

GeneXpert.
Powered By CEPHEID INNOVATION

Xpert[®]GBS

REF GXGBS-100N-10

Obchodní známky, patenty, Copyright

Copyright © the Cepheid, logo společnosti Cepheid, GeneXpert® a Xpert® jsou obchodní známky společnosti Cepheid.

KWIK-STIK™ je obchodní známka Microbiologics, Inc.

KOUPÍ TOHOTO PRODUKTU SE NA KUPUJÍCÍHO PŘEVÁDÍ NEPŘENOSNÉ PRÁVO K JEHO POUŽÍVÁNÍ VE SHODĚ S TOUTO PŘÍLOHOU. TÍMTO SE NEUDĚLUJÍ ŽÁDNÁ DALŠÍ PRÁVA K JAKÝMKOLI JINÝM PATENTŮM, AŽ VÝSLOVNĚ, IMPLICITNĚ NEBO NA ZÁKLADĚ PRÁVNÍ PŘEKÁŽKY. KOUPÍ TOHOTO PRODUKTU SE DÁLE NEUDĚLUJÍ ŽÁDNÁ PRÁVA K JEHO OPAKOVANÉMU PRODEJI.

Copyright © Cepheid 2018. Veškerá práva vyhrazena.



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA



Cepheid Europe SAS
Vira Soleilh
81470 Maurens-Scopont
France

Určeno pro diagnostiku *In Vitro*.

1. Patentovaný název

Xpert GBS™

2. Obecný či běžný název

Test Xpert GBS

3. Předpokládané použití

Cepheid® Xpert GBS test prováděný za použití systému GeneXpert® Dx je kvalitativní diagnostický test *in vitro* určený k detekci DNA skupiny B rodu *Streptococcus* (GBS) ve vzorcích vaginálních a rektálních výtěrů. Test využívá automatizovanou polymerázovou řetězovou reakci (real-time PCR) pro amplifikaci specifické sekvence genu bakterie *Streptococcus agalactiae* získané z klinických vzorků a dále hybridizaci amplifikované DNA s fluorescenčním barvivem. Test Xpert GBS může být použitý pro rychlou detekci kolonizace GBS (Group B Streptococcus) u žen těsně před porodem a během porodu.

- Použití Xpert GBS pro intrapartální screening by nemělo vylučovat použití jiných strategií (např. Antepartum testování). Výsledky GBS pro intrapartum Xpert jsou užitečné pro identifikaci vhodných kandidátů na intrapartálního profylaxi antibiotiky při podávání intravenózních antibiotik pak nejsou opožděné výsledky.
- Test Xpert GBS neposkytuje výsledky citlivosti. Následná kultivace je nezbytná pro provádění testování citlivosti podle doporučení pro ženy s alergií na penicilin.

4. Shrnutí a vysvětlení

GBS bakteriální infekce těhotných žen je spojena s vážnými následky u jejich novorozených dětí. Přenos GBS nastává u žen kolonizovaných streptokoky B na jejich novorozené děti před porodem (antepartum) či během porodu (intrapartum). V USA je infekce GBS hlavní příčinou úmrtí novorozenců, u nichž způsobuje sepsi, pneumonie či meningitidy.^{1,2,3}

V současné době standardní péče v rámci prevence neonatálních onemocnění způsobených GBS zahrnuje screening těhotných žen v 35.-37. týdnu těhotenství, kdy se zjišťuje jejich případná kolonizace GBS.² Většina testů je prováděna kultivačně a k získání výsledků je běžně zapotřebí dva až tři dny. U žen před porodem je obvykle kultivační stanovení dostatečně včasné, což ovšem neplatí pro ženy, které přicházejí k porodu bez výsledků vyšetření GBS. V těchto případech musí být kolonizace streptokoky B urychleně určena, aby bylo možné zajistit vhodnou medikaci během porodu. Aby vyhověla této potřebě, vyvinula firma Cepheid rychlý DNA test pro detekci GBS přímo z vaginálních a rektálních výtěrů.⁴ Test Xpert GBS trvá přibližně 50 minut a méně.

Pokud je stav GBS v době porodu neznámý, přístup založený na riziku je méně účinný v identifikaci kolonizovaných matek než antepartum screening a testování citlivosti u žen s alergií na penicilin není možné. Test Xpert GBS může být používán jako součást běžné prenatální péče, či během porodu u žen bez prenatální péče, u žen rodících předčasně nebo v případech, kdy výsledky kultivace GBS nejsou v čase porodu známy. Testování Xpert GBS lze provést 24 hodin denně, 7 dní v týdnu a lze jej pohodlně provádět. Potenciálním

dopadem intrapartum testování je snížené používání antibiotika u žen, které nejsou nijak jinak indikovány pro profylaxi, a zároveň poskytují adekvátní léčbu žen s kolonizací GBS s výsledným sníženým rizikem neonatální sepse nebo meningitidy.⁵ Účinné intrapartum testování GBS u těhotných žen, které přišly k porodu bez známého stavu GBS vyžaduje rychlý odběr vzorků a schopnost poskytovat výsledky dostatečně rychle, aby bylo možné zahájit doporučenou dobu profylaxe antibiotiky ještě před porodem.

5. Podstata testu

Systém GeneXpert Dx automatizuje a sdružuje purifikaci vzorku, amplifikaci nukleové kyseliny a detekci cílové sekvence do jednoduchých či komplexních vzorků za použití real-time a RT-PCR (reverse transcription Polymerase Chain Reaction – reverzní transkripce s následnou polymerázovou řetězovou reakcí). Tento systém sestává z přístroje, osobního počítače a instalovaného software, což umožňuje provést test shromážděných vzorků a odečíst výsledky. Systém vyžaduje použití jednorázových kazet GeneXpert, které obsahují činidla pro PCR a v nichž probíhají procesy extrakce DNA a PCR. Jelikož jsou kazety samostatné a uzavřené, nehrozí nebezpečí vzájemné kontaminace vzorků. Úplný popis systému je uveden v operačním manuálu systému GeneXpert Dx (*GeneXpert Dx Systém Operator Manual*).

Xpert analýza obsahuje činidla k souběžné detekci streptokoka B, kontrolu zpracování vzorků (Sample Processing Control – SPC), která zjišťuje správné zpracování cílové bakterie a vnitřní kontrolu (Inner Control – IC), která sleduje přítomnost inhibitorů PCR reakce. Kontrolní systém sondy ověřuje rehydrataci činidel, náplň PCR zkumavky v kazetě, neporušenost sondy a stabilitu barviva. GBS primery a sondy detekují jedinečnou sekvenci bakterie *S. agalactiae*.

