BD ProbeTec ET (échantillons qui sont positifs selon l'instrument BD ProbeTec ET, mais non positif en culture cellulaire, par DFA ou AMP1 pour l'un ou l'autre des types d'échantillon). / Enthält nur einzigartig falschpositive BD ProbeTec ET-Proben (d.h. Proben, die auf dem BD ProbeTec ET-Gerät positiv sind, die jedoch für alle Probenarten in der Zellkultur, nach der DIF-Methode oder im AMP1-Test nicht positiv sind). / Comprende soltanto falsi positivi unicamente BD ProbeTec ET (campioni risultati positivi con lo strumento BD ProbeTec ET, ma non positivi con coltura cellulare, DFA, o AMP1 in entrambi i tipi di campione). / Incluye sólo únicamente los falsos positivos BD ProbeTec ET (muestras que dan positivo en el Instrumento BD ProbeTec ET, pero no dan positivo en el cultivo celular, DAF, o AMP1 en cualquier tipo de muestra).

Figure / Abbildung / Figura 3: Frequency Distribution for BD ProbeTec™ ET GC Assay – Initial Results / Distribution de la fréquence pour le test à amplification d'ADN BD ProbeTec ET GC – Résultats initiaux / Häufigkeitsverteilung beim BD ProbeTec ET GC-Assay – Anfängliche Ergebnisse / Distribuzione della frequenza per il test GC BD ProbeTec ET – Risultati iniziali / Distribución de frecuencia para los resultados iniciales del análisis GC BD ProbeTec ET



GC MOTA / MOTA GC / GC-MOTA

		0-100	101-250	251-500	501-1000	1001-1500	1501-2000	2001-3000	3001-4000	4001-5000	5001-10000	10001-15000	15001-20000	20001-40000	40001-60000	60001-80000
n		2851	1116	255	210	27	5	7	4	6	9	16	21	274	265	27
FP ¹	Total							2	1	3	5	1	2	3	3	0
	FS							1	0	1	1	0	0	0	2	0
	FU							0	1	0	0	1	2	1	1	0
	MS							0	0	0	2	0	1	1	0	0
	MU							1	0	2	2	0	0	1	0	0
FN	Total	10	2	5	3	2	2									
	FS	2	0	1	0	0	0									
	FU	5	0	3	2	1	2									
	MS	2	1	0	1	0	0									
	MU	1	1	1	0	1	0									

¹ Includes only uniquely **BD ProbeTec ET** False Positives (specimens which are positive in the **BD ProbeTec ET** instrument, but not positive by culture or AMP1 in either specimen type). / Comprend seulement les faux positifs **BD ProbeTec ET** (échantillons qui sont positifs selon l'instrument **BD ProbeTec ET**, mais non positif en culture cellulaire, par DFA ou AMP1 pour l'un ou l'autre des types d'échantillon). / Enthält nur einzigartig falschpositive **BD ProbeTec ET**-Ergebnisse (d.h. Proben, die auf dem **BD ProbeTec ET**-Gerät positiv sind, die jedoch für alle Probenarten bei der Kultur oder im AMP1-Test nicht positiv sind). / Comprende soltanto falsi positivi unicamente **BD ProbeTec ET** (campioni risultati positivi sullo strumento **BD ProbeTec ET**, ma non positivi con coltura o AMP1 in entrambi i tipi di campione). / Incluye sólo únicamente los falsos positivos **BD ProbeTec ET** (muestras que dan positivo en el instrumento **BD ProbeTec ET**, pero no dan positivo en el cultivo o AMP1 en cualquier tipo de muestra).

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 1: CT Hypothetical Positive and Negative Predictive Values Compared to Patient Infected Status / Valeurs prédictives théoriques positives et négatives pour CT comparées au statut infecté du patient / Hypothetische positive und negative CT-Vorhersagewerte im Vergleich zum Infektionsstatus des Patienten / Valori predittivi positivi e negativi ipotetici per CT rispetto a stato di infezione del paziente / Hipotéticos positivos CT y valores predictivos negativos comparados con el estado del paciente infectado

Prevalence (%)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)
2	90.7	96.6	35.3	99.8
5	90.7	96.6	58.4	99.5
10	90.7	96.6	74.8	98.9
15	90.7	96.6	82.5	98.3
20	90.7	96.6	87.0	97.7

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 2: GC Hypothetical Positive and Negative Predictive Values Compared to Patient Infected Status / Valeurs prédictives théoriques positives et négatives pour GC comparées au statut infecté du patient / Hypothetische positive und negative GC-Vorhersagewerte im Vergleich zum Infektionsstatus des Patienten / Valori predittivi positivi e negativi ipotetici per GC rispetto a stato di infezione del paziente / Hipotéticos positivos GC y valores predictivos negativos comparados con el estado del paciente infectado

Prevalence (%)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)
2	96	98.8	62.0	99.9
5	96	98.8	80.8	99.8
10	96	98.8	89.9	99.6
15	96	98.8	93.4	99.3
20	96	98.8	95.2	99.0

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 3: BD ProbeTec™ ET CT Assay – Indeterminate Results by Patient Infected Status / Test BD ProbeTec ET CT – Résultats indéterminés par statut infecté du patient / BD ProbeTec ET CT-Assay – Unbestimmte Ergebnisse nach Infektionsstatus des Patienten / Dosaggio BD ProbeTec ET CT – Risultati indeterminati per stato di infezione del paziente / Resultados indeterminados del análisis CT BD ProbeTec ET – según estado del paciente infectado

Patient Infected Status	Specimen Type	S/A	n	Initial (≡) (%)	Repeat (≡) ¹ (%)
(+)	FS	S	62	0	0
		A	63	0	0
	FU	S	61	4 (6.6%)	2 (3.3%)
		A	62	1 (1.6%)	1 (1.6%)
	MS	S	111	0	0
		A	19	0	0
	MU	S	110	0	0
		A	19	0	0
(-)	FS	S	537	3 (0.6%)	1 (0.2%)
		A	757	6 (0.8%)	0
	FU	S	513	67 (13.1%)	32 (6.2%)
		A	700	89 (12.7%)	46 (6.6%)
	MS	S	381	1 (0.3%)	0
		A	167	1 (0.6%)	0
	MU	S	378	20 (5.3%)	10 (2.6%)
		A	168	14 (8.3%)	3 (1.8%)

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 4: BD ProbeTec™ ET GC Assay – Indeterminate Results by Patient Infected Status / Test BD ProbeTec ET GC – Résultats indéterminés par statut infecté du patient / BD ProbeTec ET GC-Assay – Unbestimmte Ergebnisse nach Infektionsstatus des Patienten / Dosaggio BD ProbeTec ET GC – Risultati indeterminati per stato di infezione del paziente / Resultados indeterminados del análisis GC BD ProbeTec ET – según estado del paciente infectado

Patient Infected Status	Specimen Type	S/A	n	Initial (≡) (%)	Repeat (≡) ¹ (%)
(+)	FS	S	51	1 (2.0%)	0
		A	38	0	0
	FU	S	49	1 (2.0%)	0
		A	37	0	0
	MS	S	190	0	0
		A	22	0	0
	MU	S	189	0	0
		A	22	0	0
(-)	FS	S	549	2 (0.4%)	1 (0.2%)
		A	773	5 (0.6%)	0
	FU	S	528	78 (14.8%)	38 (7.2%)
		A	717	95 (13.2%)	48 (6.7%)
	MS	S	306	1 (0.3%)	0
		A	676	1 (0.1%)	0
	MU	S	303	28 (9.2%)	15 (5.0%)
		A	642	20 (3.1%)	4 (0.6%)

¹ During the clinical study, specimens with initial indeterminate results were repeated from the processed sample. Many of the indeterminate results in this study may have been caused by residual urine after inadequate decanting. / Pendant l'étude clinique, les échantillons donnant des résultats initiaux indéterminés ont été retestés à partir de l'échantillon préparé. La plupart des résultats indéterminés de cette étude pourrait avoir pour origine les résidus d'urine dus à une décantation inadéquate. / Während der klinischen Studie wurden Proben mit anfänglich unbestimmten Ergebnissen mit den aufbereiteten Proben wiederholt. Viele der unbestimmten Ergebnisse in dieser Studie wurden möglicherweise durch Urinreste infolge unzureichenden Dekantierens verursacht. / Durante lo studio clinico, i test di campioni con risultati iniziali indeterminati sono stati ripetuti con il campione trattato. Molti dei risultati indeterminati in questo studio possono essere imputati a residui di urina in seguito a una decantazione inadeguata. / Durante el estudio clínico, las muestras con resultados iniciales indeterminados se repitieron utilizando la muestra procesada. Muchos de los resultados indeterminados en este estudio pueden haberse producido por la existencia de orina residual como consecuencia de una decantación inadecuada.

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 5: BD ProbeTec™ ET CT Results Compared to Culture and Patient Infected Status / Résultats BD ProbeTec ET CT comparés à la mise en culture et au statut infecté du patient / BD ProbeTec ET CT-Ergebnisse im Vergleich zur Kultur und zum Infektionsstatus des Patienten / Risultati CT BD ProbeTec ET rispetto a cultura e stato di infezione del paziente / Resultados CT BD ProbeTec ET comparados con el cultivo y estado del paciente infectado

Specimen Type	S/A	Performance Compared to Culture		Performance Compared to Patient Infected Status		# (≡) Initial/Final (With AC)	# DFA or AMPT (+) in swab or urine / # BD ProbeTec ET (+); Patient Infected Status (-)
		Sensitivity 95% C.I.	Specificity 95% C.I.	Sensitivity 95% C.I.	Specificity 95% C.I.		
FS	S	90.9% (50/55) 80.0 – 97.0	97.6% (53/54) 95.9 – 98.7	88.7% (55/62) 78.1 – 95.3	98.5% (52/53) 97.1 – 99.4	3/1	3/8
	A	100% (47/47) 92.5 – 100	96.1% (743/773) 94.5 – 97.4	96.8% (61/63) 89.0 – 99.6	97.9% (741/757) 96.6 – 98.8	6/0	8/16
	Total	95.1% (97/102) 88.9 – 98.4	96.7% (1274/1317) 95.6 – 97.6	92.8% (116/125) 86.8 – 96.7	98.1% (1270/1294) 97.3 – 98.8	9/1	11/24
FU1	S	75.9% (41/54) ² 62.4 – 86.5	97.3% (50/52) 95.5 – 98.5	77.0% (47/61) ³ 64.5 – 86.8	98.2% (50/51) 97.0 – 99.3	71/34	4/8
	A	91.3% (42/46) 79.2 – 97.6	96.9% (694/716) 95.4 – 98.1	83.9% (52/62) ⁴ 72.3 – 92.0	98.3% (688/700) 97.0 – 99.1	90/47	5/12
	Total ⁵	83.0% (83/100) 74.2 – 88.2	97.1% (1200/1236) 96.0 – 98.0	80.5% (99/123) 72.4 – 87.1	98.4% (1193/1213) 97.4 – 99.0	161/81	9/20
MS	S	95.8% (92/96) 89.7 – 98.3	89.9% (35/36) 86.5 – 92.7	95.5% (105/110) 89.7 – 98.5	92.9% (35/38) 89.9 – 95.3	1/0	16/27
	A	88.2% (15/17) 63.6 – 98.5	95.9% (162/169) 91.7 – 98.3	89.5% (17/19) 66.9 – 98.7	97.0% (162/167) 93.2 – 99.0	1/0	2/5
	Total	94.7% (107/113) 88.8 – 98.0	91.7% (518/565) 89.1 – 93.8	94.6% (122/129) 89.1 – 97.8	94.2% (517/549) 91.9 – 96.0	2/0	18/32 ⁶
MU1	S	95.8% (91/95) 89.6 – 98.8	86.5% (340/393) 82.7 – 89.7	95.4% (104/109) 89.6 – 98.5	89.4% (339/379) 85.9 – 92.4	20/10	28/40
	A	88.2% (15/17) 63.6 – 98.5	94.7% (161/170) 90.2 – 97.6	89.5% (17/19) 66.9 – 98.7	95.8% (161/168) 91.6 – 98.3	16/3	5/7
	Total	94.6% (106/112) 88.7 – 98.0	89.0% (501/563) 86.1 – 91.5	94.5% (121/128) 89.1 – 97.8	91.4% (500/547) 88.7 – 93.6	36/13	33/47 ⁷
Totals ⁸	92.0% (393/427) 89.1 – 94.4	94.9% (3493/3681) 94.1 – 95.6	90.7% (458/505) 87.8 – 93.1	96.6% (3480/3603) 95.9 – 97.1	208/95	71/123	

(continued / suite / Fortsetzung / cont. / continuado)

- 1 Comparison cultures for female and male urine specimens were performed on endocervical and male urethral swab specimens, respectively. / Les cultures de comparaison pour les échantillons d'urine masculins et féminins ont été réalisées à partir des écouvillons d'urètre masculins et des écouvillons de col utérin respectivement. / Vergleichskulturen für weibliche und männliche Urinproben wurden mit Endozervikal- bzw. männlichen Urethralabstrichproben durchgeführt. / Sono state eseguite colture comparate di campioni di urina di soggetti di sesso femminile e maschile rispettivamente su campioni endocervicali e uretrali maschili su tampone. / La comparación de cultivos para muestras de orina de hombres y mujeres se realizó en muestras en torunda de uretra masculina o endocérvix, respectivamente.
- 2 With AC, two final indeterminates reported (instead of false negative), resulting in an increase in sensitivity from 75.9 to 80.8% and a decrease in specificity from 97.3 to 96.9%. / Avec AC, rapport final de deux indéterminés (au lieu de faux négatifs), entraînant une augmentation de la sensibilité de 75,9 à 80,8 % et une diminution de la spécificité de 97,3 à 96,9 %. / Mit AC wurden zwei endgültig unbestimmte Ergebnisse berichtet (anstatt falschnegativ), was zu einem Anstieg der Empfindlichkeit von 75,9 % auf 80,8 % und zu einer Abnahme der Spezifität von 97,3 % auf 96,9 % führte. / Con AC, sono stati riportati due risultati finali indeterminati (invece di falsi negativi), con conseguente aumento della sensibilità da 75,9 a 80,8% e riduzione di specificità da 97,3 a 96,9%. / Con AC, se comunicaron dos resultados indeterminados finales (en vez de falsos negativo) resultando en un incremento de la sensibilidad de 75,9 a 80,8% y una disminución de la especificidad de 97,3 a 96,9%.
- 3 With AC, two final indeterminates reported (instead of false negative) and one positive recovered (instead of false negative), resulting in an increase in sensitivity from 77.0% to 81.4% and a decrease in specificity from 98.2% to 98.1%. / Avec AC, rapport final de deux indéterminés (au lieu de faux négatifs) et obtention d'un positif (au lieu de faux négatifs), entraînant une augmentation de la sensibilité de 77,0 % à 81,4 % et une diminution de la spécificité de 98,2 % à 98,1 %. / Mit AC wurden zwei endgültig unbestimmte Ergebnisse berichtet (anstatt falschnegativ) und ein positives Ergebnis wurde wiederhergestellt (anstatt falschnegativ), was zu einem Anstieg der Empfindlichkeit von 77,0 % auf 81,4 % und zu einer Abnahme der Spezifität von 98,2 % auf 98,1 % führte. / Con AC, sono stati riportati due risultati finali indeterminati (invece di falsi negativi) e un risultato positivo (invece di falso negativo), con conseguente aumento della sensibilità da 77,0 a 81,4% e riduzione di specificità da 98,2 a 98,1%. / Con AC, se comunicaron dos resultados indeterminados finales (en vez de falsos negativo) y se recuperó un positivo (en vez de falso negativo) resultando en un incremento de la sensibilidad de 77,0% al 81,4% y una disminución de la especificidad de 98,2% a 98,1%.
- 4 With AC, one final indeterminate reported (instead of false negative), resulting in an increase in sensitivity from 83.9% to 85.2% and a decrease in specificity from 98.3% to 98.2%. / Avec AC, rapport final d'un seul indéterminé (au lieu de faux négatifs), entraînant une augmentation de la sensibilité de 83,9 % à 85,2 % et une diminution de la spécificité de 98,3 % à 98,2 %. / Mit AC wurde ein endgültig unbestimmtes Ergebnis berichtet (anstatt falschnegativ), was zu einem Anstieg der Empfindlichkeit von 83,9 % auf 85,2 % und zu einer Abnahme der Spezifität von 98,3 % auf 98,2 % führte. / Con AC, è stato riportato un risultato finale indeterminato (invece di falso negativo), con conseguente aumento della sensibilità da 83,9 a 85,2% e riduzione di specificità da 98,3 a 98,2%. / Con AC, se comunicó un resultado indeterminado final (en vez de falso negativo), resultando en un incremento de la sensibilidad de 83,9% a 85,2% y una disminución en la especificidad de 98,3% a 98,2%.
- 5 With AC, female urine sensitivity and specificity for culture were 85.7% and 96.8%, respectively; and for patient infected status were 83.3% and 98.1%, respectively. / Avec AC, la sensibilité et la spécificité des échantillons d'urine féminine en culture étaient respectivement de 85,7 % et 96,8 % ; et respectivement de 83,3 % et 98,1 % pour le statut infecté du patient. / Mit AC betrug die Empfindlichkeit und Spezifität der weiblichen Urinproben für die Kultur 85,7 % bzw. 96,8 %, und für den Infektionsstatus des Patienten 83,3 % bzw. 98,1 %. / Con AC, la sensibilità e specificità dei campioni di urina femminile per la coltura sono risultate rispettivamente pari a 85,7% e 96,8% mentre per lo stato di infezione del paziente sono state rispettivamente dell'83,3% e 98,1%. / Con AC, la sensibilidad y especificidad de las muestras de orina de mujeres para cultivo fue 85,7% y 96,8%, respectivamente; y para estado del paciente infectado fue 83,3% y 98,1%, respectivamente.
- 6 13 of 16 of the AMP1 urine positives were confirmed by AMP2 testing. / 13 des 16 des urines positives par AMP1 ont été confirmées positives par le test AMP2. / 13 von 16 der AMP1-positiven Urinproben wurden durch AMP2-Prüfung bestätigt. / 13 dei 16 risultati positivi dei campioni di urina con AMP1 sono stati confermati con il test AMP2. / 13 de 16 de los positivos en orina AMP1 se confirmaron por un análisis AMP2.
- 7 14 of 30 of the AMP1 urine positives were confirmed by AMP2 testing. / 14 des 30 des urines positives par AMP1 ont été confirmées positives par le test AMP2. / 14 von 30 der AMP1-positiven Urinproben wurden durch AMP2-Prüfung bestätigt. / 14 dei 30 risultati positivi dell'urina con AMP1 sono stati confermati con il test AMP2. / 14 de 30 de los positivos en orina AMP1 se confirmaron por un análisis AMP2.
- 8 With AC, total sensitivity and specificity for culture were 92.7% and 94.7%, respectively; and for patient infected status were 91.4% and 96.5%, respectively. / Avec AC, la sensibilité et la spécificité totales en culture étaient respectivement de 92,7 % et 94,7 % ; et respectivement de 91,4 % et 96,5 % pour le statut infecté du patient. / Mit AC betrug die Gesamtempfindlichkeit und -spezifität für die Kultur 92,7 % bzw. 94,7 %, und für den Infektionsstatus des Patienten 91,4 % bzw. 96,5 %. / Con AC, la sensibilità e specificità totale per la coltura sono risultate rispettivamente pari a 92,7% e 94,7% mentre per lo stato di infezione del paziente sono state rispettivamente del 91,4% e 96,5%. / Con AC, la sensibilidad y especificidad total para cultivo fue 92,7% y 94,7%, respectivamente; y para estado del paciente infectado fue 91,4% y 96,5%, respectivamente.
- Note:** Separate performance characteristics were calculated for specimens collected from pregnant females. Sensitivity compared to patient infected status for swabs was 94.4% (17/18) , and for urine was 83.3% (15/18). Specificity compared to patient infected status for swabs was 98.4% (122/124) and for urine was 100% (120/120). / **Remarque :** des caractéristiques de performances différentes ont été calculées pour les échantillons prélevés sur des femmes enceintes. La sensibilité par comparaison au statut infecté du malade pour les écouvillons était de 94,4 % (17/18) , et pour l'urine elle était de 83,3 % (15/18). La spécificité comparée au statut infecté du patient pour les écouvillons était de 98,4 % (122/124) et de 100 % pour l'urine (120/120). / **Hinweis:** Für die von schwangeren Frauen entnommenen Proben wurden separate Leistungsmerkmale berechnet. Die Empfindlichkeit im Vergleich zum Infektionsstatus des Patienten betrug 94,4 % (17/18) für Abstriche und 83,3 % (15/18) für Urin. Die Spezifität im Vergleich zum Infektionsstatus des Patienten betrug 98,4 % (122/124) für Abstriche und 100 % (120/120) für Urin. / **Nota:** per campioni prelevati da donne in gravidanza, sono state calcolate caratteristiche di performance separate. La sensibilità rispetto allo stato di infezione del paziente per i tamponi è stata del 94,4% (17/18) e per l'urina dell'83,3% (15/18). La specificità rispetto allo stato di infezione del paziente per i tamponi è stata del 98,4% (122/124) e per l'urina del 100% (120/120). / **Nota:** Se calcularon características de rendimiento separadas para las muestras recogidas de mujeres embarazadas. La sensibilidad comparada con el estado del paciente infectado para muestras en torunda fue 94,4% (17/18), y para muestras de orina fue 83,3% (15/18). La especificidad comparada con el estado del paciente infectado para muestras en torunda fue 98,4% (122/124) y para muestras de orina fue 100% (120/120).

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 6: Performance of the BD ProbeTec™ ET CT Assay Compared to Patient Infected Status (by Clinical Site) / Performance du test BD ProbeTec ET CT par comparaison au statut infecté du patient (par site clinique) / Leistung des BD ProbeTec ET CT-Assays im Vergleich zum Infektionsstatus der Patienten (nach klinischem Untersuchungsort) / Performance del test CT BD ProbeTec ET rispetto allo stato di infezione del paziente (per centro clinico) / Rendimiento del análisis CT BD ProbeTec ET comparado con el estado del paciente infectado (según clínicas)

Specimen Type	Clinical Site	Prevalence	n	Sensitivity	95% C.I.	Performance Compared to Patient Infected Status						
						Specificity	95% C.I.	# CT (+) and GC (+)	% PPV	% NPV	# (±) Initial/Final	
FS	1	11.5%	26	100% (3/3)	29.2-100	95.7% (22/23)	78.1-99.9	0	75.1	100	0/0	
	2	13.4%	186	92.0% (23/25)	74.0-99.0	95.7% (154/161)	91.2-98.2	10	76.8	98.7	1/0	
	3*	9.0%	111	70% (7/10)	34.8-93.3	99.0% (100/101)	94.6-100.0	2	87.4	97.1	0/0	
	4	5.3%	133	100% (7/7)	59.0-100	100% (126/126)	97.1-100	1	100	100	4/0	
	5	4.4%	498	95.5% (21/22)	77.2-99.9	99.2% (472/476)	97.9-99.8	3	84.6	99.8	2/0	
	6	15.1%	171	92.3% (24/26)	74.9-99.1	98.6% (143/145)	95.1-99.8	7	92.1	98.6	2/1	
	7	10.9%	294	96.9% (31/32)	83.8-99.9	96.6% (253/262)	93.6-98.4	7	77.7	99.6	0/0	
FU	1	12.5%	24	100% (3/3)	29.2-100	100% (21/21)	83.9-100	0	100	100	0/0	
	2	13.5%	185	72.0% (18/25)	50.6-87.9	97.5% (156/160)	93.7-99.3	10	81.8	95.7	15/8	
	3*	9.0%	111	50.0% (5/10)	18.7-81.3	100% (101/101)	96.4-100	2	100	95.3	8/7	
	4	4.8%	125	100% (6/6)	54.1-100	99.2% (118/119) ¹	95.4-100	1	86.3	100	11/1	
	5	4.8%	439	95.5% (21/22) ²	77.2-99.9	98.3% (410/417)	96.6-99.3	3	73.9	99.8	62/37	
	6	15.1%	164	76.0% (19/25) ²	54.9-90.6	97.1% (135/139)	92.8-99.2	7	82.3	95.8	22/11	
	7	11.6%	275	84.4% (27/32) ³	67.2-94.7	98.4% (252/256)	96.1-99.6	7	87.4	98.0	43/17	
MS	2	19.4%	294	98.2% (56/57)	90.6-99.9	94.5% (224/237)	90.8-97.0	16	81.1	99.5	2/0	
	3*	19.8%	197	89.7% (35/39)	75.8-97.1	98.1% (155/158)	94.6-99.6	9	92.1	97.5	0/0	
	4	9.1%	11	100% (1/1)	2.5-100	100% (10/10)	69.2-100	0	100	100	0/0	
	6	17.8%	169	96.7% (29/30)	82.8-99.9	89.2% (124/139)	82.8-93.8	7	66.0	99.2	0/0	
	7	28.6%	7	50% (1/2)	1.3-98.7	80.0% (4/5)	28.4-99.5	1	50.0	80.0	0/0	
	MU	2	19.4%	295	98.2% (56/57)	90.6-99.9	92.4% (220/238)	88.3-95.5	16	75.6	99.5	12/3
		3*	19.4%	196	89.5% (34/38)	75.2-97.1	93.7% (148/158)	88.7-96.9	9	77.4	97.4	15/5
4		10.0%	10	100% (1/1)	2.5-100	100% (9/9)	66.4-100	0	100	100	0/0	
6		18.0%	167	96.7% (29/30)	82.8-99.9	86.9% (119/137)	80.0-92.0	7	61.8	99.2	9/5	
7		28.6%	7	50% (1/2)	1.3-98.7	80.0% (4/5)	28.4-99.5	1	50	80.0	0/0	

- 1 With AC, one false positive reported resulting in a decrease in specificity from 99.2% to 98.3%. / Avec AC, rapport d'un faux positif entraînant une diminution de la spécificité de 99,2 % à 98,3 %. / Mit AC wurde ein falschpositives Ergebnis berichtet, was zu einer Abnahme der Spezifität von 99,2 % auf 98,3 % führte. / Con AC, è stato riportato un falso positivo con conseguente riduzione della specificità da 99,2% a 98,3%. / Con AC, se comunicó un falso positivo, resultando en un descenso en la especificidad de 99,2% a 98,3%.
- 2 With AC, one indeterminate from site 5 and two final indeterminate results from site 6 reported (instead of false negative(s)), resulting in an increase in sensitivity from 95.5% to 100% and from 76.0% to 82.6%, respectively. / Avec AC, rapport final d'un indéterminé au site 5 et de deux indéterminés au site 6 (au lieu de faux négatif(s)), entraînant une augmentation de la sensibilité de 95,5 % à 100% et de 76,0 % à 82,6 %, respectivement. / Mit AC wurden ein unbestimmtes Ergebnis vom Untersuchungsort 5 und zwei endgültig unbestimmte Ergebnisse vom Untersuchungsort 6 berichtet (anstatt falschnegative), was zu einem Anstieg der Empfindlichkeit von 95,5 % auf 100 % bzw. von 76,0 % auf 82,6 % führte. / Con AC, sono stati riportati un risultato indeterminato dal centro 5 e due risultati finali indeterminati dal centro 6 (invece di falsi negativi), con conseguente aumento della sensibilità rispettivamente dal 95,5% al 100% e dal 76,0% all'82,6%. / Con AC, se reportaron un resultado indeterminado del lugar 5 y dos resultados indeterminados finales del lugar 6 (en vez de falso negativo(s)), resultando en un incremento en la sensibilidad de 95,5% a 100% y de 76,0% a 82,6%, respectivamente.
- 3 With AC, recovered one false negative resulting in an increase in sensitivity from 84.4% to 87.5%. / Avec AC, obtention d'un faux négatif entraînant une augmentation de la sensibilité de 84,4 % à 87,5 %. / Mit AC wurde ein falschnegatives Ergebnis wiederhergestellt, was zu einem Anstieg der Empfindlichkeit von 84,4 % auf 87,5 % führte. / Con AC, è stato recuperato un falso negativo con conseguente aumento della sensibilità dall'84,4% all'87,5%. / Con AC, se recuperó un falso negativo, resultando en un incremento en la sensibilidad de 84,4% a 87,5%.

***Note:** Specimens from four patients, three female and one male, had positive culture results, but were negative in **BD ProbeTec ET** and **AMP1** tests with swab and urine. The DFA was also negative. When culture was repeated from the same specimens, the cultures were negative. / ***Remarque :** les échantillons de quatre patients dont trois femmes et un homme, ont donné des résultats positifs en culture mais des résultats négatifs pour les écouvillons et l'urine avec les tests **BD ProbeTec ET** et **AMP1**. Le test DFA a aussi donné des résultats négatifs. Lorsque les cultures ont été refaites à partir des mêmes échantillons, elles ont donné des résultats négatifs. / ***Hinweis:** Proben von vier Patienten, und zwar drei weiblichen Patientinnen und einem männlichen Patienten, zeigten positive Kulturergebnisse, waren jedoch negativ im **BD ProbeTec ET**-Assay und im **AMP1**-Test mit Abstrichen und mit Urin. Der DIF-Test war ebenfalls negativ. Wenn die Kultur mit denselben Proben wiederholt wurde, waren die Kulturen negativ. / ***Nota:** i campioni di quattro pazienti (tre soggetti di sesso femminile e uno maschile) hanno dato risultati culturali positivi ma sono risultati negativi ai test **BD ProbeTec ET** e **AMP1** con tampone e urina. Anche il DFA è stato negativo. Alla ripetizione della coltura con gli stessi campioni, le colture sono risultate negative. / ***Nota:** Muestras procedentes de 4 pacientes, tres mujeres y un hombre, tuvieron resultados en cultivo positivos, pero resultados negativos en los análisis **BD ProbeTec ET** y **AMP1** con muestras en torunda y orina. DAF fue también negativo. Cuando se repitió el cultivo utilizando las mismas muestras, los cultivos fueron negativos.

Table / Tableau / Tabella / Tabla 7: BD ProbeTec™ ET and AMPl1 CT Assay Performance Compared to Cell Culture and DFA in Symptomatic and Asymptomatic Populations / Performance des tests BD ProbeTec ET et AMPl1 CT par comparaison à la culture cellulaire et DFA sur des populations symptomatiques et asymptomatiques / BD ProbeTec ET- und AMPl1 CT- Assayleistung im Vergleich zur Zellkultur und zum DIF-Test bei symptomatischen und asymptomatischen Populationen / Performance del test CT BD ProbeTec ET e AMPl1 rispetto a cultura cellulare e DFA in popolazioni sintomatiche e asintomatiche / Rendimiento del análisis CT BD ProbeTec ET y análisis CT AMPl1 comparado con el cultivo celular y DAF en poblaciones sintomáticas y asintomáticas

Specimen Type	S/A	BD ProbeTec ET				AMPl1			
		Sensitivity	95% C.I.	Specificity	95% C.I.	Sensitivity	95% C.I.	Specificity	95% C.I.
FS	S	91.2% (52/57)	80.7-97.1	98.0% (531/542)	96.4-99.0	89.7% (52/58)	78.8-96.1	98.5% (533/541)	97.1-99.4
	A	100% (55/55)	93.5-100	97.1% (743/765)	95.7-98.2	100% (54/54)	93.4-100	98.0% (751/766)	96.8-98.9
FS Total		95.5% (107/112)	89.9-98.5	97.5% (1274/1307)	96.5-98.3	94.6% (106/112)	88.7-98.0	98.2% (1284/1307)	97.4-98.9
FU ¹	S	77.2% (44/57) ²	64.2-87.3	97.9% (506/517) ³	96.2-98.9	71.9% (41/57)	58.5-83.0	98.1% (507/517)	96.5-99.1
	A	92.2% (47/51)	81.1-97.8	97.6% (694/711)	96.2-98.6	84.0% (42/50)	70.9-92.8	98.0% (698/712)	96.7-98.9
FU Total		84.3% (91/108)	76.0-90.6	97.7% (1200/1228)	96.7-98.5	77.6% (83/107)	68.5-85.1	98.0% (1205/1229)	97.1-98.7
MU ¹	S	96.4% (106/110)	91.0-99.0	89.9% (340/378)	86.5-92.8	93.6% (102/109)	87.2-97.4	92.3% (350/379)	89.2-94.8
	A	89.5% (17/19)	66.9-98.7	95.8% (161/168)	91.6-98.3	89.5% (17/19)	66.9-98.7	95.2% (160/168)	90.8-97.9
MU Total		95.3% (123/129)	90.2-98.3	91.8% (501/546)	89.1-93.9	93.0% (119/128)	87.1-96.7	93.2% (510/547)	90.8-95.2
Total ⁴		92.0% (321/349)	88.6-94.6	96.6% (2975/3081)	95.9-97.2	88.8% (308/347)	85.0-91.9	97.3% (2999/3083)	96.6-97.8

1 Comparison cultures for female and male urine specimens were performed on endocervical and male urethral swab specimens, respectively. DFA testing was performed from the swab's culture transport medium. / Les cultures de comparaison pour les échantillons d'urine masculins et féminins ont été réalisées à partir des écouvillons d'urètre masculins et des écouvillons de col utérin respectivement. Le test DFA a été effectué sur le milieu de transport pour la mise en culture de l'écouvillon. / Vergleichskulturen für weibliche und männliche Urinproben wurden mit Endozervikal- bzw. männlichen Urethralstrichproben durchgeführt. DIF-Tests wurden mit den Kulturtransportmedien der Abstriche durchgeführt. / Sono state eseguite colture comparate di campioni di urina di soggetti di sesso femminile e maschile rispettivamente su campioni endocervicali e uretrali maschili su tampone. È stato eseguito il test DFA sul terreno di trasporto della cultura del tampone. / Se realizó una comparación de muestras de orina de mujeres y hombres sobre muestras de uretra masculina y endocérvix, respectivamente. El análisis DAF fue realizado con el medio para el transporte del cultivo de la torunda.

2 With AC, two final indeterminate reported (instead of false negatives), resulting in an increase in sensitivity from 77.2% to 81.8%. / Avec AC, rapport final de deux indéterminés (au lieu de faux négatifs), entraînant une augmentation de la sensibilité de 77.2% à 81.8%. / Mit AC wurden zwei endgültig unbestimmte Ergebnisse berichtet (anstatt falschnegativer), was zu einem Anstieg der Empfindlichkeit von 77.2% auf 81.8% führte. / Con AC, sono stati riportati due risultati finali indeterminati (invece di falsi negativi), con conseguente aumento della sensibilità dal 77.2% all'81.8%. / Con AC, se comunicaron dos resultados indeterminados finales (en vez de falso negativos), resultando en un incremento en la sensibilidad de 77.2% a 81.8%.

3 With AC, one false positive reported resulting in a decrease in specificity from 97.9% to 97.5%. / Avec AC, rapport d'un faux positif entraînant une diminution de la spécificité de 97.9% à 97.5%. / Mit AC wurde ein falschpositives Ergebnis berichtet, was zu einer Abnahme der Spezifität von 97.9% auf 97.5% führte. / Con AC, è stato riportato un falso positivo con conseguente riduzione della specificità da 97.9% a 97.5%. / Con AC, se comunicó un falso positivo resultando en una disminución de la especificidad de 97.9% a 97.5%.

4 With AC, the total sensitivity and specificity for all specimen types were 92.8% and 96.1%, respectively. / Avec AC, la sensibilité et la spécificité totales pour tous les types d'échantillon étaient respectivement de 92.8% et 96.1%. / Mit AC betrug die Gesamtempfindlichkeit und -spezifität für alle Probenarten 92.8% bzw. 96.1%. / Con AC, la sensibilidad e specificità totali per tutti i tipi di campioni sono state rispettivamente pari a 92.8% e 96.1%. / Con AC, la sensibilidad y especificidad total para todos los tipos de muestras fue 92.8% y 96.1%, respectivamente.

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 8: BD ProbeTec™ ET CT Results Compared to AMP1 / Résultats BD ProbeTec ET CT comparés à AMP1 / BD ProbeTec ET CT-Ergebnisse im Vergleich zu AMP1 / Risultati CT BD ProbeTec ET rispetto ad AMP1 / Resultados CT BD ProbeTec ET comparados a AMP1

Specimen Type	S/A	% Agreement	95% C.I.
FS	S	98.2% (588/599)	96.7-99.1
	A	98.0% (804/820)	96.9-98.9
	Total	98.1% (1392/1419)	97.2-98.7
FU	S	97.4% (559/574)	95.7-98.5
	A	96.6% (736/762)	95.0-97.8
	Total	97.0% (1296/1336)	96.0-97.8
MU	S	94.9% (463/488)	92.5-96.7
	A	96.3% (180/187)	92.4-98.5
	Total	95.3% (643/675)	93.4-96.7
Total		97.1% (3331/3430)	96.5-97.6

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 9: CT Paired Specimen Analysis for Female Patients (without AC) / Analyse des échantillons appariés CT pour les patientes (sans AC) / Analyse gepaarter CT-Proben bei weiblichen Patienten (ohne AC) / Analisi di campioni CT in doppio per pazienti di sesso femminile (senza AC) / Análisis CT de muestras dobles para pacientes mujeres (sin AC)

Patient Infected Status	Endocervical Culture	AMP1 Swab	AMP1 Urine	DFA	BD ProbeTec ET		# Patients	
					Swab	Urine	S	A
(+)	+	+	+		+	+	36	35
	+	+	+		+	-	1	2
	+	+	+		-	+	1	0
	+	+	-		+	+	3	6
	+	+	-		+	-	7	2
	+	-	-	+	+	+	1	0
	+	-	-		+	-	1	0
	+	-	-		-	-	4	0
	-	+	+	+	+	+	2	3
	-	+	+	+	-	+	1	0
	-	+	+	-	+	+	3	5
	-	+	+	-	+	-	0	2
	-	+	+	-	-	-	1	1
	-	-	+	+	-	-	0	1
	-	+	-	+	+	+	0	2
-	+	-	+	+	-	0	2	
(-)	-	+	-	-	+	+	1	1
	-	+	-	-	+	-	2	3
	-	+	-	-	-	+	0	1
	-	-	+	-	+	+	0	2
	-	-	+	-	+	-	1	0
	-	-	+	-	-	+	3	1
	-	-	-	+	+	-	0	1
	-	-	-	-	+	+	0	1
	-	+	-	-	-	-	1	2
	-	-	+	-	-	-	2	3
	-	-	-	-	+	-	4	8
	-	-	-	+	-	-	1	1
	-	-	-	-	-	+	4	6
	-	-	-	-	-	-	21	46
	-	-	-	-	-	-	473	624
Total							574	761

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 10: CT Paired Specimen Analysis for Male Patients (without AC) / Analyse des échantillons appariés CT pour les patients (sans AC) / Analyse gepaarter CT-Proben bei männlichen Patienten (ohne AC) / Analisi di campioni CT in doppio per pazienti di sesso maschile (senza AC) / Análisis CT de muestras dobles para pacientes hombres (sin AC)

Patient Infected Status	Urethral Culture	AMP1 Urine	DFA	BD ProbeTec ET		# AMP2	# AMP2 (+)	# Patients	
				Swab	Urine			S	A
(+)	+	+	+	+	+			5	0
	+	+		+	+			80	12
	+	+	+	-	+			0	1
	+	+		+	-			1	1
	+	+	-	+	+			0	1
	+	+		-	+			2	0
	+	-		+	+			4	1
	+	-		+	-			1	0
	+	-		-	-			3	1
	-	+	+	+	+	15	14	13	2
-	+	+	-	-			1	0	
(-)	-	+	-	+	+	13	11	14	0
	-	+	-	+	-	2	2	1	1
	-	+	-	-	+	15	3	11	4
	-	-	+	+	+			1	0
	-	-	+	-	+			1	0
	-	-	+	+	-			1	1
	-	-	-	+	+			5	1
	-	+	-	-	-	5	1	3	2
	-	-	-	+	-			5	2
	-	-	-	-	+			8	1
	-	-	-	-	-			4	1
-	-	-/na	-	-			324	154	
Total								488	186

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 11: BD ProbeTec™ ET GC Results Compared to Culture and Patient Infected Status / Résultats BD ProbeTec ET GC comparés à la mise en culture et au statut infecté du patient / BD ProbeTec ET GC-Ergebnisse im Vergleich zur Kultur und zum Infektionsstatus des Patienten / Risultati GC BD ProbeTec ET rispetto a cultura e stato di infezione del paziente / Resultados GC BD ProbeTec ET comparados con el cultivo y estado del paciente infectado

Specimen Type	S/A	Performance Compared to Culture		Performance Compared to Patient Infected Status		# (≡) Initial / Final	# AMP1 (+) in swab or urine / # BD ProbeTec ET (+); Patient Infected Status
		Sensitivity 95% C.I.	Specificity 95% C.I.	Sensitivity 95% C.I.	Specificity 95% C.I.		
FS	S	95.8% (46/48) ² 85.7-99.5	98.7% (54/55) ² 97.4-99.5	96.1% (49/51) ³ 86.5-99.5	99.3% (54/54) ⁹ 98.1-99.8	3/1	1/4
	A	97.1% (34/35) 85.1-99.9	99.2% (77/77) ⁶ 98.3-99.7	97.4% (37/38) 86.2-99.9	99.6% (77/77) ³ 98.9-99.9	5/0	1/3
FU ¹	Total ⁴	96.4% (80/83) 89.8-99.2	99.0% (131/132) ⁸ 98.3-99.5	96.6% (86/89) 90.5-99.3	99.5% (131/132) ² 98.9-99.8	8/1	2/7
	S	84.8% (39/46) 71.1-93.7	99.2% (52/53) ¹ 98.1-99.8	83.7% (41/49) 70.3-92.7	99.6% (52/52) ⁸ 98.6-100	79/38	0/2
MS ²	A	88.2% (30/34) 72.5-96.7	99.0% (71/72) ⁰ 98.0-99.6	86.5% (32/37) 71.2-95.5	99.3% (71/71) ⁷ 98.4-99.8	75/48	1/5
	Total	86.3% (69/80) 76.7-92.9	99.1% (124/125) ¹ 98.4-99.6	84.9% (73/86) 75.5-91.7	99.4% (123/124) ⁵ 98.8-99.8	154/86	1/7
MU ¹	S	98.4% (187/190) 95.5-99.7	94.8% (290/306) 91.6-97.0	98.4% (187/190) 95.5-99.7	94.8% (290/306) 91.6-97.0	1/0	16/16
	A	95.5% (21/22) 72.7-99.9	99.3% (67/67) ⁷ 98.3-99.8	95.5% (21/22) 72.7-99.9	99.3% (67/67) ⁷ 98.3-99.8	1/0	1/5
Total	Total	98.1% (208/212) 95.2-99.5	97.9% (962/983) 96.8-98.7	98.1% (208/212) 95.2-99.5	97.9% (962/983) 96.8-98.7	2/0	17/21
	S	97.9% (185/189) 94.7-99.4	94.4% (286/303) 91.2-96.7	97.9% (185/189) 94.7-99.4	94.4% (286/303) 91.2-96.7	28/15	14/17
Total	A	100% (22/22) 84.6-100	99.5% (63/64) ² 98.6-99.9	100% (22/22) 84.6-100	99.5% (63/64) ² 98.6-99.9	20/4	0/3
	Total	98.1% (207/211) 95.2-99.5	97.9% (925/945) 96.8-98.7	98.1% (207/211) 95.2-99.5	97.9% (925/945) 96.8-98.7	48/19	14/20
Total	Total	96.2% (564/586) 94.4-97.6	98.6% (4442/4507) 98.2-98.9	96.0% (574/598) 94.1-97.4	98.8% (4440/4495) 98.4-99.1	212/106	34/55

- 1 Comparison cultures for female and male urine specimens were performed on endocervical and male urethral swab specimens, respectively. / Les cultures de comparaison pour les échantillons d'urine masculins et féminins ont été réalisées à partir des écouvillons d'urètre masculins et des écouvillons de col utérin respectivement. / Vergleichskulturen für weibliche und männliche Urinproben wurden mit Endozervikal- bzw. männlichen Urethralabstrichproben durchgeführt. / Sono state eseguite colture comparate di campioni di urina di soggetti di sesso femminile e maschile rispettivamente su campioni endocervicali e uretrali maschili su tampone. / Se realizó una comparación de cultivos para muestras de orina de mujeres y hombres sobre muestras en torunda de uretra y endocérvix, respectivamente.
- 2 With AC one indeterminate reported (instead of false negative), resulting in an increase in sensitivity from 95.8 to 97.9%. / Avec AC rapport d'un indéterminé (au lieu d'un faux négatif), entraînant une augmentation de la sensibilité de 95,8 à 97,9 %. / Mit AC wurde ein endgültig unbestimmtes Ergebnis berichtet (anstatt falschnegativ), was zu einem Anstieg der Empfindlichkeit von 95,8 % auf 97,9 % führte. / Con AC, è stato riportato un risultato indeterminato (invece di falso negativo), con conseguente aumento della sensibilità dal 95,8% al 97,9%. / Con AC se comunicó un resultado indeterminado (en vez de falso negativo), resultando en un incremento en la sensibilidad de 95,8 a 97,9%.
- 3 With AC, one indeterminate reported (instead of false negative), resulting in an increase in sensitivity from 96.1 to 98.0%. / Avec AC rapport d'un indéterminé (au lieu d'un faux négatif), entraînant une augmentation de la sensibilité de 96,1 à 98,0 %. / Mit AC wurde ein endgültig unbestimmtes Ergebnis berichtet (anstatt falschnegativ), was zu einem Anstieg der Empfindlichkeit von 96,1 % auf 98,0 % führte. / Con AC, è stato riportato un risultato indeterminato (invece di falso negativo), con conseguente aumento della sensibilità dal 96,1 al 98,0%. / Con AC se comunicó un resultado indeterminado (en vez de falso negativo), resultando en un incremento en la sensibilidad de 96,1 a 98,0%.
- 4 With AC, female swabs sensitivity and specificity for culture were 97.6% and 99.0%, respectively; and for patient infected status were 97.8% and 99.5%, respectively. / Avec AC, la sensibilité et la spécificité des écouvillons féminins en culture étaient de 97,6 % et 99,0 %, respectivement ; et respectivement de 97,8 % et 99,5 % pour le statut infecté du patient. / Mit AC betrug die Empfindlichkeit und Spezifität der weiblichen Abstrichproben bei der Kultur 97,6 % bzw. 99,0 %, und für den Infektionsstatus des Patienten 97,8 % bzw. 99,5 %. / Con AC, la sensibilità e specificità dei tamponi femminili per la coltura sono risultate rispettivamente pari a 97,6% e 99,0% mentre per lo stato di infezione del paziente sono state rispettivamente dell'97,8% e 99,5%. / Con AC, la sensibilidad y especificidad de muestras en torunda de mujeres para cultivo fue 97,6% y 99,0%, respectivamente; y para estado del paciente infectado fue 97,8% y 99,5%, respectivamente.

Note: Separate performance characteristics were calculated for specimens collected from pregnant females. Sensitivity compared to patient infected status for swabs was 100% (2/2) and for urines was 100% (2/2). Specificity compared to patient infected status for swabs was 98.6% (137/139) and for urine was 98.5% (133/135). / **Remarque :** des caractéristiques de performances différentes ont été calculées pour les échantillons prélevés sur des femmes enceintes. La sensibilité par comparaison au statut infecté du malade pour les écouvillons était de 100 % (2/2) , et pour l'urine elle était de 100 % (2/2). La spécificité comparée au statut infecté du patient pour les écouvillons était de 98,6 % (137/139) et de 98,5 % pour l'urine (133/135). / **Hinweis:** Für die von schwangeren Frauen entnommenen Proben wurden separate Leistungsmerkmale berechnet. Die Empfindlichkeit im Vergleich zum Infektionsstatus des Patienten betrug 100 % (2/2) für Abstriche und 100 % (2/2) für Urin. Die Spezifität im Vergleich zum Infektionsstatus des Patienten betrug 98,6 % (137/139) für Abstriche und 98,5 % (133/135) für Urin. / **Nota:** per campioni prelevati da donne in gravidanza, sono state calcolate caratteristiche di performance separate. La sensibilità rispetto allo stato di infezione del paziente per i tamponi è stata del 100% (2/2) e per l'urina dell'100% (2/2). La specificità rispetto allo stato di infezione del paziente per i tamponi è stata del 98,6% (137/139) e per l'urina del 98,5% (133/135). / **Nota:** Se calcularon características de rendimiento separadas para muestras recogidas de mujeres embarazadas. La sensibilidad comparada con el estado del paciente infectado para muestras en torunda fue 100% (2/2) y para muestras de orina fue 100% (2/2). La especificidad comparada con el estado del paciente infectado para muestras en torunda fue 98,6% (137/139) y para muestras de orina fue 98,5% (133/135).

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 12: Performance of the BD ProBectac™ ET GC Assay Compared to Patient Infected Status (by Clinical Site) / Performance du test BD ProBectac ET GC par comparaison au statut infecté du patient (par site clinique) / Leistung des BD ProBectac ET GC-Assays im Vergleich zum Infektionsstatus der Patienten (nach klinischem Untersuchungsort) / Performance del test GC BD ProBectac ET rispetto allo stato di infezione del paziente (per centro clinico) / Rendimiento para el análisis GC BD ProBectac ET comparado con el estado del paciente infectado (según clínicas)

Specimen Type	Clinical Site	Prevalence	n	Sensitivity	95% C.I.	Specificity	95% C.I.	CT (+) and GC (+)	%PPV	%NPV	Initial/Final	Performance Compared to Patient Infected Status		
												CT (+) and GC (+)	%PPV	
FS	1	na	26	0/0	na	100% (26/26)	86.8-100	0	na	100	0/0			
	2	12.3%	187	100% (23/23)	85.2-100	100% (164/164)	97.8-100	10	100	100	1/0			
	3	13.3%	113	93.3% (14/15)	68.1-99.8	99.0% (97/98)	94.4-100	2	93.5	99.0	0/0			
	4	3.0%	132	100% (4/4)	39.8-100	100% (128/128)	97.2-100	1	100	100	3/0			
	5	1.2%	486	100% (6/6)	54.1-100	99.6% (478/480)	98.5-100	3	75.2	100	2/0			
	6	11.7%	171	90.0% (18/20) ¹	68.3-98.8	98.0% (148/151)	94.3-99.6	7	85.6	98.7	2/1			
	7	7.1%	296	100% (21/21)	83.9-100	99.6% (274/275)	98-100	7	95.0	100	0/0			
FU	1	na	24	0/0	na	100% (24/24)	85.8-100	0	na	100	0/0			
	2	12.4%	186	91.3% (21/23)	72.0-98.9	99.4% (162/163)	96.6-100	10	95.6	98.8	16/8			
	3	13.2%	113	66.7% (10/15)	38.4-88.2	100% (98/98)	96.3-100	2	100	95.2	9/7			
	4	3.2%	124	100% (4/4)	39.8-100	100% (120/120)	97.0-100	1	100	100	1/12			
	5	1.2%	430	80.0% (4/5)	28.4-99.5	99.2% (422/425)	98.0-99.9	3	54.8	99.8	64/38			
	6	12.2%	164	90.0% (18/20)	68.3-98.8	100% (144/144)	97.5-100	7	100	98.6	25/14			
	7	6.6%	290	84.2% (16/19)	60.4-96.6	98.9% (268/271)	96.8-99.8	7	84.4	98.9	49/17			
MS	2	17.8%	482	98.8% (85/86)	93.7-99.9	99.5% (394/396)	98.2-99.9	16	97.7	99.7	2/0			
	3	26.7%	202	100% (54/54)	93.4-100	91.9% (136/148)	86.3-95.7	9	81.8	100	0/0			
	4	na	11	0/0	na	100% (11/11)	71.5-100	0	na	100	0/0			
	6	31.4%	169	96.2% (51/53)	87.0-99.5	97.4% (113/116)	92.6-99.5	7	94.4	98.3	0/0			
	7	42.9%	7	100% (3/3)	29.2-100	100% (4/4)	39.8-100	1	100	100	0/0			
	8	8.0%	199	93.8% (15/16)	69.8-99.8	100% (183/183)	98.0-100	na	100	99.5	0/0			
	9	na	124	0/0	na	96.8% (121/125)	92.0-99.1	na	0	100	0/0			
	MU	2	17.8%	483	95.3% (82/86)	88.5-98.7	98.7% (392/397)	97.1-99.6	16	94.1	99.0	16/3		
		3	26.9%	201	100% (54/54)	93.4-100	92.5% (136/147) ²	87.0-96.2	9	83.1	100	16/8		
4		na	10	0/0	na	100% (10/10)	69.2-100	0	na	90.0	0/0			
6		31.1%	167	100% (52/52)	93.2-100	97.4% (112/115)	92.6-99.5	7	94.6	100	12/7			
7		42.9%	7	100% (3/3)	29.2-100	100% (4/4)	39.8-100	1	100	100	0/0			
8		8.0%	199	100% (16/16)	79.4-100	100% (183/183)	98.0-100	na	100	100	2/0			
9	na	89	0/0	na	98.9% (88/89)	93.9-99.9	na	0	100	2/1				

- 1 With AC, recovered one false negative resulting in an increase in sensitivity from 90.0% to 95.0%. / Avec AC, obtention d'un faux négatif entraînant une augmentation de la sensibilité de 90,0 % à 95,0%. / Mit AC wurde ein falschnegatives Ergebnis wiederhergestellt, was zu einem Anstieg der Empfindlichkeit von 90,0 % auf 95,0 % führte. / Con AC, è stato recuperato un falso negativo con conseguente aumento della sensibilità dal 90,0% al 95,0%. / Con AC, se recuperó un falso negativo resultando en un incremento en sensibilidad de 90,0% a 95,0%.
- 2 With AC, caused one false positive resulting in a decrease in specificity from 92.5% to 91.4%. / Avec AC, a causé un faux positif entraînant la diminution de la sensibilité de 92,5 % à 91,4 %. / Mit AC wurde ein falschpositives Ergebnis verursacht, was zu einer Abnahme der Spezifität von 92,5 % auf 91,4 % führte. / Con AC, è risultato un falso positivo con conseguente riduzione della specificità da 92,5% a 91,4%. / Con AC, causó un falso positivo resultando en una disminución en especificidad de 92,5% a 91,4%.

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 13: BD ProbeTec™ ET and AMPI GC Assay Performance Compared to Culture in Symptomatic and Asymptomatic Populations / Performance des tests BD ProbeTec ET et AMPI GC par comparaison à la mise en culture dans des populations symptomatiques et asymptomatiques / BD ProbeTec ET- und AMPI GC-Assayleistung im Vergleich zur Kultur bei symptomatischen und asymptomatischen Populationen / Performance dei test GC BD ProbeTec ET e AMPI GC rispetto a cultura in popolazioni sintomatiche e asintomatiche / Rendimiento del análisis BD ProbeTec ET y análisis GC AMPI GC comparado con el cultivo en poblaciones sintomáticas y asintomáticas

Specimen Type	S/A	BD ProbeTec ET				AMPI			
		Sensitivity	95% C.I.	Specificity	95% C.I.	Sensitivity	95% C.I.	Specificity	95% C.I.
FS	S	95.8% (46/48) ²	85.7-99.5	98.7% (54/55) ²	97.4-99.5	95.8% (46/48)	85.7-99.5	99.3% (54/55) ²	98.2-99.8
	A	97.1% (34/35)	85.1-100	99.2% (77/76)	98.3-99.7	85.7% (30/35)	69.7-95.2	99.5% (77/76)	98.7-99.9
FS Total ³		96.4% (80/83)	89.8-99.3	99.0% (131/132) ⁸	98.3-99.5	91.6% (76/83)	83.4-96.5	99.4% (132/132) ⁸	98.8-99.7
FU ¹	S	84.8% (39/46)	71.1-93.7	99.2% (52/53) ¹	98.1-99.8	87.0% (40/46)	73.7-95.1	98.9% (52/53) ¹	97.6-99.6
	A	88.2% (30/34)	72.5-96.7	99.0% (71/72)	98.0-99.6	76.5% (26/34)	58.8-89.3	99.0% (71/72)	98.0-99.6
FU Total		86.3% (69/80)	76.7-92.9	99.1% (124/125) ¹	98.4-99.6	82.5% (66/80)	72.4-90.1	99.0% (123/125) ¹	98.2-99.5
MU ¹	S	97.9% (185/189)	94.7-99.4	94.4% (286/303) ⁴	91.2-96.7	93.7% (177/189)	89.2-96.7	94.4% (286/303)	91.2-96.7
	A	100% (22/22)	84.6-100	99.5% (63/64) ²	98.6-99.9	95.5% (21/22)	77.2-99.9	99.7% (64/64) ²	98.9-99.9
MU Total		98.1% (207/211)	95.2-99.5	97.9% (925/945)	96.8-98.7	93.8% (198/221)	89.7-96.7	98.0% (926/945)	96.9-98.8
Totals ⁵		95.2% (356/374)	92.5-97.1	98.8% (348/352) ⁴	98.3-99.1	90.9% (340/374)	87.5-93.6	98.9% (348/352) ⁴	98.5-99.2

- 1 Comparison cultures for female and male urine specimens were performed on endocervical and male urethral swab specimens, respectively. / Les cultures de comparaison pour les échantillons d'urine masculins et féminins ont été réalisées à partir des écouvillons d'urètre masculins et des écouvillons de col utérin respectivement. / Vergleichskulturen für weibliche und männliche Urinproben wurden mit Endozervikal- bzw. männlichen Urethralabstrichproben durchgeführt. / Sono state eseguite colture comparate di campioni di urina di soggetti di sesso femminile e maschile rispettivamente su campioni endocervicali e uretrali maschili su tampone. / Comparación de cultivos para muestras de orina de mujeres y hombres se realizó sobre muestras en torunda de uretra masculina y endocérvix, respectivamente.
- 2 With AC, recovered one false negative resulting in an increase in sensitivity from 95.8% to 97.9%. / Avec AC, obtention d'un faux négatif entraînant une augmentation de la sensibilité de 95,8 % à 97,9 %. / Mit AC wurde ein falschnegatives Ergebnis wiederhergestellt, was zu einem Anstieg der Empfindlichkeit von 95,8 % auf 97,9 % führte. / Con AC, è stato recuperato un falso negativo con conseguente aumento della sensibilità dal 95,8% al 97,9%. / Con AC, se recuperó un falso negativo resultando en un incremento en la sensibilidad de 95,8% a 97,9%.
- 3 With AC, female swabs sensitivity and specificity were 97.6% and 99.0%, respectively / Avec AC, la sensibilité et la spécificité des écouvillons féminins étaient respectivement de 97,6 % et 99,0 %. / Mit AC betrug die Empfindlichkeit und Spezifität für weibliche Abstriche 97,6 % bzw. 99,0 %. / Con AC, la sensibilità e specificità dei tamponi femminili sono state rispettivamente del 97,6% e 99,0%. / Con AC, la sensibilidad y especificidad para muestras en torunda de mujeres fue de 97,6% y 99,0%, respectivamente.
- 4 With AC, caused one false positive resulting in a decrease in specificity from 94.4% to 93.8%. / Avec AC, a causé un faux positif entraînant la diminution de la sensibilité de 94,4 % à 93,8 %. / Mit AC wurde ein falschpositives Ergebnis verursacht, was zu einer Abnahme der Spezifität von 94,4 % auf 93,8 % führte. / Con AC, è stato riportato un falso positivo con conseguente riduzione della specificità da 94,4% a 93,8%. / Con AC, se produjo un falso positivo, resultando en una disminución en la especificidad de 94,4% a 93,8%.
- 5 With AC, total sensitivity and specificity for all specimen types were 95.2% and 98.6%, respectively. / Avec AC, la sensibilité et la spécificité totales pour tous les types d'échantillons étaient 95,2 % et 98,6 %, respectivement. / Mit AC betrug die Gesamtempfindlichkeit und -spezifität für alle Probenarten 95,2 % bzw. 98,6 %. / Con AC, la sensibilità e specificità totali per tutti i tipi di campioni sono state rispettivamente pari a 95,2% e 98,6%. / Con AC, la especificidad y sensibilidad total para todos los tipos de muestras fue 95,2% y 98,6%, respectivamente.

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 14: BD ProbeTec™ ET GC Results Compared to AMP1 / Résultats BD ProbeTec ET GC comparés à AMP1 / BD ProbeTec ET GC-Ergebnisse im Vergleich zu AMP1 / Risultati GC BD ProbeTec ET rispetto ad AMP1 / Resultados GC BD ProbeTec ET comparados con AMP1

Specimen Type	S/A	% Agreement	95% C.I.
FS	S	98.8% (593/600)	97.6-99.5
	A	99.3% (805/811)	98.4-99.7
	Total	99.1% (1398/1411)	98.4-99.5
FU	S	97.4% (562/577)	95.8-98.5
	A	97.9% (738/754)	96.6-98.8
	Total	97.7% (1300/1331)	96.7-98.4
MU	S	95.9% (472/492)	93.8-97.5
	A	99.1% (658/664)	98.0-99.7
	Total	97.9% (1132/1156)	96.9-98.7
Total		98.3% (3830/3898)	97.8-98.6

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 15: GC Paired Specimen Analysis for Female Patients (without AC) / Analyse des échantillons appariés GC pour les patientes (sans AC) / Analyse gepaarter GC-Proben bei weiblichen Patienten (ohne AC) / Analisi di campioni GC in doppio per pazienti di sesso femminile (senza AC) / Análisis GC de muestras dobles para pacientes mujeres (sin AC)

Patient Infected Status	Endocervical Culture	AMP1 Swab	AMP1 Swab	BD ProbeTec ET		# Patients	
				Swab	Urine	S	A
(+)	+	+	+	+	+	32	21
	+	+	+	+	-	5	2
	+	+	+	-	+	2	0
	+	+	-	+	-	2	1
	+	+	-	+	+	3	5
	+	-	+	+	+	1	3
	+	-	-	+	+	1	1
	+	-	-	-	-	0	1
	-	+	+	+	-	1	1
(-)	-	+	-	+	-	1	1
	-	-	+	-	+	0	1
	-	-	-	+	+	0	1
	-	-	+	-	-	3	3
	-	-	-	+	-	2	1
	-	-	-	-	+	2	3
	-	-	-	-	-	520	705
	Total					577	752

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 16: GC Paired Specimen Analysis for Male Patients (without AC) / Analyse des échantillons appariés GC pour les patients (sans AC) / Analyse gepaarter GC-Proben bei männlichen Patienten (ohne AC) / Analisi di campioni GC in doppio per pazienti di sesso maschile (senza AC) / Análisis GC de muestras dobles para pacientes hombres (sin AC)

Patient Infected Status	Urethral Culture	AMP1 Urine	BD ProbeTec ET		# Patients		
			Swab	Urine	S	A	
(+)	+	+	+	+	173	20	
	+	+	+	-	3	1	
	+	+	-	+	1	0	
	+	-	+	+	10	1	
	+	-	-	-	1	0	
	+	-	-	+	1	0	
(-)	-	+	+	+	14	0	
	-	+	+	-	2	1	
	-	+	-	-	1	1	
	-	-	+	-	0	3	
	-	-	-	+	3	3	
	-	-	-	-	283	633	
	Total					492	663

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 17: BD ProbeTec™ ET Performance for Detecting Both CT and GC in Specimens from Patients Considered Co-infected by Patient Infected Status / Performance de BD ProbeTec ET en termes de détection de CT et GC dans des échantillons provenant de patients considérés co-infectés par statut infecté du patient / BD ProbeTec ET-Leistung zum Nachweis von CT und GC in Proben von als co-infiziert beurteilten Patienten nach Infektionsstatus der Patienten / Performance BD ProbeTec ET per la rilevazione di CT e GC in campioni di pazienti considerati coinfectati per stato di infezione del paziente / Rendimiento BD ProbeTec ET para detectar ambos, CT y GC, en muestras de pacientes considerados co-infectados según estado del paciente infectado

Specimen Type	S/A	Patient Infected Status (CT + / GC +)	BD ProbeTec ET			
			CT +/GC +	CT +/GC-	CT-/GC +	CT -/GC -
FS	S	14	12	2	0	0
	A	16	16	0	0	0
	Total	30	28	2	0	0
FU	S	14	11	1	1	1
	A	16	12	2	2	0
	Total	30	23	3	3	1
MS	S	33	29	1	3	0
MU	S	33	30	1	2	0
Total		126	110	7	8	1

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 18: BD ProbeTec™ ET CT/GC Precision Data / Données de la précision pour BD ProbeTec ET / BD ProbeTec ET-Präzisionsdaten / Dati di precisione BD ProbeTec ET / Datos de precisión BD ProbeTec ET

CT (without AC)							
				Within Run		Between Run	
Panel Member	n	% Correct	Mean MOTA	SD	%CV	SD	%CV
0 EBs/rxn1	108	99.1%	192	380	–	NV	NV
25 EBs/rxn	108	100%	21426	10498	49	869	4
50 EBs/rxn	108	100%	27181	8818	32	NV	NV
75 EBs/rxn	108	100%	27878	9888	35	2209	8
100 EBs/rxn	108	100%	30534	9678	32	885	3
GC (without AC)							
				Within Run		Between Run	
Panel Member	n	% Correct	Mean MOTA	SD	%CV	SD	%CV
0 cells/rxn2	108	100%	85	74	–	6	–
15 cells/rxn	108	60.2%	6926	8052	116	NV	NV
25 cells/rxn3	108	81.5%	8605	7865	91	896	10
50 cells/rxn	108	94.4%	14374	8704	61	NV	NV
100 cells/rxn4	108	99.1%	24944	10828	43	996	4
AC							
				Within Run		Between Run	
CT/GC Panel Member	n		Mean MOTA	SD	%CV	SD	%CV
Negative	108		22201	10989	–	530	–
25 EBs/rxn CT + 15 cells/rxn GC	108		24100	12163	50	NV	NV
50 EBs/rxn CT + 25 cells/rxn GC	108		24830	13041	53	NV	NV
75 EBs/rxn CT + 50 cells/rxn GC	108		25949	12586	49	1546	6
100 EBs/rxn CT + 100 cells/rxn GC	108		28245	11431	40	1079	4

- 1 With AC: 1/108 (0.9%) Positive, 106/108 (98.1%) Negative, and 1/108 (0.9%) Indeterminate. / Avec AC: 1/108 (0,9 %) Positif, 106/108 (98,1 %) Négatifs, et 1/108 (0,9 %) Indéterminé. / Mit AC: 1/108 (0,9 %) positiv, 106/108 (98,1 %) negativ und 1/108 (0,9 %) unbestimmt. / Con AC: 1/108 (0,9%) positivo, 106/108 (98,1%) negativo e 1/108 (0,9%) indeterminato. / Con AC: 1/108 (0,9%) positivo, 106/108 (98,1%) negativo, y 1/108 (0,9%) indeterminado.
- 2 With AC: 0/108 (0%) Positive, 107/108 (99,1%) Negative, and 1/108 (0,9%) Indeterminate. / Avec AC: 0/108 (0 %) Positif, 107/108 (99,1 %) Négatifs, et 1/108 (0,9 %) Indéterminé. / Mit AC: 0/108 (0 %) positiv, 107/108 (99,1 %) negativ und 1/108 (0,9 %) unbestimmt. / Con AC: 0/108 (0%) positivo, 107/108 (99,1%) negativo e 1/108 (0,9%) indeterminato. / Con AC: 0/108 (0%) positivo, 107/108 (99,1%) negativo, y 1/108 (0,9%) indeterminado.
- 3 With AC: 88/108 (81,5%) Positive, 19/108 (17,6%) Negative, and 1/108 (0,9%) Indeterminate. / Avec AC: 88/108 (81,5 %) Positifs, 19/108 (17,6 %) Négatifs, et 1/108 (0,9 %) Indéterminé. / Mit AC: 88/108 (81,5 %) positiv, 19/108 (17,6 %) negativ und 1/108 (0,9 %) unbestimmt. / Con AC: 88/108 (81,5%) positivo, 19/108 (17,6%) negativo e 1/108 (0,9%) indeterminato. / Con AC: 88/108 (81,5%) positivo, 19/108 (17,6%) negativo, y 1/108 (0,9%) indeterminado.
- 4 With AC: 107/108 (99,1%) Positive, 0/108 (0%) Negative, and 1/108 (0,9%) Indeterminate. / Avec AC: 107/108 (99,1 %) Positifs, 0/108 (0 %) Négatif, et 1/108 (0,9 %) Indéterminé. / Mit AC: 107/108 (99,1 %) positiv, 0/108 (0 %) negativ und 1/108 (0,9 %) unbestimmt. / Con AC: 107/108 (99,1%) positivo, 0/108 (0%) negativo e 1/108 (0,9%) indeterminato. / Con AC: 107/108 (99,1%) positivo, 0/108 (0%) negativo, y 1/108 (0,9%) indeterminado.

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 19: BD ProbeTec™ ET CT/GC Reproducibility / Reproductibilité BD ProbeTec ET CT/GC / BD ProbeTec ET CT/GC-Reproduzierbarkeit / Riproducibilità CT/GC BD ProbeTec ET / Reproducibilidad BD ProbeTec ET para CT/GC

CT ¹			
Swab seed level	0 EBs/rxn	50 EBs/rxn 1,000 EBs/swab	500 EBs/rxn 10,000 EBs/swab
% Correct vs. Expected	99.3% ² (137/138)	92.4% (255/276)	100% (276/276)
Buffer seed level	0 EBs/rxn	115 EBs/rxn 575 EBs/mL	600 EBs/rxn 3,000 EBs/mL
% Correct vs. Expected	97.1% ³ (134/138)	92.4% (255/276)	99.3% ² (274/276)
GC ¹			
Swab seed level	0 cells/rxn	30 cells/rxn 600 cells/swab	500 cells/rxn 10,000 cells/swab
% Correct vs. Expected	99.3% ² (137/138)	99.3% (274/276)	100% (276/276)
Buffer seed level	0 cells/rxn	100 cells/rxn 500 cells/mL	500 cells/rxn 2,500 cells/mL
% Correct vs. Expected	98.6% ³ (136/138)	96.4% (266/276)	99.3% ² (274/276)

- 1 Samples for the reproducibility study were inoculated with *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae*. CT and GC results are presented separately in table. Refer to the "Performance Characteristics" for detailed description of study design. / Les échantillons à analyser ont été inoculés conjointement avec *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae*. Les résultats CT et GC sont représentés séparément dans le tableau. Se reporter aux « Caractéristiques de performances » pour une description détaillée de la conduite de l'étude / Die in dieser Studie verwendeten Proben wurden mit *C. trachomatis* und *N. gonorrhoeae* inokuliert. Die CT- und GC-Ergebnisse sind in dieser Tabelle getrennt aufgeführt. Der Abschnitt „Leistungsmerkmale“ enthält eine detaillierte Beschreibung der Studienkonzeption. / I campioni per lo studio sono stati inoculati sia con *C. trachomatis* che con *N. gonorrhoeae*. I risultati CT e GC sono riportati separatamente nella tabella. Per una descrizione dettagliata del progetto di studio, consultare le "Prestazioni metodologiche". / Se inocularon muestras para estudio con *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae*. Los resultados de CT y de GC se presentan, por separado, en la tabla. Consulte la sección "Características de rendimiento" para ver una descripción detallada del diseño del estudio.
- 2 One sample indeterminate when the AC result was incorporated. / Un échantillon indéterminé quand le résultat d'AC est intégré. / Eine Probe war unbestimmt, wenn das AC-Ergebnis berücksichtigt wurde. / Un campione indeterminato quando è stato incorporato il risultato AC. / Una muestra fue indeterminada cuando se agregó el resultado AC.
- 3 Three samples were indeterminate when the AC result was incorporated. / Trois échantillons indéterminés quand le résultat d'AC est intégré. / Drei Proben waren unbestimmt, wenn das AC-Ergebnis berücksichtigt wurde. / Tre campioni indeterminati quando è stato incorporato il risultato AC. / Tres muestras fueron indeterminadas cuando se agregó el resultado AC.

Note: In this study, results were combined across 23 operators and across all specimens (negative, low positive, high positive). Eighteen of 23 (78%) operators were at least 95% reproducible with CT swab specimens; 14/23 (61%) of the operators were at least 95% reproducible for CT buffer specimens. / **Remarque:** Dans cette étude, les résultats ont été regroupés sur les 23 techniciens et tous les échantillons (négatifs, faiblement positifs, fortement positifs). Dix-huit des 23 (78 %) techniciens ont donné une reproductibilité d'au moins 95 % avec les écouvillons CT ; 14/23 (61 %) des techniciens ont donné une reproductibilité d'au moins 95 % avec les échantillons de tampons CT. / **Hinweis:** In dieser Studie wurden die Ergebnisse von 23 Labortechnikern und sämtlichen Proben (negativ, schwach positiv, stark positiv) zusammengefaßt. Achtzehn von 23 (78 %) Labortechnikern zeigten eine Reproduzierbarkeit von mindestens 95 % bei CT-Abstrichproben; 14/23 (61 %) der Labortechniker zeigten eine Reproduzierbarkeit von mindestens 95 % bei CT-Pufferproben. / **Nota:** In questo studio, sono stati combinati i risultati ottenuti da 23 operatori e da tutti i campioni (negativi, scarsamente positivi, altamente positivi). Diciotto operatori su 23 (78%) hanno presentato una riproducibilità di almeno il 95% con campioni CT su tampone; 14 operatori su 23 (61%) hanno presentato una riproducibilità di almeno il 95% per campioni CT su PBS. / **Nota:** En este estudio, los resultados se combinaron con 23 operadoras y con todas las muestras (negativas, positivo bajo, positivo alto). Dieciocho de los 23 (78%) operadores fueron reproducibles al menos en un 95% con muestras en torunda para CT; 14/23 (61%) de los operadores fueron reproducibles al menos en un 95% para muestras tampón CT.

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 20: Microorganisms Tested for Analytical Specificity / Microorganismes testés pour la spécificité analytique / Auf analytische Spezifität getestete Mikroorganismen / Microorganismi testati per la specificità analitica / Microorganismos analizados para especificidad analítica

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Mobiluncus mulerieris</i>	<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i>
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Peptostreptococcus productus</i>
<i>Actinomyces israelii</i>	Epstein-Barr Virus	<i>Moraxella osloensis</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
Adenovirus	<i>Escherichia coli</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	<i>Mycobacterium gordonae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Neisseria cinerea</i> (3)	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i> (5)	Group A <i>Streptococcus</i>	<i>Neisseria elongata</i> (3)	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Neisseria flava</i> (5)	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Neisseria flavescens</i> (4)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Candida tropicalis</i>	Herpes Simplex Virus, type I	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ***	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Herpes Simplex Virus, type II	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ss. <i>kochii</i> (5) ***	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Chlamydia psittaci</i>	HIV-I	<i>Neisseria lactamica</i> (7)	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i> ***	HPV type 16	<i>Neisseria meningitidis</i> (11)	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	HPV type 18	<i>Neisseria mucosa</i> (5)	<i>Streptomyces griseus</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Neisseria perflava</i> (8)	<i>Treponema pallidum</i>
<i>Corynebacterium renale</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Neisseria polysaccharea</i> (2)	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Neisseria sicca</i> (5)	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
Cytomegalovirus	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Neisseria subflava</i> (16)	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Lactobacillus jensenii</i>	<i>Neisseria weaverii</i> (3)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

*** Produced a positive result as expected. / A produit un résultat positif comme escompté. / Ergab erwartungsgemäß ein positives Ergebnis. / Ha generato un risultato positivo come atteso. / Produjeron un resultado positivo como se esperaba.

(n) = # of strains tested. / nbre de souches testées. / Anzahl getesteter Stämme. / numero di ceppi testati. / # de cepas analizadas.

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 21: Interfering Substances for the BD ProbeTec™ ET CT/GC Assays / Substances interférant avec les tests BD ProbeTec ET CT/GC / Interferierende Substanzen bei BD ProbeTec ET CT/GC-Assays / Sostanze interferenti per i test CT/GC BD ProbeTec ET / Sustancias que interfieren en los análisis CT/GC BD ProbeTec ET

Interpretation	Swab	Urine
No Interference Observed Aucune interférence observée Keine Störung beobachtet Nessuna interferenza osservata No se observó Interferencia	Blood 5% / Sang = 5% / Blut = 5% / Sangue = 5% / Sangre = 5% Seminal fluid / Liquide séminal / Samenflüssigkeit / Liquido seminale / Fluido seminal Mucus / Mukus / Muco / Moco Common vaginosis ointments and creams / Crèmes et onguents courants pour les vaginoses / Häufig verwendete Salben und Cremes für Vaginitis / Creme e pomate per vaginosis comuni / Ungüentos y cremas para vaginosis de uso común Vaginal lubricants / Lubrifiants vaginaux / Vaginalgleitmittel / Lubrificanti vaginali / Lubricantes vaginales Hemorrhoidal cream / Crème pour les hémorroïdes / Hämorrhoidensalbe / Crema emorroidaria / Crema para hemorroides Antiviral cream / Crème antivirale / Antivirencreme / Crema antivirale / Crema antivirica Nonoxinol-9 containing products / Produits contenant du Nonoxinol-9 / Produkte mit Nonoxinol-9 / Prodotti contenenti nonoxinolo-9 / Productos que contienen nonoxinol-9	Mucus / Mukus / Muco / Moco Seminal fluid / Liquide séminal / Samenflüssigkeit / Liquido seminale / Fluido seminal Albumin / Albumine / Albumina / Albúmina Glucose / Glukose / Glucosio / Glucosa Acidic urine (pH 4) / urine acide (pH 4) / Saurer Urin (pH 4) / Urina acida (pH 4) / Orina acidica (pH 4) Alkaline urine (pH 8) / urine alcaline (pH 8) / Alkalischer Urin (pH 8) / Urina alcalina (pH 8) / Orina alcalina (pH 8) Amoxicillin / Amoxicilline / Amoxicillina / Amoxicilina Metronidazole / Métronidazole / Metronidazol / Metronidazolo / Metronidazola Tetracycline / Tétracycline / Tetracyclin / Tetraciclina / Tetraciclina Cefotaxime / Céfotaxime / Cefotaxim / Cefotaxima Sulfamethoxazole / Sulfaméthoxazole / Sulfamethoxazol / Sulfametossazolo / Sulfametoxazola Trimethoprim / Triméthoprim / Trimetoprim Erythromycin / Erythromycine / Eritromicina Acetamidophen / Acétamidophène / Acetamidophen / Acetaminofene / Acetamidofén Acetylsalicylic / Acétylsalicylique / Acetylsalizyl / Acetilsalicilico / Acido acetilsalicílico Beta-naphthalene acetic acid / Acétylsalicylique / Beta- Naphthalinessigsäure / Beta-naftal ene acetato / Acido acético beta- naftaleno Ethinyl-estradiol / Ethinyl-estradiol / Ethinylestradiol / Etilnil-estradiolo / Etilnilestradiol Norethindrone / Noréthindrone / Norethindron / Noretindrone / noretindrona
May cause false negative results ¹ Peuvent causer des résultats faux négatifs ¹ / Kann zu falsch-negativen Ergebnissen führen ¹ / Può causare risultati falsamente negativi ¹ / Puede producir resultados de falso negativo ¹	Leukocytes / Leucocytes / Leukozyten / Leucociti / Leucocitos Blood > 5% / Sang > 5% / Blut = 5% / Sangue > 5% / Sangre > 5%	Leukocytes / Leucocytes / Leukozyten / Leucociti / Leucocitos Blood / Sang / Blut / Sangue / Sangre Serum / Sérum / Siero / Suero Feminine deodorant sprays / Déodorants féminins / Intimsprays / Spray deodoranti femminili / Aerosoles de desodorante femenino Bilirubin / Bilirubine / Bilirubin / Bilirubina / Bilirrubina Talcum powder / Talc en poudre / Talkumpuder / Talco in polvere / Polvos de talco Phenazopyridine / Phénazopyridine / Phenazopyridin / Fenazopiridina / Fenazopiridina

¹ When using the AC, these substances may also cause indeterminate results. / Quand AC est utilisé, ces substances peuvent aussi causer des résultats indéterminés. / Bei Verwendung der AC können diese Substanzen auch zu unbestimmten Ergebnissen führen. / In caso di utilizzo di AC, queste sostanze possono anch'esse causare risultati indeterminati. / Cuando se usa AC, estas sustancias pueden producir también resultados indeterminados.

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 22: Agreement Results of Neat Urine Compared to UPP for CT and GC, Without and With AC* / Résultats de concordance entre l'urine pure et l'UPP pour CT et GC sans et avec TA* / Übereinstimmungsergebnisse für unverdünnten Urin verglichen mit UPP für CT und GC (mit und ohne AC*) / Risultati di concordanza relativi a urina pura rispetto a UPP per CT e GC, con e senza AC* / Resultados de concordancia para la orina pura comparada con la UPP para CT y GC, con y sin CA*

	n	PPA		NPA		Overall PA / Pourcentage de concordance total / Gesamt-PA / PA complessiva / CP general		Initial Neat / Pure initiale / Unverdünnt, anfänglich / Iniziale pura / Pura inicial	Final Neat / Pure finale / Unverdünnt, endgültig / Finale pura / Pura final
		% PPA	95% CI /	% NPA	95% CI	% PA	95% CI		
CT	1182	97.8 (218/223)	94.8- 99.3	98.8 (947/959)	97.8- 99.3	98.6 (1165/1182)	97.7- 99.2	na	na
CT/AC	1171	97.8 (218/223)	94.8- 99.3	98.8 (937/948)	97.9- 99.4	98.6 (1155/1171)	97.8- 99.2	0.2% (2/1183)	0.0% (0/1183)
GC	1181	99.1 (114/115)	95.2- 100.0	99.2 (1058/1066)	98.5- 99.7	99.2 (1172/1181)	98.6- 99.6	na	na
GC/AC	1169	99.1 (114/115)	95.2- 100.0	99.3 (1047/1054)	98.6- 99.7	99.3 (1161/1169)	98.7- 99.7	0.2% (2/1183)	0.0% (0/1183)

* Agreement results for Neat Urine compared to UPP for CT and GC when calculated with AC did not include specimens yielding final indeterminate results. / Les résultats de concordance entre l'urine pure et l'UPP pour CT et GC, calculés avec le témoin d'amplification (TA), ne comprenaient pas d'échantillons ayant donné un résultat final indéterminé. / Bei Vergleich mit UPP für CT und GC enthielten mit dem AC berechnete Übereinstimmungsergebnisse für unverdünnten Urin keine Proben mit endgültig unbestimmten Ergebnissen. / I risultati di concordanza relativi a urina pura rispetto a UPP per CT e GC, quando calcolati con AC, non comprendevano i campioni che hanno fornito risultati finali indeterminati. / Los resultados de concordancia para la orina pura comparada con la UPP para CT y GC, calculados con CA, no incluían las muestras con resultado final indeterminado.

Table / Tableau / Tabelle / Tabella / Tabla 23: Agreement Results of UPT Compared to sUPP for CT and GC, Without and With AC* / Résultats de concordance entre l'UPT et l'UPP pour CT et GC sans et avec TA* / Übereinstimmungsergebnisse für UPT verglichen mit UPP für CT und GC (mit und ohne AC*) / Risultati di concordanza relativi a UPT rispetto a UPP per CT e GC, con e senza AC* / Resultados de concordancia para el UPT comparado con la UPP para CT y GC, con y sin CA*

	n	PPA		NPA		Overall PA / Pourcentage de concordance total / Gesamt-PA / PA complessiva / CP general		Initial UPT / UPT initiale / UPT, anfänglich / UPT iniziale / UPT inicial	Final UPT / UPT finale / UPT, endgültig / UPT finale / UPT final
		% PPA	95% CI /	% NPA	95% CI	% PA	95% CI		
CT	1182	97.3 (217/223)	94.2- 99.0	98.6 (946/959)	97.7- 99.3	98.4 (1163/1182)	97.5- 99.0	na	na
CT/AC	1164	97.3 (217/223)	94.2- 99.01	98.7 (929/941)	97.8- 99.3	98.4 (1146/1164)	97.6- 99.1	0.8% (10/1183)	0.8% (10/1183)
GC	1181	98.3 (113/115)	93.8- 99.8	99.6 (1062/1066)	99.0- 99.9	99.5 (1175/1181)	98.9- 99.8	na	na
GC/AC	1162	98.3 (113/115)	93.9- 99.8	99.6 (1043/1047)	99.0- 99.9	99.5 (1156/1162)	98.9- 99.8	1.0% (12/1183)	0.8% (10/1183)

* Agreement results for UPT compared to UPP for CT and GC when calculated with AC did not include specimens yielding final indeterminate results. / Les résultats de concordance entre l'UPT et l'UPP pour CT et GC, calculés avec le témoin d'amplification (TA), ne comprenaient pas d'échantillons ayant donné un résultat final indéterminé. / Bei Vergleich mit UPP für CT und GC enthielten mit dem AC berechnete Übereinstimmungsergebnisse für UPT keine Proben mit endgültig unbestimmten Ergebnissen. / I risultati di concordanza relativi a UPT rispetto a UPP per CT e GC, quando calcolati con AC, non comprendevano i campioni che hanno fornito risultati finali indeterminati. / Los resultados de concordancia para el UPT comparado con la UPP para CT y GC, calculados con CA, no incluían las muestras con resultado final indeterminado.



Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Výrobca / Tillverkare



Use by / Spotřebuje do / Anvendes før / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes før / Stosować do / Utilizar em / Použít do / Usar antes de / Använd före / YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutning af måned) / JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) / AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp) / VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) / AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) / JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) / EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) / ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja) / AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) / MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mēnesio pabaiga) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutten av måneden) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) / AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiacu) / aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutet på månaden)



Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalogusnummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalógusszám / Numero di catalogo / Katalogo numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalógové číslo / Número de catálogo



Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselő az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Representante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU



In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiiniaparatuur / Lääkinnällinen in vitro -diagnostiikkalaitte / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietaisais / In vitro diagnostisk mediskinst utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicínska pomôcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicínsk anordning för in vitro-diagnostik



Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturlimit / Temperatuuri piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturenbereich / Όριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ochraničenie teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegrænsning



Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch kode (Lot) / Chargennummer (lot) / Partii kood / Eräkoodi (LOT) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα) / Tétel száma (Lot) / Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-kode (Serie) / Kod partii (seria) / Código do lote (Lote) / Kód série (šarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti)



Patient ID number / ID pacienta / Patient ID-number / Identificatienummer van de patiënt / Patsiendi ID / Potilaan tunnusnumero / Numéro d'identification du patient / Patienten-ID / Αριθμός μητρώου ασθενούς / Beteg azonosító száma / Numero di identificazione paziente / Paciento identifikavimo numeris / Pasientens ID-nummer / Numer ID patentu / Número da ID do doente / Identifikačné číslo pacienta / Número de identificación del paciente / Patientens ID-nummer



Do not reuse / Nepoužívejte opakovaně / Må ikke genbruges / Niet opnieuw gebruiken / Mitte kasutada korduvalt / Ei saa kasutada uudelleen / Usage unique / Nicht wiederverwenden / Μην το ξαναχρησιμοποιείτε / Egyszer használatos / Non riutilizzare / Tik vienkartiniam naudojimai / Må ikke gjenbrukes / Nie stosować powtórnie / Não reutilizar / Nepoužívajte opakovane / No reusar / Får ej återanvändas



Method of sterilization: ethylene oxide / Způsob sterilizace: etylenoxid / Sterilisationsmåde: Ethylenoxid / Sterilisatiemethode: ethyleenoxide / Steriliseerimismeetod: etüleenoksiid / Sterilointimenetelmä: etyleenioksiidi / Méthode de stérilisation : oxyde d'éthylène / Sterilisationsmethode: Ethylenoxid / Μέθοδος αποστείρωσης: αιθυλενοξείδιο / Sterilizálás módszere: etilén-oxid / Metodo di sterilizzazione: ossido di etilene / Sterilizavimo būdas: etileno oksidas / Steriliseringsmetode: etylenoxid / Metoda sterylizacji: tlenek etylu / Método de esterilização: óxido de etileno / Metóda sterilizácie: etýlenoxid / Método de esterilización: óxido de etileno / Steriliseringsmeto: etylenoxid



Positive control / Pozitivní kontrola / Positiv kontrol / Positieve controle / Positiivne kontroll / Positiivinkontrolli / Contrôle positif / Positive Kontrolle / Θετικός έλεγχος / Pozitiv kontroll / Controllo positivo / Teigiama kontrolė / Positiv kontroll / Kontrola dodatnia / Controllo positivo / Pozitivna kontrola / Control positivo



Negative control / Negativní kontrola / Negativ kontrol / Negatieve controle / Negatiivne kontroll / Negatiivinkontrolli / Contrôle négatif / Negative Kontrolle / Αρνητικός έλεγχος / Negativ kontroll / Controllo negativo / Neigiama kontrolė / Negativ kontroll / Kontrola ujemna / Controllo negativo / Negativna kontrola / Control negativo



Collection date / Datum odběru / Opsamlingsdato / Afnamedatum / Kogumiskuupäev / Keräyspäivä / Date de prélèvement / Entnahmedatum / Ημερομηνία συλλογής / Mintavétel ideje / Data prelievo / Paémimo data / Dato prøvetaking / Data pobrania / Data da colheita / Dátum odberu / Fecha de coleccion / Uppsamlingsdatum



Peel / Otevřete zde / Åbnes her / Afpellen / Koorida / Vedä / Décoller / Abziehen / Σύμβολο αποκόλλησης / Húzza le / Strappare per aprire / Pléšti čia / Trekke av / Oderwać / Destacável / Odtrhnite / Desprender / Drag isär





Contains sufficient for <n> tests / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> test / Voldoende voor <n> tests / Kõllaldane <n> testide jaoks / Sisältöön riittävä <n> testejä varten / Contenu suffisant pour <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα <n> εξετάσεις / <n> teszthez elegendő / Contenuto sufficiente per <n> test / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Innholder tilstrekkelig for <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Contémo suficiente para <n> testes / Obsah vystačí na <n> testov / Contenido suficiente para <n> pruebas / Räckertill <n> antal tester



Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k použití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulte as instruções de utilização / Pozri Pokyny na používanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen



 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA
(800) 638-8663

 BENEX Limited
Bay K 1a/d, Shannon Industrial Estate
Shannon, County Clare, Ireland
Tel: 353-61-47-29-20
Fax: 353-61-47-25-46

Proclin is a trademark of Rohm and Haas Co.
Alconox is a trademark of Alconox, Inc.
ELIMINase is a trademark of Decon Laboratories, Inc.
DNA AWAY is a trademark of Molecular BioProducts, Inc.
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, ProbeTec and Viper are trademarks of Becton, Dickinson and Company ©2005 BD.