

Testovací proužek 200300 NeuMoDx™ CT/NG Test Strip

R only

UPOZORNĚNÍ: Pouze pro export do USA

Pro diagnostiku *in vitro* se soustavami NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System



Chcete-li vložít aktualizace, přejděte na internetové stránky: www.qiaagen.com/neumodx-ifu

Podrobné pokyny naleznete v návodu k obsluze soustavy NeuMoDx 288 Molecular System, výr. č. 40600108.

Podrobné pokyny naleznete v návodu k obsluze soustavy NeuMoDx 96 Molecular System, výr. č. 40600317.

ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

Analýza NeuMoDx CT/NG Assay prováděná pomocí molekulární soustavy NeuMoDx 96 Molecular System a NeuMoDx 288 Molecular System je automatizovaný, kvalitativní amplifikační *in vitro* test nukleové kyseliny pro přímou detekci a diferenciaci DNA bakterie *Chlamydia trachomatis* (CT) a/nebo *Neisseria gonorrhoeae* (NG) v urogenitálních vzorcích. Analýza používá polymerázovou řetězovou reakci v reálném čase (Polymerase chain reaction, PCR) pro detekci DNA bakterií *Chlamydia trachomatis* a *Neisseria gonorrhoeae* ve vzorcích vaginálních výtěrů odebraných lékařem, vzorcích vaginálních výtěrů získaných v rámci samoodběru (odebraných v klinickém prostředí) a vzorcích endocervikálních výtěrů, přičemž všechny vzorky jsou odebrané pomocí tamponu s polyesterovou špičkou s plastovým aplikátorem v univerzálním přepravním médiu (Universal Transport Medium, UTM-RT®, Copan Diagnostics, CA, USA, nebo BD™ Universal Viral Transport System, BD™ UVT, Becton, Dickinson and Company, MD, USA nebo rovnocenné médium), cervikálních vzorcích odebraných do roztoku PreservCyt® (Hologic®, Inc, MA, USA) a v mužské a ženské moči. Účelem analýzy NeuMoDx CT/NG Assay je její využití jako pomůcky v diagnostice onemocnění chlamydiemi a gonokokových urogenitálních onemocnění jak u symptomatických, tak u asymptomatických jedinců.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Pro testování vzorku moči za použití analýzy NeuMoDx CT/NG Assay se odebírá vzorek moči do běžného poháru na odběr moči bez konzervačních nebo přídatných látek. Aby byl vzorek připraven k testování, poměrná část vzorku se oddělí do sekundární zkumavky kompatibilní se soustavou NeuMoDx System a v k tomu určených stojanech vzorků je vložen do soustavy NeuMoDx System, kde začne zpracování. U každého vzorku se poměrné množství 550 µl moči smíchá s lýzovým pufrum NeuMoDx Lysis Buffer 2 a soustava NeuMoDx System automaticky provede všechny kroky nezbytné k izolaci cílové nukleové kyseliny, přípravě izolované DNA pro amplifikaci pomocí PCR v reálném čase a, pokud jsou přítomny, k amplifikaci a detekci cílů amplifikace (části cílených genových sekvencí chromozomů a plazmidů CT a NG).

Pro testování vzorků výtěrů za použití analýzy NeuMoDx CT/NG Assay musí být výtěr z kanálku děložního hrdla nebo vaginální výtěr odebrán klinickým lékařem nebo pacientkou pomocí tamponu s polyesterovou špičkou a plastovým aplikátorem do 3 ml univerzálního přepravního média (UTM-RT, UVT) nebo podobného média. Vzorek výtěru lze testovat přímo z primární zkumavky s přepravním médiem nebo z poměrné části nadávkované do sekundární zkumavky kompatibilní se soustavou NeuMoDx System a pomocí vhodného stojanu vzorků zavedené do soustavy NeuMoDx System, kde začne zpracování. Pokud byl vzorek zmrazen, doporučujeme před testováním rozmrazený vzorek při 85 °C po dobu 5-10 minut předeřhát. U každého vzorku se poměrné množství 400 µl média se stěrem smíchá s lýzovým pufrum NeuMoDx Lysis Buffer 2 a soustava NeuMoDx System automaticky provede všechny kroky nezbytné k izolaci cílové nukleové kyseliny, přípravě izolované DNA pro množení pomocí amplifikace s PCR v reálném čase a, pokud jsou přítomny, k amplifikaci a detekci cílů amplifikace (části cílených genových sekvencí chromozomů a plazmidů CT a NG).

Pro testování cytologického vzorku s použitím analýzy NeuMoDx CT/NG Assay je Pap test ThinPrep® Pap Test odebírán lékařem v souladu s pokyny výrobce. Po zpracování s použitím procesoru ThinPrep® se poměrná část roztoku PreservCyt® nadávkuje do sekundární zkumavky kompatibilní se soustavou NeuMoDx System, pomocí vhodného stojanu vzorků se zavede do soustavy NeuMoDx System a zahájí zpracování. Je požadováno, aby byl vzorek před zpracováním temperován na pokojovou teplotu. U každého vzorku se poměrné množství 550 µl kapaliny PreservCyt smíchá s lýzovým pufrum NeuMoDx Lysis Buffer 2 a soustava NeuMoDx System automaticky provede všechny kroky nezbytné k izolaci cílové nukleové kyseliny, přípravě izolované DNA pro množení pomocí amplifikace PCR v reálném čase a, pokud jsou přítomny, k amplifikaci a detekci cílů amplifikace (části cílených genových sekvencí chromozomů a plazmidů CT a NG).

Analýza NeuMoDx CT/NG Assay obsahuje kontrolu zpracování vzorků DNA (Sample Process Control, SPC1), která pomáhá sledovat přítomnost možných inhibičních látek a také selhání soustavy NeuMoDx System nebo reagentie, ke kterému může dojít během extrakce a amplifikace.

Infekce způsobené bakteriemi *Chlamydia trachomatis* a *Neisseria gonorrhoeae* jsou dvě nejběžnější pohlavně přenosné infekce na světě. Ve Spojených státech amerických bylo v roce 2016 diagnostikováno více než 1,6 miliónu nových případů chlamydií a 470 000 případů kapavky, což je podle poslední zprávy Centra pro kontrolu a prevenci nemocí (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) nejvyšší číslo v historii (CDC, 2017).¹

Bakterie *Chlamydiae* jsou nepohyblivé, gramnegativní, obligátní, nitrobuňčné bakterie. Druh *Chlamydia trachomatis* se skládá z patnácti sérotypů (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 a L3), které mohou u člověka způsobit onemocnění.² Sérotypy D až K jsou hlavní příčinou genitálních chlamydiových infekcí u mužů i žen.² *C. trachomatis* může způsobit negonokokovou uretritidu, epididymitidu, proktitidu, zánět děložního hrdla, akutní zánět vejcovodu a pánevní zánětlivou nemoc (Pelvic Inflammatory Disease, PID).³⁻⁶ Chlamydiové infekce jsou jak u mužů, tak u žen často asymptomatické. Děti, které se narodí infikovaným matkám, jsou vystaveny mnohem vyššímu riziku inkluzní konjunktivitidy a chlamydiové pneumonie.^{7,8} Důsledkem neléčené infekce může být PID, což je hlavní příčina neplodnosti, mimoděložního těhotenství a chronické pánevní bolesti.⁵ Údaje z randomizovaných kontrolovaných studií naznačují, že screeningové programy mohou vést ke snížení výskytu PID.⁹⁻¹² Pokud se jedná o další zánětlivá pohlavně přenosná onemocnění, chlamydiová infekce může usnadnit přenos nákazy HIV.¹³ Kromě toho mohou těhotné ženy nakažené chlamydií předat infekci během porodu svému miminku, v důsledku čehož by mohlo dojít k výskytu novorozenecké oftalmie, která může vést ke slepotě a pneumonii. Kvůli vysoké zátěži způsobené nemocí a rizikům s infekcí spojených doporučuje CDC každoroční screening chlamydií u všech sexuálně aktivních žen mladších 25 let a u žen ≥ 25 let se zvýšeným rizikem infekce (např. u žen s novým sexuálním partnerem nebo které mají sexuálních partnerů více).¹⁴

Bakterie *Neisseria gonorrhoeae* je původcem nákazy gonoroidického onemocnění. Bakterie *N. gonorrhoeae* jsou nepohyblivé, gramnegativní diplokoky. Nejběžnějším místem výskytu infekce způsobené bakterií *N. gonorrhoeae* je urogenitální soustava. NG infekce mají tendenci způsobovat silnější záleňlivou reakci než *C. trachomatis*, ale u žen jsou typicky asymptomatické, dokud se nerozvinou komplikace, jako například PID.¹⁵ PID může vést k tubární neplodnosti, mimoděložnímu těhotenství a chronické pánevní bolesti. U mužů způsobuje většina močových infekcí uretritidu s bolestivým močením nebo dysurií s výtokem z penisu (obvykle symptomatically) a méně často epididymitidu nebo diseminovanou gonokokovou infekci.¹⁵ Kromě toho podávají epidemiologické a biologické studie přesvědčivé důkazy, že gonokokové infekce usnadňují přenos nákazy HIV.¹³ Analýza CT/NG Assay používá PCR v reálném čase k detekci oblasti genu opacity s více kopiemi na chromozomu *Neisseria gonorrhoeae*.

Historicky byla kultivace *C. trachomatis* a *N. gonorrhoeae* „zlatým standardem“ pro odhalení CT/NG. Avšak u kultivačních metod je nezbytná životaschopnost organismů, aby byly během přepravy a skladování zachovány. Kultivační metody pro CT je obtížné standardizovat, jsou technicky náročné, drahé, náročné na práci a relativně necitlivé. Kultivační metody pro konvenční diagnostiku infekce způsobené NG mohou mít dobrou klinickou senzitivitu, ale izolace organismu na selektivním médiu je nezbytná a metody jsou vysoce závislé na správné manipulaci se vzorkem. Nesprávné skladování nebo přeprava vzorků mohou způsobit ztrátu životaschopnosti organismů a přinést falešně negativní výsledky. Falešně negativní výsledky může přinést i špatná technika odebírání vzorků, toxický materiál vzorků a inhibice růstu způsobená složkami tělních tekutin. Kvůli těmto nevýhodám není ideální používat metody kultivace jako běžné screeningové testy. Pro odhalení chlamydií a kapavky byly vyvinuty mnohonásobné nekultivační laboratorní zkoušky, včetně amplifikačních testů nukleových kyselin (Nucleic Acid Amplification Test, NAAT). Od roku 2002 umožňují vylepšené technologie NAAT spolu s použitím méně invazivního odběru vzorků významně přizpůsobení testů NAAT diagnostice CT a NG. Amplifikační testování nukleových kyselin je nyní podle CDC jedinou doporučenou nekultivační metodou pro běžné laboratorní použití při testování CT/NG od roku 2014.¹⁶ Analýza CT/NG Assay používá PCR v reálném čase k detekci dvou různých oblastí v bakterii *Chlamydia trachomatis*, z nichž jedna je zacílena na gen helikázy přítomný v kryptickém plazmidu s více kopiemi a jedna je zacílena na gen vnější membrány chromozomu CT. Detekce CT, jako taková, není ovlivněna nedávnou mutací identifikovanou v oblasti 23S chromozomu CT ani delecí v plazmidu v nVCT identifikovaném ve Švédsku v roce 2006.

PRINCIPY POSTUPU

Analýza NeuMoDx CT/NG Assay spojuje technologie extrakce DNA a amplifikaci/detekci pomocí PCR v reálném čase. Vzorky jsou odebrány do běžných pohárů na vzorky moči, do odběrových zkumavek na vzorky výtěrů (UTM-RT, UVT nebo obdobných) nebo roztoku PreservCyt® (Pap test ThinPrep® Pap Test). Soustava NeuMoDx System automaticky nasaje alikvotní podíl vzorku moči, stěru nebo cytologie a smíchá jej s puřrem NeuMoDx Lysis Buffer 2 a extrakčními reagensy obsaženými na destičce NeuMoDx Extraction Plate a zahájí zpracování. Soustava NeuMoDx System automatizuje a integruje extrakci a zkoncentrování DNA, přípravu reagensů a amplifikaci nukleové kyseliny a detekci cílové sekvence pomocí PCR v reálném čase. Zahrnutá procesní kontrola vzorku (Sample Process Control, SPC1) pomáhá monitorovat přítomnost potenciálních inhibičních látek, jakož i selhání systému, procesu nebo reagenie. Jakmile je vzorek vložen do soustavy NeuMoDx System, není nutný žádný zásah obsluhy.

Soustavy NeuMoDx System k provedení buněčné lýzy, extrakce DNA a odstranění inhibitorů využívají kombinace zahřívání, lytických enzymů a extrakčních reagensů. Uvolněné nukleové kyseliny jsou zachyceny paramagnetickými částicemi. Částice s navázanými nukleovými kyselinami jsou vloženy do zásobníku NeuMoDx Cartridge, kde jsou nenavázané komponenty neobsahující DNA dále spláchnuty promývací reagensí NeuMoDx Wash Reagent a navázaná DNA je eluována za použití uvolňovací reagenie NeuMoDx Release Reagent. Soustava NeuMoDx System potom eluovanou DNA využije k rehydrataci proprietárních amplifikačních reagensů NeuDry™, které obsahují všechny prvky nezbytné k amplifikaci cílů CT a NG a také část sekvence SPC1. Tímto je umožněna simultánní amplifikace a detekce jak cíle (cílů), tak kontrolních sekvencí DNA. Po rekonstituci suchých reagensů PCR nadávkuje soustava NeuMoDx System připravenou PCR-ready směs do jedné PCR komory (na každý vzorek) zásobníku NeuMoDx Cartridge. K amplifikaci a detekci kontrolní a cílové (pokud je přítomna) sekvence DNA dochází v PCR komoře. Zásobník NeuMoDx Cartridge, včetně PCR komory, je určen k tomu, aby v něm byl po PCR v reálném čase amplikon, čímž je po amplifikaci podstatně eliminováno riziko kontaminace.

Amplifikované cíle jsou detekovány v reálném čase pomocí chemizmu hydrolyzační sondy (běžně označované jako chemizmus TaqMan®) za použití fluorogenních oligonukleotidových molekul sondy, specifických pro amplikony pro jejich příslušné cíle. Sondy TaqMan sestávají z fluoroforu, kovalentně připojeného k 5' konci oligonukleotidové sondy, a ze zhášedla na 3' konci. Zatímco sonda je intaktní, fluorofor a zhášedlo jsou v blízkosti, čímž molekula zhášedla zhájí fluorescenci emitovanou fluoroforem přes FRET (Förster Resonance Energy Transfer, Försterův rezonanční přenos energie).

Sondy TaqMan jsou určeny k reasociaci v oblasti DNA amplifikované specifickou sadou primerů. Jak polymeráza Taq DNA prodlužuje primer a syntetizuje nové vlákno, 5' až 3' exonukleázová aktivita polymerázy Taq DNA degraduje sondu, která reasociovala na templát. Degradací sondy se z ní uvolňuje fluorofor a narušuje těsnou blízkost zhášedla, čímž překonává zhášecí účinek způsobený FRET a detekce fluoroforu je tak možná. Výsledný fluorescenční signál, detekovaný v termocykleru soustavy NeuMoDx System, je přímo úměrný uvolněnému fluoroforu.

Sonda TaqMan značená fluoroforem (excitace: 490 nm a emise: 521 nm) na 5' konci a tmavým zhášedlem na 3' konci se používá k detekci DNA NG a TaqMan sonda značená fluoroforem (excitace: 590 nm a emise: 610 nm) na 5' konci a tmavým zhášedlem na 3' konci se používá k detekci DNA CT. Pro detekci kontroly zpracování vzorku je sonda TaqMan značena alternativním fluorescenčním barvivem (excitace: 535 nm a emise: 556 nm) na 5' konci a tmavým zhášedlem na 3' konci. Soustava NeuMoDx System monitoruje fluorescenční signál emitovaný sondami TaqMan na konci každého amplifikačního cyklu. Po dokončení amplifikace soustava NeuMoDx System analyzuje data a ohlásí konečný kvalitativní výsledek (POSITIVE (POZITIVNÍ) / NEGATIVE (NEGATIVNÍ) / INDETERMINATE (NEURČITÝ) / UNRESOLVED (NEROZLIŠENO) / NO RESULT (BEZ VÝSLEDKU)).


REAGENCIE / SPOTŘEBNÍ MATERIÁL
Dodaný materiál

REF.	Obsah	Počet jednotek v balení	Počet testů na jednotku	Počet testů v balení
200300	Testovací proužek NeuMoDx CT/NG Test Strip <i>Suché reagenty pro PCR v reálném čase obsahující TaqMan sondy a primery specifické pro CT/NG s TaqMan sondou a primery specifickými pro kontrolu zpracování vzorků.</i>	6	16	96

Požadované, ale nedodávané materiály (k dispozici samostatně od společnosti NeuMoDx)

REF.	Obsah
100200	Extrakční destička NeuMoDx Extraction Plate <i>Suché paramagnetické částice, lytický enzym a kontroly zpracování vzorků</i>
400500	Pufr NeuMoDx Lysis Buffer 2
400100	Promývací reagenty NeuMoDx Wash Reagent
400200	Uvolňovací reagenty NeuMoDx Release Reagent
100100	Zásobník NeuMoDx Cartridge
235903	Hroty Hamilton® CO-RE / CO-RE II (300 µl) s filtry
235905	Hroty Hamilton CO-RE / CO-RE II (1 000 µl) s filtry

Odběrový tampon a přepravní médium (nedodávané)

Typ vzorku	Doporučené médium	Doporučené odběrové zařízení
Vaginální výtěr nebo endocervikální výtěr	Universal Transport Medium, 3 ml (Copan UTM-RT) nebo Universal Viral Transport System, 3 ml (BD UVT)	Flexible Minitip Nylon® Flocked Swab (Copan) nebo Flexible Minitip Flocked Swab (BD)
Cytologický vzorek	Kapalný vzorek Pap v roztoku PreservCyt®	Kombinace štětečku kartáčového typu nebo endocervikálního štětečku / plastové špachtle

Potřebné přístrojové vybavení, které není součástí dodávky

Molekulární soustava **NeuMoDx 288 Molecular System** [REF 500100] nebo **NeuMoDx 96 Molecular System** [REF 500200]


VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Testovací proužky NeuMoDx CT/NG Test Strip jsou určeny pouze pro diagnostiku *in vitro* se soustavami NeuMoDx System.
- Nepoužívejte spotřební materiály nebo reagenty po uplynutí uvedeného data expirace.
- Nepoužívejte žádné reagenty, pokud je bezpečnostní těsnění rozbito nebo je při dodání poškozen obal.
- Spotřební materiál nebo reagenty nepoužívejte, pokud je ochranný váček při dodání otevřený nebo rozbitý.
- Nepoužívejte moč odebranou do nádob s konzervačními látkami. Analýza NeuMoDx CT/NG Assay s konzervačními látkami nebyla pro použití validována.
- Vzorky výtěrů by měly být odebírány pomocí polyesterového tampónu s plastovým aplikátorem. Před testováním vyjměte stěr z přepravního média. Analýza NeuMoDx CT/NG Assay nebyla pro použití s jinými typy stěrů validována.
- Vzorky výtěrů neodebírejte do jiných přepravních médiích než do média UTM-RT, UVT či do ekvivalentních medií. Analýza NeuMoDx CT/NG Assay s jinými transportními médii nebyla pro použití validována.
- Cytologické vzorky by měly být odebírány lékařem a podle pokynů pro odběr vzorků Pap testu ThinPrep® Pap Test. Pap testy ThinPrep® Pap Test jsou odebírány do kapaliny PreservCyt®.
- Cytologické vzorky neodebírejte do jiného média než do kapaliny PreservCyt®. Analýza NeuMoDx CT/NG Assay s jinými cytologickými konzervačními látkami nebyla pro použití validována.

- Cytologické vzorky by měly být před testováním na soustavách NeuMoDx System vytemperovány na pokojovou teplotu. U vzorků uchovávaných při teplotě 4 °C s 1 ml rozděleným do nové zkumavky se doporučuje inkubace po dobu 30 minut při pokojové teplotě. U plných nádob ThinPrep (~20 ml PreservCyt) uchovávaných při teplotě 4 °C se doporučuje inkubace po dobu 40 minut při pokojové teplotě.
- Minimální objem vzorku závisí na velikosti zkumavky a stojanu zkumavky se vzorkem tak, jak je definováno níže:
 - **Stojan na zkumavky se vzorkem (32 zkumavek):** Při použití sekundárních zkumavek vhodných do 32zkumavkového stojanu je třeba $\geq 700 \mu\text{l}$ vzorku; objem menší než specifikované minimum může přivodit chybu „Quantity Not Sufficient“ (Nedostatečné množství).
 - **Stojan na zkumavky se vzorkem (24 zkumavek):** Při použití primárních zkumavek je požadováno $\geq 2 \text{ ml}$ vzorku nebo $\geq 1,1 \text{ ml}$ vzorku, jsou-li používány sekundární zkumavky vhodné pro stojan na 24 zkumavek se vzorkem. Objem menší, než je specifikované minimum, může vést k chybě „Quantity Not Sufficient“ (Nedostatečné množství).
 - **Stojan na zkumavky se vzorkem o malém objemu (32 zkumavek):** Při používání sekundárních zkumavek vhodných do stojanu na zkumavky se vzorkem o malém objemu na 32 zkumavek je požadováno $\geq 650 \mu\text{l}$ vzorku moči nebo cytologického vzorku nebo $\geq 550 \mu\text{l}$ vzorku stěru. Objem menší, než je specifikované minimum, může vést k chybě „Quantity Not Sufficient“ (Nedostatečné množství).
- Provádění testu CT/NG u vzorků moči nebo ze stěrů starších více než 7 dní pomocí testovacích proužků NeuMoDx CT/NG Test Strip může přinést neplatné nebo chybné výsledky.
- Provádění testu CT/NG na cytologickém vzorku starším více než 30 dnů (uchovávaném při teplotě 2 až 30 °C) může vést k neplatným nebo chybným výsledkům (viz pokyny výrobce Pap testu ThinPrep® Pap Test).
- Vyvarujte se mikrobiální a deoxyribonukleázové (DNáza) kontaminaci reagensií. Doporučujeme použití sterilních jednorázových přenosových pipet bez obsahu DNázy. Na každý vzorek použijte novou pipetu.
- Abyste předešli kontaminaci, s kazetou NeuMoDx Cartridge po amplifikaci nemanipulujte ani ji nerozebírejte. Za žádných okolností nevytahujte zásobníky NeuMoDx Cartridge z nádoby na biologicky nebezpečný odpad. Zásobník NeuMoDx Cartridge je konstruován tak, aby kontaminaci zabránil.
- V případě, že laboratoř provádí také testy PCR s otevřenými zkumavkami, musí být zajištěno, že testovací proužek NeuMoDx CT/NG Test Strip, spotřební materiál a reagentie nezbytné k testování, ochranné osobní prostředky, jako například rukavice a laboratorní pláště, a soustava NeuMoDx System nejsou kontaminovány.
- Při manipulaci s reagensiemi a spotřebním materiálem NeuMoDx byste měli nosit čisté nitrilové rukavice bez obsahu pudru. Měli byste dávat pozor, abyste se nedotýkali vrchního povrchu zásobníku NeuMoDx Cartridge, fóliového těsnění testovacího proužku NeuMoDx CT/NG Test Strip, extrakční destičky NeuMoDx Extraction Plate ani horního povrchu lýžového pufru NeuMoDx Lysis Buffer 2; při manipulaci se spotřebním materiálem a reagensiemi byste se měli dotýkat pouze bočních stran.
- Pro každou reagensii jsou v příslušných případech na www.qiagen.com/neumodx-ifu k dispozici bezpečnostní listy (BL).
- Po provedení testu si důkladně umyjte ruce.
- Nepipetujte ústy. Nekuřte, nepijte nebo nejezte v prostorech, kde se manipuluje se vzorky nebo reagensiemi ze sady.
- Se vzorky vždy zacházejte tak, jako by byly infekční. Postupujte v souladu s bezpečnými laboratorními postupy, například těmi popsány v publikaci *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁷ a v dokumentu M29-A3¹⁸ institutu CLSI.
- Nepoužité reagentie a odpad likvidujte podle státních, federálních, oblastních a místních předpisů.
- Nepoužívejte opakovaně.

UCHOVÁVÁNÍ, MANIPULACE A STABILITA PRODUKTU

- Testovací proužky NeuMoDx CT/NG Test Strip jsou stabilní v primárním obalu po dobu expirace uvedenou na štítku produktu při skladování při teplotě 15 až 28 °C.
- Po uplynutí uvedeného data expirace spotřební materiály ani reagentie nepoužívejte.
- Nepoužívejte žádný testovací produkt, pokud byl primární či sekundární obal viditelně narušen
- Testovací proužek NeuMoDx CT/NG Test Strip může po vložení zůstat v přístroji soustavy NeuMoDx System po dobu 14 dnů. Zbývající životnost vložených testovacích proužků je sledována pomocí softwaru a hlášena uživateli v reálném čase. Soustava vyzve k vyjmutí testovacího proužku, který byl používán po uplynutí povolené doby.

ODBĚR, PŘEPRAVA A UCHOVÁVÁNÍ VZORKŮ

- Testovací proužek NeuMoDx CT/NG Test Strip byl testován za použití čistých vzorků ženské a mužské moči, vzorků z vaginálních výtěrů odebraných klinickým lékařem a pacientem a vzorků ze stěrů děložního hrdla a kapaliny PreservCyt z Pap testů ThinPrep Pap Test. Vzorky výtěrů by měly být odebírány pomocí tamponu s polyesterovou špičkou a s plastovým aplikátorem (UTM-RT, UVT nebo ekvivalent). Pap testy ThinPrep Pap Test by měly být odebírány podle doporučení výrobce. Provedení s jinými typy vzorků, než jsou uvedeny, nebyla hodnocena.
- Odebrané vzorky moči by měly být během přepravy uchovávané při teplotě 2 až 8 °C.
- Odebrané vzorky výtěrů by měly být během přepravy uchovávané při teplotě doporučené v soupravě na odběr výtěrů.

- Vzorky moči a výtěrů by před testováním měly být skladovány při teplotě 2 až 8 °C po dobu ne delší než 7 dní a při pokojové teplotě maximálně 24 hodin.
- Cytologické vzorky mohou být uchovávány při teplotě 2 až 30 °C po dobu až 30 dnů a používány podle doporučení výrobce (Hologic, Inc., MA, USA).

NÁVOD K POUŽITÍ

Odběr/přeprava vzorků

1. První zachycená moč (doporučeno CDC¹⁶) by měla být odebrána do pohárů na odběr moči bez konzervačních látek. Pokud je to možné, pacient by neměl močit alespoň 1 hodinu před odběrem vzorku.
2. Vaginální výtěry a také stěry z děložního hrdla odebrané klinickým lékařem a samotnou pacientkou by měly být odebrány dle pokynů výrobce dodaných spolu se zařízením pro odběr stěrů.
3. Cytologické vzorky by měly být odebírány lékařem podle pokynů výrobce dodaných spolu se soupravou Pap testu ThinPrep® Pap Test na odběr stěrů.
4. Pokud nejsou vzorky stěru a/nebo moči otestovány do 24 hodin, měly by být před testováním skladovány při teplotě mezi 2 až 8 °C po dobu až 7 dnů. Cytologické vzorky mohou být uchovávány při teplotě 2 až 30 °C po dobu až 30 dnů podle doporučení výrobce (Hologic, Inc., MA, USA).

Příprava testu – vzorek moči

1. Na zkumavku se vzorkem, kompatibilní se soustavou NeuMoDx System, nalepte štítek s čárovým kódem na vzorky.
2. Vzorkem moči v původní nádobě jemně zakružte, čímž dosáhnete rovnoměrného rozložení.
3. Pomocí jiné přenosové pipety nebo pipetového hrotu pro každý vzorek přeneste poměrnou část moči do zkumavky se vzorkem s čárovým kódem kompatibilní se soustavou NeuMoDx System.

Příprava testu – vzorek výtěru

1. Na zkumavku se vzorkem, kompatibilní se soustavou NeuMoDx System, nalepte štítek s čárovým kódem na vzorky. Primární odběrová zkumavka na stěr může být označena a umístěna přímo do stojanu se vzorky na 24 zkumavek. Alternativně může být alikvotní podíl média pro výtěry přenesen do sekundární zkumavky pro zpracování v soustavě NeuMoDx System.
2. Vzorek výtěru v hlavní nádobce krátce promíchejte, aby se dosáhlo rovnoměrné distribuce.
3. Pokud vzorek stěru testujete v primární odběrné zkumavce, umístěte zkumavku označenou čárovým kódem do 24zkumavkového stojanu a ujistěte se, že je před vložením do soustavy NeuMoDx System odstraněno víčko.
4. Pokud používáte sekundární zkumavku, přeneste alikvotní podíl vzorku stěru do zkumavky se vzorkem s čárovým kódem, která je kompatibilní se soustavou NeuMoDx System.

Příprava testu – cytologický vzorek

1. Na zkumavku se vzorkem, kompatibilní se soustavou NeuMoDx System, nalepte štítek s čárovým kódem na vzorky.
2. Kapalčinou PreservCyt jemně zakružte, abyste dosáhli rovnoměrného rozložení. Analýza NeuMoDx CT/NG Assay byla validována pouze u kapalných vzorků ThinPrep® Liquid po zpracování.
3. Pomocí jiné přenosové pipety nebo pipetového hrotu pro každý vzorek přeneste poměrnou část kapaliny PreservCyt do zkumavky se vzorkem s čárovým kódem kompatibilní se soustavou NeuMoDx System.

Provoz soustavy NeuMoDx System

Podrobné pokyny jsou uvedeny v návodech k obsluze molekulárních soustav NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System (výr. č. 40600108 a 40600317).

1. Podle požadovaného typu zkumavky se vzorkem (moč, přepravní médium nebo cytologie) a typu zkumavky načtete do soustavy NeuMoDx System objednávku testu. Pokud to není v objednávce testu definováno, použije se jako výchozí typ vzorku **Urine** (Moč) v **Secondary Tube** (Sekundární zkumavka).
2. Osadte jeden nebo více stojanů na testovací proužky NeuMoDx Test Strip Carrier s testovacím proužkem (testovacími proužky) NeuMoDx CT/NG Test Strip a pomocí dotykové obrazovky vložte stojany na testovací proužky do soustavy NeuMoDx System.
3. Pokud vás software soustavy NeuMoDx System vyzve, přidejte potřebné spotřební materiály ke stojanům na spotřební materiál soustavy NeuMoDx System nezbytný spotřební materiál a a pomocí dotykové obrazovky vložte stojany do soustavy NeuMoDx System.
4. Pokud vás software soustavy NeuMoDx System vyzve, vyměňte podle potřeby promývací reagenty NeuMoDx Wash Reagent, uvolňovací reagenty NeuMoDx Release Reagent, vyprázdněte odpadní reagentie z plnění, nádobu na biologicky nebezpečný odpad (pouze NeuMoDx 288), odpadní koš na hroty (pouze NeuMoDx 96) nebo koš na nebezpečný biologický odpad (pouze NeuMoDx 96).
5. Zkumavku (zkumavky) se vzorkem vložte do příslušného stojanu na zkumavky se vzorky a ujistěte se, že jsou ve všech zkumavek se vzorky odstraněna víčka.
6. Umístěte stojan zkumavek se vzorky na přihrádku automatického podavače a pomocí dotykové obrazovky vložte stojan do soustavy NeuMoDx System. Tím se zahájí zpracování vzorku (vzorků) vložených pro identifikované testy.

OMEZENÍ

- Testovací proužek NeuMoDx CT/NG Test Strip lze použít pouze na soustavách NeuMoDx System.
- Účinnost testovacího proužku NeuMoDx CT/NG Test Strip byla stanovena u vzorků mužské a ženské moči, vzorků z vaginálního výtěru a stěru z děložního hrdla odebraného lékařem nebo pacientem a cytologických vzorků v kapalině PreservCyt. Použití testovacího proužku NeuMoDx CT/NG Test Strip nebylo u jiných klinických zdrojů posuzováno a výkonové charakteristiky nejsou pro jiné typy vzorků známé.
- Protože detekce CT a NG závisí na množství přítomných organismů ve vzorku, závisí spolehlivost výsledků na správném odběru vzorků, manipulaci s nimi a jejich skladování.
- Chybné výsledky testu mohou nastat při nesprávném odběru vzorků, při nesprávném zacházení s nimi, nesprávném skladování vzorků, v případě technické chyby nebo smícháním vzorků. Kromě toho mohou nastat falešně negativní výsledky, protože počet organismů ve vzorku je nižší, než je analytická citlivost testu.
- Test mohou provádět pouze pracovníci, kteří absolvovali školení ohledně používání systému NeuMoDx System.
- Pokud se kontrola zpracování vzorku neamplifikuje a výsledek testu NeuMoDx CT/NG je Negative (Negativní), bude oznámen neplatný výsledek (Indeterminate (Neurčitý) nebo Unresolved (Nerozlišeno)) a test by měl být zopakován.
- Pozitivní výsledek testu nemusí nutně znamenat přítomnost životaschopných organismů. Avšak pro přítomnost DNA CT a/nebo NG je presumpční.
- Ačkoli nejsou známy žádné kmeny/izoláty NG, kterým by chyběly geny *opacity*, mohl by výskyt takového kmene za použití testovacího proužku NeuMoDx CT/NG Test Strip vést k chybnému výsledku.
- Test NeuMoDx CT/NG zahrnuje u CT jak genomové, tak plazmidové cíle (kryptický plazmid), čímž je zajištěna přesná detekce všech kmenů. Avšak, pokud kmeny/izoláty CT nemají v genomu gen kryptického plazmidu ani porinu, mohl by se chybný výsledek objevit.
- Detekce za použití analýzy NeuMoDx CT/NG Assay může být ovlivněna mutacemi v regionech vazby primeru/sondy.
- Výsledky z testu NeuMoDx CT/NG by měly být použity jako doplněk klinických pozorování a dalších informací, které má lékař k dispozici. Test není určen k odlišení nosičů s DNA CT a/nebo NG od nosičů s chlamydiovým a/nebo gonokokovým onemocněním.
- Výsledky testu mohou být ovlivněny souběžnou léčbou antibiotiky, jelikož po antimikrobiální terapii může být stále detekována DNA CT a NG.
- Aby nedošlo ke kontaminaci vzorků, doporučujeme správnou laboratorní praxi, včetně výměny rukavic mezi jednotlivými manipulacemi se vzorky pacientů.