Po odebrání výtěrů je vzorek dopraven do laboratoře. Výtěrový tampón a dvě činidla jsou přeneseny do příslušného otvoru v kazetě Xpert GBS. Systém GeneXpert GBS provádí přípravu vzorku, která zahrnuje vymytí bakterií z tampónu, smíchání činidla pro vzorky s kontrolou SPC (*Bacillus globilii* ve formě kuličky uvnitř kazety) a s čistícím činidlem, navázání bakteriálních buněk na filtr, lýzu buněk a vymytí DNA. Roztok DNA je poté smíchán se suchými reagenciemi pro PCR a přenesen do reakční zkumavky pro real-time PCR a detekci. Celý test trvá přibližně 50 minut.

6. Činidla a přístroje

6.1. Dodaný materiál

Sada Xpert GBS (GXGBS-100N-10) obsahuje dostatek činidel k analýze 10 vzorků nebo kontrol kvality.

Sada obsahuje následující činidla:

Kazety Xpert GBS

- Částice 1, 2 a 3 (suché) 1 od každé
- Činidlo 1 (NaOH) 3 mL
- Činidlo 2 (TET) 3 mL

CD

- Defniční soubor pro danou assay (ADF)
- Návod k importu definičního souboru
- Návod k použití

Poznámky:

- Bezpečnostní listy (MSDS) pro všechna činidla dodávaná v této sadě jsou k dispozici po vyžádání u technické služby firmy Cepheid (Technical Support).
- Bovinní sérový albumin (BSA) použitý v tomto výrobku byl získán výlučně z bovinní plazmy ze zdrojů na území US. Zpracování BSA bylo také prováděno na území US. Zvířata nebyla krmena žádným proteinem přežvýkavců ani jiných zvířat; zvířata prodělala ante- a post-mortem testy. Během zpracování nedošlo k žádnému smísení materiálu s jinými zvířecími materiály.

7. Skladování a manipulace

- Sadu Xpert GBS skladujte při 2 – 28°C.
- Nepoužívejte činidla nebo kazety s prošlou dobou trvanlivosti.

8. Potřebný materiál, který není součástí testu

- Systém GeneXpert Dx (katalogové číslo se liší v závislosti na konfiguraci)
- Tiskárna
- Zařízení pro sběr vzorků GBS firmy Cepheid (číslo u firmy Cepheid 900-0370)
- Pipety (pouze při provádění opakovaného testu)

9. Potřebný materiál, který není součástí testu

- KWIK-STIK™ (MicroBioLogics, kat. č. 8164: jedna kontrola od každé hladiny Streptococcus species (Group B) nízká nálož pozitivní kontroly, střední nálož pozitivní kontroly, vysoká nálož pozitivní kontroly, L. acidophilus jako negativní kontrola)

10. Upozornění a bezpečnostní opatření



- Se všemi biologickými vzorky i s použitými kazetami zacházejte jako s potenciálními nosiči infekčních částic. Jelikož je často nemožné zjistit, který by mohl být infekční, se všemi biologickými vzorky by mělo být manipulováno za použití všeobecných bezpečnostních opatření. Návod pro manipulaci se vzorky je k dispozici v amerických centrech pro kontrolu a prevenci chorob (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁶ a v Institutu klinických a laboratorních standardů (Clinical and Laboratory Standards Institute)⁷.
- Dodržujte bezpečnostní předpisy stanovené vaší institucí pro práci s chemikáliemi a biologickými vzorky.
- Analýza Xpert GBS neposkytuje stanovení citlivosti. U žen s alergií na penicilin je potřebné provést kultivace a testy citlivosti, což vyžaduje určitý dodatečný čas.
- Neotvírejte víko kazety Xpert GBS, pouze v případě přidávání vzorků a činidel.
- Nepoužívejte kazetu, která upadla nebo byla protřepána po přidání vzorků a činidel.
- Neotvírejte použitou kazetu, pouze v případě provádění opakovaného testu.
- Každá kazeta Xpert GBS k jednorázovému použití je určena k provedení jednoho testu. Upotřebenou kazetu znovu nepoužívejte.
- Použitou kazetu Xpert GBS likvidujte v souladu s bezpečnostními předpisy pro likvidaci nebezpečného odpadu platnými ve vaší instituci.



- Biologické vzorky, přenosová zařízení a použité kazety by měly být považovány za potenciálně schopné přenášet infekční agens vyžadující standardní bezpečnostní opatření. Řiďte se postupy pro nakládání s ekologickým odpadem instituce, abyste mohli řádně nakládat s použitými materiály a nepoužitými reagensy. Tyto materiály mohou vykazovat vlastnosti chemického nebezpečného odpadu, které vyžadují specifické vnitrostátní nebo regionální postupy k jejich odstraňování. Pokud vnitrostátní nebo regionální předpisy neposkytují jasný pokyn k řádné likvidaci, biologické vzorky a použité kazety by měly být likvidovány podle WHO [Světové zdravotnické organizace] pokynů pro likvidaci.



- Soupravu Xpert GBS uchovávejte při teplotě 2-28 ° C

11. Sběr vzorků a přeprava a skladování



Pro získání odpovídajících vzorků přesně dodržujte pokyny uvedené v této části.

Za použití zařízení pro sběr vzorků firmy Cepheid odeberte vzorky podle následujících pokynů:

1. Setřete nadbytečné množství sekretu či exkretu.
2. Vyjměte oba dvojité označené tampony z přepravní nádoby.
3. Opatrně vložte oba dvojité označené tampony do pochvy pacientky. Odeberte vzorek sekretu ze spodní třetiny pochvy. 3x otočte tampony, aby byl vzorek rovnoměrně rozmístěn na obou tamponech.
4. Použijte stejné dvojité označené tampony, vložte je do konečníku přibližně 2,5 cm za anální svěrač a jemným otáčením odeberte vzorek.
5. Umístěte oba dvojité označené tampony do přepravní nádoby.
6. Pokud budou vzorky zpracovány do 24 hodin, je možné je skladovat při pokojové teplotě. Pokud budou vzorky testovány později, skladujte v chladničce. Pokud jsou vzorky skladovány při 2-8°C, jsou stabilní až 6 dnů.

12. Chemické riziko

- UN GHS značka chemického rizika:
- Varování
- UN GHS **Nebezpečnost**



- Škodlivý při požití
- Způsobuje podráždění pokožky
- Dráždí oči
- **Prevence**
 - Po manipulaci se důkladně umyjte
 - Nekuřte, nepijte a nejezte v průběhu používání produktu
 - Vyvarujte se úniku produktu do okolního prostředí
 - Noste ochranné prostředky, rukavice, plášť, oční a obličejové krytí
- **Reakce**
 - Pokud dojde k podráždění kůže: Umyjte velkým množstvím vody s
 - Kontaminovaný oděv svlékněte a před dalším použitím jej umyjte.
 - Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření
 - PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Odstraňte kontaktní čočky, pokud jsou přítomny a pokračujte v oplachování.
 - Pokud přetrvává podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření
 - PO POŽITÍ: Pokud se necítíte dobře, okamžitě vyhledejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.

