

REF 200400 NeuMoDx™ GBS Test Strip
R only

ATTENZIONE: solo per l'esportazione negli Stati Uniti

IVD Per uso diagnostico *in vitro* con NeuMoDx 288 e NeuMoDx 96 Molecular System

 Per gli aggiornamenti dei fogli illustrativi, andare su: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Per istruzioni dettagliate, fare riferimento al Manuale dell'operatore del NeuMoDx 288 Molecular System; P/N 40600108

Per istruzioni dettagliate fare riferimento al Manuale dell'operatore del NeuMoDx 96 Molecular System; P/N 40600317

USO PREVISTO

Il NeuMoDx GBS Assay utilizzato sul NeuMoDx 288 Molecular System e sul NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(s)) è un test diagnostico qualitativo *in vitro* progettato per la rilevazione del DNA dello streptococco di gruppo B (Group B *Streptococcus*, GBS) da arricchimenti per 18-24 ore in brodo Lim di tamponi vaginali/rettali da donne in gravidanza. Il test comprende l'estrazione automatizzata del DNA per isolare l'acido nucleico target dal campione e la reazione a catena della polimerasi real-time (polymerase chain reaction, PCR) per rilevare una regione di 88 bp della sequenza genica *pcsB* nel cromosoma *Streptococcus agalactiae*. I risultati del test NeuMoDx GBS Assay possono essere utilizzati per contribuire a determinare lo stato di colonizzazione nelle donne nel periodo ante partum.

Il test NeuMoDx GBS Assay non fornisce risultati circa la predisposizione. Sono necessari isolati coltivati per eseguire un test di predisposizione come consigliato per le donne allergiche alla penicillina.

SOMMARIO E SPIEGAZIONI

Un tampone vaginale/rettale viene prelevato e trasportato in laboratorio utilizzando sistemi di trasporto del tampone batteriologico standard contenenti un terreno di trasporto non nutritivo. Sono disponibili in commercio adeguati terreni di trasporto (ad es. di Amies o Stuart). In laboratorio, il campione è sottoposto a inoculazione nel terreno in brodo selettivo come il brodo Lim (brodo Todd-Hewitt integrato con colistina e acido nalidixico). Dopo l'incubazione del brodo selettivo inoculato per 18-24 ore a 37°C in aria ambiente o con CO₂ al 5%, un'aliquota del brodo viene miscelata con NeuMoDx Lysis Buffer 4 per cominciare a lisare il campione e viene interamente processata sul NeuMoDx System utilizzando i reagenti NeuMoDx GBS Test Strip. Il NeuMoDx System estrae automaticamente l'acido nucleico target e amplifica una sezione della sequenza genica *pcsB* del cromosoma GBS, se presente. NeuMoDx GBS Test Strip include un controllo di processo del campione di DNA (Sample Process Control, SPC1) per monitorare la presenza di potenziali sostanze inibitorie, nonché errori del sistema o del reagente che possono essere riscontrati durante i processi di estrazione e amplificazione.

GBS è un batterio Gram-positivo presente nel 10-35% degli adulti sani. Un soggetto portatore di GBS, ma che non presenta i sintomi dell'infezione da GBS, viene definito "colonizzato" da GBS. I GBS sono batteri normalmente associati al corpo umano. In determinate circostanze, il GBS può invadere il corpo e provocare gravi infezioni; si tratta, in questo caso, dell'infezione da *streptococco* di gruppo B¹

Il GBS può provocare gravi malattie in un neonato ed è noto come la principale causa di infezione batterica potenzialmente letale nei neonati. Un certo numero di ceppi batterici patogeni circola nella comunità, e le infezioni neonatali vengono contratte per circa l'80% al momento della nascita per trasmissione verticale (da madre a figlio). La ricerca ha dimostrato che il GBS colonizza la mucosa della regione ano-genitale del 25-40% delle donne sane. Prima dell'avvio della prevenzione attiva, si stima che ogni anno si siano verificati 7.500 casi di infezione neonatale da GBS negli Stati Uniti.¹ Cali notevoli nell'incidenza della patologia coincidono con l'aumento delle attività di prevenzione negli anni Novanta² e un'ulteriore riduzione si è verificata in seguito alla pubblicazione della raccomandazione per uno screening universale nel 2002.³ Nonostante l'introduzione della profilassi antibiotica negli Stati Uniti, l'infezione da GBS rimane la principale causa infettiva di morbilità e mortalità tra i neonati negli Stati Uniti, all'incirca 2.000 casi di infezioni neonatali all'anno, con un tasso di mortalità stimato di 0,27 per 1.000 nati vivi.⁴⁻⁶

L'attuale standard di cura per la prevenzione dell'infezione neonatale da GBS consiste nell'effettuare lo screening delle donne in gravidanza alla 35a-37a settimana di gestazione, al fine di determinare il loro stato di colonizzazione da GBS.⁷ Quando il test volto ad accertare la presenza del GBS viene eseguito per coltura, possono essere necessarie fino a 48 ore per l'identificazione definitiva del GBS dopo la fase di incubazione iniziale \geq 18 ore. La striscia reattiva NeuMoDx GBS Test Strip, utilizzata sul NeuMoDx System può fornire risultati per i primi 8 campioni entro un'ora dopo la fase di incubazione/arricchimento iniziale \geq 18 ore. Il test NeuMoDx GBS Assay rende più efficiente e semplifica il processo di analisi, eliminando la necessità dell'intervento dell'operatore dal momento in cui il campione viene collocato nel sistema a quello in cui i risultati sono resi disponibili.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

In seguito al periodo di incubazione di 18-24 ore, il brodo arricchito viene utilizzato per rilevare la presenza di GBS. Il NeuMoDx System miscelerà 25 μ L del brodo Lim con il tampone di lisi NeuMoDx Lysis Buffer 4 e reagenti per l'estrazione per iniziare la processazione. Il NeuMoDx System automatizza e integra l'estrazione e la concentrazione del DNA, la preparazione dei reagenti, l'amplificazione e la rilevazione degli acidi nucleici della sequenza target mediante PCR real-time. Il controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control) è anch'esso incorporato nelle fasi di elaborazione dei campioni e di amplificazione per monitorare la presenza di potenziali sostanze inibitorie, nonché errori del sistema o del reagente. Una volta caricato il campione sul NeuMoDx System non è necessario alcun intervento dell'operatore.

I NeuMoDx System utilizzano una combinazione di calore, enzima litico e reagenti per l'estrazione per eseguire la lisi cellulare, l'estrazione del DNA e l'eliminazione degli inibitori. Gli acidi nucleici rilasciati vengono catturati da particelle paramagnetiche. Le particelle, con gli acidi nucleici legati, sono caricate nella NeuMoDx Cartridge dove i componenti non legati e diversi dal DNA vengono ulteriormente rimossi con NeuMoDx Wash Reagent e il DNA legato viene eluito utilizzando il NeuMoDx Release Reagent. I NeuMoDx System utilizzano quindi il DNA rilasciato per reidratare i reagenti di proprietà esclusiva di NeuDry™ contenenti tutti gli elementi necessari per l'amplificazione del target specifico di GBS. I reagenti per PCR essiccati contengono anche i componenti richiesti per amplificare una sezione della sequenza del controllo di processo del campione al fine di consentire l'amplificazione e la rilevazione simultanee di sequenze di DNA target e di controllo. Dopo la ricostituzione dei reagenti PCR NeuDry, il NeuMoDx System dispensa la miscela pronta per PCR in una camera PCR (per campioni) NeuMoDx Cartridge. Amplificazione e rilevazione delle sequenze di DNA di controllo e target (se presente) avvengono nella camera per PCR. La camera e la cartuccia sono progettate per contenere l'amplicone dopo la PCR real-time ed eliminare fondamentalmente il rischio di contaminazione post-amplificazione.

I target amplificati vengono rilevati in tempo reale utilizzando la chimica delle sonde a idrolisi (comunemente nota come chimica TaqMan®) che si avvale di molecole di sonde oligonucleotidiche fluorogeniche specifiche per gli ampliconi per i rispettivi target. Le sonde TaqMan sono costituite da un fluoroforo legato covalentemente all'estremità 5' della sonda oligonucleotidica e da un quencher all'estremità 3'. Mentre la sonda è intatta, il fluoroforo e il quencher sono in prossimità, di conseguenza la molecola quencher estingue la fluorescenza emessa dal fluoroforo tramite il trasferimento di energia per risonanza descritto da Theodor Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Le sonde TaqMan sono progettate in modo tale da eseguire l'annealing all'interno di una regione del DNA amplificata da un set specifico di primer. Quando la Taq DNA polimerasi estende il primer e sintetizza il nuovo filamento, l'attività di esonucleasi 5' - 3' della Taq DNA polimerasi degrada la sonda che ha eseguito l'annealing allo stampo. La degradazione della sonda rilascia il fluoroforo da essa e interrompe la prossimità al quencher, superando così l'effetto di smorzamento (quenching) dovuto alla FRET e consentendo la rilevazione della fluorescenza del fluoroforo. Il segnale di fluorescenza risultante rilevato nel termociclatore per PCR quantitativa è direttamente proporzionale al fluoroforo rilasciato e può essere correlato alla quantità di DNA target presente nella PCR.

Una sonda TaqMan contrassegnata da un fluoroforo (Eccitazione: 490 nm ed Emissione: 521 nm) all'estremità 5' e un quencher scuro all'estremità 3' vengono utilizzati per rilevare il DNA di GBS. Per il rilevamento del controllo di elaborazione dei campioni, la sonda TaqMan è contrassegnata con un colorante fluorescente alternativo (Eccitazione: 535 nm ed Emissione: 556 nm) all'estremità 5' e un quencher scuro all'estremità 3'. Il NeuMoDx System monitora il segnale fluorescente emesso dalle sonde TaqMan alla fine di ogni ciclo di amplificazione. Quando l'amplificazione è completa, il NeuMoDx System analizza i dati e riporta un risultato finale (POSITIVE (POSITIVO) / NEGATIVE (NEGATIVO) / INDETERMINATE (INDETERMINATO) / UNRESOLVED (IRRISOLTO)).

REAGENTI/MATERIALI DI CONSUMO

Materiali in dotazione

REF	Contenuto	Test per unità	Test per confezione
200400	NeuMoDx GBS Test Strip <i>Reagenti per PCR essiccati contenenti sonda TaqMan specifica per GBS e primer, sonda TaqMan specifica per il controllo di processo del campione e primer.</i>	16	96

Reagenti e materiali di consumo necessari ma non in dotazione (disponibili separatamente da NeuMoDx)

REF	Contenuto
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Particelle paramagnetiche, enzima litico e controlli di elaborazione dei campioni essiccati</i>
400700	NeuMoDx Lysis Buffer 4
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Puntali Hamilton CO-RE / CO-RE II (300 µL) con filtri
235905	Puntali Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µL) con filtri

Strumentazione richiesta

NeuMoDx 288 Molecular System [RIF 500100] O NeuMoDx 96 Molecular System [RIF 500200]

⚠AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Per uso diagnostico *in vitro* solo con i NeuMoDx System.
- Non usare i reagenti dopo la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare alcun reagente se il sigillo di sicurezza è rotto o se la confezione risulta danneggiata all'arrivo.
- Non utilizzare i reagenti se il sacchetto protettivo è aperto o rotto all'arrivo.
- Il volume minimo del campione dell'aliquota secondaria dipende dalle dimensioni della provetta/dal portaprovette per campioni come definiti di seguito. Un volume al di sotto del minimo specificato può generare un errore "Quantity Not Sufficient" (Quantità non sufficiente).
- L'esecuzione di test al di fuori delle condizioni consigliate dal Centro per la prevenzione e il controllo delle malattie (Center for Disease Control, CDC) può produrre risultati errati quando si usa il test NeuMoDx GBS Assay.
- Evitare sempre la contaminazione microbica e da desossiribonucleasi (DNasi) dei reagenti. Si raccomanda l'uso di pipette di trasferimento monouso sterili prive di DNasi. Utilizzare una nuova pipetta per ciascun campione.

- Per evitare la contaminazione, non manipolare o spezzare nessuna NeuMoDx Cartridge dopo l'amplificazione. Non recuperare in nessun caso le cartucce post-amplificazione dai materiali di scarto. La cartuccia NeuMoDx Cartridge è stata progettata in modo da prevenire la contaminazione.
- Nei casi in cui anche i test PCR a provetta aperta vengono condotti dal laboratorio, occorre prestare particolare attenzione affinché la striscia reattiva NeuMoDx GBS Test Strip, gli altri reagenti necessari per l'esecuzione del test e il NeuMoDx System non siano contaminati.
- Durante la manipolazione dei reagenti e dei materiali di consumo NeuMoDx, è necessario indossare guanti in nitrile, puliti e privi di polvere. Occorrerà prestare particolare attenzione a non toccare la superficie superiore della cartuccia NeuMoDx Cartridge o la superficie della pellicola sigillante della striscia reattiva NeuMoDx GBS Test Strip o della piastra di estrazione NeuMoDx Extraction Plate; la manipolazione dei prodotti dovrà essere eseguita toccando esclusivamente le superfici laterali.
- Le schede di sicurezza sono disponibili su richiesta.
- Attenersi alle istruzioni riportate nel/nei *Manuale/i dell'operatore del NeuMoDx 288/96 Molecular System* per le soluzioni detergenti consigliate da utilizzare sul sistema.
- Non pipettare con la bocca. Non fumare, mangiare o bere nelle aree in cui vengono manipolati i campioni o i reagenti del kit.
- Maneggiare sempre i campioni come se fossero infettivi e in conformità con procedure di laboratorio sicure, come quelle descritte in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁸ e nel Documento M29-A4⁹ del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).
- Smaltire i reagenti inutilizzati e i materiali di scarto in conformità alle normative nazionali, federali, provinciali, regionali e locali.

STOCCAGGIO, MANIPOLAZIONE E STABILITÀ DEL PRODOTTO

- Reagenti e materiali di consumo NeuMoDx sono stabili nell'imballaggio primario a temperature comprese tra 18 e 28 °C fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta del prodotto.
- Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare alcun prodotto di test se la confezione primaria o quella secondaria è stata visivamente compromessa.
- Una volta caricata, la NeuMoDx GBS Test Strip può restare a bordo del NeuMoDx System per 28 giorni. Il periodo di validità residuo delle strisce reattive caricate è tracciato dal software e segnalato all'utente in tempo reale. La rimozione di una striscia reattiva utilizzata oltre il periodo consentito sarà richiesta dal sistema.

PRELIEVO, TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

1. I campioni costituiti da tamponi vaginali/rettali prelevati da donne nel periodo ante partum per l'arricchimento in brodo Lim dovranno essere prelevati, conservati e manipolati secondo le procedure cliniche raccomandate dal CDC.⁷
2. I campioni dovranno essere trasportati al laboratorio in un terreno di trasporto non nutritivo come Amies o Stuart.
3. Se i tamponi vaginali e rettali vengono prelevati separatamente dalla stessa paziente, entrambi i tamponi possono essere collocati nel medesimo contenitore del terreno di trasporto.
4. Etichettare in modo chiaro i campioni, specificando che sono destinati all'esecuzione del test volto ad accertare la presenza del GBS; l'etichetta dovrà inoltre indicare se deve essere effettuato il test di sensibilità agli antibiotici.
5. Rimuovere il/i tampone/i dal terreno di trasporto e inoculare un terreno in brodo selettivo consigliato come il brodo Lim [brodo Todd-Hewitt integrato con colistina e acido nalidixico].
6. Incubare brodo selettivo inoculato (brodo Lim) per 18-24 ore a 37 °C in aria ambiente o con CO₂ al 5%.
7. Procedere con la sezione Preparazione del test.

ISTRUZIONI PER L'USO

Preparazione del test

1. Applicare l'etichetta con codice a barre del campione su una provetta per campioni compatibile con NeuMoDx System.
2. Agitare con delicatezza su vortex il campione in brodo arricchito per ottenere una distribuzione uniforme.
3. Se si esegue l'esame su un campione secondario, utilizzare una pipetta di trasferimento per trasferire ≥ 1 mL di brodo Lim nella provetta per campioni con codice a barre. Utilizzare una pipetta di trasferimento diversa per ciascun campione. La provetta secondaria deve soddisfare le seguenti specifiche delle provette compatibili con il NeuMoDx System in base al portaprovette per campioni utilizzato per l'elaborazione.
 - Portaprovette per campioni (32 provette): 11 - 14 mm di diametro e 60 - 120 mm di altezza
 - Portaprovette per campioni (24 provette): 14,5 - 18 mm di diametro e 60 - 120 mm di altezza
 - Portaprovette per campioni a volume ridotto (32 provette): Provetta per microcentrifuga a fondo conico da 1,5 mL

Funzionamento dei NeuMoDx System

1. Nei supporti del sistema inserire secondo necessità i seguenti materiali di consumo e utilizzare il touchscreen per caricare il/i supporto/i nel NeuMoDx System:
 - a. Puntali per pipette da 1000 µL
 - b. Puntali per pipette da 300 µL
 - c. NeuMoDx Cartridge
 - d. NeuMoDx Extraction Plate
 - e. NeuMoDx GBS Test Strip
 - f. NeuMoDx Lysis Buffer 4 (**NOTA: rimuovere la pellicola sigillante dai recipienti prima del caricamento**)
2. Sostituire NeuMoDx Wash e NeuMoDx Release Reagents e svuotare i residui liquidi del priming secondo necessità.
3. Svuotare il contenitore dei materiali di scarto a rischio biologico secondo necessità o se suggerito dal software del NeuMoDx System.
4. Caricare le provette per campioni in un portaprovette per campioni e assicurarsi che da tutte le provette siano stati rimossi i tappi.
5. Posizionare il portaprovette per campioni sul ripiano del caricatore automatico e utilizzare il touchscreen per caricare il supporto nel sistema. In questo modo si avvierà la processazione del/dei test.

LIMITAZIONI

- La striscia reattiva NeuMoDx GBS Test Strip può essere utilizzata solo sui sistemi NeuMoDx.
- Le prestazioni del test NeuMoDx GBS Assay sono state stabilite con campioni vaginali/rettali prelevati da pazienti nel periodo ante partum utilizzando tamponi in un terreno di trasporto non nutritivo (come Amies o Stuart), dopo l'arricchimento con impiego di brodo Lim selettivo. Le prestazioni del test NeuMoDx GBS Assay sono state validate solo con brodo Lim. Le prestazioni non sono state validate con altri terreni di arricchimento in brodo selettivo dei GBS.
- L'impiego del test NeuMoDx GBS Assay con altre fonti cliniche non è stato valutato e le caratteristiche delle prestazioni di questo test sono sconosciute per altri tipi di campioni.
- Poiché il rilevamento dello *streptococco* di gruppo B dipende dal numero di organismi presenti nel campione, l'affidabilità dei risultati dipende da prelievo, manipolazione e conservazione dei campioni in modo adeguato.
- Eventuali risultati errati dei test potrebbero essere dovuti al fatto di non aver eseguito correttamente il prelievo, il trattamento o la conservazione, a errori tecnici o a scambi di campioni. Inoltre, possono verificarsi risultati falsi negativi perché il numero di organismi nel campione è inferiore alla sensibilità analitica del test.
- L'esecuzione del test è limitata all'uso da parte di personale addestrato all'utilizzo del NeuMoDx System.
- Se il controllo del processamento dei campioni non amplifica e il risultato del NeuMoDx GBS Assay è Negative (Negativo), verrà riportato un risultato non valido (Indeterminate (Indeterminato) o Unresolved (Irrisolto)) e il test deve essere ripetuto.
- Un risultato positivo non indica necessariamente la presenza di organismi vitali. Tuttavia, lascia presumere la presenza di DNA di *streptococco* di gruppo B.
- Risultati negativi non escludono la presenza del GBS e non dovranno essere impiegati come unica base per il trattamento o per adottare altre decisioni in merito alla gestione del paziente.
- La colonizzazione da GBS durante la gravidanza può essere intermittente, persistente o transitoria. L'utilità clinica dello screening del GBS diminuisce quando il test viene eseguito più di cinque settimane prima del parto.
- Il test NeuMoDx GBS non fornisce risultati circa la predisposizione. Sono necessari isolati coltivati per eseguire un test di predisposizione come raccomandato per le donne allergiche alla penicillina.
- Sebbene non vi siano ceppi/isolati di GBS noti privi del gene *pcsB*, l'incidenza di un tale ceppo potrebbe generare un risultato errato utilizzando la striscia reattiva NeuMoDx GBS Test Strip.
- Mutazioni nelle regioni di legame primer/sonda possono influenzare il rilevamento utilizzando la striscia reattiva NeuMoDx GBS Test Strip.
- I risultati del test NeuMoDx GBS Assay dovranno essere impiegati in aggiunta alle osservazioni cliniche e ad altre informazioni disponibili al medico. Il test non ha lo scopo di differenziare i portatori di *streptococco* di gruppo B da quelli con infezione da streptococco. I risultati del test possono essere influenzati da una terapia antibiotica concomitante, dato che il DNA del GBS può continuare a essere rilevato in seguito a terapia antimicrobica.
- Si raccomandano buone pratiche di laboratorio, compreso il cambio di guanti tra una manipolazione dei campioni dei pazienti e l'altra, per evitare la contaminazione dei campioni.

RISULTATI

Valori attesi - Prevalenza

Circa il 10-40% delle donne in gravidanza presenta una colonizzazione da GBS. Lo screening, basato su coltura sia della vagina sia del retto, volto ad accertare la presenza di GBS in gravidanza avanzata (in genere alla 35^a-37^a settimana), durante l'assistenza prenatale, è in grado di individuare donne che potrebbero essere colonizzate da GBS al momento del parto. Nel corso dello studio comparativo tra metodi clinici, 1193 campioni di brodo Lim residuo sono stati inclusi nella sperimentazione e testati in tre laboratori geograficamente distinti degli Stati Uniti. La prevalenza complessiva del GBS nello studio, in base allo standard aureo dei risultati di identificazione delle colture, forniti come il metodo di riferimento per tutti i campioni inclusi, è stata pari al 21,9% (261/1193) con un IC 95% del (19,6%-24,3%), calcolata impiegando il metodo per il calcolo dell'intervallo di confidenza al 95% secondo la linea guida CLSI EP12-A2.¹⁰ I tassi di prevalenza effettivi possono variare tra località geografiche in base alle popolazioni di pazienti locali.

NeuMoDx 288/96 Molecular System

I risultati disponibili possono essere visualizzati o stampati dalla scheda "Results" (Risultati) nella finestra Results (Risultati) sul touchscreen del NeuMoDx System.

I risultati del test sono generati automaticamente dal software del NeuMoDx System. Un risultato del test può essere riportato come Negative (Negativo), Positive (Positivo), Indeterminate (Indeterminato) o Unresolved (Irrisolto) in base allo stato di amplificazione del target e al controllo di elaborazione del campione. I risultati sono riportati nella *Tabella 1* in base all'algoritmo decisionale.

Tabella 1: Algoritmo decisionale relativo al test NeuMoDx GBS Assay

Result (Risultato)	GBS C _t	Controllo di elaborazione dei campioni (SPC1) C _t
Positive (Positivo)	9 < C _t < 37 Ed EP > 3000	N/A
Negative (Negativo)	N/A O C _t < 9 O > 37	25 < C _t < 35 Ed EP > 2000
Indeterminate (Indeterminato)	N/A ERRORE DI SISTEMA RILEVATO	N/A ERRORE DI SISTEMA RILEVATO
Unresolved (Irrisolto)	Non rilevato	Non rilevato

EP = Fluorescenza nel punto finale (dopo correzione della linea basale)

Controllo qualità

Le norme CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments, Emendamenti di miglioramento del laboratorio clinico) specificano che il laboratorio ha la responsabilità di avere procedure di controllo che garantiscano l'accuratezza e la precisione dell'intero processo analitico, dovendo stabilire il numero, il tipo e la frequenza dei test sui materiali di controllo, tramite specifiche prestazionali verificate per un sistema di test non modificato e autorizzato o approvato dalla FDA (Titolo 42 del Codice normativo federale CFR, Sezione 493.1256).

1. I materiali di controllo esterno non saranno forniti da NeuMoDx Molecular, Inc.; dal laboratorio devono essere scelti e validati controlli adeguati.
Controllo positivo consigliato: 10 µL di controllo positivo AcroMetrix™ GBS Positive Control (Thermo Fisher Scientific RIF 960041) diluito in 1 mL di brodo Lim.
Controllo negativo consigliato: 1 mL di brodo Lim senza inoculazione.
2. In ciascuna striscia reattiva NeuMoDx GBS Test Strip sono inclusi i primer e la sonda per controllo di processo del campione 1 (SPC1). Questo controllo di processo del campione consente al sistema di monitorare l'efficacia dei processi di estrazione del DNA e di amplificazione della PCR.
3. Un risultato del test positivo riportato per un campione di controllo negativo indica un problema di contaminazione del campione. Per consigli in merito alla risoluzione dei problemi si prega di fare riferimento al/ai *Manuale/i dell'operatore del NeuMoDx 288/96 Molecular System*.
4. Un risultato Negative (Negativo) riportato per un campione di controllo positivo potrebbe indicare l'esistenza di un problema riguardante un reagente o uno strumento.

Risultati non validi

Se un test eseguito sul NeuMoDx System non è in grado di produrre un risultato valido, sarà riportato come Indeterminate (Indeterminato) o Unresolved (Irrisolto) in base al tipo di errore che si è verificato.

Verrà riportato un risultato Indeterminato nel caso in cui venga rilevato un errore di sistema durante l'elaborazione del campione. Nel caso in cui venga riportato un risultato Indeterminato (Indeterminate, IND), si consiglia di ripetere il test.

Il risultato sarà Unresolved (Irrisolto) quando non viene rilevato alcun target e non vi è amplificazione del controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control): ciò indica un possibile errore relativo al reagente o la presenza di inibitori. Nel caso in cui venga riportato un risultato Irrisolto (Unresolved, UNR), si consiglia di ripetere il test.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prestazioni cliniche

Le caratteristiche delle prestazioni sono state determinate nel corso di uno studio prospettico comparativo tra metodi clinici condotto presso tre (3) sedi di laboratori geograficamente distinte al fine di valutare il confronto di prestazioni del test NeuMoDx GBS Assay utilizzato sul NeuMoDx 288 Molecular System rispetto ai metodi di coltura convenzionali raccomandati dal Center for Disease Control (CDC) per identificare il GBS da sottocolture di brodo Lim arricchito. I campioni idonei alla sperimentazione clinica sono stati prelevati da donne in gravidanza da parte di operatori sanitari per i normali standard di screening terapeutico raccomandati dal CDC tra la 35^a e la 37^a settimana di gravidanza.

I campioni prelevati, costituiti da tamponi vaginali/rettali, sono stati trasportati nei vari laboratori in adeguati terreni di trasporto, quindi inoculati nel terreno in brodo Lim selettivo da parte del personale di laboratorio, in un preparato da sottoporre a un periodo di incubazione di 18 – 24 ore. Dopo il periodo di incubazione e l'esecuzione di analisi di routine, i campioni di brodo Lim residuo sono stati subcoltivati su piastra di agar sangue di pecora come raccomandato dalle procedure CDC pubblicate nel 2010 per la processazione di campioni clinici per coltura di GBS. Le piastre di agar sono state incubate per un massimo di 48 ore e ispezionate per ricercare eventuali organismi indicatori della presenza di GBS. Le colonie sospette sono state sottoposte alla colorazione di Gram e le colonie di cocchi Gram-positivi sono state testate per la produzione di catalasi; colonie di cocchi Gram positivi che sono risultati catalasi negativi sono state utilizzate per un'ulteriore identificazione mediante un test per l'agglutinazione del lattice di raggruppamento degli streptococchi al fine di determinare la presenza di GBS. Le prestazioni cliniche si basano su 1193 campioni con risultati completi, validi e conformi inclusi nello studio e riassunti nella *Tabella 2* e *Tabella 3* di seguito. I limiti inferiore e superiore dell'intervallo di confidenza (IC) al 95% presentato sono stati calcolati impiegando il metodo per il calcolo dell'intervallo di confidenza al 95%.

Tabella 2: Riepilogo delle prestazioni cliniche del test NeuMoDx GBS Assay

Riepilogo centro clinico		Coltura / metodo di riferimento			
		Positive (Positivo)	Negative (Negativo)	Totale	
NeuMoDx GBS	Positive (Positivo)	253	37	290	Sensibilità = 96,9% IC 95% (94,1 – 98,4)
	Negative (Negativo)	8	895	903	
	Totale	261	932	1193	

Tabella 3: Prestazioni cliniche specifiche del centro del test NeuMoDx GBS Assay

Sito	n	Sensibilità (IC 95%) ^a	Specificità (IC 95%) ^a	Prevalenza ^b (IC 95%) ^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)
Totale	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 I limiti inferiore e superiore dell'intervallo di confidenza (IC) al 95% presentato sono stati calcolati impiegando il metodo per il calcolo dell'intervallo di confidenza al 95%.

^b Calcoli della prevalenza basati su risultati del metodo di riferimento, ottenuti seguendo le procedure raccomandate dal CDC per la processazione di campioni clinici per coltura di *streptococco* di gruppo B. (anno di pubblicazione: 2010)

Sono stati eseguiti ulteriori test interni di 100 campioni clinici per dimostrare che la sensibilità e la specificità del test NeuMoDx GBS Assay utilizzato sul NeuMoDx 96 Molecular System è equivalente alle prestazioni precedentemente stabilite sul NeuMoDx 288 Molecular System nel corso dello studio clinico.

Sensibilità

La sensibilità analitica del test NeuMoDx GBS Assay che utilizza la striscia reattiva NeuMoDx GBS Test Strip è stata definita testando cinque livelli differenti di GBS (ATCC BAA-611 sierotipo V) preparati da cinque pool clinici negativi indipendenti sul NeuMoDx 288 Molecular System. Lo studio è stato eseguito in giorni non consecutivi su vari sistemi, e ciascun sistema ha processato dieci replicati per ciascun livello al giorno. Su ciascun sistema è stato testato un unico lotto di ognuno dei seguenti: striscia reattiva NeuMoDx GBS Test Strip, piastra di estrazione NeuMoDx Extraction Plate e tampone di lisi NeuMoDx Lysis Buffer 4. I tassi di rilevazione sono illustrati nella *Tabella 4*. Il limite di rilevamento (Limit of Detection, LoD) è stato determinato pari a 500 CFU/mL, ed è stato confermato con l'esecuzione del test sul NeuMoDx 96 Molecular System impiegando il metodo hit rate che conferma una rilevazione $\geq 95\%$ per quanto riguarda il LoD.

Tabella 4: Tassi percentuali di rilevazione positivi per campioni utilizzati per determinare il LoD del test NeuMoDx GBS Assay

GBS (CFU/mL)	Numero di test validi	Numero di positivi	Numero di negativi	Tasso di rilevazione
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%

*equivalente a 20 CFU/test

Il test NeuMoDx GBS Assay utilizzato con la striscia reattiva NeuMoDx GBS Test Strip ha rilevato tutti i principali sierotipi dello *streptococco* di gruppo B, compresi i quattro più pertinenti dal punto di vista clinico. I dodici diversi ceppi di batteri GBS comprendenti i sierotipi che sono stati testati utilizzando la striscia reattiva NeuMoDx GBS Test Strip sono illustrati nella *Tabella 5*.

Tabella 5: Sierotipi GBS testati

Serotipo GBS	Ceppo GBS	ATCC/BEI#	Concentrazione (CFU/mL) con tasso di rilevazione del 100%
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
Non emolitico	NCTC 8181	ATCC: 13813	800
TX Clinical Isolate 2012	SGBS030	BEI: NR-44144	800

Specificità analitica e reattività crociata

La specificità analitica è stata dimostrata effettuando lo screening di 136 organismi comuni al tratto urogenitale e digestivo, nonché a specie filogeneticamente correlate a GBS per reattività crociata sul NeuMoDx 288 Molecular System utilizzando la striscia reattiva NeuMoDx GBS Test Strip. Gli organismi sono stati preparati in pool di 5-6 e testati in concentrazioni elevate (batteri $6 - 9 \times 10^6$ CFU/mL; virus $1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ copie/mL). Nessuno degli organismi sottoposti a screening ha dimostrato reattività crociata durante la realizzazione del test NeuMoDx GBS Assay. Gli organismi testati sono illustrati nella *Tabella 6*.

Tabella 6: Patogeni impiegati per dimostrare la specificità analitica

Batteri, lievito e parassiti		
<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>	Virus
<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 gruppo D	<i>Mobiluncus mulieris</i>	HPV-16*
<i>Neisseria flavescens</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	Virus JC*
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>	Virus BK
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	HHV-6A
<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	HHV-6B
<i>Haemophilus influenzae</i> tipo 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> *	

* Testato con 10 ng/mL

Sostanze interferenti - Organismi commensali

Il test NeuMoDx GBS Assay è stato testato per valutare l'interferenza in presenza di organismi non-target (che coabitano nel tratto urogenitale) valutando le prestazioni dell'esame con bassi livelli di GBS sul NeuMoDx 288 Molecular System. Per questo studio è stato utilizzato lo stesso gruppo di 136 organismi [Tabella 6] utilizzato per la valutazione della reattività crociata. Gli organismi sono stati raggruppati in pool di 5-6 in brodo Lim clinico negativo e arricchiti con GBS coltivato a 1200 CFU/mL. L'esecuzione del test ha convalidato la rilevazione dello *streptococco* di gruppo B in tutti i pool testati. Non sono state osservate interferenze dovute a organismi commensali.

Sostanze endogene ed esogene riscontrate in campioni clinici di GBS

Le prestazioni del test NeuMoDx GBS Assay sono state valutate sul NeuMoDx 288 Molecular System in presenza di sostanze interferenti esogene ed endogene che possono essere tipicamente riscontrate nei campioni clinici di GBS. Ciascuna delle sostanze endogene ed esogene di seguito elencate nella Tabella 7 è stata aggiunta a campioni clinici negativi di brodo Lim raggruppati in pool contenenti GBS nella misura di 1200 CFU/mL o 4000 CFU/mL. Le sostanze, 20 esogene e 6 endogene, che sono state testate per valutare l'interferenza utilizzando la striscia reattiva NeuMoDx GBS Test Strip, non hanno determinato alcun effetto negativo sulla rilevazione del GBS a entrambi i livelli testati, dimostrando ulteriormente l'efficacia del test NeuMoDx GBS Assay.

Tabella 7: Agenti interferenti esogeni ed endogeni testati

Sostanze esogene			Sostanze endogene
Monistat® crema	Dulcolax® supposte	K-Y™ Jelly (lubrificante intimo)	Liquido amniotico umano
Yeast Gard Advanced™ (lavanda vaginale)	Clisma Fleet®	Gel McKesson	Sangue umano intero
Integratore di fibre Metamucil®	Crema Preparation H®	Spugna contraccettiva	Urina umana
Ex-lax® (pezzi di cioccolato lassativo)	Vagisil™ polvere	Lozione idratante	Campione fecale umano
Latte di magnesia Phillips®	Norforms® supposte	Neutrogena® olio per il corpo	Muco
Pepto-Bismol™	Spray deodorante FDS®	Gold Bond® polvere	DNA genomico umano
Kaopectate®	New Mama Bottom Spray		

Precisione

Sul NeuMoDx 288 Molecular System è stato eseguito un test qualitativo con l'utilizzo della striscia reattiva NeuMoDx GBS Test Strip, effettuando 2 cicli al giorno su 3 sistemi per un periodo di 12 giorni non consecutivi. Questo test di precisione nello stesso laboratorio ha incluso 2 lotti di reagenti ed è stato eseguito da 2 operatori. Un ciclo è stato definito come tre replicati testati per ciascuno dei cinque diversi livelli illustrati nella Tabella 8 (True Negative, Low Negative, Moderate Negative, Low Positive and Moderate Positive (Vero negativo, Debolmente negativo, Moderatamente negativo, Debolmente positivo e Moderatamente positivo)) per un totale di 15 campioni per ciclo e per sistema. I campioni sono stati preparati aggiungendo GBS coltivato in un brodo Lim residuo clinico negativo raggruppato e sottoposto a screening. Per ogni ciclo eseguito, sono stati processati oltre ai 15 campioni un controllo esterno positivo e uno negativo. In questo studio sono stati eseguiti in totale 72 cicli e 1224 test, inclusi i controlli esterni. La Tabella 9 mostra il confronto tra gli strumenti. La Tabella 10 mostra la precisione tra gli operatori.

Tabella 8: Pannello di precisione nello stesso laboratorio

Componente del pannello	Livello analizzato	GBS (CFU/mL)
Moderate Positive (MP) (Moderatamente positivo)	3-4x LoD	1600
Low Positive (LP) (Debolmente positivo)	1-2x LoD	600
Moderate Negative (MN) (Moderatamente negativo)	> diluizione 10 volte di 1x LoD	40
Low Negative (LN) (Debolmente negativo)	> diluizione 100 volte di 1x LoD	4
True (Blank) Negative (TN) (Vero negativo (vuoto))	0	0

Tabella 9: risultati qualitativi dello studio di precisione intra-laboratorio (in tutti gli strumenti)

Livello	Strumento 1	Strumento 2	Strumento 3	Complessivo
	Percentuale positivo	Percentuale positivo	Percentuale positivo	Percentuale positivo
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)
	Percentuale negativo	Percentuale negativo	Percentuale negativo	Percentuale negativo
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)

Tabella 10: Analisi quantitativa parametri GBS da precisione nello stesso laboratorio (tra gli operatori)

Livello	Primo operatore					Secondo operatore					Set di dati combinati				
	Pos rilevati / totale	% positivo	Valore medio Ct	Dev Std	% CV*	Pos rilevati / totale	% positivo	Valore medio Ct	Dev Std	% CV	Pos rilevati / totale	% positivo	Valore medio Ct	Dev Std	% 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: il coefficiente di variazione, 100* deviazione standard/valore medio Ct.

Riproducibilità interlaboratorio

La riproducibilità del test NeuMoDx GBS Assay utilizzato sul NeuMoDx 288 Molecular System impiegando la striscia reattiva NeuMoDx GBS Test Strip è stata valutata in 3 centri di analisi differenti con il test di 5 replicati di un pannello di 4 componenti per 5 giorni, generando un totale di 75 replicati per componente del pannello. I campioni del pannello sono stati preparati aggiungendo GBS coltivato in un brodo Lim clinico negativo raggruppato per creare componenti del pannello Debolmente negativi, Debolmente positivi e Moderatamente positivi, mentre i campioni Veri (bianchi) negativi non contenevano GBS. Le concentrazioni dei componenti del pannello corrispondono agli stessi livelli elencati nella precedente *Tabella 8* usati per la Precisione (meno il campione Moderatamente negativo). Ogni giorno di esecuzione del test sono stati anche processati un controllo esterno positivo e uno negativo.

Nel complesso sono stati ottenuti, durante lo studio di riproducibilità, 4 risultati non validi: un replicato di ciascuna delle 4 concentrazioni ha prodotto un risultato "Indeterminate" (Indeterminato) e tutto è avvenuto nello stesso giorno del test (giorno 2) presso il Centro B. Al momento della ripetizione del test, 2 dei 4 campioni hanno prodotto un risultato valido e corretto; i due campioni rimanenti hanno prodotto un risultato "Indeterminate" (Indeterminato) una seconda volta prima di produrre un risultato valido e corretto. La concordanza percentuale con il risultato previsto per i componenti del pannello per tutti i centri combinati è presentata nella successiva *Tabella 11*.

Tabella 11: Riepilogo delle prestazioni della riproducibilità interlaboratorio del test NeuMoDx GBS Assay

Concentrazione componente del pannello	Centro 1 (A)	Centro 2 (B)	Centro 3 (C)	Uniformità totale (IC 95%) ^a
Moderate Positive (Moderatamente positivo)	25/25	25/25	25/25	100% (75/75) (95,1 – 100)
Low Positive (Debolmente positivo)	24/25	25/25	24/25	97,3% (73/75) (90,8 – 99,3)
Low Negative (Debolmente negativo)	25/25	25/25	24/25 ^b	98,7% (74/75) (92,8 – 99,8)
Blank Negative (Bianco negativo)	25/25	25/25	25/25	100% (75/75) (95,1 – 100)

^a I limiti inferiore e superiore dell'intervallo di confidenza (IC) al 95% presentato sono stati calcolati impiegando il metodo per il calcolo dell'intervallo di confidenza al 95%.

^b Si prevede che la concentrazione del campione debolmente negativo venga rilevata come positiva all'incirca il 5% delle volte.

Carryover e contaminazione crociata

Sono stati effettuati studi su potenziali fonti di inquinamento del campione (carry-over) e contaminazione crociata sul NeuMoDx 288 Molecular System impiegando la striscia reattiva NeuMoDx GBS Test Strip. Lo studio in due parti ha valutato in primo luogo l'impatto su campioni negativi al GBS della disseminazione con campioni contenenti target di GBS elevato (1x10⁷ CFU/mL). I campioni positivi e negativi sono stati caricati in modo tale che ogni campione negativo fosse adiacente a un campione altamente positivo. La seconda parte di questo studio ha processato tutti i campioni negativi subito dopo un ciclo che aveva processato tutti i campioni con elevata concentrazione di GBS. Nessuna contaminazione è stata osservata in campioni negativi integrati con campioni di livello elevato, o in campioni negativi che seguivano campioni con elevate concentrazioni di GBS, dimostrando la mancanza di carry-over e/o contaminazione crociata.

Efficacia del controllo

L'efficacia del controllo di processo del campione compreso nella striscia reattiva NeuMoDx GBS Test Strip per quanto riguarda la segnalazione di eventuali errori nella fase del processo o inibizioni che si ripercuotono sulle prestazioni del test NeuMoDx GBS Assay è stata valutata sul NeuMoDx 288 Molecular System. Le condizioni testate sono rappresentative di errori critici della fase del processo che potrebbero verificarsi durante l'elaborazione del campione e possono non essere rilevati dai sensori di bordo che stanno monitorando le prestazioni del NeuMoDx System. Ciò è stato valutato riproducendo l'errore di varie fasi del flusso di processo del campione per simulare un potenziale errore di sistema e aggiungendo al campione un inibitore noto per osservare l'effetto di mitigazione dell'inibitore inefficiente al momento della rilevazione del controllo di processo del campione (vedere *Tabella 12*). Nelle circostanze in cui gli errori di processazione non hanno influito negativamente sulle prestazioni del controllo di processo del campione (NO WASH/NO WASH BLOWOUT), il test è stato ripetuto con campioni di GBS positivi (400 CFU/mL) per confermare che l'errore di processo NON ha avuto effetti negativi sulla rilevazione del target di GBS. La *Tabella 12* riassume i risultati del test di verifica dell'efficacia del controllo.

Tabella 12: Riepilogo dei dati dell'efficacia del controllo

Condizione	Risultato atteso	Risultato osservato
Normal Processing (Elaborazione normale)	Negative (Negativo)	Negative (Negativo)
Normal Processing + Inhibitor (Elaborazione normale + Inibitore)	Unresolved (Irrisolto)	Unresolved (Irrisolto)
No Wash Reagent (Nessun reagente di lavaggio)	Unresolved (Irrisolto) o Negative (Negativo)	Negative (Negativo)
No Wash Blowout (Nessun blow-out di lavaggio)	Unresolved (Irrisolto) o Negative (Negativo)	Negative (Negativo)
No Release Reagent (Nessun reagente di rilascio)	Indeterminate (Indeterminato)	Indeterminate (Indeterminato)
No PCR Master Mix Reagents (Nessun reagente Master Mix PCR)	Indeterminate (Indeterminato)	Indeterminate (Indeterminato)

Stabilità dei campioni on-board

Campioni con date di prelievo differenti sono stati processati sul NeuMoDx 288 Molecular System a "Ore 0" e "Ore 24" allo scopo di determinare la stabilità on board del campione per il test NeuMoDx GBS Assay. Entrambi i campioni clinici positivi e negativi al GBS sono stati processati inizialmente e quindi lasciati sul piano di lavoro del sistema per 24 ore prima di essere processati una seconda volta. Tra i risultati ottenuti dal test iniziale (Ore 0) e dal test eseguito 24 ore dopo (Ore 24) per i 23 campioni negativi al GBS testati è stata osservata una concordanza del 100% [Tabella 13]. Dopo 24 ore, tutti i campioni positivi tranne uno hanno generato un risultato positivo con una concordanza con il risultato previsto pari al 95,8%.

Tabella 13: Riepilogo dei dati relativi alla stabilità on board del campione

		Campioni positivi confermati (campioni A)		Campioni negativi confermati (campioni B)	
		N. positivo	# Negativo	N. positivo	# Negativo
Test 1	Ore 0	23	0	0	23
Test 2	Ore 24	22	1*	0	23
Concordanza in %		95,8		100	

* Un campione era stato inizialmente identificato come positivo alle Ore 0; con un'ulteriore valutazione si era concluso che il campione era stato falsamente identificato come positivo, a causa di un basso livello di DNA del GBS o di materiale cellulare non vitale, in quanto il laboratorio di riferimento non aveva riferito nessuna crescita in coltura del GBS.

BIBLIOGRAFIA


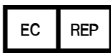








- Zangwill KM, Schuchat A, Wenger JD. Group B streptococcal disease in the United States, 1990: report from a multistate active surveillance system. In Surveillance Summaries, November 20, 1992. MMWR 1992; 41:25–32.
- Schrag SJ, Zywicki S, Farley MM, Reingold AL, Harrison LH, Lefkowitz LB, et al. Group 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.

MARCHI COMMERCIALI

NeuMoDx[™] e NeuDry[™] sono marchi commerciali di NeuMoDx Molecular, Inc.
TaqMan[®] è un marchio commerciale di Roche Molecular Systems, Inc.
AcroMetrix[™] è un marchio commerciale di Thermo Fisher Scientific.
Monistat[®] è un marchio commerciale di Pfizer, Inc.
Yeast Gard Advanced[™] è un marchio commerciale di Lake Consumer Products, Inc.
Metamucil[®] è un marchio commerciale di Procter & Gamble.
Ex-lax[®] è un marchio commerciale di GSK plc.
Phillips[®] è un marchio commerciale di Bayer.
Kaopectate[®] è un marchio commerciale di SANOFI.
Neutrogena[®] è un marchio commerciale di Johnson & Johnson Consumer, Inc.

Dulcolax[®] è un marchio commerciale registrato di SANOFI.
Fleet[®] è un marchio commerciale di C.B. Fleet Company.
Preparation H[®] è un marchio commerciale di Pfizer, Inc.
Vagisil[™] è un marchio commerciale di COMBE, Inc.
Norforms[®] è un marchio commerciale di C.B. Fleet Company.
FDS[®] è un marchio commerciale di WellSpring Pharmaceutical Corp.
K-Y[™] Jelly è un marchio commerciale di Reckitt Benckiser Group.
Pepto-Bismol[™] è un marchio commerciale di Procter & Gamble.
Gold Bond[®] è un marchio commerciale di SANOFI.

SIMBOLI

SIMBOLO	SIGNIFICATO
R only	Solo su prescrizione medica
	Produttore
IVD	Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>
	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
REF	Numero di catalogo
LOT	Codice lotto
	Data di scadenza
	Limite di temperatura
	Limiti di umidità
	Non riutilizzare
	Contenuto sufficiente per <n> test
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Attenzione
	Rischio biologico
CE	Marchio CE



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

Sponsor (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



Assistenza tecnica/Rapporti di vigilanza: support@qiagen.com

Brevetto: www.neumodx.com/patents