

REF Ταινία 200400 NeuMoDx™ GBS Test Strip

R only

ΠΡΟΣΟΧΗ: Μόνο για εξαγωγή από τις ΗΠΑ

IVD Για *in vitro* διαγνωστική χρήση με τα συστήματα NeuMoDx 288 και NeuMoDx 96 Molecular System



Για ενημερώσεις του φύλλου οδηγιών, επισκεφτείτε τη διεύθυνση: www.qiaagen.com/neumodx-ifu
Για αναλυτικές οδηγίες, ανατρέξτε στο Εγχειρίδιο χρήσης του συστήματος NeuMoDx 288 Molecular System, P/N 40600108
Για αναλυτικές οδηγίες, ανατρέξτε στο Εγχειρίδιο χρήσης του συστήματος NeuMoDx 96 Molecular System, P/N 40600317

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx GBS Assay όπως εφαρμόζεται στα συστήματα NeuMoDx 288 Molecular System και NeuMoDx 96 Molecular System (συστήματα NeuMoDx System) είναι μια ποιοτική *in vitro* διαγνωστική εξέταση που έχει σχεδιαστεί ώστε να ανιχνεύει το DNA του *Streptococcus* ομάδας Β (Group Β *Streptococcus*, GBS) από κολπικά/ορθικά επιχρίσματα από έγκυες γυναίκες, εμπλουτισμένα με ζωμό Lim για 18–24 ώρες. Η εξέταση περιλαμβάνει αυτοματοποιημένη εκχύλιση DNA για απομόνωση του στοχευόμενου νουκλεϊκού οξέος από το δοκίμιο και αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR) πραγματικού χρόνου για ανίχνευση μιας περιοχής 88 bp της ακολουθίας του γονιδίου *pcsB* στο χρωμόσωμα *Streptococcus agalactiae*. Τα αποτελέσματα από τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx GBS Assay μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βοήθημα κατά τον προσδιορισμό της κατάστασης αποικισμού σε γυναίκες πριν από τον τοκετό.

Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx GBS Assay δεν παρέχει αποτελέσματα ευπάθειας. Για την εκτέλεση εξετάσεων ευπάθειας, χρειάζονται καλλιεργημένα απομονωθέντα στελέχη, όπως συνιστάται για γυναίκες με αλλεργία στην πενικιλίνη.

ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Ένα κολπικό/ορθικό επίχρισμα συλλέγεται και μεταφέρεται στο εργαστήριο με τη χρήση τυπικών συστημάτων μεταφοράς βακτηριακών επιχρισμάτων που περιέχουν μη θρεπτικό μέσο μεταφοράς. Τα κατάλληλα μέσα μεταφοράς (π.χ. Amies ή Stuart's) είναι διαθέσιμα στο εμπόριο. Στο εργαστήριο, το δοκίμιο ενοφθαλμίζεται σε επιλεκτικό μέσο ζωμού, όπως ζωμός Lim (ζωμός Todd-Hewitt συμπληρωμένος με κολιστίνη και ναλιδιζικό οξύ). Μετά την επώαση του ενοφθαλμισμένου επιλεκτικού ζωμού για 18–24 ώρες στους 37 °C σε αέρα περιβάλλοντος ή 5% CO₂, ένα κλάσμα του ζωμού αναμιγνύεται με ρυθμιστικό διάλυμα NeuMoDx Lysis Buffer 4 για να ξεκινήσει η λύση του δείγματος και υποβάλλεται πλήρως σε επεξεργασία στο σύστημα NeuMoDx System με τη χρήση των αντιδραστηρίων NeuMoDx GBS Test Strip. Το σύστημα NeuMoDx System εκχυλίζει αυτόματα το νουκλεϊκό οξύ στόχου και ενισχύει ένα τμήμα της ακολουθίας γονιδίου *pcsB* του χρωμοσώματος GBS, αν υπάρχει. Η ταινία NeuMoDx GBS Test Strip περιλαμβάνει έναν μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος (Sample Process Control 1, SPC1) DNA, για παρακολούθηση για παρουσία δυννητικών ανασταλτικών ουσιών, καθώς και για αστοχίες του συστήματος ή των αντιδραστηρίων που ενδέχεται να προκύψουν κατά τη διάρκεια των διαδικασιών εκχύλισης και ενίσχυσης.

Το GBS είναι ένα Gram-θετικό βακτήριο που απαντάται στο 10–35% των υγείων ενηλίκων. Ένα άτομο που φέρει το GBS αλλά δεν εμφανίζει σημεία νόσου από GBS θεωρείται ότι «αποικείται» από GBS. Τα GBS είναι βακτήρια που απαντώνται συχνά και συσχετίζονται με το ανθρώπινο σώμα. Υπό ορισμένες συνθήκες, το GBS μπορεί να εισβάλει στο σώμα και να προκαλέσει σοβαρή λοίμωξη. Αυτό αναφέρεται ως *στρεπτοκοκκική νόσος ομάδας Β*.¹

Το GBS μπορεί να προκαλέσει βαριά νόσο σε ένα νεογνό και είναι γνωστό ότι αποτελεί την κύρια αιτία απειλητικής για τη ζωή βακτηριακής λοίμωξης στα νεογνά. Ένας αριθμός στελεχών του παθογόνου κυκλοφορούν στην κοινότητα και περίπου το 80% των λοιμώξεων σε νεογνά αποκτώνται κατά τη γέννηση μέσω κάθετης μετάδοσης (μητέρα προς μωρό). Σύμφωνα με έρευνες, το GBS αποικεί τους πρωκτογεννητικούς βλεννογόνους του 25–40% των υγείων γυναικών. Πριν από την έναρξη της ενεργού πρόληψης, εκτιμάται ότι ετησίως στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής σημειώνονταν 7.500 περιστατικά της νεογνικής νόσου GBS.¹ Εντυπωσιακές μειώσεις στην επίπτωση της νόσου συμπίπτουν με τις αυξημένες δραστηριότητες πρόληψης τη δεκαετία του 1990,² και περαιτέρω μείωση σημειώθηκε μετά την έκδοση της σύστασης για καθολικό έλεγχο το 2002.³ Παρά την εισαγωγή αντιβιοτικής προφύλαξης στις ΗΠΑ, η νόσος από GBS παραμένει η κύρια λοιμώδης αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας των νεογνών στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, με περίπου 2.000 περιστατικά νεογνικών λοιμώξεων ανά έτος, με εκτιμήσεις για ποσοστό θνησιμότητας 0,27 ανά 1.000 γεννήσεις ζώντων νεογνών.⁴⁻⁶

Το ισχύον πρότυπο φροντίδας για την πρόληψη της νεογνικής νόσου από GBS είναι ο έλεγχος των εγκύων γυναικών στις 35–37 εβδομάδες της κύησης, ώστε να προσδιορίζεται η κατάσταση αποικισμού τους από GBS.⁷ Όταν η εξέταση για GBS εκτελείται μέσω καλλιέργειας, μπορεί να χρειαστούν έως και 48 ώρες για την οριστική αναγνώριση του GBS μετά το αρχικό βήμα επώασης \geq 18 ωρών. Η ταινία NeuMoDx GBS Test Strip, όπως εφαρμόζεται στο σύστημα NeuMoDx System, μπορεί να παρέχει αποτελέσματα για τα 8 πρώτα δοκίμια εντός μιας ώρας μετά το αρχικό βήμα επώασης/εμπλουτισμού \geq 18 ωρών. Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx GBS Assay εκσυγχρονίζει και απλουστεύει τη διαδικασία εξέτασης, εξαλείφοντας την ανάγκη για παρέμβαση του χειριστή από τη στιγμή που το δείγμα τοποθετείται στο σύστημα έως ότου διατεθούν τα αποτελέσματα.

ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Μετά την περίοδο επώασης 18–24 ωρών, χρησιμοποιείται ο εμπλουτισμένος ζωμός για την ανίχνευση της παρουσίας GBS. Το σύστημα NeuMoDx System αναμιγνύει 25 μ l του ζωμού Lim με ρυθμιστικό διάλυμα NeuMoDx Lysis Buffer 4 και αντιδραστήρια εκχύλισης, για να ξεκινήσει η επεξεργασία. Το σύστημα NeuMoDx System αυτοματοποιεί και ενσωματώνει την εκχύλιση και τη συγκέντρωση του DNA, την προετοιμασία των αντιδραστηρίων και την ενίσχυση και ανίχνευση νουκλεϊκού οξέος της στοχευόμενης αλληλουχίας με τη χρήση PCR πραγματικού χρόνου. Ο μάρτυρας επεξεργασίας δείγματος ενσωματώνεται επίσης στα βήματα επεξεργασίας και ενίσχυσης δείγματος για την παρακολούθηση για παρουσία δυννητικών ανασταλτικών ουσιών, καθώς και για αστοχίες του συστήματος ή των αντιδραστηρίων. Δεν απαιτείται καμία παρέμβαση από το χειριστή μετά τη φόρτωση του δοκιμίου στο NeuMoDx System.

Στα συστήματα NeuMoDx System χρησιμοποιείται ένας συνδυασμός θερμότητας, λυτικού ενζύμου και αντιδραστηρίων εκχύλισης για την εκτέλεση κυτταρικής λύσης, εκχύλισης DNA και απομάκρυνσης αναστολέων. Τα αποδεσμευμένα νουκλεϊκά οξέα συλλαμβάνονται από παραμαγνητικά σωματίδια. Τα σωματίδια, μαζί με τα δεσμευμένα νουκλεϊκά οξέα, φορτώνονται στη φύσιγγα NeuMoDx Cartridge όπου τα μη δεσμευμένα συστατικά εκτός DNA απομακρύνονται περαιτέρω με πλύση με το αντιδραστήριο NeuMoDx Wash Reagent και το δεσμευμένο DNA εκλύεται με το αντιδραστήριο NeuMoDx Release Reagent. Στη συνέχεια, στα συστήματα NeuMoDx System χρησιμοποιείται το απελευθερωμένο DNA για επανενυδάτωση των αποκλειστικών αντιδραστηρίων NeuDry™ που περιέχουν όλα τα απαραίτητα στοιχεία για την ενίσχυση του στόχου ειδικά για το GBS. Τα αφυδατωμένα αντιδραστήρια PCR περιέχουν επίσης τα συστατικά που απαιτούνται για την ενίσχυση ενός τμήματος της ακολουθίας του μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος, ώστε να επιτρέπεται η ταυτόχρονη ενίσχυση και ανίχνευση των ακολουθιών DNA στόχου και μάρτυρα. Μετά την ανασύσταση των αντιδραστηρίων PCR NeuDry, το σύστημα NeuMoDx System διανέμει το προετοιμασμένο, έτοιμο για PCR μίγμα σε έναν θάλαμο PCR (ανά δοκίμιο) της φύσιγγας NeuMoDx Cartridge. Η ενίσχυση και η ανίχνευση των ακολουθιών DNA του μάρτυρα και του στόχου (αν υπάρχει) σημειώνονται στον θάλαμο PCR. Ο θάλαμος και η φύσιγγα έχουν σχεδιαστεί ώστε να περιέχουν το αμπλικόνιο μετά από PCR πραγματικού χρόνου και να εξαλείφεται ως εκ τούτου ο κίνδυνος επιμόλυνσης μετά την ενίσχυση.

Οι ενισχυμένοι στόχοι ανιχνεύονται σε πραγματικό χρόνο μέσω χημείας ανιχνευτών υδρόλυσης (κοινώς αναφέρεται ως χημεία TaqMan®), με τη χρήση μορίων ανιχνευτή φθορίζοντος ολιγονουκλεοτιδίου ειδικών για τα αμπλικόνια των αντίστοιχων στόχων. Οι ανιχνευτές TaqMan αποτελούνται από ένα φθοροφόρο ομοιοπολικά προσαρτημένο στο άκρο 5' του ολιγονουκλεοτιδίου ανιχνευτή και έναν αναστολέα στο άκρο 3'. Ενώ ο ανιχνευτής είναι άθικτος, το φθοροφόρο και ο αναστολέας βρίσκονται κοντά, επομένως το μόριο του αναστολέα αναστέλλει τον φθορισμό που εκπέμπεται από το φθοροφόρο μέσω μεταφοράς FRET (Förster Resonance Energy Transfer, μεταφορά ενέργειας λόγω συντονισμού κατά Förster).

Οι ανιχνευτές TaqMan έχουν σχεδιαστεί έτσι ώστε να αναδιατάσσονται εντός μιας περιοχής DNA που έχει ενισχυθεί από ένα ειδικό σύνολο εκκινητών. Καθώς η Taq DNA πολυμεράση επεκτείνει τον εκκινητή και συνθέτει τον νέο κλώνο, η δράση της Taq DNA πολυμεράσης στην 5' προς 3' εξωνουκλεάση διασπά τον ανιχνευτή που έχει αναδιαταχθεί σύμφωνα με το πρότυπο. Με την υποβάθμιση του ανιχνευτή, απελευθερώνεται το φθοροφόρο από αυτόν και διασπάται η εγγύτητα προς τον αναστολέα, επομένως, υπερσκελιζείται η ανασταλτική επίδραση λόγω της μεταφοράς FRET και επιτρέπεται η ανίχνευση του φθορισμού του φθοροφόρου. Το σήμα φθορισμού που προκύπτει και ανιχνεύεται στον θερμικό κυκλοποιητή ποσοτικής PCR είναι ευθέως ανάλογο προς το φθοροφόρο που απελευθερώνεται και μπορεί να συσχετιστεί με την ποσότητα του DNA του στόχου που υπάρχει.

Ένας ανιχνευτής TaqMan, σημασμένος με ένα φθοροφόρο (διέγερση: 490 nm και εκπομπή: 521 nm) στο άκρο 5' και ένας σκοτεινός αναστολέας στο άκρο 3' χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση του DNA του GBS. Για την ανίχνευση του μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος, ο ανιχνευτής TaqMan επισημαίνεται με μια εναλλακτική φθορίζουσα χρωστική (Διέγερση: 535 nm και εκπομπή: 556 nm) στο άκρο 5' και έναν σκοτεινό αναστολέα στο άκρο 3'. Το σύστημα NeuMoDx System παρακολουθεί το φθορίζον σήμα που εκπέμπεται από τους ανιχνευτές TaqMan στο τέλος κάθε κύκλου ενίσχυσης. Όταν η ενίσχυση ολοκληρωθεί, το σύστημα NeuMoDx System αναλύει τα δεδομένα και αναφέρει ένα τελικό αποτέλεσμα [POSITIVE (Θετικό) / NEGATIVE (Αρνητικό) / INDETERMINATE (Απροσδιόριστο) / UNRESOLVED (Χωρίς απάντηση)].

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ/ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ

Παρεχόμενα υλικά

REF	Περιεχόμενα	Εξετάσεις ανά τεμάχιο	Εξετάσεις ανά συσκευασία
200400	Ταινία NeuMoDx GBS Test Strip Αφυδατωμένα αντιδραστήρια PCR που περιέχουν ανιχνευτή και εκκινητές TaqMan ειδικά για τον GBS, ανιχνευτή και εκκινητές TaqMan ειδικά για τον μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος.	16	96

Αντιδραστήρια και αναλώσιμα που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται (διατίθενται ξεχωριστά από τη NeuMoDx)

REF	Περιεχόμενα
100200	Πλάκα NeuMoDx Extraction Plate Αφυδατωμένα παραμαγνητικά σωματίδια, λυτικό ένζυμο και μάρτυρες επεξεργασίας δείγματος
400700	Ρυθμιστικό διάλυμα NeuMoDx Lysis Buffer 4
400100	Αντιδραστήριο πλύσης NeuMoDx Wash Reagent
400200	Αντιδραστήριο αποδέσμευσης NeuMoDx Release Reagent
100100	Φύσιγγα NeuMoDx Cartridge
235903	Ρύγγη Hamilton CO-RE / CO-RE II (300 μL) με φίλτρα
235905	Ρύγγη Hamilton CO-RE / CO-RE II (1.000 μL) με φίλτρα

Όργανα που απαιτούνται

Σύστημα NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] ή σύστημα NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- Για *in vitro* διαγνωστική χρήση μόνο με τα συστήματα NeuMoDx System.
- Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης που παρατίθεται.
- Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια, αν η σφράγιση ασφαλείας έχει σπάσει ή αν η συσκευασία έχει φθορές κατά την άφιξη.
- Μη χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια, αν το προστατευτικό σακουλάκι είναι ανοικτό ή σπασμένο κατά την άφιξη.
- Ο ελάχιστος όγκος δοκιμίου των δευτερευόντων κλασμάτων εξαρτάται από το μέγεθος του σωληναρίου/το φορέα σωληναρίων δοκιμίου, όπως καθορίζεται παρακάτω. Κάθε όγκος που είναι μικρότερος από τον ελάχιστο προσδιορισμένο ενδέχεται να προκαλέσει σφάλμα «Quantity Not Sufficient» (Ανεπαρκής ποσότητα).
- Με την εξέταση εκτός των προϋποθέσεων που συνιστώνται από το CDC ενδέχεται να προκύψουν εσφαλμένα αποτελέσματα κατά τη χρήση της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx GBS Assay.
- Αποφύγετε σε κάθε περίπτωση την επιμόλυνση των αντιδραστηρίων με μικρόβια και δεοξυριβονουκλεάση (DNάση). Συνιστάται η χρήση αποστειρωμένων, αναλώσιμων πιπετών μεταφοράς χωρίς DNάση. Χρησιμοποιείτε νέα πιπέτα για κάθε δοκίμιο.
- Για την αποφυγή της επιμόλυνσης, μη χειρίζεστε και μην αποσυναρμολογείτε καμία φύσιγγα NeuMoDx Cartridge μετά την ενίσχυση. Μην ανασύρετε τις φύσιγγες μετά την ενίσχυση από τα απόβλητα σε καμία περίπτωση. Η φύσιγγα NeuMoDx Cartridge έχει σχεδιαστεί ώστε να αποτρέπεται η επιμόλυνση.
- Σε περιπτώσεις όπου διεξάγονται από το εργαστήριο επίσης εξετάσεις PCR ανοικτού σωληναρίου, πρέπει να δίνεται προσοχή ώστε να διασφαλίζεται ότι η ταινία NeuMoDx GBS Test Strip, τα πρόσθετα αντιδραστήρια που απαιτούνται για την εξέταση και το σύστημα NeuMoDx System δεν θα επιμολυνθούν.
- Θα πρέπει να φοράτε καθαρά γάντια νιτρίλιου χωρίς πούδρα κατά το χειρισμό των αντιδραστηρίων και των αναλώσιμων NeuMoDx. Θα πρέπει να δίνεται προσοχή ώστε να μην υπάρχει επαφή με την επάνω επιφάνεια της φύσιγγας NeuMoDx Cartridge ή την επιφάνεια σφράγισης αλουμινόφυλλου της ταινίας NeuMoDx GBS Test Strip ή την πλάκα NeuMoDx Extraction Plate. Ο χειρισμός των προϊόντων θα πρέπει να πραγματοποιείται με επαφή μόνο στις πλευρικές επιφάνειες.
- Δελτία δεδομένων ασφάλειας (ΔΔΑ) διατίθενται εφόσον ζητηθούν.
- Ακολουθείτε τις οδηγίες που περιλαμβάνονται στο *Εγχειρίδιο χρήσης του NeuMoDx 288/96 Molecular System* για τα συνιστώμενα διαλύματα καθαρισμού που πρέπει να χρησιμοποιούνται στο σύστημα.
- Μην πραγματοποιείτε αναρρόφηση με το στόμα. Μην καπνίζετε και μην καταναλώνετε ποτά ή φαγητά σε περιοχές όπου εκτελείται χειρισμός δοκιμίων ή αντιδραστηρίων κτ.
- Χειρίζεστε πάντα τα δοκίμια με τον τρόπο που θα χειριζόσασταν μολυσματικές ουσίες και σύμφωνα με ασφαλείς εργαστηριακές διαδικασίες, όπως αυτές που περιγράφονται στο έγγραφο *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (Βιοασφάλεια σε μικροβιολογικά και βιοϊατρικά εργαστήρια)⁸ και στο έγγραφο M29-A4 του CLSI.⁹
- Απορρίψτε τα μη χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια και τα απόβλητα σύμφωνα με τους εθνικούς, ομοσπονδιακούς, περιφερειακούς, κρατικούς και τοπικούς κανονισμούς.

ΦΥΛΑΞΗ, ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ

- Τα αντιδραστήρια και τα αναλώσιμα NeuMoDx είναι σταθερά μέσα στην κύρια συσκευασία σε θερμοκρασία 18 έως 28 °C έως την ημερομηνία λήξης που αναφέρεται στην άμεση ετικέτα του προϊόντος.
- Μη χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης που αναφέρεται.
- Μη χρησιμοποιείτε κανένα προϊόν εξέτασης, εάν υπάρχουν ορατές αλλοιώσεις στην κύρια ή τη δευτερεύουσα συσκευασία.
- Μετά τη φόρτωση, η ταινία NeuMoDx GBS Test Strip μπορεί να παραμείνει επί του συστήματος NeuMoDx System για 28 ημέρες. Η υπολειπόμενη διάρκεια ζωής των φορτωμένων δοκιμαστικών ταινιών παρακολουθείται από το λογισμικό και αναφέρεται στον χρήστη σε πραγματικό χρόνο. Το σύστημα θα εμφανίζει ειδοποίηση για την αφαίρεση των δοκιμαστικών ταινιών που έχουν χρησιμοποιηθεί για διάστημα μεγαλύτερο από το επιτρεπόμενο.

ΣΥΛΛΟΓΗ, ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΚΑΙ ΦΥΛΑΞΗ ΔΟΚΙΜΙΩΝ

1. Τα δοκίμια κολπικού/ορθικού επιχρίσματος από γυναίκες πριν από τον τοκετό για εμπλουτισμό σε ζωμό Lim θα πρέπει να συλλέγονται, να φυλάσσονται και να αντιμετωπίζονται σύμφωνα με τις συνιστώμενες από το CDC κλινικές διαδικασίες.⁷
2. Τα δοκίμια θα πρέπει να μεταφέρονται στο εργαστήριο μέσα σε μη θρεπτικό μέσο μεταφοράς, όπως Amies ή Stuart's.
3. Αν τα κολπικά και ορθικά επιχρίσματα συλλεχθούν ξεχωριστά από την ίδια ασθενή, και τα δύο επιχρίσματα μπορούν να τοποθετηθούν στον ίδιο περιέκτη μέσου μεταφοράς.
4. Επισημάινετε με σαφήνεια τα δοκίμια και υποδεικνύετε ότι τα δοκίμια προορίζονται για εξέταση GBS. Στην ετικέτα θα πρέπει επίσης να υποδεικνύεται αν πρόκειται να εκτελεστεί εξέταση ευπάθειας σε αντιβιοτικά.
5. Αφαιρέστε το επιχρίσμα/τα επιχρίσματα από το μέσο μεταφοράς και ενοφθαλμίστε ένα συνιστώμενο επιλεκτικό μέσο ζωμού, όπως ζωμός Lim (ζωμός Todd-Hewitt συμπληρωμένος με κολιστίνη και ναλιδιξικό οξύ).
6. Επώαστε τον ενοφθαλμισμένο επιλεκτικό ζωμό (ζωμός Lim) για 18–24 ώρες στους 37 °C σε αέρα περιβάλλοντος ή 5% CO₂.
7. Προχωρήστε στην ενότητα Προετοιμασία εξέτασης.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Προετοιμασία εξέτασης

1. Εφαρμόστε ετικέτα γραμμωτού κωδικού δοκιμίου σε ένα σωληνάριο δοκιμίου που είναι συμβατό με το σύστημα NeuMoDx System.
2. Στροβιλίστε απαλά το εμπλουτισμένο με ζυμό δοκίμιο για να επιτύχετε ομοιόμορφη κατανομή.
3. Εάν πραγματοποιείτε μέθοδο προσδιορισμού σε δευτερεύον δοκίμιο, χρησιμοποιήστε μια πιπέτα μεταφοράς για να μεταφέρετε ≥ 1 mL ζυμού Lim στο σωληνάριο δοκιμίου με γραμμωτό κωδικό. Χρησιμοποιείτε διαφορετική πιπέτα μεταφοράς για κάθε δοκίμιο. Το δευτερεύον σωληνάριο πρέπει να πληροί τις ακόλουθες προδιαγραφές σωληναρίου ώστε να είναι συμβατό με το σύστημα NeuMoDx System βάσει του φορέα σωληναρίων δοκιμίου που χρησιμοποιείται για την επεξεργασία.
 - Φορέας σωληναρίων δοκιμίου (32 σωληναρίων): διάμετρος 11–14 mm και ύψος 60–120 mm
 - Φορέας σωληναρίων δοκιμίου (24 σωληναρίων): διάμετρος 14,5–18 mm και ύψος 60–120 mm
 - Φορέας σωληναρίων δοκιμίου χαμηλού όγκου (32 σωληναρίων): Σωληνάριο μικροφυγοκέντρησης με κωνικό πυθμένα και χωρητικότητα 1,5 mL

Λειτουργία συστημάτων NeuMoDx System

1. Συμπληρώστε τους φορείς του συστήματος, ανάλογα με τις απαιτήσεις, με τα ακόλουθα αναλώσιμα και χρησιμοποιήστε την οθόνη αφής για να φορτώσετε τον φορέα/τους φορείς στο σύστημα NeuMoDx System:
 - a. Ρύγχη πιπέτας 1.000 μ L
 - b. Ρύγχη πιπέτας 300 μ L
 - c. Φύσιγγα NeuMoDx Cartridge
 - d. Πλάκα NeuMoDx Extraction Plate
 - e. Ταινία NeuMoDx GBS Test Strip
 - f. Ρυθμιστικό διάλυμα NeuMoDx Lysis Buffer 4 (ΣΗΜΕΙΩΣΗ: αφαιρέστε τη σφράγιση αλουμινοφύλλου από τους περιέκτες πριν από τη φόρτωση)
2. Αντικαταστήστε τα αντιδραστήρια NeuMoDx Wash και NeuMoDx Release Reagent και εκκενώστε τα απόβλητα πλήρωσης, ανάλογα με τις ανάγκες.
3. Εκκενώστε τον περιέκτη βιολογικά επικίνδυνων αποβλήτων ανάλογα με τις ανάγκες ή όταν σας ζητηθεί από το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System.
4. Φορτώστε το(α) σωληνάριο(α) δοκιμίου σε έναν φορέα σωληναρίων δοκιμίου και βεβαιωθείτε ότι έχουν αφαιρεθεί τα καπάκια από όλα τα σωληνάρια.
5. Τοποθετήστε τον φορέα σωληναρίων δοκιμίου στο ράφι αυτόματης φόρτωσης και χρησιμοποιήστε την οθόνη αφής για να φορτώσετε τον φορέα στο σύστημα. Με αυτήν την ενέργεια, θα ξεκινήσει η επεξεργασία της εξέτασης/των εξετάσεων.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- Η ταινία NeuMoDx GBS Test Strip μπορεί να χρησιμοποιείται μόνο σε συστήματα NeuMoDx System.
- Η απόδοση της δοκιμασίας NeuMoDx GBS Assay έχει καθιερωθεί με κολπικά/ορθικά δοκίμια που συλλέγονται από ασθενείς προ του τοκετού με τη χρήση επιχρισμάτων σε μη θρεπτικό μέσο μεταφοράς (όπως Amies ή Stuart's), μετά από εμπλουτισμό με τη χρήση επιλεκτικού ζυμού Lim. Η απόδοση της δοκιμασίας NeuMoDx GBS Assay έχει επικυρωθεί μόνο με ζυμό Lim. Η απόδοση δεν έχει επικυρωθεί με άλλα επιλεκτικά μέσα εμπλουτισμού ζυμού GBS.
- Η χρήση της δοκιμασίας NeuMoDx GBS Assay με άλλες κλινικές πηγές δεν έχει αξιολογηθεί και τα χαρακτηριστικά απόδοσης αυτής της εξέτασης είναι άγνωστα για άλλους τύπους δοκιμίου.
- Καθώς η ανίχνευση του *Streptococcus* ομάδας Β εξαρτάται από τον αριθμό των μικροοργανισμών που υπάρχουν στο δείγμα, η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων εξαρτάται από την ορθή συλλογή, τον ορθό χειρισμό και την ορθή φύλαξη των δοκιμίων.
- Εσφαλμένα αποτελέσματα εξέτασης μπορεί να προκύψουν λόγω ακατάλληλης συλλογής, χειρισμού ή φύλαξης των δοκιμίων, τεχνικού σφάλματος ή σύγχυσης δειγμάτων. Επιπλέον, ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα μπορεί να προκύψουν επειδή ο αριθμός των μικροοργανισμών στο δοκίμιο είναι μικρότερος από την αναλυτική ευαισθησία της εξέτασης.
- Η πραγματοποίηση της εξέτασης επιτρέπεται μόνο σε προσωπικό που έχει εκπαιδευτεί σχετικά με τη χρήση του NeuMoDx System.
- Αν ο μάρτυρας επεξεργασίας δείγματος δεν οδηγήσει σε ενίσχυση και το αποτέλεσμα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx GBS Assay είναι Negative (Αρνητικό), θα αναφερθεί μη έγκυρο αποτέλεσμα [Indeterminate (Απροσδιόριστο) ή Unresolved (Χωρίς απάντηση)] και η εξέταση θα πρέπει να επαναληφθεί.
- Ένα θετικό αποτέλεσμα εξέτασης δεν υποδεικνύει απαραίτητα την παρουσία βιώσιμων μικροοργανισμών. Πιθανολογείται, ωστόσο, ότι υπάρχει DNA *Streptococcus* ομάδας Β.
- Τα αρνητικά αποτελέσματα δεν αποκλείουν την παρουσία GBS και δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ως αποκλειστική βάση για τη θεραπεία ή για άλλες αποφάσεις διαχείρισης ασθενών.
- Ο αποικισμός GBS κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης μπορεί να είναι διαλείπων, εμμένων ή παροδικός. Η κλινική χρησιμότητα του ελέγχου για GBS μειώνεται όταν η εξέταση εκτελείται περισσότερο από πέντε εβδομάδες πριν από τον τοκετό.

- Η εξέταση NeuMoDx GBS δεν παρέχει αποτελέσματα ευπάθειας. Για την εκτέλεση εξετάσεων ευπάθειας, χρειάζονται απομονωθέντα στελέχη καλλιέργειας, όπως συνιστάται για γυναίκες με αλλεργία στην πενικιλίνη.
- Ενώ δεν υπάρχουν γνωστά στελέχη/απομονωθέντα στελέχη του GBS με έλλειψη του γονιδίου *pcsB*, η ύπαρξη ενός τέτοιου στελέχους θα μπορούσε να οδηγήσει σε εσφαλμένο αποτέλεσμα με χρήση της ταινίας NeuMoDx GBS Test Strip.
- Οι μεταλλάξεις στις περιοχές δέσμευσης εκκινήτη/ανιχνευτή ενδέχεται να επηρεάσουν την ανίχνευση με χρήση της ταινίας NeuMoDx GBS Test Strip.
- Τα αποτελέσματα από τη δοκιμασία NeuMoDx GBS Assay να χρησιμοποιούνται ως συμπλήρωμα στις κλινικές παρατηρήσεις και σε άλλες πληροφορίες που είναι διαθέσιμες στον ιατρό. Η εξέταση δεν προορίζεται για τη διαφοροποίηση των φορέων του *Streptococcus* ομάδας B από εκείνους με στρεπτοκοκκική νόσο. Τα αποτελέσματα της εξέτασης ενδέχεται να επηρεαστούν από συγχωρηγόμενη αντιβιοτική θεραπεία, καθώς το DNA του GBS μπορεί να συνεχίσει να ανιχνεύεται μετά από αντιμικροβιακή θεραπεία.
- Για την αποφυγή της επιμόλυνσης των δοκιμών, συνιστώνται ορθές εργαστηριακές πρακτικές, όπως η αλλαγή γαντιών μεταξύ του χειρισμού δοκιμών ασθενών.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Αναμενόμενες τιμές - Επιπολασμός

Περίπου το 10–40% των εγκύων γυναικών αποικούνται με GBS. Ο έλεγχος μέσω καλλιέργειας του κόλπου και του ορθού για GBS αργά κατά την κύηση (γενικά 35–37 εβδομάδες), κατά τη διάρκεια της προγεννητικής φροντίδας, μπορεί να ανιχνεύσει γυναίκες που είναι πιθανό να αποικιστούν με GBS κατά τον χρόνο του τοκετού. Κατά τη διάρκεια της μελέτης σύγκρισης κλινικών μεθόδων, 1.193 υπολειμματικά δείγματα ζυμού Lim εγγράφηκαν και εξετάστηκαν σε τρία γεωγραφικά διαφορετικά εργαστήρια στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής. Ο συνολικός επιπολασμός του GBS στη μελέτη, βάσει των αποτελεσμάτων προσδιορισμού καλλιέργειας χρυσού προτύπου που παρασχεθήκαν ως μέθοδος αναφοράς για όλα τα συμπεριληφθέντα δείγματα, ήταν 21,9% (261/1.193) με ΔΕ 95% (19,6–24,3%), όπως υπολογίστηκε με χρήση της μεθόδου διαστήματος εμπιστοσύνης βαθμολογίας 95% κατά την κατευθυντήρια γραμμή του CLSI EP12-A2.¹⁰ Τα πραγματικά ποσοστά επιπολασμού ενδέχεται να διαφέρουν μεταξύ γεωγραφικών τοποθεσιών, βάσει των τοπικών πληθυσμών ασθενών.

Συστήματα NeuMoDx 288/96 Molecular System

Τα διαθέσιμα αποτελέσματα μπορούν να προβάλλονται ή να εκτυπώνονται από την καρτέλα «Results» (Αποτελέσματα) στο παράθυρο αποτελεσμάτων Results (Αποτελέσματα) στην οθόνη αφής του συστήματος NeuMoDx System.

Τα αποτελέσματα της εξέτασης δημιουργούνται αυτόματα από το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System. Ένα αποτέλεσμα εξέτασης μπορεί να αναφερθεί ως Negative (Αρνητικό), Positive (Θετικό), Indeterminate (Απροσδιόριστο) ή Unresolved (Χωρίς απάντηση), βάσει της κατάστασης ενίσχυσης του στόχου και του μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος. Τα αποτελέσματα αναφέρονται βάσει του αλγορίθμου απόφασης στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1: Αλγόριθμος απόφασης της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx GBS Assay

Αποτέλεσμα	C _t GBS	C _t του μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος (Sample Process Control 1, SPC1)
Positive (Θετικό)	9 < C _t < 37 And (και) EP > 3000	N/A (Δ/Ε)
Negative (Αρνητικό)	N/A (Δ/Ε) OR (H) C _t < 9 OR (H) > 37	25 < C _t < 35 And (και) EP > 2.000
Indeterminate (Απροσδιόριστο)	N/A (Δ/Ε) SYSTEM ERROR NOTED (Σημειώθηκε σφάλμα συστήματος)	N/A (Δ/Ε) SYSTEM ERROR NOTED (Σημειώθηκε σφάλμα συστήματος)
Unresolved (Χωρίς απάντηση)	Not detected (Δεν ανιχνεύεται)	Not detected (Δεν ανιχνεύεται)

EP = Φθορισμός τελικού σημείου (μετά από διόρθωση τιμής αναφοράς)

Ποιοτικός έλεγχος

Οι κανονισμοί CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments -Βελτιωτικές τροποποιήσεις κλινικών εργαστηρίων) προσδιορίζουν ότι το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τη θέσπιση διαδικασιών ελέγχου που παρακολουθούν την ορθότητα και την ακρίβεια της πλήρους αναλυτικής διαδικασίας και πρέπει να καθιερώνει τον αριθμό, τον τύπο και τη συχνότητα των υλικών μαρτύρων εξέτασης με τη χρήση επαληθευμένων προδιαγραφών απόδοσης για ένα μη τροποποιημένο, έγκυρο ή εγκεκριμένο κατά FDA σύστημα εξέτασης (42 CFR Μέρος 493.1256).

1. Τα υλικά εξωτερικού μάρτυρα δεν θα παρέχονται από τη NeuMoDx Molecular, Inc. Οι κατάλληλοι μάρτυρες πρέπει να επιλέγονται και να επικυρώνονται από το εργαστήριο.

Συνιστώμενος θετικός μάρτυρας: 10 μL θετικού μάρτυρα AcroMetrix™ GBS Positive Control (Thermo Fisher Scientific REF 960041), αραιωμένου σε 1 mL ζυμού Lim.

Συνιστώμενος αρνητικός μάρτυρας: 1 mL ζυμού Lim χωρίς ενοφθαλμισμό.

2. Οι εκκινήτες και ο ανιχνευτής συγκεκριμένα για τον μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος 1 (Sample Process Control 1, SPC1) περιλαμβάνονται σε κάθε ταινία NeuMoDx GBS Test Strip. Αυτός ο μάρτυρας επεξεργασίας δείγματος επιτρέπει στο σύστημα να παρακολουθεί την αποτελεσματικότητα των διαδικασιών εκχύλισης DNA και ενίσχυσης PCR.
3. Ένα θετικό αποτέλεσμα εξέτασης που αναφέρεται για ένα δείγμα αρνητικού μάρτυρα υποδεικνύει πρόβλημα επιμόλυνσης του δοκιμίου. Για συμβουλές αντιμετώπισης προβλημάτων, ανατρέξτε στο *Εγχειρίδιο χρήσης των συστημάτων NeuMoDx 288/96 Molecular System*.

4. Ένα Negative (Αρνητικό) αποτέλεσμα που αναφέρεται για ένα δείγμα θετικού μάρτυρα μπορεί να υποδεικνύει ότι υπάρχει πρόβλημα που σχετίζεται με ένα αντιδραστήριο ή με το όργανο.

Μη έγκυρα αποτελέσματα

Αν μια εξέταση που εκτελείται στο σύστημα NeuMoDx System δεν κατορθώσει να οδηγήσει σε έγκυρο αποτέλεσμα, αυτό θα αναφερθεί είτε ως Indeterminate (Απροσδιόριστο) είτε ως Unresolved (Χωρίς απάντηση) βάσει του τύπου του σφάλματος που σημειώνεται.

Αν ανιχνευτεί σφάλμα του συστήματος κατά την επεξεργασία του δείγματος, θα αναφερθεί αποτέλεσμα Indeterminate (Απροσδιόριστο). Σε περίπτωση που αναφερθεί αποτέλεσμα Indeterminate -IND- (Απροσδιόριστο), συνιστάται η επανεξέταση.

Το αποτέλεσμα Unresolved (Χωρίς απάντηση) αναφέρεται σε περίπτωση που δεν ανιχνευθεί κανένας στόχος και δεν πραγματοποιηθεί ενίσχυση του μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος, γεγονός που υποδεικνύει πιθανή αστοχία αντιδραστήριου ή παρουσία αναστολέων. Σε περίπτωση που αναφερθεί αποτέλεσμα Unresolved (Χωρίς απάντηση), συνιστάται η επανεξέταση.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Κλινική απόδοση

Τα χαρακτηριστικά απόδοσης προσδιορίστηκαν κατά τη διάρκεια μιας προοπτικής μελέτης σύγκρισης κλινικών μεθόδων που διεξήχθη σε τρεις (3) γεωγραφικά διαφορετικές τοποθεσίες εργαστηρίων για την αξιολόγηση της συγκριτικής απόδοσης της δοκιμασίας NeuMoDx GBS Assay όπως εφαρμόζεται στο σύστημα NeuMoDx 288 Molecular System σε σύγκριση με συμβατικές μεθόδους καλλιέργειας που συνιστώνται από το CDC (Center for Disease Control, Κέντρο ελέγχου νοσημάτων) για προσδιορισμό του GBS από επιμέρους καλλιέργειες εμπλουτισμένου ζυμού Lim. Τα δοκίμια που ήταν κατάλληλα για εγγραφή συλλέχθηκαν από έγκυες γυναίκες μέσω παρόχων υγειονομικής περίθαλψης για τους σκοπούς του ελέγχου προτύπου φροντίδας ρουτίνας που συνιστάται από το CDC μεταξύ των 35–37 εβδομάδων της κύησης.

Τα συλλεχθέντα δοκίμια κολλικού/ορθικού επιχρίσματος μεταφέρθηκαν στα διάφορα εργαστήρια σε κατάλληλο μέσο μεταφοράς και, στη συνέχεια, ενοφθαλμίστηκαν σε επιλεκτικό μέσο ζυμού Lim από εργαστηριακό προσωπικό κατά την προετοιμασία για υποβολή σε περίοδο επώασης 18–24 ωρών. Μετά την περίοδο επώασης και την εξέταση φροντίδας ρουτίνας, τα υπολειπόμενα δοκίμια ζυμού Lim υποβλήθηκαν σε επιμέρους καλλιέργεια σε ένα τρυβλίο άγαρ αίματος προβάτου, όπως συνιστάται από τις δημοσιευμένες κατά το 2010 διαδικασίες του CDC για την επεξεργασία κλινικών δοκιμών για καλλιέργεια GBS. Τα τρυβλία άγαρ επωάστηκαν για έως 48 ώρες και επιθεωρήθηκαν για μικροοργανισμούς που υποδηλώνουν GBS. Οι ύποπτες αποικίες υποβλήθηκαν σε χρώση κατά Gram και οι Gram-θετικές αποικίες κόκκων εξετάστηκαν για παραγωγή καταλάσης. Οι Gram-θετικές αποικίες κόκκων που εξετάστηκαν ως αρνητικές για παραγωγή καταλάσης υποβλήθηκαν σε επεξεργασία για περαιτέρω προσδιορισμό μέσω εξέτασης συγκόλλησης σε λάτεξ για ομαδοποίηση στρεπτόκοκκου ώστε να καθοριστεί η παρουσία GBS. Η κλινική απόδοση βασίζεται σε 1193 δοκίμια με πλήρη, έγκυρα και συμβατά αποτελέσματα που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη και συνοψίζονται στον Πίνακα 2 και στον Πίνακα 3 παρακάτω. Το κατώτατο και το ανώτατο όριο του παρουσιαζόμενου διαστήματος εμπιστοσύνης (ΔΕ) 95% υπολογίστηκαν με χρήση της μεθόδου διαστήματος εμπιστοσύνης βαθμολογίας 95%.

Πίνακας 2: Σύνοψη κλινικής απόδοσης της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx GBS Assay

Σύνοψη κλινικού ερευνητικού κέντρου		Καλλιέργεια / Μέθοδος αναφοράς			
		Positive (Θετικό)	Negative (Αρνητικό)	Σύνολο	
NeuMoDx GBS	Positive (Θετικό)	253	37	290	Ευαισθησία = 96,9% ΔΕ 95% (94,1–98,4)
	Negative (Αρνητικό)	8	895	903	
	Σύνολο	261	932	1193	Ειδικότητα = 96,0% ΔΕ 95% (94,6–97,1)

Πίνακας 3: Κλινική απόδοση της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx GBS Assay για κάθε συγκεκριμένο ερευνητικό κέντρο

Ερευνητικό Κέντρο	n	Ευαισθησία (95% ΔΕ) ^α	Ειδικότητα (95% ΔΕ) ^α	Επιπολασμός ^β (95% ΔΕ) ^α
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)
Σύνολο	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)

^α Το κατώτατο και το ανώτατο όριο του παρουσιαζόμενου διαστήματος εμπιστοσύνης (ΔΕ) 95% υπολογίστηκαν με χρήση της μεθόδου διαστήματος εμπιστοσύνης βαθμολογίας 95%.

^β Υπολογισμοί του επιπολασμού βάσει των αποτελεσμάτων της μεθόδου αναφοράς που εξασφαλίστηκαν με τήρηση των συνιστώμενων από το CDC διαδικασιών για την επεξεργασία κλινικών δοκιμών για καλλιέργεια *Streptococcus* ομάδας B. (Δημοσίευση 2010)

Εκτελέστηκε πρόσθετη εσωτερική εξέταση 100 κλινικών δειγμάτων για να καταδειχθεί ότι η ευαισθησία και η ειδικότητα της δοκιμασίας NeuMoDx GBS Assay όπως εφαρμόζεται στο σύστημα NeuMoDx 96 Molecular System είναι ισοδύναμη με την απόδοση που είχε καθιερωθεί προηγουμένως στο σύστημα NeuMoDx 288 Molecular System κατά τη διάρκεια της κλινικής μελέτης.

Ευαισθησία

Η αναλυτική ευαισθησία της δοκιμασίας NeuMoDx GBS Assay με χρήση της ταινίας NeuMoDx GBS Test Strip χαρακτηρίστηκε μέσω εξέτασης πέντε διαφορετικών επιπέδων GBS (ATCC BAA-611 ορότυπος V) που προετοιμάστηκαν από πέντε ανεξάρτητες κλινικά αρνητικές ομάδες στο σύστημα NeuMoDx 288 Molecular System. Η μελέτη εκτελέστηκε επί μη συνεχόμενες ημέρες σε πολλαπλά συστήματα, με κάθε σύστημα να επεξεργάζεται δέκα αντίγραφα σε κάθε επίπεδο ανά ημέρα. Μια μοναδική παρτίδα καθενός από τα ακόλουθα: Ταινία NeuMoDx GBS Test Strip, πλάκα NeuMoDx Extraction Plate και ρυθμιστικό διάλυμα NeuMoDx Lysis Buffer 4 εξετάστηκε σε κάθε σύστημα. Τα ποσοστά ανίχνευσης απεικονίζονται στον Πίνακα 4. Το LoD καθορίστηκε ότι ήταν 500 CFU/mL και επιβεβαιώθηκε μέσω εξέτασης στο σύστημα NeuMoDx 96 Molecular System με χρήση της μεθόδου λόγου ευστοχίας, για επιβεβαίωση ανίχνευσης $\geq 95\%$ στο επίπεδο LoD.

Πίνακας 4: Ποσοστά ανίχνευσης θετικού αποτελέσματος για δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό του LoD της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx GBS Assay

GBS CFU/mL	Αριθμός έγκυρων εξετάσεων	Αριθμός θετικών	Αριθμός αρνητικών	Ποσοστό ανίχνευσης
≤ 1.000	60	60	0	100%
500*	60	60	0	100%
200	60	53	7	88%
100	60	35	25	58%
0	60	0	60	0%

*ισοδυναμεί με 20 CFU/εξέταση

Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx GBS Assay όπως εφαρμόζεται με χρήση της ταινίας NeuMoDx GBS Test Strip ανίχνευσε όλους τους μείζονες ορότυπους του *Streptococcus* ομάδας Β, συμπεριλαμβανομένων των τεσσάρων πιο συναφών κλινικά. Τα δώδεκα διαφορετικά στελέχη των βακτηρίων GBS που περιλαμβάνουν τους ορότυπους που εξετάστηκαν με χρήση της ταινίας NeuMoDx GBS Test Strip εμφανίζονται στον Πίνακα 5.

Πίνακας 5: Εξεταζόμενοι ορότυποι GBS

Ορότυπος GBS	Στέλεχος GBS	Αρ. ATCC/BEI	Συγκέντρωση (CFU/mL) με ανίχνευση 100%
Ia	A909	ATCC: BAA-1138	1500
Ib	H36b	ATCC: BAA-1174	1.000
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
Μη αιμολυτικός	NCTC 8181	ATCC: 13813	800
Κλινικό απομονωθέν στέλεχος TX 2012	SGBS030	BEI: NR-44144	800

Ειδικότητα ανάλυσης και διασταυρούμενη αντιδραστικότητα

Η ειδικότητα ανάλυσης καταδείχθηκε με έλεγχο 136 μικροοργανισμών κοινών για τον ουρογεννητικό και τον πεπτικό σωλήνα, καθώς και ειδών φυλογενετικά σχετικών με το GBS για διασταυρούμενη αντιδραστικότητα στο σύστημα NeuMoDx 288 Molecular System με χρήση της ταινίας NeuMoDx GBS Test Strip. Οι μικροοργανισμοί προετοιμάστηκαν σε ομάδες των 5-6 και εξετάστηκαν σε υψηλή συγκέντρωση (βακτήρια $6-9 \times 10^6$ CFU/mL, ιοί $1 \times 10^6-1 \times 10^7$ αντίγραφα/mL). Κανένας από τους μικροοργανισμούς που ελέγχθηκαν δεν κατέδειξε διασταυρούμενη αντιδραστικότητα κατά την εφαρμογή της δοκιμασίας NeuMoDx GBS Assay. Οι εξεταζόμενοι οργανισμοί εμφανίζονται στον Πίνακα 6.

Πίνακας 6: Παθογόνα που χρησιμοποιήθηκαν για την κατάδειξη της ειδικότητας ανάλυσης

Βακτήρια, ζυμομύκητες και παράσιτα		
<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>	Ιοί
<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 ομάδα D	<i>Mobiluncus mulieris</i>	HPV-16*
<i>Neisseria flavescens</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	Ιός JC*
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>	Ιός 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> τύπος 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 sp.</i> (ATCC® 202155™)	<i>Chlamydia pneumoniae</i> *	

* Εξετάστηκε στα 10 ng/mL

Παρεμβαλλόμενες ουσίες - Συμβιωτικοί μικροοργανισμοί

Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx GBS Assay εξετάστηκε ως προς την παρεμβολή παρουσία μη στοχευόμενων μικροοργανισμών (που συνυπάρχουν στον ουρογεννητικό σωλήνα), με την αξιολόγηση της απόδοσης της μεθόδου προσδιορισμού σε χαμηλά επίπεδα GBS στο σύστημα NeuMoDx 288 Molecular System. Για αυτήν τη μελέτη χρησιμοποιήθηκε η ίδια ομάδα των 136 μικροοργανισμών [Πίνακας 6] που χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση της διασταυρούμενης αντιδραστικότητας. Οι μικροοργανισμοί συγκεντρώθηκαν σε ομάδες των 5-6 σε κλινικά αρνητικό ζωμό Lim και ενοφθαλμίστηκαν με 1.200 CFU/mL καλλιεργημένου GBS. Με την εξέταση επικυρώθηκε η ανίχνευση *streptococcus* ομάδας Β σε όλες τις ομάδες που εξετάστηκαν. Δεν παρατηρήθηκε καμία παρεμβολή λόγω συμβιωτικών μικροοργανισμών.

Ενδογενείς και εξωγενείς ουσίες που απαντώνται σε κλινικά δοκίμια GBS

Η απόδοση της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx GBS Assay αξιολογήθηκε στο σύστημα NeuMoDx 288 Molecular System παρουσία εξωγενών και ενδογενών παρεμβαλλόμενων ουσιών που μπορούν τυπικά να εντοπιστούν σε κλινικά δοκίμια GBS. Καθεμία από τις ενδογενείς και εξωγενείς ουσίες που παρατίθενται παρακάτω στον Πίνακα 7 προστέθηκε σε συγκεντρωμένα κλινικά αρνητικά δείγματα ζωμού Lim που περιείχαν GBS σε συγκέντρωση 1.200 CFU/mL ή 4.000 CFU/mL. Οι 20 εξωγενείς και 6 ενδογενείς ουσίες που εξετάστηκαν για παρεμβολή με χρήση της ταινίας NeuMoDx GBS Test Strip δεν προκάλεσαν καμία ανεπιθύμητη επίδραση στην ανίχνευση του GBS σε οποιοδήποτε από τα δύο επίπεδα που εξετάστηκαν, γεγονός που καταδεικνύει περαιτέρω την αξιοπιστία της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx GBS Assay.

Πίνακας 7: Εξωγενείς και ενδογενείς παρεμβαλλόμενοι παράγοντες που εξετάστηκαν

Εξωγενείς ουσίες			Ενδογενείς ουσίες
Κρέμα Monistat®	Υπόθετα Dulcolax®	K-Y™ Jelly	Ανθρώπινο αμνιακό υγρό
Yeast Gard Advanced™ (Σκεύασμα κολπικής πλύσης)	Κλύσμα Fleet®	McKesson Gel	Ολικό ανθρώπινο αίμα
Συμπλήρωμα ινών Metamucil®	Κρέμα Preparation H®	Αντισυλληπτικός αφρός	Ανθρώπινα ούρα
Ex-lax® (Τεμάχια σοκολάτας)	Πούδρα Vagisil™	Ενυδατική λοσιόν	Ανθρώπινο δείγμα κοπράνων
Γάλα μαγνησίας Phillips®	Υπόθετα Norforms®	Λάδι σώματος Neutrogena®	Βλεννογόνος
Pepto-Bismol™	Αποσμητικό σπρέι FDS®	Πούδρα Gold Bond®	Ανθρώπινο γονιδιωματικό DNA
Kaopectate®	Περινεϊκό σπρέι New Mama		

Ακρίβεια

Εκτελέστηκε ποιοτική εξέταση στο σύστημα NeuMoDx 288 Molecular System με χρήση της ταινίας NeuMoDx GBS Test Strip, όπου πραγματοποιήθηκαν 2 εκτελέσεις ανά ημέρα σε 3 συστήματα σε μια περίοδο 12 μη συνεχόμενων ημερών. Αυτή η εξέταση ενδοεργαστηριακής ακρίβειας περιλάμβανε 2 παρτίδες αντιδραστηρίων και εκτελέστηκε από 2 χειριστές. Μια εκτέλεση ορίστηκε ως τρία αντίγραφα που εξετάστηκαν για καθένα από τα πέντε διαφορετικά επίπεδα τα οποία εμφανίζονται στον Πίνακα 8 (αληθώς αρνητικό, χαμηλό αρνητικό, μέτριο αρνητικό, χαμηλό θετικό και μέτριο θετικό) για συνολικά 15 δοκίμια ανά εκτέλεση ανά σύστημα. Τα δοκίμια προετοιμάστηκαν με ενοφθαλμισμό καλλιεργημένου GBS μέσα σε συγκεντρωμένο, ελεγμένο αρνητικό κλινικό εναπομείναντα ζωμό Lim. Για κάθε εκτέλεση που πραγματοποιήθηκε, υποβλήθηκαν σε επεξεργασία ένας θετικός εξωτερικός μάρτυρας και ένας αρνητικού επιπέδου των 15 δοκιμίων. Σε αυτήν τη μελέτη πραγματοποιήθηκαν συνολικά 72 εκτελέσεις και 1224 εξετάσεις, συμπεριλαμβανομένων των εξωτερικών μαρτύρων. Στον Πίνακα 9 εμφανίζεται η σύγκριση μεταξύ οργάνων. Στον Πίνακα 10 εμφανίζεται η ακρίβεια μεταξύ χειριστών.

Πίνακας 8: Σειρά εξετάσεων ενδοεργαστηριακής ακρίβειας

Μέλος σειράς εξετάσεων	Εξεταζόμενο επίπεδο	GBS (CFU/mL)
Μέτριο θετικό (Moderate Positive, MP)	3-4x LoD	1600
Χαμηλό θετικό (Low Positive, LP)	1-2x LoD	600
Μέτριο αρνητικό (Moderate Negative, MN)	> 10 φορές αραιώση 1x LoD	40
Χαμηλό αρνητικό (Low Negative, LN)	> 100 φορές αραιώση 1x LoD	4
Αληθώς (Κενό) αρνητικό (True Negative, TN)	0	0

Πίνακας 9: Ποιοτικά αποτελέσματα από μελέτη ενδοεργαστηριακής ακρίβειας (μεταξύ οργάνων)

Επίπεδο	Όργανο 1	Όργανο 2	Όργανο 3	Συνολικά
	Ποσοστό θετικών	Ποσοστό θετικών	Ποσοστό θετικών	Ποσοστό θετικών
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)
	Ποσοστό αρνητικών	Ποσοστό αρνητικών	Ποσοστό αρνητικών	Ποσοστό αρνητικών
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)

Πίνακας 10: Ανάλυση ποσοτικών παραμέτρων GBS από ενδοεργαστηριακή ακρίβεια (μεταξύ χειριστών)

Επίπεδο	Πρώτος χειριστής					Δεύτερος χειριστής					Συνδυασμένο σύνολο δεδομένων				
	Ανιχνευμένα θετικά/Σύνολο	Ποσοστό θετικών	Μέση Ct	Τυπ. απόκλ.	% ΣΔ*	Ανιχνευμένα θετικά/Σύνολο	Ποσοστό θετικών	Μέση Ct	Τυπ. απόκλ.	% ΣΔ	Ανιχνευμένα θετικά/Σύνολο	Ποσοστό θετικών	Μέση Ct	Τυπ. απόκλ.	% ΣΔ
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 (Δ/Ε)		3/216	1,4%	35,33	0,28	0,8%
TN	0/108	0,0%	N/A (Δ/Ε)			0/108	0,0%	N/A (Δ/Ε)			0/216	0,0%	N/A (Δ/Ε)		

% ΣΔ: Ο συντελεστής διακύμανσης, 100* τυπική απόκλιση/Μέση Ct.

Αναπαραγωγιμότητα μεταξύ εργαστηρίων

Η αναπαραγωγιμότητα της δοκιμασίας NeuMoDx GBS Assay όπως εφαρμόζεται στο σύστημα NeuMoDx 288 Molecular System με χρήση της ταινίας NeuMoDx GBS Test Strip αξιολογήθηκε σε 3 διαφορετικά κέντρα εξέτασης με την εξέταση 5 αντιγράφων μιας σειράς εξετάσεων 4 μελών επί 5 ημέρες, διαδικασία με την οποία παρήχθησαν συνολικά 75 αντίγραφα ανά μέλος σειράς εξετάσεων. Τα δείγματα της σειράς εξετάσεων προετοιμάστηκαν με ενοφθαλμισμό καλλιεργημένου GBS σε συγκεντρωμένο, αρνητικό κλινικό ζυμό Lim για δημιουργία αληθώς αρνητικών, χαμηλά θετικών και μέτριων θετικών μελών σειράς εξετάσεων, ενώ τα αληθώς (κενά) αρνητικά δείγματα δεν περιείχαν GBS. Οι συγκεντρώσεις των μελών της σειράς εξετάσεων αντιστοιχούν στα ίδια επίπεδα που παρατίθενται στον Πίνακα 8 παραπάνω, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την ακρίβεια (μείον το μέτριο αρνητικό δείγμα). Κάθε ημέρα της εξέτασης υποβλήθηκαν σε επεξεργασία επίσης ένας θετικός εξωτερικός μάρτυρας θετικού και ένας αρνητικός.

Συνολικά, εξασφαλίστηκαν 4 μη έγκυρα αποτελέσματα κατά τη μελέτη αναπαραγωγιμότητας -ένα αντίγραφο καθεμίας από τις 4 συγκεντρώσεις απέδωσε ένα «Indeterminate» (Απροσδιόριστο) αποτέλεσμα και όλα σημειώθηκαν την ίδια ημέρα εξέτασης (Ημέρα 2) στο κέντρο Β. Μετά από επαναληπτική εξέταση, 2 από τα 4 δείγματα απέδωσαν έγκυρο, σωστό αποτέλεσμα. Τα υπόλοιπα δύο δείγματα απέδωσαν ένα «Indeterminate» (Απροσδιόριστο) αποτέλεσμα για δεύτερη φορά προτού αποδώσουν έγκυρο, σωστό αποτέλεσμα. Η ποσοστιαία συμφωνία με το αναμενόμενο αποτέλεσμα για τα μέλη της σειράς εξετάσεων για όλα τα κέντρα συνδυαστικά παρουσιάζεται στον Πίνακα 11 παρακάτω.

Πίνακας 11: Σύνοψη απόδοσης αναπαραγωγιμότητας μεταξύ εργαστηρίων της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx GBS Assay

Συγκέντρωση μέλους σειράς εξετάσεων	Κέντρο 1 (Α)	Κέντρο 2 (Β)	Κέντρο 3 (Δ)	Συνολική συμφωνία (ΔΕ 95%) ^α
Μέτριο θετικό	25/25	25/25	25/25	100% (75/75) (95,1–100)
Χαμηλό θετικό	24/25	25/25	24/25	97,3% (73/75) (90,8–99,3)
Χαμηλό αρνητικό	25/25	25/25	24/25 ^β	98,7% (74/75) (92,8–99,8)
Κενό αρνητικό	25/25	25/25	25/25	100% (75/75) (95,1–100)

^α Το κατώτατο και το ανώτατο όριο του παρουσιαζόμενου διαστήματος εμπιστοσύνης (ΔΕ) 95% υπολογίστηκαν με χρήση της μεθόδου διαστήματος εμπιστοσύνης βαθμολογίας 95%.

^β Η συγκέντρωση του χαμηλού αρνητικού δείγματος αναμένεται ότι θα ανιχνεύεται ως θετικό ~5% των φορών.

Μεταφορά και διασταυρούμενη μόλυνση

Στο σύστημα NeuMoDx 288 Molecular System εκτελέστηκαν μελέτες δυναμικής μεταφοράς και διασταυρούμενης μόλυνσης δειγμάτων με τη χρήση της ταινίας NeuMoDx GBS Test Strip. Κατά τη μελέτη δύο μερών αξιολογήθηκε ο αντίκτυπος στα δείγματα που ήταν αρνητικά στον GBS με παρεμβολή τους σε δείγματα που περιείχαν υψηλό στόχο GBS (στα 1×10^7 CFU/mL). Τα θετικά και αρνητικά δείγματα φορτώθηκαν έτσι ώστε κάθε αρνητικό δείγμα να είναι δίπλα σε ένα υψηλό θετικό δείγμα. Στο δεύτερο μέρος αυτής της μελέτης, όλα τα αρνητικά δείγματα υποβλήθηκαν σε επεξεργασία αμέσως μετά από μια εκτέλεση στην οποία είχαν υποβληθεί σε επεξεργασία όλα τα δείγματα υψηλής συγκέντρωσης GBS. Δεν διαπιστώθηκε καμία επιμόλυνση στα αρνητικά δείγματα που ενσωματώθηκαν σε δείγματα υψηλού επιπέδου ή στα αρνητικά δείγματα που ακολούθησαν μετά από δείγματα με υψηλές συγκεντρώσεις GBS, γεγονός που καταδεικνύει την απουσία τυχόν μεταφοράς ή/και διασταυρούμενης μόλυνσης.

Αποτελεσματικότητα μάρτυρα

Η αποτελεσματικότητα του μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος που περιλαμβάνεται στην ταινία NeuMoDx GBS Test Strip για την αναφορά τυχόν αστοχιών βημάτων επεξεργασίας ή αναστολής που επηρεάζουν την απόδοση της δοκιμασίας NeuMoDx GBS Assay αξιολογήθηκε στο σύστημα NeuMoDx 288 Molecular System. Οι συνθήκες που εξετάστηκαν είναι αντιπροσωπευτικές κρίσιμων αστοχιών βημάτων επεξεργασίας που θα μπορούσαν δυναμικά να σημειωθούν κατά την επεξεργασία των δειγμάτων και *ενδέχεται να μην ανιχνευτούν* από τους αισθητήρες επί του συστήματος που παρακολουθούν την απόδοση του συστήματος NeuMoDx System. Αυτή η διαδικασία αξιολογήθηκε με προσομοίωση της αστοχίας διαφόρων βημάτων ροής επεξεργασίας δειγμάτων, ώστε να γίνει απομίμηση ενός δυναμικού σφάλματος συστήματος, και με ενοφθαλμισμό δείγματος με γνωστό αναστολέα ώστε να παρατηρηθεί η επίδραση του αναποτελεσματικού μετριασμού του αναστολέα στην ανίχνευση του μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος (βλ. Πίνακα 12). Στις περιπτώσεις που τα σφάλματα επεξεργασίας δεν επηρέασαν αρνητικά την απόδοση του μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος [NO WASH (χωρίς πλύση)/NO WASH BLOWOUT (χωρίς πλύση με εκφύσηση)], η εξέταση επαναλήφθηκε με θετικά για GBS δείγματα (στα 400 CFU/mL), ώστε να επιβεβαιωθεί ότι το σφάλμα επεξεργασίας δεν είχε ΚΑΜΙΑ αρνητική επίδραση ούτε στην ανίχνευση του στόχου GBS. Στον Πίνακα 12 συνοψίζονται τα αποτελέσματα της δοκιμής επαλήθευσης της αποτελεσματικότητας του μάρτυρα.

Πίνακας 12: Σύνοψη δεδομένων αποτελεσματικότητας του μάρτυρα

Συνθήκη	Αναμενόμενο αποτέλεσμα	Παρατηρούμενο αποτέλεσμα
Normal Processing (Κανονική επεξεργασία)	Negative (Αρνητικό)	Negative (Αρνητικό)
Normal Processing + Inhibitor (Κανονική επεξεργασία + Αναστολέας)	Unresolved (Χωρίς απάντηση)	Unresolved (Χωρίς απάντηση)
No Wash Reagent (Χωρίς αντιδραστήριο πλύσης)	Unresolved (Χωρίς απάντηση) ή Negative (Αρνητικό)	Negative (Αρνητικό)
No Wash Blowout (Χωρίς πλύση με εκφύσηση)	Unresolved (Χωρίς απάντηση) ή Negative (Αρνητικό)	Negative (Αρνητικό)
No Release Reagent (Χωρίς αντιδραστήριο αποδέσμευσης)	Indeterminate (Απροσδιόριστο)	Indeterminate (Απροσδιόριστο)
No PCR Master Mix Reagents (Χωρίς αντιδραστήρια κύριου μίγματος PCR)	Indeterminate (Απροσδιόριστο)	Indeterminate (Απροσδιόριστο)

Σταθερότητα δείγματος επί του συστήματος

Δείγματα με διαφορετικές ημερομηνίες συλλογής υποβλήθηκαν σε επεξεργασία στο σύστημα NeuMoDx 288 Molecular System κατά την «Ωρα 0» και την «Ωρα 24», προκειμένου να καθοριστεί η σταθερότητα δείγματος επί του συστήματος για τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx GBS Assay. Κλινικά θετικά και αρνητικά για GBS δείγματα υποβλήθηκαν σε επεξεργασία αρχικά και, στη συνέχεια, παρέμειναν στην τράπεζα εργασίας του συστήματος για 24 ώρες προτού υποβληθούν σε επεξεργασία για δεύτερη φορά. Παρατηρήθηκε 100% αντιστοιχία μεταξύ των αποτελεσμάτων που εξασφαλίστηκαν από την αρχική εξέταση (Ωρα 0) και την εξέταση που εκτελέστηκε 24 ώρες αργότερα (Ωρα 24) για τα 23 αρνητικά για GBS δείγματα που εξετάστηκαν [Πίνακας 13]. Μετά από 24 ώρες, όλα τα θετικά δείγματα εκτός από ένα δημιούργησαν θετικό αποτέλεσμα, γεγονός που παρουσιάζει αντιστοιχία 95,8% με το αναμενόμενο αποτέλεσμα.

Πίνακας 13: Σύνοψη δεδομένων σταθερότητας δείγματος επί του συστήματος

		Επιβεβαιωμένα θετικά δείγματα (Δείγματα Α)		Επιβεβαιωμένα αρνητικά δείγματα (Δείγματα Β)	
		Αριθμός θετικών	Αριθμός αρνητικών	Αριθμός θετικών	Αριθμός αρνητικών
Εξέταση 1	Ωρα 0	23	0	0	23
Εξέταση 2	Ωρα 24	22	1*	0	23
% αντιστοιχίας		95,8		100	

* Ένα δείγμα προσδιορίστηκε αρχικά ως θετικό κατά την Ωρα 0. Περαιτέρω αξιολόγηση κατέληξε στο ότι το δείγμα προσδιορίστηκε ψευδώς ως θετικό, λόγω χαμηλού επιπέδου DNA GBS ή μη βιώσιμου κυτταρικού υλικού, καθώς δεν αναφέρθηκε ανάπτυξη GBS στην καλλιέργεια από το εργαστήριο αναφοράς.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. 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.
2. 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.
3. CDC. Perinatal group B streptococcal disease after universal screening recommendations—United States, 2003–2005. MMWR 2007;56: 701–5.
4. 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.
5. CDC. Trends in perinatal group B streptococcal disease—United States, 2000–2006. MMWR 2009; 58:109–12.
6. Active Bacterial Core Surveillance (ABCs) Report Emerging Infections Program Network Group B Streptococcus, 2014
7. 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
8. 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.
9. Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.
10. Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP12-A2; 2008.

ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

Οι ονομασίες NeuMoDx™ και NeuDry™ είναι εμπορικά σήματα της NeuMoDx Molecular, Inc.

Η ονομασία TaqMan® είναι κατατεθέν εμπορικό σήμα της Roche Molecular Systems, Inc.

Η ονομασία AcroMetrix™ είναι εμπορικό σήμα της Thermo Fisher Scientific.

Η ονομασία Monistat® είναι κατατεθέν εμπορικό σήμα της Pfizer, Inc.

Η ονομασία Yeast Gard Advanced™ είναι εμπορικό σήμα της Lake Consumer Products, Inc.

Η ονομασία Metamucil® είναι κατατεθέν εμπορικό σήμα της Procter & Gamble.

Η ονομασία Ex-lax® είναι κατατεθέν εμπορικό σήμα της GSK plc.

Η ονομασία Phillips® είναι κατατεθέν εμπορικό σήμα της Bayer.

Η ονομασία Kaopectate® είναι κατατεθέν εμπορικό σήμα της SANOFI.

Η ονομασία Dulcolax® είναι κατατεθέν εμπορικό σήμα της SANOFI.

Η ονομασία Fleet® είναι κατατεθέν εμπορικό σήμα της C.B. Fleet Company.

Η ονομασία Preparation H® είναι σήμα κατατεθέν της Pfizer, Inc.

Η ονομασία Vagisil™ είναι εμπορικό σήμα της COMBE, Inc.

Η ονομασία Norforms® είναι κατατεθέν εμπορικό σήμα της C.B. Fleet Company.

Η ονομασία FDS® είναι κατατεθέν εμπορικό σήμα της WellSpring Pharmaceutical Corp.



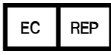











Η ονομασία K-Y™ Jelly είναι εμπορικό σήμα της Reckitt Benckiser Group.

Η ονομασία Pepto-Bismol™ είναι εμπορικό σήμα της Procter & Gamble.

Η ονομασία Gold Bond® είναι κατατεθέν εμπορικό σήμα της SANOFI.

Η ονομασία Neutrogena® είναι κατατεθέν εμπορικό σήμα της Johnson & Johnson Consumer, Inc.

ΣΥΜΒΟΛΑ

ΣΥΜΒΟΛΟ	ΣΗΜΑΣΙΑ
R only	Χρήση μόνο με ιατρική συνταγή
	Κατασκευαστής
	<i>In vitro</i> διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα
	Αριθμός καταλόγου
	Κωδικός παρτίδας
	Ημερομηνία λήξης
	Περιορισμός θερμοκρασίας
	Περιορισμός υγρασίας
	Να μην επαναχρησιμοποιείται
	Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Προσοχή
	Βιολογικοί κίνδυνοι
	Σήμανση CE



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

Χορηγός (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



Τεχνική υποστήριξη/Υποβολή αναφορών επαγρύπνησης: support@qiagen.com

Δίπλωμα ευρεσιτεχνίας: www.neumodx.com/patents