VÝSLEDKY

Soustavy NeuMoDx Molecular System

Dostupné výsledky lze zobrazit na kartě „Results“ (Výsledky) v okně Results (Výsledky) na dotykové obrazovce soustavy NeuMoDx System, případně je lze odtud vytisknout. Výsledky analýzy NeuMoDx CT/NG Assay automaticky generuje software soustavy NeuMoDx System používající rozhodovací algoritmus a parametry zpracování výsledků popsané v souboru definic analýzy NeuMoDx CT/NG (Assay Definition File, ADF). Na základě stavu amplifikace cíle a kontroly zpracování vzorků (Sample Process Control, SPC1) se výsledek testu nazývá Positive (Pozitivní), Negative (Negativní), Indeterminate (IND, Neurčitý), No Result (NR, Bez výsledku) nebo Unresolved (UNR, Nerozlišeno).

Kritéria pro pozitivní či negativní hlášení jsou uvedena ve složce definic analýzy NeuMoDx System CT/NG (Assay Definition File, ADF), který je nainstalován na soustavě od firmy NeuMoDx. Výsledky jsou uváděny na základě rozhodovacího algoritmu ADF, shrnutého v *tabulce 1* uvedené níže.

Tabulka 1. Přehled algoritmu rozhodování testu NeuMoDx CT/NG

VÝSLEDEK	CÍLOVÁ CT a/nebo NG	KONTROLA ZPRACOVÁNÍ (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Pozitivní)	Amplified (Amplifikováno)	N/A
Negative (Negativní)	Not Amplified (Není amplifikováno)	Amplified (Amplifikováno)
Indeterminate[†] (Neurčitý)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Není amplifikováno, Byla zjištěna chyba soustavy, Zpracování vzorků dokončeno)	
No Result*[†] (Bez výsledku)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Není amplifikováno, Byla zjištěna chyba soustavy, Zpracování vzorků zrušeno)	
Unresolved[†] (Nerozlišeno)	Not Amplified, No System Error Detected (Neamplifikováno, Nebyla zjištěna žádná chyba systému)	

* Příznak No Result (Bez výsledku) je hlášen pouze u softwaru soustavy NeuMoDx System verze 1.8 a vyšší.

[†] Soustava NeuMoDx System je opatřena automatickou funkcí Rerun (Nová analýza) / Repeat (Opakovat), kterou si může koncový uživatel zvolit k zajištění, že výsledek IND/UNR/NR bude automaticky znovu zpracován, a tak se minimalizovaly prodlevy v hlášení výsledků.

Neplatné výsledky

Pokud se analýze NeuMoDx CT/NG Assay prováděné na soustavě NeuMoDx System nepodaří vyprodukovat platný výsledek, bude na základě typu chyby, ke které došlo, oznámen výsledek buď jako Indeterminate (IND, Neurčitý), No Result (NR, Bez výsledku), nebo Unresolved (UNR, Nerozlišeno).

Výsledek Indeterminate (Neurčitý) bude oznámen tehdy, pokud je během zpracování vzorků detekována chyba soustavy NeuMoDx System. V případě ohlášení výsledku IND doporučujeme test zopakovat.

Výsledek Unresolved (Nerozlišeno) bude oznámen, pokud není detekován žádný cíl a nedojde k žádné amplifikaci kontroly zpracování vzorku, což naznačuje možné selhání reagentie nebo přítomnost inhibitorů.

Pokud analýza NeuMoDx CT/NG Assay provedená na soustavě NeuMoDx System nedokáže přinést platný výsledek a zpracování vzorku se před dokončením přeruší, bude ohlášen výsledek No Result (NR, Bez výsledku).

POZNÁMKA: Při obdržení neplatného (IND (Neurčitý) /UNR (Nerozlišeno) / NR (Bez výsledku)) výsledku může uživatel *před* zopakováním analýzy provést nepovinný krok a po dobu 5–10 minut zahřívát vzorek na 85 °C.

Kontrola kvality

Místní předpisy obvykle stanoví, že laboratoř je odpovědná za kontrolní postupy, které monitorují přesnost a preciznost celého analytického procesu, a musí stanovit počet, typ a četnost testů kontrolních materiálů pomocí ověřených specifikací výkonu pro nemodifikovaný a schválený testovací systém.

1. Společnost NeuMoDx Molecular, Inc. nebude poskytovat externí (uživatelem definované) kontrolní materiály. Příslušné kontroly musejí být vybrány a validovány laboratoří. NeuMoDx Software (verze 1.8 a vyšší) umožňuje přiřazení více typů vzorků ke stejné sadě kontrol. Případně lze pro každý typ vzorku definovat samostatnou sadu kontrol. Externí kontrola musí splňovat stejné specifikace minimálního objemu jako klinické vzorky uvedené výše dle velikosti stojanu na zkumavky/vzorky. Uživatel smí stanovit konkrétní čárové kódy pro pozitivní a negativní kontrolu a pro matrici.
2. Doporučení: 10 µl pozitivní kontroly AcroMetrix™ CT/NG (Thermo Fisher Scientific REF 967146) naředěné v 1 ml moči s negativním obsahem CT/NG nebo komerčně dostupné chemické kontrole moči, jako kontrolní matrice moči, v 1 ml UTM-RT jako kontrolní matrice stěru, nebo v 1 ml kapaliny PreservCyt jako cytologická kontrolní matrice s použitím stojanu na 32 zkumavek. Při zpracování kontrolního materiálu umístěte označený kontrolní materiál do stojanu na zkumavky se vzorky a k založení stojanu do soustavy NeuMoDx System z přihrádky automatického podavače použijte dotykovou obrazovku. Soustava NeuMoDx System rozpozná čárové kódy a začne se zpracováním kontrolních materiálů, dokud nebudou vloženy příslušné reagentie nebo spotřební materiál nutný k testování.
3. Každý testovací proužek NeuMoDx CT/NG Test Strip obsahuje primery a sondu specifické pro kontrolu zpracování vzorků 1 (Sample Process Control, SPC1). Toto kontrolní zpracování vzorků umožňuje soustavě NeuMoDx System sledovat účinnost extrakce DNA a procesy amplifikace pomocí PCR.
4. Pozitivní výsledek testu ohlášený u negativní kontroly vzorku ukazuje na problém s kontaminací vzorku. Tipy pro řešení problémů naleznete v *návodu k obsluze molekulárních soustav NeuMoDx 288 Molecular System nebo NeuMoDx 96 Molecular System*.
5. Negativní výsledek u vzorku pozitivní kontroly může naznačovat problém související s reagentií nebo soustavou NeuMoDx System. Tipy pro řešení problémů naleznete v *návodu k obsluze molekulárních soustav NeuMoDx 288 Molecular System nebo NeuMoDx 96 Molecular System*.

VÝKONOVÁ CHARAKTERISTIKA

Klinická účinnost u vzorků moči

Klinická výkonná charakteristika analýzy NeuMoDx CT/NG Assay byla stanovena prostřednictvím interní retrospektivní srovnávací studie využívající reziduální vzorky moči pocházející ze tří (3) geograficky odlišně lokalizovaných laboratoří.

Reziduální vzorky moči byly anonymizovány a podle klinických laboratoří opatřeny unikátním identifikačním číslem, čímž vznikl důvěrný seznam spojující pacientovo ID s anonymizovanými vzorky testovanými za studijními účely. Bylo otestováno celkem 388 předem vyšetřených vzorků dodaných třemi klinickými laboratořemi. Mezi těmito 388 vzorky bylo 90 vzorků klinickými laboratořemi identifikováno jako CT pozitivní a 53 vzorků bylo identifikováno jako NG pozitivních. Některé vzorky byly pozitivně testovány jak na CT, tak na NG, což ukazuje na duální infekci nebo koinfekci. Výsledek testování těchto vzorků byl od pracovníka obsluhy odebrán pro provedení „slepého stanovení“. Výsledky hlášené ze specifických legálně prodávaných molekulárních zařízení schválených úřadem FDA a označených CE, využívaných laboratořemi pro standardní testování péče, byly použity k provedení analýzy srovnávání metod.

Výsledky testu NeuMoDx CT/NG poskytly klinickou senzitivitu 96,7 % u cílové CT a 98,1 % u cílové NG, oboje vykázaly CI 95 %. Klinická specifita ze studie byla stanovena na 99,7 % jak u CT, tak u NG, znovu při použití CI 95 %. Spodní a horní mez 95% intervalu spolehlivosti (Confidence Interval, CI) uvedené níže v *tabulkách 2A a 2B* byly vypočítány pomocí Wilsonovy metody s korekcí kontinuity.

Tabulka 2A.

Souhrn klinického výkonu u moči – soustava NeuMoDx 288
 Detekce bakterie *C. trachomatis* testovacím proužkem
 NeuMoDx CT/NG Test Strip

CT (vzorky moči)		FDA/CE		
		Výsledek referenčního testu		
		POZ	NEG	Celkem
NeuMoDx CT/NG test	POZ	87	1	88
	NEG	3	297	300
	Celkem	90	298	388
Klinická senzitivita (CT) = 96,7 % (89,9-99,1)				
Klinická specifická (CT) = 99,7 % (97,8-99,9)				

Tabulka 2B.

Souhrn klinického výkonu u moči – soustava NeuMoDx 288
 Detekce bakterie *N. gonorrhoeae* testovacím proužkem
 NeuMoDx CT/NG Test Strip

NG (vzorky moči)		FDA/CE		
		Výsledek referenčního testu		
		POZ	NEG	Celkem
NeuMoDx CT/NG test	POZ	51	1	52
	NEG	1	335	336
	Celkem	52	336	388
Klinická senzitivita (NG) = 98,1% (88,4-99,9)				
Klinická specifická (NG) = 99,7 % (98,1-99,9)				

Další testování bylo provedeno na molekulární soustavě NeuMoDx 96 Molecular System za použití zredukovaného počtu reziduálních klinických vzorků moči. Stejně jako u předchozího testování provedeného na zařízení NeuMoDx 288, byly výsledky získané ze zařízení NeuMoDx 96 porovnány s výsledky analýz schválených úřadem FDA a s označením CE používaných zdrojovými laboratoři pro běžné testování pacientů. V *Tabulce 2C* níže je shrnuto 208 platných výsledků s CI 95 %.

Tabulka 2C. Souhrn klinického výkonu u moči – soustava NeuMoDx 96 Detekce bakterií *C. trachomatis* a *N. gonorrhoeae* testovacím proužkem NeuMoDx CT/NG Test Strip

Shrnutí účinnosti	
(Analýza NeuMoDx CT/NG Assay na molekulární soustavě NeuMoDx 96 Molecular System ve srovnání s referenčními výsledky testů schválenými FDA / označenými CE)	
CT	NG
Senzitivita: 92,8 % (83,2–97,3)	Senzitivita: 92,8 % (83,2–97,3)
Specifičnost: 99,3% (95,4–99,9)	Specifičnost: 99,3% (95,4–99,9)

Na základě populace, účinnosti analýzy NeuMoDx CT/NG Assay na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System a zredukovaného počtu klinických vzorků testovaných na zařízení NeuMoDx 96, je předpokládána klinická senzitivita hodnota v rozmezí dvoustranného CI 95 % z (86,9 % – 100 %) u CT a (90,6 % – 100 %) u NG. Předpokládaná klinická specifická u obou cílů je hodnota v rozmezí dvoustranného CI 95 % z (98,6 % – 100 %). Klinická účinnost analýzy NeuMoDx CT/NG Assay, jak ukázalo dodatečné testování provedené na molekulární soustavě NeuMoDx 96 Molecular System, byla v rozmezí očekávaných hodnot tak, jak popisuje shrnutí v tabulce výše.

Klinická účinnost u vzorků ze stěrů

Klinická účinnost analýzy NeuMoDx CT/NG Assay při testování vzorků ze stěrů odebraných v UVT byla ověřena interní ověřovací studií za použití kombinace prospektivně odebraných klinických vzorků a reziduálních klinických vzorků ze dvou (2) geograficky odlišně lokalizovaných laboratoří. Pozitivní, uměle vytvořené vzorky byly použity spolu s dalšími klinickými vzorky kvůli relativně nízké míře prevalence cílových CT a NG u vzorků ze stěrů.

Prospektivní a reziduální vzorky ze stěrů byly anonymizovány a bylo jim přiděleno jedinečné identifikační číslo podle externí klinické laboratoře, která byla jejich zdrojem, čímž vzniklo důvěrné (a firmě NeuMoDx skryté) spojení pacientova ID s anonymizovanými vzorky testovanými za studijními účely. Bylo otestováno 110 vaginálních výtěrů a 121 stěrů z děložního hrdla, které poskytly dvě klinické laboratoře. Z těchto vzorků ze stěrů bylo 38 identifikováno jako pozitivních na CT a 9 jako pozitivních na NG. Dalších 48 vaginálních stěrů a 48 stěrů z děložního hrdla předem vyšetřených jako *negativní* na CT a NG bylo uměle obohaceno za účelem vytvořit umělé vzorky (kvůli nízké prevalenci CT a NG) v celkovém počtu dalších 96 pozitivních vzorků. Mezi těmito pozitivními vzorky byly některé vzorky pozitivní pouze na CT, pouze na NG nebo na oba cíle, CT i NG. K provedení srovnávací analýzy byly použity výsledky oznámené specifickými molekulárními zařízeními zákonným způsobem dodávanými na trh, schválenými úřadem FDA a s označením CE, které dodaly laboratoře, nebo *očekávané* výsledky z uměle vytvořených vzorků.

Výsledky srovnávací studie provedené klinickou metodou poskytly odhad klinické senzitivity (100 %) a klinické specifické (99,6 %) u cílového CT, a odhad klinické senzitivity (100 %) a klinické specifické (98,7 %) u cílového NG. Klinická senzitivita a klinická specifická mezi těmito dvěma typy stěrů byly dále velmi podobné. U matrice stěrů z děložního hrdla poskytly výsledky testu odhad klinické senzitivity (100 %) a klinické specifické (99,2 %) u cílové CT, a klinické senzitivity (100 %) a klinické specifické (99,1 %) u cílové NG. U matrice vaginálního výtěru poskytly výsledky testu odhad klinické senzitivity (100 %) a klinické specifické (100 %) u cílové CT, a klinické senzitivity (100 %) a klinické specifické (98,1 %) u cílové NG. Spodní a horní mez 95% intervalu spolehlivosti (Confidence Interval, CI) uvedené níže v *tabulkách 3A* a *3B* byly vypočítány pomocí Wilsonovy metody s korekcí kontinuity.

Tabulka 3A. Souhrn klinického výkonu u stěru (z děložního hrdla a vaginálního) – molekulární soustavy NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System, Detekce bakterie *C. trachomatis* testovacím proužkem NeuMoDx CT/NG Test Strip

CT (vzorky ze stěrů)		FDA/CE Výsledek referenčního testu		
		POZ	NEG	Celkem
NeuMoDx CT/NG test	POZ	62	1	63
	NEG	0	263	263
	Celkem	62	264	326
Klinická senzitivita (CT) = 100 % (92,7-100)				
Klinická specifická (CT) = 99,6 % (97,6-100)				

Tabulka 3B. Souhrn klinického výkonu u stěru (z děložního hrdla a vaginálního) – molekulární soustavy NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System, Detekce bakterie *N. gonorrhoeae* testovacím proužkem NeuMoDx CT/NG Test Strip

NG (vzorky ze stěrů)		FDA/CE Výsledek referenčního testu		
		POZ	NEG	Celkem
NeuMoDx CT/NG test	POZ	103	3	106
	NEG	0	220	220
	Celkem	103	223	326
Klinická senzitivita (NG) = 100 % (95,5-100)				
Klinická specifická (NG) = 98,7% (95,8-99,7)				

Klinická účinnost u vzorků cytologie

Klinická výkonová charakteristika analýzy NeuMoDx CT/NG Assay byla stanovena prostřednictvím interní retrospektivní srovnávací studie využívající reziduální vzorky cytologie PreservCyt pocházející z jediné klinické laboratoře.

Reziduální vzorky cytologie byly anonymizovány a podle klinických laboratoří opatřeny unikátním identifikačním číslem, čímž vznikl důvěrný seznam spojující pacientovo ID s anonymizovanými vzorky testovanými za studijními účely. Celkem bylo otestováno 83 předem vyšetřených vzorků dodaných klinickou laboratoří. Třicet dalších NG pozitivních vzorků bylo uměle vytvořeno z reziduálních negativních vzorků, takže celkem bylo testováno 113 vzorků. Mezi těmito 113 hodnocenými vzorky bylo 30 vzorků klinickými laboratořmi identifikováno jako CT pozitivní a 33 vzorků (30 z nich bylo vytvořeno uměle) bylo identifikováno jako NG pozitivních. Žádný z testovaných vzorků nebyl pozitivně testován na CT i NG. Výsledek testování těchto vzorků byl od pracovníka obsluhy odebrán pro provedení „slepého stanovení“. Výsledky hlášené ze specifických legálně prodávaných molekulárních zařízení schválených úřadem FDA a označených CE, využívaných laboratořemi pro standardní testování péče, byly použity k provedení analýzy srovnávací metod.

Výsledky testu NeuMoDx CT/NG poskytly klinickou senzitivitu 100 % u cílové CT a 97,0 % u cílové NG, oboje vykázaly 95% interval spolehlivosti (confidence interval, CI). Klinická specifická ze studie byla stanovena na 100% jak u CT, tak u NG, znovu při použití CI 95 %. Spodní a horní mez 95% intervalu spolehlivosti (Confidence Interval, CI) uvedené níže v *tabulkách 4A a 4B* byly vypočítány pomocí Wilsonovy metody bez korekce kontinuity.

Tabulka 4A. Souhrn klinického výkonu pro cytologické vzorky – molekulární soustavy NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System Detekce bakterie *C. trachomatis* testovacím proužkem NeuMoDx CT/NG Test Strip

CT (cytologické vzorky)		FDA/CE Výsledek referenčního testu		
		POZ	NEG	Celkem
NeuMoDx CT/NG test	POZ	30	0	30
	NEG	0	53	53
	Celkem	30	53	83
Klinická senzitivita (CT) = 100 % (88,7–100)				
Klinická specifická (CT) = 100 % (93,2–100)				

Tabulka 4B. Souhrn klinického výkonu pro cytologické vzorky – molekulární soustavy NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System Detekce bakterie *N. gonorrhoeae* testovacím proužkem NeuMoDx CT/NG Test Strip

NG (cytologické vzorky)		FDA/CE Výsledek referenčního testu		
		POZ	NEG	Celkem
NeuMoDx CT/NG test	POZ	32	0	32
	NEG	1	80	81
	Celkem	33	80	113
Klinická senzitivita (NG) = 97,0 % (84,7–99,5)				
Klinická specifická (NG) = 100 % (95,4–100)				

Analytická senzitivita – vzorky moči

Mez detekce analýzy NeuMoDx CT/NG Assay byla určena klinickou negativní močí obohacenou buď o kontrolu Acrometrix CT (sérotyp D), nebo o kontrolu Acrometrix NG, a to v koncentracích popsaných v tabulkách níže. Testy byly prováděny po dobu tří dnů s 10 replikáty u každé koncentrace na dvou molekulárních soustavách NeuMoDx 288 Molecular System za použití 3 šarží reagentů (20 replikátů/šarže a 60 celkem). Míry detekce jsou uvedeny v tabulkách 5A a 5B. Mez detekce CT byla určena jako 4,5 EB/ml a hodnota LoD pro NG byla 0,22 buněk/ml na základě Probit analýzy. Dodatečné testování bylo provedeno s redukováným počtem vzorků na molekulární soustavě NeuMoDx 96 Molecular System, kde Probit analýza určila LoD 7 EB/ml u CT a 0,3 buněk/ml u NG.

Mez detekce analýzy NeuMoDx CT/NG Assay se uvádí jako 6 EB/ml u CT a 5 buněk/ml u NG na základě výsledků interferenční studie uvedené později.

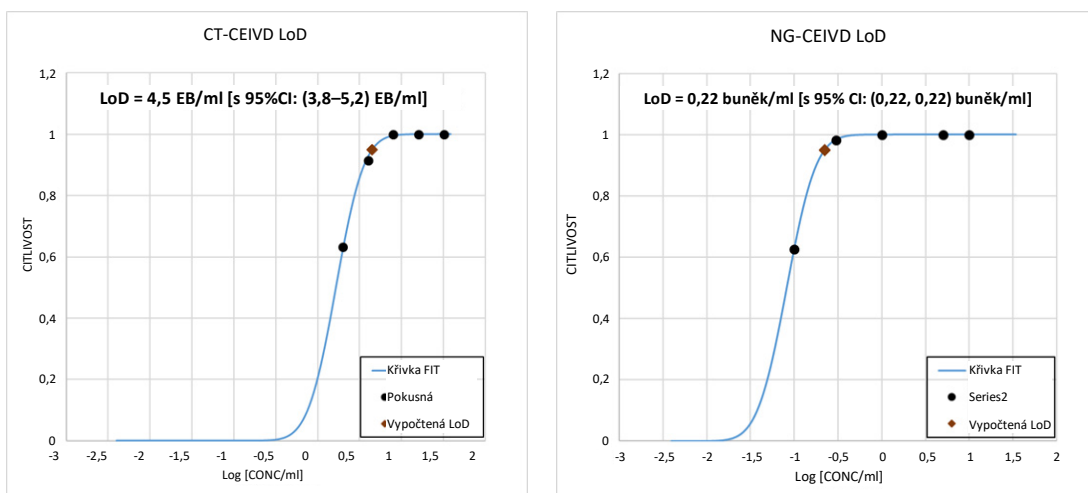
Tabulka 5A. Míra pozitivní detekce CT v moči použitá při měření LoD pro testovací proužek NeuMoDx CT/NG Test Strip

CT (EB/ml)	n	Počet pozitivních	% pozitivních	LoD (Probit)
32	60	60	100 %	4,5 EB/ml
16	60	60	100 %	
8	60	60	100 %	
4	59	54	91,5%	
2	60	38	63,3%	
0	60	0	0%	

Tabulka 5B. Míra pozitivní detekce NG v moči použitá při měření LoD pro testovací proužek NeuMoDx CT/NG Test Strip

NG (buněk/ml)	n	Počet pozitivních	% pozitivních	LoD (Probit)
10	58	58	100 %	0,22 buněk/ml
5	60	60	100 %	
1	60	60	100 %	
0,3	59	58	98,3%	
0,1	59	37	63,8%	
0	59	0	0%	

K určení LoD cílové CT 4,5 EB/ml a meze detekce cílové NG 0,22 buněk/ml byla použita Probit analýza dat v tabulkách výše [Obrázek 1].



Obrázek 1. Probit analýza k určení hodnoty LoD analýzy NeuMoDx CT/NG Assay za použití testovacích proužků NeuMoDx CT/NG Test Strip.

Analytická senzitivita – vzorky ze stěrů

Mez detekce analýzy NeuMoDx CT/NG Assay byla určena klinicky negativními stěry z děložního hrdla a vaginálními výtěry obohacenými buď o kontrolu Acrometrix CT (sérotyp D), nebo o kontrolu Acrometrix NG v koncentracích uvedených v tabulkách níže. Výsledky byly analyzovány metodou míry shody (hit-rate) a jako mez detekce u stěrů byla přijata hladina, při které bylo detekováno 95 % nebo víc. Míry detekce jsou uvedeny v *tabulkách 6A a 6B*. Mez detekce u CT byla stanovena na 20 EB/ml a hodnota LoD u NG byla 5 buněk/ml na základě míry detekce ≥ 95 %. Testování bylo provedeno u soustav NeuMoDx 288 a 96 System.

Tabulka 6A. Míra pozitivní detekce pro CT ve stěru použitá u měření LoD pro analýzu NeuMoDx CT/NG Assay

CT (EB/ml)	n	Počet pozitivních	% pozitivních	LoD (míra)	
Vaginální výtěr					
30	48	48	100 %	20 EB/ml	
20	48	48	100 %		
0	0	48	0%		
Stěr z děložního hrdla					
30	48	48	100 %		
20	48	48	100 %		
0	0	48	0%		

Tabulka 6B. Míra pozitivní detekce pro NG ve stěru použitá u měření LoD pro analýzu NeuMoDx CT/NG Assay

NG (buňky/ml)	n	Počet pozitivních	% pozitivních	LoD (míra shody)
Vaginální výtěr				5 buněk/ml
9	48	48	100 %	
5	48	47	98%	
0	0	48	0%	
Stěr z děložního hrdla				
9	48	48	100 %	
5	48	48	100 %	
0	0	48	0%	

Analytická senzitivita – vzorky z cytologie

Mez detekce analýzy NeuMoDx CT/NG Assay byla určena klinickou negativní kapalinou PreservCyt obohacenou buď o kontrolu Acrometrix CT (sérotyp D), nebo o kontrolu Acrometrix NG, a to v koncentracích popsaných v tabulkách níže. Výsledky byly analyzovány metodou míry shody (hit-rate) a jako mez detekce byla přijata hladina, při které bylo detekováno 95 % nebo víc. Míry detekce jsou uvedeny v *tabulkách 7A a 7B*. Mez detekce u CT byla stanovena na 15 EB/ml a hodnota LoD u NG byla 5 buněk/ml na základě míry detekce ≥ 95 %. Testování bylo provedeno u soustav NeuMoDx 288 a 96 System.

Tabulka 7A. Míra pozitivní detekce pro CT v cytologických vzorcích použitá u měření LoD pro analýzu NeuMoDx CT/NG Assay

CT (EB/ml)	n	Počet pozitivních	% pozitivních	LoD (míra shody)
15	40	40	100 %	15 EB/ml
0	40	0	0%	

Tabulka 7B. Míra pozitivní detekce pro NG v cytologických vzorcích použitá u měření LoD pro analýzu NeuMoDx CT/NG Assay

NG (buňky/ml)	n	Počet pozitivních	% pozitivních	LoD (míra shody)
5	40	40	100 %	5 buněk/ml
0	40	0	0%	

Detekce variant

Analytická senzitivita analýzy NeuMoDx CT/NG Assay byla dále potvrzena 14 různými sérotypy CT a 11 klinickými izoláty NG. Testování bylo provedeno za použití sérotypů CT a izolátů NG uvedených níže v *Tabulce 8*. Do negativních vzorků moči byla před testováním vpravena cílová CT nebo NG buď při hladině $\sim 1\times$, nebo $\sim 2\times$ LoD. Při hladinách blízkých LoD byla získána detekce minimálně 95 % a při hladinách blízkých se $2\times$ LoD byla pozorována 100 % detekce jak u variant CT, tak u variant NG, což neukazuje na žádný velký rozdíl v detekci relevantních sérotypů CT a reprezentativního souboru izolátů NG.

Tabulka 8. Testované sérotypy CT/NG

Sérotyp CT	Míra detekce (%)		Klinický izolát NG [č. ATCC]	Míra detekce (%)		
	6 EB/ml	12 EB/ml		0,25 buněk/ml	0,5 buněk/ml	
A	N/A	100	49981	100	100	
B		100	31426	100	100	
Ba		100	31407	100	100	
C		100	27633	N/A	100	
LGV I		100	9793		100	
LGV II		100	43070		100	
LGV III		100	51109		100	
E		100	100		35542	100
F		95	100		35541	100
G		95	100		49498	100
H	100	100	49926		100	
I	95	100				
J	100	100				
K	100	100				

Analytická specifčnost

Při testování testovacím proužkem NeuMoDx CT/NG Test Strip bylo celkem 113 kultivovaných izolátů DNA z organismů potenciálně kohabituujících nebo fylogeneticky podobných buď CT nebo NG hodnoceno na možnou zkříženou reaktivitu. Organismy byly připraveny ve směsích po 5 až 6 organismech na každou směs a testovány při vysoké koncentraci. Většina organismů byla vpravena do moči negativní na CT/NG na přibližně 1×10^6 CFU/ml, kromě některých organismů z komerčních zdrojů, z nichž bylo do moči negativní na CT/NG vpraven vysoký počet kopií DNA (10 ng/ml). U žádného z patogenů testovaných v této studii nebyla pozorována zkřížená reaktivita. Seznam testovaných organismů je uveden v Tabulce 9 na následující straně.

Tabulka 9. Seznam patogenů použitých k prokázání analytické specifčnosti

Bakterie	Bakterie	Bakterie
<i>Achromobacter xerosis</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Peptostreptococcus productus</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Kingella dentrificans</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Rahnella aquatilis</i>
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	<i>Lactobacillus jensenii</i>	<i>Rhodospirillum rubrum</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Brevibacterium linens</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Moraxella osloensis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Chromobacterium violaceum</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Streptococcus mutans</i> , Serogroup A
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> , Serogroup A	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> , Serogroup B	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> , Serogroup C	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> , Serogroup D	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> , Serogroup Y	<i>Streptomyces griseus</i>
<i>Dexia gummosa</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> , Serogroup W135	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Neisseria cinerea</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Elizabethkingia miricola</i>	<i>Neisseria elongata</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria flavescens</i>	<i>Weissella paramesenteroides</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Neisseria lactamica</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	Viry
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria sicca</i>	Cytomegalovirus
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Neisseria subflava</i>	Herpes simplex virus I
<i>Erwinia herbicola</i>	<i>Neisseria perflava</i>	Herpes simplex virus II
<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria polysaccharea</i>	Lidský papilomavirus 16

Interferující látky – komenzální organismy

Testovací proužek NeuMoDx CT/NG Test Strip byl na interferenci testován za přítomnosti nečlověho organismu (kohabituujícího v urogenitálním traktu) vyhodnocením analýzy NeuMoDx CT/NG Assay při nízké hladině CT a NG na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System. Pro tuto studii byl použit stejný panel 113 organismů [tabulka 9] jako pro hodnocení zkřížené reaktivity. Organismy byly smíseny do skupin po 5-6 ve vzorcích moči negativních na CT/NG a obohaceny o 18 EB/ml elementárních složek očištěných od CT a 0,75 buněk/ml kontroly buněk NG. U žádného z komenzálů nebyla pozorována interference, s výjimkou detekce cílové NG, která byla při nízkých hladinách ($3 \times \text{LoD}$) nepříznivě ovlivněna za přítomnosti vysokých hladin cílové CT ($> 1,0 \times 10^6$ EB/ml). V tomto případě vysoká hladina CT ovlivnila detekci NG při koncentracích pod $20 \times \text{LoD}$ (~ 5 buněk/ml) a v důsledku toho by mez detekce za přítomnosti vysoké hladiny cílové CT na pozadí byla 5 buněk/ml.

Interferující látky – endogenní a exogenní látky vzniklé v klinických vzorcích moči s CT/NG

Do vzorků moči byly individuálně vpraveny následující potenciálně interferující složky [Tabulka 10]: krev (7 %), močové analyty, protein, glukóza, urobilinogen, pH 4 (acidní), pH 9 (alkalický), leukocyty ($1,0 \times 10^6$ buněk/ml). Všechny látky byly testovány na možnou interferenci za nepřítomnosti i přítomnosti CT a NG (u $3 \times 10 \times \text{LoD}$). U žádných z testovaných látek nebyla pozorována interference.

Tabulka 10. Exogenní a endogenní interferující látky testované u vzorků moči

	Interferující látka
Endogenní	Bilirubin, ~10 mg/dl
	Glukóza, 1 000 mg/dl
	pH 4
	pH 9
	Protein (albumin), 50 mg/ml
	Krev, 7 %
	Leukocyty (PBMC), $1E6$ buněk/ml
Exogenní	*Zásyp, 0,1 %

* 2 ze 3 NG vzorků testovaných při $3 \times \text{LoD}$ počátku za přítomnosti zásypu neamplifikovaly ale při opakovaném testu dle očekávání k amplifikaci došlo.

Interferující látky – endogenní a exogenní látky vzniklé v klinických vzorcích ze stěrů s CT/NG

Do klinických vzorků ze stěrů z děložního hrdla a z vaginálních výtěrů byly individuálně vpraveny následující potenciálně interferující složky [Tabulka 11]: krev (10 %), mucin, PBMC ($1,0 \times 10^5$ buněk/ml), progesteron, Monistat® 1, zvlhčovač Vagisil®, osobní lubrikační gel K-Y™ Jelly, irigátor Yeast-Gard Advanced™ a semenná tekutina. Všechny látky byly testovány na možnou interferenci za přítomnosti CT a NG (u $3 \times 10 \times \text{LoD}$). U žádných z látek nebyla v koncentracích uvedených níže pozorována interference.

Tabulka 11. Testované exogenní a endogenní interferující látky – ve vzorcích výtěrů

	Interferující látka
Endogenní	Krev, 10%
	*Mucin, ~13,5 mg/ml
	PBMC, $1E5$ buněk/ml
Exogenní	Progesteron, ~7 mg/ml
	Monistat 1, ~22 mg/ml
	Zvlhčovač Vagisil, ~7 mg/ml
	Osobní lubrikační gel K-Y Jelly, ~43 mg/ml
	Výplach Yeast-Gard Advanced Douche, ~32 mg/ml
	Semenná tekutina, ~13,5 mg/ml

* Mucin dávkován od 0,8 % objemu

Interferující látky – endogenní a exogenní látky vzniklé v klinických vzorcích cytologie s CT/NG

Do klinických vzorků PreservCyt byly individuálně vpraveny následující potenciálně interferující složky [tabulka 12]: krev (10 %), mucin, PBMC ($1,0 \times 10^5$ buněk/ml), výplach Yeast-Gard Advanced Douche, semenná tekutina, progesteron, krém proti svědění Vagisil, vaginální krém Clotrimazol, krém Preparation H®, Monistat 1, krém na opary Abreva®, zvlhčovač Vagisil, osobní lubrikační gel K-Y Jelly, antikoncepční pěna Delfen a vaginální krém Metronidazol. Všechny látky byly testovány na možnou interferenci za přítomnosti CT a NG v koncentracích $10 \times \text{LoD}$. U žádných z látek nebyla v koncentracích uvedených níže pozorována interference.

Tabulka 12. Exogenní a endogenní interferující látky testované u cytologických vzorků

	Interferující látka
Endogenní	Krev, 10 % obj./obj.
	Mucin, 0,25 % hm./obj.
	PBMC, 1E5 buněk/ml
Exogenní	Výplach Yeast-Gard, 5 % obj./obj.
	Semenná tekutina, 5 % obj./obj.
	Progesteron, 5,6 mg/ml
	Krém proti svědění Vagisil, 4,2 mg/ml
	Vaginální krém Klotrimazol, 5,6 mg/ml
	Preparation H, 10,9 mg/ml
	Monistat 1, 5,6 mg/ml
	Krém na opary Abreva, 7 mg/ml
	Zvlhčovač Vagisil, 5,6 mg/ml
	Osobní lubrikační gel K-Y, 11,8 mg/ml
	Antikoncepční pěna Delfen, 5,6 mg/ml
	Vaginální krém Metronidazole, 18 mg/ml

Vnitrolaboratorní preciznost

Vnitřní laboratorní preciznost u analýzy NeuMoDx CT/NG Assay byla ověřena pomocí plánu kontrolovaného testu po dobu 12 dnů, které nenásledovaly bezprostředně po sobě, s využitím tří odlišných přístrojů a několika pracovníků obsluhy. Každý přístroj (NeuMoDx 288 Molecular System) zpracoval dvě sady vzorků za den, za střídání pracovníků obsluhy a dvou odlišných šarží reagentů, které byly rozděleny mezi přístroje. Sada vzorků byla stanovena jako tři replikáty pro každou z pěti různých hladin (True Negative (Skutečně negativní), Low Negative (Dolní záporná hodnota), Moderate Negative (Mírně negativní), Low Positive (Dolní kladná hodnota) a Moderate Positive (Mírně pozitivní)) u celkového počtu 15 vzorků na sadu a soustavu. Vzorky byly připraveny za použití smíšených, vyšetřených vzorků moči od zdravých dárců. V této studii bylo analyzováno celkem 72 sad vzorků (1 080 testů). Výsledky jsou uvedeny v *tabulkách 13–15*.

Tabulka 13. Shrnutí vnitrolaboratorní preciznosti

Vzorek	Testované hladiny		Replikáty/ sada	Vzorky/den (mezi 3 soustavami)	Vzorky / celkem 12 dnů
	<i>Chlamydia trachomatis</i> EB/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> buněk/ml			
Moderate Positive (MP; mírně pozitivní) <i>8× LoD</i>	48	2,0	3	18	216
Low Positive (Dolní kladná hodnota) (LP) <i>2,5× LoD</i>	15	0,625	3	18	216
Moderate Negative (Mírně negativní) (MN) ředění 1 : 10 u koncentrace 1 × LoD	0,6	0,025	3	18	216
Low Negative (dolní záporná hodnota) (LN) Ředění 1× LoD 1 : 100	0,06	0,0025	3	18	216
True/Blank Negative (Pravdivá/Slepá negativní) (TN) <i>0 cíle</i>	0	0	3	18	216
Celkový počet testovaných vzorků				90	1080

Tabulka 14A. Cílová CT: Kvalitativní výsledky z měření vnitřní laboratorní preciznosti (napříč přístroji)

Vzorek	Přístroj 1	Přístroj 2	Přístroj 3	Celkem
	Procento pozitivních výsledků	Procento pozitivních výsledků	Procento pozitivních výsledků	Procento pozitivních výsledků
MP	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (216/216)
LP	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (216/216)
MN	19,4 % (14/72)	25 % (18/72)	26,4 % (19/72)	23,6 % (51/216)
LN	1,4 % (1/72)	1,4 % (1/72)	1,4 % (1/72)	1,4 % (3/216)
TN	0 % (0/72)	0 % (0/72)	0 % (0/72)	0 % (0/216)

Tabulka 14B. Cílová NG: Kvalitativní výsledky z měření vnitřní laboratorní preciznosti (napříč přístroji)

Vzorek	Přístroj 1	Přístroj 2	Přístroj 3	Celkem
	Procento pozitivních výsledků	Procento pozitivních výsledků	Procento pozitivních výsledků	Procento pozitivních výsledků
MP	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (216/216)
LP	100 % (72/72)	100 % (72/72)	98,6 % (71/72)	100 % (216/216)
MN	20,8 % (15/72)	23,6 % (17/72)	16,7 % (12/72)	20,3 % (44/216)
LN	0 % (0/72)	2,8 % (2/72)	0 % (0/72)	0,9 % (2/216)
TN	0 % (0/72)	0 % (0/72)	0 % (0/72)	0 % (0/216)

Tabulka 15A. Cílová CT: Kvantitativní analýza parametrů z vnitřní laboratorní preciznosti (napříč přístroji)

Vzorek	Přístroj 1			Přístroj 2			Přístroj 3			Celkem		
	Prům. Ct	SMODCH	% CV*	Prům. Ct	SMODCH	% CV	Prům. Ct	SMODCH	% CV	Prům. Ct	SMODCH	% CV*
MP	31,23	0,67	2,1%	31,34	0,44	1,4%	31,28	0,69	2,2%	31,28	0,61	2,0%
LP	32,52	0,62	1,9%	32,34	0,53	1,6%	32,52	0,68	2,1%	32,46	0,62	1,9%
MN	N/A											
LN												
TN												

Tabulka 15B. Cílová NG: Kvantitativní analýza parametrů z vnitřní laboratorní preciznosti (napříč přístroji)

Vzorek	Přístroj 1			Přístroj 2			Přístroj 3			Celkem		
	Prům. Ct	SMODCH	% CV*	Prům. Ct	SMODCH	% CV	Prům. Ct	SMODCH	% CV	Prům. Ct	SMODCH	% CV*
MP	30,76	0,31	1,0%	30,83	0,30	1,0%	30,91	0,31	1,0%	30,83	0,31	1,0%
LP	31,86	0,42	1,3%	31,85	0,43	1,4%	31,95	0,65	2,0%	31,89	0,51	1,6%
MN	N/A											
LN												
TN												

Nežádoucí příměsi a křížová kontaminace

Na soustavě NeuMoDx 288 Molecular System byly pomocí testovacího proužku NeuMoDx CT/NG Test Strip provedeny studie potenciálních nežádoucích příměsí ve vzorku a křížové kontaminace pro matrice moči i cytologie. Obě studie byly provedeny ve dvou částech. První hodnotila dopad na vzorky negativní na CT a NG, které byly promíchány se vzorky obsahujícími vysoký podíl cílové CT a NG. Pozitivní a negativní vzorky byly do soustavy NeuMoDx System vloženy tak, aby každý negativní vzorek přiléhá k vysoce pozitivnímu vzorku. Druhá část této studie zpracovala všechny negativní vzorky okamžitě po cyklu zpracování všech vzorků s vysokou koncentrací CT a NG. U negativních vzorků promísených se vzorky s vysokou hladinou, a ani u negativních vzorků, které následovaly po vzorcích s vysokou koncentrací CT a NG nebyla spatřena žádná kontaminace, čímž byl prokázán nedostatek jakýchkoli nežádoucích příměsí a/nebo křížové kontaminace. Další testování bylo provedeno na molekulární soustavě NeuMoDx 96 Molecular System a výsledky byly potvrzeny, jelikož se neobjevil žádný důkaz nějaké nežádoucí příměsí nebo křížové kontaminace.

Shoda čerstvých a zmrazených vzorků

Bylo provedeno testování k prokázání ekvivalence matrice vzorků mezi čerstvou a zmrazenou čistou močí, vzorky z vaginálního stěru a stěru z děložního hrdla. Byly obstarány klinické vzorky moči a prospektivní vaginální stěry a stěry z děložního hrdla, a ty byly vyšetřeny na CT a NG. Negativní vzorky byly uměle obohaceny o elementární složky CT a buňky NG při 2x LoD (moč) a 3x LoD (stěr) analýzy NeuMoDx CT/NG Assay. Každý vzorek byl poté rovnoměrně rozdělen na dvě poměrné části, z nichž jedna byla testována okamžitě a druhá po jednom cyklu zmrazení/rozmrázení při -20 °C. U výsledků z čerstvé a zmrazené moči a vzorků ze stěrů byla regresní analýzou porovnána ekvivalence. Údaje prokázaly vynikající ekvivalenci mezi čerstvou a zmrazenou močí a čerstvými a zmrazenými vzorky ze stěrů.

Účinnost kontroly

Na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System byla vyhodnocena účinnost kontroly zpracování vzorků obsažených v testovacím proužku NeuMoDx CT/NG Test Strip, která má ohlásit selhání jakéhokoli kroku zpracování nebo inhibici ovlivňující výkon testu NeuMoDx CT/NG Test. Testované podmínky jsou reprezentativní pro kritická selhání procesních kroků, k nimž by mohlo případně dojít během zpracování vzorku a *nemusejí být detekovány* přístrojovými snímači, které monitorují výkon soustavy NeuMoDx System. Účinnost kontroly byla hodnocena simulací selhání různých kroků toku zpracování vzorku s cílem napodobit potenciální chybu systému. Účinnost byla dále hodnocena obohacením vzorku známým inhibitorem za účelem pozorování efektu neúčinného zmírnění vlivu inhibitoru na detekci kontroly zpracování vzorku (viz *tabulka 16*). V případech, kdy chyby ve zpracování neměly neblahý dopad na výkon kontroly zpracování vzorků (NO WASH (BEZ PROMYTÍ) / NO WASH BLOWOUT (BEZ PROČIŠTĚNÍ)), byl test zopakován také se vzorky obsahujícími nízké hladiny CT a NG (blízko LoD) za účelem potvrdit, že chyba ve zpracování nemá ŽÁDNÝ neblahý vliv ani na detekci cílové CT nebo NG. *Tabulka 16* shrnuje výsledky účinnosti kontrolního ověřovacího testu.

Tabulka 16. Shrnutí údajů o účinnosti kontroly

Podmínka	Očekávaný výsledek	Pozorovaný výsledek
Normal Processing (Běžné zpracování)	Negative (Negativní)	Negative (Negativní)
Normal Processing + Inhibitor (Běžné zpracování + inhibitor)	Unresolved (Nerozlišeno)	Unresolved (Nerozlišeno)
No Wash Reagent (Bez promývací reagentie)	Unresolved (Nerozlišeno) nebo Negative (Negativní)	Negative (Negativní)
No Wash Blowout (Bez pročištění)	Unresolved (Nerozlišeno) nebo Negative (Negativní)	Negative (Negativní)
No Release Reagent (Bez uvolňovací reagentie)	Indeterminate (Neurčitý)	Indeterminate (Neurčitý)
No PCR Master Mix Reagents (Bez reagentů PCR hlavní směsi)	Indeterminate (Neurčitý)	Indeterminate (Neurčitý)

Stabilita vzorků moči v systému

Vzorky moči negativní na CT a NG byly uměle obohaceny o 2 hladiny cílové CT a NG a zpracovány se stejným množstvím negativních vzorků pomocí analýzy NeuMoDx CT/NG Assay. Na konci zpracování byly všechny zkumavky s pozitivními a negativními vzorky ponechány na pracovním stole soustavy po dobu 24 hodin. Další testy na zkumavkách se vzorky ponechaných na pracovním stole soustavy byly provedeny 4 h, 8 h a 24 hodin po počátečním časovém bodu. Očekávaný výsledek ve všech časových bodech byl u všech vzorků moči obohacených o cílové CT a NG POSITIVE (POZITIVNÍ) (pro příslušný cíl) a NEGATIVE (NEGATIVNÍ) (u obou cílů) ve vzorcích moči, které cílem obohaceny nebyly. Ve všech časových bodech, včetně 24hodinového časového bodu, byla pozorována úplná shoda s očekávaným výsledkem, což naznačuje, že u analýzy NeuMoDx CT/NG Assay byla prokázána stabilita při ponechání v přístroji po dobu 24 hodin. Výsledky jsou shrnuty v níže uvedené *Tabulce 17*.

Tabulka 17. Shrnutí údajů týkajících se stability vzorků moči v systému

Stabilita vzorků ponechaných v přístroji, moč		T ₀	4 h	8 h	24 h
		% shoda	% shoda	% shoda	% shoda
NG pozitivní ATCC-31426	10 buněk/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
	20 buněk/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
CT pozitivní ATCC_VR-879	10 EB/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
	20 EB/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Negative (Negativní)		100 %	100 %	100 %	100 %

Stabilita vzorků ze stěru v systému

CT a NG negativní vaginální vzorky a vzorky z děložního hrdla byly obohaceny o 2 hladiny cílové CT a NG a zpracovány se stejným množstvím negativních vzorků pomocí analýzy NeuMoDx CT/NG Assay. Na konci zpracování byly všechny zkumavky s pozitivními a negativními vzorky ponechány na pracovním stole soustavy po dobu 24 hodin. Další testy na zkumavkách se vzorky ponechaných na pracovním stole soustavy byly provedeny 4 h, 8 h a 24 hodin po počátečním časovém bodu. Očekávaný výsledek ve všech časových bodech byl u všech vzorků ze stěru obohacených o cílové CT a NG POSITIVE (POZITIVNÍ) (pro příslušný cíl) a NEGATIVE (NEGATIVNÍ) (u obou cílů) ve vzorcích ze stěru, které cílem obohaceny nebyly. Ve všech časových bodech, včetně 24hodinového časového bodu, byla pozorována úplná shoda s očekávaným výsledkem, což naznačuje, že u analýzy NeuMoDx CT/NG Assay byla prokázána stabilita při ponechání v přístroji po dobu 24 hodin. Výsledky jsou shrnuty v níže uvedených *tabulkách 18A a 18B*.

Tabulka 18A. Shrnutí údajů týkajících se stability vzorků stěru z děložního hrdla v systému

Stabilita vzorků ponechaných v přístroji, stěr z děložního hrdla		T ₀	4 h	8 h	24 h
		% shoda	% shoda	% shoda	% shoda
NG pozitivní ATCC-31426	15 buněk/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
	50 buněk/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
CT pozitivní ATCC_VR-879	60 EB/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
	200 EB/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Negative (Negativní)		100 %	100 %	100 %	100 %

Tabulka 18B. Shrnutí údajů týkajících se stability vzorků vaginálního výtěru v systému

Stabilita vzorků ponechaných v přístroji, vaginální výtěr		T ₀	4 h	8 h	24 h
		% shoda	% shoda	% shoda	% shoda
NG pozitivní ATCC-31426	15 buněk/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
	50 buněk/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
CT pozitivní ATCC_VR-879	60 EB/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
	200 EB/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Negative (Negativní)		100 %	100 %	100 %	100 %

Stabilita vzorků cytologie v systému

Vzorky cytologie negativní na CT a NG byly uměle obohaceny s jednotlivým cílem při 3× LoD pro každý cíl (45 EB/ml pro CT a 15 buněk/ml pro NG, AcroMetrix) a zpracovány se stejným množstvím negativních vzorků pomocí analýzy NeuMoDx CT/NG Assay. Na konci zpracování byly všechny zkumavky s pozitivními a negativními vzorky ponechány na pracovním stole soustavy po dobu 24 hodin. Další testy na zkumavkách se vzorky ponechaných na pracovním stole soustavy byly provedeny 4 h, 8 h a 24 hodin po počátečním časovém bodu. Očekávaný výsledek ve všech časových bodech byl u všech vzorků cytologie obohacených o cílové CT a NG POSITIVE (POZITIVNÍ) (pro příslušný cíl) a NEGATIVE (NEGATIVNÍ) (u obou cílů) ve vzorcích cytologie, které cílem obohaceny nebyly. Ve všech časových bodech, včetně 24hodinového časového bodu, byla pozorována úplná shoda s očekávaným výsledkem, což naznačuje, že u analýzy NeuMoDx CT/NG Assay byla prokázána stabilita při ponechání v přístroji po dobu 24 hodin. Výsledky jsou shrnuty v níže uvedené *Tabulce 19*.

Tabulka 19. Shrnutí údajů týkajících se stability vzorků stěru z děložního hrdla v systému

Stabilita vzorku v přístroji, cytologické vzorky		T ₀	4 h	8 h	24 h
		% shoda	% shoda	% shoda	% shoda
NG pozitivní	15 buněk/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
CT pozitivní	45 EB/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Negative (Negativní)		100 %	100 %	100 %	100 %














REFERENCE

1. The CDC Annual Sexually Transmitted Disease Surveillance Report. <https://www.cdc.gov/std/stats16/exordium.htm>
2. Yuan, Y., Y-X. Zhang, N. G. Watkins, and H. D. Caldwell. 1989. Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars. *Infect. Immun.* 57:1040-1049.
3. Cates, Jr., W., and J. N. Wasserheit. 1991. Genital chlamydia infections: epidemiology and reproductive sequelae. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 164:1771-1781.
4. Holmes, K. K., H. H. Handsfield, S. P. Wang, B. B. Wentworth, M. Turck, J. B. Anderson, and E. R. Alexander. 1975. Etiology of nongonococcal urethritis. *NEJM* 292:1199-1205.
5. Schachter, J., E. C. Hill, E. B. King, V. R. Coleman, P. Jones, and K. F. Meyer. 1975. Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 123:753-757.
6. Schachter, J. 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). *NEJM* 298:540-549.
7. Frommell, G. T., R. Rothenberg, S. Wang, and K. McIntosh. 1979. Chlamydial infection of mothers and their infants. *Journal of Pediatrics* 95:28-32.
8. Schachter, J., and M. Grossman. 1981. chlamydial infections. *Ann. Rev. Med.* 32:45-61.
9. Scholes D, Stergachis A, Heidrich FE, et al. Prevention of pelvic inflammatory disease by screening for cervical chlamydial infection. *N Eng J Med.* 1996;334(21):1362–1366.
10. Low N, Bender N, Nartey L, et al. Effectiveness of chlamydia screening: systematic review. *Int J Epidemiol.* 2009;38(2):435–448.
11. Aghaizu A, Adams EJ, Turner K, et al. What is the cost of pelvic inflammatory disease and how much could be prevented by screening for *Chlamydia trachomatis*? Cost analysis of the Prevention Of Pelvic Infection (POPI) trial. *Sex Transm Infect.* 2011;87(4):312–317.
12. Oakeshott P, Kerry S, Aghaizu A, et al. Randomised controlled trial of screening for *Chlamydia trachomatis* to prevent pelvic inflammatory disease: the POPI (prevention of pelvic infection) trial. *BMJ* 2010; 340: c1642.
13. Fleming DT, Wasserheit JN. From epidemiological synergy to public health policy and practice: the contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection. *Sex Transm Infect* 1999; 75(1): 3–17.
14. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *MMWR Recomm Rep* 2015; 64(RR-3): 1–137. Erratum in: *MMWR* 2015; 64(33): <https://www.cdc.gov/std/tg2015/screening-recommendations.htm>
15. Hook EW III, Handsfield HH. Gonococcal infections in the adult. In: Holmes KK, Sparling FF, Stamm WE, et al., eds. *Sexually transmitted diseases*. 4th ed. New York, NY: McGraw-Hill Companies, Inc.; 2007:627–45.
16. Recommendations for the Laboratory-Based Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* — Center for Disease Control and Prevention, *MMWR*, March 14, 2014.
17. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014

OCHRANNÉ ZNÁMKY

NeuMoDx™ a NeuDry™ jsou obchodní značky společnosti NeuMoDx Molecular, Inc.
 Abreva® je registrovaná ochranná známka společnosti GlaxoSmithKline Consumer Healthcare.
 AcroMatrix™ je ochranná známka společnosti Thermo Fisher Scientific.
 BD™ and BD™ UVT jsou ochranné známky společnosti Becton, Dickinson and Company.
 cobas® je registrovaná obchodní značka společnosti Roche Diagnostics Operations, Inc.
 Hamilton® je registrovaná ochranná známka společnosti Hamilton.
 Hologic® je registrovaná obchodní značka společnosti Hologic, Inc. a/nebo jejích poboček.
 K-Y™ je obchodní značka společnosti Reckitt Benckiser (Brands) Limited.
 Monistat® 1 je registrovaná obchodní značka společnosti Insight Pharmaceuticals.
 Preparation H® je registrovaná ochranná známka společnosti WHITEHALL PHARMACAL COMPANY.
 TaqMan® je registrovaná ochranná známka společnosti Roche Molecular Systems, Inc.
 UTM® je obchodní značka společnosti Copan Italia S.P.A.
 Vagisil® je registrovaná obchodní značka společnosti Combe Incorporated.
 Yeast-Gard Advanced™ Douche je obchodní značka společnosti Lake Consumer Products, Inc.

LEGENDA K SYMBOLŮM

R only	Pouze na lékařský předpis		Omezení teploty
	Výrobce		Nepoužívejte opakovaně
	Zdravotnický prostředek pro diagnostiku in vitro		Obsahuje dostatečné množství pro <n> testů
	Autorizovaný zástupce v Evropském společenství		Prostudujte si návod k použití
	Katalogové číslo		Upozornění
	Číslo šarže		Biologická rizika
	Datum spotřeby		Značka CE



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

Zadavatel (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



Technická podpora / vigilanční hlášení: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents