

REF 200400 NeuMoDx™ GBS Test Strip
R only

VORSICHT: Nur für den US-Export

IVD Nur zur Verwendung mit dem NeuMoDx 288 Molecular System und dem NeuMoDx 96 Molecular System in der *In-vitro*-Diagnostik vorgesehen.

 Für Aktualisierungen dieser Beilage siehe: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Detaillierte Anleitungen sind dem Benutzerhandbuch für das NeuMoDx 288 Molecular System, Teile-Nr. 40600108, zu entnehmen.

Detaillierte Anleitungen sind dem Benutzerhandbuch für das NeuMoDx 96 Molecular System, Teile-Nr. 40600317, zu entnehmen.

VERWENDUNGSZWECK

Der NeuMoDx GBS Assay, wie auf dem NeuMoDx 288 Molecular System und NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(s)) implementiert, ist ein qualitativer *in-vitro*-diagnostischer Test zum Nachweis der DNA von *Streptococcus* der Gruppe B (GBS) in 18–24-Stunden-Anreicherungen von vaginalen/rektalen Abstrichen von schwangeren Frauen in Lim-Bouillon. Der Test umfasst die automatische DNA-Extraktion zur Isolierung der Ziel-Nukleinsäure aus der Probe und eine Echtzeit-Polymerasekettenreaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR) zum Nachweis einer 88 bp umfassenden Region der *pcsB* Gensequenz im Chromosom von *Streptococcus agalactiae*. Die Ergebnisse des NeuMoDx GBS Assay können als Hilfe bei der Bestimmung des Besiedlungsstatus bei antepartalen Frauen herangezogen werden.

Der NeuMoDx GBS Assay liefert keine Suszeptibilitätsergebnisse. Kultivierte Isolate werden für die Durchführung von Suszeptibilitätstests benötigt, die für Frauen mit einer Allergie gegen Penizillin empfohlen werden.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Ein vaginaler/rektaler Abstrich wird entnommen und mittels standardmäßiger Transportsysteme für bakterielle Abstriche, die ein Nicht-Nähr-Transportmedium enthalten, zum Labor transportiert. Geeignete Transportmedien (z.B. Amies oder Stuart's) sind im Handel erhältlich. Im Labor wird ein selektives Bouillon-Medium wie beispielsweise Lim-Bouillon (Todd-Hewitt-Bouillon, supplementiert mit Colistin und Nalidixinsäure) mit der Probe inokuliert. Nach Inkubation der inokulierten selektiven Bouillon über 18–24 Stunden bei 37 °C in Umgebungsluft oder 5 % CO₂ wird ein Aliquot der Bouillon mit NeuMoDx Lysis Buffer 4 gemischt, um die Lyse der Probe zu beginnen, und auf dem NeuMoDx System mithilfe der Reagenzien auf dem NeuMoDx GBS Test Strip vollständig verarbeitet. Das NeuMoDx System extrahiert automatisch die Ziel-Nukleinsäure und amplifiziert einen Abschnitt der *pcsB*-Gensequenz des GBS-Chromosoms, falls vorhanden. Der NeuMoDx GBS Test Strip umfasst eine DNA Sample Process Control (SPC1), mit der überwacht wird, ob potenziell inhibitorische Stoffe vorhanden sind oder während der Extraktions- und Amplifikationsprozesse Fehler am NeuMoDx System oder bei den Reagenzien auftreten.

GBS ist ein grampositives Bakterium, das in 10 bis 35 % von gesunden Erwachsenen vorliegt. Eine Person, die GBS trägt, aber keine Anzeichen von GBS-Erkrankung aufweist, wird als mit GBS „besiedelt“ bezeichnet. GBS sind häufig vorkommende Bakterien im menschlichen Körper. Unter bestimmten Umständen kann GBS in den Körper eindringen und eine schwerwiegende Infektion hervorrufen; dies wird als Gruppe-B-*Streptokokken*-Erkrankung bezeichnet.¹

GBS kann schwere Erkrankungen bei Neugeborenen auslösen und ist bekanntermaßen die häufigste Ursache lebensbedrohlicher Bakterieninfektionen bei Neugeborenen. Eine Reihe von Strängen des Pathogens zirkulieren in der Gemeinschaft und rund 80 % von Infektionen bei Neugeborenen werden während der Geburt über vertikale Übertragung (Mutter an das Baby) erworben. Die Forschung hat gezeigt, dass GBS die anogenitale Mukosa von 25 bis 40 % von gesunden Frauen besiedelt. Vor Initiierung einer aktiven Prävention traten in den USA jährlich schätzungsweise 7.500 GBS-Erkrankungsfälle bei Neugeborenen auf.¹ Deutliche Rückgänge der Krankheitsinzidenz wurden im Zusammenhang mit den verstärkten Präventionsmaßnahmen in den 1990er Jahren beobachtet,² zu einer weiteren Abnahme kam es 2002 infolge des Aussprechens der Empfehlung für ein allgemeines Screening.³ Trotz Einführung einer Antibiotikaprophylaxe in den USA ist die GBS-Erkrankung dort weiterhin die führende infektiöse Ursache von Morbidität und Mortalität unter Neugeborenen; die Inzidenz liegt heute bei ca. 2.000 Infektionsfällen bei Neugeborenen mit einer Mortalitätsrate von schätzungsweise 0,27 je 1.000 Lebendgeburten.^{4–6}

Der aktuelle Versorgungsstandard zur Vermeidung einer GBS-Erkrankung bei Neugeborenen ist das Screening schwangerer Frauen nach 35–37 Gestationswochen zur Bestimmung des GBS-Besiedlungsstatus.⁷ Bei Durchführung von GBS-Tests mittels Kultur kann es nach dem anfänglichen Inkubationsschritt von ≥ 18 Stunden bis zur endgültigen Identifikation von GBS bis zu 48 Stunden dauern. Der NeuMoDx GBS Test Strip, wie auf dem NeuMoDx System implementiert, kann nach dem anfänglichen Inkubations-/Anreicherungs-schritt von ≥ 18 Stunden innerhalb einer Stunde Ergebnisse für die ersten 8 Proben liefern. Der NeuMoDx GBS Assay optimiert und vereinfacht das Testverfahren, da ab dem Zeitpunkt, wenn die Probe auf das System gegeben wird, bis die Ergebnisse zur Verfügung stehen, kein Bedienereingriff mehr notwendig ist.

PRINZIPIEN DES VERFAHRENS

Nach dem Inkubationszeitraum von 18–24 Stunden wird die angereicherte Bouillon für den Nachweis des Vorliegens von GBS verwendet. Das NeuMoDx System mischt 25 μ L der Lim-Bouillon mit NeuMoDx Lysis Buffer 4 und Extraktionsreagenzien, um die Verarbeitung zu beginnen. Das NeuMoDx System automatisiert und integriert die DNA-Extraktion und -Konzentration, die Reagenz Vorbereitung und Nukleinsäureamplifikation sowie den Nachweis der Zielsequenz mittels Echtzeit-PCR. Die Probenprozesskontrolle wird auch bei den Schritten zur Probenverarbeitung und Amplifikation mitgeführt, um auf das Vorliegen potenzieller inhibitorischer Substanzen sowie System- oder Reagenzfehler zu überwachen. Es ist kein Bedienereingriff erforderlich, sobald die Probe in das NeuMoDx System geladen ist.

Die NeuMoDx Systeme verwenden eine Kombination aus Wärme, lytischem Enzym und Extraktionsreagenzien, um automatisch Zellyse, DNA-Extraktion und die Entfernung von Inhibitoren durchzuführen. Die freigesetzten Nukleinsäuren werden durch paramagnetische Partikel aufgenommen. Die Partikel werden dann zusammen mit den gebundenen Nukleinsäuren in die NeuMoDx Cartridge geladen, wo die ungebundenen Nicht-DNA-Komponenten mithilfe des NeuMoDx Wash Reagent ausgewaschen werden. Zuletzt wird die gebundene DNA mit NeuMoDx Release Reagent eluiert. Die NeuMoDx Systeme verwenden dann die freigesetzte DNA zum Rehydrieren proprietärer NeuDry™ Reagenzien, die alle für die

Amplifikation des GBS-spezifischen Ziels erforderlichen Elemente enthalten. Die getrockneten PCR-Reagenzien enthalten auch die Komponenten, die zur Amplifikation eines Sequenzabschnitts der Probenprozesskontrolle benötigt werden und ermöglichen so die gleichzeitige Amplifikation und Detektion von Ziel- und internen Kontroll-DNA-Sequenzen. Nach der Rekonstruktion der NeuDry PCR-Reagenzien dispensiert das NeuMoDx System die vorbereitete, PCR-fertige Mischung in eine PCR-Kammer (pro Probe) der NeuMoDx Cartridge. Amplifikation und Nachweis der Kontroll- und (falls vorhanden) Ziel-DNA-Sequenzen erfolgen in der PCR-Kammer. Kammer und Kartusche sind so ausgelegt, dass sie nach der Echtzeit-PCR das Amplifikat enthalten, wodurch ein Kontaminationsrisiko nach der Amplifikation im Wesentlichen beseitigt ist.

Die amplifizierten Ziele werden in Echtzeit anhand von Hydrolyse-Sonden-Chemie (allgemein als TaqMan® Chemie bezeichnet) nachgewiesen, wobei fluorogene Oligonukleotidsondenmoleküle angewendet werden, die spezifisch für die Amplifikate ihrer jeweiligen Ziele sind. TaqMan Sonden bestehen aus einem Fluorophor, das kovalent am 5'-Ende der Oligonukleotidsonde gebunden ist, und einem Quencher am 3'-Ende. Bei intakter Sonde führt die Nähe des Fluorophors zum Quencher dazu, dass das Quencher-Molekül die Fluoreszenz des Fluorophors durch Förster-Resonanzenergietransfer (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) unterdrückt.

TaqMan Sonden sind so entwickelt, dass sie sich an einen DNA-Bereich, der durch einen spezifischen Satz von Primern amplifiziert wurde, anlagern. Während die Taq-DNA-Polymerase den Primer verlängert und den neuen Strang synthetisiert, sorgt die 5'-3'-Exonuklease-Aktivität der Taq-DNA-Polymerase für den Abbau der Sonde, die sich an das Template angelagert hat. Der Abbau der Sonde setzt das Fluorophor frei und der Abstand zum Quencher wird größer. Dadurch wird der Löscheffekt durch FRET aufgehoben und das Fluorophor kann nachgewiesen werden. Die Intensität des resultierenden Fluoreszenzsignals, das im quantitativen PCR-Thermocycler des NeuMoDx System detektiert wird, ist direkt proportional zum freigesetzten Fluorophor und kann zur Menge der vorhandenen Ziel-DNA in Beziehung gesetzt werden.

Eine TaqMan-Sonde, die mit einem Fluorophor (Anregung: 490 nm und Emission: 521 nm) am 5'-Ende und einem dunklen Quencher am 3'-Ende markiert ist, wird zum Nachweis von GBS-DNA verwendet. Für den Nachweis der Probenprozesskontrolle wird die TaqMan Sonde mit einem alternativen Fluoreszenzfarbstoff (Anregung: 535 nm und Emission: 556 nm) am 5'-Ende und einem dunklen Quencher am 3'-Ende markiert. Das NeuMoDx System überwacht das von den TaqMan Sonden am Ende jedes Amplifikationszyklus abgegebene Fluoreszenzsignal. Nach Abschluss der Amplifikation analysiert das NeuMoDx System die Daten und gibt ein Endergebnis aus (POSITIVE (Positiv)/ NEGATIVE (Negativ) / INDETERMINATE (Unbestimmt) / UNRESOLVED (Offen)).

REAGENZIIEN/VERBRAUCHSMATERIALIEN

Bereitgestelltes Material

REF	Inhalt	Tests pro Einheit	Tests pro Packung
200400	NeuMoDx GBS Test Strip <i>PCR-Trockenreagenzien, die GBS-spezifische TaqMan Sonden und Primer sowie eine für die Probenprozesskontrolle spezifische TaqMan Sonde und für die Probenprozesskontrolle spezifische Primer enthalten.</i>	16	96

Benötigte, aber nicht bereitgestellte Reagenzien und Verbrauchsmaterialien (separat bei NeuMoDx erhältlich)

REF	Inhalt
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Getrocknete paramagnetische Partikel und Probenprozesskontrollen sowie getrocknetes lytisches Enzym</i>
400700	NeuMoDx Lysis Buffer 4
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton CO-RE / CO-RE II Spitzen (300 µl) mit Filtern
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II Spitzen (1000 µl) mit Filtern

Benötigte Instrumente

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] ODER NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]

⚠️ WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Nur zur Verwendung mit NeuMoDx Systems in der *In-vitro*-Diagnostik.
- Die Reagenzien nach Ablauf des angegebenen Ablaufdatums nicht mehr verwenden.
- Reagenzien nicht verwenden, wenn das Sicherheitssiegel aufgebrochen oder die Verpackung bei Ankunft beschädigt ist.
- Reagenzien nicht verwenden, wenn der Schutzbeutel bei Ankunft geöffnet oder beschädigt ist.

- Das Mindestprobenvolumen von Sekundär aliquoten ist abhängig von der Röhrchengröße bzw. dem Probenröhrchenträger wie nachstehend definiert. Ein Volumen unter dem angegebenen Mindestvolumen kann zu dem Fehler „Quantity Not Sufficient“ (Menge nicht ausreichend) führen.
- Wenn Tests nicht unter den von den CDC empfohlenen Bedingungen ausgeführt werden, kann das zu fehlerhaften Ergebnissen bei Anwendung des NeuMoDx GBS Assay führen.
- Eine mikrobielle und Deoxyribonuclease-(DNase-)Kontamination der Reagenzien muss immer verhindert werden. Es wird die Verwendung steriler DNase-freier Einwegtransferpipetten empfohlen. Für jede Probe eine neue Pipette verwenden.
- Zur Vermeidung von Kontamination NeuMoDx Cartridge nach der Amplifikation weder handhaben noch beschädigen. Kartuschen nach der Amplifikation unter keinen Umständen aus dem Abfall entnehmen. Die NeuMoDx Cartridge ist dafür konzipiert, Kontamination zu verhindern.
- Wenn das Labor auch PCR-Tests mit offenen Röhrchen ausführt, muss unbedingt gewährleistet werden, dass der NeuMoDx GBS Test Strip, die zusätzlich für die Tests benötigten Reagenzien und das NeuMoDx System nicht kontaminiert werden.
- Bei der Handhabung von NeuMoDx Reagenzien und Verbrauchsmaterialien sollten saubere, puderfreie Nitrilhandschuhe getragen werden. Es ist darauf zu achten, dass die Oberseite der NeuMoDx Cartridge oder die Oberfläche der Versiegelungsfolie des NeuMoDx GBS Test Strip oder der NeuMoDx Extraction Plate nicht berührt werden; die Produkte dürfen ausschließlich an den Seitenflächen angefasst werden.
- Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS) sind auf Anfrage erhältlich.
- Die Anleitungen im *Benutzerhandbuch/den Benutzerhandbüchern NeuMoDx 288/96 Molecular System* in Bezug auf die zur Anwendung am System empfohlenen Reinigungslösungen befolgen.
- Nicht mit dem Mund pipettieren. In Bereichen, in denen Proben oder Kit-Reagenzien verarbeitet werden, nicht rauchen, trinken oder essen.
- Proben sind immer wie infektiöses Material und entsprechend den sicheren Laborverfahren (beschrieben in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁸ und im CLSI-Dokument M29-A4) zu behandeln.⁹
- Nicht verwendete Reagenzien und Abfall entsprechend den nationalen, bundesstaatlichen, regionalen, kommunalen und lokalen Vorschriften entsorgen.

LAGERUNG, HANDHABUNG UND STABILITÄT VON PRODUKTEN

- Die NeuMoDx Reagenzien und Verbrauchsmaterialien sind in der Primärverpackung bei 18 bis 28 °C bis zu dem auf dem oberen Produktetikett angegebenen Verfallsdatum stabil.
- Die Reagenzien nach Ablauf des angegebenen Ablaufdatums nicht mehr verwenden.
- Testprodukte nicht verwenden, wenn die Primär- oder Sekundärverpackung sichtbar beschädigt ist.
- Ein einmal in das NeuMoDx System geladener NeuMoDx GBS Test Strip kann dort bis zu 28 Tage belassen werden. Die verbleibende Haltbarkeitsdauer der im Gerät befindlichen Teststreifen wird durch die Software verfolgt und dem Benutzer in Echtzeit mitgeteilt. Das System fordert zur Entfernung von Teststreifen auf, die schon über den zulässigen Zeitraum hinaus in Verwendung sind.

PROBENNAHME, TRANSPORT UND LAGERUNG

1. Vaginale/rektale Abstrichproben von peripartalen Frauen zur Anreicherung in Lim-Bouillon müssen gemäß dem/den von den CDC empfohlenen klinischen Verfahren gesammelt, gelagert und gehandhabt werden.⁷
2. Proben sollten in einem Nicht-Nähr-Transportmedium wie beispielsweise Amies oder Stuart's in das Labor transportiert werden.
3. Wenn vaginale und rektale Abstriche von derselben Patientin separat abgenommen werden, können beide Abstriche in denselben Behälter mit Transportmedium gegeben werden.
4. Proben eindeutig beschriften und darauf hinweisen, dass die Proben für GBS-Tests bestimmt sind; das Etikett sollte angeben, ob antibiotische Suszeptibilitätstests ausgeführt werden sollen.
5. Den/die Abstrich(e) aus dem Transportmedium nehmen und ein empfohlenes selektives Bouillon-Medium wie beispielsweise Lim-Bouillon [Todd-Hewitt-Bouillon, der Colistin und Nalidixinsäure zugegeben sind] inokulieren.
6. Die inokulierte selektive Bouillon (Lim-Bouillon) 18 bis 24 Stunden lang bei 37 °C in Umgebungsluft oder 5 % CO₂ inokulieren.
7. Mit dem Abschnitt Testvorbereitung fortfahren.

GEBRAUCHSANWEISUNG

Testvorbereitung

1. Proben-Barcodeetikett auf einem mit dem NeuMoDx System kompatiblen Probenröhrchen anbringen.
2. Die angereicherte Bouillon-Probe vorsichtig im Vortexer mischen, um eine einheitliche Verteilung zu erhalten.

3. Bei Durchführung des Assays an einer sekundären Probe eine Transferpipette verwenden, um ≥ 1 mL der Lim-Bouillon in das mit Barcode versehene Probenröhrchen zu überführen. Für jede Probe eine andere Transferpipette verwenden. Das Sekundärröhrchen muss die folgenden Röhrchenspezifikationen erfüllen, die basierend auf dem Probenröhrchenträger, der zur Verarbeitung eingesetzt wird, mit dem NeuMoDx System kompatibel sind.
 - Probenröhrchenträger (32 Röhrchen): 11–14 mm Durchmesser und 60–120 mm Höhe
 - Probenröhrchenträger (24 Röhrchen): 14,5–18 mm Durchmesser und 60–120 mm Höhe
 - Probenröhrchenträger für geringes Volumen (32 Röhrchen): 1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen mit Konusboden

Betrieb der NeuMoDx Systems

1. Für Systemträger wie erforderlich die folgenden Verbrauchsmaterialien eingeben und den Touchscreen zum Laden des/der Träger(s) in das NeuMoDx System verwenden:
 - a. 1000 μ L Pipettenspitzen
 - b. 300 μ L Pipettenspitzen
 - c. NeuMoDx Cartridge
 - d. NeuMoDx Extraction Plate
 - e. NeuMoDx GBS Test Strip
 - f. NeuMoDx Lysis Buffer 4 (**HINWEIS: Vor dem Laden die Versiegelungsfolie von den Behältern entfernen**)
2. Die NeuMoDx Wash und NeuMoDx Release Reagents austauschen und bei Bedarf den Priming-Abfall leeren.
3. Den Behälter für biogefährlichen Abfall bei Bedarf oder nach Aufforderung durch das NeuMoDx System Software leeren.
4. Das/die Probenröhrchen in einen Probenröhrchenträger laden und darauf achten, dass die Deckel von allen Probenröhrchen entfernt wurden.
5. Den Probenröhrchenträger auf das Autolader-Regal setzen über den Touchscreen in das System laden. Damit wird die Verarbeitung des/der Tests gestartet.

ANWENDUNGSEINSCHRÄNKUNGEN

- Der NeuMoDx GBS Test Strip kann ausschließlich auf NeuMoDx Systems verwendet werden.
- Die Leistung des NeuMoDx GBS Assay wurde mit vaginalen/rektalen Proben ermittelt, die von antepartalen Patientinnen mit Abstrichen abgenommen und nach Anreicherung mit selektiver Lim-Bouillon in ein Nicht-Nähr-Transportmedium (wie beispielsweise Amies oder Stuart's) gegeben wurden. Die Leistung des NeuMoDx GBS Assay wurde ausschließlich mit Lim-Bouillon validiert. Die Leistung wurde nicht mit anderen selektiven GBS-Bouillon-Anreicherungsmedien validiert.
- Die Anwendung des NeuMoDx GBS Assay mit anderen klinischen Quellen wurde nicht bewertet und die Leistungsmerkmale dieses Tests sind in Verbindung mit anderen Probenarten nicht bekannt.
- Da der Nachweis der von Gruppe-B-Streptokokken von der Anzahl der in der Probe vorliegenden Organismen abhängt, sind ordnungsgemäße Probennahme, Handhabung und Lagerung für zuverlässige Ergebnisse erforderlich.
- Eine unsachgemäße Probennahme, Handhabung, Lagerung, technische Fehler oder eine Verwechslung von Probenröhrchen können zu fehlerhaften Testergebnissen führen. Darüber hinaus können falsch negative Ergebnisse auftreten, wenn die Anzahl der Organismen in der Probe unter der analytischen Sensitivität des Tests liegt.
- Tests dürfen ausschließlich von Personal durchgeführt werden, das in der Anwendung des NeuMoDx System geschult ist.
- Wenn die Probenprozesskontrolle nicht amplifiziert wird und das Ergebnis des NeuMoDx GBS Assay negativ ist, wird ein ungültiges Ergebnis („Indeterminate“ (Unbestimmt) oder „Unresolved“ (Offen)) berichtet und der Test sollte wiederholt werden.
- Ein positives Testergebnis gibt nicht unbedingt das Vorhandensein lebensfähiger Organismen an. Das Vorliegen von Gruppe-B-Streptokokken-DNA ist jedoch zu vermuten.
- Negative Ergebnisse schließen das Vorliegen von GBS nicht aus und sollten nicht als alleinige Grundlage für eine Behandlung oder sonstige Entscheidungen in Bezug auf die Versorgung der Patientin herangezogen werden.
- GBS-Besiedelung kann während der Schwangerschaft sporadisch, dauerhaft oder vorübergehend sein. Der klinische Nutzen eines GBS-Screenings lässt nach, wenn der Test mehr als fünf Wochen vor der Geburt ausgeführt wird.
- Der NeuMoDx GBS Test liefert keine Suszeptibilitätsergebnisse. Kulturisolate werden für die Durchführung von Suszeptibilitätstests benötigt, so wie diese für Frauen mit einer Allergie gegen Penicillin empfohlen werden.
- Es sind zwar keine Stränge/Isolate von GBS bekannt, denen das *pcsB* Gen fehlt, doch könnte das Auftreten eines solchen Strangs bei Verwendung des NeuMoDx GBS Test Strip zu einem fehlerhaften Ergebnis führen.
- Mutationen im Bindungsbereich des Primers/der Sonde können sich bei Verwendung des NeuMoDx GBS Test Strip auf den Nachweis auswirken.

- Ergebnisse vom NeuMoDx GBS Assay sollten zusätzlich zu klinischen Beobachtungen und sonstigen Informationen, die dem Arzt zur Verfügung stehen, herangezogen werden. Der ist nicht dafür vorgesehen, zwischen Trägern von Gruppe-B-Streptokokken und denen mit Streptokokken-Erkrankung zu unterscheiden. Testergebnisse können von einer Antibiotika-Begleittherapie beeinflusst werden, da GBS DNA nach einer antimikrobiellen Therapie möglicherweise weiterhin nachgewiesen werden.
- Um die Kontamination von Proben zu vermeiden, werden gute Laborpraktiken, einschließlich des Wechsels der Handschuhe bei Handhabung verschiedener Patientenproben, empfohlen.

ERGEBNISSE

Erwartungswerte - Prävalenz

Rund 10 bis 40 % von schwangeren Frauen weisen eine Besiedelung mit GBS auf. Mit Kultur-GBS-Screening von sowohl Vagina als auch Rektum spät in der Schwangerschaft (im Allgemeinen Woche 35 bis 37) während der Schwangerschaftsvorsorge können Frauen erkannt werden, die zum Zeitpunkt der Geburt wahrscheinlich eine Besiedelung mit GBS aufweisen. Bei der klinischen Methodenvergleichsstudie wurden 1193 Lim-Bouillon-Restproben in die Studie aufgenommen und in drei Laboren in geografisch verschiedenen Gebieten der Vereinigten Staaten getestet. Basierend auf den Ergebnissen, die vom Goldstandard für die Identifizierung von Kulturen, die als Vergleichsmethode für alle eingeschlossenen Proben bereitgestellt wurde, bezogen wurden, betrug die Gesamtprävalenz von GBS in der Studie 21,9 % (261/1193) mit einem 95 % KI von (19,6 % bis 24,3 %), wie anhand der 95 % Konfidenzintervall-Punktezahlmethode gemäß CLSI-Richtlinie EP12-A2 berechnet wurde.¹⁰ Die tatsächlichen Prävalenzraten können basierend auf den örtlichen Patientenpopulationen in den geografischen Standorten unterschiedlich sein.

NeuMoDx 288/96 Molecular Systems

Die verfügbaren Ergebnisse können unter der Registerkarte „Results“ (Ergebnisse) im Fenster „Results“ (Ergebnisse) auf dem Touchscreen des NeuMoDx System angezeigt oder ausgedruckt werden.

Testergebnisse werden von der NeuMoDx System Software automatisch generiert. Ein Testergebnis kann basierend auf dem Amplifikationsstatus des Ziels und der Probenprozesskontrolle als „Negative“ (Negativ), „Positive“ (Positiv), „Indeterminate“ (Unbestimmt) oder „Unresolved“ (Offen) ausgegeben werden. Die Ergebnisse werden auf Grundlage des Entscheidungsalgorithmus in *Tabelle 1* ausgegeben.

Tabelle 1: Entscheidungsalgorithmus des NeuMoDx GBS Assay

Ergebnis	GBS C _t	Probenprozesskontrolle (SPC1) C _t
Positive (Positiv)	9 < C _t < 37 Und EP > 3000	n. z.
Negative (Negativ)	N/A ODER C _t < 9 ODER > 37	25 < C _t < 35 Und EP > 2000
Indeterminate (Unbestimmt)	n. z. SYSTEMFEHLER BEMERKT	n. z. SYSTEMFEHLER BEMERKT
Unresolved (Offen)	nicht nachgewiesen	nicht nachgewiesen

EP = End Point Fluorescence (Endpunktfluoreszenz) (End Point Fluorescence) (nach Basislinien-Korrektur)

Qualitätskontrolle

Die Bestimmungen der Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) sehen vor, dass das Labor für das Vorhandensein von Kontrollverfahren zuständig ist, mit denen die Richtigkeit und Präzision des gesamten Analyseprozesses überwacht wird, und Anzahl, Typ und Verwendungshäufigkeit von Testkontrollmaterialien anhand von verifizierten Leistungsspezifikationen für ein nicht modifiziertes, von der FDA zugelassenes oder genehmigtes Testsystem bestimmen muss (42 CFR Part 493.1256).

1. Externe Kontrollmaterialien werden von NeuMoDx Molecular, Inc. nicht bereitgestellt; geeignete Kontrollen müssen vom Labor ausgewählt und validiert werden.

Empfohlene Positivkontrolle: 10 µl der AcroMetrix™ GBS Positiv Control (Positivkontrolle) (Thermo Fisher Scientific REF 960041) verdünnt in 1 ml Lim-Bouillon.

Empfohlene Negativkontrolle: 1 ml Lim-Bouillon ohne Inokulation.

2. Die Primer und Sonde spezifisch für Probenprozesskontrolle 1 (SPC1) sind jedem NeuMoDx GBS Test Strip beigelegt. Mit der Probenprozesskontrolle kann das System die Wirksamkeit der DNA-Extraktion und der PCR-Amplifikationsprozesse überwachen.
3. Ein für eine Negativkontrollprobe gemeldetes positives Testergebnis weist auf ein Probenkontaminationsproblem hin. Tipps zur Fehlerbehebung siehe *Benutzerhandbuch/Benutzerhandbücher für das NeuMoDx 288/96 Molecular System*.
4. Wenn das Ergebnis Negative (Negativ) für eine Positivkontrollprobe berichtet wird, kann das ein Hinweis auf ein reagenz- oder instrumentbedingtes Problem sein.

Ungültige Ergebnisse

Wenn ein auf dem NeuMoDx System ausgeführter Test kein gültiges Ergebnis erzielt, dann wird er basierend auf der aufgetretenen Fehlerart entweder als Indeterminate (Unbestimmt) oder Unresolved (Offen) berichtet.

Das Ergebnis Indeterminate (Unbestimmt) wird berichtet, wenn ein Systemfehler während der Probenverarbeitung erkannt wird. Falls das Ergebnis „Indeterminate“ (IND) (Unbestimmt) berichtet wird, empfiehlt sich ein erneuter Test.

Das Ergebnis „Unresolved“ (Offen) wird gemeldet, wenn kein Ziel nachgewiesen wird und keine Amplifikation der Probenprozesskontrolle erfolgt, was auf einen möglichen Reagenzfehler oder das Vorhandensein von Inhibitoren hinweist. Falls das Ergebnis „Unresolved“ (UNR) (Offen) berichtet wird, empfiehlt sich ein erneuter Test.

LEISTUNGSMERKMALE

Klinische Leistung

Die Leistungsmerkmale wurden im Rahmen einer prospektiven klinischen Methodenvergleichsstudie an drei (3) geografisch unterschiedlichen Standorten ermittelt, um die Leistung des NeuMoDx GBS Assay, wie auf dem NeuMoDx 288 Molecular System implementiert, mit herkömmlichen Kulturmethoden, wie sie von den Centers for Disease Control and Prevention (CDC) zur Identifizierung von GBS in Subkulturen angereicherter Lim-Bouillon empfohlen werden, zu vergleichen. Die Proben für diese Studie stammten von schwangeren Frauen und wurden von Ärzten im Rahmen der von den CDC empfohlenen Standardversorgung mit Reihenuntersuchung in der Schwangerschaftswoche 35 bis 37 entnommen.

Die abgenommenen vaginalen/rektalen Abstriche wurden in geeigneten Transportmedien in die verschiedenen Labore transportiert und dann vom Laborpersonal in ein selektives Lim-Bouillon-Medium inokuliert, als Vorbereitung für einen anschließenden Inkubationszeitraum von 18 bis 24 Stunden. Nach dem Inkubationszeitraum und Routineversorgungstest wurde aus den restlichen Lim-Bouillon-Proben eine Subkultur auf einer Schafsblood-Agarplatte angelegt, wie von den 2010 von den CDC veröffentlichten Verfahren für die Verarbeitung klinischer Proben für eine GBS-Kultur empfohlen wird. Die Agarplatten wurden für bis zu 48 Stunden inkubiert und auf Organismen hin überprüft, die GBS vermuten lassen. Verdächtige Kolonien wurden gram-gefärbt und die grampositiven Kokkenkolonien wurden auf Katalaseproduktion getestet; grampositive Kokkenkolonien, die negativ auf Katalaseproduktion testeten wurden für die weitere Identifikation mit einem Streptokokken-Gruppierungs-Latex-Agglutinationstest aufbereitet, um das Vorliegen von GBS nachzuweisen. Die klinische Leistung basiert auf 1193 Proben mit vollständigen, gültigen und konformen Ergebnissen, die in der Studie berücksichtigt wurden und in den nachstehenden *Tabellen 2* und *3* zusammengefasst sind. Die untere und obere Grenze des präsentierten 95%-Konfidenzintervalls (KI) wurden anhand der 95%-Konfidenzintervall-Score-Methode berechnet.

Tabelle 2: Klinische Leistung des NeuMoDx GBS Assay – Übersicht

Klinischer Standort – Übersicht		Kultur/Vergleichsmethode			
		Positive (Positiv)	Negative (Negativ)	Gesamt	
NeuMoDx GBS	Positive (Positiv)	253	37	290	Sensitivität = 96,9 % 95%-KI (94,1–98,4)
	Negative (Negativ)	8	895	903	
	Gesamt	261	932	1193	Spezifität = 96,0 % 95%-KI (94,6–97,1)

Tabelle 3: Standortsspezifische klinische Leistung des NeuMoDx GBS Assay

Standort	n	Sensitivität (95%-KI) ^a	Spezifität (95%-KI) ^a	Prävalenz ^b (95%-KI) ^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)
Gesamt	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 Die untere und obere Grenze des präsentierten 95%-Konfidenzintervalls (KI) wurden anhand der 95%-Konfidenzintervall-Score-Methode berechnet.

^b Prävalenzberechnungen basierend auf Ergebnissen der Referenzmethode, die durch Befolgung der von den CDC empfohlenen Verfahren zur Verarbeitung klinischer Proben für eine Kultur von Gruppe-B-*Streptokokken* ermittelt wurden. (Veröffentlichung 2010)

Zusätzliche interne Tests von 100 klinischen Proben wurden durchgeführt, um zu demonstrieren, dass die Sensitivität und Spezifität des NeuMoDx GBS Assay, wie er auf dem NeuMoDx 96 Molecular System implementiert ist, der zuvor bei der klinischen Studie für das NeuMoDx 288 Molecular System festgestellten Leistung entspricht.

Sensitivität

Die analytische Sensitivität des NeuMoDx GBS Assay unter Verwendung des NeuMoDx GBS Test Strip wurde durch Testen von fünf verschiedenen Stufen von GBS (ATCC BAA-611 Serotyp V) charakterisiert, das von fünf unabhängigen klinischen negativen Pools auf dem NeuMoDx 288 Molecular System vorbereitet wurde. Die Studie wurde über nicht aufeinander folgende Tage auf mehreren Systemen ausgeführt, wobei jedes System pro Tag zehn Replikate auf jeder Stufe verarbeitet. Eine einmalige Charge jeweils von: NeuMoDx GBS Test Strip, NeuMoDx Extraction Plate und NeuMoDx Lysis Buffer 4 wurden auf jedem System getestet. Die Nachweisraten sind in *Tabelle 4* dargestellt. Die LoD wurde als 500 KbE/ml bestimmt und durch Tests auf dem NeuMoDx 96 Molecular System unter Anwendung der Trefferquotenmethode bestätigt, bei denen ein Nachweis $\geq 95\%$ bei LoD-Konzentration bestätigt wurde.

Tabelle 4: Positiv-Nachweisraten in Prozent für Proben, die zur Bestimmung der LoD des NeuMoDx GBS Assay herangezogen wurden

GBS KbE/ml	Anzahl gültiger Tests	Anzahl positiver Ergebnisse	Anzahl negativer Ergebnisse	Nachweisrate
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 %

*entspricht 20 KbE/Test

Der NeuMoDx GBS Assay, wie er unter Verwendung des NeuMoDx GBS Test Strip implementiert wurde, wies alle Haupt-Serotypen von Gruppe-B-*Streptokokken* nach wie u.a. die vier klinisch relevantesten. Die zwölf verschiedenen GBS-Bakterienstämme, die die mit dem NeuMoDx GBS Test Strip getesteten Serotypen abdecken, sind in *Tabelle 5* aufgeführt.

Tabelle 5: Getestete GBS-Serotypen

GBS-Serotyp	GBS-Stamm	ATCC/BEI#	Konzentration (KbE/ml) mit 100 % Nachweis
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 55700	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
Nicht hämolytisch	NCTC 8181	ATCC: 13813	800
TX Clinical Isolate 2012	SGBS030	BEI: NR-44144	800

Analytische Spezifität und Kreuzreaktivität

Die analytische Spezifität wurde demonstriert durch das Screening von 136 sowohl im Urogenital- als auch im Verdauungstrakt vorkommenden Organismen sowie von phylogenetisch mit GBS verwandten Spezies auf Kreuzreaktivität auf dem NeuMoDx 288 Molecular System unter Verwendung des NeuMoDx GBS Test Strip. Die Organismen wurden in Pools von 5–6 vorbereitet und bei hoher Konzentration getestet (Bakterien $6-9 \times 10^6$ KbE/ml; Viren $1 \times 10^6-1 \times 10^7$ Kopien/ml). Keiner der gescreenten Organismen zeigte eine Kreuzreaktivität bei Durchführung des NeuMoDx GBS Assay. Die getesteten Organismen sind in *Tabelle 6* aufgeführt.

Tabelle 6: Zur Demonstration der analytischen Spezifität verwendete Pathogene

Bakterien, Hefe und Parasiten		
<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>	Viren
<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 Gruppe D	<i>Mobiluncus mulieris</i>	HPV-16*
<i>Neisseria flavescens</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	JC-Virus*
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>	BK-Virus
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	HHV-6A
<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	HHV-6B
<i>Haemophilus influenzae</i> Typ B	<i>Mycoplasma genitalium</i>	HHV-7
<i>Salmonella newport</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>	HHV-8
<i>Shigella flexneri</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	
<i>Shigella sonnei</i>	<i>Enterococcus dispar</i>	
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	
<i>Enterococcus</i> sp. (ATCC® 202155™)	<i>Chlamydia pneumoniae</i> *	

* Bei 10 ng/ml getestet

Störsubstanzen – kommensale Organismen

Der NeuMoDx GBS Assay wurde auf Störung bei Vorliegen von Nicht-Zielorganismen (ebenfalls im Urogenitaltrakt vorkommend) getestet, indem die Leistung des Assays bei niedrigen GBS-Konzentrationen auf dem NeuMoDx 288 Molecular System bewertet wurde. Für diese Studie wurde das gleiche Panel von 136 Organismen [Tabelle 6] verwendet wie für die Bewertung der Kreuzreaktivität. Die Organismen wurden in Gruppen von 56 klinisch negativer Lim-Bouillon gepoolt und mit 1200 Kbe/ml GBS-Kultur versetzt. Die Tests validierten die Detektion von Gruppe-B-*Streptokokken* in allen getesteten Pools. Es wurde keine Störung infolge von symbiotischen Organismen beobachtet.

In klinischen GBS-Proben vorliegende endogene und exogene Substanzen

Die Leistung des NeuMoDx GBS Assay wurde auf dem NeuMoDx 288 Molecular System bei Vorliegen exogener und endogener Störsubstanzen, die normalerweise in klinischen GBS-Proben vorliegen können, bewertet. Jeder der nachfolgend in Tabelle 7 aufgeführten endogenen und exogenen Stoffe wurde dem Pool klinisch negativer Lim-Bouillon-Proben mit 1200 Kbe/ml oder 4000 Kbe/ml GBS zugegeben. Für die 20 exogenen und 6 endogenen Stoffe, die mit dem NeuMoDx GBS Test Strip auf Störung getestet wurden, ergaben sich bei keiner der getesteten Konzentrationen negative Auswirkungen auf den Nachweis von GBS, was die Robustheit des NeuMoDx GBS Assay weiter bestätigt.

Tabelle 7: Getestete exogene und endogene Störstoffe

Exogene Substanzen			Endogene Stoffe
Monistat® Creme	Dulcolax® Zäpfchen	K-Y™ Jelly	Humanes Fruchtwasser
Yeast Gard Advanced™ (Intimdusche)	Fleet® Einlauf	McKesson Gel	Humanes Vollblut
Metamucil® Ballaststoffpräparat	Preparation H® Creme	Verhütungsschaum	Humanurin
Ex-lax® (Schokostücke)	Vagisil™ Puder	Feuchtigkeitslotion	Humane Stuhlprobe
Phillips® Magnesiummilch	Norforms® Zäpfchen	Neutrogena® Körperöl	Mucus
Pepto-Bismol™	FDS® Deodorantspray	Gold Bond® Puder	Genomische DNA
Kaopectate®	New Mama Bottom Spray		

Präzision

Qualitative Tests wurden auf dem NeuMoDx 288 Molecular System mit dem NeuMoDx GBS Test Strip durchgeführt, wobei pro Tag auf 3 Systemen 2 Durchläufe über einen Zeitraum von 12 nicht aufeinander folgenden Tagen gemacht wurden. Diese laborinternen Präzisionstests umfassten 2 Reagenzchargen und wurden von 2 Bedienern ausgeführt. Ein Lauf war definiert als drei Replikate, die auf alle der fünf verschiedenen in Tabelle 8 aufgeführten Werte (True Negative (Tatsächlich negativ), Low Negative (Schwach negativ), Moderate Negative (Moderat negativ), Low Positive (Schwach positiv) und Moderate Positive (Moderat positiv)) mit insgesamt 15 Proben pro Lauf pro System getestet wurden. Proben wurde vorbereitet, indem eine gepoolte, gescreente, negative klinische Lim-Restbouillon mit GBS-Kultur versetzt wurde. Bei jedem ausgeführten Durchlauf wurde eine externe Positiv- und Negativkontrolle zusätzlich zu den 15 Proben mitgeführt. In dieser Studie wurden einschließlich externer Kontrollen insgesamt 72 Läufe und 1224 Tests ausgeführt. Tabelle 9 zeigt den Vergleich zwischen Instrumenten. Table 10 zeigt die Präzision über die Bediener hinweg.

Tabelle 8: Panel für laborinterne Präzision

Probe des Testpanels	Getestete Stufe	GBS (Kbe/ml)
Moderate Positive (MP) (Moderat positiv)	3-4x LoD	1600
Low Positive (LP) (Schwach positiv)	1-2x LoD	600
Moderate Negative (MN) (Moderat negativ)	> 10-fache Verdünnung von 1x LoD	40
Low Negative (LN) (Schwach negativ)	>100-fache Verdünnung von 1x LoD	4
True(Blank) Negative (TN) (Tatsächlich (leer) negativ)	0	0

Tabelle 9: Qualitative Ergebnisse aus der Studie zur laborinternen Präzision (alle Instrumente)

Konzentration	Instrument 1	Instrument 2	Instrument 3	Gesamt
	Prozent positiv	Prozent positiv	Prozent positiv	Prozent positiv
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)
	Prozent negativ	Prozent negativ	Prozent negativ	Prozent negativ
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)

Tabelle 10: Quantitative GBS-Parameteranalyse von laborinterner Präzision (verschiedene Bediener)

Konzentration	Erster Bediener					Zweiter Bediener					Kombinierter Datensatz				
	Pos. nachgewiesen/gesamt	% positiv	Durchschn. Ct	Std.-Abw.	% VK*	Pos. nachgewiesen/gesamt	% positiv	Durchschn. Ct	Std.-Abw.	% VK	Pos. nachgewiesen/gesamt	% positiv	Durchschn. Ct	Std.-Abw.	% VK
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. z.		3/216	1,4 %	35,33	0,28	0,8 %
TN	0/108	0,0 %	n. z.			0/108	0,0 %	n. z.			0/216	0,0 %	n. z.		

% VK: Der Variationskoeffizient, 100* Standardabweichung/durchschn. Ct.

Laborinterne Reproduzierbarkeit (%)

Die Reproduzierbarkeit des NeuMoDx GBS Assay, so wie er auf dem NeuMoDx 288 Molecular System umgesetzt ist, wurde unter Verwendung des NeuMoDx GBS Test Strip an 3 verschiedenen Teststandorten durch Tests von 5 Replikaten eines Testpanels mit 4 Proben über 5 Tage, das insgesamt 75 Replikate pro Probe des Testpanels erzeugte, bewertet. Die Proben des Testpanels wurden vorbereitet, indem eine gepoolte, negative klinische Lim-Restbouillon mit GBS-Kultur versetzt wurde, um Low Negative (Niedrig-Negativ), Low Positive (Niedrig-Positiv) und Moderate Positive (Moderat-Positiv) Proben des Testpanels zu erstellen, dabei enthielten die True (Blank) Negative (Tatsächlich-Negativ (Leer)) Proben kein GBS. Die Konzentrationen der Proben des Testpanels entsprechen den in *Tabelle 8* zur Verwendung für die Präzisionsbestimmung aufgeführten Konzentrationen (mit Ausnahme der moderat negativen Probe). An jedem Testtag wurden auch eine externe Positiv- und Negativkontrolle mitgeführt.

Insgesamt wurden in der Reproduzierbarkeitsstudie 4 ungültige Ergebnisse erhalten – ein Replikat von jeder der 4 Konzentrationen erbrachte das Ergebnis „Indeterminate“ (Unbestimmt), und alle traten am gleichen Testtag (Tag 2) an Standort B auf. Beim Wiederholungstest erbrachten 2 von 4 Proben ein gültiges, korrektes Ergebnis; die verbleibenden zwei Proben erbrachten ein zweites Mal das Ergebnis „Indeterminate“ (Unbestimmt), bevor ein gültiges, korrektes Ergebnis erhalten wurde. Die prozentuale Übereinstimmung mit dem erwarteten Ergebnis für die Panel-Proben für alle Standorte kombiniert ist nachstehend in *Tabelle 11* aufgeführt.

Tabelle 11: Übersicht über die laborübergreifende Reproduzierbarkeit des NeuMoDx GBS Assay

Panel-Proben-Konzentration	Standort 1 (A)	Standort 2 (B)	Standort 3 (D)	Gesamtübereinstimmung (KI 95 %) ^a
Moderate Positive (moderat positiv)	25/25	25/25	25/25	100 % (75/75) <i>(95,1–100)</i>
Low Positive (schwach positiv)	24/25	25/25	24/25	97,3 % (73/75) <i>(90,8–99,3)</i>
Low Negative (schwach negativ)	25/25	25/25	24/25 ^b	98,7 % (74/75) <i>(92,8–99,8)</i>
Blank Negative (leer negativ)	25/25	25/25	25/25	100 % (75/75) <i>(95,1–100)</i>

^a Die untere und obere Grenze des präsentierten 95%-Konfidenzintervalls (KI) wurden anhand der 95%-Konfidenzintervall-Score-Methode berechnet.

^b Die Low-Negative- (Niedrig-Negativ-) Probenkonzentration wird voraussichtlich ~5 % der Zeit als positiv erkannt.

Verschleppung und Kreuzkontamination

Studien zur möglichen Probenverschleppung und Kreuzkontamination wurden auf dem NeuMoDx 288 Molecular System unter Verwendung des NeuMoDx GBS Test Strip durchgeführt. Bei der zweiteiligen Studie wurden zunächst die Auswirkungen auf GBS-negative Proben untersucht, wenn zwischen diesen Proben mit hoher Konzentration des GBS-Ziels (1×10^7 KbE/ml) analysiert wurden. Die positiven und negativen Proben wurden so geladen, dass sich jede negative Probe neben einer stark positiven Probe befand. Im zweiten Teil der Studie wurden alle negativen Proben sofort nach einem Durchlauf verarbeitet, bei dem ausschließlich Proben mit hoher GBS-Konzentration verarbeitet worden waren. Weder in negativen Proben, zwischen denen sich Proben mit hoher Konzentration befanden, noch in negativen Proben, die den Proben mit hoher GBS-Konzentrationen direkt folgten, wurde eine Kontamination festgestellt. Dies belegt die Abwesenheit von jeglichen Verschleppungen und/oder Kreuzkontamination.

Wirksamkeit der Kontrolle

Die Effektivität der Probenprozesskontrolle, die im NeuMoDx GBS Test Strip enthalten ist, wurde in Bezug auf ihre Meldung von Prozessschrittfehlern oder Inhibition, welche die Leistung des NeuMoDx GBS Assay beeinträchtigen, auf dem NeuMoDx 288 Molecular System bewertet. Die getesteten Bedingungen sind für kritische Prozessschrittfehler repräsentativ, die potenziell während der Probenverarbeitung auftreten können und von integrierten Sensoren, welche die Leistung des NeuMoDx System überwachen, *möglicherweise nicht erkannt werden*. Dies wurde durch Simulation von Ausfällen verschiedener Schritte des Probenprozessflows bewertet, indem ein potenzieller Systemfehler initiiert wurde und Probe mit einem bekannten Inhibitor versetzt wurden, um die Auswirkung der ineffizienten Abschwächung des Inhibitors auf den Nachweis der Probenprozesskontrolle zu beobachten (siehe *Tabelle 12*). In Fällen, in denen die Verarbeitungsfehler keine unerwünschten Auswirkungen auf die Leistung der Probenprozesskontrolle (NO WASH/NO WASH BLOWOUT (KEIN WASCHEN/KEIN WASCH-BLOWOUT)) hatten, wurde der Test mit positiven GBS-Proben (400 KbE/ml) wiederholt, um zu bestätigen, dass der Prozessfehler sich auch auf den Nachweis des GBS-Ziel NICHT negativ auswirkte. In *Tabelle 12* sind die Ergebnisse des Tests zur Verifizierung der Kontrolleffektivität zusammengefasst.

Tabelle 12: Zusammenfassung der Daten zur Effektivität der Kontrollen

Bedingung	Erwartetes Ergebnis	Beobachtetes Ergebnis
Normal Processing (Normale Verarbeitung)	Negative (Negativ)	Negative (Negativ)
Normal Processing + Inhibitor (Normale Verarbeitung + Inhibitor)	Unresolved (Offen)	Unresolved (Offen)
No Wash Reagent (Kein Wash Reagent)	Unresolved (Offen) oder Negative (Negativ)	Negative (Negativ)
No Wash Blowout (Kein Wasch-Blowout)	Unresolved (Offen) oder Negative (Negativ)	Negative (Negativ)
No Release Reagent (Kein Release Reagent)	Indeterminate (Unbestimmt)	Indeterminate (Unbestimmt)
No PCR Master Mix Reagents (Keine PCR-Master-Mix-Reagenzien)	Indeterminate (Unbestimmt)	Indeterminate (Unbestimmt)

Probenstabilität im Gerät

Proben mit unterschiedlichen Probennahmedaten wurden auf dem NeuMoDx 288 Molecular System zur „Time 0“ (Zeit 0) und „Time 24“ (Zeit 24) verarbeitet, um die Stabilität der Proben im Gerät für den NeuMoDx GBS Assay zu ermitteln. Es wurden anfänglich sowohl klinisch positive als auch negative GBS-Proben verarbeitet und dann 24 Stunden auf der Systemarbeitsplattform belassen, bevor sie dann ein zweites Mal verarbeitet wurden. Für die 23 getesteten negativen GBS-Proben wurde eine Übereinstimmung von 100 % zwischen den Ergebnissen, die mit dem anfänglichen Test (Time 0), und jenen, die mit dem 24 Stunden später ausgeführten Test (Time 24) erhalten wurden, beobachtet [Tabelle 13]. Nach 24 Stunden ergaben bis auf eine alle positiven Proben ein positives Ergebnis, was einer Übereinstimmung von 95,8 % mit dem erwarteten Ergebnis entspricht.

Tabelle 13: Zusammenfassung der Daten zur Probenstabilität im Gerät

		Bestätigte positive Proben (Proben A)		Bestätigte negative Proben (Proben B)	
		Anzahl positiv	Anzahl negativ	Anzahl positiv	Anzahl negativ
Test 1	Time 0	23	0	0	23
Test 2	Time 24	22	1*	0	23
% Übereinstimmung		95,8		100	

* Eine Probe wurde zunächst bei Time 0 als positiv identifiziert; die weitere Auswertung ergab jedoch, dass die Probe, möglicherweise aufgrund einer niedrigen Konzentration an GBS-DNA oder nicht lebensfähigen Zellmaterials fälschlicherweise als positiv identifiziert worden war, da vom Referenzlabor kein GBS-Wachstum in der Kultur berichtet wurde.

LITERATUR

- 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.

MARKENNAMEN

NeuMoDx™ und NeuDry™ sind Marken von NeuMoDx Molecular, Inc.
 TaqMan® ist eine Marke von Roche Molecular Systems, Inc.
 AcroMetrix™ ist eine Marke von Thermo Fisher Scientific.
 Monistat® ist eine eingetragene Marke von Pfizer, Inc.
 Yeast Gard Advanced™ ist eine Marke von Lake Consumer Products, Inc.
 Metamucil® ist eine eingetragene Marke von Procter & Gamble.
 Ex-lax® ist eine eingetragene Marke von GSK plc.
 Phillips® ist eine Marke von Bayer.
 Kaopectate® ist eine Marke von SANOFI.
 Neutrogena® ist eine eingetragene Marke von Johnson & Johnson Consumer, Inc.

Dulcolax® ist eine eingetragene Marke von SANOFI.
 Fleet® ist eine eingetragene Marke von C.B. Fleet Company.
 Preparation H® ist eine eingetragene Marke von Pfizer, Inc.
 Vagisil™ ist eine Marke von COMBE, Inc.
 Norforms® ist eine eingetragene Marke von C.B. Fleet Company.
 FDS® ist eine eingetragene Marke von WellSpring Pharmaceutical Corp.
 K-Y™ Jelly ist eine Marke von Reckitt Benckiser Group.
 Pepto-Bismol™ ist eine Marke von Procter & Gamble.
 Gold Bond® ist eine Marke von SANOFI.

SYMBOLE

SYMBOL	BEDEUTUNG
R only	Nur zur Anwendung durch Fachpersonal
	Hersteller
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft
	Katalognummer
	Chargencode
	Verfallsdatum
	Zulässiger Temperaturbereich
	Zulässiger Luftfeuchtigkeitsbereich
	Nicht zur Wiederverwendung
	Inhalt ausreichend für <n> Tests
	Gebrauchsanweisung beachten
	Vorsicht
	Biologische Risiken
	CE-Kennzeichnung



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



Technischer Support/Vigilanzberichterstattung: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents