

REF 200400 NeuMoDx™ GBS Test Strip -testiliuska**R only**

HUOMIO: Vain vietäväksi Yhdysvaltojen ulkopuolelle

IVD *In vitro* -diagnostiseen käyttöön NeuMoDx 288 Molecular System- ja NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmien kanssaSelostepäivitykset ovat osoitteessa: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Lisätietoja on NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa, tuotenumero 40600108

Lisätietoja on NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa, tuotenumero 40600317

KÄYTTÖTARKOITUS

NeuMoDx 288 Molecular System- ja NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmissä (NeuMoDx System -järjestelmät) käytettävä NeuMoDx GBS Assay -testi on kvalitatiivinen, diagnostinen *in vitro* -testi, jonka tarkoituksena on löytää B-ryhmän *streptokokin* (Group B Streptococcus, GBS) DNA:ta raskaana olevien naisten vaginaalisten ja rektaalisten näytteiden 18–24 tuntia inkuboiduista Lim Broth -rikastusliemistä. Testi sisältää DNA:n automaattisen eristämisen, jossa kohdenukleinihappo eristetään näytteestä, ja reaaliaikaisen polymeerasiketjureaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR), jonka avulla tunnistetaan *Streptococcus agalactiae*n kromosomin *pcsB*-geenisekvenssin 88 emäsparin alue. NeuMoDx GBS Assay -testistä saatujen tulosten avulla voidaan selvittää kolonisaatiotilannetta naisilla ennen synnytystä.

NeuMoDx GBS Assay -testi ei anna herkkyyttä koskevia tuloksia. Penisilliinille allergisille naisille suositeltua herkkyyden testausta varten tarvitaan viljelmien isolaatteja.

YHTEENVETO JA SELITYKSET

Vaginaalinen/rektaalinen näyte otetaan ja kuljetetaan laboratorioon tavanomaisilla bakteerinäytteiden kuljetusputkilla, jotka sisältävät ravinteetonta kuljetusainetta. Näytteiden kuljetukseen voidaan käyttää kaupallisia kuljetusputkia (esimerkiksi Amies tai Stuart's). Laboratoriossa näyte siirretään selektiiviselle kasvualustalle, kuten Lim Broth -rikastusliemeen (Todd-Hewitt-rikastusliemi, johon on lisätty kolistiinia ja nalidiksiinihappoa). Kun siirrettyä selektiivistä rikastusliemettä on inkuboitu 18–24 tuntia 37 °C:n lämpötilassa ympäristössä, jonka ilman CO₂-pitoisuus on 5 %, näytteen lyysaus aloitetaan sekoittamalla rikastusliemen alikvootti NeuMoDx Lysis Buffer 4 -lyysauspuskurin kanssa ja näyte käsitellään NeuMoDx System -järjestelmässä NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuskan reagensseilla. NeuMoDx System -järjestelmä eristää kohdenukleinihapon automaattisesti ja monistaa GBS-kromosomin *pcsB*-geenisekvenssin osaa, jos sitä on näytteessä. NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuska sisältää DNA-näytteen prosessikontrollin (Sample Process Control 1, SPC1), jolla valvotaan mahdollisia estäviä aineita sekä eristämisen ja monistamisprosessien aikaisia järjestelmän ja reagenssien toimintahäiriöitä.

GBS on grampositiivinen bakteeri, jota kantaa 10–35 % terveistä aikuisista. GBS:n oireettomilla kantajilla on niin sanottu GBS-kolonisaatio. GBS-bakteerit ovat yleisiä bakteereja ihmisillä. Tietyissä olosuhteissa GBS voi levitä elimistössä ja aiheuttaa vakavan infektion eli GBS-taudin¹.

GBS voi aiheuttaa vastasyntyneille vaikean taudin, ja sen tiedetään olevan yksi tärkeimmistä vastasyntyneiden bakteeri-infektioiden aiheuttajista. Yhteisössä esiintyy useita patogeenisia kantoja, ja noin 80 prosentissa vastasyntyneiden infektioista vastasyntynyt saa tartunnan äidiltä synnytyksen aikana. Tutkimuksissa on osoitettu, että 25–40 prosentilla terveistä naisista on GBS-kolonisaatio anogeenitalisilla limakalvoilla. Arviolta 7 500 vastasyntynyttä vuodessa sairastui GBS-tautiin ennen aktiivisen ennaltaehkäisyn aloittamista Yhdysvalloissa.¹ Tartunnat vähenivät merkittävästi ennaltaehkäisyn päästyä vauhtiin 1990-luvulla² ja vähenivät edelleen yleisten seulontasuositusten tultua voimaan vuonna 2002.³ Vaikka Yhdysvalloissa onkin otettu käyttöön antibioottiprofylaksia, GBS-tauti on siellä edelleen yksi tärkeimmistä kuolleisuutta ja sairastavuutta aiheuttavista infektioista vastasyntyneillä. Noin 2 000 vastasyntynyttä vuodessa saa infektion, ja kuolleisuus on noin 0,27 tuhatta elävän lapsen syntymää kohti.⁴⁻⁶

Vastasyntyneiden GBS-tautia pyritään nykysuositusten mukaan ehkäisemään seulomalla raskaana olevia naisia raskausviikoilla 35–37, jolloin selvitetään heidän GBS-kolonisaatiotilanteensa.⁷ Kun GBS-testaus tehdään viljelemällä, GBS:n varma tunnistaminen voi kestää jopa 48 tuntia ≥ 18 tunnin inkubaatiovaiheen jälkeen. NeuMoDx System -järjestelmässä käytettävällä NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuskalla voidaan saada ensimmäisen 8 näytteen tulokset tunnin kuluessa ≥ 18 tunnin inkubaatio- ja rikastusvaiheen jälkeen. NeuMoDx GBS Assay -testi tehostaa ja helpottaa testausta: kun näyte on asetettu järjestelmään, käyttäjää tarvitaan seuraavaksi vasta tulosten valmistuessa.

MENETELMÄN TOIMINTAPERIAATE

18–24 tunnin pituisen inkubaatiovaiheen jälkeen GBS tunnistetaan rikastusliemen avulla. NeuMoDx System -järjestelmä aloittaa käsittelyn sekoittamalla 25 µl Lim Broth -rikastusliemellä NeuMoDx Lysis Buffer 4 -lyysauspuskurin ja eristysreagenssien kanssa. NeuMoDx System -järjestelmä automatisoi ja integroi DNA:n eristämisen ja rikastamisen, reagenssien valmistelun sekä nukleinihapon monistamisen ja kohdesekvenssin tunnistuksen reaaliaikaisella PCR:llä. Näytteen käsittely- ja monistusvaiheisiin sisältyy myös näytteen prosessikontrolli, jolla valvotaan mahdollisia estäviä aineita sekä järjestelmän ja reagenssien toimintahäiriöitä. Kun näyte on asetettu NeuMoDx System -järjestelmään, käyttäjän toimia ei enää tarvita.

NeuMoDx System -järjestelmät käyttävät lämmön, hajottavan entsyymien ja eristysreagenssien yhdistelmää solujen hajotuksessa, DNA:n eristämiseksi ja estäjien poistamiseksi. Vapautuneet nukleinihapot tarttuvat paramagneettisiin hiukkasiin. Hiukkaset ja niihin sitoutuneet nukleinihapot siirretään NeuMoDx Cartridge -kasettiin, jossa sitoutumattomat, muut kuin DNA:n osat pestään pois NeuMoDx Wash Reagent -pesureagenssilla ja sitoutunut DNA eluoidaan NeuMoDx Release Reagent -irrotusreagenssilla. Vapautuneen DNA:n avulla NeuMoDx System -järjestelmät rehydroivat omistusoikeudellisia NeuDry™-reagensseja, jotka sisältävät kaikki GBS-spesifisen kohteen monistamiseen tarvittavat osat. Kuivatut PCR-reagenssit sisältävät myös komponentit, joita tarvitaan näytteen prosessikontrollisekvenssin osan monistamiseen niin, että sekä kohde- että kontrolli-DNA-sekvenssit voidaan monistaa ja tunnistaa samanaikaisesti. Kun NeuDry PCR -reagenssit on valmisteltu, NeuMoDx System -järjestelmä annostelee PCR-ajoa varten valmiin seoksen NeuMoDx Cartridge -kasetin yhteen PCR-kammioon (näytekohtaisesti). Kontrolli- ja kohde-DNA-sekvenssit (jos niitä on) monistetaan ja tunnistetaan PCR-kammiossa. Kammion ja kasetin on tarkoitus sisältää ampliconi reaaliaikaisen PCR:n jälkeen ja poistaa monistamisen jälkeinen kontaminaatoriski.

Monistetut kohteet tunnistetaan reaaliaikaisesti hydrolyysikoettimien avulla eli TaqMan®-tekniikalla, jossa käytetään amplikonikohtaisia fluoresoivia oligonukleotidikoettimien molekyyliä. TaqMan-koettimet koostuvat fluoresoivasta aineesta, joka on kovalenttisesti kiinnittynyt oligonukleotidikoettimen 5'päähän, ja 3'-päässä olevasta sammuttajasta. Koettimen ollessa ehjä fluoresoivan aineen ja sammuttajamolekyylin läheisyys tukahduttaa fluoresoivan aineen lähettämän fluoresenssin Förster-tyyppisellä energiansiirrolla (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

TaqMan-koettimet on suunniteltu kiinnittymään tietyn alukejoukon monistamalle DNA:n alueelle. Kun Taq DNA -polymeraasi pidentää aluketta ja syntetisoi uuden juosteen, Taq DNA -polymeraasin 5'–3'-eksonukleasiaktiivisuus hajottaa malliin kiinnittyneen koettimen. Koettimen hajoaminen vapauttaa fluoresoivan aineen ja koetin ja sammuttaja erkanevat toisistaan, jolloin FRET:n tukahduttamisvaikutus estyy ja fluoresoivan aineen fluoresenssi voidaan havaita. Kvantitatiivisessa PCR -laitteessa havaittu fluoresenssisignaali on suoraan verrannollinen vapautuneeseen fluoresoivaan aineeseen ja voi korreloida kohde-DNA:n määrän kanssa.

Fluoresoivalla aineella leimattu TaqMan-koetin (heräte: 490 nm ja emissio: 521 nm) 5'-päässä ja pimeä sammuttaja 3'-päässä auttavat havaitsemaan GBS:n DNA:n. TaqMan-koetin on leimattu vaihtoehtoisella fluoresoivalla värillä näytteen prosessikontrollin tunnistusta varten (heräte: 535 nm ja emissio: 556 nm) 5'-päässä ja pimeä sammuttaja 3'-päässä. NeuMoDx System -järjestelmä valvoo TaqMan-koettimien lähettämää fluoresenssisignaalia jokaisen monistamissyklin lopussa. Monistumisen päätyttyä NeuMoDx System -järjestelmä analysoi tiedot ja laatii raportin lopullisista tuloksista (POSITIVE (Positiivinen) / NEGATIVE (Negatiivinen) / INDETERMINATE (Epäselvä) / UNRESOLVED (Ratkaisematon)).

REAGENSIT/TARVIKKEET

Toimitetut materiaalit

REF	Sisältö	Testejä/yksikkö	Testejä/pakkaus
200400	NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuska <i>Kuivatut PCR:n reagenssit, jotka sisältävät GBS-spesifisen TaqMan-koettimen ja alukkeet, näytteen prosessikontrollin spesifisen TaqMan-koettimen ja alukkeet.</i>	16	96

Tarvittavat reagenssit ja tarvikkeet, jotka eivät sisälly toimitukseen (saatavilla erikseen NeuMoDx-yhtiöltä)

REF	Sisältö
100200	NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevy <i>Kuivatut paramagneettiset hiukkaset, hajottava entsyymi ja näytteiden prosessikontrollit</i>
400700	NeuMoDx Lysis Buffer 4 -lyysauspuskuri
400100	NeuMoDx Wash Reagent -pesureagenssi
400200	NeuMoDx Release Reagent -irrotusreagenssi
100100	NeuMoDx Cartridge -kasetti
235903	Hamilton CO-RE / CO-RE II -kärjet (300 µl) ja suodattimet
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II -kärjet (1 000 µl) ja suodattimet

Tarvittavat laitteet

NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmä [REF 500100] TAI NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmä [REF 500200]

VAROITUKSET JA VAROTOIMET

- Tarkoitettu ainoastaan NeuMoDx System -järjestelmillä tehtävää *in vitro* -diagnostiikkaa varten.
- Älä käytä reagensseja viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.
- Reagensseja ei saa käyttää, jos suojatiiviste on rikki tai pakkaus on vahingoittunut vastaanotettaessa.
- Älä käytä reagensseja, jos suojapussi on avautunut tai rikki vastaanotettaessa.
- Toissijaisten alikvoottien näytteen vähimmäismäärä riippuu näyteputken koosta ja näyteputkelineestä seuraavasti. Määritetty minimiä pienempi määrä voi aiheuttaa virheen Quantity Not Sufficient (Määrä ei riitä).
- Jos testausolosuhteet eivät ole Yhdysvaltojen tartuntatauti- ja ehkäisykeskusten (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) suosittujen mukaisia, NeuMoDx GBS Assay -määritystuloksista saattaa tulla virheellisiä.
- Vältä aina reagenssien mikrobi- ja deoksiribonukleasi (DNAasi) -kontaminaatiota. Steriilien DNAasittomien kertakäyttöpipettien käyttö on suositeltavaa. Käytä jokaiselle näytteelle uutta pipettiä.
- Vältä kontaminaatio: älä käsittele äläkä irrota NeuMoDx Cartridge -kasettia monistamisen jälkeen. Älä koskaan ota monistamisessa käytettyjä kasetteja takaisin jätteistä. NeuMoDx Cartridge -kasetti on suunniteltu estämään kontaminaatiota.

- Kun laboratoriossa tehdään PCR-testejä myös avoimella putkella, on varottava, etteivät NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuska, muut testissä tarvittavat reagenssit ja NeuMoDx System -järjestelmä kontaminoidu.
- NeuMoDx:n reagensseja ja tarvikkeita käsiteltäessä on käytettävä puhtaita, puuterittomia nitriliikäsineitä. Varo, ettet kosketa NeuMoDx Cartridge -kasetin yläpintaa tai NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuskan tai NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevyn foliioituvaa pintaa. Niitä käsiteltäessä saa koskea vain sivupintoihin.
- Käyttöturvallisuustiedotteet (Safety Data Sheets, SDS) ovat saatavilla pyynnöstä.
- Noudata järjestelmän suositeltavia puhdistusliuoksia koskevia ohjeita, jotka on annettu *NeuMoDx 288/96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa*.
- Älä pipetoi suun avulla. Älä tupakoi äläkä syö tai juo tiloissa, joissa käsitellään näytteitä tai sarjan reagensseja.
- Käsittele näytteitä aina kuten tartuntavaarallisia näytteitä ja noudata laboratorion turvaohjeita: *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁸ ja CLSI Document M29-A4.⁹
- Hävitä käyttämättömät reagenssit ja jäte paikallisten, alueellisten ja kansallisten säädösten mukaisesti.

TUOTTEEN SÄILYTYS, KÄSITTELY JA VAKAUS

- NeuMoDx-reagenssit ja -tarvikkeet ovat vakaita sisäpakkauksessa 18–28 °C:n lämpötilassa tuotteen etiketissä ilmoitettuun viimeiseen käyttöpäivään asti.
- Reagensseja ei saa käyttää viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
- Älä käytä testituotetta, jos sen sisä- tai ulkopakkaus näyttää vahingoittuneelta.
- Kun NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuska on asetettu, se voi olla NeuMoDx System -järjestelmän sisällä 28 vuorokautta. Ohjelmisto seuraa järjestelmään asetettujen testiliuskojen jäljellä olevaa käyttöikää ja ilmoittaa sen käyttäjälle reaaliaikaisesti. Järjestelmä kehottaa vaihtamaan testiliuskan, joka on ollut käytössä sallittua pidemmän ajan.

NÄYTTEIDEN KERUU, KULJETUS JA SÄILYTYS

1. Raskaana olevien naisten vaginaalisia ja rektaalisia näytteitä Lim Broth -rikastusta varten on kerättävä, säilytettävä ja käsiteltävä CDC:n suositusten mukaisesti.⁷
2. Näytteet tulee kuljettaa laboratorioon kuljetusputkissa, jotka sisältävät ravinteetonta kuljetusainetta (esimerkiksi Amies tai Stuart's).
3. Jos vaginaalinen ja rektaalinen näyte otetaan samalta potilaalta erikseen, molemmat näytetikut voidaan asettaa samaan kuljetusputkeen.
4. Merkitse näytteet selkeästi ja sisällytä merkintään tieto siitä, että näyte on tarkoitettu GBS-testiä varten. Merkinnästä on käytävä ilmi myös, testataanko antibioottiherkkyyttä.
5. Ota näytetikku (tai näytetikut) kuljetusputkesta ja siirrä suositellulle selektiiviselle kasvualustalle, kuten Lim Broth -rikastusliemeen (Todd-Hewitt-rikastusliemi, johon on lisätty kolistiinia ja nalidiksiinihappoa).
6. Inkuboi inokuloitua selektiivistä rikastusliettä (Lim Broth) 18–24 tuntia 37 °C:n lämpötilassa ympäristössä, jonka ilman CO₂-pitoisuus on 5 %.
7. Siirry Testin valmistelut -kohtaan.

KÄYTTÖOHJEET

Testin valmistelut

1. Kiinnitä näytteen viivakoodietiketti NeuMoDx System -järjestelmän kanssa yhteensopivaan näyteputkeen.
2. Sekoita rikastusliemen näytettä hieman, jotta se jakautuu tasaisesti.
3. Jos määrittäminen käytetään toissijaiseen näytteeseen, siirrä ≥ 1 ml Lim Broth -rikastusliettä siirtopipetillä viivakoodilliseen näyteputkeen. Käytä jokaiselle näytteelle eri siirtopipettiä. Toissijaisen putken on oltava yhteensopiva NeuMoDx System -järjestelmän ja käsittelyssä käytettävän näyteputkelineen kanssa.
 - Näyteputkeline (32 putken): halkaisija 11–14 mm ja korkeus 60–120 mm
 - Näyteputkeline (24 putken): halkaisija 14,5–18 mm ja korkeus 60–120 mm
 - Pienen tilavuuden näyteputkien teline (32 putken): 1,5 ml:n kartiomikrosentrifugiputki

NeuMoDx System -järjestelmän käyttö

1. Täytä seuraavat tarvikkeet järjestelmän telineisiin tarpeen mukaan ja lisää teline(et) NeuMoDx System -järjestelmään kosketusnäytön avulla:
 - a. 1 000 µl:n pipettikärjet
 - b. 300 µl:n pipettikärjet
 - c. NeuMoDx Cartridge -kasetti
 - d. NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevy

- e. NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuska
 - f. NeuMoDx Lysis Buffer 4 -lyysauspuskuri (**HUOMAUTUS: irrota foliotiiviste säiliöistä ennen paikoilleen asettamista**)
2. Vaihda NeuMoDx Wash- ja NeuMoDx Release Reagent -reagenssit ja tyhjennä esitäytön jäte tarpeen mukaan.
 3. Tyhjennä biovaarallisten jätteiden säiliö tarvittaessa tai kun NeuMoDx System -järjestelmän ohjelma pyytää tyhjentämään sen.
 4. Aseta näyteputket näyteputkelineeseen ja varmista, että kaikkien näyteputkien korkit on poistettu.
 5. Aseta näyteputkeline automaattilataimen hyllylle ja lisää teline järjestelmään kosketusnäytön avulla. Tämän jälkeen järjestelmä alkaa käsitellä testiä.

RAJOITUKSET

- NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuskaa voidaan käyttää vain NeuMoDx System -järjestelmissä.
- NeuMoDx GBS Assay -testin suoritustaso on määritetty raskauden loppuvaiheessa olevien potilaiden ravinteettomassa kuljetusaineessa (esimerkiksi Amies tai Stuart's) kuljetetuista vaginaalisista ja rektaalista näytteistä selektiivisessä Lim Broth -rikastusliuoksessa rikastuksen jälkeen. NeuMoDx GBS Assay -testin suoritustaso on validoitu vain Lim Broth -rikastusliemellä. Suoritustasoa ei ole validoitu muilla GBS-selektiivisillä rikastusliemillä.
- NeuMoDx GBS Assay -testin käyttöä muiden kliinisten lähteiden kanssa ei ole arvioitu eikä tämän testin suorituskykyominaisuuksia muilla näytetyypeillä tunneta.
- Koska näytteessä olevien organismien määrä vaikuttaa B-ryhmän *streptokokin* tunnistamiseen, näytteiden oikeanlainen kerääminen, käsittely ja säilytys vaikuttavat tulosten luotettavuuteen.
- Näytteiden virheellinen kerääminen, käsittely, säilytys sekä tekninen virhe ja näytteiden sekaantuminen voivat aiheuttaa virheellisiä testituloksia. Vääriä negatiivisia testituloksia voidaan saada myös silloin, kun näytteessä olevien organismien määrä alittaa testin analyttisen herkkyystason.
- Testin käyttö on tarkoitettu ainoastaan NeuMoDx System -järjestelmän käyttökoulutusta saaneelle henkilöstölle.
- Jos näytteen prosessikontrolli ei monistu ja NeuMoDx GBS Assay -testin tulos on Negative (Negatiivinen), raportin tulokseksi tulee Indeterminate (Epäselvä) tai Unresolved (Ratkaisematon) ja testi tulisi toistaa.
- Positiivinen testitulos ei välttämättä tarkoita, että näytteessä on elinkelpoisia organismeja. Sen perusteella voidaan kuitenkin olettaa, että näytteessä on B-ryhmän *streptokokin* DNA:ta.
- Negatiiviset tulokset eivät sulje pois GBS:ää eikä niitä tule käyttää ainoana perusteena hoidossa tai hoitopäätöksissä.
- GBS-kolonisaatio raskauden aikana voi olla satunnaista, pysyvää tai ohimenevää. GBS-seulonnan kliininen hyöty vähenee, kun testi tehdään yli viisi viikkoa ennen synnytystä.
- NeuMoDx GBS -testi ei anna herkkyyttä koskevia tuloksia. Penisilliinille allergisille naisille suositeltua herkkyden testausta varten tarvitaan viljelmien isolaatteja.
- Koska tunnettuja GBS-kantoja/isolaatteja, joista *pcsB*-geeni puuttuu, ei ole, sellainen kanta voisi aiheuttaa virheellisiä tuloksia NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuskaa käytettäessä.
- Alukkeen tai koettimen sitoutumisalueilla olevat mutaatiot voivat vaikuttaa NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuskan avulla tehtävään tunnistamiseen.
- NeuMoDx GBS Assay -testin tuloksia tulisi käyttää kliinisten havaintojen ja muiden lääkärin käytettävissä olevien tietojen ohella. Testiä ei ole tarkoitettu B-ryhmän *streptokokin* kantajien ja streptokokki-infektiota sairastavien väliseen erotteluun. Meneillään oleva antibioottihoito voi vaikuttaa testituloksiin, sillä näytteestä voi yhä löytyä GBS:n DNA:ta mikrobilääkehoidon jälkeen.
- Näytteiden kontaminoitumisen välttäminen edellyttää hyvän laboratorikäytännön noudattamista, kuten käsineiden käyttämistä aina potilaiden näytteitä käsiteltäessä.

TULOKSET

Odotusarvot - esiintyvyys

Noin 10–40 prosentilla raskaana olevista naisista on GBS-kolonisaatio. Vaginaalisten ja rektaalisten näytteiden GBS-viljelyseulonalla loppuraskauden aikana (yleensä viikoilla 35–37) synnytystä edeltävässä hoidossa voidaan löytää naiset, joilla todennäköisesti on GBS-kolonisaatio synnytyksen aikana. Kliinisen menetelmän vertailututkimuksessa oli mukana 1 193 Lim Broth -näytettä, jotka testattiin kolmessa maantieteelliseltä sijainniltaan erilaisessa laboratoriossa Yhdysvalloissa. GBS:n yleinen esiintyvyys tutkimuksessa, joka perustui kaikkien mukana olleiden näytteiden vertailumenetelmänä pidetyn tavanomaisen viljelyn tunnistustuloksiin, oli 21,9 % (261/1 193) 95 %:n luottamusvälillä (19,6–24,3 %), joka laskettiin 95 %:n luottamusvälin pisteytysmenetelmällä CLSI-ohjeen EP12-A2 mukaisesti.¹⁰ Todelliset esiintyvyyssluvut saattavat vaihdella maantieteellisen sijainnin ja paikallisen potilaspopulaation mukaan.

NeuMoDx 288/96 Molecular System -järjestelmät

Tuloksia voidaan katsella ja tulostaa NeuMoDx System -järjestelmän kosketusnäytöstä, Results (Tulokset) -ikkunan Results (Tulokset) -välilehdestä.

NeuMoDx System -järjestelmän ohjelma luo testitulokset automaattisesti. Testitulos voi olla raportissa Negative (Negatiivinen), Positive (Positiivinen), Indeterminate (Epäselvä) tai Unresolved (Ratkaisematon) näytteen prosessikontrollin ja kohteen monistumistilan perusteella. Tulokset raportoidaan *taulukossa 1* esitetyn ratkaisualgoritmin perusteella.

Taulukko 1: NeuMoDx GBS Assay -testin ratkaisualgoritmi

Tulos	GBS C _t	Näytteen prosessikontrolli (SPC1) C _t
Positive (Positiivinen)	9 < C _t < 37 And (Ja) EP > 3 000	Ei oleellinen
Negative (Negatiivinen)	N/A (Ei oleellinen) OR (TAI) C _t < 9 OR (TAI) > 37	25 < C _t < 35 And (Ja) EP > 2 000
Indeterminate (Epäselvä)	Ei oleellinen SYSTEM ERROR NOTED (JÄRJESTELMÄVIRHE)	Ei oleellinen SYSTEM ERROR NOTED (JÄRJESTELMÄVIRHE)
Unresolved (Ratkaisematon)	Not detected (Ei löytynyt)	Not detected (Ei löytynyt)

EP = End Point Fluorescence (Päätepisteen fluoresenssi) (perustasokorjauksen jälkeen)

Laadunvarmistus

Yhdysvaltojen kansallisissa ohjeistuksissa ja standardeissa kliinille laboratorioille (Clinical Laboratory Improvement Amendments, CLIA) määritetään, että laboratorio vastaa sellaisten kontrollimenetelmien käyttämisestä, joilla valvotaan koko analysointiprosessin virheettömyyttä ja tarkkuutta. Laboratorion on määritettävä myös kontrollimateriaalien testauksen toistoväli, tyyppi ja määrä käyttämällä muuttamattoman, FDA:n hyväksymän tai hyväksytyn testijärjestelmän verifioituja suoritustasotietoja (42 CFR osa 493.1256).

- NeuMoDx Molecular, Inc. ei toimita ulkoisia kontrollimateriaaleja. Laboratorion on valittava ja validoitava sopivat kontrollit. Suositeltu positiivinen kontrolli: AcroMetrix™ GBS Positive Control -kontrolli 10 µl (Thermo Fisher Scientific REF 960041), laimennettu 1 ml:ssa Lim Broth -rikastuslientä. Suositeltu negatiivinen kontrolli: 1 ml Lim Broth -rikastuslientä ilman inokulaatiota.
- Näytteen prosessikontrollin 1 (Sample Process Control 1, SPC1) alukkeet ja koetin sisältyvät NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuskaan. Näytteen prosessikontrollin avulla järjestelmä voi valvoa DNA:n eristämisen ja PCR:n monistamisprosessien tehokkuutta.
- Jos negatiivisella kontrollinäytteellä on raportissa positiivinen testitulos, näyte voi olla kontaminoitunut. Vianmääritysohjeita on NeuMoDx 288/96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa.
- Jos positiivisella kontrollinäytteellä on raportissa Negative (negatiivinen) -tulos, reagenssiin tai laitteeseen saattaa liittyä ongelmia.

Epäkelvolliset tulokset

Jos NeuMoDx System -järjestelmällä tehdystä testistä ei saada hyväksyttäviä tuloksia, sen kohdalla lukee raportissa Indeterminate (Epäselvä) tai Unresolved (Ratkaisematon) virhetyypin mukaan.

Raportissa on Indeterminate (Epäselvä) -tulos, jos järjestelmä huomaa näytteen käsittelyn aikana järjestelmävirheen. Jos tulos on raportissa Indeterminate (IND) (Epäselvä), uusintatestausta suositellaan.

Raportissa on Unresolved (Ratkaisematon) -tulos, jos kohdetta ei löytynyt eikä näytteen prosessikontrolli monistunut. Tämä voi johtua reagenssin viasta tai estäjistä. Jos tulos on raportissa Unresolved (UNR) (Ratkaisematon), uusintatestausta suositellaan.

SUORITUSKYKYMINAISUUDET

Kliininen suorituskyky

Suorituskykyominaisuuksia selvitettiin prospektiivisessä kliinisten menetelmien vertailututkimuksessa, joka toteutettiin kolmessa (3) maantieteelliseltä sijainniltaan erilaisessa laboratorioissa. Tutkimuksessa verrattiin NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmällä tehdyn NeuMoDx GBS Assay -testin suoritusastoa Yhdysvaltojen tartuntatauti- ja ehkäisykeskusten (Center for Disease Control, CDC) suosittelemiin tavanomaisiin viljelymenetelmiin GBS:n tunnistamiseksi Lim Broth -rikastusliemen alaviljelmistä. Terveystieteiden tutkimuskeskusten palveluntarjoajat ottivat tutkimukseen sopivat näytteet raskaana olevilta naisilta CDC:n suosittelemissa rutiiniseulonnoissa raskausviikoilla 35–37.

Otetut vaginaaliset ja rektaaliset näytteet kuljetettiin laboratorioihin asianmukaisissa kuljetusputkissa, joista laboratorion henkilökunta siirsi ne selektiiviseen Lim Broth -rikastusliemeen 18–24 tunnin pituista inkubointia varten. Inkuboinnin ja rutiinistauksen jälkeen jäljelle jääneistä Lim Broth -näytteistä tehtiin alaviljelmä lampaanveriagarilla CDC:n vuonna 2010 julkaisemien kliinisten GBS-viljelynäytteiden käsittelyohjeiden mukaisesti. Agarmaljoja inkuboitin enintään 48 tuntia, ja niistä etsittiin GBS:ään viittaavia organismeja. Epäilyttävät pesäkkeet gramvärjättiin, ja grampositiivisista streptokokkipesäkkeistä testattiin katalaasin tuotanto. Grampositiivisista streptokokkipesäkkeistä, joilla katalaasin tuotanto oli testissä negatiivinen, etsittiin GBS:ää testaamalla streptokokkiryhmyksen lateksiagglutinaatiota. Kliininen suorituskyky perustuu 1 193 näytteeseen. Täydellisistä, hyväksyttävistä tutkimustuloksista esitetään yhteenveto *taulukossa 2* ja *taulukossa 3* alla. Esitetyn 95 %:n luottamusvälin (Confidence Interval, CI) ala- ja yläraja laskettiin 95 %:n luottamusvälin pisteytysmenetelmällä.

Taulukko 2: NeuMoDx GBS Assay -määrityksen kliinisen suorituskyvyn yhteenveto

Kliinisen tutkimuskeskuksen yhteenveto		Viljely/vertailumenetelmä			
		Positive (Positiivinen)	Negative (Negatiivinen)	Yhteensä	
NeuMoDx GBS	Positive (Positiivinen)	253	37	290	Herkkyys = 96,9 % 95 %:n CI (94,1–98,4) Spesifisyys = 96,0 % 95 %:n CI (94,6–97,1)
	Negative (Negatiivinen)	8	895	903	
	Yhteensä	261	932	1 193	

Taulukko 3: NeuMoDx GBS Assay -määrityksen laitoskohtainen kliininen suorituskyky

Paikka	n	Herkkyys (95 %:n luottamusväli) ^a	Spesifisyys (95 %:n luottamusväli) ^a	Esiintyvyys ^b (95 %:n luottamusväli) ^a
A	351	92,4 % 73/79 (84,4–96,5)	96,7 % 263/272 (93,8–98,3)	22,5 % 79/351 (15,1–22,2)
B	400	98,4 % 62/63 (91,5–99,7)	94,4 % 318/337 (91,4–96,4)	15,8 % 63/400 (10,8–17,0)
C	442	99,2 % 118/119 (95,4–99,9)	97,2 % 314/323 (94,8–98,5)	26,9 % 119/442 (18,2–24,7)
Yhteensä	1 193	96,9 % 253/261 (94,1–98,4)	96,0 % 895/932 (94,6–97,1)	21,9 % 261/1 193 (19,6–24,3)

^a Esitetyn 95 %:n luottamusvälin (CI) ala- ja yläraja laskettiin 95 %:n luottamusvälin pisteytysmenetelmällä.

^b Esiintyvyytlaskelmat perustuivat vertailumenetelmän tuloksiin, jotka saatiin CDC:n suosittelemien B-ryhmän *streptokokin* kliinisten viljelynäytteiden käsittelyohjeiden mukaisesti. (Julkaistu vuonna 2010)

Laitoksessa testattiin lisäksi 100 kliinistä näytettä, joilla pyrittiin osoittamaan, että NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmällä tehdyn NeuMoDx GBS Assay -testin herkkyys ja spesifisyys vastaavat NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmällä kliinisessä tutkimuksessa aiemmin määritettyä suoritustasoa.

Herkyys

NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuskan avulla tehdyn NeuMoDx GBS Assay -testin analyttistä herkyttä selvitettiin testaamalla viittä eri GBS-tasoa (ATCC BAA-611 serotyyppi V), jotka saatiin NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmän viidestä erillisestä kliinisestä negatiivisesta ryhmästä. Tutkimus tehtiin ei-peräkkäisinä päivinä useissa järjestelmissä. Jokainen järjestelmä käsitteli kullakin tasolla kymmenen replikaattia päivässä. Yksilöllinen erä koostui seuraavista: NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuskaa, NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevyä ja NeuMoDx Lysis Buffer 4 -lyysauspuskuriä testattiin kussakin järjestelmässä. *Taulukko 4* sisältää havaitsemisasteet. LoD-tulokseksi saatiin 500 CFU/ml, ja se vahvistettiin testaamalla NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmässä osumatarkkuusmenetelmällä, jotta ≥ 95 %:n tunnistus LoD-tasolla voitiin varmistaa.

Taulukko 4: Näytteiden positiivisten prosenttiosuuden havaitsemisasteet NeuMoDx GBS Assay -testin LoD-määrittystä varten

GBS CFU/ml	Hyväksytyjen testien määrä	Positiivisten määrä	Negatiivisten määrä	Havaitsemisaste
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 %

*vastaa: 20 CFU/testi

NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuskan avulla tehty NeuMoDx GBS Assay -testi tunnisti kaikki merkittävät B-ryhmän *streptokokin* serotyypit, neljä kliinisesti tärkeintä mukaan lukien. Näihin serotyyppihin kuuluvat GBS-bakteerin 12 eri kantaa, jotka testattiin NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuskan avulla, esitetään *taulukossa 5*.

Taulukko 5: Testatut GBS:n serotyypit

GBS:n serotyyppi	GBS-kanta	ATCC/BEI#	Pitoisuus (CFU/ml), jolla tunnistus 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 55700	ATCC: 27591	800
IV	2011201884	ATCC: BAA-2673	800
VI	2010228816	ATCC: BAA-2671	800
VII	4832-06	ATCC: BAA-2670	800
VIII	5030-08	ATCC: BAA-2669	800
IX	7509-07	ATCC: BAA-2668	800
Ei hemolyttinen	NCTC 8181	ATCC: 13813	800
TX Kliininen isolaatti 2012	SGBS030	BEI: NR-44144	800

Analyttinen spesifisyys ja ristireaktiivisuus

Analyttinen spesifisyys osoitettiin seulomalla 136 urogenitaalisen alueen ja ruuansulatuskanavan yleistä organismita sekä GBS:lle fylogeneettisesti läheisiä lajeja ristireaktiivisuuden varalta NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmässä NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuskan avulla. Organismit valmisteltiin 5–6 yksikön ryhmissä ja testattiin suurella pitoisuudella (bakteerit $6 - 9 \times 10^6$ CFU/ml; virukset $1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ kopiota/ml). Yhdelläkään seulotuista organismeista ei esiintynyt ristireaktiivisuutta NeuMoDx GBS Assay -testiä käytettäessä. Testatut organismit esitetään *taulukossa 6*.

Taulukko 6: Analyttisen spesifisyyden osoittamiseen käytetyt patogeenit

Bakteerit, hiivat ja loiset		
<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>	Virukset
<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 group D	<i>Mobiluncus mulieris</i>	HPV-16*
<i>Neisseria flavescens</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	JC-virus*
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>	BK-virus
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	HHV-6A
<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	HHV-6B
<i>Haemophilus influenzae</i> type 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> *	

* Testi: 10 ng/ml

Häiritsevät aineet – kommensaaliset organismit

NeuMoDx GBS Assay -määrittystä testattiin häiriöiden varalta (urogenitaalisen alueen) muiden kuin kohdeorganismien vaikutusalueella arvioimalla määrittäksen suoritusosaa pienillä GBS-määrillä NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmässä. Tässä tutkimuksessa käytettiin samaa 136 organismin paneelia [taulukko 6], jota käytettiin ristireaktiivisuuden arvioinnissa. Organismit jaettiin 5–6 yksikön ryhmiin kliinisesti negatiivisessa Lim Broth -rikastusliuoksessa, johon lisättiin 1 200 CFU/ml GBS-viljelmää. Testaus validoi B-ryhmän *streptokokin* tunnistuksen kaikissa testatuissa ryhmissä. Kommensaalista organismeista aiheutuvia häiriöitä ei havaittu.

Kliinisissä GBS-näytteissä havaitut endogeeniset ja eksogeeniset aineet

NeuMoDx GBS Assay -testin suoritusosaa arvioitiin NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmässä, kun näytteissä oli endogeenisiä ja eksogeenisiä häiritseviä aineita, joita saattaa tavallisesti esiintyä kliinisissä GBS-näytteissä. Ryhmien kliinisiin negatiivisiin Lim Broth -rikastusliemen GBS-näytteisiin lisättiin alla *taulukossa 7* lueteltuja endogeenisiä ja eksogeenisiä häiritseviä aineita pitoisuudella 1 200 CFU/ml tai 4 000 CFU/ml. 20 eksogeenistä ja 6 endogeenistä ainetta testattiin häiriöiden varalta NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuskan avulla, eivätkä ne haitanneet GBS:n tunnistusta kummallakaan tasolla, mikä osaltaan tukee NeuMoDx GBS Assay -testin luotettavuutta.

Taulukko 7: Testatut endogeeniset ja eksogeeniset häiritsevät aineet

Eksogeeniset aineet			Endogeeniset aineet
Monistat®-voide	Dulcolax®-puikot	K-Y™ Jelly -geeli	Ihmisen lapsivesi
Yeast Gard Advanced™ (huuhte)	Fleet®-peräruiske	McKesson-geeli	Ihmisen kokoveri
Metamucil®-kuitulisä	Preparation H® -voide	Ehkäisyvahto	Ihmisen virtsa
Ex-lax® (suklaatabletit)	Vagisil™-pulveri	Kosteusvoide	Ihmisen ulostenäyte
Phillips®-magnesiamaito	Norforms®-puikot	Neutrogena®-vartaloöljy	Lima
Pepto-Bismol™	FDS®-deodorantti	Gold Bond® -pulveri	Ihmisen genomisen DNA
Kaopectate®	New Mama Bottom Spray -suihke		

Tarkkuus

Kvalitatiivinen testaus tehtiin NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmällä ja NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuskalla: 12 ei peräkkäisen päivän aikana tehtiin 2 ajoa päivässä kolmella järjestelmällä. Tähän laboratorioon tehtyyn tarkkuustestiin sisältyi 2 reagenssieriä. Testin suoritti 2 käyttäjää. Ajoon kuului kolme replikaattia, joita testattiin *taulukossa 8* luetelluilla viidellä eri tasolla (True Negative (Todellinen negatiivinen), Low Negative (Heikosti negatiivinen), Moderate Negative (Kohtuullisen negatiivinen), Low Positive (Heikosti positiivinen) ja Moderate Positive (Kohtuullisen positiivinen)). Kutakin järjestelmää ja ajoa kohti testattiin yhteensä 15 näytettä. Näytteet valmisteltiin lisäämällä GBS-viljelmää ryhmiteltyyn, seulottuun negatiiviseen kliiniseen jäljelle jääneeseen Lim Broth -rikastusliuokseen. Jokaisen ajon yhteydessä käsiteltiin positiivinen ja negatiivinen ulkoinen kontrolli 15 näytteen lisäksi. Tässä tutkimuksessa suoritettiin yhteensä 72 ajoa ja 1 224 testiä ulkoiset kontrollit mukaan lukien. *Taulukko 9* sisältää laitteiden välisen vertailun. *Taulukko 10* esittää käyttäjien välisen tarkkuuden.

Taulukko 8: Laboratorion tarkkuuspaneelissa

Paneelin osa	Testattu taso	GBS (CFU/ml)
Moderate Positive (MP) (Kohtuullisen positiivinen)	3–4x LoD	1 600
Low Positive (LP) (Heikosti positiivinen)	1–2x LoD	600
Moderate Negative (MN) (Kohtuullisen negatiivinen)	> 10-kertainen laimennos 1x LoD:sta	40
Low Negative (LN) (Heikosti negatiivinen)	> 100-kertainen laimennos 1x LoD:sta	4
True (Blank) Negative (TN) (Todellinen [tyhjä] negatiivinen)	0	0

Taulukko 9: Kvalitatiiviset tulokset laboratorioissa mitatusta tarkkuudesta (laitteiden välinen vertailu)

Taso	Laite 1	Laite 2	Laite 3	Yhteensä
	Positiivisten prosenttiosuus	Positiivisten prosenttiosuus	Positiivisten prosenttiosuus	Positiivisten prosenttiosuus
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)
	Negatiivisten prosenttiosuus	Negatiivisten prosenttiosuus	Negatiivisten prosenttiosuus	Negatiivisten prosenttiosuus
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)

Taulukko 10: Kvantitatiivinen GBS-parametrianalyysi laboratoriossa mitatusta tarkkuudesta (käyttäjät)

Taso	Ensimmäinen käyttäjä					Toinen käyttäjä					Yhdistetty aineisto				
	Tunnistettu pos/yhteensä	Positiivisten prosenttiosuus	CT-keskiarvo	Keskihajonta	% variaatiokerroin*	Tunnistettu pos/yhteensä	Positiivisten prosenttiosuus	CT-keskiarvo	Keskihajonta	% variaatiokerroin	Tunnistettu pos/yhteensä	Positiivisten prosenttiosuus	CT-keskiarvo	Keskihajonta	% variaatiokerroin
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	Ei oleellinen		3/216	1,4 %	35,33	0,28	0,8 %
TN	0/108	0,0 %	Ei oleellinen			0/108	0,0 %	Ei oleellinen			0/216	0,0 %	Ei oleellinen		

%CV: variaatiokerroin, 100* keskihajonta/CT-keskiarvo

Laboratorioiden välinen toistettavuus

NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmällä ja NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuskalla tehdyn NeuMoDx GBS Assay -testin toistettavuutta arvioitiin kolmessa eri tutkimuspaikassa testaamalla neliosaisen paneelin viittä replikaattia viiden päivän aikana eli yhteensä 75 replikaattia paneelin osaa kohti. Paneelin näytteet valmistettiin lisäämällä GBS-viljelmää ryhmiteltyyn, negatiiviseen kliniseen Lim Broth -rikastusliuokseen niin, että paneelin osissa olisi heikosti negatiivisia, heikosti positiivisia ja kohtuullisen positiivisia näytteitä ja todellisissa negatiivisissa ei olisi GBS:ää. Paneelin osien pitoisuudet vastaavat edellä mainittuja (taulukko 8) määriä, joita käytettiin tarkkuuden arvioinnissa (kohtuullisen negatiivista näytettä lukuun ottamatta). Jokaisena testauspäivänä käsiteltiin myös positiivinen ja negatiivinen ulkoinen kontrolli.

Toistettavuustutkimuksesta saatiin kaiken kaikkiaan 4 epäkelvollista tulosta – kustakin neljästä pitoisuudesta saatiin yksi replikaatti, jonka tulos oli epäselvä, ja kaikki tapahtuivat samana testauspäivänä (päivä 2) tutkimuspaikassa B. Uusintatestauksessa neljästä näytteestä kahden oikeat tulokset olivat hyväksyttävissä ja kahden tulos oli Indeterminate (Epäselvä); lopuista kahdesta saatiin Indeterminate (Epäselvä) tulos toisen kerran ennen hyväksyttävää oikeaa tulosta. Prosentuaalinen yhtäpitävyys kaikkien tutkimuspaikkojen paneelin osien odotettujen tulosten kanssa esitetään seuraavassa taulukossa (taulukko 11).

Taulukko 11: Yhteenvedo NeuMoDx GBS Assay -testin laboratorioiden välisen toistettavuuden suoritusasosta

Paneelin osan pitoisuus	Tutkimuspaikka 1 (A)	Tutkimuspaikka 2 (B)	Tutkimuspaikka 3 (D)	Yhtäpitävyys yhteensä (95 %-n luottamusväli) ^a
Moderate Positive (Kohtuullisen positiivinen)	25/25	25/25	25/25	100 % (75/75) (95,1–100)
Low Positive (Heikosti positiivinen)	24/25	25/25	24/25	97,3 % (73/75) (90,8–99,3)
Low Negative (Heikosti negatiivinen)	25/25	25/25	24/25 ^b	98,7 % (74/75) (92,8–99,8)
Blank Negative (Tyhjä negatiivinen)	25/25	25/25	25/25	100 % (75/75) (95,1–100)

^a Esitetyn 95 %-n luottamusvälin (CI) ala- ja yläraja laskettiin 95 %-n luottamusvälin pisteytysmenetelmällä.

^b Odotettavasti testissä heikosti negatiivisen näytteen pitoisuus tunnustetaan positiiviseksi ~5 % ajasta.

Näytteiden välinen kontaminaatio ja ristikontaminaatio

Mahdollista näytteiden välistä kontaminaatiota ja ristikontaminaatiota koskevia tutkimuksia tehtiin NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmällä ja NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuskalla. Kaksiosaisessa tutkimuksessa arvioitiin ensin vaikutusta GBS-negatiivisiin näytteisiin, joiden joukkoon oli siroteltu runsaasti GBS-kohdetta sisältäviä näytteitä (1x10⁷ CFU/ml). Positiiviset ja negatiiviset näytteet asetettiin järjestelmään niin, että kukin negatiivinen näyte oli vahvasti positiivisen näytteen vieressä. Tutkimuksen toisessa osassa käsiteltiin kaikki negatiiviset näytteet heti sellaisen ajan jälkeen, jossa oli käsitelty kaikki suuren GBS-pitoisuuden näytteet. Suuren pitoisuuden näytteiden seassa olleissa negatiivisissa näytteissä ei havaittu kontaminaatiota. Kontaminaatiota ei havaittu myöskään negatiivisissa näytteissä, jotka käsiteltiin suuren GBS-pitoisuuden näytteiden jälkeen, eli näytteiden välistä kontaminaatiota ja ristikontaminaatiota ei tapahtunut.

Kontrollin teho

NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmässä arvioitiin NeuMoDx GBS Test Strip -testiliuskaan sisältyvän näytteen prosessikontrollin tehoa osoittaa NeuMoDx GBS Assay -testin toimintaan vaikuttava prosessivaiheen epäonnistuminen tai estäminen. Testattavat olosuhteet vastasivat prosessin kriittisten vaiheiden epäonnistumisia, joita voi tapahtua näytteenkäsittelyn aikana ja joita NeuMoDx System -järjestelmän toimintaa valvovat anturit eivät välttämättä havaitse. Tätä arvioitiin simuloimalla näyteprosessin eri vaiheiden epäonnistumista aivan kuin mahdollisen järjestelmävirheen tapahtuessa ja lisäämällä näytteeseen tunnettua estäjää ja havainnoimalla estäjän tehottoman heikennyksen vaikutusta näytteen prosessikontrollin tunnistamiseen (taulukko 12). Tapauksissa, joissa prosessivirheet eivät haitanneet näytteen prosessikontrollin toimintaa (NO WASH [EI PESUA] / NO WASH BLOWOUT [EI PESUN TYHJENNYSTÄ]), testi toistettiin positiivisilla GBS-näytteillä (400 CFU/ml), jotta voitiin varmistua siitä, että prosessivirhe ei haitannut myös GBS-kohteen tunnistusta. Taulukossa 12 on yhteenvedo kontrollin tehoa koskevan verifointitestin tuloksista.

Taulukko 12: Kontrollin tehon yhteenveto

Olosuhde	Odotettu tulos	Havaittu tulos
Normal Processing (Normaali käsittely)	Negative (Negatiivinen)	Negative (Negatiivinen)
Normal Processing + Inhibitor (Normaali käsittely + estäjä)	Unresolved (Ratkaisematon)	Unresolved (Ratkaisematon)
No Wash Reagent (Ei Wash-reagenssia)	Unresolved (Ratkaisematon) tai Negative (Negatiivinen)	Negative (Negatiivinen)
No Wash Blowout (Ei pesun tyhjennystä)	Unresolved (Ratkaisematon) tai Negative (Negatiivinen)	Negative (Negatiivinen)
No Release Reagent (Ei Release-reagenssia)	Indeterminate (Epäselvä)	Indeterminate (Epäselvä)
No PCR Master Mix Reagents (Ei PCR Master Mix -pääseoksen reagensseja)	Indeterminate (Epäselvä)	Indeterminate (Epäselvä)

Näytteen vakaus laitteessa

Eri päivinä otetut näytteet käsiteltiin NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmässä "Aikana 0" ja "Aikana 24", jotta NeuMoDx GBS Assay -testin näytteen vakaus laitteessa voitiin selvittää. Kliiniset GBS-positiiviset ja -negatiiviset näytteet käsiteltiin ensin ja jätettiin sitten järjestelmän työalustalle 24 tunniksi ennen seuraavaa käsittelykertaa. 23:lla testatulla GBS-negatiivisella näytteellä oli 100 prosentin yhteneväisyys ensimmäisestä testistä (Aika 0) ja 24 tuntia myöhemmin tehdystä testistä (Aika 24) saatujen tulosten välillä [taulukko 13]. 24 tunnin kuluttua kaikista paitsi yhdestä positiivisesta näytteestä saatiin positiivinen tulos, eli yhteneväisyys odotetun tuloksen kanssa oli 95,8 %.

Taulukko 13: Yhteenveto: näytteen vakaus laitteessa

		Vahvistetut positiiviset näytteet (näytteet A)		Vahvistetut negatiiviset näytteet (näytteet B)	
		Positiivisten määrä	Negatiivisten määrä	Positiivisten määrä	Negatiivisten määrä
Testi 1	Aika 0	23	0	0	23
Testi 2	Aika 24	22	1*	0	23
Yhteneväisyys %		95,8		100	

* Yksi näyte tunnistettiin ensin positiiviseksi aikana 0. Lisätutkimuksissa ilmeni, että näyte tunnistettiin virheellisesti positiiviseksi, koska näytteessä oli vähän GBS:n DNA:ta tai solumateriaali ei ollut kelvollista, sillä vertailulaboratorion raportin mukaan viljelmässä ei ollut GBS:n kasvua.

LÄHDEVIITTEET



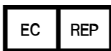











- Zangwill KM, Schuchat A, Wenger JD. Group B streptococcal disease in the United States, 1990: report from a multistate active surveillance system. In Surveillance Summaries, November 20, 1992. MMWR 1992; 41:25–32.
- Schrag SJ, Zywicki S, Farley MM, Reingold AL, Harrison LH, Lefkowitz LB, et al. Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. N Engl J Med 2000; 342:15–20.
- CDC. Perinatal group B streptococcal disease after universal screening recommendations—United States, 2003–2005. MMWR 2007;56: 701–5.
- Phares CR, Lynfield R, Farley MM, Mohle-Boetani J, Harrison LH, Petit S, et al. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999–2005. JAMA 2008; 299:2056–65.
- CDC. Trends in perinatal group B streptococcal disease—United States, 2000–2006. MMWR 2009; 58:109–12.
- Active Bacterial Core Surveillance (ABCs) Report Emerging Infections Program Network Group B Streptococcus, 2014
- Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease: Revised Guideline from CDC. Morbidity and Mortality Weekly Report, November 19, 2010;59(No. RR-10);1-23
- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Richmond JY and McKinney RW, Fifth edition (2009). HHS Publication number (CDC) 21-1112.
- Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.
- Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP12-A2; 2008.

TAVARAMERKIT

NeuMoDx™ ja NeuDry™ ovat NeuMoDx Molecular, Inc:n tavaramerkkejä.
 TaqMan® on Roche Molecular Systems, Inc:n rekisteröity tavaramerkki.
 AcroMetrix™ on Thermo Fisher Scientificin tavaramerkki.
 Monistat® on Pfizer, Inc:n rekisteröity tavaramerkki.
 Yeast Gard Advanced™ on Lake Consumer Products, Inc:n tavaramerkki.
 Metamucil® on Procter & Gamblen rekisteröity tavaramerkki.
 Ex-lax® on GSK plc:n rekisteröity tavaramerkki.
 Phillips® on Bayerin rekisteröity tavaramerkki.
 Kaopectate® on SANOFIn rekisteröity tavaramerkki.
 Neutrogena® on Johnson & Johnson Consumer, Inc:n rekisteröity tavaramerkki.

Dulcolax® on SANOFIn rekisteröity tavaramerkki.
 Fleet® on C.B. Fleet Companyn rekisteröity tavaramerkki.
 Preparation H® on Pfizer, Inc:n rekisteröity tavaramerkki.
 Vagisil™ on COMBE, Inc:n tavaramerkki.
 Norforms® on C.B. Fleet Companyn rekisteröity tavaramerkki.
 FDS® on WellSpring Pharmaceutical Corp:n rekisteröity tavaramerkki.
 K-Y™ Jelly on Reckitt Benckiser Groupin tavaramerkki.
 Pepto-Bismol™ on Procter & Gamblen rekisteröity tavaramerkki.
 Gold Bond® on SANOFIn rekisteröity tavaramerkki.

SYMBOLIT

SYMBOLI	MERKITYS
R only	Vain lääkärin määräyksestä
	Valmistaja
	<i>In vitro</i> -diagnostinen lääkinnällinen laite
	Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä
	Luettelonumero
	Eräkoodi
	Viimeinen käyttöpäivämäärä
	Lämpötilarajoitus
	Ilmankosteuden rajoitus
	Ei saa käyttää uudelleen
	Sisältö riittää <n> testiin
	Lue käyttöohjeet
	Huomio
	Biologiset vaarat
	CE-merkki



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

Toimeksiantaja (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



Tekninen tuki / haittatapahtumaraportointi: support@qiagen.com

Patentti: www.neumodx.com/patents