

**REF** 200400 NeuMoDx™ GBS Test Strip

**R only**

OPREZ: samo za izvoz u SAD

**IVD** Za *in vitro* dijagnostičku uporabu sa sustavima NeuMoDx 288 i NeuMoDx 96 Molecular System

 Za ažurirane upute posjetite stranicu: [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)

Detaljnije upute potražite u korisničkom priručniku za sustav NeuMoDx 288 Molecular System; br. dijela 40600108

Detaljnije upute potražite u korisničkom priručniku za sustav NeuMoDx 96 Molecular System; br. dijela 40600317

**NAMJENA**

Ispitivanje NeuMoDx GBS Assay koje se provodi na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System i NeuMoDx 96 Molecular System (sustav(i) NeuMoDx System) kvalitativan je *in vitro* dijagnostički test osmišljen za detekciju DNK streptokoka grupe B (Group B *Streptococcus*, GBS) iz vaginalnih/rektalnih brisova trudnica u Lim tekućem mediju za obogaćivanje starosti 18 – 24 sata. Test uključuje automatiziranu ekstrakciju DNK radi izolacije ciljne nukleinske kiseline iz ispitka i lančanu reakciju polimerazom (Polymerase Chain Reaction, PCR) u stvarnom vremenu radi detekcije regije 88 bp sekvence gena *pcsB* u kromosomu bakterije *Streptococcus agalactiae*. Rezultati ispitivanja NeuMoDx GBS Assay mogu se upotrebljavati kao pomoć u određivanju statusa kolonizacije kod žena prije poroda.

Ispitivanje NeuMoDx GBS Assay ne daje rezultate koji se odnose na osjetljivost. Uzgojeni izolati potrebi su za izvođenje testiranja osjetljivosti koje se preporučuje za žene alergične na penicilin.

**SAŽETAK I OBJAŠNJENJE**

Vaginalni/rektalni bris prikuplja se i u laboratorij prenosi u standardnim transportnim sustavima za bakterijske brisove koji sadrže nehranljiv transportni medij. Prikladan transportni medij (npr. Amies ili Stuart) komercijalno je dostupan. U laboratoriju ispitak je cijepljen u selektivni tekući medij kao što je Lim tekući medij (Todd-Hewitt tekući medij u koji je dodan kolistin i naldiksična kiselina). Nakon inkubacije cijepljenog selektivnog tekućeg medija 18 – 24 sata na 37 °C na okolnom zraku ili 5 %-tnom CO<sub>2</sub>, alikvot tekućeg medija miješa se s puferom NeuMoDx Lysis Buffer 4 za početak lize uzorka i potpuno se obrađuje na sustavu NeuMoDx System s pomoću reagensa testne trake NeuMoDx GBS Test Strip. Sustav NeuMoDx System automatski ekstrahira ciljnu nukleinsku kiselinu i amplificira segment sekcije gena *pcsB* u kromosomu GBS, ako je prisutna. Testna traka NeuMoDx GBS Test Strip uključuje kontrolu obrade uzorka (Sample Process Control, SPC1) DNK za pomoć s praćenjem prisutnosti potencijalno inhibirajućih tvari kao i pogrešaka sustava NeuMoDx System ili reagensa koje se mogu dogoditi tijekom postupaka ekstrakcije i amplifikacije.

GBS je gram-pozitivna bakterija pronađena u 10–35 % zdravih odraslih osoba. Za osobu koja je nositelj bakterije GBS, ali ne pokazuje znakove bolesti koju uzrokuje GBS kaže se da je „kolonizirana“ bakterijom GBS. GBS je bakterija koja se često pronalazi u ljudskom tijelu. Pod određenim uvjetima, GBS može napasti tijelo i uzrokovati ozbiljnu infekciju; to je bolest uzrokovana *streptokokom* grupe B<sup>1</sup>.

GBS može uzrokovati tešku bolest kod novorođenog djeteta, a poznato je da je vodeći uzročnik bakterijske infekcije opasne po život u novorođenčadi. Brojni sojevi patogena cirkuliraju u zajednici i približno 80 % infekcija novorođenčadi stječe se tijekom poroda vertikalnim prijenosom (od majke na dijete). Istraživanja su pokazala da GBS kolonizira anogenitalnu sluznicu 25–40 % zdravih žena. Prije nego što su započeli postupci aktivne prevencije, godišnje se u Sjedinjenim Američkim Državama pojavljivalo približno 7500 slučajeva bolesti uzrokovanih GBS-om kod novorođenčadi.<sup>2</sup> Primjetno smanjenje incidencije bolesti poklapa se s povećanim aktivnostima prevencije u 1990-ima<sup>2</sup>, a do dodatnog smanjenja došlo je nakon izdavanja preporuke za opći probir 2002. godine.<sup>3</sup> Usprkos uvođenju antibiotske profilakse u SAD-u, bolest uzrokovana GBS-om ostaje vodeći infektivni uzrok morbiditeta i smrtnosti novorođenčadi u Sjedinjenim Američkim Državama, s otprilike 2000 slučajeva infekcije novorođenčadi godišnje i s procijenjenom stopom smrtnosti od 0,27 na 1000 živorođenih.<sup>4-6</sup>

Trenutačni standard skrbi za prevenciju neonatalne bolesti uzrokovane GBS-om jest probir trudnica u 35. – 37. gestacijskom tjednu kako bi se utvrdio njihov status kolonizacije GBS-a.<sup>7</sup> Kada se testiranje GBS-a provodi s pomoću kulture, može proteći do 48 sati za konačnu identifikaciju GBS-a nakon početnog koraka inkubacije od ≥ 18 sati. Testna traka NeuMoDx GBS Test Strip, kada se primjenjuje na sustavu NeuMoDx System, može dati rezultate za prvih 8 ispitaka unutar jednog sata od početnog koraka inkubacije/obogaćivanja u trajanju od ≥ 18 sati. Ispitivanje NeuMoDx GBS Assay pojednostavljuje postupak testiranja jer uklanja potrebu za intervencijom korisnika od trenutka postavljanja uzorka na sustav do dobivanja rezultata.

**NAČELA POSTUPKA**

Nakon razdoblja inkubacije u trajanju od 18 – 24 sata, obogaćeni tekući medij upotrebljava se za detekciju prisutnosti GBS-a. Sustav NeuMoDx System miješa 25 µl Lim tekućeg medija s puferom NeuMoDx Lysis Buffer 4 i ekstrakcijskim reagensima za početak obrade. Sustav NeuMoDx System automatizira i integrira ekstrakciju i koncentraciju DNK, pripremu reagensa i amplifikaciju nukleinske kiseline te detekciju ciljne sekvence primjenom PCR-a u stvarnom vremenu. U korake obrade uzorka i amplifikacije također je uključena kontrola obrade uzorka za praćenje prisutnosti potencijalno inhibirajućih tvari te grešaka sustava ili reagensa. Jednom kada je ispitak postavljen na sustav NeuMoDx System, intervencija korisnika nije potrebna.

Za provođenje lize stanica i ekstrakcije DNK te za uklanjanje inhibitora sustavi NeuMoDx Systems služe se kombinacijom topline, litičkog enzima i ekstrakcijskih reagensa. Paramagnetske čestice hvataju oslobođene nukleinske kiseline. Čestice s vezanim nukleinskim kiselinama postavljaju se u uložak NeuMoDx Cartridge, gdje se nevezane komponente koje nisu dio DNK ispiru s pomoću reagensa NeuMoDx Wash Reagent, a vezana DNK se eluira s pomoću reagensa NeuMoDx Release Reagent. U sustavima NeuMoDx Systems oslobođena DNK zatim se upotrebljava za rehidraciju patentiranih reagensa NeuDry™ koji sadrže sve elemente neophodne za amplifikaciju ciljne sekvence specifične za GBS. Suhi reagensi za PCR također sadrže komponente potrebne za amplifikaciju segmenta sekvence kontrole obrade uzorka, što omogućava istovremenu amplifikaciju i detekciju ciljnih i kontrolnih DNK sekvenci. Nakon rekonstitucije reagensa za PCR NeuDry, sustav NeuMoDx System pipetira pripremljenu mješavinu spremnu za PCR u jednu PCR komoru (po ispitku) uložka NeuMoDx Cartridge. Amplifikacija i detekcija kontrolnih i ciljnih (ako su prisutne) DNK sekvenci odvija se u PCR komori. Komora i uložak osmišljeni su da zadrže amplikon nakon PCR-a u stvarnom vremenu i na taj način praktički uklone rizik od kontaminacije nakon amplifikacije.

Amplificirane ciljne sekvence detektirane su u stvarnom vremenu s pomoću kemijskog protokola na temelju proba za hidrolizu (obično se naziva TaqMan® kemijski protokol) u kojem se upotrebljavaju fluorogene oligonukleotidne molekularne probe specifične za amplikone odgovarajućih ciljnih sekvenci. TaqMan probe sastoje se od fluorokroma kovalentno vezanog na 5' kraj oligonukleotidne probe i prigušivača na 3' kraju. Dok je proba netaknuta, fluorokrom i prigušivač nalaze se u blizini, zbog čega molekula prigušivača prigušuje fluorescenciju koju fluorokrom emitira putem FRET-a (Försterov prijenos rezonantne energije, Förster Resonance Energy Transfer).

TaqMan probe osmišljene su za sparivanje unutar regije DNK amplificirane određenim kompletom početnica. Kako DNK polimeraza Taq produžuje početnicu i sintetizira novi lanac, 5' do 3' egzozukleazna aktivnost DNK polimeraze Taq degradira probu sparenu s predložkom. Degradacijom probe iz nje se oslobađa fluorokrom i prekida se njegova blizina prigušivaču, čime se zbog FRET-a prevladava učinak prigušivanja i omogućava detekcija fluorescencije fluorokroma. Dobiveni signal fluorescencije detektiran u kvantitativnom PCR termocikleru izravno je proporcionalan oslobođenom fluorokromu i može se korelirati s količinom prisutne ciljne DNK.

TaqMan proba označena fluorokromom (pobuda: 490 nm i emisija: 521 nm) na 5' kraju i tamnim prigušivačem na 3' kraju upotrebljava se za detekciju DNK GBS-a. Za detekciju kontrole obrade uzorka TaqMan proba označena je drugom fluorescentnom bojom (pobuda: 535 nm i emisija: 556 nm) na 5' kraju i tamnim prigušivačem na 3' kraju. Sustav NeuMoDx System prati fluorescentni signal koji emitiraju TaqMan probe na kraju svakog ciklusa amplifikacije. Kada amplifikacija završi, sustav NeuMoDx System analizira podatke i izvještava konačni rezultat (POSITIVE (POZITIVNO) / NEGATIVE (NEGATIVNO) / INDETERMINATE (NEODREĐENO) / UNRESOLVED (NERAZRIJEŠENO)).

### REAGENSI / POTROŠNI MATERIJAL

#### Isporučeni materijal

REF.	Sadržaj	Testova po jedinici	Testova po pakiranju
200400	<b>Testna traka NeuMoDx GBS Test Strip</b> <i>Suhi reagensi za PCR koji sadrže TaqMan probe i početnice specifične za GBS te TaqMan probu i početnice specifične za kontrolu obrade uzorka.</i>	16	96

#### Reagensi i potrošni materijal koji su potrebni, ali nisu isporučeni (mogu se naručiti zasebno od tvrtke NeuMoDx)

REF.	Sadržaj
100200	<b>Pločica NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Suhe paramagnetske čestice, litički enzim i kontrole obrade uzorka</i>
400700	<b>Pufer NeuMoDx Lysis Buffer 4</b>
400100	<b>Reagens NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>Reagens NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>Uložak NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Vršci s filtrima (300 µl) Hamilton CO-RE / CO-RE II</b>
235905	<b>Vršci s filtrima (1000 µl) Hamilton CO-RE / CO-RE II</b>

#### Potrebni instrumenti

Sustav **NeuMoDx 288 Molecular System** [REF 500100] ili sustav **NeuMoDx 96 Molecular System** [REF 500200]

#### UPOZORENJA I MJERE OPREZA

- Samo za *in vitro* dijagnostičku uporabu sa sustavima NeuMoDx Systems.
- Ne upotrebljavajte reagense nakon navedenog datuma isteka roka trajanja.
- Ne upotrebljavajte reagense ako je zaštitna folija potrgana ili ako je pakiranje oštećeno po dolasku.
- Ne upotrebljavajte reagense ako je zaštitna vrećica otvorena ili oštećena po dolasku.

- Minimalni volumen ispitka sekundarnih alikvota ovisi o veličini epruvete / nosaču epruveta za ispitke kako je navedeno u nastavku. Volumen manji od navedenog minimuma može rezultirati pogreškom „Quantity Not Sufficient“ (Nedovoljna količina).
- Testiranje koje se provodi u uvjetima koji nisu u skladu s preporukom CDC-a može dati pogrešne rezultate kada se primjenjuje ispitivanje NeuMoDx GBS Assay.
- Izbjegavajte kontaminaciju reagensa mikroorganizmima i deoksiribonukleazama (DNaza). Preporučuje se uporaba sterilnih jednokratnih pipeta za prijenos bez DNaze. Za svaki ispitak upotrebljavajte novu pipetu.
- Kako biste izbjegli kontaminaciju, ne rukujte uloškom NeuMoDx Cartridge i ne rastavljajte ga nakon amplifikacije. Ni u kojem slučaju ne vadite uloške nakon amplifikacije iz otpada. Uložak NeuMoDx Cartridge osmišljen je za sprječavanje kontaminacije.
- U slučajevima kada se u laboratoriju provode PCR testovi na otvorenim epruветama, potreban je oprez kako ne bi došlo do kontaminacije testne trake NeuMoDx GBS Test Strip, dodatnih reagensa potrebnih za testiranje i sustava NeuMoDx System.
- Pri rukovanju reagensima i potrošnim materijalom NeuMoDx potrebno je nositi čiste nitrilne rukavice bez pudera. Pazite da ne dodirujete gornju površinu uloška NeuMoDx Cartridge, površinu folije testne trake NeuMoDx GBS Test Strip ili pločice NeuMoDx Extraction Plate; pri rukovanju reagensima smiju se dodirivati samo bočne površine.
- Sigurnosno-tehnički listovi (Safety Data Sheets, SDS) dostupni su na zahtjev.
- Pridržavajte se uputa u *korisničkim priručnicima za sustave NeuMoDx 288/96 Molecular System* o preporučenim otopinama za čišćenje koje se trebaju upotrebljavati na sustavu.
- Ne pipetirajte ustima. Ne pušite, pijte ni ne jedite u područjima u kojima se rukuje ispitcima i reagensima iz kompleta.
- Ispitcima uvijek rukujte kao da su infektivni te u skladu sa sigurnim laboratorijskim postupcima poput onih opisanih u *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>8</sup> i dokumentu M29-A4 instituta CLSI.<sup>9</sup>
- Odložite nekorištene reagense i otpad u skladu s državnim, saveznim, pokrajinskim i lokalnim propisima.

### POHRANA, RUKOVANJE I STABILNOST PROIZVODA

- Svi NeuMoDx reagensi i potrošni materijali stabilni su u primarnom pakiranju na temperaturi od 18 do 28 °C do datuma isteka roka trajanja navedenog na oznaci proizvoda.
- Ne upotrebljavajte reagense nakon datuma isteka roka trajanja.
- Ne upotrebljavajte bilo koji proizvod za testiranje ako je primarno ili sekundarno pakiranje vidljivo oštećeno.
- Nakon postavljanja testna traka NeuMoDx GBS Test Strip može ostati na sustavu NeuMoDx System 28 dana. Softver prati preostali uporabni vijek postavljenih testnih traka i obavještava korisnika u stvarnom vremenu. Sustav će zatražiti uklanjanje testne trake koja se upotrebljava dulje od dopuštenog razdoblja.

### PRIKUPLJANJE, PRIJEVOZ I POHRANA ISPITAKA

1. Ispitci vaginalnog/rektalnog brisa uzeti od trudnica prije poroda za obogaćivanje u Lim tekućem mediju trebaju se prikupiti i pohraniti te njima treba rukovati u skladu s preporučenim kliničkim postupcima CDC-a.<sup>7</sup>
2. Ispitke u laboratorij treba prenijeti u nehranjivom transportnom mediju kao što je Amies ili Stuart.
3. Ako su vaginalni i rektalni bris prikupljeni zasebno od iste pacijentice, oba se uzorka mogu staviti u isti spremnik s transportnim medijem.
4. Jasno označite ispitke i naznačite da su ispitci za testiranje na GBS; na oznaci također treba biti navedeno treba li se provesti testiranje osjetljivosti na antibiotike.
5. Izvadite bris(eve) iz transportnog medija i cijepite u preporučeni selektivni tekući medij kao što je Lim tekući medij (Todd-Hewitt tekući medij u koji je dodan kolistin i naldikslična kiselina).
6. Inkubirajte cijepljeni selektivni tekući medij (Lim tekući medij) 18 – 24 sata na 37 °C na okolnom zraku ili 5 %-tnom CO<sub>2</sub>.
7. Nastavite s odjeljkom Priprema testa.

### UPUTE ZA UPOTREBU

#### Priprema za test

1. Nalijepite naljepnicu s crtičnim kodom za ispitak na epruветu za ispitak kompatibilnu sa sustavom NeuMoDx System.
2. Ispitak u obogaćenom tekućem mediju nježno promiješajte na vorteks miješalici za postizanje ravnomjerne raspodjele.
3. Ako ispitivanje provodite na sekundarnom ispitku, upotrijebite pipetu za prijenos da biste prenijeli ≥ 1 ml Lim tekućeg medija u epruветu za ispitak s crtičnim kodom. Za svaki ispitak upotrebljavajte drugu pipetu za prijenos. Sekundarna epruветa treba ispunjavati sljedeće specifikacije za epruветe kompatibilne sa sustavom NeuMoDx System ovisno o nosaču epruveta za ispitke koji se upotrebljava za obradu.
  - Nosač epruveta za ispitke (32 epruветe): promjer 11 – 14 mm i visina 60 – 120 mm
  - Nosač epruveta za ispitke (24 epruветe): promjer 14,5 – 18 mm i visina 60 – 120 mm
  - Nosač epruveta za ispitke malog volumena (32 epruветe): epruветa od 1,5 ml za mikrocentrifugu sa stožastim dnom

### Rad sustava NeuMoDx Systems

1. U nosače sustava prema potrebi postavite sljedeće potrošne materijale i s pomoću zaslona osjetljivog na dodir postavite nosač(e) u sustav NeuMoDx System:
  - a. Vršci pipeta od 1000 µl
  - b. Vršci pipeta od 300 µl
  - c. Uložak NeuMoDx Cartridge
  - d. Pločica NeuMoDx Extraction Plate
  - e. Testna traka NeuMoDx GBS Test Strip
  - f. Pufer NeuMoDx Lysis Buffer 4 (**NAPOMENA: skinite foliju sa spremnika prije postavljanja**)
2. Zamijenite reagens NeuMoDx Wash i NeuMoDx Release Reagents te po potrebi ispraznite otpad od ispiranja.
3. Ispraznite spremnik za biološki opasan otpad po potrebi ili ako vas softver sustava NeuMoDx System to zatraži.
4. Postavite epruvetu/epruvete za ispitke u nosač epruveta za ispitke i pobrinite se da uklonite čepove sa svih epruveta za ispitke.
5. Postavite nosač epruveta za ispitke na policu za automatsko postavljanje i s pomoću zaslona osjetljivog na dodir postavite nosač u sustav. Time će se pokrenuti obrada testa/testova.

### OGRANIČENJA

- Testna traka NeuMoDx GBS Test Strip može se upotrebljavati samo na sustavima NeuMoDx Systems.
- Radni učinak ispitivanja NeuMoDx GBS Assay utvrđen je s vaginalnim/rektalnim ispitcima prikupljenima od pacijentica prije poroda uzimanjem brisa u nehranjivom transportnom mediju (kao što je Amies ili Stuart) nakon obogaćivanja u selektivnom Lim tekućem mediju. Radni učinak ispitivanja NeuMoDx GBS Assay potvrđen je samo s Lim tekućim medijem. Radni učinak nije potvrđen s drugim selektivnim tekućim medijima za obogaćivanje za GBS.
- Uporaba ispitivanja NeuMoDx GBS Assay s drugim kliničkim izvorima nije procijenjena i radne značajke ovog testa za druge vrste ispitaka nisu poznate.
- Budući da detekcija *streptokoka* grupe B ovisi o broju organizama prisutnih u uzorku, pouzdani rezultati ovise o propisnom prikupljanju, rukovanju i pohrani ispitaka.
- Pogrešni rezultati testiranja mogu se javiti zbog nepropisnog prikupljanja, rukovanja i skladištenja ispitaka, tehničke pogreške ili zamjene uzoraka. Dodatno, lažno negativni rezultati mogu se javiti jer je broj organizama u ispitku ispod analitičke osjetljivosti testa.
- Testiranje je ograničeno na osoblje obučeno za uporabu sustava NeuMoDx System.
- Ako ne dođe do amplifikacije kontrole obrade uzorka, a rezultat ispitivanja NeuMoDx GBS Assay prijavljen je kao Negative (Negativno), prijavljuje se nevažeci rezultat (Indeterminate (Neodređeno) ili Unresolved (Nerazriješeno)) te je potrebno ponoviti test.
- Pozitivan rezultat testa ne naznačava nužno prisutnost vijabilnih organizama. Međutim, upućuje na vjerojatnu prisutnost DNK *streptokoka* grupe B.
- Negativni rezultati ne isključuju prisutnost GBS-a i ne smiju se upotrebljavati kao jedina osnova za odluke o liječenju ili druge odluke o zbrinjavanju pacijenta.
- Kolonizacija GBS-om tijekom trudnoće može biti povremena, trajna ili privremena. Klinička korisnost probira na GBS smanjuje se kada se testiranje izvodi više od pet tjedana prije poroda.
- Testom NeuMoDx GBS test ne dobivaju se rezultati koji se odnose na osjetljivost. Uzgojeni izolati potrebi su za izvođenje testiranja osjetljivosti koje se preporučuje za žene alergične na penicilin.
- Iako nema poznatih sojeva/izolata bakterije GBS kojima nedostaje gen *pcsB*, pojava takvog soja može dovesti do pogrešnih rezultata kada se upotrebljava testna traka NeuMoDx GBS Test Strip.
- Mutacije na regijama za vezanje početnica/proba mogu utjecati na detekciju kada se upotrebljava testna traka NeuMoDx GBS Test Strip.
- Rezultati ispitivanja NeuMoDx GBS Assay trebaju se upotrebljavati kao dodatak kliničkim opažanjima i drugim informacijama koje su liječniku dostupne. Test nije namijenjen za razlikovanje nositelja *streptokoka* grupe B od onih s bolesti uzrokovanom streptokokom. Na rezultate testa može utjecati istovremena terapija antibioticima jer je DNK GBS-a i dalje moguće detektirati nakon antimikrobne terapije.
- Preporučuje se dobra laboratorijska praksa, uključujući mijenjanje rukavica između rukovanja ispitcima pacijenata, kako bi se izbjegla kontaminacija ispitaka.

### REZULTATI

#### Očekivane vrijednosti – prevalencija

Približno 10 – 40 % trudnica kolonizirano je GBS-om. Probirom na GBS s pomoću kulture vaginalnih i rektalnih uzoraka u kasnijem gestacijskom razdoblju (uglavnom od 35. do 37. tjedna) tijekom prenatalne skrbi, mogu se detektirati žene koje će vjerojatno biti kolonizirane GBS-om za vrijeme poroda. Tijekom usporednog ispitivanja kliničkih metoda, 1193 preostala uzorka u Lim tekućem mediju uključena su u ispitivanje i testirana u laboratorijima u Sjedinjenim Američkim Državama na različitim geografskim lokacijama. Ukupna prevalencija GBS-a u ispitivanju, na temelju rezultata identifikacije kulture koji predstavljaju zlatni standard i koji služe kao referentna metoda za sve uključene uzorke, iznosila je 21,9 % (261/1193) s 95 %-tnim CI od (19,6 % – 24,3 %), što je izračunato s pomoću metode s 95 %-tnim intervalom pouzdanosti u skladu sa smjernicom EP12-A2 instituta CLSI.<sup>10</sup> Stvarne stope prevalencije mogu se razlikovati na raznim geografskim lokacijama ovisno o lokalnim populacijama pacijenata.

#### Sustavi NeuMoDx 288/96 Molecular Systems

Dostupni rezultati mogu se pregledavati ili ispisivati s kartice „Results“ (Rezultati) u prozoru Results (Rezultati) na zaslonu osjetljivom na dodir sustava NeuMoDx System.

Softver sustava NeuMoDx System automatski stvara rezultate testa. Rezultat testa može se prijaviti kao Negative (Negativno), Positive (Pozitivno), Indeterminate (Neodređeno) ili Unresolved (Nerazriješeno) na temelju statusa amplifikacije ciljne sekvence i kontrole obrade uzorka. Rezultati se prijavljuju na temelju algoritma odlučivanja u *tablici 1*.

**Tablica 1: Algoritam odlučivanja ispitivanja NeuMoDx GBS Assay**

Rezultat	C <sub>t</sub> GBS-a	C <sub>t</sub> kontrole obrade uzorka (SPC1)
<b>Positive (Pozitivno)</b>	9 < C <sub>t</sub> < 37 And (I) EP > 3000	N/P
<b>Negative (Negativno)</b>	N/A (N/P) OR (ILI) C <sub>t</sub> < 9 OR (ILI) > 37	25 < C <sub>t</sub> < 35 And (I) EP > 2000
<b>Indeterminate (Neodređeno)</b>	N/P SYSTEM ERROR NOTED (UOČENA POGREŠKA SUSTAVA)	N/P SYSTEM ERROR NOTED (UOČENA POGREŠKA SUSTAVA)
<b>Unresolved (Nerazriješeno)</b>	Not detected (Nije detektirano)	Not detected (Nije detektirano)

EP = End Point Fluorescence (Fluorescencija krajnje točke) (nakon korekcije osnovne vrijednosti)

#### Kontrola kvalitete

U propisima Izmjene i dopune za poboljšanja u kliničkom laboratoriju (Clinical Laboratory Improvement Amendments, CLIA) navodi se da je laboratorij odgovoran za postupke kontrole kojima se prati točnost i preciznost cijelog analitičkog postupka te da mora utvrditi broj, vrstu i učestalost primjene materijala za kontrolu testa s pomoću provjerenih specifikacija radnog učinka za nemodificirani sustav testa koji je provjerila ili odobrila FDA (42 CFR dio 493.1256).

1. Tvrtka NeuMoDx Molecular, Inc. ne isporučuje vanjski kontrolni materijal; odgovarajuće kontrole mora odabrati i odobriti laboratorij.

Preporučena pozitivna kontrola: 10 µl kontrole AcroMetrix™ GBS Positive Control (Thermo Fisher Scientific REF. 960041) razrijeđene u 1 ml Lim tekućeg medija.

Preporučena negativna kontrola: 1 ml Lim tekućeg medija bez cijepjenja.

2. Početnice i proba specifične za kontrolu obrade uzoraka 1 (Sample Process Control 1, SPC1) uključene su u svaku testnu traku NeuMoDx GBS Test Strip. Kontrola obrade uzoraka sustavu omogućava praćenje učinkovitosti postupaka ekstrakcije DNK i PCR amplifikacije.
3. Rezultat testiranja Positive (Pozitivno) prijavljen za negativan kontrolni uzorak ukazuje na problem kontaminacije ispitka. Savjete za rješavanje problema potražite u *korisničkim priručnicima za sustave NeuMoDx 288/96 Molecular System*.
4. Rezultat Negative (Negativno) prijavljen za pozitivan kontrolni uzorak može ukazivati na problem povezan s reagensima ili instrumentom.

#### Nevažeći rezultati

Ako test koji se izvodi na sustavu NeuMoDx System ne uspije dati valjani rezultat, prijavljuje se kao Indeterminate (Neodređeno) ili Unresolved (Nerazriješeno) ovisno o vrsti pogreške koja se pojavila.

Rezultat Indeterminate (Neodređeno) prijavljuje se ako se tijekom obrade uzorka detektira pogreška sustava. U slučaju da je prijavljen rezultat Indeterminate (IND) (Neodređeno), preporučuje se ponovno testiranje.

Rezultat Unresolved (Nerazriješeno) prijavljuje se ako nema detektiranih ciljnih sekvenci i ako nema amplifikacije kontrole obrade uzorka, što ukazuje na moguću grešku reagensa ili na prisutnost inhibitora. U slučaju da je prijavljen rezultat Unresolved (UNR) (Nerazriješeno), preporučuje se ponovno testiranje.

### RADNE ZNAČAJKE

#### Klinički radni učinak

Radne značajke određene su tijekom prospektivnog usporednog ispitivanja kliničkih metoda provedenog u tri (3) laboratorija na raznim geografskim lokacijama radi procjene usporednog radnog učinka ispitivanja NeuMoDx GBS Assay na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System u usporedbi s konvencionalnim metodama uzgoja kultura koje preporučuje Centar za kontrolu bolesti (Center for Disease Control, CDC) za identifikaciju GBS-a iz subkultura u obogaćenom Lim tekućem mediju. Ispitke prikladne za uključivanje u ispitivanje zdravstveni su djelatnici prikupili od trudnica u svrhu rutinskog standardnog probira koji preporučuje CDC od 35. do 37. gestacijskog tjedna.

Prikupljeni ispiti vaginalnog/rektalnog brisa preneseni su u različite laboratorije u prikladnom transportnom mediju i laboratorijsko osoblje ga je cijepilo u selektivni Lim tekući medij radi pripreme za razdoblje inkubacije u trajanju od 18 – 24 sata. Nakon razdoblja inkubacije i testiranja u sklopu rutinske skrbi preostali uzorci u Lim tekućem mediju podijeljeni su subkulture na pločice koje sadrže agar s ovčjom krvju u skladu s preporukama za postupke obrade kliničkih ispitaka za kulturu GBS-a koje je 2010. objavio CDC. Pločice s agarom inkubirane su do 48 sati i ispitano je sadrže li organizme koji ukazuju na prisutnost GBS-a. Sumnjive kolonije su gram obojene i gram-pozitivne koki kolonije testirane su na proizvodnju katalaze; gram-pozitivne koki kolonije za koje je dobiven negativan rezultat za proizvodnju katalaze obrađene su za daljnju identifikaciju testom lateks aglutinacije za grupiranje streptokoka kako bi se utvrdila prisutnost GBS-a. Klinički radni učinak temelji se na 1193 ispitka s potpunim, valjanim i sukladnim rezultatima uključenima u ispitivanje, čiji sažetak možete pronaći u *tablici 2* i *tablici 3* u nastavku. Donja i gornja granica prikazanog 95 %-tnog intervala pouzdanosti (Confidence Interval, CI) izračunate su korištenjem metode s 95 %-tnim intervalom pouzdanosti.

**Tablica 2:** Sažetak kliničkog radnog učinka ispitivanja NeuMoDx GBS Assay

Sažetak za sve kliničke lokacije		Kultura / referentna metoda		
		Positive (Pozitivno)	Negative (Negativno)	Ukupno
NeuMoDx GBS	Positive (Pozitivno)	253	37	290
	Negative (Negativno)	8	895	903
	Ukupno	261	932	1193

Osjetljivost = 96,9 %  
95 %-tni CI (94,1 – 98,4)

Specifičnost = 96,0 %  
95 %-tni CI (94,6 – 97,1)

**Tablica 3:** Klinički radni učinak ispitivanja NeuMoDx GBS Assay specifičan za lokaciju

Lokacija	n	Osjetljivost (95 %-tni CI) <sup>a</sup>	Specifičnost (95 %-tni CI) <sup>a</sup>	Prevalencija <sup>b</sup> (95 %-tni CI) <sup>a</sup>
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)
Ukupno	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> Donja i gornja granica prikazanog 95 %-tnog intervala pouzdanosti (Confidence Interval, CI) izračunate su korištenjem metode s 95 %-tnim intervalom pouzdanosti.

<sup>b</sup> Izračuni prevalencije na temelju rezultata referentne metode dobivenih sljedećim postupcima za obradu kliničkih ispitaka za kulturu streptokoka grupe B koje preporučuje CDC. (Objavljeno 2010.)

Dodatno interno testiranje 100 kliničkih uzoraka provedeno je da bi se dokazalo da su osjetljivost i specifičnost ispitivanja NeuMoDx GBS Assay provedenog na sustavu NeuMoDx 96 Molecular System ekvivalentne radnom učinku prethodno utvrđenom na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System tijekom kliničkog ispitivanja.

### Osjetljivost

Analička osjetljivost ispitivanja NeuMoDx GBS Assay u kojem se upotrebljava testna traka NeuMoDx GBS Test Strip utvrđena je testiranjem pet različitih razina GBS-a (ATCC BAA-611 serotip V) pripremljenog iz pet neovisnih kliničkih negativnih poolova na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System. Ispitivanje je provedeno na više sustava na neuzastopne dane, pri čemu je svaki sustav obradio deset ponavljanja na svakoj razini dnevno. Jedinstvena serija svakog od sljedećih proizvoda: testna traka NeuMoDx GBS Test Strip, pločica NeuMoDx Extraction Plate i pufer NeuMoDx Lysis Buffer 4 testirana je na svakom sustavu. Stope detekcije prikazane su u *tablici 4*. Utvrđeno je da LoD iznosi 500 CFU/ml i to je potvrđeno testiranjem na sustavu NeuMoDx 96 Molecular System metodom stope uspješnosti kako bi se potvrdila detekcija  $\geq 95\%$  na razini LoD-a.

**Tablica 4:** Postotak pozitivnih stopa detekcije za uzorke koji su se upotrebljavali za utvrđivanje LoD-a ispitivanja NeuMoDx GBS Assay

CFU/ml GBS-a	Broj valjanih testova	Broj pozitivnih rezultata	Broj negativnih rezultata	Stopa detekcije
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 %

\*ekvivalentno 20 CFU/test

Ispitivanjem NeuMoDx GBS Assay provedenim s pomoću testne trake NeuMoDx GBS Test Strip detektirani su svi glavni serotipovi *streptokoka* grupe B, uključujući četiri serotipa s najvećim kliničkim značajem. Dvanaest različitih sojeva bakterije GBS obuhvaćenih serotipovima testiranima s pomoću testne trake NeuMoDx GBS Test Strip prikazano je u *tablici 5*.

**Tablica 5:** Testirani serotipovi GBS-a

Serotip bakterije GBS	Soj GBS-a	ATCC/BEI br.	Koncentracija (CFU/ml) uz 100 %-tnu detekciju
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>Nehemolitički</b>	NCTC 8181	ATCC: 13813	800
<b>TX klinički izolat 2012</b>	SGBS030	BEI: NR-44144	800

### Analička specifičnost i križna reaktivnost

Analička specifičnost dokazana je probirom 136 organizama obično prisutnih u urogenitalnom i probavnom sustavu te vrsta filogenetski povezanih s GBS-om radi utvrđivanja križne reaktivnosti na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System s pomoću testne trake NeuMoDx GBS Test Strip. Organizmi su pripremljeni u poolovima koji su sadržavali između 5 i 6 organizama i testirani su pri visokim koncentracijama (bakterije  $6 - 9 \times 10^6$  CFU/ml; virusi  $1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$  kopije/ml). Nijedan od probiranih organizama nije pokazao križnu reaktivnost testiranjem ispitivanjem NeuMoDx GBS Assay. Testirani organizmi prikazani su u *tablici 6*.

**Tablica 6: patogeni korišteni za dokazivanje analitičke specifičnosti**

Bakterije, gljivice i paraziti		
<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>Virusi</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>	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> tip 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> *	

\* Testirano u koncentraciji od 10 ng/ml



### Interferirajuće tvari – komenzalni organizmi

Interferencija ispitivanja NeuMoDx GBS Assay testirana je u prisutnosti organizama koji nisu ciljani ispitivanjem (koji se također nalaze u urogenitalnom traktu) procjenom radnog učinka ispitivanja na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System pri niskim razinama bakterije GBS. U ovom se ispitivanju upotrebljavao isti panel od 136 organizama [tablica 6] koji se upotrebljavao za procjenu križne reaktivnosti. Organizmi su podijeljeni u poolove u skupinama od 5–6 organizama u klinički negativnom Lim tekućem mediju i u njih je dodano 1200 CFU/ml uzgojenog GBS-a. Testiranjem je potvrđena detekcije *streptokoka* grupe B u svim testiranim poolovima. Nije uočena interferencija zbog komenzalnih organizama.

### Endogene i egzogene tvari iz kliničkih ispitaka brisa za određivanje GBS-a

Radni učinak ispitivanja NeuMoDx GBS Assay procijenjen je na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System u prisutnosti egzogenih i endogenih interferirajućih tvari koje se mogu obično pronaći u kliničkim ispitcima s GBS-om. Svaka od endogenih i egzogenih tvari navedenih u nastavku u tablici 7 dodana je u pool klinički negativnih uzoraka u Lim tekućem mediju koji sadrži GBS u koncentraciji od 1200 CFU/ml ili 4000 CFU/ml. 20 egzogenih i 6 endogenih tvari testiranih radi utvrđivanja interferencije s pomoću testne trake NeuMoDx GBS Test Strip nisu pokazale negativan učinak na detekciju GBS-na bilo kojoj testiranoj razini, što dodatno dokazuje otpornost ispitivanja NeuMoDx GBS Assay.

**Tablica 7: Testirani egzogeni i endogeni interferirajući agensi**

Egzogene tvari		Endogene tvari	
Krema Monistat®	Supozitoriji Dulcolax®	Lubrikant K-Y™	Ljudska amnijska tekućina
Yeast Gard Advanced™ (sredstvo za intimnu njegu)	Klistir Fleet®	McKesson gel	Humana puna krv
Dodatak prehrani s vlaknima Metamucil®	Krema Preparation H®	Kontracepcijska pjena	Humani urin
Ex-lax® (kockice čokolade)	Prašak Vagisil™	Hidratantni losion	Uzorak ljudske stolice
Magnezijev mlijeko Phillips®	Supozitoriji Norforms®	Ulje za tijelo Neutrogena®	Sluz
Pepto-Bismol™	Dezodorans u spreju FDS®	Prah Gold Bond®	Humana genomska DNK
Kaopectate®	New Mama Bottom Spray		

### Preciznost

Kvalitativno testiranje provedeno je na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System s pomoću testne trake NeuMoDx GBS Test Strip s 2 obrade dnevno na 3 sustava tijekom razdoblja od 12 neuzastopnih dana. Testiranje preciznosti unutar laboratorija uključivalo je 2 serije reagensa i izvodila su ga 2 korisnika. Obrada je definirana kao tri ponavljanja koja su testirana za svaku od pet različitih razina prikazanih u tablici 8 (True Negative (Istinski negativno), Low Negative (Nisko negativno), Moderate Negative (Umjereno negativno), Low Positive (Nisko pozitivno) i Moderate Positive (Umjereno pozitivno)) za ukupno 15 ispitaka po obradi po sustavu. Ispitci su pripremljeni dodavanjem uzgojenog GBS-a u probane negativne kliničke ostatke Lim tekućeg medija podijeljene u poolove. U svakoj obradi uz 15 ispitaka obrađene su i pozitivna i negativna vanjska kontrola. U ovom su ispitivanju provedene ukupno 72 obrade i 1224 testa, uključujući vanjske kontrole. Tablica 9 prikazuje usporedbu više instrumenata. Tablica 10 prikazuje preciznost za različite korisnike.

**Tablica 8: Panel za određivanje preciznosti unutar laboratorija**

Sastavnica panela	Testirana razina	GBS (CFU/ml)
Moderate Positive (MP) (Umjereno pozitivno)	3–4 x LoD	1600
Low Positive (LP) (Nisko pozitivno)	1–2 x LoD	600
Moderate Negative (MN) (Umjereno negativno)	Razrjeđenje 1 X LoD-a u omjeru > 1:10	40
Low Negative (LN) (Nisko negativno)	Razrjeđenje 1 X LoD-a u omjeru > 1:100	4
True/Blank Negative (TN) (Istinski negativno / slijepa proba)	0	0

**Tablica 9:** kvalitativni rezultati iz ispitivanja preciznosti unutar laboratorija (na različitim instrumentima)

Razina	Instrument 1	Instrument 2	Instrument 3	Sveukupni
	Postotak pozitivnih	Postotak pozitivnih	Postotak pozitivnih	Postotak pozitivnih
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)
	Postotak negativnih	Postotak negativnih	Postotak negativnih	Postotak negativnih
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)

**Tablica 10:** Kvantitativna analiza parametara preciznosti određivanja GBS-a unutar laboratorija (s različitim korisnicima)

Razina	Prvi korisnik					Drugi korisnik					Kombinirani skup podataka				
	Detektirani poz./ukupno	% pozitivnih	Pro-sječni Ct	Stand. Devijacija	% CV*	Detektirani poz./ukupno	% pozitivnih	Pro-sječni Ct	Stand. Devijacija	% CV	Detektirani poz./ukupno	% pozitivnih	Pro-sječni Ct	Stand. devijacija	% CV
MP	108/108	100,0 %	31,61	0,54	1,7 %	108/108	100,0 %	32,22	0,51	1,6 %	216/216	100,0 %	31,91	0,61	1,9 %
LP	106/108	98,1 %	34,16	0,68	2,0 %	105/108	97,2 %	34,39	0,72	2,1 %	211/216	97,7 %	34,27	0,71	2,1 %
MN	20/108	18,5 %	35,00	0,53	1,5 %	18/108	16,7 %	35,28	0,40	1,1 %	38/216	17,6 %	35,10	0,49	1,4 %
LN	2/108	1,9 %	35,49	0,12	0,3 %	1/108	0,9 %	35,03	N/P		3/216	1,4 %	35,33	0,28	0,8 %
TN	0/108	0,0 %	N/P			0/108	0,0 %	N/P			0/216	0,0 %	N/P		

% CV: koeficijent varijacije, 100\* standardna devijacija / prosječni Ct.

### Obnovljivost u različitim laboratorijima

Obnovljivost ispitivanja NeuMoDx GBS Assay provedenog na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System s pomoću testne trake NeuMoDx GBS Test Strip procijenjena je na 3 različite lokacije testiranjem 5 ponavljanja panela s 4 sastavnice tijekom 5 dana, čime je dobiveno ukupno 75 ponavljanja po sastavnici panela. Uzorci panela pripremljeni su dodavanjem uzgojenog GBS-a u pool negativnog kliničkog tekućeg medija kako bi se dobile nisko negativne, nisko pozitivne i umjereno pozitivne sastavnice panela, dok istinski negativni uzorci (slijepa proba) uopće nisu sadržavali GBS. Koncentracije sastavnica panela odgovaraju istim razinama navedenima u *tablici 8* gore koje su se upotrebljavale za određivanje preciznosti (nedostaje jedino uzorak s rezultatom Moderate Negative (Umjereno negativno)). Pozitivna i negativna vanjska kontrola također su se obrađivale svakog dana testiranja.

Sveukupno, tijekom ispitivanja obnovljivosti dobivena su 4 nevažna rezultata – jedno ponavljanje svake od 4 koncentracija dalo je rezultat „Indeterminate“ (Neodređeno) i do toga je došlo na isti dan testiranja (dan 2) na lokaciji B. Nakon ponovnog testiranja 2 od 4 uzorka dali su valjani, ispravni rezultat; preostala dva uzorka još su jedan put dali rezultat „Indeterminate“ (Neodređeno) prije dobivanja valjanog, ispravnog rezultata. Postotak podudaranja s očekivanim rezultatima za sastavnice panela objedinjenima za sve lokacije navodi se u *tablici 11* u nastavku.

**Tablica 11:** Sažetak radnog učinka obnovljivosti ispitivanja NeuMoDx GBS Assay u različitim laboratorijima

Koncentracija sastavnica panela	Lokacija 1 (A)	Lokacija 2 (B)	Lokacija 3 (D)	Ukupno podudaranje (95 %-tni CI) <sup>a</sup>
Umjereno pozitivno	25/25	25/25	25/25	<b>100 % (75/75)</b> (95,1 – 100)
Nisko pozitivno	24/25	25/25	24/25	<b>97,3 % (73/75)</b> (90,8 – 99,3)
Nisko negativno	25/25	25/25	24/25 <sup>b</sup>	<b>98,7 % (74/75)</b> (92,8 – 99,8)
Negativna slijepa proba	25/25	25/25	25/25	<b>100 % (75/75)</b> (95,1 – 100)

<sup>a</sup> Donja i gornja granica prikazanog 95 %-tnog intervala pouzdanosti (Confidence Interval, CI) izračunate su korištenjem metode s 95 %-tnim intervalom pouzdanosti.

<sup>b</sup> Očekuje se da će se koncentracija nisko negativnog uzorka detektirati kao pozitivna u oko ~5 % slučajeva.

### Prijenos i križna kontaminacija

Provedena su ispitivanja potencijalnog prijenosa i križne kontaminacije uzoraka na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System kada se upotrebljava testna traka NeuMoDx GBS Test Strip. Ispitivanjem u dva dijela najprije se procijenio utjecaj koji na uzorke negativne na GBS ima miješanje s uzorcima koji sadrže visoke koncentracije ciljnih sekvenci GBS-a (od  $1 \times 10^7$  CFU/ml). Pozitivni i negativni uzorci postavljeni su na način da je svaki negativni uzorak bio pored visoko pozitivnog uzorka. U drugom dijelu ispitivanja svi negativni uzorci obradili su se odmah nakon obrade u kojoj su obrađeni svi uzorci s visokom koncentracijom GBS-a. Nije uočena kontaminacija u negativnim uzorcima spojenima s uzorcima s visokom razinom bakterija niti u negativnim uzorcima koji su obrađeni nakon uzoraka s visokim koncentracijama GBS-a, čime je dokazano da nema prijenosa i/ili križne kontaminacije.

### Učinkovitost kontrole

Učinkovitost kontrole obrade uzorka uključene u testnu traku NeuMoDx GBS Test Strip za prijavljivanje bilo kakvih neuspjelih koraka obrade ili inhibicija koje utječu na radni učinak ispitivanja NeuMoDx GBS Assay procijenjena je na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System. Testirani uvjeti predstavljaju ključne neuspjele korake obrade koji bi se potencijalno mogli dogoditi tijekom obrade uzoraka i koje *možda nisu detektirali* senzori na sustavu koji prate radni učinak sustava NeuMoDx System. To je procijenjeno simuliranjem neuspjeha različitih koraka tijekom obrade uzoraka kako bi se oponašala potencijalna pogreška sustava i dodavanjem poznatog inhibitora u uzorak kako bi se promatrao učinak koji neučinkovito ublažavanje inhibitora ima na detekciju kontrole obrade uzorka (pogledajte *tablicu 12*). U slučajevima kada pogreške obrade nisu negativno utjecale na radni učinak kontrole obrade uzorka (NO WASH/NO WASH BLOWOUT (NEMA REAGENSA ZA ISPIRANJE / NEMA ISPUŠTANJA REAGENSA ZA ISPIRANJE)), test se ponovio s uzorcima pozitivnima na GBS (na 400 CFU/ml) kako bi se potvrdilo da pogreška obrade NEMA negativan učinak ni na detekciju ciljne sekvence GBS-a. U *tablici 12* nalazi se sažetak rezultata testa provjere učinkovitosti kontrole.

**Tablica 12:** Sažetak podataka o učinkovitosti kontrole

Uvjet	Očekivani rezultat	Dobiveni rezultat
Normal Processing (Normalna obrada)	Negative (Negativno)	Negative (Negativno)
Normal Processing + Inhibitor (Normalna obrada + inhibitor)	Unresolved (Nerazriješeno)	Unresolved (Nerazriješeno)
No Wash Reagent (Nema reagensa za ispiranje)	Unresolved (Nerazriješeno) ili Negative (Negativno)	Negative (Negativno)
No Wash Blowout (Nema ispuštanja reagensa za ispiranje)	Unresolved (Nerazriješeno) ili Negative (Negativno)	Negative (Negativno)
No Release Reagent (Nema reagensa za ispuštanje)	Indeterminate (Neodređeno)	Indeterminate (Neodređeno)
No PCR Master Mix Reagents (Nema glavne mješavine reagensa za PCR)	Indeterminate (Neodređeno)	Indeterminate (Neodređeno)

### Stabilnosti uzoraka na sustavu

Uzorci s različitim datumima prikupljanja obrađeni su na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System u „Vrijeme 0“ i „Vrijeme 24“ kako bi se odredila stabilnost uzoraka na sustavu za ispitivanje NeuMoDx GBS Assay. Uzorci klinički pozitivni i negativni na GBS prvo su obrađeni, a zatim ostavljeni na radnoj površini sustava 24 sata prije druge obrade. Uočena je 100 %-tna podudarnost rezultata dobivenih početnim testom (vrijeme 0) i testom provedenim 24 sata kasnije (vrijeme 24) za 23 testirana uzorka negativna na GBS [*tablica 13*]. Nakon 24 sata svi osim jednoga pozitivnog uzorka dali su pozitivni rezultat, čime je dobivena podudarnost od 95,8 % s očekivanim rezultatom.

**Tablica 13:** Sažetak podataka o stabilnosti uzoraka na sustavu

		Potvrđeno pozitivni uzorci (uzorci A)		Potvrđeno negativni uzorci (uzorci B)	
		Br. pozitivnih	Br. negativnih	Br. pozitivnih	Br. negativnih
Test 1	Vrijeme 0	23	0	0	23
Test 2	Vrijeme 24	22	1*	0	23
% podudarnosti		95,8		100	

\* Jedan uzorak početno je identificiran kao pozitivan tijekom vremena 0; dodatnom procjenom zaključeno je da je uzorak lažno identificiran kao pozitivan zbog niske razine DNK GBS-a ili nevjabilnog staničnog materijala jer referentni laboratorij nije prijavio rast GBS-a u kulturi.

### REFERENCE

- 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.



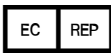











### ZAŠTITNI ZNAKOVI

NeuMoDx™ i NeuDry™ su zaštitni znakovi tvrtke NeuMoDx Molecular, Inc.  
TaqMan® je registrirani zaštitni znak tvrtke Roche Molecular Systems, Inc.  
AcroMetrix™ je zaštitni znak tvrtke Thermo Fisher Scientific.  
Monistat® je registrirani zaštitni znak tvrtke Pfizer, Inc.  
Yeast Gard Advanced™ je zaštitni znak tvrtke Lake Consumer Products, Inc.  
Metamucil® je registrirani zaštitni znak tvrtke Procter & Gamble.

Ex-lax® je registrirani zaštitni znak tvrtke GSK plc.  
Phillips'® je registrirani zaštitni znak tvrtke Bayer.  
Kaopectate® je registrirani zaštitni znak tvrtke SANOFI.  
Neutrogena® je registrirani zaštitni znak tvrtke Johnson & Johnson Consumer, Inc.

Dulcolax® je registrirani zaštitni znak tvrtke SANOFI.  
Fleet® je registrirani zaštitni znak tvrtke C.B. Fleet Company.  
Preparation H® je registrirani zaštitni znak tvrtke Pfizer, Inc.  
Vagisil™ je zaštitni znak tvrtke COMBE, Inc.  
Norforms® je registrirani zaštitni znak tvrtke C.B. Fleet Company.  
FDS® je registrirani zaštitni znak tvrtke WellSpring Pharmaceutical Corp.  
K-Y™ Jelly je zaštitni znak tvrtke Reckitt Benckiser Group.  
Pepto-Bismol™ je zaštitni znak tvrtke Procter & Gamble.  
Gold Bond® je registrirani zaštitni znak tvrtke SANOFI.

### SIMBOLI

SIMBOL	ZNAČENJE
<b>R only</b>	Za uporabu samo uz recept
	Proizvođač
	Medicinski proizvod za <i>in vitro</i> dijagnostiku
	Ovlašteni predstavnik u Europskoj zajednici
	Kataloški broj
	Kôd šarže
	Upotrijebiti do
	Temperaturno ograničenje
	Ograničenje vlage
	Nije za ponovnu uporabu
	Sadrži dovoljno za <n> testova
	Pročitajte upute za upotrebu
	Oprez
	Biološke opasnosti
	Oznaka CE



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

Naručitelj (Australija):  
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



Tehnička podrška / izvještaj o kontroli sigurnosti: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

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