

**REF** 200400 NeuMoDx™ GBS Test Strip

**R only**

PRZESTROGA: Wyłącznie do eksportu poza Stany Zjednoczone

**IVD** Do diagnostyki *in vitro* z wykorzystaniem systemów NeuMoDx 288 Molecular System i NeuMoDx 96 Molecular System

 Aktualne wersje ulotek informacyjnych można znaleźć pod adresem: [www.qiaagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiaagen.com/neumodx-ifu)

Szczegółowe instrukcje zawiera dokument NeuMoDx 288 Molecular System — podręcznik użytkownika; nr części: 40600108

Szczegółowe instrukcje zawiera dokument NeuMoDx 96 Molecular System — podręcznik użytkownika; nr części: 40600317

### PRZEZNACZENIE

Oznaczenie NeuMoDx GBS Assay wykonywane w systemach NeuMoDx 288 Molecular System i NeuMoDx 96 Molecular System (system(y) NeuMoDx System) to jakościowy test diagnostyczny *in vitro* przeznaczony do detekcji DNA paciorkowców z grupy B (Group B *Streptococcus*, GBS) w wymazach z pochwy/odbytnicy pobranych od ciężarnych kobiet i inokulowanych przez 18–24 godz. w bulionie Lim w celu wzbogacenia. Podczas testu izolacja docelowego kwasu nukleinowego (DNA) z próbki oraz łańcuchowa reakcja polimerazy (Polymerase Chain Reaction, PCR) w czasie rzeczywistym, umożliwiającą detekcję regionu o długości 88 pz reprezentującego sekwencję genu *pcsB* znajdującego się na chromosomie bakterii *Streptococcus agalactiae*, zachodzą w sposób zautomatyzowany. Wyniki oznaczenia NeuMoDx GBS Assay mogą być stosowane pomocniczo do określania statusu kolonizacji u kobiet w okresie przed porodem.

Oznaczenie NeuMoDx GBS Assay nie umożliwia uzyskania wyników dotyczących lekowrażliwości. W celu przeprowadzenia badania lekowrażliwości zalecanego w przypadku kobiet uczulonych na penicylinę wymagane są izolaty z hodowli.

### PODSUMOWANIE I OBJAŚNIENIE

Wymaz z pochwy/odbytnicy jest pobierany i transportowany do laboratorium przy użyciu standardowych, zawierających nieodżywcze podłoże transportowe systemów do transportu wymazów bakteryjnych. Na rynku dostępne są odpowiednie podłoża transportowe (np. podłoże Amies lub Stuarta). Próbkę dostarczona do laboratorium jest inokulowana w selektywnym bulionie, takim jak bulion Lim (bulion Todd-Hewitta z dodatkiem kolistyny i kwasu nalidyksowego). Po inkubacji inokulowanego bulionu selektywnego przez 18–24 godz. w temperaturze 37°C w powietrzu atmosferycznym lub zawierającym 5% CO<sub>2</sub> porcja bulionu jest mieszana z buforem NeuMoDx Lysis Buffer 4 w celu zapoczątkowania lizy próbki, a następnie poddawana całemu procesowi analizy w systemie NeuMoDx System przy użyciu odczynników zawartych w pasku testowym NeuMoDx GBS Test Strip. System NeuMoDx System automatycznie izoluje docelowy kwas nukleinowy oraz amplifikuje (jeśli jest obecny) fragment sekwencji genu *pcsB* znajdującego się na chromosomie bakterii GBS. Pasek testowy NeuMoDx GBS Test Strip zawiera kontrolę przetwarzania próbki (Sample Process Control, SPC1) w postaci DNA, ułatwiającą monitorowanie pod kątem obecności potencjalnych inhibitorów oraz wykrycie nieprawidłowości w działaniu systemu lub odczynników, które mogą wystąpić podczas procesów izolacji i amplifikacji.

GBS to Gram-dodatnia bakteria, której obecność stwierdza się u 10–35% zdrowych osób dorosłych. Nosiciele bakterii GBS, u których nie występują objawy zakażenia, są uznawani za osoby „skolonizowane” przez bakterie GBS. GBS to powszechnie występujące bakterie związane z ludzkim organizmem. W pewnych okolicznościach bakterie GBS mogą zaatakować organizm i wywołać poważne zakażenie; jest to określane jako zakażenie paciorkowcami z grupy B<sup>1</sup>.

Bakterie GBS mogą powodować ostre zakażenia u noworodków i są uznawane za główny czynnik etiologiczny bakteryjnych zakażeń zagrażających życiu noworodków. W populacji krąży wiele szczepów patogenu, a około 80% zakażeń noworodków jest nabywanych podczas porodu, drogą wertykalną (od matki na dziecko). Badania wykazały, że bakterie GBS kolonizują błonę śluzową odbytu i narządów płciowych u 25–40% zdrowych kobiet. Szacuje się, że przed wdrożeniem programów aktywnej profilaktyki w Stanach Zjednoczonych rocznie stwierdzano około 7500 przypadków noworodkowych zakażeń bakteriami GBS<sup>2</sup>. Wyraźny spadek liczby zachorowań zbiega się w czasie z rozpoczęciem wzmożonych działań profilaktycznych w latach 90. XX wieku<sup>2</sup>. Dalszy spadek zaobserwowano po wydaniu w 2002 r. zalecenia dotyczącego powszechnych badań przesiewowych<sup>3</sup>. Pomimo wprowadzenia profilaktyki antybiotykowej w USA zakażenia wywołane bakteriami GBS pozostają główną zakaźną przyczyną zachorowalności i śmiertelności wśród noworodków w Stanach Zjednoczonych — rocznie wykrywa się około 2000 przypadków noworodkowych zakażeń, a szacunkowy współczynnik zgonów wynosi 0,27 na 1000 żywych urodzeń<sup>4-6</sup>.

Obecnie w ramach standardu opieki, w celu zapobiegania noworodkowym zakażeniom bakteriami, u kobiet ciężarnych w 35–37 tygodniu ciąży wykonywane są badania przesiewowe w celu określenia statusu kolonizacji bakteriami GBS<sup>7</sup>. W przypadku wykonywania badań pod kątem bakterii GBS poprzez prowadzenie hodowli od etapu inkubacji wstępnej trwającego ≥18 godzin do jednoznacznej identyfikacji bakterii GBS może upłynąć nawet 48 godzin. Pasek testowy NeuMoDx GBS Test Strip używany w systemie NeuMoDx System umożliwia uzyskanie wyników dla pierwszych 8 próbek w ciągu godziny po etapie wstępnej inkubacji/wzbogacania trwającym ≥18 godzin. Oznaczenie NeuMoDx GBS Assay usprawnia i upraszcza proces testowania, eliminując konieczność interwencji operatora od momentu umieszczenia próbki w systemie do udostępnienia wyniku.

### ZASADY PROCEDURY

Po okresie inkubacji trwającym 18–24 godz. wzbogacony bulion jest wykorzystywany do detekcji bakterii GBS. W celu rozpoczęcia analizy system NeuMoDx System miesza 25 µl bulionu Lim z buforem NeuMoDx Lysis Buffer 4 i odczynnikami do izolacji. System NeuMoDx System umożliwia automatyzację i integrację izolacji i zateżenia DNA, przygotowania odczynników oraz amplifikacji kwasów nukleinowych i detekcji docelowych sekwencji przy użyciu reakcji PCR w czasie rzeczywistym. Kontrola przetwarzania próbki również przechodzi wszystkie kroki przygotowania próbki i amplifikacji, co umożliwia monitorowanie pod kątem obecności potencjalnych inhibitorów oraz wykrycie nieprawidłowości w działaniu systemu lub odczynników. Po załadowaniu próbki do systemu NeuMoDx System operator nie musi wykonywać żadnych działań.

W celu przeprowadzenia lizy komórek, izolacji DNA oraz usunięcia inhibitorów w systemach NeuMoDx System stosowane są wysoka temperatura, enzym lityczny i odczynniki do izolacji. Uwolnione kwasy nukleinowe są wychwytywane przez cząstki paramagnetyczne. Cząstki te, wraz ze związanymi kwasami nukleinowymi, są następnie ładowane do kasety NeuMoDx Cartridge, w której niezwiązane składniki niebędące DNA są wymywane przy użyciu odczynnika NeuMoDx Wash Reagent. Związany DNA jest eluowany przy użyciu odczynnika NeuMoDx Release Reagent. Systemy NeuMoDx System następnie wykorzystują uwolniony DNA do uwodnienia zastrzeżonych odczynników NeuDry™, które zawierają wszystkie składniki wymagane do amplifikacji swoistej sekwencji docelowej bakterii GBS. Suche odczynniki do reakcji PCR zawierają również składniki wymagane do amplifikacji regionu sekwencji kontroli przetwarzania próbki, aby umożliwić równoczesną amplifikację i detekcję sekwencji DNA docelowego patogenu i kontroli. Po rekonstrukcji odczynników NeuDry do reakcji PCR system NeuMoDx System dozuje przygotowaną mieszaninę gotową do użycia w reakcji PCR do jednej komory do reakcji PCR (na każdą próbkę) w kasecie NeuMoDx Cartridge. W komorze do reakcji PCR zachodzi amplifikacja i detekcja sekwencji docelowych DNA patogenów (jeśli są obecne) i DNA kontroli. Komorę i kasetę zaprojektowano w taki sposób, aby po reakcji PCR w czasie rzeczywistym aplikony pozostawały w ich wnętrzu, co w zasadzie eliminuje ryzyko zanieczyszczenia po amplifikacji.

Detekcja zamplifikowanych sekwencji docelowych przebiega w czasie rzeczywistym przy użyciu sond hydrolitycznych (nazywanych powszechnie odczynnikami TaqMan®) — cząsteczek oligonukleotydowych sond fluorogenicznych swoistych względem amplikonów odpowiednich sekwencji docelowych. Sondy TaqMan składają się z fluoroforu kowalencyjnie związanego z końcem 5' oligonukleotydowej sondy oraz wygaszacza związanego z końcem 3'. Jeśli sonda jest nienaruszona, bliskość fluoroforu i wygaszacza powoduje, że wygaszcz tłumi emitowaną przez fluorofor fluorescencję poprzez Försterowskie rezonansowe przeniesienie energii (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Sondy TaqMan hybrydują do regionu DNA amplifikowanego przez swoisty zestaw starterów. Podczas gdy polimeraza DNA Taq wydłuża starter i syntezuje nić potomną, aktywność egzonukleazy 5'–3' polimerazy DNA Taq powoduje rozkład sondy zhybrydowanej z matrycą. Rozkład sondy prowadzi do uwolnienia fluoroforu i oddalenia go od wygaszacza, znosząc tym samym efekt wytłumienia spowodowany przez FRET i umożliwiając detekcję fluorescencji fluoroforu. Siła otrzymanego w ten sposób sygnału fluorescencyjnego wykrywanego w termocyklerze podczas ilościowej reakcji PCR jest wprost proporcjonalna do ilości uwolnionego fluoroforu i można ją skorelować z ilością obecnej sekwencji docelowej DNA.

Sonda TaqMan znakowana fluoroforem (wzbudzenie: 490 nm; emisja: 521 nm) na końcu 5' i ciemnym wygaszczem na końcu 3' jest przeznaczona do detekcji DNA bakterii GBS. Sonda TaqMan przeznaczona do detekcji kontroli przetwarzania próbki jest znakowana innym barwnikiem fluorescencyjnym (wzbudzenie: 535 nm; emisja: 556 nm) na końcu 5' i ciemnym wygaszczem na końcu 3'. System NeuMoDx System monitoruje sygnał fluorescencyjny emitowany przez sondy TaqMan pod koniec każdego cyklu amplifikacji. Po ukończeniu amplifikacji system NeuMoDx System analizuje dane i zgłasza wynik końcowy (POSITIVE (Pozytywny)/NEGATIVE (Negatywny)/INDETERMINATE (Nieokreślony)/UNRESOLVED (Nierozstrzygnięty)).

### ODCZYNNIKI/MATERIAŁY EKSPLOATACYJNE

#### Dostarczony materiał

NR REF.	Zawartość	Liczba testów na opakowanie jednostkowe	Liczba testów na opakowanie zbiorcze
200400	<b>Pasek testowy NeuMoDx GBS Test Strip</b> <i>Suche odczynniki do reakcji PCR zawierające sondę TaqMan i startery swoiste dla bakterii GBS oraz sondę TaqMan i startery swoiste dla kontroli przetwarzania próbki.</i>	16	96

#### Odczynniki i materiały eksploatacyjne wymagane, ale niedostarczone (oferowane oddzielnie przez firmę NeuMoDx)

NR REF.	Zawartość
100200	<b>Płytki NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Suche cząstki paramagnetyczne, enzym lityczny i kontrole przetwarzania próbek</i>
400700	<b>Bufor NeuMoDx Lysis Buffer 4</b>
400100	<b>Odczynnik NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>Odczynnik NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>Kaseta NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Końcówki Hamilton CO-RE / CO-RE II (300 µl) z filtrami</b>
235905	<b>Końcówki Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µl) z filtrami</b>

#### Wymagany sprzęt

System **NeuMoDx 288 Molecular System** [NR REF. 500100] LUB system **NeuMoDx 96 Molecular System** [NR REF. 500200]

### OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Wyłącznie do diagnostyki *in vitro* z wykorzystaniem systemów NeuMoDx System.
- Nie używać odczynników po upływie wskazanej daty ważności.

- Nie używać żadnych odczynników, jeśli plomba zabezpieczająca jest naruszona lub dostarczone opakowanie jest uszkodzone.
- Nie używać odczynników, jeśli dostarczona torebka ochronna jest otwarta lub uszkodzona.
- Minimalna objętość próbki dla porcji wtórnych zależy od rozmiaru próbówki/nośnika próbek, zgodnie z poniższym opisem. Objętość mniejsza niż określona objętość minimalna może doprowadzić do wygenerowania błędów „Quantity Not Sufficient” (Niewystarczająca ilość).
- Wykonywanie testów w warunkach innych niż zalecane przez centra CDC może doprowadzić do otrzymania błędnych wyników oznaczenia NeuMoDx GBS Assay.
- Zawsze należy unikać zanieczyszczenia odczynników drobnoustrojami i deoksyrybonukleazą (DNaza). Zalecane jest stosowanie sterylnych, jednorazowych pipet transferowych wolnych od DNazy. Dla każdej próbki należy używać nowej pipety.
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, po amplifikacji nie należy przenosić kaset NeuMoDx Cartridge ani rozkładać ich na części. Pod żadnym pozorem nie wyjmować kaset po amplifikacji z kosza na odpady. Konstrukcja kasety NeuMoDx Cartridge minimalizuje ryzyko zanieczyszczenia.
- Jeśli w laboratorium wykonywane są również testy PCR w otwartych próbówkach, należy zachować ostrożność, aby nie dopuścić do zanieczyszczenia paska testowego NeuMoDx GBS Test Strip, odczynników dodatkowych wymaganych do przeprowadzenia testu oraz systemu NeuMoDx System.
- Podczas pracy z odczynnikami i materiałami eksploatacyjnymi NeuMoDx należy nosić czyste, bezpyłowe rękawiczki nitrylowe. Należy unikać dotykania górnej powierzchni kasety NeuMoDx Cartridge, powierzchni paska testowego NeuMoDx GBS Test Strip i płytki **NeuMoDx Extraction Plate** pokrytych folią uszczelniającą; podczas pracy należy dotykać wyłącznie bocznych powierzchni produktów.
- Karty charakterystyki (Safety Data Sheet, SDS) są dostępne na żądanie.
- Przestrzegać instrukcji podanych w *podręczniku użytkownika systemu NeuMoDx 288/96 Molecular System* dotyczących roztworów czyszczących nadających się do użytku z systemem.
- Nie pipetować ustami. Nie palić, nie spożywać pokarmów ani płynów w miejscach przeznaczonych do pracy z próbkami lub odczynnikami zestawu.
- Z próbkami należy zawsze postępować w taki sposób, jak z materiałami potencjalnie zakaźnymi, zgodnie z procedurami bezpieczeństwa laboratoryjnego, które opisano w publikacjach takich jak *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Bezpieczeństwo w laboratoriach mikrobiologicznych i biomedycznych)*<sup>8</sup> i w dokumencie M29-A4 instytutu CLSI<sup>9</sup>.
- Usuwać niezużyte odczynniki i odpady zgodnie z przepisami federalnymi i stanowymi lub krajowymi, wojewódzkimi i lokalnymi.

### PRZECHOWYWANIE, STABILNOŚĆ I SPOSÓB POSTĘPOWANIA Z PRODUKTEM

- Odczynniki i materiały eksploatacyjne NeuMoDx przechowywane w oryginalnym opakowaniu w temperaturze od 18 do 28°C zachowują stabilność do daty ważności podanej na etykiecie produktu.
- Nie używać odczynników po upływie podanej daty ważności.
- Nie używać żadnego produktu przeznaczonego do wykonywania testu, jeśli oryginalne lub pośrednie opakowanie produktu jest wyraźnie uszkodzone.
- Pasek testowy NeuMoDx GBS Test Strip załadowany do systemu NeuMoDx System może być przechowywany w systemie przez 28 dni. Pozostały okres magazynowania załadowanych pasków testowych jest śledzony przez oprogramowanie i zgłaszany użytkownikowi w czasie rzeczywistym. Po upływie dopuszczalnego okresu magazynowania paska testowego system wyświetli monit o wyjęciu produktu.

### POBIERANIE, TRANSPORT I PRZECHOWYWANIE PRÓBEK

1. W przypadku próbek wymazów z pochwy/odbytnicy pobieranych od kobiet w okresie przed porodem do wzbogacenia w bulionie Lim należy przestrzegać procedur klinicznych zalecanych przez centra CDC dotyczących pobierania i przechowywania próbek oraz postępowania z próbkami<sup>7</sup>.
2. Próbkę należy transportować do laboratorium w nieodżywczym podłożu transportowym, takim jak podłoże Amies lub Stuarta.
3. Jeśli wymazy z pochwy i odbytnicy zostaną pobrane osobno od jednej pacjentki, obie wymazówki można umieścić w jednym pojemniku z podłożem transportowym.
4. Wyraźnie oznaczyć próbki i wskazać, że są one przeznaczone do testów pod kątem bakterii GBS; na etykiecie powinna również znaleźć się informacja o tym, czy wymagane jest wykonanie badania wrażliwości na antybiotyki.
5. Wyjąć wymazówki z podłoża transportowego i inokulować próbkę w zalecany selektywny bulion, takim jak bulion Lim (bulion Todd-Hewitta z dodatkiem kolistyny i kwasu nalidyksowego).
6. Inkubować inokulowany bulion selektywny (bulion Lim) przez 18–24 godz. w temperaturze 37°C w powietrzu atmosferycznym lub zawierającym 5% CO<sub>2</sub>.
7. Prześć do części Przygotowanie do wykonania testu.

### INSTRUKCJA UŻYCIA

#### Przygotowanie do wykonania testu

1. Nakleić etykietę z kodem kreskowym próbki na próbkę zgodną z systemem NeuMoDx System.
2. Delikatnie wytrząsać próbkę wzbogaconego bulionu, aby uzyskać jednorodną mieszaninę.
3. W przypadku wykonywania oznaczenia na próbce wtórnej za pomocą pipety transferowej przenieść  $\geq 1$  ml bulionu Lim do próbki oznaczonej kodem kreskowym. Dla każdej próbki należy używać nowej pipety transferowej. Probówka wtórna musi spełniać poniższe wymagania dotyczące próbek zgodnych z systemem NeuMoDx System, zależnie od rodzaju stosowanego podczas analizy nośnika próbek.
  - Nośnik próbek (na 32 próbki): Średnica 11–14 mm, wysokość 60–120 mm
  - Nośnik próbek (na 24 próbki): Średnica 14,5–18 mm, wysokość 60–120 mm
  - Nośnik na próbki z próbkami o małej objętości (na 32 próbki): Stożkowa probówka mikrowirówkowa o pojemności 1,5 ml

#### Obsługa systemów NeuMoDx System

1. Włożyć określone poniżej materiały eksploatacyjne do nośników systemu i załadować je do systemu NeuMoDx System, korzystając z ekranu dotykowego:
  - a. Końcówki do pipet, 1000  $\mu$ l
  - b. Końcówki do pipet, 300  $\mu$ l
  - c. Kasetta NeuMoDx Cartridge
  - d. Płytki NeuMoDx Extraction Plate
  - e. Pasek testowy NeuMoDx GBS Test Strip
  - f. Bufor NeuMoDx Lysis Buffer 4 (**UWAGA: przed załadowaniem zdjąć folię z pojemników**)
2. W razie potrzeby wymienić odczynniki NeuMoDx Wash Reagent i NeuMoDx Release Reagent i opróżnić butelkę na odpady płynne.
3. W razie potrzeby lub po wyświetleniu monitu przez oprogramowanie systemu NeuMoDx System opróżnić pojemnik na odpady stwarzające zagrożenie biologiczne.
4. Załadować próbki do nośnika próbek i upewnić się, że zdjęto zatyczki ze wszystkich próbek.
5. Umieścić nośnik próbek w szufladzie podajnika automatycznego, a następnie załadować go do systemu, korzystając z ekranu dotykowego. Spowoduje to rozpoczęcie testów.

#### OGRANICZENIA

- Pasek testowy NeuMoDx GBS Test Strip może być używany wyłącznie w systemach NeuMoDx System.
- Skuteczność oznaczenia NeuMoDx GBS Assay ustalono przy użyciu próbek wymazów z pochwy/odbytnicy pobranych przy użyciu wymazówek od pacjentek w okresie przed porodem do nieodżywczego podłoża transportowego (takiego jak podłoże Amies lub Stuarta) i wzbogaconych selektywnym bulionem Lim. Skuteczność oznaczenia NeuMoDx GBS Assay poddano walidacji wyłącznie przy użyciu bulionu Lim. Nie przeprowadzono walidacji skuteczności przy użyciu innych wzbogacających bulionów selektywnych względem bakterii GBS.
- Nie przeprowadzono oceny działania oznaczenia NeuMoDx GBS Assay z próbkami z innych źródeł klinicznych, a parametry skuteczności tego testu dla innych typów próbek nie są znane.
- Z uwagi na to, że detekcja bakterii *Streptococcus* z grupy B zależy od ilości mikroorganizmów obecnych w próbce, wiarygodność wyników zależy od prawidłowego pobrania próbki, postępowania z próbką i przechowywania próbki.
- Nieprawidłowe pobranie próbki, postępowanie z próbką, przechowywanie próbki, błąd techniczny lub pomylenie próbek może spowodować otrzymanie błędnych wyników testu. Jeśli liczba organizmów w próbce jest niższa niż wartość czułości analitycznej testu, może dojść do wygenerowania fałszywie negatywnych wyników.
- Testy mogą być wykonywane wyłącznie przez personel przeszkolony z obsługi systemu NeuMoDx System.
- Jeśli sekwencje docelowe kontroli przetwarzania próbki nie zostaną zamplifikowane, a wynik oznaczenia NeuMoDx GBS Assay będzie negatywny, zostanie zgłoszony wynik nieważny (Indeterminate (Nieokreślony) lub Unresolved (Nierozstrzygnięty)) i konieczne będzie powtórzenie testu.
- Pozytywny wynik testu nie musi oznaczać obecności żywotnych patogenów. Wskazuje on jednak, że w próbce przypuszczalnie obecne jest DNA bakterii *Streptococcus* z grupy B.
- Wyniki negatywne nie wykluczają obecności bakterii GBS i nie mogą być traktowane jako wyłączna podstawa do podejmowania decyzji dotyczących leczenia lub innych decyzji związanych z opieką nad pacjentem.
- Kolonizacja organizmów ciężarnych kobiet przez bakterie GBS może mieć charakter nieciągły, przewlekły lub przejściowy. Użyteczność kliniczna badań przesiewowych w kierunku bakterii GBS zmniejsza się, gdy są one wykonywane na więcej niż pięć tygodni przed porodem.
- Test NeuMoDx GBS nie umożliwi uzyskania wyników dotyczących lekowrażliwości. W celu przeprowadzenia badania lekowrażliwości zalecanego w przypadku kobiet uczulonych na penicylinę wymagane są izolaty z hodowli.

- Obecnie nie są znane szczepy/izolaty bakterii GBS, w których nie występuje gen *pcsB*. Obecność takiego szczepu mogłaby jednak doprowadzić do uzyskania błędnego wyniku oznaczenia wykonywanego przy użyciu paska testowego NeuMoDx GBS Test Strip.
- Mutacje w regionach wiążących startery/sondę mogą zakłócać detekcję przy użyciu paska testowego NeuMoDx GBS Test Strip.
- Wyniki otrzymane przy użyciu oznaczenia NeuMoDx GBS Assay należy traktować jako dane uzupełniające obserwacje kliniczne oraz inne informacje, do których ma dostęp lekarz. Ten test nie jest przeznaczony do odróżniania nosicieli bakterii *Streptococcus* z grupy B od osób z aktywnym zakażeniem paciorkowcami. Prowadzona w tym samym czasie antybiotykoterapia może zakłócić wyniki testu, gdyż DNA bakterii GBS może utrzymywać się na wykrywalnym poziomie po leczeniu przeciwdrobnoustrojowym.
- Aby uniknąć zanieczyszczenia próbek, należy przestrzegać zasad dobrej praktyki laboratoryjnej, w tym zmieniać rękawiczki między próbkami pacjentów.

### WYNIKI

#### Wartości oczekiwane — częstość występowania (chorobowość)

Kolonizacja organizmu przez bakterie GBS występuje u około 10–40% ciężarnych kobiet. Wykonywanie badań przesiewowych w kierunku GBS poprzez prowadzenie hodowli bakterii z pochwy i odbytnicy w późnym okresie ciąży (zazwyczaj w 35–37 tygodniu), podczas opieki prenatalnej, umożliwia identyfikację kobiet, których organizm może być skolonizowany przez bakterie GBS w trakcie porodu. Do badania porównania metod klinicznych włączono 1193 pozostałości próbek bulionu Lim i przetestowano je w trzech odrębnych laboratoriach położonych w różnych obszarach geograficznych w Stanach Zjednoczonych. Ogólna częstość występowania bakterii GBS oparta na wynikach identyfikacji na podstawie hodowli (złoty standard), wykorzystanej jako metoda referencyjna dla wszystkich próbek włączonych do badania, wynosiła 21,9% (261/1193) przy 95-procentowym CI wynoszącym (19,6–24,3%), obliczonym przy użyciu metody oceny 95-procentowych przedziałów ufności zgodnie z wytyczną EP12-A2 instytutu CLSI<sup>10</sup>. Rzeczywiste wskaźniki częstości występowania mogą się różnić w zależności od obszaru geograficznego i lokalnej populacji pacjentów.

#### Systemy NeuMoDx 288/96 Molecular System

Dostępne wyniki można przeglądać i drukować z karty „Results” (Wyniki) w oknie Results (Wyniki) na ekranie dotykowym systemu NeuMoDx System.

Wyniki testu są automatycznie generowane przez oprogramowanie systemu NeuMoDx System. Oprogramowanie może zgłosić następujące wyniki testu: Negative (Negatywny), Positive (Pozytywny), Indeterminate (Nieokreślony) lub Unresolved (Nierozstrzygnięty); są one ustalane na podstawie statusu amplifikacji sekwencji docelowej i sekwencji kontroli przetwarzania próbki. Wyniki są zgłaszane na podstawie algorytmu decyzyjnego przedstawionego w Tabeli 1.

**Tabela 1: Algorytm decyzyjny dla oznaczenia NeuMoDx GBS Assay**

Wynik	C <sub>t</sub> dla bakterii GBS	C <sub>t</sub> dla kontroli przetwarzania próbki (SPC1)
<b>Positive (Pozytywny)</b>	9 < C <sub>t</sub> < 37 oraz EP > 3000	ND.
<b>Negative (Negatywny)</b>	ND. LUB C <sub>t</sub> < 9 LUB > 37	25 < C <sub>t</sub> < 35 oraz EP > 2000
<b>Indeterminate (Nieokreślony)</b>	ND. SYSTEM ERROR NOTED (Odnutowano błąd systemu)	ND. SYSTEM ERROR NOTED (Odnutowano błąd systemu)
<b>Unresolved (Nierozstrzygnięty)</b>	Nie wykryto	Nie wykryto

EP = fluorescencja w punkcie końcowym (po korekcie wartości wyjściowej)

#### Kontrola jakości

Regulacje CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) określają, że laboratorium jest odpowiedzialne za wdrożenie procedur kontrolnych przeznaczonych do monitorowania dokładności i precyzji całego procesu analitycznego oraz ustalenie liczby, rodzaju i częstotliwości badań materiałów kontrolnych na podstawie zweryfikowanych specyfikacji dotyczących skuteczności dla niezmodyfikowanego, dopuszczonego przez agencję FDA lub zatwierdzonego do użytku systemu do wykonywania testów (42 CFR, część 493.1256).

1. Zewnętrzne materiały kontrolne nie zostaną dostarczone przez firmę NeuMoDx Molecular, Inc. Laboratorium jest odpowiedzialne za dobór i walidację odpowiednich kontroli.  
Zalecana kontrola pozytywna: 10 µl kontroli pozytywnej AcroMetrix™ GBS Positive Control (Thermo Fisher Scientific, NR REF. 960041) rozcieńczone w 1 ml bulionu Lim.  
Zalecana kontrola negatywna: 1 ml bulionu Lim, bez inokulacji.
2. W każdym pasku testowym NeuMoDx GBS Test Strip zawarte są startery i sonda swoiste dla kontroli przetwarzania próbki 1 (Sample Process Control 1, SPC1). Kontrola przetwarzania próbki umożliwia monitorowanie skuteczności procesów izolacji DNA i amplifikacji kwasów nukleinowych w reakcji PCR przez system.

- Wynik Positive (Pozytywny) testu zgłoszony dla negatywnej próbki kontrolnej wskazuje na problem związany z zanieczyszczeniem próbki. Wskazówki dotyczące rozwiązywania problemów przedstawiono w podręcznikach użytkownika systemów NeuMoDx 288/96 Molecular System.
- Negatywny wynik zgłoszony dla pozytywnej próbki kontrolnej może wskazywać na problem związany z odczytnikiem lub aparatem.

### Wyniki nieważne

Jeśli w teście wykonywanym w systemie NeuMoDx System nie zostanie uzyskany ważny wynik, wynik ten zostanie zgłoszony jako Indeterminate (Nieokreślony) lub Unresolved (Nierozstrzygnięty), odpowiednio do typu napotkanego błędu.

Wynik Indeterminate (Nieokreślony) zostanie zgłoszony, jeśli błąd systemu zostanie wykryty podczas analizy próbki. W przypadku zgłoszenia wyniku Indeterminate (Nieokreślony, IND) zalecane jest powtórzenie testu.

Wynik Unresolved (Nierozstrzygnięty) zostanie zgłoszony, jeśli nie zostanie wykryta żadna sekwencja docelowa i nie dojdzie do amplifikacji kontroli przetwarzania próbki, co wskazuje na prawdopodobne nieprawidłowe działanie odczytników lub obecność inhibitorów. W przypadku zgłoszenia wyniku Unresolved (Nierozstrzygnięty, UNR) zalecane jest powtórzenie testu.

### PARAMETRY SKUTECZNOŚCI

#### Skuteczność kliniczna

Parametry skuteczności wyznaczono podczas prospektywnego badania porównania metod klinicznych prowadzonego w trzech (3) laboratoriach z różnych obszarów geograficznych w celu dokonania porównawczej oceny skuteczności oznaczenia NeuMoDx GBS Assay wykonywanego w systemie NeuMoDx 288 Molecular System w odniesieniu do konwencjonalnych metod hodowli zalecanych przez Centrum Kontroli Chorób (Center for Disease Control, CDC) do identyfikacji bakterii GBS z hodowli pochodnych wzbogaconego bulionu Lim. Próbkę kwalifikującą się do włączenia do badania zostały pobrane przez lekarzy od ciężarnych kobiet (w 35–37 tygodniu ciąży) do zalecanych przez centra CDC badań przesiewowych w ramach standardu opieki.

Pobrane próbki wymazów z pochwy/odbytnicy były transportowane do różnych laboratoriów w odpowiednim podłożu transportowym, a następnie inokulowane do selektywnego bulionu Lim przez personel laboratoryjny w celu przygotowania do okresu inkubacji trwającego 18–24 godz. Po okresie inkubacji i przeprowadzeniu rutynowych testów pozostałości próbek bulionu Lim wykorzystano do prowadzenia hodowli pochodnych na płytkach z agarem z krwią owczą, zgodnie z zaleceniami przedstawionymi w procedurach dotyczących przetwarzania próbek klinicznych do hodowli bakterii GBS opracowanych przez centra CDC i opublikowanych w 2010 r. Płytki z agarem inkubowano przez maksymalnie 48 godzin i oceniano pod kątem obecności mikroorganizmów przypominających bakterie GBS. Spełniające odpowiednie kryteria kolonie wybarwiono metodą Grama. Kolonie Gram-dodatnich paciorkowców zbadano pod kątem wytwarzania katalazy; kolonie Gram-dodatnich paciorkowców, które dały wynik negatywny w badaniu na wytwarzanie katalazy, poddano dalszej identyfikacji za pomocą testu do grupowania paciorkowców metodą aglutynacji lateksowej w celu ustalenia obecności bakterii GBS. Skuteczność kliniczną wyznaczono na podstawie 1193 próbek, dla których w badaniu uzyskano pełne, ważne i zgodne wyniki. Wyniki dotyczące skuteczności klinicznej podsumowano w Tabeli 2 i Tabeli 3 poniżej. Dolną i górną granicę przedstawionego 95-procentowego przedziału ufności (Confidence Interval, CI) obliczono przy użyciu metody oceny 95-procentowych przedziałów ufności.

**Tabela 2: Podsumowanie skuteczności klinicznej oznaczenia NeuMoDx GBS Assay**

Podsumowanie wyników ośrodków klinicznych		Hodowla/metoda referencyjna			
		Positive (Pozytywny)	Negative (Negatywny)	Łącznie	
NeuMoDx GBS	Positive (Pozytywny)	253	37	290	Czułość = 96,9% 95-procentowy CI (94,1–98,4)  Swoistość = 96,0% 95-procentowy CI (94,6–97,1)
	Negative (Negatywny)	8	895	903	
	Łącznie	261	932	1193	

**Tabela 3:** Skuteczność kliniczna oznaczenia NeuMoDx GBS Assay dla poszczególnych ośrodków

Ośrodek	n	Czułość (95-procentowy CI) <sup>a</sup>	Swoistość (95-procentowy CI) <sup>a</sup>	Częstość występowania <sup>b</sup> (95-procentowy CI) <sup>a</sup>
<b>A</b>	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>B</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)
<b>C</b>	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)
<b>Łącznie</b>	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)

<sup>a</sup> Dolną i górną granicę przedstawionego 95-procentowego przedziału ufności (Confidence Interval, CI) obliczono przy użyciu metody oceny 95-procentowych przedziałów ufności.

<sup>b</sup> Obliczenia częstości występowania oparte na wynikach uzyskanych przy użyciu metody referencyjnej zgodnie z zalecanymi przez centra CDC procedurami przetwarzania próbek klinicznych w celu prowadzenia hodowli bakterii *Streptococcus* z grupy B. (Procedury opublikowane w 2010 r.)

Przeprowadzono dodatkowe testy wewnętrzne na 100 próbkach klinicznych w celu wykazania, że czułość i swoistość oznaczenia NeuMoDx GBS Assay wykonywanego w systemie NeuMoDx 96 Molecular System są równoważne ze skutecznością ustaloną wcześniej w przypadku systemu NeuMoDx 288 Molecular System podczas badań klinicznych.

### Czułość

Czułość analityczną oznaczenia NeuMoDx GBS Assay wykonywanego przy użyciu paska testowego NeuMoDx GBS Test Strip wyznaczono, wykonując testy pięciu różnych stężeń bakterii GBS (ATCC BAA-611, serotyp V), przygotowanych przy użyciu pięciu odrębnych negatywnych pul klinicznych, w systemie NeuMoDx 288 Molecular System. Badanie wykonywano w nienastępujących po sobie dniach przy użyciu wielu systemów. W każdym systemie każdego dnia analizowano po dziesięć powtórzeń każdego stężenia. W każdym systemie używano innej serii następujących produktów: pasek testowy NeuMoDx GBS Test Strip, płytka NeuMoDx Extraction Plate i bufor NeuMoDx Lysis Buffer 4. Poziomy detekcji przedstawiono w Tabeli 4. Ustalono, że granica LoD wynosi 500 CFU/ml. Granicę tę potwierdzono, wykonując testy w systemie NeuMoDx 96 Molecular System i analizując wyniki w badaniu określającym odsetek udanych odczytów w celu potwierdzenia, że poziom detekcji przy granicy LoD jest  $\geq 95\%$ .

**Tabela 4:** Procentowe poziomy detekcji wyników pozytywnych dla próbek wykorzystywane do wyznaczenia granicy LoD oznaczenia NeuMoDx GBS Assay

Bakterie GBS; CFU/ml	Liczba ważnych testów	Liczba wyników pozytywnych	Liczba wyników negatywnych	Poziom detekcji
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%

\*równoważne z 20 CFU/test

Oznaczenie NeuMoDx GBS Assay wykonywane przy użyciu paska testowego NeuMoDx GBS Test Strip umożliwiło wykrycie wszystkich głównych serotypów bakterii *Streptococcus* z grupy B, w tym czterech serotypów o największym znaczeniu klinicznym. Dwanaście różnych szczepów bakterii GBS obejmujących zakres serotypów, które przetestowano przy użyciu paska testowego NeuMoDx GBS Test Strip, wymieniono w Tabeli 5.

**Tabela 5: Przetestowane serotypy bakterii GBS**

Serotyp bakterii GBS	Szczep bakterii GBS	Nr ATCC/BEI	Stężenie (CFU/ml), dla którego uzyskano poziom detekcji równy 100%
Ia	A909	ATCC: BAA-1138	1500
Ib	H36b	ATCC: BAA-1174	1000
II	MNZ933	BEI: NR-43896	400
III	MNZ938	BEI: NR-43897	400
Ic	CDC SS700	ATCC: 27591	800
IV	2011201884	ATCC: BAA-2673	800
VI	2010228816	ATCC: BAA-2671	800
VII	4832-06	ATCC: BAA-2670	800
VIII	5030-08	ATCC: BAA-2669	800
IX	7509-07	ATCC: BAA-2668	800
<b>Niehemolityczny</b>	NCTC 8181	ATCC: 13813	800
<b>Izolat kliniczny TX 2012</b>	SGBS030	BEI: NR-44144	800

#### Swoistość analityczna i reaktywność krzyżowa

Swoistość analityczną udowodniono, wykonując badania przesiewowe pod kątem reaktywności krzyżowej z 136 mikroorganizmami/wirusami, które powszechnie występują w układzie moczowo-płciowym oraz w przewodzie pokarmowym, a także gatunkami zbliżonymi filogenetycznie do bakterii GBS. Badania przeprowadzono w systemie NeuMoDx 288 Molecular System przy użyciu paska testowego NeuMoDx GBS Test Strip. Przygotowano pule po 5–6 mikroorganizmów/wirusów i oznaczano je przy wysokich stężeniach (bakterie: 6–9x10<sup>6</sup> CFU/ml; wirusy 1x10<sup>6</sup>–1x10<sup>7</sup> kopii/ml). Żaden z badanych mikroorganizmów/wirusów nie wykazywał reaktywności krzyżowej w oznaczeniu NeuMoDx GBS Assay. Przetestowane mikroorganizmy/wirusy wymieniono w Tabeli 6.



**Tabela 6: Patogeny użyte do wykazania swoistości analitycznej**

<b>Bakterie, drożdże i pasożyty</b>		
<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>	<b>Wirusy</b>
<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, grupa D	<i>Mobiluncus mulieris</i>	HPV-16*
<i>Neisseria flavescens</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	Wirus JC*
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>	Wirus 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> typu 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> *	

\*Testowano przy stężeniu 10 ng/ml

### Substancje zakłócające — komensale

Oznaczenie NeuMoDx GBS Assay przetestowano pod kątem zakłóceń spowodowanych obecnością mikroorganizmów/wirusów (zasiedlających układ moczowo-płciowy) innych niż patogen docelowy, poprzez ocenę skuteczności oznaczenia przy niskich stężeniach bakterii GBS, w systemie NeuMoDx 288 Molecular System. Do tego badania wykorzystano ten sam panel 136 mikroorganizmów/wirusów [Tabela 6], którego użyto do oceny reaktywności krzyżowej. Do klinicznych negatywnych próbek bulionu Lim dodawano pule zawierające po 5–6 mikroorganizmów/wirusów, a następnie dodano bakterie GBS z hodowli w stężeniu 1200 CFU/ml. We wszystkich przebadanych pulach wykryto bakterie *Streptococcus* z grupy B. Nie zaobserwowano zakłóceń spowodowanych obecnością komensali.

### Substancje endogenne i egzogenne, które mogą być obecne w klinicznych próbkach badanych pod kątem bakterii GBS

Skuteczność oznaczenia NeuMoDx GBS Assay oceniono w systemie NeuMoDx 288 Molecular System w obecności typowych zakłócających substancji egzogennych i endogennych, które mogą być obecne w klinicznych próbkach badanych pod kątem bakterii GBS. Każdą z substancji endogennych i egzogennych wymienionych poniżej w Tabeli 7 dodano do zbiorczych klinicznych negatywnych próbek bulionu Lim zawierających bakterie GBS w stężeniu 1200 CFU/ml lub 4000 CFU/ml. 20 egzogennych i 6 endogennych substancji, które przetestowano pod kątem zakłóceń przy użyciu paska testowego NeuMoDx GBS Test Strip, nie miało negatywnego wpływu na detekcję bakterii GBS w żadnym z badanych stężeń, co dodatkowo potwierdza odporność oznaczenia NeuMoDx GBS Assay.

**Tabela 7: Przebadane egzogenne i endogenne czynniki zakłócające**

Substancje egzogenne			Substancje endogenne
Maść Monistat®	Czopki Dulcolax®	K-Y™ Jelly	Ludzki płyn owodniowy
Yeast Gard Advanced™ (produkt do irygacji)	Enema Fleet®	Żel McKesson	Ludzka krew pełna
Suplement dostarczający błonnik Metamucil®	Krem Preparation H®	Pianka antykoncepcyjna	Ludzki mocz
Ex-lax® (kawałki czekolady)	Proszek Vagisil™	Balsam nawilżający	Próbka ludzkiego kału
Środek Phillips'® Milk of Magnesia	Czopki Norforms®	Olejek do ciała Neutrogena®	Śluz
Pepto-Bismol™	Dezodorant w aerozolu FDS®	Proszek Gold Bond®	Ludzki genomowy DNA
Kaopectate®	Mgiełka New Mama Bottom Spray		

### Precyzja

Testy jakościowe wykonywano w systemie NeuMoDx 288 Molecular System przy użyciu paska testowego NeuMoDx GBS Test Strip. W ciągu 12 nienastępujących po sobie dni wykonywano po 2 analizy dziennie przy użyciu 3 systemów. W tym badaniu precyzji wewnątrzlaboratoryjnej 2 operatorów wykonywało testy przy użyciu 2 serii odczytników. Zestaw próbek testowanych podczas jednej analizy zdefiniowano jako pięć różnych stężeń, badanych w trzech powtórzeniach, przedstawionych w Tabeli 8 (prawdziwie negatywna, słabo negatywna, umiarkowanie negatywna, słabo pozytywna i umiarkowanie pozytywna), co dało łączną liczbę 15 próbek na analizę na system. Próbkę przygotowano, dodając bakterie GBS z hodowli do pozostałości zbiorczych klinicznych negatywnych próbek bulionu Lim. W każdej analizie oprócz 15 próbek testowano również zewnętrzną kontrolę pozytywną i negatywną. Podczas tego badania wykonano łącznie 72 analizy, podczas których przetestowano 1224 próbki, w tym kontrole zewnętrzne. Tabela 9 przedstawia porównanie wyników uzyskanych dla różnych aparatów. Tabela 10 przedstawia precyzję wyników uzyskanych przez różnych operatorów.

**Tabela 8: Panel precyzji wewnątrzlaboratoryjnej**

Próbka panelu	Badane stężenie	Bakterie GBS (CFU/ml)
Umiarkowanie pozytywna (Moderate Positive, MP)	3–4x LoD	1600
Słabo pozytywna (Low Positive, LP)	1–2x LoD	600
Umiarkowanie negatywna (Moderate Negative, MN)	>10-krotne rozcieńczenie stężenia 1x LoD	40
Słabo negatywna (Low Negative, LN)	>100-krotne rozcieńczenie stężenia 1x LoD	4
Prawdziwie negatywna (True Negative, TN; próba ślepa)	0	0

**Tabela 9:** Wyniki jakościowe z badania precyzji wewnątrzlaboratoryjnej (między różnymi aparatami)

Stężenie	Aparat 1.	Aparat 2.	Aparat 3.	Ogółem
	Odsetek wyników pozytywnych	Odsetek wyników pozytywnych	Odsetek wyników pozytywnych	Odsetek wyników pozytywnych
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)
	Odsetek wyników negatywnych	Odsetek wyników negatywnych	Odsetek wyników negatywnych	Odsetek wyników negatywnych
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)

**Tabela 10:** Analiza parametrów ilościowych oznaczenia GBS z badania precyzji wewnątrzlaboratoryjnej (między różnymi operatorami)

Stężenie	Pierwszy operator					Drugi operator					Zestaw danych zbiorczych				
	Wykryte poz./łącznie	Odsetek wyników pozytywnych (%)	Śr. war. Ct	Odch. st.	%CV*	Wykryte poz./łącznie	Odsetek wyników pozytywnych (%)	Śr. war. Ct	Odch. st.	%CV	Wykryte poz./łącznie	Odsetek wyników pozytywnych (%)	Śr. war. Ct	Odch. st.	%CV
MP	108/108	100,0%	31,61	0,54	1,7%	108/108	100,0%	32,22	0,51	1,6%	216/216	100,0%	31,91	0,61	1,9%
LP	106/108	98,1%	34,16	0,68	2,0%	105/108	97,2%	34,39	0,72	2,1%	211/216	97,7%	34,27	0,71	2,1%
MN	20/108	18,5%	35,00	0,53	1,5%	18/108	16,7%	35,28	0,40	1,1%	38/216	17,6%	35,10	0,49	1,4%
LN	2/108	1,9%	35,49	0,12	0,3%	1/108	0,9%	35,03	ND.		3/216	1,4%	35,33	0,28	0,8%
TN	0/108	0,0%	ND.			0/108	0,0%	ND.			0/216	0,0%	ND.		

%CV: współczynnik zmienności, 100\* odchylenie standardowe/śr. war. Ct.

### Odtwarzalność międzylaboratoryjna

Odtwarzalność wyników oznaczenia NeuMoDx GBS Assay wykonywanego w systemie NeuMoDx 288 Molecular System przy użyciu paska testowego NeuMoDx GBS Test Strip oceniono w 3 różnych ośrodkach badawczych, testując 5 powtórzeń panelu złożonego z 4 próbek w ciągu 5 dni, uzyskując tym samym po 75 powtórzeń na każdą próbkę z panelu. Próbki wchodzące w skład panelu przygotowano, dodając bakterie GBS z hodowli do zbiorczych klinicznych negatywnych próbek bulionu Lim w celu uzyskania próbek słabo negatywnych, słabo pozytywnych i umiarkowanie pozytywnych; próbki prawdziwie negatywne (próba ślepa) nie zawierały bakterii GBS. Stężenia próbek w panelu odpowiadały stężeniom wymienionym powyżej w Tabeli 8, używanym do badań precyzji (oprócz próbki umiarkowanie negatywnej). W każdym dniu, w którym wykonywano testy, analizowano również zewnętrzną kontrolę pozytywną i negatywną.

Ogółem podczas badania odtwarzalności uzyskano 4 nieważne wyniki — jedno powtórzenie dla każdego z 4 stężeń dało wynik „Indeterminate” (Nieokreślony); wszystkie te wyniki odnotowano podczas tego samego dnia badania (dzień 2.) w ośrodku B. Po ponownym przetestowaniu próbek dla 2 z 4 próbek uzyskano ważny, prawidłowy wynik; dla pozostałych dwóch próbek po raz drugi uzyskano wynik „Indeterminate” (Nieokreślony), zanim dały one ważny, prawidłowy wynik. Zgodność procentową z wynikiem oczekiwanym dla próbek z panelu, ogółem dla wszystkich ośrodków, przedstawiono w Tabeli 11 poniżej.

**Tabela 11:** Podsumowanie skuteczności odtwarzalności międzylaboratoryjnej oznaczenia NeuMoDx GBS Assay

Stężenie próbki z panelu	Ośrodek 1 (A)	Ośrodek 2 (B)	Ośrodek 3 (D)	Zgodność ogółem (95-procentowy CI) <sup>a</sup>
Umiarkowanie pozytywne	25/25	25/25	25/25	<b>100% (75/75)</b> (95,1–100)
Słabo pozytywne	24/25	25/25	24/25	<b>97,3% (73/75)</b> (90,8–99,3)
Słabo negatywne	25/25	25/25	24/25 <sup>b</sup>	<b>98,7% (74/75)</b> (92,8–99,8)
Negatywne, próba ślepa	25/25	25/25	25/25	<b>100% (75/75)</b> (95,1–100)

<sup>a</sup> Dolną i górną granicę przedstawionego 95-procentowego przedziału ufności (Confidence Interval, CI) obliczono przy użyciu metody oceny 95-procentowych przedziałów ufności.

<sup>b</sup> Przewiduje się, że próbka o stężeniu słabo negatywnym zostanie wykryta jako pozytywna w ~5% przypadków.

### Zanieczyszczenie spowodowane przeniesieniem i zanieczyszczenie krzyżowe

Badania pod kątem potencjalnego zanieczyszczenia spowodowanego przeniesieniem i zanieczyszczenia krzyżowego wykonano w systemie NeuMoDx 288 Molecular System przy użyciu paska testowego NeuMoDx GBS Test Strip. Badanie składało się z dwóch części. Najpierw oceniano wpływ naprzemiennego rozmieszczenia próbek negatywnych względem bakterii GBS i próbek zawierających wysokie stężenie docelowych bakterii GBS ( $1 \times 10^7$  CFU/ml) na wyniki. Próbkę pozytywną i negatywną zostały załadowane w taki sposób, że każda próbka negatywna sąsiadowała z próbka silnie pozytywną. W ramach drugiej części tego badania wszystkie próbki negatywne testowano od razu po ukończeniu analizy wszystkich próbek o wysokich stężeniach bakterii GBS. Nie zaobserwowano zanieczyszczenia w próbkach negatywnych testowanych w układzie naprzemiennym z próbkami o wysokich stężeniach ani w próbkach negatywnych analizowanych od razu po próbkach o wysokich stężeniach bakterii GBS, co wskazuje na brak zanieczyszczenia spowodowanego przeniesieniem i/lub zanieczyszczenia krzyżowego.

### Skuteczność kontroli

Skuteczność zawartej w pasku testowym NeuMoDx GBS Test Strip kontroli przetwarzania próbki pod względem zgłaszania niepowodzenia dowolnego kroku analizy lub informowania o inhibicji wpływającej na skuteczność oznaczenia NeuMoDx GBS Assay oceniono w systemie NeuMoDx 288 Molecular System. Warunki, w których wykonywano testy, były reprezentatywne dla kluczowych niepowodzeń w krokach analizy, które potencjalnie mogą wystąpić podczas analizy próbki i *pozostać niewykryte* przez czujniki monitorujące działanie systemu NeuMoDx System. Skuteczność kontroli oceniono, symulując niepowodzenie różnych kroków procesu analizy próbki w celu odzwierciedlenia potencjalnego błędu systemu oraz dodając do próbki substancję o znanych właściwościach inhibicyjnych w celu obserwacji wpływu nieskutecznego tagodzenia działania inhibitora na detekcję kontroli przetwarzania próbki (patrz *Tabela 12*). W przypadkach, w których błędy analizy nie wpływały negatywnie na skuteczność kontroli przetwarzania próbki (NO WASH (Brak odczynnika płuczącego)/NO WASH BLOWOUT (Brak usunięcia odczynnika płuczącego)), testy powtórzone przy użyciu próbek pozytywnych względem bakterii GBS (400 CFU/ml) w celu potwierdzenia, że błąd analizy NIE wpływa negatywnie również na detekcję sekwencji docelowej bakterii GBS. *Tabela 12* zawiera podsumowanie wyników testu prowadzonego w celu weryfikacji skuteczności kontroli.

**Tabela 12:** Podsumowanie danych dotyczących skuteczności kontroli

Warunki	Oczekiwany wynik	Obserwowany wynik
Normal Processing (Prawidłowa analiza)	Negative (Negatywny)	Negative (Negatywny)
Normal Processing + Inhibitor (Prawidłowa analiza + inhibitor)	Unresolved (Nierozstrzygnięty)	Unresolved (Nierozstrzygnięty)
No Wash Reagent (Brak odczynnika Wash)	Unresolved (Nierozstrzygnięty) lub Negative (Negatywny)	Negative (Negatywny)
No Wash Blowout (Brak usunięcia odczynnika płuczącego)	Unresolved (Nierozstrzygnięty) lub Negative (Negatywny)	Negative (Negatywny)
No Release Reagent (Brak odczynnika Release)	Indeterminate (Nieokreślony)	Indeterminate (Nieokreślony)
No PCR Master Mix Reagents (Brak odczynników tworzących mieszaninę Master Mix do reakcji PCR)	Indeterminate (Nieokreślony)	Indeterminate (Nieokreślony)

### Stabilność próbki w aparacie

Próbki, które różniły się datą pobrania, poddano analizie w systemie NeuMoDx 288 Molecular System bezpośrednio po ich załadowaniu („T0”) i po 24 godzinach („T24”) w celu ustalenia stabilności próbki w aparacie dla oznaczenia NeuMoDx GBS Assay. Próbkę kliniczną — zarówno pozytywną, jak i negatywną względem bakterii GBS — przetestowano po raz pierwszy, a następnie pozostawiono je na stole roboczym systemu przez 24 godziny i przetestowano po raz drugi. Między wynikami uzyskanymi dla pierwszego testu (T0) i testu wykonanego 24 godziny później (T24) dla 23 próbek negatywnych względem bakterii GBS zaobserwowano zgodność na poziomie 100% [*Tabela 13*]. Po 24 godzinach dla wszystkich próbek pozytywnych z wyjątkiem jednej uzyskano wynik pozytywny, co daje zgodność z oczekiwanym wynikiem na poziomie 95,8%.

**Tabela 13:** Podsumowanie danych dotyczących stabilności próbek w aparacie

		Znane próbki pozytywne (próbki A)		Znane próbki negatywne (próbki B)	
		L. wyników pozytywnych	L. wyników negatywnych	L. wyników pozytywnych	L. wyników negatywnych
1. test	T0	23	0	0	23
2. test	T24	22	1*	0	23
Zgodność (%)		95,8		100	

\* Jedna próbka została początkowo zidentyfikowana jako pozytywna w teście T0; podczas dalszej oceny wykazano, że próbka ta została fałszywie zidentyfikowana jako pozytywna z powodu niskiego stężenia DNA bakterii GBS lub nieżywnego materiału komórkowego. Laboratorium referencyjne zgłosiło brak wzrostu bakterii GBS w hodowli prowadzonej z tej próbki.

### LITERATURA

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.

### ZNAKI TOWAROWE

NeuMoDx™ i NeuDry™ są znakami towarowymi firmy NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Roche Molecular Systems, Inc.

AcroMetrix™ jest znakiem towarowym firmy Thermo Fisher Scientific.

Monistat® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Pfizer, Inc.

Yeast Gard Advanced™ jest znakiem towarowym firmy Lake Consumer Products, Inc.

Metamucil® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Procter & Gamble.

Ex-lax® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy GSK plc.

Phillips® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Bayer.

Kaopectate® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy SANOFI.

Neutrogena® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Johnson & Johnson Consumer, Inc.

Dulcolax® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy SANOFI.

Fleet® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy C.B. Fleet Company.

Preparation H® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Pfizer, Inc.

Vagisil™ jest znakiem towarowym firmy COMBE, Inc.

Norforms® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy C.B. Fleet Company.



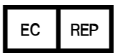











FDS® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy WellSpring Pharmaceutical Corp.

K-Y™ Jelly jest znakiem towarowym firmy Reckitt Benckiser Group.

Pepto-Bismol™ jest znakiem towarowym firmy Procter & Gamble.

Gold Bond® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy SANOFI.

### SYMBOLE

SYMBOL	ZNACZENIE
<b>R only</b>	Wyłącznie na receptę
	Producent
	Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Upoważniony przedstawiciel na terytorium Unii Europejskiej
	Numer katalogowy
	Kod partii
	Data ważności
	Zakres temperatur
	Zakres wilgotności
	Nie używać ponownie
	Zawiera materiały wystarczające do przeprowadzenia <n> testów
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Przeostroga
	Zagrożenie biologiczne
	Oznaczenie CE



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

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



Emergo Europe B.V.  
Westervoortsedijk 60  
6827 AT Arnhem  
Holandia



Wsparcie techniczne / zgłaszanie danych dotyczących nadzoru nad produktem (vigilance): [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

Patent: [www.neumodx.com/patents](http://www.neumodx.com/patents)