

REF **Testovací proužek 201200 NeuMoDx™ TV/MG Test Strip**
R only

UPOZORNĚNÍ: Pouze pro export do USA

IVD **Pro diagnostiku *in vitro* se systémy 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 TV/MG Assay prováděná pomocí molekulární soustavy NeuMoDx 96 Molecular System a NeuMoDx 288 Molecular System (soustava/soustavy NeuMoDx Molecular System) je rychlý, automatizovaný, kvalitativní a amplifikační *in vitro* test nukleové kyseliny pro přímou detekci a diferenciaci DNA bakterie *Trichomonas vaginalis* (TV) a/nebo *Mycoplasma genitalium* (MG) v klinických urogenitálních vzorcích. Analýza používá polymerázovou řetězovou reakci v reálném čase (Polymerase chain reaction, PCR) pro detekci DNA bakterií *Trichomonas vaginalis* a *Mycoplasma genitalium* ve vzorcích vaginálních výtěrů odebraných lékařem, vzorcích vaginálních výtěrů získaných v rámci samoodběru (odebraných v klinickém prostředí) a vzorků endocervikálních výtěrů, přičemž všechny vzorky jsou odebrané pomocí tamponu s polyesterovou špičkou s plastovým aplikátorem v univerzálním přepravním médiu (Universal Transport Medium, UTM-RT®, Copan Diagnostics, CA, USA, nebo BD™ Universal Viral Transport System, BD™ UVT, Becton, Dickinson and Company, MD, USA nebo rovnocenné médium), a v mužské a ženské moči. Analýza NeuMoDx TV/MG Assay je určena k použití jako pomůcka při diagnostice urogenitálních infekcí vyvolaných bakterií *Trichomonas vaginalis* a/nebo *Mycoplasma genitalium* u symptomatických i asymptomatických pacientů, není však určena pro vedení nebo sledování léčby infekcí TV nebo MG. K získání organismů pro epidemiologické testování a/nebo pro další testování citlivosti mohou být nezbytné souběžné kultury.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Analýza NeuMoDx TV/MG Assay je určena k detekci a diferenciaci DNA bakterií TV a MG současně. Analýza se zaměřuje na oblast kódující hypotetický protein (TVAG_305840) v genomu TV a sekvence kódující IgG blokující protein M a tymidylát kinázu v genomu MG. Na MG je zacíleno více oblastí, aby se minimalizovala pravděpodobnost falešných negativních vzorků, pokud by v jedné z cílených oblastí došlo k mutaci. Analýza NeuMoDx TV/MG Assay obsahuje kontrolu zpracování vzorků DNA (Sample Process Control, SPC1), která pomáhá sledovat přítomnost možných inhibičních látek a také selhání systému, procesu nebo reagentie, ke kterému může dojít během extrakce a amplifikace.

Pro testování vzorku moči za použití analýzy NeuMoDx TV/MG Assay se odebírá vzorek moči do běžného poháru na odběr moči bez konzervačních nebo přídatných látek. Aby byl vzorek připraven k testování, poměrná část vzorku moči se oddělí do druhé zkumavky kompatibilní se systémem NeuMoDx Molecular System a vloží se do systému v k tomu určených nosičích vzorků. U každého vzorku se poměrné množství 550 µl vzorku moči smíchá s lýzovým pufrům NeuMoDx Lysis Buffer 2 a molekulární soustava NeuMoDx Molecular System automaticky provede všechny kroky nezbytné k získání cílové nukleové kyseliny, přípravě izolované DNA pro amplifikaci pomocí polymerázové řetězové reakce v reálném čase a, pokud jsou přítomny, k amplifikaci a detekci produktů amplifikace (částí cílených genových sekvencí genomů TV a MG).

Pro testování vzorků výtěrů za použití analýzy NeuMoDx TV/MG Assay musí být výtěr z kanálku děložního hrdla nebo vaginální výtěr odebraný klinickým lékařem nebo pacientkou odebrán do 3 ml univerzálního přepravního média (UTM-RT, UVT) nebo rovnocenného média. Vzorek výtěru lze testovat přímo z primární zkumavky s přepravním médiem nebo z poměrné části nadávkované do sekundární zkumavky kompatibilní se soustavou NeuMoDx System a pomocí vhodného stojanu vzorků zavedené do soustavy NeuMoDx System, kde začne zpracování. U každého vzorku se poměrné množství 400 µl přepravního média smíchá s lýzovým pufrům NeuMoDx Lysis Buffer 2 a soustava NeuMoDx System automaticky provede všechny kroky nezbytné k získání cílové nukleové kyseliny, přípravě izolované DNA pro amplifikaci pomocí PCR v reálném čase a, pokud jsou přítomny, k amplifikaci a detekci cílů amplifikace (částí cílených genových sekvencí genomů TV a MG).

Trichomonas vaginalis je volně žijící prvok, který může kolonizovat povrchy epitelu sliznic. Je původcem nejběžnějších nevirových pohlavně přenosných infekcí (PPI) na celém světě a představuje celosvětově téměř polovinu všech léčitelných PPI.¹ Prevalence infekce způsobená TV je nejlépe zdokumentována ve Spojených státech amerických, kde jsou míry trvale vyšší než u infekcí vyvolaných *Chlamydia trachomatis* a *Neisseria gonorrhoeae*.² Ačkoli neexistují žádná doporučení pro rutinní screening infekcí vyvolaných TV u žen v běžné populaci. Centrum pro kontrolu nemocí (Center of Disease Control, CDC) ve Spojených státech amerických doporučuje diagnostické testování na TV u žen, které vyhledávají zdravotní péči kvůli vaginálnímu výtoku a u ošetřovaných asymptomatických pacientů nebo žen v prostředí s vysokou prevalencí.³ CDC doporučuje screening TV u těhotných žen pozitivních na HIV, protože infekce vyvolaná TV je vysoce rizikovým faktorem pro vertikální přenos HIV.³ Prevalence infekce vyvolané TV je u populace mužů méně zřejmá ve srovnání s populací žen. Přestože jde u mužů obvykle o asymptomatické onemocnění, je přítomnost *T. vaginalis* spojena s 5 % až 15 % případů nongonokokové uretritidy. V současné době pro muže neexistují žádná doporučení screeningu.

Přes rostoucí dostupnost molekulárních detekčních metod zůstává kultura pěstovaná na agaru zlatým standardem pro detekci *T. vaginalis*. Kromě toho diagnóza trichomoniázy tradičně závisí na mikroskopickém pozorování motilních prvků ve vaginálních nebo cervikálních vzorcích a v uretrálních nebo prostatických sekretech. Přestože tyto dvě metody zůstávají nepoužívanějšími diagnostickými testy na trichomoniázu, prokázalo se, že detekce *T. vaginalis* pomocí testu amplifikace nukleových kyselin (Nucleic Acid Amplification Testing, NAAT) je nejcitlivějším přístupem k diagnostice této infekce. Citlivost kultury ve srovnání s NAAT se pohybuje od 35 % do 78 %, zatímco její specifita je obvykle považována za 100%.⁴⁻⁶ Obdobně platí, že specifita mikroskopického pozorování stěrů je obecně vysoká, zatímco jeho citlivost je ve srovnání s NAAT i u symptomatických žen nízká, přičemž uváděná míra se pohybuje v rozmezí 34–58 %.⁴⁻⁶ Vzhledem ke své vynikající citlivosti na kultivaci a mikroskopii stěrů je NAAT nyní první volbou doporučovanou Centrem pro kontrolu a prevenci nemocí (Center for Disease Control and Prevention, CDC). Mikroskopické pozorování by nikdy nemělo být používáno jako screeningová metoda pro asymptomatické ženy.⁷

Mycoplasma genitalium je nejmenší známou samoreplikující se bakterií.⁸ Nemá buněčnou stěnu, a proto ji při Gramově barvení vzorku nelze zjistit.⁸ MG se vyskytuje převážně v močopohlavní soustavě u obou pohlaví s odhadovanou prevalencí 1–2 % v obecné populaci a je o něco častější u žen.⁹ *M. genitalium* je stále častěji považována za důležitou a všudypřítomnou příčinu řady pohlavně přenosných infekcí; tato bakterie je zodpovědná za více pohlavně přenosných infekcí než *Neisseria gonorrhoeae* a je druhou nejrozšířenější pohlavně přenosnou chorobou vedle infekcí vyvolaných bakterií *Chlamydia trachomatis* s mírou prevalence až 38 % ve vysoce rizikových populacích.⁹⁻¹⁶ Zatímco bakterie *M. genitalium* je často jediným zjištěným patogenem, koinfekce s bakterií *C. trachomatis* není ve vybraných oblastech neobvyklá.¹⁰⁻¹³

Infekce vyvolaná bakterií *Mycoplasma genitalium* je silně spojená s perzistující a recidivující uretritidou, u níž může být až u 40 % pacientů zjištěna MG, a s negonokokovou uretritidou (NGU).^{12,14} Několik studií potvrzuje souvislost infekce souvislost infekce s postkoitálním krvácením a cervicitidou, endometritidou a zánětlivým onemocněním páneve (pelvic inflammatory disease, PID).^{13,17-21} Ve většině studií bylo zjištěno, že tento organismus je častější u žen s cervicitidou než u žen bez tohoto onemocnění.^{11,17-18} Důkazy naznačují, že u většiny osob infikovaných bakterií *M. genitalium* v pohlavním ústrojí nedojde k rozvoji onemocnění; infekce bakterií *M. genitalium* u žen jsou běžně asymptomatické.^{11,22-23}

Navzdory rozšířené prevalenci je diagnostika infekce způsobené bakterií *M. genitalium* prováděna výhradně pomocí NAAT, a to kvůli špatnému a pomalému růstu bakterie v kultuře.^{10,24} Analýza NeuMoDx TV/MG Assay implementovaná v molekulárních soustavách NeuMoDx Molecular System umožňuje automatizovanou a přesnou detekci bakterií *Trichomonas vaginalis* a *Mycoplasma genitalium* současně.

PRINCIPY POSTUPU

Analýza NeuMoDx TV/MG Assay spojuje technologie extrakce DNA a amplifikaci/detekci pomocí PCR v reálném čase. Vzorky jsou odebrány do běžných pohárů na vzorky moči nebo do odběrových zkumavek na vzorky výtěrů (UTM-RT, UVT nebo rovnocenné médium). Soustava NeuMoDx System automaticky nasaje alikvotní podíl vzorku moči nebo výtěru a smíchá jej s pufrům NeuMoDx Lysis Buffer 2 a extrakčními reagenčními obsaženými na destičce NeuMoDx Extraction Plate a zahájí zpracování. Soustava NeuMoDx System automatizuje a integruje extrakci a zkoncentrování DNA, přípravu reagenčních a amplifikaci nukleové kyseliny a detekci cílové sekvence pomocí PCR v reálném čase. Zahrnutá procesní kontrola vzorku (Sample Process Control, SPC1) pomáhá monitorovat přítomnost potenciálních inhibičních látek, jakož i selhání systému, procesu nebo reagence. Jakmile je vzorek vložen do soustavy NeuMoDx System, není nutný žádný zásah obsluhy.

Soustava NeuMoDx System využívá kombinace zahřívání, lytického enzymu a extrakčních reagenčních k provedení buněčné lýzy, extrakce DNA a odstranění inhibitorů. Uvolněné nukleové kyseliny jsou zachyceny paramagnetickými částicemi. Mikrokuličky s navázanými nukleovými kyselinami se vloží do zásobníku NeuMoDx Cartridge, kde se nenavázané složky, jiné než DNA, dále vymyjí promývací reagenční NeuMoDx Wash Reagent, a navázaná DNA se eluuje pomocí uvolňovací reagenční NeuMoDx Release Reagent. Soustava NeuMoDx System pak používá eluovanou DNA k rehydrataci proprietárních amplifikačních reagenčních NeuDry™ obsahujících všechny prvky nezbytné pro amplifikaci cílů TV a MG, jakož i části sekvence SPC1. Tímto je umožněna simultánní amplifikace a detekce jak cílů, tak kontrolních sekvencí DNA. Po rekonstrukci suchých reagenčních PCR nadávkuje soustava NeuMoDx System připravenou PCR-ready směs do jedné PCR komory (na každý vzorek) zásobníku NeuMoDx Cartridge. K amplifikaci a detekci kontrolní a cílové (pokud je přítomna) sekvence DNA dochází v PCR komoře. Zásobník NeuMoDx Cartridge, včetně PCR komory, je určen k tomu, aby se v něm po PCR v reálném čase nacházel amplikon, 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 zháší fluorescenci emitovanou fluoroforem přes FRET (Förster Resonance Energy Transfer, Försterův rezonanční přenos energie).

Sondy TaqMan jsou určeny k reasociaci v oblasti DNA amplifikované 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 narušuje těsnou blízkost zhášedla, čímž překonává zhášecí účinek způsobený FRET a umožňuje zvýšení fluorescence.

Sonda TaqMan značená fluoroforem (excitace: 470 nm a emise: 510 nm) na 5' konci a tmavým zhášedlem na 3' konci se používá k detekci DNA MG a sonda TaqMan značená fluoroforem (excitace: 585 nm a emise: 610 nm) na 5'-konci a tmavým zhášedlem na 3'-konci se používá k detekci DNA TV. Pro detekci kontroly zpracování vzorku je sonda TaqMan značena alternativním fluorescenčním barvivem (excitace: 530 nm a emise: 555 nm) na 5' konci a tmavým zhášedlem na 3' konci. Soustava NeuMoDx System monitoruje fluorescenční signál emitovaný sondami TaqMan na konci každého amplifikačního cyklu. Po dokončení amplifikace soustava NeuMoDx System analyzuje data a ohlásí konečný kvalitativní výsledek (POSITIVE (POZITIVNÍ) / NEGATIVE (NEGATIVNÍ) / INDETERMINATE (NEURČITÝ) / UNRESOLVED (NEROZLIŠENO)).

REAGENCIE / SPOTŘEBNÍ MATERIÁL

Dodaný materiál

REF.	Obsah	Počet testů na jednotku	Počet testů v balení
201200	Testovací proužek NeuMoDx TV/MG Test Strip Suché reagence pro PCR v reálném čase obsahující TaqMan sondy a primery specifické pro TV/MG s TaqMan sondou a primery specifickými pro kontrolu zpracování vzorků.	16	96

Další potřebné materiály (k dispozici samostatně)

REF.	Obsah
100100	Zásobník NeuMoDx Cartridge
100200	Extrakční destička NeuMoDx Extraction Plate <i>Suché paramagnetické částice, lytický enzym a kontroly zpracování vzorků</i>
400500	Pufr NeuMoDx Lysis Buffer 2
400100	Promývací reagentie NeuMoDx Wash Reagent
400200	Uvolňovací reagentie NeuMoDx Release Reagent
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

- Tento test je určen pro diagnostiku *in vitro* pouze u soustav NeuMoDx System.
- Nepoužívejte spotřební materiály nebo reagentie po uplynutí uvedeného data expirace.
- Nepoužívejte žádné reagentie, pokud je porušena bezpečnostní pečť nebo pokud je obal při dodání poškozen.
- Spotřební materiál nebo reagentie nepoužívejte, pokud je ochranný váček při dodání otevřený nebo rozbitý.
- Nepoužívejte moč odebranou do nádob s konzervačními látkami. Analýza NeuMoDx TV/MG Assay s konzervačními látkami nebyla pro použití validována.
- Vzorky výtěrů by měly být odebírány pomocí polyesterového tampónu s plastovým aplikátorem. Analýza NeuMoDx TV/MG Assay nebyla pro použití s jinými typy stěrů validována.
- Vzorky výtěrů neodebírejte do jiných přepravních médiích než do média UTM-RT, UVT či do ekvivalentních medií. Analýza NeuMoDx TV/MG Assay nebyla pro použití s jinými přepravními médii validována.
- 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).
- Použití vzorků skladovaných při nesprávných teplotách nebo po uplynutí specifikovaných dob skladování může vést k neplatným nebo chybným výsledkům.
- Vyvarujte se mikrobiální a deoxyribonukleázové (DNáza) kontaminaci reagentií. 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 nevyjímajte kazety NeuMoDx Cartridge z nádoby na biologický nebezpečný odpad (NeuMoDx 288 Molecular System) nebo z koše na nebezpečný biologický odpad (NeuMoDx 96 Molecular System). 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 TV/MG Test Strip, spotřební materiál a reagentie nezbytné k testování, ochranné osobní prostředky, jako například rukavice a laboratorní pláště, a soustava NeuMoDx System nebudou kontaminovány.
- Při manipulaci s reagentiemi a spotřebním materiálem NeuMoDx byste měli nosit čisté nitrilové rukavice bez obsahu pudru. Měli byste dávat pozor, abyste se nedotýkali horní plochy zásobníku NeuMoDx Cartridge, fóliového těsnění testovacího proužku NeuMoDx TV/MG Test Strip, extrakční destičky NeuMoDx Extraction Plate či horního povrchu nádoby lýzového pufru NeuMoDx Lysis Buffer 2. Při manipulaci se spotřebním materiálem a reagentiemi byste se měli dotýkat pouze bočních stran.
- Pro každou reagentii jsou, v příslušných případech, poskytnuty bezpečnostní listy (BL), které jsou k dispozici na internetové stránce www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Po provedení testu si důkladně umyjte ruce.
- Nepipetujte ústy. Nekuřte, nepijte nebo nejezte v prostorech, kde se manipuluje se vzorky nebo reagentiemi 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*²⁵ a v dokumentu M29-A3²⁶ institutu CLSI.
- Nepoužité reagentie a odpad likvidujte podle státních, federálních, oblastních a místních předpisů.

UCHOVÁVÁNÍ, MANIPULACE A STABILITA PRODUKTU

- Testovací proužky NeuMoDx TV/MG Test Strip jsou stabilní v primárním obalu po dobu expirace, která je uvedena na štítku produktu, při uchovávání při teplotě mezi 15–23 °C.
- Po uplynutí uvedeného data expirace spotřební materiály ani reagentie nepoužívejte.
- Nepoužívejte žádný testovací produkt, pokud byl primární či sekundární obal viditelně narušen
- Nevkládejte žádný produkt testu, který byl již dříve vložen do jiné molekulární soustavy NeuMoDx Molecular System.
- Testovací proužek NeuMoDx TV/MG Test Strip může po vložení zůstat v přístroji systému NeuMoDx System po dobu 14 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

- Testovací pásek NeuMoDx TV/MG Test Strip byl testován za použití čistých vzorků ženské a mužské moči, vzorků z vaginálních výtěrů odebraných klinickým lékařem i pacientem a vzorků z výtěrů děložního hrdla. Vzorky výtěrů by měly být odebírány pomocí tamponu s polyesterovou špičkou a s plastovým aplikátorem (UTM-RT, UVT nebo ekvivalent). Účinnost s typy vzorků jinými, než jsou uvedeny, nebyla hodnocena.
- Odebraná moč by měla být během přepravy uchovávána při teplotě 2–8 °C.
- Odebrané vzorky výtěrů by měly být během přepravy udržovány při teplotě doporučené v soupravě na odběr výtěrů.
- Vzorky moči a výtěrů by před testováním měly být skladovány při teplotě 2–8 °C po dobu ne delší než 7 dní a při pokojové teplotě maximálně 8 hodin.

NÁVOD K POUŽITÍ

Odběr/přeprava vzorků

1. První zachycená moč (20–30 ml) by měla být odebrána do sterilního pohárku pro odběr moči.
2. Vaginální výtěry a také výtěry z děložního hrdla odebrané klinickým lékařem i samotnou pacientkou by měly být odebrány dle pokynů výrobce dodaných spolu s prostředkem pro odběr stěrů.
3. Pokud nejsou vzorky otestovány do 8 hodin, měly by být uchovávány při teplotě 2–8 °C po dobu maximálně 7 dnů.

Příprava testu — vzorky moči

1. Na zkumavku se vzorkem kompatibilním se systémem NeuMoDx System nalepte štítek s čárovým kódem na vzorky. Specifikace čárových kódů jsou uvedeny v návodu k obsluze molekulární soustavy NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System (výr. č. 40600108/40600317).
2. Vzorkem moči v původní odběrné nádobě jemně zakružte, čímž dosáhnete rovnoměrné distribuce.
3. Pomocí jiné přenosové pipety nebo hrotu pipety pro každý vzorek přeneste alikvotní podíl moči do zkumavky se vzorkem s čárovým kódem, kompatibilní se soustavou NeuMoDx System; dodržujte objemy definované níže:
 - Stojan na zkumavky se vzorkem (32 zkumavek): průměr 11–14 mm a výška 60–120 mm; minimální plnicí objem je $\geq 700 \mu\text{l}$
 - Stojan na zkumavky se vzorkem (24 zkumavek): průměr 14,5–18 mm a výška 60–120 mm; minimální plnicí objem je $\geq 1150 \mu\text{l}$
 - Stojan na zkumavky se vzorkem o malém objemu (32 zkumavek): 1,5ml mikrocentrifugační zkumavka s kónickým dnem; minimální plnicí objem je $\geq 650 \mu\text{l}$

Příprava testu — vzorky výtěrů

1. Na zkumavku se vzorkem, kompatibilní se soustavou NeuMoDx System, nalepte štítek s čárovým kódem na vzorky. Primární odběrová zkumavka na výtěry může být označena a umístěna přímo do 24- nebo 32místného stojanu na zkumavky se vzorky. Alternativně může být alikvotní podíl média pro výtěry přenesen do sekundární zkumavky pro zpracování v soustavě NeuMoDx System.
2. Pokud testujete vzorek v primární odběrové zkumavce, vložte zkumavku označenou čárovým kódem do stojanu na zkumavky se vzorkem a před vložením do soustavy NeuMoDx System se ujistěte, že je sejmuto víčko.
3. Pokud používáte sekundární zkumavku, přeneste alikvotní podíl přepravního média do zkumavky se vzorkem s čárovým kódem, která je kompatibilní se soustavou NeuMoDx System podle objemů definovaných níže:
 - Stojan na zkumavky se vzorkem (32 zkumavek): průměr 11–14 mm a výška 60–120 mm; minimální plnicí objem je $\geq 550 \mu\text{l}$
 - Stojan na zkumavky se vzorkem (24 zkumavek): průměr 14,5–18 mm a výška 60–120 mm; minimální plnicí objem je $\geq 1000 \mu\text{l}$
 - Stojan na zkumavky se vzorkem o malém objemu (32 zkumavek): 1,5ml mikrocentrifugační zkumavka s kónickým dnem; minimální plnicí objem je $\geq 500 \mu\text{l}$

Provoz soustavy NeuMoDx System

Podrobné pokyny jsou uvedeny v návodech k obsluze molekulárních soustav NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System (výr. č. 40600108 a 40600317).

1. Osadte jeden nebo více stojanů na testovací proužek (proužky) NeuMoDx Test Strip Carrier s testovacím proužkem (testovacími proužky) NeuMoDx TV/MG Test Strip a pomocí dotykové obrazovky vložte stojany na testovací proužky do soustavy NeuMoDx System.

2. Pokud vás software soustavy NeuMoDx System vyzve, přidejte potřebné spotřební materiály ke stojanům na spotřební materiál soustavy NeuMoDx System nezbytný spotřební materiál a a pomocí dotykové obrazovky vložte stojany do soustavy NeuMoDx System.
3. Pokud vás software soustavy NeuMoDx System vyzve, vyměňte podle potřeby promývací reagenty NeuMoDx Wash Reagent, uvolňovací reagenty NeuMoDx Release Reagent, vyprázdněte odpadní reagenty z plnění, nádobu na biologicky nebezpečný odpad (pouze molekulární soustava NeuMoDx 288 Molecular System), odpadní koš na hroty (pouze molekulární soustava NeuMoDx 96 Molecular System) nebo koš na nebezpečný biologický odpad (pouze molekulární soustava NeuMoDx 96 Molecular System).
4. Zkumavky se vzorkem vložte do příslušného stojanu na zkumavky se vzorkem a ujistěte se, že jsou ze všech zkumavek se vzorkem sejmuta víčka.
5. Stojan (stojany) na zkumavky se vzorky umístěte na příhradku automatického podavače a k vložení stojanu (stojanů) do soustavy NeuMoDx System použijte dotykovou obrazovku. Tím se zahájí zpracování vzorku (vzorků) vložených pro identifikované testy, pokud je v soustavě přítomna platná objednávka testu.

OMEZENÍ

- Testovací proužek NeuMoDx TV/MG Test Strip lze použít pouze na soustavách NeuMoDx Molecular System.
- Účinnost testovacího proužku NeuMoDx TV/MG Test Strip byla stanovena u vzorků mužské a ženské moči a vzorků z vaginálního výtěru a výtěru z děložního hrdla odebraného klinickým lékařem nebo pacientkou. Použití testovacího proužku NeuMoDx TV/MG Test Strip nebylo u jiných klinických zdrojů posuzováno a výkonové charakteristiky nejsou pro jiné typy vzorků známy.
- Protože detekce TV a MG závisí na množství přítomných organismů ve vzorku, závisí spolehlivost výsledků na správném odběru vzorků, manipulaci s nimi a jejich skladování.
- K chybným výsledkům testů může dojít kvůli nesprávnému odběru vzorků, zacházení s nimi, jejich nevhodnému skladování, technické chybě nebo nesprávné identifikaci zkumavek se vzorkem. Kromě toho mohou nastat falešně negativní výsledky, protože počet organismů ve vzorku je nižší, než je analytická citlivost testu.
- Obsluha soustavy NeuMoDx System je omezena pouze na personál vyškolený v používání soustavy NeuMoDx System.
- Pokud se kontrola zpracování vzorku neamplifikuje a výsledek analýzy NeuMoDx TV/MG Assay je negativní, bude ohlášen neplatný výsledek (Indeterminate (Neurčitý) nebo Unresolved (Nerozlišeno)) a test by měl být zopakován.
- Pozitivní výsledek testu nemusí nutně znamenat přítomnost životaschopných organismů. Avšak pro přítomnost DNA TV a/nebo MG je presumptivní.
- I když nejsou známy žádné kmeny/izoláty TV postrádající oblast pro TVAG_305840 nebo MG postrádající geny kódující protein M blokuující IgG a tymidylát kinázu, výskyt takového kmene by mohl vést při použití analýzy NeuMoDx TV/MG Assay k chybnému výsledku.
- Detekce za použití analýzy NeuMoDx TV/MG Assay může být ovlivněna mutacemi v oblastech vazby primeru/sondy.
- Výsledky analýzy NeuMoDx TV/MG Assay by měly být použity jako doplněk klinických pozorování a dalších informací, které má lékař k dispozici.
- Výsledky mohou být ovlivněny souběžnou léčbou antibiotiky, jelikož po antimikrobiální terapii může být stále detekována DNA TV a MG.
- Aby nedošlo ke kontaminaci vzorků, doporučujeme správnou laboratorní praxi, včetně výměny rukavic mezi jednotlivými manipulacemi se vzorky pacientů.

VÝSLEDKY

Soustavy NeuMoDx Molecular System

Dostupné výsledky testů lze zobrazit na kartě „Results“ (Výsledky) v okně Results (Výsledky) na dotykové obrazovce systému NeuMoDx System, případně odtud vytisknout. Výsledek testu je Positive (Pozitivní, POS), Negative (Negativní, NEG), Indeterminate (Neurčitý, IND) nebo Unresolved (Nerozlišeno, UNR) na základě stavu amplifikace cíle a procesní kontroly vzorku (Sample Process Control, SPC1).

Kritéria pro pozitivní či negativní hlášení jsou uvedena v souboru definic analýzy NeuMoDx System TV/MG (Assay Definition File, ADF), který je nainstalován na systému (systémech). Výsledky jsou uváděny na základě rozhodovacího algoritmu ADF, shrnutého v *tabulce 1* níže.

Tabulka 1. Shrnutí rozhodovacího algoritmu pro analýzu TV/MG Assay

VÝSLEDEK	CÍLE TV a/nebo MG	KONTROLA ZPRACOVÁNÍ (Sample Process Control, SPC1)
POS	Amplified (Amplifikováno)	Amplified (Amplifikováno) nebo Not Amplified (Není amplifikováno)
NEG	Not Amplified (Není amplifikováno)	Amplified (Amplifikováno)
IND (NEURČITÝ)	Not Amplified, System Error Detected (Není amplifikováno, byla zjištěna chyba systému)	
UNR (NEROZLIŠENO)	Not Amplified, No System Error Detected (Neamplifikováno, Nebyla zjištěna žádná chyba systému)	

Neplatné výsledky

Pokud se analýze NeuMoDx TV/MG Assay prováděné na systému NeuMoDx System nepodaří vyprodukovat platný výsledek, bude ohlášen buď jako Indeterminate (Neurčitý), nebo Unresolved (Nerozlišeno) podle typu chyby, ke které došlo, a pro získání platného výsledku by měl být test zopakován.

Výsledek Indeterminate (Neurčitý) bude oznámen tehdy, pokud je během zpracování vzorků detekována chyba soustavy NeuMoDx System.

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.

Kontrola kvality

Místní předpisy obvykle stanoví, že laboratoř je odpovědná za kontrolní postupy, které monitorují přesnost a preciznost celého analytického procesu, a musí stanovit počet, typ a četnost testů kontrolních materiálů pomocí ověřených specifikací výkonu pro nemodifikovaný a schválený testovací systém.

1. Společnost NeuMoDx Molecular, Inc. nebude poskytovat externí (uživatelé definované) kontrolní materiály. Příslušné kontroly musejí být vybrány a validovány laboratoří. Upozorňujeme, že jak pro matrici moči, tak pro matrici výtěru by měla být určena samostatná sada uživatelem definovaných kontrol pro test na TV/MG a tyto kontroly musejí splňovat stejné minimální specifikace na objem, jako klinické vzorky specifikované dříve na základě velikosti nosiče zkumavek se vzorky. Uživatel smí stanovit konkrétní čárové kódy pro pozitivní a negativní kontrolu a pro matrici.
2. Doporučení: Ředění externích kontrol NATtrol™ *T. vaginalis* External Run Controls cyklu (ZeptoMetrix NATTVPOS-6MC) 1 : 2000 a ředění externích kontrol NATtrol *Mycoplasma genitalium* External Run Control cyklu (ZeptoMetrix NATMGN-ERC) 1 : 200 v KOVA Liqa-TROL® (KOVA International 87123) pro kontrolu matrice moči a s médiem UTM-RT pro kontrolu matrice výtěru. Negativní kontrola by měla sestávat pouze z média KOVA Liqa-TROL nebo UTM-RT. Při zpracování kontrolního materiálu umístěte označený kontrolní materiál do stojanu na zkumavky se vzorkem a k založení stojanu do soustavy NeuMoDx System z přihrádky automatického podavače použijte dotykovou obrazovku. Na základě nadefinování uživatelem soustava NeuMoDx System rozpozná čárové kódy a začne se zpracováním kontrol, dokud nebudou k dispozici příslušné reagentie nebo spotřební materiál nutný k testování.
3. Každý testovací proužek NeuMoDx TV/MG Test Strip obsahuje primery a sondu specifické pro kontrolu zpracování vzorků 1 (Sample Process Control, SPC1). Toto kontrolní zpracování vzorků umožňuje soustavě NeuMoDx System sledovat účinnost extrakce DNA a procesy amplifikace pomocí PCR.
4. Pozitivní výsledek testu vykázaný pro vzorek negativní kontroly může indikovat problém s kontaminací vzorku. Tipy pro řešení problémů naleznete v *návodu k obsluze molekulárních soustav NeuMoDx 288 Molecular System nebo NeuMoDx 96 Molecular System*.
5. Negativní výsledek u vzorku pozitivní kontroly může naznačovat problém související s reagentií nebo soustavou NeuMoDx System. Tipy pro řešení problémů naleznete v *návodu k obsluze molekulárních soustav NeuMoDx 288 Molecular System nebo NeuMoDx 96 Molecular System*.

VÝKONOVÁ CHARAKTERISTIKA

Klinická účinnost – vzorky moči

Klinické výkonové charakteristiky analýzy NeuMoDx TV/MG Assay byly stanoveny pomocí srovnávací studie metod za použití zbytkových a prospektivně odebraných klinických vzorků moči pocházejících ze tří geograficky odlišné lokalizovaných klinických laboratoří.

Klinické zbytkové vzorky pozitivní na TV a potenciální vzorky moči od symptomatických a asymptomatických pacientů klinické laboratoře deidentifikovaly a přidělily jim jedinečné identifikační číslo, čímž byl vytvořen důvěrný seznam spojující ID pacienta s deidentifikovanými vzorky testovanými pro účely studie. Další vzorky pozitivní na MG a TV/MG byly uměle připraveny v negativní moči, aby se kompenzoval nízký výskyt MG stejně jako koinfekce TV/MG. Testováno bylo celkem 166 vzorků poskytnutých ze dvou klinických laboratoří a 46 uměle připravených vzorků. Mezi těmito 212 celkovými vzorky bylo 43 vzorků referenčním laboratorním testováním identifikováno jako TV pozitivní a 46 vzorků bylo identifikováno jako MG pozitivních. Šestnáct vzorků bylo pozitivně testováno jak na TV, tak na MG, což ukazuje na duální infekci nebo koinfekci. Výsledek testování těchto vzorků byl od pracovníka obsluhy odebrán pro provedení „slepého stanovení“. K provedení srovnávací analýzy byly použity výsledky oznámené specifickými molekulárními zařízeními zákonným způsobem dodávanými na trh, schválenými CE-IVD a FDA, které laboratoře používají při běžném vyšetření pacienta.

Výsledky analýzy NeuMoDx TV/MG Assay poskytly klinickou citlivost 98,3 % u cílové TV a 100 % u cílové MG, oboje vykazaly hodnotu intervalu spolehlivosti CI 95 %. Klinická specifická ze studie byla stanovena jako 100% jak pro cíle TV, tak pro cíle MG, opět s použitím 95% intervalu spolehlivosti CI. Spodní a horní meze 95% CI uvedené v *tabulkách 2A a 2B* níže byly vypočteny za použití Wilsonovy procedury.

Tabulka 2A. Souhrn klinického výkonu – detekce *T. vaginalis* s analýzou NeuMoDx TV/MG Assay (moč)

TV		Schválení CE-IVD/FDA Výsledek referenčního testu		
		POZ	NEG	Celkem
NeuMoDx Analýza TV/MG	POZ	58	0	58
	NEG	1	153	154
	Celkem	59	153	212
Klinická citlivost (TV) = 98,3 % (95% CI: 91,0–99,7 %)				
Klinická specifita (TV) = 100 % (95% CI: 97,6–100 %)				

Tabulka 2B. Souhrn klinického výkonu – detekce *M. genitalium* s analýzou NeuMoDx TV/MG Assay (moč)

MG		Schválení CE-IVD/FDA Výsledek referenčního testu		
		POZ	NEG	Celkem
NeuMoDx Analýza TV/MG	POZ	62	0	62
	NEG	0	114	114
	Celkem	62	114	176
Klinická citlivost (MG) = 100 % (95% CI: 94,7–100 %)				
Klinická specifita (MG) = 100 % (95% CI: 96,7–100 %)				

Klinická účinnost – vzorky výtěrů

Klinické výkonové charakteristiky analýzy NeuMoDx TV/MG Assay byly stanoveny pomocí srovnávací studie metod za použití prospektivně odebraných klinických vzorků vaginálních výtěrů (odebraných samotnou pacientkou nebo lékařem) a výtěrů z děložního hrdla.

Potenciální vzorky vaginálních výtěrů (n = 163) a výtěrů z děložního hrdla (n = 163) byly odebrány u symptomatických a asymptomatických pacientek, klinické laboratoře je deidentifikovaly a přidělily jim jedinečné identifikační číslo, čímž byl vytvořen důvěrný seznam spojující ID pacientky s deidentifikovanými vzorky testovanými pro účely studie. Aby se kompenzovala nízká incidence infekce a koinfekce, byl vytvořen další tříčlenný panel vzorků pozitivních na TV, MG a TV/MG v klinicky negativních vaginálních a endocervikálních výtěrech, celkem 80 uměle připravených vzorků pro každý typ výtěru. Z 243 vzorků vaginálního výtěru bylo 67 identifikováno jako pozitivní na TV a 54 jako pozitivní na MG. Z 243 vzorků endocervikálního výtěru bylo 61 identifikováno jako pozitivní na TV a 54 jako pozitivní na MG. Výsledek testování těchto vzorků byl od pracovníka obsluhy odebrán pro provedení „slepého stanovení“. K provedení srovnávací analýzy byly použity výsledky oznámené specifickými molekulárními zařízeními zákonným způsobem dodávanými na trh, schválenými CE-IVD a FDA, které laboratoře používají při běžném vyšetření pacienta.

Výsledky analýzy NeuMoDx TV/MG Assay, provedené na vzorcích vaginálních výtěrů, poskytly klinickou citlivost 98,5 % u cílové TV a 96,3 % u cílové MG, oboje výsledky vykázaly hodnotu intervalu spolehlivosti CI 95 %. Klinická specifita ze studie byla stanovena na 95,5 % u TV a 99,5 % u MG, znovu při použití CI 95 %. Spodní a horní meze 95% CI uvedené v *tabulkách 3A a 3B* níže byly vypočteny za použití Wilsonovy procedury.

Tabulka 3A. Souhrn klinického výkonu – detekce *T. vaginalis* s analýzou NeuMoDx TV/MG Assay (vaginální výtěr)

TV		Schválení CE-IVD/FDA Výsledek referenčního testu		
		POZ	NEG	Celkem
NeuMoDx Analýza TV/MG	POZ	66	8	74
	NEG	1	168	169
	Celkem	67	176	243
Klinická citlivost (TV) = 98,5 % (95% CI: 90,9–99,2 %)				
Klinická specifita (TV) = 95,5 % (95% CI: 90,9–97,9 %)				

Tabulka 3B. Souhrn klinického výkonu – detekce *M. genitalium* s analýzou NeuMoDx TV/MG Assay (vaginální výtěr)

MG		Schválení CE-IVD/FDA Výsledek referenčního testu		
		POZ	NEG	Celkem
NeuMoDx Analýza TV/MG	POZ	52	1	53
	NEG	2	188	190
	Celkem	54	189	243
Klinická citlivost (MG) = 96,3 % (95% CI: 86,2–99,4 %)				
Klinická specifita (MG) = 99,5 % (95% CI: 96,6–99,9 %)				

Výsledky analýzy NeuMoDx TV/MG Assay, provedené na vzorcích endocervikálních výtěrů, poskytly klinickou citlivost 100 % u cílové TV a 96,3 % u cílové MG, oboje výsledky vykázaly hodnotu intervalu spolehlivosti CI 95 %. Klinická specifita ze studie byla stanovena na 96,2% u TV a 99,5 % u MG, znovu při použití CI 95 %. Spodní a horní meze 95% CI uvedené v *tabulkách 4A a 4B* níže byly vypočteny za použití Wilsonovy procedury.

Tabulka 4A. Souhrn klinického výkonu – detekce *T. vaginalis* s analýzou NeuMoDx TV/MG Assay (endocervikální výtěr)

TV		Schválení CE-IVD/FDA Výsledek referenčního testu		
		POZ	NEG	Celkem
NeuMoDx Analýza TV/MG	POZ	61	7	68
	NEG	0	175	175
	Celkem	61	182	243
Klinická citlivost (TV) = 100 % (95% CI: 92,6–100 %)				
Klinická specifičnost (TV) = 96,2% (95% CI: 91,9–98,3 %)				

Tabulka 4B. Souhrn klinického výkonu – detekce *M. genitalium* s analýzou NeuMoDx TV/MG Assay (endocervikální výtěr)

MG		Schválení CE-IVD/FDA Výsledek referenčního testu		
		POZ	NEG	Celkem
NeuMoDx Analýza TV/MG	POZ	52	1	53
	NEG	2	188	190
	Celkem	54	189	243
Klinická citlivost (MG) = 96,3 % (95% CI: 86,2–99,4 %)				
Klinická specifičnost (MG) = 99,5% (95% CI: 96,6–99,9 %)				

Analytická citlivost – moč

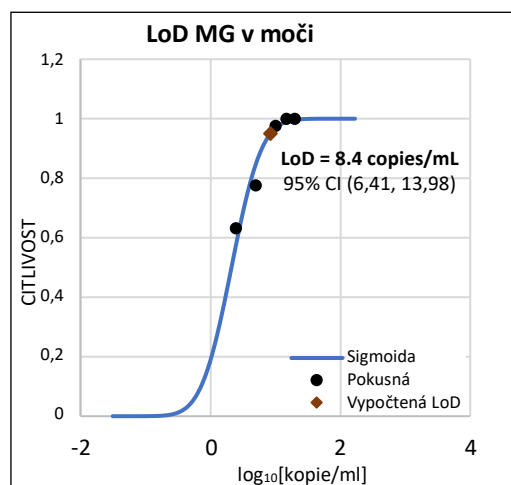
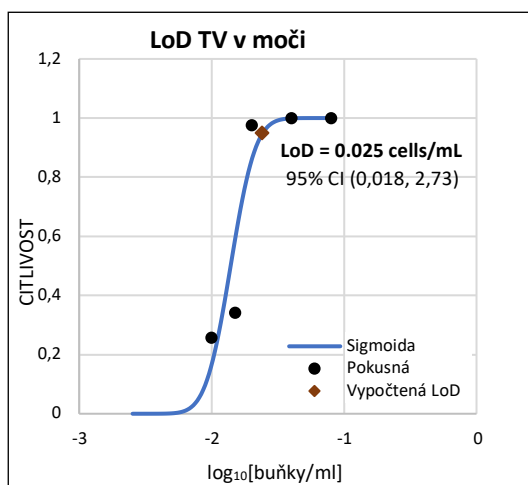
Mez detekce (LoD) analýzy NeuMoDx TV/MG Assay byla stanovena ve spojené zdravé dárcovské moči obohacené kmenem *Trichomonas vaginalis* G3 (ATCC PRA-98) nebo kmenem *Mycoplasma genitalium* G37 (ATCC 33530), které jsou uvedené v *tabulkách 5A a 5B*. Testy byly prováděny se 40 replikáty na každé úrovni, u kterých jsou míry detekce uvedeny níže. Ke stanovení meze detekce analýzy NeuMoDx TV/MG Assay – **0,025 buněk/ml TV a 8,4 kopií/ml MG** – byl použit probitový model analýzy ve studii míry shody (hit-rate); viz obr. 1 níže.

Tabulka 5A. Pozitivní míry detekce TV v moči – stanovení meze detekce analýzy NeuMoDx TV/MG Assay.

TV (buněk/ml)	n	Počet POZ	% POZ	LoD (Probit)
0,08	40	40	100	0,025 buněk/ml
0,04	40	40	100	
0,02	39	38	97,4	
0,015	39	13	33,3	
0,01	39	10	25,6	
0	40	0	0	

Tabulka 5B. Pozitivní míry detekce MG v moči – stanovení meze detekce analýzy NeuMoDx TV/MG Assay.

MG (kopie/ml)	n	Počet POZ	% POZ	LoD (Probit)
20	38	38	100	8,4 kopií/ml
15	38	38	100	
10	40	39	97,5	
5	40	31	77,5	
2,5	38	24	63,2	
0	40	0	0	



Obrázek 1: Stanovení meze detekce analýzy NeuMoDx TV/MG Assay pomocí probitové analýzy.

Analytická citlivost – vaginální výtěr

LoD analýzy NeuMoDx TV/MG Assay byla stanovena v prospektivně odebraných negativních vzorcích vaginálních výtěrů obohacených kmenem *Trichomonas vaginalis* G3 (ATCC PRA-98) nebo kmenem *Mycoplasma genitalium* G37 (ATCC 33530), které jsou uvedené v *tabulkách 6A a 6B*. Testy byly prováděny se 40 replikáty na každé úrovni, u kterých jsou míry detekce uvedeny níže. Ke stanovení meze detekce analýzy NeuMoDx TV/MG Assay se vzorky vaginálních výtěrů – **0,04 buněk/ml TV a 14,8 kopií/ml MG** byla použita kombinace míry sody a probitové analýzy.

Tabulka 6A. Pozitivní míry detekce TV ve vaginálních výtěrech – stanovení meze detekce analýzy NeuMoDx TV/MG Assay.

TV (buňky/ml)	n	Počet POZ	% POZ	LoD
0,3	38	38	100	0,04 buněk/ml
0,15	39	39	100	
0,075	40	40	100	
0,04	39	39	100	
0	39	0	0	

Tabulka 6B. Pozitivní míry detekce MG ve vaginálních výtěrech – stanovení meze detekce analýzy NeuMoDx TV/MG Assay.

MG (kopie/ml)	n	Počet POZ	% POZ	LoD (Probit)
80	40	40	100	14,8 kopií/ml
40	38	38	100	
20	40	39	97,5	
10	40	35	87,5	
5	39	24	61,5	
0	39	0	0	

Analytická citlivost – endocervikální výtěr

LoD analýzy NeuMoDx TV/MG Assay byla stanovena v prospektivně odebraných negativních vzorcích endocervikálních výtěrů obohacených kmenem *Trichomonas vaginalis* G3 (ATCC PRA-98) nebo kmenem *Mycoplasma genitalium* G37 (ATCC 33530), které jsou uvedené v *tabulkách 7A a 7B*. Testy byly prováděny se 40 replikátů na každé úrovni, u kterých jsou míry detekce uvedeny níže. Ke stanovení meze detekce analýzy NeuMoDx TV/MG Assay se vzorky endocervikálních výtěrů – **0,15 buněk/ml TV a 17,2 kopií/ml MG byla použita kombinace míry sody a probitové analýzy**.

Tabulka 7A. Pozitivní míry detekce TV v endocervikálních výtěrech – stanovení meze detekce analýzy NeuMoDx TV/MG Assay.

TV (buňky/ml)	n	Počet POZ	% POZ	LoD
0,15	40	40	100	0,15 buněk/ml
0,075	38	21	55,3	
0,004	39	12	30,8	
0	40	0	0	

Tabulka 7B. Pozitivní míry detekce MG v endocervikálních výtěrech – stanovení meze detekce analýzy NeuMoDx TV/MG Assay.

MG (kopie/ml)	n	Počet POZ	% POZ	LoD (Probit)
80	38	38	100	17,2 kopií/ml
40	40	40	100	
20	40	39	97,5	
10	40	32	80	
5	40	26	65	
0	40	0	0	

Detekce variant

Analytická citlivost analýzy NeuMoDx TV/MG Assay byla dále potvrzena pěti dalšími kmeny TV a třemi kmeny MG uvedenými níže v *tabulce 8*. Cíle na specifikovaných úrovních byly přidány s vyloučením šumu do negativních vzorků moči před testováním při 1–2× příslušné LoD, jak je uvedeno výše, za účelem potvrzení $\geq 95\%$ detekce. Varianty kmenů, které tento požadavek nespĺňovaly, byly znovu testovány při vyšších koncentracích, dokud nebylo dosaženo detekce $\geq 95\%$. Hladina, při které bylo tohoto dosaženo pro jednotlivé kmeny, je uvedena v *tabulce 8* jako LoD pro tuto variantu.

Tabulka 8. Testované variantní kmeny TV a MG

	Kmen	n	Koncentrace (buňky/ml)	POZ	NEG	Míra detekce (%)
T. vaginalis	87464 (ATCC 30094)	20	0,04	20	0	100
	RU 393 (ATCC 393)	20	0,04	20	0	100
	JH 31A #4 (ATCC 30236)	20	0,04	20	0	100
	JH 32A #4 (ATCC 30238)*	20	0,04	19	1	95
	CDC 085 (ATCC 50143)*	20	0,12**	17	3	85
M. genitalium	M30 (ATCC 48985)	19	0,10***	19	0	100
	R32G (ATCC 48987)	19	2×10^{-4}	19	0	100
	TW 10-5G (ATCC 49123)	19	5×10^{-3}	19	0	100

* Kmen rezistentní na metronidazol

** Titrace kmene *T. vaginalis* CDC 085 byla zastavena před zaznamenáním $\geq 95\%$ detekce; výše uvedená koncentrace není uvedením meze detekce pro tento kmen.

*** Kvantifikováno v CCU/ml

Analytická specifičnost – zkřížená reaktivita v přítomnosti mikroorganismů

Při testování analýzou NeuMoDx TV/MG Assay bylo celkem 84 kultivovaných izolátů DNA z mikroorganismů potenciálně kohabitujičích nebo fylogeneticky podobných buď TV, nebo MG hodnoceno na možnou zkříženou reaktivitu. Organismy byly připraveny ve směsích po 5–6 organismech na každou směs a testovány při vysoké koncentraci. Bakteriální organismy a houby byly přidány s vyloučením šumu do směsné moči negativní na TV/MG při koncentraci $6,7 \times 10^4 - 9 \times 10^9$ KTJ/ml a virových agens při 10^6 kopií DNA/ml, není-li uvedeno jinak. U žádného z mikroorganismů testovaných v této studii nebyla pozorována zkřížená reaktivita. Seznam testovaných organismů je uveden v *tabulce 9*.

Tabulka 9. Seznam patogenů použitých k prokázání analytické specifičnosti

Bakterie	Bakterie	Bakterie
<i>Achromobacter xerosis</i>	<i>Kingella denitrificans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Rahnella aquatilis</i>
<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Rhizobium radiobacter</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Rhodospirillum rubrum</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Lactobacillus jensenii</i>	<i>Salmonella enterica</i>
<i>Atopobium vaginae</i>	<i>Lactobacillus vaginalis</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Brevibacterium linens</i>	<i>Mobiluncus curtisii</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Chlamydia trachomatis*</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Chromobacterium violaceum</i>	<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Trichomonas tenax***</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Moraxella osloensis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum**</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	<i>Mycoplasma faucium</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Mycoplasma fermentans</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	Houby
<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>Mycoplasma orale</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Mycoplasma penetrans**</i>	<i>Candida glabrata</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Mycoplasma pirum***</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Mycoplasma primatum</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Mycoplasma salivarium***</i>	Viry
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Cytomegalovirus
<i>Escherichia coli</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	HIV-1 [†]
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Prevotella bivia</i>	HPV-16
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	HSV-1
<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	HSV-2
<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Providencia stuartii</i>	

Pokud není uvedeno níže, bakterie a houby jsou kvantifikovány v KTJ/ml a viry jsou kvantifikovány v kopiích/ml.

* kvantifikováno v EB/ml

** kvantifikováno v CCU/ml

*** kvantifikováno v buňkách/ml

[†] kvantifikováno v IU/ml

Interference – mikroorganismy

Analýza NeuMoDx TV/MG Assay byla na interferenci testována za přítomnosti necílových organismů (kohabitujičích v urogenitálním traktu) vyhodnocením analýzy NeuMoDx TV/MG Assay při nízkých hladinách TV a MG na molekulární soustavě NeuMoDx Molecular System. Pro tuto studii byl použit stejný panel 84 organismů [tabulka 9] použitý pro hodnocení zkřížené reaktivity. Organismy byly spojeny do skupin po 4–6 ve směsné moči s TV/MG negativní moči a obohacené o cíle TV (0,125 buněk/ml) a MG (45 kopií/ml). Nebyla pozorována žádná interference s žádným z komenzálních organismů.

Interference – endogenní a exogenní látky vzniklé v klinických vzorcích moči

Výkon analýzy NeuMoDx TV/MG Assay byl hodnocen v přítomnosti potenciálně interferujících látek, které mohou být spojeny s odběrem vzorků moči u pacienta [tabulka 10]. Směsná negativní moč obohacená o TV (0,125 buněk/ml) a MG (42,5 kopií/ml) byla poté dávkována s endogenními a exogenními skupinami ve specifikovaných koncentracích a zpracována. U žádných z látek nebyla v koncentracích uvedených v *tabulce 10* níže pozorována žádná interference.

Tabulka 10. Testované exogenní a endogenní interferující látky – vzorky moči

	Látka	Koncentrace
Endogenní	Kyselá moč	pH 4
	Alkalická moč	pH 9
	Hovězí sérový albumin	10 mg/ml
	Semenná tekutina	5,0% (obj./obj.)
	Metabolity moči	Zvýšené úrovně*
Exogenní	Acetaminofen	3,2 mg/ml
	Azithromycin	1,8 mg/ml
	AZO Urinary Pain Relief® (fenazopyridin)	0,1 mg/ml
	Doxycyklin	3,6 mg/ml
	Vaginální gel Metronidazol	0,2 mg/ml
	Deodorant Norforms® ve formě čípků	0,25% (hm./obj.)
	Progesteron	4 mg/ml**
	Mastkový prášek	0,10% (hm./obj.)
Deodorant Vagisil® v prášku	0,25% (hm./obj.)	

* Účinek zvýšených hladin metabolitů v moči byl vyhodnocen substitucí moči za vysoce abnormální kontrolu moči KOVA-Trol® I s urobilinogenem KOVA-Trol® I High Abnormal Urine Control with Urobilinogen (KOVA International 87533).

** Hladina progesteronu uváděná jako výsledek stanovení odezvy na dávku od 8 mg/ml.

Interference – endogenní a exogenní látky zjištěné v klinických vzorcích výtěru z krku

Výkon analýzy NeuMoDx TV/MG Assay byl hodnocen v přítomnosti potenciálně interferujících látek, které mohou být spojeny s odběrem vzorků výtěrů u pacienta [tabulka 11]. Směsné negativní vzorky vaginálních výtěrů odebraných samotnými pacientkami obohacené o TV (0,40 buněk/ml) a MG (150 kopií/ml) byly poté dávkovány s endogenními a exogenními skupinami ve specifikovaných koncentracích a zpracovány. U žádné z látek nebyla v koncentracích uvedených v tabulce 11 níže pozorována žádná interference.

Tabulka 11. Testované exogenní a endogenní interferující látky – vzorky výtěrů

	Látka	Koncentrace
Endogenní	Krev	7% (obj./obj.)
	Mucin	71 mg/ml
	Mononukleární buňky periferní krve	10 ⁵ buněk/ml
Exogenní	Krém Abreva®	43,8 mg/ml
	Vaginální krém Klotrimazol	76,6 mg/ml
	Osobní lubrikační gel K-Y® Jelly	167,7 mg/ml
	Vaginální krém Metronidazol	122,2 mg/ml
	Miconazole-3	60 mg/ml
	Monistat® 1	80,4 mg/ml
	Krém Preparation H®	65 mg/ml
	Progesteron	10 mg/ml
	Replens™ Moisturizer	9,45 mg/ml
	Semenná tekutina	71,2 mg/ml
	Léčivý výplach Summer's Eve®	69,5 mg/ml
	Krém proti svědění Vagisil	5,3 mg/ml
	Zvlhčovač Vagisil	7,9 mg/ml
	Vaginální antikoncepční pěna VCF®	47,2 mg/ml
Výplach Yeast Gard Advanced™	68,9 mg/ml	

Reprodukovatelnost mezi šaržemi

Reprodukovatelnost mezi šaržemi analýzy NeuMoDx TV/MG Assay byla ověřena zpětnou analýzou kvalitativních dat z testů pro tři různé šarže testovacího proužku NeuMoDx TV/MG Test Strip. Tato data byla získána pomocí funkčního testování reagensů na kapalném vzorku moči KOVA-Trol obohaceného o reprezentativní kmeny TV (0,1 buňky/ml) a MG (40 kopií/ml). Pro jednu šarži testovacího proužku NeuMoDx TV/MG Test Strip bylo zpracováno celkem 32 pozitivních a 8 negativních replikátů. Odchylka v celé výrobní šarži se analyzovala stanovením průměrné hodnoty C_t , směrodatné odchylky a variačního koeficientu v procentech (% CV), viz *tabulka 12*. Hodnoty směrodatné odchylky ≤ 1 a variační koeficient $\leq 2,5$ % pro cíle TV a MG prokázaly vynikající reprodukovatelnost mezi šaržemi testovacích proužků NeuMoDx TV/MG Test Strip.

Tabulka 12. Analýza % CV podle cílů napříč šaržemi testovacích proužků NeuMoDx TV/MG Test Strip

	TV			MG			Všechny výsledky		
	\bar{C}_t	C_t SD	% CV	\bar{C}_t	C_t SD	% CV	\bar{C}_t	C_t SD	% CV
TV/MG Test Strip (pro 3 šarže)	32,99	0,67	2,0%	35,36	0,82	2,3%	32,09	0,45	1,4%

Účinnost kontroly

Na molekulární soustavě NeuMoDx Molecular System byla pomocí analýzy NeuMoDx CT/NG Assay jako modelu vyhodnocena účinnost kontroly zpracování vzorků obsažené v testovacím proužku NeuMoDx TV/MG Test Strip, která má ohlásit selhání jakéhokoli kroku zpracování nebo inhibici ovlivňující výkon analýzy NeuMoDx TV/MG Assay. Testované podmínky jsou reprezentativní pro kritická selhání procesních kroků, k nimž by mohlo případně dojít během zpracování vzorku a *nemusejí být detekovány* přístrojovými snímači, které monitorují výkon soustavy NeuMoDx System. Účinnost kontroly byla hodnocena simulací selhání různých kroků toku zpracování vzorku s cílem napodobit potenciální chybu systému. Účinnost byla dále hodnocena obohacením vzorku známým inhibitorem za účelem pozorování efektu neúčinného zmírnění vlivu inhibitoru na detekci kontroly zpracování vzorku (viz *tabulka 13*). V případech, kdy chyby ve zpracování neměly neblahý dopad na výkon kontroly zpracování vzorků (NO WASH/NO WASH BLOWOUT (BEZ PROMYTÍ / BEZ PROČIŠTĚNÍ)), byl test zopakován také se vzorky obsahujícími nízké hladiny CT a NG (blízko LoD) za účelem potvrdit, že chyba ve zpracování nemá žádný neblahý vliv ani na detekci cílové CT nebo NG. *Tabulka 13* shrnuje výsledky účinnosti kontrolního ověřovacího testu.

Tabulka 13. 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 reagensů PCR hlavní směsi)	Indeterminate (Neurčitý)	Indeterminate (Neurčitý)

Křížová kontaminace

Míra křížové kontaminace pro analýzu NeuMoDx TV/MG Assay byla stanovena testováním čtyř (4) cyklů střídání vysoce pozitivních a negativních vzorků TV a MG v médiu UVT. Negativní replikáty byly zpracovány v mozaikové konfiguraci s replikáty vysoce pozitivními na TV (10^5 buněk/ml) a MG (10^6 KTJ/ml) a ihned na to byly zpracovány a vyhodnoceny čtyři (4) další cykly všech negativních replikátů, aby se vyhodnotil důkaz křížové kontaminace. Všechny replikáty negativních vzorků byly hlášeny jako negativní, což je důkazem, že během zpracování vzorku plazmy na soustavě NeuMoDx System k žádné křížové kontaminaci nedošlo.

REFERENCE















1. WHO Bulletin. Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016 Jane Rowley et al. Bulletin World Health Organ 2019;97:548–562P | doi: <http://dx.doi.org/10.2471/BLT.18.228486>
<https://www.who.int/reproductivehealth/curable-stis/en/>
2. Sexually transmitted disease surveillance 2018. <https://www.cdc.gov/std/trichomonas/stats.htm>
3. Centers for the Disease Control and Prevention. 2015 Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. <https://www.cdc.gov/std/tg2015/trichomoniasis.htm>
4. Guillermo Madico, Thomas C. Quinn, Anne Rompalo, Kelly T. McKee, Jr., and Charlotte A. Gaydos. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* Infection by PCR Using Vaginal Swab Samples. *J Clin Microbiol.* 1998 Nov; 36(11): 3205–3210.
5. Karen A. Wendel, Emily J. Erbeling, Charlotte A. Gaydos, and Anne M. Rompalo. *Trichomonas vaginalis* Polymerase Chain Reaction Compared with Standard Diagnostic and Therapeutic Protocols for Detection and Treatment of Vaginal Trichomoniasis. *Clinical Infectious Diseases*, Volume 35, Issue 5, 1 September 2002, Pages 576–580.
6. Patil MJ¹, Nagamoti JM, Metgud SC. Diagnosis of *Trichomonas Vaginalis* from Vaginal Specimens by Wet Mount Microscopy, In Pouch TV Culture System, and PCR. *J Glob Infect Dis.* 2012 Jan;4(1):22-5. doi: 10.4103/0974-777X.93756.
7. Van Der Pol B. Clinical and Laboratory Testing for *Trichomonas vaginalis* Infection. *J Clin Microbiol.* 2016;54(1):7–12. doi:10.1128/JCM.02025-15
8. Falk L, Fredlund H, Jensen JS. Signs and symptoms of urethritis and cervicitis among women with or without *Mycoplasma genitalium* or *Chlamydia trachomatis* infection. *Sex Transm Infect* 2005;81:73–8.
9. Munoz JL, Goje OJ. *Mycoplasma genitalium*: an emerging sexually transmitted infection. *Scientifica (Cairo).* 2016;2016:7537318. doi:10.1155/2016/7537318
10. Centers for the Disease Control and Prevention. Emerging Issues. 2015 Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. <https://www.cdc.gov/std/tg2015/trichomoniasis.htm>
11. Huppert JS, Mortensen JE, Reed JL, et al. *Mycoplasma genitalium* detected by transcription-mediated amplification is associated with *Chlamydia trachomatis* in adolescent women. *Sex Transm Dis* 2008;35:250–4.
12. Mena L, Wang X, Mroczkowski TF, et al. *Mycoplasma genitalium* infections in asymptomatic men and men with urethritis attending a sexually transmitted diseases clinic in New Orleans. *Clin Infect Dis* 2002;35:1167–73.
13. Falk L. The overall agreement of proposed definitions of mucopurulent cervicitis in women at high risk of chlamydia infection. *Acta Derm Venereol* 2010;90:506–11.
14. Patrick J Horner, David H Martin Author Notes. *Mycoplasma genitalium* Infection in Men. *The Journal of Infectious Diseases*, Volume 216, Issue suppl_2, 15 July 2017, Pages S396–S405, <https://doi.org/10.1093/infdis/jix145>
15. Josephine B. Slifirski, Lenka A. Vodstrcil, Christopher K. Fairley, Jason J. Ong, Eric P.F. Chow, Marcus Y. Chen, Timothy R.H. Read¹, and Catriona S. Bradshaw. Emerging Infectious Diseases, CDC, Volume 23, Number 11—November 2017 *Mycoplasma genitalium* Infection in Adults Reporting Sexual Contact with Infected Partners, Australia, 2008–2016.
16. Suneeta Soni, et al, British Association for Sexual Health and HIV national guideline for the management of infection with *Mycoplasma genitalium* (2018). International Journal of STD and AIDS. Volume: 30 issue: 10, page(s): 938-950. July 7, 2019. <https://doi.org/10.1177/0956462419825948>
17. Anagrus C, Lore B, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: prevalence, clinical significance, and transmission. *Sex Transm Infect* 2005;81:458–62.
18. Manhart LE, Critchlow CW, Holmes KK, et al. Mucopurulent cervicitis and *Mycoplasma genitalium*. *J Infect Dis* 2003;187:650–7.
19. Gaydos C, Maldeis NE, Hardick A, et al. *Mycoplasma genitalium* as a contributor to the multiple etiologies of cervicitis in women attending sexually transmitted disease clinics. *Sex Transm Dis* 2009;36:598–606.
20. Mobley VL, Hobbs MM, Lau K, et al. *Mycoplasma genitalium* infection in women attending a sexually transmitted infection clinic: diagnostic specimen type, coinfections, and predictors. *Sex Transm Dis* 2012;39:706–9.
21. Lusk MJ, Konecny P, Naing ZW, et al. *Mycoplasma genitalium* is associated with cervicitis and HIV infection in an urban Australian STI clinic population. *Sex Transm Infect* 2011;87:107–9.
22. Casin I, Vexiau-Robert D, De La Salmoniere P, et al. High prevalence of *Mycoplasma genitalium* in the lower genitourinary tract of women attending a sexually transmitted disease clinic in Paris, France. *Sex Transm Dis* 2002;29:353–9.
23. Korte JE, Baseman JB, Cagle MP, et al. Cervicitis and genitourinary symptoms in women culture positive for *Mycoplasma genitalium*. *Am J Reprod Immunol* 2006;55:265–75.
24. 2016 European guideline on *Mycoplasma genitalium* infections. https://www.iusti.org/regions/Europe/pdf/2016/IUSTI_mycoplasma_guidelines2016.pdf
25. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014

OCHRANNÉ ZNÁMKY

NeuMoDx™ je ochranná známka společnosti NeuMoDx Molecular, Inc.
NeuDry™ je ochranná známka společnosti NeuMoDx Molecular, Inc.
Abreva® je registrovaná ochranná známka společnosti GlaxoSmithKline plc.
ATCC® je registrovaná ochranná známka sbírky American Type Culture Collection.
AZO Urinary Pain Relief® je registrovaná ochranná známka společnosti DSM.
Hamilton® je registrovaná ochranná známka společnosti Hamilton.
K-Y® Brand je registrovaná ochranná známka společnosti Reckitt Benckiser LLC.
KOVA-Trol® je registrovaná ochranná známka společnosti KOVA International, Inc.
Liqua-TROL® je registrovaná ochranná známka společnosti KOVA International, Inc.
Monistat® a Summer's Eve® jsou registrované ochranné známky společnosti Prestige Consumer Healthcare, Inc.
NATtrol™ je ochranná známka společnosti ZeptoMetrix Corporation.
Norforms® je registrovaná ochranná známka společnosti Fleet Company, Inc.
Preparation H® je registrovaná ochranná známka společnosti Pfizer, Inc.
Replens™ je ochranná známka společnosti Church & Dwight Co., Inc.
TaqMan® je registrovaná ochranná známka společnosti Roche Molecular Systems, Inc.
Vagisil® je registrovaná ochranná známka společnosti Combe, Inc.
VCF® je registrovaná ochranná známka společnosti Apothecus Pharmaceutical Corp.
Yeast Gard Advanced™ je ochranná známka společnosti Lake Consumer Products, Inc.

Všechny ostatní názvy produktů, ochranné známky a registrované ochranné známky, které se mohou objevit v tomto dokumentu, jsou majetkem příslušných vlastníků.

SYMBOLY

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