Vypláchněte ústa.

- **Skladování / Likvidace**
 - Obsah a / nebo obal likvidujte v souladu s místními, regionálními, národními a / nebo mezinárodními předpisy.

13. Postup

13.1. Příprava kazety

Důležité: Zahajte test do 15 minut po přidání činidel do kazety.

Poznámka: K provedení testu je potřeba pouze jeden výtěrový tampon. Druhý tampon je navíc a může být použitý k testování citlivosti.

Přidání vzorku a činidel do kazety

1. Vyměňte kazetu a činidla z obalu.
2. Otevřete víko kazety.
3. Vyměňte dvojitý tampon z přepravní nádoby. Jemně otřete krouživým pohybem oba tampony o sebe navzájem tak, aby na každém tamponu bylo stejné množství vzorku.
4. Vložte *jeden* tampon do otvoru S v kazetě Xpert GBS. Obrázek 1.
 - Nevkládejte do kazety oba tampony.
 - Druhý tampon vraťte do sběrné / transportní zkumavky pro následné testování antimikrobiální citlivosti mikrobiologická laboratoř pro GBS pozitivní pacienty. Kultivační izoláty jsou potřebné pro provádění testování citlivosti jako doporučeno pro ženy s alergií na penicilin.
5. Povytáhněte tampon tak, aby černá značka byla umístěna ve středu zářezu.
6. Odlomte držátko tamponu na pravou stranu.
7. Zavřete víko kazety.

Obrázek 1. Kazeta Xpert GBS (pohled shora).

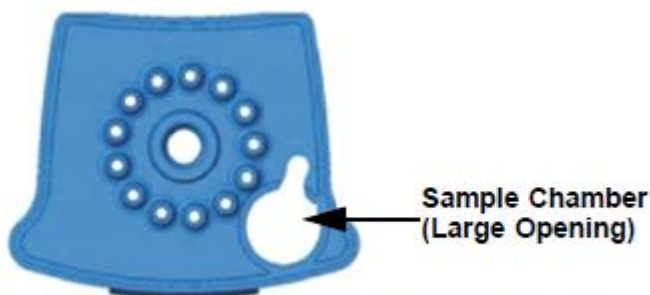


Figure 1. Xpert GBS Cartridge (Top View)

S = Vzorek

13.2. Zahájení testu

V tomto odstavci jsou popsány základní kroky provedení testu. Podrobný návod získáte v příručce *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

1. Zapněte počítač a poté zapněte přístroj GeneXpert Dx. A GeneXpert Dx. Software se automaticky spustí.
2. Přihlaste se do software systému GeneXpert Dx za použití svého uživatelského jména a hesla.
3. V okně systému GeneXpert Dx klikněte na **Create Test** (vytvořit test). Objeví se dialogové okno „Scan Cartridge Barcode“.
4. Načtete čárový kód kazety Xpert GBS. Objeví se okno Create Test. Za použití informací čárového kódu software automaticky vyplní následující údaje: Select Assay (vyber analýzu), Reagent Lot ID (identifikační číslo šarže činidel), Cartridge SN (výrobní číslo kazety) a Expiration Date (datum expirace).
5. Do okna **Sample ID** (identifikační číslo vzorku) vypište či načtete číslo vzorku. Dbejte na vypsání správného čísla. Identifikační číslo vzorku je spojeno s výsledky testu a uváděno v okně View Results (Prohlížení výsledků) a v dalších záznamech.
6. Klikněte na **Start Test**. Do dialogového okna, které se objeví, vepište své heslo.
7. Otevřete dvířka přístrojové jednotky s blikajícím zeleným světlem a vložte kazetu.
8. Zavřete dveře. Test je zahájen a zelené světlo přestane blikat. Po dokončení testu se světlo vypne.
9. Vyčkejte, až systém uvolní zámek dveří, poté otevřete přístrojovou jednotku a vyjměte kazetu.
10. Použité kazety zlikvidujte ve vhodných nádobách na odpady podle standardů vaší instituce. Viz oddíl 10, Varování a bezpečnostní opatření.

14. Zobrazení a tisk výsledků

Podrobný návod týkající se prohlížení a tisku výsledků získáte v příručce *GeneXpert Dx System Manual*.

15. Kontrola kvality

Každý test zahrnuje následující vnitřní kontroly (SPC) a kontrolu próby (PCC).

- **Kontrola zpracování vzorků (SPC)** – zajišťuje, že vzorek byl správně zpracován. SPC obsahuje spory bakterie *Bacillus globigii* ve formě kuliček, které jsou přítomné v každé kazetě. SPC prověřuje, že proběhla lýza bakterií *C. difficile* (jsou-li ve vzorku přítomné) a ověřuje tak, že zpracování vzorků je odpovídající. SPC by měla být pozitivní v negativních vzorcích a může být negativní v silně pozitivních vzorcích. SPC je vyhovující, pokud splní stanovené podmínky platnosti.
- **Vnitřní kontrola (IC)** – ověřuje kvalitu činidel pro PCR a stanovuje přítomnost inhibitorů ve vzorku. IC by měla být pozitivní v negativních vzorcích a může být negativní v silně pozitivních vzorcích. IC je vyhovující, pokud splní stanovené podmínky platnosti.
- **Kontrola sondy (PCC)** – před zahájením PCR reakce je systémem GeneXpert Dx měřena intenzita fluorescence sondy pro kontrolu rehydratace lyofilizované kapky, naplnění reakčních zkumavek, neporušenost sondy a stabilita barviva. Kontrola sondy je vyhovující, pokud splní stanovené podmínky platnosti.
- **Externí kontroly - KWIK-STIK™** (MicroBioLogics, katalogové č. 8164) mohou být použity pro školení, externí testování kvality systému GeneXpert Dx. Externí kontroly mohou být používány v souladu s místní, státní, federální akreditací organizace. Řiďte se níže popsáním postupem pro externí kontroly MicroBioLogics.

1. Otevřete sáček v zářezu a vyjměte KWIK-STIK.
 2. Přitlačte dno ampulky v uzávěru, aby se uvolnila hydratační tekutina.
 3. Držte vertikálně a poklepejte, abyste usnadnili průtok tekutiny přes závit do dna jednotky obsahující pelet.
 4. Pro usnadnění rozpuštění lyofilizované buněčné pelety rozdrťte peletu a jemně sevřete spodní komoru.
 5. Vytáhněte KWIK-STIK, abyste uvolnili tampon, a vložte tampon do vzorkové komory Xpert GBS.
 6. Tampon KWIK-STIK je nyní připraven pro testování Xpert GBS.
- Pozitivní kontrola s nízkou hladinou aproximuje 620 CFU / tampón (~ 36 Ct) GBS a negativní kontrola je přibližně 17 000 CFU / výtěr *Lactobacillus acidophilus* (0 Ct nebo > 42 Ct).

16. Vyhodnocení výsledků

Výsledky se zobrazí v okně View Results systému GeneXpert Dx – obrázek 2. Možné výsledky:

POSITIVE – pozitivní (obrázek 2)

Byla detekována cílová nukleová kyselina GBS:

- GBS – POS
- SPC – NA (not applicable - nehodnotí se)
- IC – NA (nehodnotí se)
- Probe Check (kontrola proby) – PASS

NEGATIVE – negativní (obrázek 3)

Nebyla detekována cílová nukleová kyselina GBS, předpoklad, že není kolonizace GBS:

- GBS – NEG
- SPC – PASS
- IC – PASS
- Probe Check – PASS

INVALID – neplatné (Obrázek 4)

Kontroly IC a/nebo SPC nesplňují daná kritéria, nebo v reakční zkumavce došlo k vytvoření vzduchové bubliny:

- GBS – INVALID
- SPC – FAIL*
- IC – FAIL*
- Probe Check – PASS

*Kontrola SPC a/nebo IC je chybná.

ERROR - chyba

Selhala část systému či bylo dosaženo maximálního tlaku nebo byla chybná kontrola proby:

- GBS – NO RESULT
- SPC – NO RESULT
- IC – NO RESULT
- Probe Check – FAIL*

*Pokud je kontrola probe vyhovující, chyba je způsobena selháním části systému.

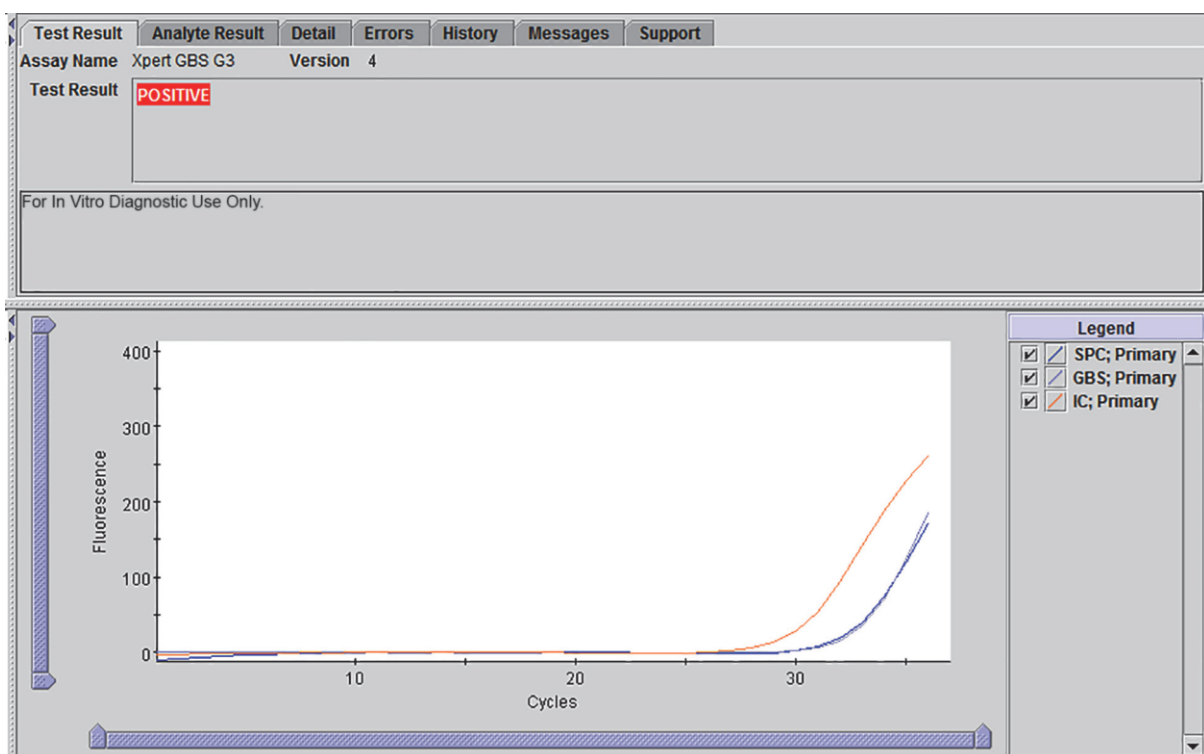
NO RESULT – žádný výsledek

Obsluhující pracovník zastavil průběh testu, v průběhu testu došlo k výpadku elektriny nebo byla zjištěna závada uvnitř kazety:

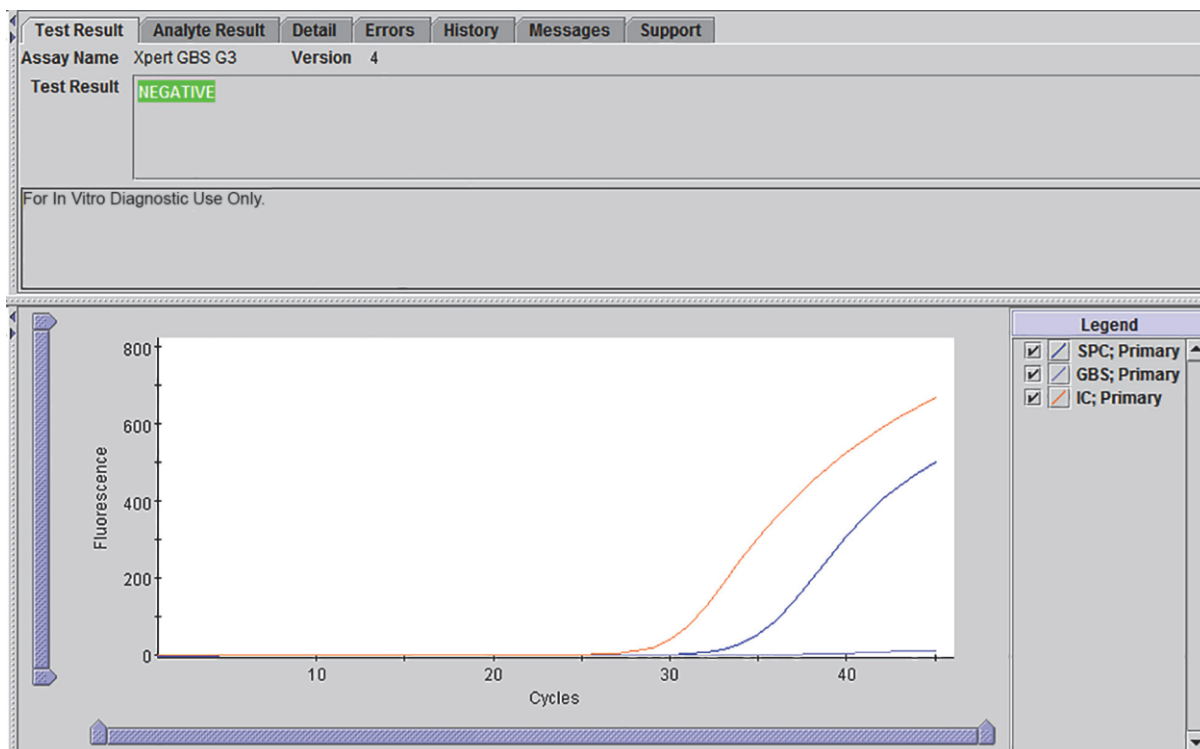
- GBS – NO RESULT
- SPC – NO RESULT
- IC – NO RESULT
- Probe Check – NA (not applicable)

