

REF Testovací proužek 200400 NeuMoDx™ GBS Test Strip

R only

UPOZORNĚNÍ: Pouze pro export do USA

IVD Pro diagnostiku *in vitro* se soustavami NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System

 Chcete-li vložit aktualizace, přejděte na internetové stránky: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Podrobné pokyny naleznete v návodu k obsluze soustavy NeuMoDx 288 Molecular System, výr. č. 40600108.

Podrobné pokyny naleznete v návodu k obsluze soustavy NeuMoDx 96 Molecular System, výr. č. 40600317.

ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

Analýza NeuMoDx GBS Assay realizovaná na molekulárních soustavách NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System (molekulární soustava (soustavy) NeuMoDx System) je kvalitativní diagnostický test *in vitro* určený k detekci DNA bakterií *Streptococcus* skupiny B (GBS) z vaginálních/rektálních výtěrů těhotných žen po 18–24 hodin obohacovaných o LIM bujón. Test zahrnuje automatizovanou extrakci DNA pro izolaci cílové nukleové kyseliny ze vzorků a polymerázovou řetězovou reakci (Polymerase Chain Reaction, PCR) v reálném čase pro detekci úseku o velikosti 88 bp genové sekvence *pcsB* v chromozomu *Streptococcus agalactiae*. Výsledky analýzy NeuMoDx GBS Assay lze použít jako pomůcku při určování stavu kolonizace u žen v předporodním období.

Analýza NeuMoDx GBS Assay neposkytuje výsledky citlivosti. K provedení testování citlivosti tak, jak je doporučeno u žen alergických na penicilin, jsou potřeba kultivované izoláty.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Vaginální/rektální stěr se odebrává a přepravuje do laboratoře pomocí standardních soustav k přepravě bakteriálních stěrů obsahujících přepravní médium s obsahem nevyživných složek. Vhodná přepravní média (např. Amies nebo Stuart's) jsou komerčně dostupná. V laboratoři je vzorek naočkován do selektivních médií s živnou půdou, jako například Lim Broth (Todd-Hewitt Broth doplněný o kolistin a kyselinu nalidixovou). Po 18–24 hodinách inkubační doby selektivního bujónu při okolní teplotě 37 °C nebo v 5% CO₂ se poměrná část bujónu smíchá s lýzovým pufrém NeuMoDx Lysis Buffer 4, čímž začne lýza vzorku. Pomocí reagentů testovacího proužku NeuMoDx GBS Test Strip je tento vzorek soustavou NeuMoDx System plně zpracován. Soustava NeuMoDx System automaticky extrahuje cílovou nukleovou kyselinu a amplifikuje úsek genové sekvence *pcsB* v chromozomu bakterie GBS, pokud je přítomna. Testovací pásek NeuMoDx GBS Test Strip obsahuje kontrolní zpracování vzorků DNA (Sample Process Control, SPC1), které pomáhá sledovat přítomnost možných inhibičních látek a také selhání činidel, ke kterému může dojít během extrakce a amplifikace.

GBS je grampozitivní bakterie, která se nachází u 10–35 % zdravých dospělých. O člověku, který je nositelem bakterie GBS, ale nevykazuje známky GBS onemocnění, se říká, že je bakterií GBS „kolonizován“. GBS jsou bakterie běžně se nacházející v lidském těle. Za určitých okolností mohou bakterie GBS tělo napadnout a způsobit vážnou infekci, která se označuje jako *streptokokové* onemocnění skupiny B.¹

Bakterie GBS mohou způsobit závažné onemocnění u novorozenců a jsou známé jako hlavní příčina život ohrožujících bakteriálních infekcí u novorozenců. V populaci koluje několik kmenů patogenů a přibližně 80 % novorozeneckých infekcí je získáno během porodu vertikálním přenosem (z matky na dítě). Výzkumy ukázaly, že bakterie GBS kolonizují anogenitální sliznici 25–40 % zdravých žen. Před zahájením aktivní prevence se odhadovalo 7 500 případů GBS onemocnění u novorozenců, ke kterým ročně došlo ve Spojených státech.² Výrazný pokles výskytu choroby se shoduje se zvýšenou činností v oblasti prevence v 90. letech 20. století² a po vydání doporučení celosvětového screeningu v roce 2002 došlo následně k dalšímu poklesu.³ Navzdory zavedení antibiotické profylaxe v USA zůstává GBS onemocnění hlavní infekční příčinou nemocnosti a úmrtnosti novorozenců ve Spojených státech, přibližně 2 000 případů novorozenecké infekce za rok s odhadovanou mírou nemocnosti 0,27 na 1 000 živě narozených dětí.^{4,6}

Současným standardem péče při prevenci novorozeneckého GBS onemocnění je screening těhotných žen v 35.–37. gestačním týdnu pro stanovení jejich stavu kolonizace bakteriemi GBS.⁷ Pokud se testování GBS provádí kultivací, může definitivní identifikace GBS trvat až 48 hodin od počátečního kroku inkubace trvajících ≥ 18 hodin. Testovací proužek NeuMoDx GBS Test Strip, použitý na soustavě NeuMoDx System, dokáže přinést výsledky prvních 8 vzorků do hodiny od počátečního kroku inkubace/obohacení trvajících ≥ 18 hodin. Analýza NeuMoDx GBS Assay zefektivňuje a zjednodušuje proces testování vyloučením potřeby zásahu pracovníka obsluhy od chvíle, kdy je vzorek umístěn na soustavu do chvíle, kdy jsou výsledky k dispozici.

PRINCIPY POSTUPU

Po 18–24 hodinách inkubace se obohacený bujón použije k detekci přítomnosti bakterií GBS. Soustava NeuMoDx System smíchá 25 µl LIM bujónu s lýzovým pufrém NeuMoDx Lysis Buffer 4 a extrakčními reagenty a zahájí zpracování. Soustava NeuMoDx System automatizuje a integruje extrakci a zkoncentrování DNA, přípravu reagentů a amplifikaci nukleové kyseliny a detekci cílové sekvence pomocí PCR v reálném čase. Do zpracování vzorků a amplifikace je také zabudována kontrola zpracování vzorků, která monitoruje přítomnost možných inhibičních látek a také selhání soustavy nebo reagentů. Jakmile je vzorek vložen do soustavy NeuMoDx System, není nutný žádný zásah obsluhy.

Soustavy NeuMoDx System k provedení buněčné lýzy, extrakce DNA a odstranění inhibitorů využívají kombinace zahřívání, lytického enzymu a extrakčních reagentů. Uvolněné nukleové kyseliny jsou zachyceny paramagnetickými částicemi. Částice s navázanými nukleovými kyselinami jsou vloženy do zásobníku NeuMoDx Cartridge, kde jsou nenavázané komponenty neobsahující DNA dále spláchnuty promývací reagenty NeuMoDx Wash Reagent a navázaná DNA je eluována za použití uvolňovací reagenty NeuMoDx Release Reagent. Soustavy NeuMoDx System potom uvolněné DNA využijí k rehydrataci proprietárních reagentů NeuDry™, které obsahují všechny prvky nezbytné k amplifikaci cíle specifického pro GBS. Suché reagenty PCR obsahují také komponenty, které jsou nutné k amplifikaci úseku sekvence kontroly zpracování vzorků, což umožňuje simultánní amplifikaci a detekci jak cílových, tak kontrolních sekvencí DNA. Po rekonstituci vysušených reagentů PCR NeuDry rozdělí soustava NeuMoDx System připravenou PCR-ready směs do jedné PCR komory (na každý vzorek) zásobníku NeuMoDx Cartridge. K amplifikaci a detekci kontrolních a cílových (pokud jsou přítomny) sekvencí DNA dochází v PCR komoře. Komoře a zásobník jsou určeny k tomu, aby v nich následně po PCR v reálném čase byl aplikován, čímž je po amplifikaci podstatně eliminováno riziko kontaminace.

Amplifikované cíle jsou detekovány v reálném čase pomocí chemizmu hydrolyzační sondy (běžně označované jako chemizmus TaqMan®) za použití fluorogenních oligonukleotidových molekul sondy, specifických pro amplikony pro jejich příslušné cíle. Sondy TaqMan sestávají z fluoroforu, kovalentně připojeného k 5' konci oligonukleotidové sondy, a ze zhášedla na 3' konci. Zatímco sonda je intaktní, fluorofor a zhášedlo jsou v blízkosti, čímž molekula zhášedla zhasí fluorescenci emitovanou fluoroforem přes FRET (Förster Resonance Energy Transfer, Försterův rezonanční přenos energie).

Sondy TaqMan jsou určeny k reasociaci DNA v úseku amplifikovaném specifickou sadou primerů. Jak polymeráza Taq DNA prodlužuje primer a syntetizuje nové vlákno, 5' až 3' exonukleázová aktivita polymerázy Taq DNA degraduje sondu, která reasociovala na templát. Degradaci sondy se z ní uvolňuje fluorofor a rozbíjí blízkost ke zhášedlu, takže účinek zhášení je v důsledku FRET překonán, a detekce fluorescence fluoroforu je tudíž možná. Výsledný fluorescenční signál detekovaný v termocykleru pro kvantitativní PCR je přímo úměrný uvolněnému fluoroforu a může souviset s množstvím přítomné cílové DNA.

Sonda TaqMan značená fluoroforem (excitace: 490 nm a emise: 521 nm) na 5'-konci a tmavým zhášedlem na 3'-konci se používá k detekci DNA GBS. Pro detekci kontroly zpracování vzorku je sonda TaqMan značena alternativním fluorescenčním barvivem (excitace: 535 nm a emise: 556 nm) na 5' konci a tmavým zhášedlem na 3' konci. Soustava NeuMoDx System monitoruje fluorescenční signál emitovaný sondami TaqMan na konci každého amplifikačního cyklu. Když je amplifikace hotova, soustava NeuMoDx System údaje analyzuje a podá zprávu o konečném výsledku (POSITIVE (POZITIVNÍ) / NEGATIVE (NEGATIVNÍ) / INDETERMINATE (NEURČITÝ) / UNRESOLVED (NEROZLIŠENO)).

REAGENCIE / SPOTŘEBNÍ MATERIÁL

Dodaný materiál

REF.	Obsah	Počet testů na jednotku	Počet testů v balení
200400	Testovací proužek NeuMoDx GBS Test Strip <i>Suché reagensie PCR obsahující sondu TaqMan a primery specifické pro GBS spolu se sondou TaqMan a primery specifickými pro kontrolu zpracování vzorku.</i>	16	96

Požadované, ale nedodávané reagensie a spotřební materiál (k dispozici samostatně od společnosti NeuMoDx)

REF.	Obsah
100200	Extrakční destička NeuMoDx Extraction Plate <i>Suché paramagnetické částice, lytický enzym a kontroly zpracování vzorků</i>
400700	Pufr NeuMoDx Lysis Buffer 4
400100	Promývací reagensie NeuMoDx Wash Reagent
400200	Uvolňovací reagensie NeuMoDx Release Reagent
100100	Zásobník NeuMoDx Cartridge
235903	Hroty Hamilton CO-RE / CO-RE II (300 µl) s filtry
235905	Hroty Hamilton CO-RE / CO-RE II (1 000 µl) s filtry

Potřebné přístrojové vybavení

Molekulární soustava **NeuMoDx 288 Molecular System** [REF 500100] NEBO **NeuMoDx 96 Molecular System** [REF 500200]

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Pouze pro diagnostiku *in vitro* se soustavami NeuMoDx System.
- Nepoužívejte reagensie po uvedené době expirace.
- Nepoužívejte žádné reagensie, pokud je bezpečnostní těsnění rozbito nebo je při dodání poškozen obal.
- Reagensie nepoužívejte, pokud je ochranný váček při dodání otevřený nebo rozbítý.
- Minimální objem vzorku sekundárních alikvotních podílů závisí na velikosti zkumavky / stojanu na zkumavky se vzorkem tak, jak je definováno níže. Objem menší, než je specifikované minimum, může vést k chybě „Quantity Not Sufficient“ (Nedostatečné množství).
- Testování mimo podmínky, které doporučuje CDC, může při použití analýzy NeuMoDx GBS Assay přinést chybné výsledky.
- Vždy u všech činidel a spotřebního materiálu zabraňte mikrobiální a deoxyribonukleázové (DNázové) kontaminaci. Doporučujeme použití sterilních jednorázových přenosových pipet bez obsahu DNázy. Na každý vzorek použijte novou pipetu.
- Abyste předešli kontaminaci, s kazetou NeuMoDx Cartridge po amplifikaci nemanipulujte ani ji nerozebírejte. Za žádných okolností nevytahujte zásobníky po amplifikaci z odpadu. Zásobník NeuMoDx Cartridge je zkonstruován tak, aby kontaminaci zabránil.
- V případě, že laboratoř provádí také testy PCR s otevřenými zkumavkami, musí být zajištěno, že testovací proužek NeuMoDx GBS Test Strip, přídatné reagensie nezbytné k testování a soustava NeuMoDx System nejsou kontaminovány.

- Při manipulaci s reagensiemi a spotřebním materiálem NeuMoDx byste měli nosit čisté nitrilové rukavice bez obsahu pudru. Měli byste dávat pozor, abyste se nedotýkali vrchního povrchu zásobníku NeuMoDx Cartridge nebo fóliového těsnění povrchu testovacího proužku NeuMoDx GBS Test Strip nebo extrakční destičky NeuMoDx Extraction Plate; při manipulaci s produkty byste se měli dotýkat pouze bočních stran.
- Bezpečnostní listy (BL) jsou k dispozici na vyžádání.
- Doporučené čisticí roztoky, které lze na soustavu použít, jsou uvedeny v pokynech v návodu (návodech) k obsluze molekulárních soustav *NeuMoDx 288/96 Molecular System*.
- Nepipetujte ústy. Nekuřte, nepijte nebo nejzte v prostorech, kde se manipuluje se vzorky nebo reagensiemi ze sady.
- Se vzorky vždy zacházejte tak, jako by byly infekční. Postupujte v souladu s bezpečnými laboratorními postupy, například těmi popsány v publikaci *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁸ a v dokumentu M29-A4⁹ institutu CLSI.
- Nepoužité reagensie a odpad likvidujte podle státních, federálních, oblastních a místních předpisů.

UCHOVÁVÁNÍ, MANIPULACE A STABILITA PRODUKTU

- Reagensie a spotřební materiál NeuMoDx jsou stabilní v primárním obalu po dobu expirace uvedenou na štítku produktu při skladování mezi 18 až 28 °C.
- Po uvedené době expirace reagensie nepoužívejte.
- Nepoužívejte žádný testovací produkt, pokud byl primární či sekundární obal viditelně narušen
- Testovací proužek NeuMoDx GBS Test Strip může po vložení zůstat v přístroji soustavy NeuMoDx System po dobu 28 dnů. Zbývající životnost vložených testovacích proužků je sledována pomocí softwaru a hlášena uživateli v reálném čase. Soustava vyzve k vyjmutí testovacího proužku, který byl používán po uplynutí povolené doby.

ODBĚR, PŘEPRAVA A UCHOVÁVÁNÍ VZORKŮ

1. Vaginální/rektální výtěry od žen v předporodním období pro obohacení v LIM bujónu by měly být odebrány, skladovány a mělo by s nimi být zacházeno podle klinického postupu (klinických postupů) doporučených centrem CDC.⁷
2. Vzorky by měly být do laboratoře přepraveny v přepravním médiu s obsahem nevyživných složek, jako například Amies nebo Stuart's.
3. Pokud jsou od jedné pacientky odebrány zvlášť vaginální a zvlášť rektální stěry, lze oba umístit do stejné nádoby s přepravním médiem.
4. Zřetelně vzorky označte a uveďte, že jsou určeny k testování bakterií GBS; na štítku by také mělo být uvedeno, zdá má být proveden test na citlivost k antibiotikům.
5. Vyjměte stěr(y) z transportního média a naočkujte doporučenou selektivní živnou půdu, jako například Lim Broth (Todd Hewitt Broth dodávanou s kolistinem a kyselinou nalidixovou.)
6. Naočkovanou selektivní živnou půdu (Lim Broth) nechte zrát po dobu 18-24 hodin při okolní teplotě 37 °C nebo 5 % CO₂.
7. Přejděte k části Příprava testu.

NÁVOD K POUŽITÍ

Příprava testu

1. Na zkumavku se vzorkem, kompatibilní se soustavou NeuMoDx System, nalepte štítek s čárovým kódem na vzorky.
2. Vzorek obohacený v bujónu lehce zviřte, čímž dosáhnete rovnoměrného rozložení.
3. Pokud se analýza provádí na sekundárním vzorku, přeneste pomocí přenosové pipety ≥ 1 ml LIM bujónu do zkumavky se vzorkem s čárovým kódem. Na každý vzorek použijte jinou přenosovou pipetu. Sekundární zkumavka musí splňovat následující specifikace pro zkumavky kompatibilní se soustavou NeuMoDx System podle stojanu na zkumavky se vzorkem, který se ke zpracování používá.
 - Stojan na zkumavky se vzorkem (32 zkumavek): Průměr 11–14 mm a výška 60–120 mm
 - Stojan na zkumavky se vzorkem (24 zkumavek): Průměr 14,5–18 mm a výška 60–120 mm
 - Stojan na zkumavky se vzorkem o malém objemu (32 zkumavek): 1,5ml mikrocentrifugační zkumavka s kónickým dnem

Obsluha soustav NeuMoDx System

1. Podle potřeby osadte stojany soustavy následujícím spotřebním materiálem a k založení stojanu (stojanů) do soustavy NeuMoDx System použijte dotykovou obrazovku:
 - a. Pipetové hroty 1000 µl
 - b. Pipetové hroty 300 µl
 - c. Zásobník NeuMoDx Cartridge
 - d. Extrakční destička NeuMoDx Extraction Plate
 - e. Testovací proužek NeuMoDx GBS Test Strip
 - f. Lýzový pufr NeuMoDx Lysis Buffer 4 (**POZNÁMKA: před vložením odstraňte z nádob fóliové těsnění**)

- Podle potřeby vyměňte proplachovací a uvolňovací činidlo NeuMoDx Wash a NeuMoDx Release Reagents a vyprázdněte primární odpad.
- Nádobu na biologicky nebezpečný odpad Biohazardous Waste Container vyprázdněte podle potřeby nebo na výzvu softwaru soustavy NeuMoDx System.
- Zkumavku (zkumavky) se vzorkem vložte do příslušného stojanu na zkumavky se vzorkem a ujistěte se, že jsou ze všech zkumavek se vzorkem sejmuta víčka.
- Umístěte stojan (stojany) na zkumavky se vzorkem na příhrádku automatického podavače a k vložení stojanu do soustavy použijte dotykovou obrazovku. Tímto spustíte test (testy).