V systému GeneXpert Dx – okno prohlížení výsledků (View Results) (obr. 2) – zkontrolujte stav chyb (Error Status); jejich popis získání po kliknutí na přehled chyb (Errors tab).

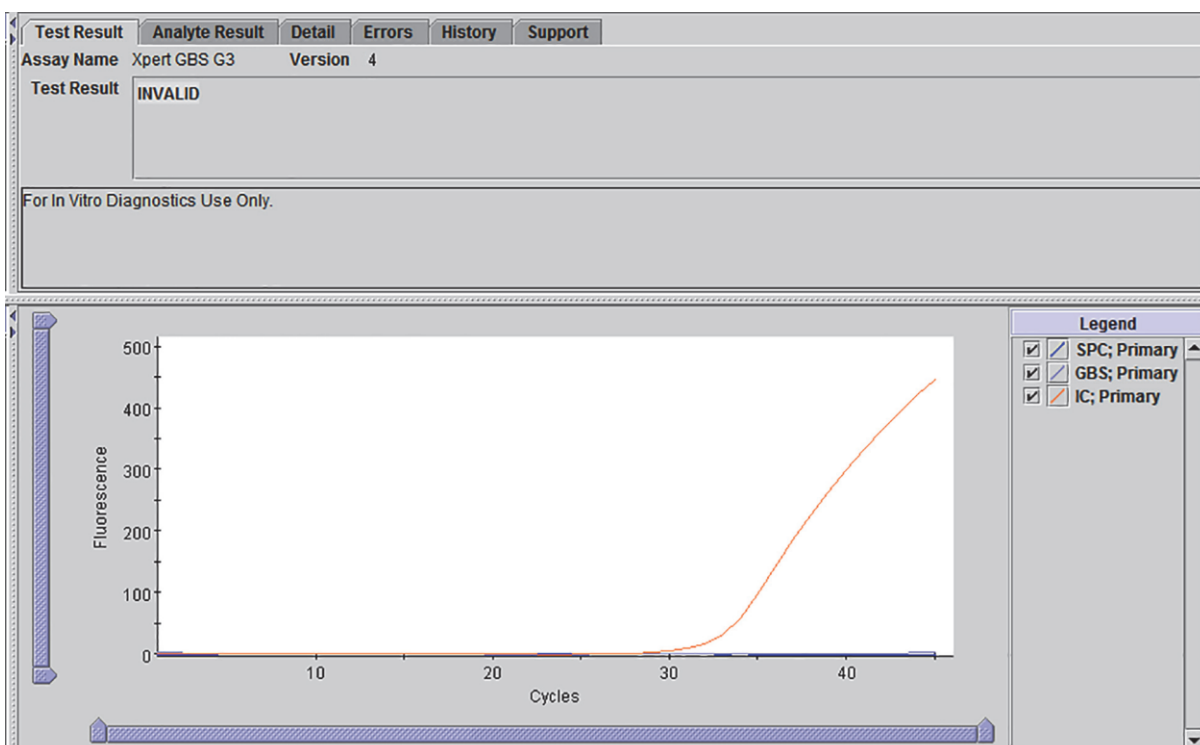
Obrázek 2. Systém GeneXpert Dx – okno prohlížení výsledků (View Results).



Obrázek 2. Pozitivní výsledek



Obrázek 3. Negativní výsledek



Obrázek 4. Invalidní výsledek

Důvody k opakování testu

Test zopakujte, pokud nastane jedna z následujících možností:

- **Chybný výsledek (ERROR)** – test byl přerušeno, protože selhala nějaká složka systému, byl dosažen maximální povolený limit tlaku či selhala kontrola probe.

- **Neplatný (INVALID)** - kontrola SPC a/nebo IC je neplatná u GBS negativního vzorku. Neplatný výsledek může být také způsoben přítomností vzduchových bublin v reakční zkumavce.
- **Žádný výsledek (NO RESULT)** - obsluha zastavila právě probíhající test, došlo k výpadku elektrického proudu v průběhu testu nebo se v kazetě objevily problémy.

Pokud v otvoru S v kazetě zbývá tekutina, přeneste ji pipetou do otvoru S v nové kazetě, poté znovu proveďte test od kroku č. 7 části „Příprava kazety“. Pokud nezbyla žádná tekutina, použijte sterilní pinzetu a přeneste tampon do nové kazety. Poté proveďte test od kroku č. 7 části „Příprava kazety“. Je také možné připravit novou kazetu, použít druhý tampon a znovu provést test.

Omezení

- Výsledky analýzy Xpert GBS jsou hodnoceny systémem Cepheid GeneXpert Dx; vzorky vaginálních a rektálních výtěrů mají být odebírány za použití zařízení pro sběr vzorků GBS firmy Cepheid (číslo u firmy Cepheid 900-0370). Proto může být tento produkt používán pouze se systémem GeneXpert Dx. Navíc není vhodné používat jiný systém sběru a transportu vzorků, než je uvedeno v části „Potřebný materiál, který není součástí testu“. Použití analýzy Xpert GBS pro jiný klinický materiál nebylo hodnoceno a parametry testu pro jiné typy vzorků nejsou známy.
- Chybný výsledek testu může vzniknout následkem nesprávného odběru vzorků, při nedodržení doporučených postupů pro sběr, manipulaci a skladování vzorků, v důsledku technické chyby, záměny vzorků nebo pokud je množství mikroorganismů ve vzorku pod hranicí analytické citlivosti testu. Aby nedocházelo k chybným výsledkům, je nutné pečlivě dodržovat pokyny uvedené v tomto letáku a v návodu pro sběr vaginálních a rektálních vzorků (Vaginal/Rectal Specimen Collection Protocol). Tento test by měly provádět pouze osoby školené pro tuto analýzu a pro použití systému GeneXpert Dx.
- Detekce bakterií *Streptococcus* skupiny B závisí na množství organismů přítomných ve vzorku, hodnověrné výsledky jsou závislé na správném odběru vzorků, manipulaci a skladování. Testování v 35–37 gestačním týdnu je doporučeno k zlepšení senzitivity a specifity detekce u žen, které jsou kolonizované GBS v čase porodu. Správné používání přístroje a správně vyškolený personál je nutný k vydání správného výsledku včas.
- Jestliže je výsledek testu Xpert GBS INVALID, ERROR či NO RESULT, opakujte test v souladu s předpisy vašeho pracoviště. Měly by být k dispozici alternativní postupy (např. Kultivace podle doporučení na selektivním obohaceném médiu po dobu 18-24 hodin). Kultivační izoláty jsou potřebné pro provádění testu citlivosti, dle doporučení pro léčbu pacientů s alergií na penicilin. Pro kultivaci by měly být zbývající výtěry umístěny do vhodných transportních systémů a kultivovány do 4 dnů. Kultivace z reagensů Xpert GBS nebyla ověřena. Laboratoře musí potvrdit svou vlastní kultivaci nebo použít druhý vzorek, který byl odebrán k provedení identifikace a citlivosti na základě kultivace.
- Pozitivní výsledky testu nemusí nutně znamenat přítomnost živých organismů. Dá se však předpokládat přítomnost mikroorganismu *Streptococcus* skupiny B.
- Testování intrapartum GBS by mělo být hodnoceno ve spojitosti s dalšími laboratorními a klinickými údaji, které jsou k dispozici. a nemá nahrazovat testování antepartum v 35-37 týdnu. Test není určen pro rozlišení bacilonosičů od pacientů s infekcí streptokokem skupiny B.

- Výsledky testů mohou být ovlivněny terapií antibiotiky. Proto pomocí této metody nemůže být stanovena úspěšnost či selhání léčby, protože bakteriální DNA může přetrvávat i po antimikrobiální léčbě.
- Dobrá laboratorní praxe a výměna rukavic mezi zpracováváním jednotlivých vzorků zabrání kontaminaci vzorků či reagensů.
- Mutace a polymorfismy v místě vazby sond a primerů mohou ovlivnit detekci a nové nebo neznáme varianty mohou mít za výsledek falešnou negativitu.
- Negativní výsledek nehraje roli v možné GBS kolonizaci. Falešně negativní výsledek se může objevit, pokud je koncentrace GBS ve vzorku příliš nízká (pod limitem LoD).

Očekávané hodnoty

Přibližně 10-30% těhotných žen je ve vagině či rektu osídleno streptokoky B (GBS). Kolonizace GBS může být přechodná, chronická či periodická. Kultivační screening v rámci prenatální péče odhalující GBS ve vagině a rektu žen v poslední fázi těhotenství může zachytit ženy, které velmi pravděpodobně budou kolonizovány GBS v čase porodu.^{2,3} V různých studiích zabývajících se kultivací bakterií v pozdní fázi těhotenství a stanovením stavu osídlení streptokokem B v době porodu jsou uváděny hodnoty citlivosti 87% (83 – 92% CI) a 69% (57 – 79% CI) a hodnoty specifity 96% (95 – 98% CI) a 92% (89 – 94% CI).⁸ V průběhu klinického hodnocení Xpert GBS analýzy, 25.4% (201 z 791) žen bylo kolonizováno GBS dle kultivace.

20. Charakteristiky testu

Klinické výsledky

Charakteristiky testu Xpert GBS byly stanoveny ve výzkumné studii probíhající v 6 institucích s porodnickým oddělením v USA. Každá instituce prováděla screening založený na kultivačních metodách nebo testování nukleové kyseliny (NAT). Testování probíhalo v klinických laboratořích přidružených k jednotlivým institucím a také na porodním oddělení. Do studie byly zahrnuty ženy antepartum i intrapartum. Pro přihlášení se do intrapartum části studie musely ženy poskytnout písemný souhlas, mít porodní bolesti a nemít žádné kontraindikace vaginálního vyšetření (například krvácení). Pro přihlášení se do antepartum části studie musely ženy poskytnout písemný souhlas, být v 35-37 týdnů těhotenství a nemít žádné kontraindikace vaginálního vyšetření (například krvácení). Podmínky platné pro všechny ženy zahrnuté do studie: žádné náznaky včestného lůžka, žádné indikace vedoucí k okamžitému porodu a žádná antibiotika užívaná v průběhu předcházejícího tědne.

Z každého ze 794 způsobilých subjektů byly odebrány vaginální / rektální vzorky s použitím dvou sad značených tamponů (Cepheid Collection device). Jeden z tamponů z první sady byl použit pro kultivaci. Druhá sada značených tamponů byla rozdělena: jeden tampon byl použit v testu Xpert GBS na systému GeneXpert Dx; druhý byl použit v druhém NAAT testu. Druhý NAAT test cílí na sekvenci v genu *cfb*, dříve potvrzen FDA. Výsledky tohoto testu nebyly použity při výpočtu výkonosti testu. Po použití v těchto testech byl každý z těchto tamponů také umístěn do kultivačního média LIM Broth, inkubován a subkultivován na krevní agarové destičce (BAP) a sledován na GBS.

Jako referenční metoda byla použita kultivační technika doporučená centry pro kontrolu a prevenci chorob 2002 (U.S. Centers for Disease Control and Prevention - CDC): mikrobiologická kultivace v selektivním tekutém médiu (LIM živné médium, což je Todd-

Hewitto médium obohacené 15 µg/ml kyseliny nalidixové a 10 µg/ml kolistinu) následovaná inkubací přes noc a subkultivací na krevním agaru. Specifická identifikace kolonií připomínajících streptokoka skup. B byla prováděna sklíčkovou aglutinací.

Celkové výsledky

Výkonnostní charakteristiky testu Xpert GBS byly stanoveny na základě vyhodnocení provedených laboratorních testů. Vzorčky zahrnovali 794 subjektů: 373 antepartum a 421 intrapartum. Tři ženy neměly podle kultury žádné výsledky a byly vyloučeny z analýz (0 bylo Xpert GBS pozitivní a 3 byly Xpert GBS negativní), přičemž zůstalo 791 kultivovatelných a vyhodnotitelných výsledků. U všech jedinců byla provedena kultivace (jak je popsáno výše) u většiny z nich se také prováděl druhý test GBS NAAT. Druhý NAAT cílí na sekvenci v genu cfb a byl dříve doporučen FDA; Výsledky tohoto testu nebyly při výpočtu výkonnosti použity. Ze 791 případů poskytl test Xpert GBS test poskytl při prvním pokusu 726 reportovatelných výsledků (91,8%). 65 subjektů vykazovalo nereportovatelný výsledek (tj. neplatný, chybný nebo žádný výsledek); 55 z těchto případů bylo po opakovaném testování vyřešeno. Celkově mělo 201 žen pozitivní kulturu na GBS, buď z jediného tamponu použitého pro kulturu nebo z obou eluovaných tamponů z Xpert GBS a druhého NAAT testování. Zkouška Xpert GBS poskytla zpočátku 168 pozitivních výsledků (168/201, 83,6%). Po opakovaném testování hodnota vzrostla na 178/201, neboli 88,6%. 590 žen mělo negativní kulturu a 520 bylo zpočátku negativní i testem Xpert GBS (88,1%) a 561 žen bylo negativní po opakovaném testování (95,1%).

Tabulka 2 ukazuje Xpert GBS testování na základě pozitivních a negativních výsledků GBS kultury pro 791 subjektů (3 subjekty byly neinterpretovatelné). Citlivost, specifická a negativní a pozitivní hodnota a uvedené odhady jsou založeny na výsledcích po opakovaném testování. Po opakovaném testování zůstalo 10 případů nevyřešeno (n = 781).

Table 2. Xpert GBS Results and Estimated Performance by Patient Category

Patient Category	Results	Total N ¹	Culture Positive Patients ¹	Culture Negative Patients ¹	Sensitivity after Repeat Testing [95%Confidence]	Specificity after Repeat Testing [95%Confidence]	PPV ⁷ after Repeat Testing [95%Confidence]	NPV ⁸ after Repeat Testing [95%Confidence]
All Patients	Xpert GBS Pos	197 (186)	178 (168)	19 (18)	88.6% [83.3%-92.6%]	96.7% [94.9%-98.0%]	90.4% [85.4%-94.1%]	96.1% [94.2%-97.5%]
	Xpert GBS Neg	584 (540)	23 (20)	561 (520)				
	No Result ²	10 (65)	0 (13)	10 (52)				
	Total	791 ³	201 ⁴	590				
Antepartum	Xpert GBS Pos	92 (88)	87 (83)	5 (5)	85.3% [76.9%-91.5%]	98.1% [95.6%-99.4%]	94.6% [87.8%-98.2%]	94.5% [94.1%-96.9%]
	Xpert GBS Neg	274 (253)	15 (13)	259 (240)				
	No Result ²	7 (32)	0 (6)	7 (26)				
	Total	373	102	271				
Intrapartum	Xpert GBS Pos	105 (98)	91 (85)	14 (13)	91.9% [84.7%-96.5%]	95.6% [92.7%-97.6%]	86.7% [78.6%-92.5%]	97.4% [95.0%-98.9%]
	Xpert GBS Neg	310 (287)	8 (7)	302 (280)				
	No Result ²	3 (33)	0 (7)	3 (26)				
	Total	418	99	319				
ROM ⁵	Xpert GBS Pos	27 (24)	21 (19)	6 (5)	91.3% [72.0%-98.9%]	94.3% [88.1%-97.9%]	77.8% [57.7%-91.4%]	98.0% [93.1%-99.8%]
	Xpert GBS Neg	102 (92)	2 (2)	100 (90)				
	No Result ²	0 (13)	0 (2)	0 (11)				
	Total	129	23	106				
No ROM ⁶	Xpert GBS Pos	78 (74)	70 (66)	8 (8)	92.1% [83.6%-97.1%]	96.2% [92.6%-98.3%]	89.7% [80.8%-95.5%]	97.1% [93.8%-98.9%]
	Xpert GBS Neg	208 (195)	6 (5)	202 (190)				
	No Result ²	3 (20)	0 (5)	3 (15)				
	Total	289	76	213				

Table 3. Performance of Xpert GBS and 2nd NAAT Test¹ Relative to Culture

Category	Xpert GBS						2 nd NAAT ¹					
	Sensitivity	Lower CI	Upper CI	Specificity	Lower CI	Upper CI	Sensitivity	Lower CI	Upper CI	Specificity	Lower CI	Upper CI
Overall	88.6% (178/201)	83.3%	92.6%	96.7% (561/580)	94.9%	98.0%	77.9% (155/199)	71.5%	83.5%	96.3% (567/589)	94.4%	97.6%
Ante-partum	85.3% (87/102)	78.9%	91.5%	98.1% (259/264)	95.6%	99.4%	74.5% (76/102)	64.9%	82.6%	97.0% (263/271)	94.3%	98.7%
Intra-partum	91.9% (91/99)	84.7%	98.4%	95.6% (302/316)	92.7%	97.6%	81.4% (79/97)	72.3%	88.8%	95.6% (304/318)	92.7%	97.6%
ROM ²	91.3% (21/23)	72.0%	98.9%	94.3% (100/106)	88.1%	97.9%	90.9% (20/22)	70.8%	98.9%	95.2% (100/105)	89.2%	98.4%
No ROM ³	92.1% (70/76)	83.6%	97.0%	96.2% (202/210)	92.6%	98.3%	78.7% (59/75)	67.7%	87.3%	95.8% (204/213)	92.1%	98.0%

Table 4. Direct Comparison of the Two PCR Tests

	Culture Pos			Culture Neg			Culture ND			Total Xpert GBS
	2 nd NAAT Pos	2 nd NAAT Neg	Unresolved	2 nd NAAT Pos	2 nd NAAT Neg	Unresolved	2 nd NAAT Pos	2 nd NAAT Neg	Unresolved	
Xpert GBS Pos	149	27	2	10	9	0	0	0	0	197
Xpert GBS Neg	6	17	0	11	549	1	0	3	0	587
Invalid/Error/No Result	0	0	0	1	9	0	0	0	0	10
Total 2 nd NAAT	165	44	2	22	567	1	0	3	0	794

Table 5. Site to Site Comparison

Clinical Test Site	Ante-partum Patients	Intra-partum Patients	Total Patients	Culture Positive	Prevalence	Xpert GBS with No Results		Sensitivity			Specificity		
						Initially	Repeating	Estimate	Lower 95%	Upper 95%	Estimate	Lower 95%	Upper 95%
1	0	51	51	11	21.6%	4	1	72.7%	39.0%	94.0%	92.3%	79.1%	98.4%
2	113	5	118	31	26.3%	12	2	90.3%	74.2%	98.0%	97.6%	91.8%	99.7%
3	94	0	94	17	18.1%	9	1	76.5%	50.1%	93.2%	100.0%	95.3%	100.0%
4	64	175	239	75	31.4%	13	2	85.3%	75.3%	92.4%	96.3%	92.1%	98.6%
5	22	152	174	38	21.8%	16	1	97.4%	86.2%	99.9%	94.8%	89.6%	97.9%
6	80	35	115	29	25.2%	11	3	96.6%	82.2%	99.9%	98.8%	93.5%	100.0%
Total	373	418	791	201	25.4%	65	10	88.6%	83.3%	92.6%	96.7%	94.9%	98.0%

21. Délka trvání analýz

Doba analýz u 390 intrapartum subjektů zařazených do klinického hodnocení je popsána níže. Průměrný čas od počátku testování Xpert GBS do výsledku byl 1,84 hodin.. Průměrná doba do získání výsledků pro 360 subjektů, které poskytly platné výsledky při prvním pokusu, bylo 1,76 hodin. Průměrná doba do vydání výsledků pro 30 dalších subjektů, kteří měly vykazovaly platné výsledky až při druhém pokusu byly 2,74 hodiny. Medián doby obratu pro 360 vzorků, které vykazovaly platné výsledky byl 1,47 hodin při prvním pokusu a 2,44 hodiny pro 30 subjektů, které poskytly platné výsledky až při druhém pokusu.

22. Analytická specifická

Byla testována genomová DNA ze 101 kmenů zahrnujících 28 streptokoků, 73 jiných druhů včetně kmenů fylogeneticky příbuzných *S. agalactiae*, další mikroflóra (bakterie a kvasinky) běžně se nacházející v pochvě a anální flóra a lidská DNA. Tři opakování každého vzorku o obsahu 1,5 ng byly testovány v reakci o objemu 25 µl (což odpovídá 2 x 10⁵ kopií genomu v reakci). Žádný z 28 izolátů streptokoků (non-GBS) nedal pozitivní reakci v testu. Ze

zbývajících 73 kmenů byly 4 slabě pozitivní v jednom ze šesti opakování (*Enterococcus gallinarium*, *Staphylococcus simulans*, *Micrococcus luteus* a *Propionibacterium acnes*).

23. Analytická citlivost

Analytická mez citlivosti (limit of detection – LOD) byla stanovena za použití 11 kmenů *S. agalactiae* představujících 9 známých sérotypů (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, and VIII). Většina případů neonatální sepse způsobených GBS jsou 4 sérotypů: Ia, Ib, II nebo III. GBS typu V se ukázal jako důležitá příčina infekce GBS ve Spojených Státech a kmeny typů VI a VIII se staly převládajícími mezi japonskými ženami. Tabulka č.7 ukazuje nejnižší koncentraci každého podtypu, který vykazoval pozitivní výsledek ve všech čtyřech opakováních.

Tabulka č. 7 Analytická mez citlivosti pro všechny testované serotypy.

Table 7. Limit of Detection Obtained for each Serotype Tested

Serotype	CFU/Swab
ATCC 12973 (II)	250
Ia/c	250
Ib/c	250
II	250
III	250
IV	250
IVc	250
V	250
VI	250
VII	250
VIII	250

24. Opakovatelnost

Byla testována sada čtyř modelových vzorků s různými koncentracemi GBS ve třech kopiích v během 10 různých dnů na třech různých pracovištích (4 vzorky x 3 x 10 dnů x 3 místa). Pro studii byla použita stejná šarže činidel.

Tabulka č. 8 Shrnutí výsledků testu opakovatelnosti.

Table 8. Summary of Reproducibility Results

Sample CFU/Swab	Site 1	Site 2	Site 3	Expected Results (Ct Range) ¹	Total Agreement	Total % Agreement
GBS Negative L. acidophilus 1.7 × 10⁴ CFU /swab	30/30	30/30	30/30	Negative (0, or >42)	90/90	100%
GBS Low 6.2 × 10² CFU /swab	30/30	30/30	30/30	Positive (31 to 41)	90/90	100%
GBS Moderate 8.3 × 10³ CFU /swab	30/30	30/30	30/30	Positive (27 to 37)	90/90	100%
GBS High 1.3 × 10⁶ CFU /swab	30/30	30/30	30/30	Positive (19 to 29)	90/90	100%
Total Agreement	120/120	120/120	120/120		360/360	100%
% Agreement	100%	100%	100%		100%	100%

25. Literatura

- Schrag et al. A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates. NEJM. 2002; 247(4): 233-239.
- Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. MMWR 2002; 51 (No. RR-11): 1-26.
- Schuchat A. Epidemiology of Group B Streptococcal Disease in the United States: Shifting Paradigms. Clin Micro Rev. 1998; 11(3): 497-513.
- Davis et al. Multicenter Study of a Rapid Molecular-Based Assay for the Diagnosis of Group B Streptococcus Colonization in Pregnant Women. C. Infectious Disease. 2004; 30: 1129-35.
- Puopolo et al. Early-Onset Group B Streptococcal Disease in the Era of Maternal Screening. Pediatrics. 2005; 115:1240-1246.
- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
- Yancey MK, Schuchat A, Brown LK, Ventura VL, Markenson GR. The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting genital group B streptococcal colonization at delivery. Obstet Gynecol 1996; 88: 811-15.
- Paoletti, Lawrence C., Ph.D. Research Interests. Accessed 07/19/2006. < <http://www.channing.harvard.edu/paoletti.htm>>.
- REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
- REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
- Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).















26. Cepheid centrála

Corporate Headquarters	European Headquarters
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089 USA	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont France
Telephone: +1 408.541.4191	Telephone: +33 563 825 300
Fax: +1 408.541.4192	Fax: +33 563 825 301
www.cepheid.com	www.cepheidinternational.com

27. Technická asistence

V případě potřeby kontaktujte Cepheid na uvedených číslech. V telefonátu či mailu vždy uvádějte výrobní číslo přístroje a název a číslo šarže činidel. V případě, že se objeví číslo chyby, nahlaste i to.

28 Tabulka symbolů

	Katalogové číslo
	Lékařské zařízení pro diagnostiku <i>In vitro</i>
	Nepoužívat opětovně
	Číslo šarže
	Varování, nahlédněte do průvodních dokumentů
	Upozornění
	Výrobce
	Obsah postačuje na <n> testů
	Kontrola
	Použitelné do
	CE značka, značka shody
	Teplotní omezení
	Biologické riziko
	Varování



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089-1189
USA
Tel: +1.408.541.4191
Fax: +1.408.541.4192
www.cepheid.com



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France
Tel: +33 563 825 300
Fax: +33 563 825 301
Email: support@cepheideurope.com