OMEZENÍ

- Testovací pásek NeuMoDx GBS Test Strip lze použít pouze na soustavách NeuMoDx System.
- Účinnost analýzy NeuMoDx GBS Assay byla stanovena u vaginálních/rektálních vzorků odebraných pacientkám v předporodním období pomocí stěrů v přepravním médiu s obsahem nevýživných složek (jako například Amies nebo Stuart's) po obohacení živnou půdou Lim Broth. Účinnost analýzy NeuMoDx GBS Assay byla validována pouze s živnou půdou Lim Broth. Účinnost s jinými médii obohacenými o selektivní živnou půdu pro GBS validována nebyla.
- Použití analýzy NeuMoDx GBS Assay s jinými klinickými zdroji hodnoceno nebylo a charakteristika účinnosti tohoto testu je u jiných typů vzorků neznámá.
- Protože detekce bakterie *Streptococcus* skupiny B závisí na množství přítomných organismů ve vzorku, závisí spolehlivost výsledků na správném odběru vzorků, manipulaci s nimi a jejich skladování.
- Chybné výsledky testu mohou nastat při nesprávném odběru vzorků, při nesprávném zacházení s nimi, nesprávném skladování vzorků, v případě technické chyby anebo smícháním vzorků. Kromě toho mohou nastat falešně negativní výsledky, protože počet organismů ve vzorku je nižší, než je analytická citlivost testu.
- Test mohou provádět pouze pracovníci, kteří absolvovali školení ohledně používání systému NeuMoDx System.
- Pokud se kontrola zpracování vzorku neamplifikuje a výsledek analýzy NeuMoDx GBS Assay je Negative (Negativní), bude ohlášen neplatný výsledek (Indeterminate (Neurčitý) nebo Unresolved (Nerozlišeno)) a test by měl být zopakován.
- Positivní výsledek testu nemusí nutně znamenat přítomnost životaschopných organismů. Avšak pro přítomnost DNA bakterie *Streptococcus* skupiny B je presumptivní.
- Negativní výsledky přítomnost GBS nevylučují a nebyly by být použity jako jediný podklad pro léčbu pacientů nebo jiná rozhodnutí týkající se řízení pacientů.
- Kolonizace bakteriemi GBS během těhotenství může být střídavá, trvalá nebo přechodná. Klinická užitečnost GBS screeningu se snižuje, když je testování prováděno dřív než pět týdnů před porodem.
- GBS test NeuMoDx nepodává výsledky citlivosti. K provedení testů citlivosti tak, jak je doporučeno u žen alergických na penicilin, jsou potřeba kultivované izoláty.
- Přestože žádné kmeny/izoláty GBS bez genu *pcsB* nejsou známy, mohl by výskyt takového kmene při použití testovacího pásku NeuMoDx GBS Test Strip vést k chybnému výsledku.
- Mutace v oblastech vázání primeru/sondy by detekci s testovacím proužkem NeuMoDx GBS Test Strip mohly ovlivnit.
- Výsledky analýzy NeuMoDx GBS Assay by měly být použity jako doplněk klinických pozorování a jiných informací, které má lékař k dispozici. Test není určen k odlišení nosičů s bakterií *Streptococcus* skupiny B od nosičů se streptokokovým onemocněním. Výsledky mohou být ovlivněny souběžnou léčbou antibiotiky, jelikož po antimikrobiální terapii může být stále detekována DNA GBS.
- Aby nedošlo ke kontaminaci vzorků, doporučujeme správnou laboratorní praxi, včetně výměny rukavic mezi jednotlivými manipulacemi se vzorky pacientů.

VÝSLEDKY

Očekávané výsledky - prevalence

Přibližně 10-40 % těhotných žen je kolonizováno bakteriemi GBS. Screening kultur GBS jak ve vagíně, tak v rektu v pozdním stadiu gravidity (obecně v 35-37 týdnu), během předporodní péče, může odhalit ženy, u kterých v době porodu existuje pravděpodobnost kolonizace bakteriemi GBS. Při srovnání klinickou metodou bylo ve třech geograficky odlišných laboratořích ve Spojených státech amerických zaznamenáno a testováno 1 193 reziduálních vzorků živné půdy Lim Broth. Na základě výsledků zlatého standardu identifikace kultur poskytnutých u všech zahrnutých vzorků jako referenční metoda, byla celková prevalence GBS v této studii 21,9 % (261/1 193) s 95 % CI z (19,6 % - 24,3 %), vypočítaná pomocí 95 % skóre intervalu spolehlivosti dle směrnice EP12-A2 institutu CLSI.¹⁰ Skutečná prevalence se může geograficky, na základě místní populace pacientů, lišit.

Soustavy NeuMoDx 288/96 Molecular System

Dostupné výsledky lze zobrazit na kartě „Results“ (Výsledky) v okně Results (Výsledky) na dotykové obrazovce soustavy NeuMoDx System, případně je lze odtud vytisknout.

Software soustavy NeuMoDx System výsledky testu vygeneruje automaticky. Výsledek testu může být ohlášen jako Negative (negativní), Positive (pozitivní), Indeterminate (neurčitý) nebo Unresolved (nerozlišeno) podle stavu amplifikace cíle a kontroly zpracování vzorků. Výsledky jsou oznamovány na základě rozhodovacího algoritmu uvedeného v *tabulce 1*.

Tabulka 1: Rozhodovací algoritmus pro analýzu NeuMoDx GBS Assay

Výsledek	GBS C _t	Kontrola zpracování vzorků (Sample Process Control, SPC1) C _t
Positive (Pozitivní)	9 < C _t < 37 And (A) EP > 3 000	N/A
Negative (Negativní)	N/A OR (NEBO) C _t < 9 OR (NEBO) > 37	25 < C _t < 35 And (a) EP > 2 000
Indeterminate (Neurčitý)	N/A SYSTEM ERROR NOTED (ZAZNAMENÁNY CHYBY SYSTÉMU)	N/A SYSTEM ERROR NOTED (ZAZNAMENÁNY CHYBY SYSTÉMU)
Unresolved (Nerozlišeno)	Not detected (Nedetekováno)	Not detected (nedetekováno)

EP = End Point Fluorescence (hraniční fluorescence) (po korekci základní čáry)

Kontrola kvality

Předpisy CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) říkají, že laboratoř zodpovídá za to, že má kontrolní postupy, které sledují přesnost a preciznost celého analytického procesu, a pomocí verifikované výkonnosti specifikace pro neupravené testovací soustavy uznané nebo schválené úřadem FDA (42 CFR část 493.1256) musí stanovit počet, typ a frekvenci kontrolních materiálů pro testování.

- Externí kontrolu nebude provádět společnost NeuMoDx Molecular, Inc.; příslušné kontroly musí být zvoleny a validovány laboratoří.

Doporučená pozitivní kontrola: 10 µl kontroly AcroMetrix™ GBS Positive Control (Thermo Fisher Scientific REF 960041) zředěné v 1 ml živné půdy Lim Broth.

Doporučená negativní kontrola: 1 ml živné půdy Lim Broth bez naočkování.

- Primery a sonda pro konkrétní kontrolu zpracování vzorků 1 (Sample Process Control, SPC1) jsou obsaženy v testovacím pásku NeuMoDx GBS Test Strip. Tato kontrola zpracování vzorku umožňuje soustavě monitorovat účinnost extrakce DNA a amplifikace s PCR.
- Pozitivní výsledek testu ohlášený u negativní kontroly vzorku ukazuje na problém s kontaminací vzorku. Tipy pro řešení problémů naleznete v návodu k obsluze molekulárních soustav NeuMoDx 288/96 Molecular System.
- Výsledek testu Negative (Negativní) ohlášený u vzorku pozitivní kontroly může naznačovat, že se jedná o problém související s reagenty nebo přístrojem.

Neplatné výsledky

Pokud test provedený na soustavě NeuMoDx System nepřinese platný výsledek, bude oznámen buď jako Indeterminate (neurčitý) nebo jako Unresolved (nerozlišeno) podle typu chyby, ke které došlo.

Indeterminate (neurčitý) výsledek bude oznámen, pokud je systémová chyba detekována během zpracování vzorků. V případě oznámení výsledku Indeterminate (IND, neurčitého) doporučujeme test zopakovat.

Výsledek Unresolved (Nerozlišeno) bude oznámen, pokud není detekován žádný cíl a nedojde k žádné amplifikaci kontroly zpracování vzorku, což naznačuje možné selhání reagentie nebo přítomnost inhibitorů. V případě oznámení výsledku Unresolved (UNR, nerozlišeno) se doporučuje test zopakovat a získat platný výsledek.

VÝKONOVÁ CHARAKTERISTIKA

Klinický výkon

Výkonové charakteristiky byly stanoveny během prospektivní studie srovnání klinických metod ve třech (3) geograficky odlišně lokalizovaných laboratořích za účelem vyhodnotit srovnávací výkonnost analýzy NeuMoDx GBS Assay realizované na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System ve srovnání s běžnými metodami kultivace doporučenými Centrem pro kontrolu a prevenci nemocí (Center for Disease Control, CDC) pro identifikaci bakterií GBS ze subkultur obohacených LIM bujónem. Vzorky kvalifikované pro zaznamenání byly poskytovateli zdravotní péče odebrány těhotným ženám kvůli běžnému standardu vyšetřovacího screeningu doporučeného centrem CDC mezi 35.-37. týdnem gravidity.

Odebrané vzorky z vaginálních/rektálních stěrů byly přepraveny do různých laboratoří v příslušném přepravním médiu a pak laboratorním personálem naočkované do selektivního média obohaceného o živnou půdu Lim Broth a byly tak připraveny podstoupit 18-24hodinové inkubační období. Následně po inkubaci a běžném vyšetření byly reziduální vzorky s Lim Broth subkultivovány do agarové destičky s ovčí krví tak, jak doporučují postupy pro zpracování klinických vzorků pro kultivaci GBS vydané v roce 2010 centrem CDC. Agarové destičky byly inkubovány až po dobu 48 hodin a testovány na přítomnost organismů, ze kterých by se dalo usuzovat na přítomnost bakterií GBS. Suspektní kolonie byly barveny metodou Gramova barvení a kolonie grampozitivních koků byly testovány na produkci katalázy; kolonie grampozitivních koků, které byly na produkci katalázy testovány negativně, byly k další identifikaci zpracovány aglutinačním testem s latexovým činidlem pro stanovení streptokokových skupin za účelem stanovit přítomnost GBS. Klinický výkon je podložen 1 193 vzorky s úplnými, platnými a vyhovujícími výsledky, které byly zahrnuty do studie a jsou shrnuty v *tabulce 2* a *tabulce 3* uvedených níže. Dolní a horní meze uvedeného 95% intervalu spolehlivosti (Confidence Interval, CI) byly vypočítány metodou 95% skóre intervalu spolehlivosti.

Tabulka 2: Souhrn klinického výkonu analýzy NeuMoDx GBS Assay

Souhrn klinických pracovišť		Kultivace / Referenční metoda			
		Positive (Pozitivní)	Negative (Negativní)	Celkem	
NeuMoDx GBS	Positive (Pozitivní)	253	37	290	Citlivost = 96,9 % CI 95 % (94,1 - 98,4) Specifičnost = 96,0 % CI 95 % (94,6 - 97,1)
	Negative (Negativní)	8	895	903	
	Celkem	261	932	1193	

Tabulka 3: Klinický výkon analýzy NeuMoDx GBS Assay podle konkrétního pracoviště

Pracoviště	n	Citlivost (95% CI) ^a	Specifičnost (95% CI) ^a	Prevalence ^b (95% CI) ^a
A	351	92,4 % 73/79 (84,4-96,5)	96,7% 263/272 (93,8-98,3)	22,5% 79/351 (15,1-22,2)
B	400	98,4 % 62/63 (91,5-99,7)	94,4% 318/337 (91,4-96,4)	15,8% 63/400 (10,8-17,0)
C	442	99,2 % 118/119 (95,4-99,9)	97,2% 314/323 (94,8-98,5)	26,9% 119/442 (18,2-24,7)
Celkem	1193	96,9% 253/261 (94,1-98,4)	96,0% 895/932 (94,6-97,1)	21,9% 261/1193 (19,6-24,3)

^a Dolní a horní meze uvedeného 95% intervalu spolehlivosti (Confidence Interval, CI) byly vypočítány metodou 95% skóre intervalu spolehlivosti.

^b Výpočty prevalence na základě výsledků referenční metody získaných za dodržení postupů pro zpracování klinických vzorků pro kultivaci bakterie *Streptococcus* skupiny B doporučených centrem CDC. (Vydáno 2010)

Další interní testování 100 klinických vzorků bylo použito k prokázání, že se senzitivita a specifita analýzy NeuMoDx GBS Assay realizované na molekulární soustavě NeuMoDx 96 Molecular System rovná účinnosti dříve prokázané během klinické studie na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System.

Citlivost

Analytická senzitivita analýzy NeuMoDx GBS Assay s použitím testovacího pásku NeuMoDx GBS Test Strip byla charakterizována testováním pěti různých hladin GBS (ATCC BAA-611 sérotyp V) připravených z pěti samostatných klinických negativních směsí na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System. Studie byla provedena ve dnech, které nenásledovaly bezprostředně po sobě, napříč několika soustavami, kdy každá soustava zpracovala deset replikátů každé hladiny denně. Na každé soustavě byla testována jedinečná šarže každého z následujících: testovacího pásku NeuMoDx GBS Test Strip, extrakční destičky NeuMoDx Extraction Plate a lýzového pufru NeuMoDx Lysis Buffer 4. Míry detekce jsou uvedeny v *tabulce 4*. LoD byla stanovena jako 500 KTJ/ml a byla potvrzena testováním na molekulární soustavě NeuMoDx 96 Molecular System pomocí metody míry shody (hit-rate) pro potvrzení $\geq 95\%$ detekce na úrovni LoD.

Tabulka 4: Míry pozitivní detekce v procentech použité ke stanovení LoD analýzy NeuMoDx GBS Assay

GBS, KTJ/ml	Počet platných testů	Počet pozitivních vzorků	Počet negativních vzorků	Míra detekce
1000	60	60	0	100 %
500*	60	60	0	100 %
200	60	53	7	88%
100	60	35	25	58%
0	60	0	60	0%

*rovná se 20 CFU/test

Analýza NeuMoDx GBS Assay realizovaná s testovacím páskem NeuMoDx GBS Test Strip detekovala všechny hlavní sérotypy skupiny *Streptococcus* B, včetně čtyř klinicky nejrelevantnějších. Dvanáct různých kmenů bakterie GBS pokrývajících sérotypy, které byly testovacím proužkem NeuMoDx GBS Test Strip testovány, jsou uvedeny v *tabulce 5*.

Tabulka 5: Testované sérotypy GBS

Sérotyp GBS	Kmen GBS	ATCC/BEI č.	Koncentrace (CFU/ml) se 100 % detekcí
Ia	A909	ATCC: BAA-1138	1500
Ib	H36b	ATCC: BAA-1174	1000
II	MNZ933	BEI: NR-43896	400
III	MNZ938	BEI: NR-43897	400
Ic	CDC SS700	ATCC: 27591	800
IV	2011201884	ATCC: BAA-2673	800
VI	2010228816	ATCC: BAA-2671	800
VII	4832-06	ATCC: BAA-2670	800
VIII	5030-08	ATCC: BAA-2669	800
IX	7509-07	ATCC: BAA-2668	800
Nehemolytické	NCTC 8181	ATCC: 13813	800
TX klinický izolát 2012	SGBS030	BEI: NR-44144	800

Analytická specifita a zkřížená reaktivita

Analytická specifita byla prokázána screeningem zkřížené reaktivity u 136 organismů, které se běžně vyskytují v urogenitálním a trávicím traktu, a také druhů fylogeneticky bakteriím GBS podobných na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System pomocí testovacího pásku NeuMoDx GBS Test Strip. Organismy byly připraveny ve směsích po 5-6 organismech a testovány při vysoké koncentraci (bakterie $6 - 9 \times 10^6$ CFU/ml; viry $1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ kopií/ml). Žádný z vyšetřovaných organismů při realizaci analýzy NeuMoDx GBS Assay neprokázal zkříženou reaktivitu. Testované organismy jsou uvedeny v *tabulce 6*.

Tabulka 6: Patogeny použité k prokázání analytické specifičnosti

Bakterie, kvasinky a parazité		
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Salmonella enterica</i> (serovar Minnesota)	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Candida glabrata</i>
<i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Achromobacter xerosis</i>
<i>Moraxella</i> (Branhamella) <i>catarrhalis</i>	<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Rhodospirillum rubrum</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Enterococcus avium</i>	<i>Neisseria subflava</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Corynebacterium xerosis</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
<i>Morganella morganii</i>	<i>Rahnella aquatilis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Moraxella lacunata</i>
<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Streptomyces griseus</i>
<i>Salmonella enterica</i> (serovar Typhi)	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Brevibacterium linens</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>Dexia gummosa</i>
<i>Providencia stuartii</i>	<i>Pseudomonas protegens</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Corynebacterium</i> , strain HFH0082
<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>Neisseria lactamica</i>	<i>Lactobacillus jensenii</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	<i>Streptococcus canis</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>Kingella denitrificans</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Neisseria perflava</i>	<i>Chromobacterium violaceum</i>	<i>Streptococcus suis</i>
<i>Moraxella osloensis</i>	<i>Candida krusei</i>	Viry
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero C	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CMV*
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero A	<i>Corynebacterium urealyticum</i>	EBV (HHV-4)
<i>Streptococcus anginosus</i> (Grp C)	MRSA	HSV1*
<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	HSV2*
<i>Streptococcus intermedius</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>	VZV (HHV 3)*
<i>Neisseria meningitidis</i> M158 skupina D	<i>Mobiluncus mulieris</i>	HPV-16*
<i>Neisseria flavescens</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	JC virus*
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>	BK virus
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	HHV-6A
<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	HHV-6B
<i>Haemophilus influenzae</i> typ B	<i>Mycoplasma genitalium</i>	HHV-7
<i>Salmonella newport</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>	HHV-8
<i>Shigella flexneri</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	
<i>Shigella sonnei</i>	<i>Enterococcus dispar</i>	
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	
<i>Enterococcus</i> sp. (ATCC® 202155™)	<i>Chlamydia pneumoniae</i> *	

* Testováno v 10 ng/ml

Interferující látky – komenzální organismy

Analýza The NeuMoDx GBS Assay byla testována v přítomnosti necílových organismů (které společně obývají urogenitální trakt) vyhodnocením účinnosti analýzy při nízkých hladinách GBS na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System. Pro tuto studii byl použit stejný panel 136 organismů [tabulka 6] použitý pro hodnocení zkřížené reaktivity. Organismy byly smíseny do skupin po 5–6 v klinicky negativním LIM bujónu a obohaceny o 1 200 KTJ/ml kultivovaných bakterií GBS. Testování validovalo detekci bakterie *streptococcus* skupiny B u všech testovaných směsí. Žádná interference kvůli komenzálům nebyla pozorována.

Endogenní a exogenní látky vzniklé v klinických vzorcích moči s GBS

Účinnost analýzy NeuMoDx GBS Assay byla hodnocena na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System za přítomnosti exogenních a endogenních interferujících látek, které se běžně nacházejí v klinických vzorcích s GBS. Do smíšených klinicky negativních vzorků s LIM bujónem obsahujících GBS o koncentraci 1 200 KTJ/ml nebo 4 000 KTJ/ml byla přidána každá z endogenních a exogenních látek vyjmenovaných níže v tabulce 7. 20 exogenních a 6 endogenních látek, které byly na interferenci testovány pomocí testovacího proužku NeuMoDx GBS Test Strip, nemělo na detekci GBS žádný neblahý vliv při žádné testované hladině, čímž byla dále prokázána robustnost analýzy NeuMoDx GBS Assay.

Tabulka 7: Testované exogenní a endogenní interferující látky

Exogenní látky			Endogenní látky
Monistat® krém	Dulcolax® čípky	K-Y™ Jelly	Lidská plodová voda
Yeast Gard Advanced™ (výplach)	Fleet® klystýr	McKesson Gel	Lidská plná krev
Metamucil® vláknový doplněk	Preparation H® krém	Antikoncepční pěna	Lidská moč
Ex-lax® (čokoládové kousky)	Vagisil™ pudr	Zvlhčující tělové mléko	Vzorek lidských fekálií
Phillips'® magnéziové mléko	Norforms® čípky	Neutrogena® Tělový olej	Hlen
Pepto-Bismol™	FDS® deodorant ve spreji	Gold Bond® pudr	DNA lidského genomu
Kaopectate®	New Mama Bottom Spray		

Přesnost

Kvalitativní testování bylo provedeno na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System pomocí testovacího páska NeuMoDx GBS Test Strip, kde proběhly 2 cykly denně napříč 3 soustavami pod dobu 12 dnů, které nenásledovaly bezprostředně po sobě. Tento test vnitřní laboratorní preciznosti zahrnoval 2 šarže činidel a byl proveden 2 pracovníky obsluhy. Cyklus byl definován jako test tří replikátů na každou z pěti různých hladin uvedených v tabulce 8 (True Negative (Skutečně negativní), Low Negative (Dolní záporná hodnota), Moderate Negative (Mírně negativní), Low Positive (Dolní kladná hodnota) a Moderate Positive (Mírně pozitivní)) u celkového počtu 15 vzorků na cyklus a soustavu. Vzorky byly připraveny obohacením smíšeného, klinického negativně vyšetřeného zbytkového LIM bujónu o kultivované bakterie GBS. Kromě těchto 15 vzorků byla u každého cyklu také zpracována pozitivní a negativní externí kontrola. V této studii proběhlo celkem 72 cyklů a 1 224 testů, včetně externích kontrol. Tabulka 9 ukazuje srovnání napříč přístroji. Tabulka 10 ukazuje preciznost mezi pracovníky obsluhy.

Tabulka 8: Panel vnitrolaboratorní preciznosti

Prvek panelu	Testovaná hladina	GBS (KTJ/ml)
Moderate Positive (MP; mírně pozitivní)	3–4× LoD	1600
Low Positive (Dolní kladná hodnota) (LP)	1×2× LoD	600
Moderate Negative (MN; mírně negativní)	>10násobné zředění 1x LoD	40
Low Negative (dolní záporná hodnota) (LN)	> 100násobné zředění 1× LoD	4
True (Blank) Negative ((Pravdivá/Slepá) negativní) (TN)	0	0

Tabulka 9: Kvalitativní výsledky z měření vnitřní laboratorní preciznosti (napříč přístroji)

Hladina	Přístroj 1	Přístroj 2	Přístroj 3	Celkem
	Procento pozitivních výsledků	Procento pozitivních výsledků	Procento pozitivních výsledků	Procento pozitivních výsledků
MP	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (216/216)
LP	100 % (72/72)	95,8% (69/72)	97,2% (70/72)	97,7% (211/216)
	Procento negativních vzorků	Procento negativních vzorků	Procento negativních vzorků	Procento negativních vzorků
MN	77,7% (56/72)	86,1% (62/72)	83,3% (60/72)	82% (178/216)
LN	97,2% (70/72)	100 % (72/72)	98,6% (71/72)	98,6% (213/216)
TN	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (216/216)

Tabulka 10: Kvantitativní analýza parametrů GBS v rámci vnitrolaboratorní preciznosti (mezi pracovníky obsluhy)

Hladina	První pracovník					Druhý pracovník					Kombinovaný soubor dat				
	Detekováno pozitivně/ Celkem	% pozitivních	Prům. Ct.	SMODCH	% CV*	Detekováno pozitivně/ Celkem	% pozitivních	Prům. Ct.	SMODCH	% CV	Detekováno pozitivně/ Celkem	% pozitivních	Prům. Ct.	SMODCH	% CV
MP	108/108	100,0%	31,61	0,54	1,7%	108/108	100,0%	32,22	0,51	1,6%	216/216	100,0%	31,91	0,61	1,9%
LP	106/108	98,1%	34,16	0,68	2,0%	105/108	97,2%	34,39	0,72	2,1%	211/216	97,7%	34,27	0,71	2,1%
MN	20/108	18,5%	35,00	0,53	1,5%	18/108	16,7%	35,28	0,40	1,1%	38/216	17,6%	35,10	0,49	1,4%
LN	2/108	1,9%	35,49	0,12	0,3%	1/108	0,9%	35,03	N/A		3/216	1,4%	35,33	0,28	0,8%
TN	0/108	0,0%	N/A			0/108	0,0%	N/A			0/216	0,0%	N/A		

% CV: Variační koeficient, 100* standardní odchylka/Ave Ct.

Vnitřní laboratorní reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost analýzy NeuMoDx GBS Assay realizované na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System pomocí testovacího pásku NeuMoDx GBS Test Strip byla vyhodnocena na 3 různých zkušebních pracovištích, testováním 5 replikátů 4prvkového panelu po dobu 5 dnů, což přineslo celkem 75 replikátů na prvek panelu. Vzorky byly připraveny obohacením smíšené, negativní, klinické živné půdy Lim Broth o kultivované bakterie GBS za účelem vytvořit nízké negativní, nízké pozitivní a středně pozitivní prvky panelu, zatímco pravdivé (neoznačené) negativní vzorky neobsahovaly žádné bakterie GBS. Koncentrace prvků panelu odpovídají stejným hladinám uvedeným v *tabulce 8* výše, které byly použity pro preciznost (minus mírně negativní vzorek). Každý den testování byla také zpracována pozitivní a negativní externí kontrola.

Celkem byly během měření reprodukovatelnosti získány 4 neplatné výsledky — jeden replikát každé ze 4 koncentrací přinesl „Indeterminate“ (neurčitý) výsledek a všechny se objevily ve stejný den testování (den 2) na pracovišti B. Po opakovaném testování přinesly 2 ze 4 vzorků platný, správný výsledek; před poskytnutím platného, správného výsledku přinesly dva zbývající dva vzorky „Indeterminate“ (neurčitý) výsledek podruhé. Procentuální shoda s očekávaným výsledkem pro prvky panelu u všech pracovišť dohromady je uvedena v *tabulce 11* níže.

Tabulka 11: Shrnutí účinnosti vnitrolaboratorní reprodukovatelnosti analýzy NeuMoDx GBS Assay

Koncentrace prvku panelu	Pracoviště 1 (A)	Pracoviště 2 (B)	Pracoviště 3 (D)	Celková shoda (CI 95 %) ^a
Moderate Positive (Středně pozitivní)	25/25	25/25	25/25	100 % (75/75) (95,1 – 100)
Low Positive (Dolní kladná hodnota)	24/25	25/25	24/25	97,3 % (73/75) (90,8 – 99,3)
Low Negative (Dolní záporná hodnota)	25/25	25/25	24/25 ^b	98,7 % (74/75) (92,8 – 99,8)
Blank Negative (Neoznačené negativní)	25/25	25/25	25/25	100 % (75/75) (95,1 – 100)

^a Dolní a horní meze uvedeného 95 % intervalu spolehlivosti (Confidence Interval, CI) byly vypočítány metodou 95 % skóre intervalu spolehlivosti.

^b U nízké negativní koncentrace vzorku se očekává, že ~ 5 % bude detekováno jako pozitivních.

Nežádoucí příměsi a křížová kontaminace

Měření možných nežádoucích příměsí ve vzorku a křížové kontaminace byla provedena na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System pomocí testovacího proužku NeuMoDx GBS Test Strip. Dvoudílná studie nejprve hodnotila dopad na GBS negativní vzorky promícháním se vzorky obsahujícími vysokou cílovou hladinu GBS (při koncentraci 1×10^7 KTJ/ml). Pozitivní a negativní vzorky byly nanášeny tak, aby každý negativní vzorek přiléhá ke vzorku vysoce pozitivnímu. Druhá část této studie zpracovala všechny negativní vzorky okamžitě po cyklu, který zpracoval všechny vzorky s vysokou koncentrací GBS. U negativních vzorků propojených se vzorky o vysoké hladině, ani u negativních vzorků, které následovaly po vzorcích s vysokou koncentrací GBS nebyla spatřena žádná kontaminace, což prokazuje absenci jakékoli příměsí a/nebo zkřížené kontaminace.

Účinnost kontroly

Na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System byla vyhodnocena účinnost kontroly zpracování vzorků obsažených v testovacím pásku NeuMoDx GBS Test Strip, která má ohlásit selhání jakéhokoli kroku zpracování nebo inhibici ovlivňující výkon analýzy NeuMoDx GBS Assay. Testované podmínky jsou reprezentativní pro kritická selhání zpracování, ke kterým by během zpracování vzorku mohlo teoreticky dojít a která by *nemusela být odhalena* čidly v přístroji, která výkon soustavy NeuMoDx System monitorují. Toto bylo posouzeno simulací selhání různých kroků v průběhu testování vzorku za účelem imitovat případnou chybu systému a umělým obohacením vzorků o známý inhibitor za účelem pozorovat snížení detekce kontroly zpracování vzorků neúčinným inhibitorem (viz *tabulka 12*). V případech, kdy chyby ve zpracování neměly neblahý dopad na výkon kontroly zpracování vzorků (BEZ PROMÝTÍ / BEZ PROČIŠTĚNÍ), byl test zopakován s GBS pozitivními vzorky (při koncentraci 400 KTJ/ml) za účelem potvrdit, že chyba ve zpracování nemá ŽÁDNÝ neblahý vliv ani na detekci cílové GBS. *Tabulka 12* shrnuje výsledky účinnosti kontrolního ověřovacího testu.

Tabulka 12: Shrnutí údajů o účinnosti kontroly

Podmínka	Očekávaný výsledek	Pozorovaný výsledek
Normal Processing (Běžné zpracování)	Negative (Negativní)	Negative (Negativní)
Normal Processing + Inhibitor (Běžné zpracování + inhibitor)	Unresolved (Nerozlišeno)	Unresolved (Nerozlišeno)
No Wash Reagent (Bez promývací reagentie)	Unresolved (Nerozlišeno) nebo Negative (Negativní)	Negative (Negativní)
No Wash Blowout (Bez pročištění)	Unresolved (Nerozlišeno) nebo Negative (Negativní)	Negative (Negativní)
No Release Reagent (Bez uvolňovací reagentie)	Indeterminate (Neurčitý)	Indeterminate (Neurčitý)
No PCR Master Mix Reagents (Bez reagentů PCR hlavní směsi)	Indeterminate (Neurčitý)	Indeterminate (Neurčitý)

Stabilita vzorku v systému

Na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System byly zpracovány vzorky s různým datem odběru v „čas 0“ a „čas 24“ za účelem stanovit stabilitu vzorku v systému pro analýzu NeuMoDx GBS Assay. Původně byly zpracovány jak klinicky GBS pozitivní, tak negativní vzorky a pak ponechány na pracovní desce po dobu 24 hodin předtím, než byly zpracovány podruhé. Mezi výsledky získanými z původního testu (čas 0) a testu 23 GBS negativních vzorků provedeného o 24 hodin později (čas 24) byla pozorována 100 % shoda [tabulka 13]. Po 24 hodinách přinesly všechny pozitivní vzorky, kromě jednoho, pozitivní výsledek pro 95,8% shodu s očekávaným výsledkem.

Tabulka 13: Shrnutí údajů týkajících se stability vzorků v systému

		Potvrzené pozitivní vzorky (vzorky A)		Potvrzené negativní vzorky (vzorky B)	
		Počet pozitivních	Počet negativních	Počet pozitivních	Počet negativních
Test 1	Čas 0	23	0	0	23
Test 2	Čas 24	22	1*	0	23
% shody		95,8		100	

* Jeden vzorek byl v čase 0 původně označen jako pozitivní; z dalšího hodnocení vyplynulo, že vzorek byl falešně označen jako pozitivní kvůli nízké hladině GBS DNA nebo neživému buněčnému materiálu, jelikož referenční laboratoř žádný růst bakterií GBS v kultuře neohlásila.

REFERENCE

- Zangwill KM, Schuchat A, Wenger JD. Group B streptococcal disease in the United States, 1990: report from a multistate active surveillance system. In Surveillance Summaries, November 20, 1992. MMWR 1992; 41:25–32.
- Schrag SJ, Zywicki S, Farley MM, Reingold AL, Harrison LH, Lefkowitz LB, et al. Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. N Engl J Med 2000; 342:15–20.
- CDC. Perinatal group B streptococcal disease after universal screening recommendations—United States, 2003–2005. MMWR 2007;56: 701–5.
- Phares CR, Lynfield R, Farley MM, Mohle-Boetani J, Harrison LH, Petit S, et al. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999–2005. JAMA 2008; 299:2056–65.
- CDC. Trends in perinatal group B streptococcal disease—United States, 2000–2006. MMWR 2009; 58:109–12.
- Active Bacterial Core Surveillance (ABCs) Report Emerging Infections Program Network Group B Streptococcus, 2014
- Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease: Revised Guideline from CDC. Morbidity and Mortality Weekly Report, November 19, 2010;59(No. RR-10);1-23
- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Richmond JY and McKinney RW, Fifth edition (2009). HHS Publication number (CDC) 21-1112.
- Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.
- Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP12-A2; 2008.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

NeuMoDx™ a NeuDry™ jsou ochranné známky společnosti NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® je registrovaná ochranná známka společnosti Roche Molecular Systems, Inc.

AcroMetrix™ je ochranná známka společnosti Thermo Fisher Scientific.

Monistat® je registrovaná ochranná známka společnosti Pfizer, Inc.

Yeast Gard Advanced™ je ochranná známka společnosti Lake Consumer Products, Inc.

Metamucil® je registrovaná ochranná známka společnosti Procter & Gamble.

Ex-lax® je registrovaná ochranná známka společnosti GSK plc.

Phillips® je registrovaná ochranná známka společnosti Bayer.

Kaopectate® je registrovaná ochranná známka společnosti SANOFI.

Neutrogena® je registrovaná ochranná známka společnosti Johnson & Johnson Consumer, Inc.

Dulcolax® je registrovaná ochranná známka společnosti SANOFI.

Fleet® je registrovaná ochranná známka společnosti C.B. Fleet Company.

Preparation H® je registrovaná ochranná známka společnosti Pfizer, Inc.

Vagisil™ je ochranná známka společnosti COMBE, Inc.

Norforms® je registrovaná ochranná známka společnosti C.B. Fleet Company.










FDS® je registrovaná ochranná známka společnosti WellSpring Pharmaceutical Corp.

K-Y™ Jelly je ochranná známka společnosti Reckitt Benckiser Group.

Pepto-Bismol™ je ochranná známka společnosti Procter & Gamble.

Gold Bond® je registrovaná ochranná známka společnosti SANOFI.

SYMBOLY

SYMBOL	VÝZNAM
R only	Pouze na lékařský předpis
	Výrobce
IVD	Zdravotnický prostředek pro diagnostiku <i>in vitro</i>
EC REP	Autorizovaný zástupce v Evropském společenství
REF	Katalogové číslo
LOT	Číslo šarže
	Datum spotřeby
	Omezení teploty
	Omezení vlhkosti
	Nepoužívejte opakovaně
	Obsahuje dostatečné množství pro <n> testů
	Prostudujte si návod k použití
	Upozornění
	Biologická rizika
CE	Značka CE



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

Zadavatel (AUS):
QIAGEN Pty Ltd
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148
Australia



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands



Technická podpora / vigilanční hlášení: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents