

REF **201902 NeuMoDx™ Strep A/C/G Vantage Test Strip**
R only

FIGYELEM! Kizárólag az Amerikai Egyesült Államokból történő exportra

IVD **In vitro** diagnosztikai használatra a NeuMoDx 288 és a NeuMoDx 96 Molecular System készülékekkel

 A terméktájékoztatóval kapcsolatos frissítések a következő weboldalon találhatóak: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Részletes útmutatásért olvassa el a NeuMoDx 288 Molecular System kezelői kézikönyvét (cikkszám: 40600108 [REF 500100])

Részletes útmutatásért olvassa el a NeuMoDx 96 Molecular System kezelői kézikönyvét (cikkszám: 40600317 [REF 500200]) vagy 40600655 [REF 500201])

ALKALMAZÁSI TERÜLET

A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay – a NeuMoDx 96 Molecular System és NeuMoDx 288 Molecular System készüléken alkalmazva – egy gyors, automatizált, kvalitatív *in vitro* nukleinsav-amplifikációs teszt a *Streptococcus pyogenes* (A csoportú β-hemolizáló *Streptococcus* [GAS]) és a *Streptococcus dysgalactiae* (C és G csoportú β-hemolizáló *Streptococcus*, beleértve a C csoportú ssp. *dysgalactiae*, és C és G csoportú *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *equisimilis* [GCS/GGS] alfajokat) közvetlen kimutatására a pharyngitis jeleit és tüneteit mutató betegek torkából vett tamponmintákban. Az assay valós idejű polimeráz láncreakciót (PCR) alkalmaz a *Streptococcus pyogenes* és a *Streptococcus dysgalactiae* DNS-ének elkülönített kimutatására torokból vett tamponmintákban. A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay a GAS és GCS/GGS általi fertőzések diagnosztikájának támogatására szolgál tüneteket mutató betegeknél, de nem célja a GAS vagy GCS/GGS általi fertőzések kezelésének irányítása vagy monitorozása. A mikroorganizmusok epidemiológiai tipizálásához vagy további érzékenyítésztelésekhez történő kinyeréséhez szükség lehet azok egyidejű tenyésztésére.

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS MAGYARÁZAT

A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay a GAS és GCS/GGS DNS egyidejű kimutatására és megkülönböztetésére szolgál. Az assay a GAS genomjában található LPXTG-motívumú, sejtfalban horgonyzott domént tartalmazó fehérje régióját és a GCS/GGS genomjában található nizin rezisztenciafehérje szekvenciáját célozza. A GAS és/vagy GCS/GGS DNS NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay-vel történő kimutatásához a torokból vett mintát folyékony Amies transzport tápközegben kell gyűjteni. A vizsgálat előkészítéséhez a folyékony Amies transzport tápközeg tartalmazó csövet a kijelölt mintatartóba kell helyezni, és a feldolgozás megkezdéséhez be kell tölteni azt a NeuMoDx System készülékbe. Minden minta esetében a NeuMoDx System készülék összekeveri az Amies transzport tápközeg 50 µl-es alikvotját a NeuMoDx Lysis Buffer 6 lízispufferrel, majd automatikusan elvégzi a célnukleinsav extrakciójához szükséges valamennyi lépést, előkészíti az izolált DNS-t a valós idejű PCR-amplifikációra, és ha jelen vannak, amplifikálja és kimutatja az amplifikációs termékeket (a GAS, GCS és GGS genomjának célzott génszekvenciáit).

A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay részét képezi egy DNS-mintafeldolgozási kontroll (Sample Process Control, SPC1), amely segíti a potenciális gátló anyagok jelenlétének, valamint az extrakciós és az amplifikációs folyamatok során a NeuMoDx System készülék és a reagensek esetében észlelhető hibák monitorozását.

A *Streptococcus pyogenes*, egy Lancefield A szerocsoportba tartozó béta-hemolizáló baktérium (más néven A csoportú *Streptococcus* [GAS]) általi fertőzés számos betegséget okoz az emberekben. A mindenütt jelen lévő *S. pyogenes* a leggyakoribb bakteriális kórokozó akut pharyngitis, vagyis garatgyulladás esetén, amelyre általánosságban „torokgyulladásként” utalunk. A pharyngitis gyakoribb gyermekeknél, akiknél a torokgyulladás esetek 20–30%-ában fordul elő a GAS általi fertőzés. Ehhez képest a felnőtteknél a torokgyulladásos fertőzések körülbelül 5–15%-áért felelős.^{1,2} A torokgyulladás gennyes szövődésményei általában antimikrobiális gyógyszerekkel nem kezelt betegeknél fordulnak elő, és közéjük tartozik az otitis media (középfülgyulladás), a sinusitis (arcüreggyulladás), a peritonsillaris vagy retropharyngealis tályogok és a gennyes cervicalis adenitis. A nem gennyes szövődésmények közé tartozik az akut reumás láz (acute rheumatic fever, ARF) és az akut glomerulonephritis.³

A *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *equisimilis* (GGS/GCS) a humán felső légutak normál kommenzális flóra része, és gyakran tünetmentesen kolonizálja a bőrt, a gastrointestinalis traktust és a női nemi szerveket. Ez gyakran a *Streptococcus* okozta betegségtelhelésben betöltött szerepük alulértékeléséhez vezet, mivel a GCS/GGS fajok a *S. pyogenes* által okozott betegségek ugyanazon spektrumához köthetők. Gyermekeknél ezek a mikroorganizmusok leggyakrabban légúti fertőzésekben, különösen torokgyulladásban fordulnak elő. A C és G csoportú *Streptococcusok* által okozott torokgyulladás valódi előfordulási gyakoriságát nehéz meghatározni a tünetmentes kolonizáció gyakorisága miatt. Mindazonáltal átfogó bizonyítékok támasztják alá, hogy a C és G csoportú *Streptococcusok* a torokgyulladás valódi okozói.^{2,4} A humán eredetű GCS/GGS alfajokat ma már egyetlen alfajnak tekintik: *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *equisimilis*. A GGS egy klinikai izolátumának, a *S. dysgalactiae* ssp. *equisimilis* teljes genomsekvenciájának más *Streptococcus* fajokéval történő összehasonlítása kimutatta, hogy a legszorosabb rokonságban a *S. pyogenes* fajjal áll, 72 százalékos szekvenciahasonlósággal.⁵ A *S. dysgalactiae* ssp. *equisimilis* számos virulenciafaktoron osztozik a *S. pyogenes* fajjal, beleértve az antifagocitikus M fehérjét, a sztreptolizin-O-t, a sztreptolizin-S-t, a sztreptokinázt és egy vagy több pirogén exotoxint, amelyek hasonlóak a *Streptococcusok* által okozott toxikus sokkban szerepet játszókhöz.⁵

Bár a *Streptococcusok* által okozott torokgyulladás általában önkorlátozó, fontos a gyors és pontos felismerés, mivel a megfelelő antibiotikumokkal történő korai kezelés köztudottan csökkenti a tünetek súlyosságát és időtartamát, csökkenti a mikroorganizmus átvitelét és az akut reumás láz kockázatát.³ Mivel a legtöbb torokgyulladásos eset vírusos eredetű, a pontos diagnózis csökkentheti a szükségtelen antibiotikum-használatot és az antibiotikum-rezisztencia esetleges kialakulását. A csupán klinikai jellemzők alapján történő diagnózis felállítása mégis nehéz, mivel a GAS tünetei átfednek a vírusos torokgyulladás tüneteivel. A gyermekgyógyászati populációban a GAS kimutatásának „arany standardja” a torokból vett tamponminta véres agaron történő tenyésztése. A minta gyűjtése és a végső mikrobiológiai diagnózis felállítása között eltelt viszonylag hosszú idő – körülbelül 48 óra – azonban korlátozza ezen módszer rutinszerű alkalmazását a járóbeteg-ellátásban. Az 1980-as évek óta a GAS kimutatására kereskedelmi forgalomban elérhető gyors antigén-kimutatási tesztek (Rapid Antigen Detection Test, RADT) állnak rendelkezésre.^{6,7} Az RADT-k előnye, hogy gyorsan elvégezhető az orvosi rendelésben. Annak ellenére, hogy az RADT-k jó specificitással rendelkeznek (>95%), a tenyésztéshez képest gyakran alacsonyabb a szenzitivitásuk (~86%).⁶ A tenyésztési módszerekkel való versenyben a nagy szenzitivitású és gyors assay-k iránti tartós igény nyitotta meg az utat a molekuláris tesztek fejlesztése felé. A nukleinsav-amplifikációs teszt (Nucleic Acid Amplification Test, NAAT) módszereket a GAS kimutatására fejlesztették ki, és jellemzően magasabb szenzitivitással (>90%) és jó specificitással (>95%) rendelkeznek.⁸⁻¹⁰

A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay lehetővé teszi az A csoportú *Streptococcusok*, valamint a C és G csoportú piogén *Streptococcusok* gyors és pontos kimutatását.

AZ ELJÁRÁS ELVE

A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay kombinálja a DNS-extrakciót és a valós idejű valós idejű PCR-rel végzett amplifikációt/detektálást. A torokból vett tamponmintákat folyékony Amies transzport tápközeget tartalmazó mintagyűjtő csövekbe gyűjtik. A NeuMoDx System automatikusan felszív egy alikvotot a folyékony Amies tápközegben lévő mintából, és összekeveri NeuMoDx Lysis Buffer 6 lízis-pufferrel és a NeuMoDx Extraction Plate lemezen található extrakciós reagensekkel a feldolgozás megkezdéséhez. A NeuMoDx System automatizálja és integrálja a DNS-extrakciót és -koncentrációt, a reagens-előkészítést és a célszekvencia nukleinsav-amplifikációját és -kimutatását valós idejű PCR alkalmazásával. Az alkalmazott mintafeldolgozási kontroll (Sample Process Control, SPC1) segítségével monitorozható a potenciális inhibitorok jelenléte, valamint a rendszer-, a folyamat- és a reagensek hibák. Miután a mintát behelyezték a NeuMoDx System készülékbe, nincs szükség kezelői beavatkozásra.

A NeuMoDx System készülékek hő, lítikus enzim és extrakciós reagens kombinálásával végzik a sejtlízist, a DNS-extrakciót és az inhibitorok eltávolítását. A felszabaduló nukleinsavakat paramágneses részecskék segítségével fogják be. A mikrogömbök a hozzájuk kötődő nukleinsavakkal együtt betöltésre kerülnek a NeuMoDx Cartridge kazettába, ahol a NeuMoDx Wash Reagent kimossa a nem kötődő, nem DNS összetevőket, a NeuMoDx Release Reagent pedig eluálja a kötött DNS-t. Ezután a NeuMoDx System az eluált DNS segítségével rehidratálja a szabadalmazott NeuDry™ amplifikációs reagenseket, amelyek a specifikus GAS- és GCS-/GGS-célszekvenciák és az SPC1-szekvencia amplifikációjához szükséges összes elemet tartalmazzák. Ez lehetővé teszi a célszekvenciák és a kontroll DNS-szekvenciáinak egyidejű amplifikációját és detektálását. A szárított PCR-reagensek rekonstitúciója után a NeuMoDx System kiadagolja az előkészített, PCR-hez való, használatra kész keveréket a NeuMoDx Cartridge egy-egy PCR-kamrájába (mintánként). A PCR-kamrában történik a kontroll és az esetlegesen jelen lévő cél DNS-szekvenciák amplifikálása és detektálása. A NeuMoDx Cartridge kazetta, beleértve a PCR-kamra, úgy van kialakítva, hogy a valós idejű PCR-t követően az ampikont is tartalmazza, ezáltal lényegében kiküszöböli az amplifikáció utáni szennyeződés kockázatát.

Az amplifikált célszekvenciák detektálása valós időben, hidrolízispróba (általánosan használt elnevezése TaqMan® próba) segítségével történik, ahol a megfelelő célszekvenciákat tekintve az ampikonokra specifikus fluorogén oligonukleotid próbamolekulákat használnak.

A TaqMan próbák egy, az oligonukleotid próba 5' végéhez kovalens módon kötődő fluorofór- és a 3' végen egy quencher molekulát tartalmaznak. Amíg a próba ép, a fluorofór és a quencher molekula egymáshoz közel helyezkednek el, ami azt eredményezi, hogy a quencher molekula FRET (Förster Resonance Energy Transfer, Förster-féle rezonáns energiaátadás) révén kioltja a fluorofór által kibocsátott fluoreszcenciát.

A TaqMan próbák úgy vannak kialakítva, hogy specifikus primerekkel amplifikált DNS-szakaszon belül anellájanak. Amint a Taq DNS-polimeráz meghosszabbítja a primert és szintetizálja az új szálát, a Taq DNS-polimeráz 5'–3' exonukleáz aktivitása lebontja a templátra feltapadt próbát. A próba lebomlásakor felszabadul belőle a fluorofór, és távolabb kerül a quencher-től, ezért a FRET miatti kioltó hatás elmarad, és megemelkedik a fluoreszcencia szintje.

A GAS DNS célszekvenciájának detektálásához az 5' végen fluorofórral (gerjesztés: 470 nm, emisszió: 510 nm), a 3' végen pedig sötét quencherrel megjelölt TaqMan próba használatos; a GCS/GGS DNS célszekvenciájának detektálásához az 5' végen fluorofórral (gerjesztés: 585 nm, emisszió: 610 nm), a 3' végen pedig sötét quencherrel megjelölt TaqMan próba használatos. A mintafeldolgozási kontroll detektálásához a TaqMan próbát változó fluoreszcens festékkel (gerjesztés: 530 nm, emisszió: 555 nm) jelölik meg az 5' végen, és egy sötét quencherrel a 3' végen. A NeuMoDx System monitorozza a TaqMan próbák által az egyes amplifikációs ciklusok végén kibocsátott fluoreszcens jelet. Az amplifikáció befejeztével a NeuMoDx System elemzi az adatokat, és kiadja a végleges kvalitatív eredményt (POSITIVE [Pozitív] / NEGATIVE [Negatív] / INDETERMINATE [Nem eldönthető] / UNRESOLVED [Megoldatlan]).

REAGENSEK/FOGYÓESZKÖZÖK

Szállított anyagok

REF	Tartalom	Teszt/egység	Teszt/csomag
209102	NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip Szárított valós idejű PCR-reagensek, amelyek GAS-re és GCS-re/GGS-re specifikus TaqMan próbákat és primereket, illetve mintafeldolgozási kontrollra specifikus TaqMan próbákat és primereket tartalmaznak.	16	96

Szükséges, de nem biztosított reagens és fogyóeszközök (külön kaphatók a NeuMoDx vállalatától)

REF	Tartalom
100200	NeuMoDx Extraction Plate Szárított paramágneses részecskék, lítikus enzim és mintafeldolgozási kontroll
401700	NeuMoDx Lysis Buffer 6*
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Szűrővel ellátott Hamilton CO-RE/CO-RE II hegyek (300 µl)
235905	Szűrővel ellátott Hamilton CO-RE/CO-RE II hegyek (1000 µl)

* Megjegyzés: a NeuMoDx System szoftver 1.8.0.0-nál korábbi verziói a NeuMoDx Lysis Buffer 6-ot „Lysis Buffer 4”-ként azonosítja. A részletes Figyelmeztetések és óvintézkedések fejezetet lásd a NeuMoDx Lysis Buffer 6 használati útmutatójában (cikkszám: 40600406)


Szükséges készülékek

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] vagy NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200 vagy 500201]

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

- A teszt kizárólag NeuMoDx System rendszerekkel való *in vitro* diagnosztikai használatra szolgál.
- A fogyóeszközök és a reagensek a címkén feltüntetett lejárati időn túl nem használhatók.
- Ha sérült a biztonsági plomba, vagy az átvételkor a csomagoláson sérülések láthatók, ne használja a reagenseket.
- Tilos a fogyóeszközöket vagy a reagenseket felhasználni, ha érkezéskor a védőtasak felbontott állapotban van vagy sérült.
- A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay-t nem validálták tartósítószerrel való használatra.
- Ne gyűjtsön tamponmintákat a folyékony Amies vagy azzal egyenértékű transzport tápközegbe. A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay-t nem validálták más transzport tápközegekkel való használatra.
- A minimális mintatérfogat a csőmérettől/mintacsőtartótól függ; az ezzel kapcsolatos részleteket lásd a NeuMoDx 288, illetve 96 Molecular System kezelői kézikönyvében (cikkszám: 40600108 és 40600317/40600655).
- A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip tesztcsík használata esetén a vizsgálat elvégzése 2 napnál régebbi (2–8 °C-on tárolt), torokból vett tamponmintákon érvénytelen vagy hibás eredményt adhat.
- Ügyeljen arra, hogy ne kerüljön egyik reagensbe és fogyóeszközre sem mikrobiális vagy dezoxiribonukleáz (DNáz) szennyeződés. Ha a mintát másodlagos csőbe viszi át, javasoljuk egyszer használatos steril, DNáz-mentes transzferpipetták használatát. Minden egyes mintához használjon új pipettát.
- A kontamináció elkerülése érdekében amplifikáció után ne manipulálja és ne bontsa fel a NeuMoDx Cartridge kazettákat. Az amplifikáció után a NeuMoDx Cartridge kazettákat semmilyen körülmények között ne vegye ki a hulladékátrolóból. A NeuMoDx Cartridge kazetta úgy lett kialakítva, hogy megakadályozza a szennyeződést.
- Olyan esetekben, amikor a laboratórium nyitott csöves PCR-teszteteket is végez, különös figyelmet kell arra fordítani, hogy a NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip, a teszthez szükséges további fogyóeszközök és reagensek, az egyéni védőeszközök (pl. kesztyű és laboratóriumi köpeny), valamint a NeuMoDx System ne szennyeződjenek.
- A NeuMoDx reagensek és fogyóeszközök kezelésekor tiszta, púdermentes nitril védőkesztyűt kell viselni. Ügyeljen arra, hogy ne érintse meg a NeuMoDx Cartridge kazetta felső felületét, a NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip és a NeuMoDx Extraction Plate zárófóliás felületét vagy a NeuMoDx Lysis Buffer 6 felső felületét. A fogyóeszközök és reagensek manipulálása során csak az oldalfelületeket szabad megérinteni.
- A teszt végrehajtását követően alaposan mosson kezet.
- Tilos szájjal pipettázni. Tilos enni, inni, dohányozni az olyan területeken, ahol mintákat vagy reagenseket kezelnek.
- A mintákat mindig potenciálisan fertőző anyagként, biztonságos, például a *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹¹ és az M29-A3¹² jelű CLSI dokumentumban leírt laboratóriumi eljárásoknak megfelelően kell kezelni.
- A fel nem használt reagenseket és a hulladékot az országos, szövetségi, regionális, állami és helyi szabályozásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.
- Vegyszerekkel való munkavégzéskor mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, eldobható kesztyűt és védőszemüveget. A további tudnivalókat a megfelelő biztonsági adatlapok (Safety Data Sheets, SDS-ek) tartalmazzák. Ezek elérhetők online, a www.qiagen.com/safety weboldalon, jól kezelhető, kompakt PDF formátumban; a weboldalon megtalálható, megtekinthető és kinyomtatható az egyes NeuMoDx kitek és kitekben található összetevők biztonsági adatlapja.

ÓVINTÉZKEDÉSEK

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip	
	<p>VESZÉLY! Bórsavat tartalmaz.</p> <p>Veszély! Károsíthatja a termékenységet vagy a születendő gyermeket.</p> <p>Használat előtt ismerje meg az anyagra vonatkozó különleges utasításokat. Ne használja addig, amíg az összes biztonsági óvintézkedést el nem olvasta és meg nem értette. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező. Expozíció vagy annak gyanúja esetén: Kérjen orvosi ellátást. Tárolja elzárva. A tartalmat/edényt jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben, a helyi, regionális, nemzeti és nemzetközi szabályozásnak megfelelően helyezze el.</p>

Vészhelyzeti információk

CHEMTREC

Az USA-n és Kanadán kívül: +1 703-527-3887

Ártalmatlanítás

Ártalmatlanítsa veszélyes hulladékként, a helyi és országos előírásoknak megfelelően. Ez a nem használt termékekre is vonatkozik. Kövesse a biztonsági adatlapon (Safety Data Sheet, SDS) található ajánlásokat.

A TERMÉK TÁROLÁSA, KEZELÉSE ÉS STABILITÁSA

- Minden reagenshez a www.qiagen.com/safety weboldalon található (szükség szerint) a biztonsági adatlap (Safety Data Sheet, SDS).
- A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip tesztcsíkok elsődleges csomagolásukban, 15–23 °C között tárolva a termék közvetlen címkéjén feltüntetett lejárati időig stabilak.
- Ne használja a fogyóeszközöket és a reagenseket a feltüntetett lejárati időn túl.
- Ne használja a teszthez szükséges termékeket, ha azokon vagy csomagolásukon sérülés jelei láthatók.
- A NeuMoDx System készülékbe behelyezett NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 14 napig maradhat a berendezésben. A betöltött tesztcsíkok fennmaradó eltarthatósági idejét a szoftver nyomon követi és valós időben jelenti a felhasználónak. A rendszer felszólítja a felhasználót, hogy távolítsa el a megengedett időszakon túl használatban lévő tesztcsíkokat.

MINTAGYŰJTÉS/-SZÁLLÍTÁS/-TÁROLÁS

- A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip tesztcsíkokat klinikusok által torokból gyűjtött tamponminták felhasználásával tesztelték. A teljesítményt a megadottaktól eltérő minták esetén nem értékelték.
- A gyűjtött tamponmintákat a szállítás során a tampongyűjtő készletben az ajánlott hőmérsékleten kell tartani.
- A tamponminták vizsgálat előtt 2–8 °C-on legfeljebb 2 napig, szobahőmérsékleten pedig legfeljebb 8 órán át tárolhatók.

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

Mintagyűjtés/-szállítás

1. A klinikusok által torokból vett tamponmintákat folyékony Amies transzport tápközegbe kell gyűjteni.
2. Amennyiben a mintákat nem tesztelik le 8 órán belül, a vizsgálat előtt 2–8 °C-on kell tárolni azokat legfeljebb 2 napig.

A teszt előkészítése

1. Ragassza fel a minta vonalkódcímkéjét a NeuMoDx System készülékkel kompatibilis mintacsőre. Az elsődleges mintagyűjtő cső felcímkézhető és közvetlenül a mintatartóba helyezhető. Másik lehetőségként a folyékony Amies-tápközeg egy alikotját átviheti egy másodlagos csőbe, amelyet aztán feldolgozhat a NeuMoDx System készüléken.
2. Az egyenletes eloszlás elérése érdekében rövid ideig vortexelje a tamponmintát az eredeti tartályban.
3. Ha a tamponmintát az elsődleges tamponmintavételi csőben teszteli, helyezze a vonalkóddal ellátott csövet egy mintacsőtartóba, ügyelve arra, hogy eltávolítsa a kupakot és a tampont a NeuMoDx System készülékbe történő behelyezés előtt. NE hagyja a tampont a csőben.
4. Ha másodlagos csövet használ, adagolja az előkezelt minta $\geq 0,5$ ml-es, folyékony Amies-tápközeges alikotját egy NeuMoDx 32 csöves mintacsőtartóval kompatibilis vonalkódos mintacsőbe

A NeuMoDx System használata

Részletes útmutatásért olvassa el a NeuMoDx 288, illetve 96 Molecular System kezelői kézikönyvét (cikkszám: 40600108 és 40600317/40600655).

1. Töltsön fel egy vagy több NeuMoDx tesztcsíktartót NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip tesztcsík(ok)kal, és az érintőképernyő segítségével töltsse be a tesztcsíktartó(ka)t a NeuMoDx System rendszerbe.
2. Amikor a NeuMoDx System szoftvere arra ad utasítást, adja hozzá a szükséges fogyóeszközöket a NeuMoDx System fogyóeszköztartókba, és az érintőképernyő segítségével töltsse be a tartó(ka)t a NeuMoDx System rendszerbe.
3. Amikor a NeuMoDx System szoftvere arra ad utasítást, szükség szerint cserélje ki a NeuMoDx Wash Reagent reagenst, NeuMoDx Release Reagent reagenst, ürítse ki a feltöltési hulladékot, a biológia veszélyt jelentő hulladékok tartályát (csak a NeuMoDx 288 esetén), a hulladék hegyek tárolóját (csak a NeuMoDx 96 esetén), illetve a biológiai veszélyt jelentő hulladékok tárolóját (csak a NeuMoDx 96 esetén).
4. Töltsse a mintacsőve(ke)t a megfelelő mintacsőtartóba, és ellenőrizze, hogy minden mintacsőről le van-e véve a kupak.
5. Helyezze a mintacsőtartót az automatikus betöltőpolcra, és az érintőképernyő segítségével töltsse be a tartót a NeuMoDx System rendszerbe. Ez elindítja az azonosított teszt(ek)re vonatkozó betöltött minták feldolgozását.

KORLÁTOZÁSOK

- A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip csak a NeuMoDx System készülékeken használható.
- A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip tesztcsík teljesítményét klinikusok által torokból gyűjtött tamponminták felhasználásával állapították meg.
- A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip más forrásokkal való használatát nem vizsgálták, és más mintatípusok esetén a teszt teljesítményjellemzői nem ismertek.
- A GAS és GCS/GGS fajok detektálása függ a mintában jelen lévő mikroorganizmusok számától, ezért a minta megfelelő gyűjtése, kezelése és tárolása feltétele a megbízható eredményeknek.

- A minta nem megfelelő gyűjtése, kezelése és tárolása, a technikai hibák és a minták felcserélése hibás teszteredményeket okozhat. Álnegatív eredményt okozhat továbbá az is, ha a mintában lévő mikroorganizmusok száma kisebb, mint a teszt analitikai érzékenysége.
- A teszt elvégzése kizárólag a NeuMoDx System használatával kapcsolatos képzésben részesült személyek által lehetséges.
- Ha a mintafeldolgozási kontroll nem amplifikálódik, és a NeuMoDx Strep A/C/G Vantage teszt eredménye Negative (Negatív), a közölt érvénytelen eredmény Indeterminate (Nem eldönthető) vagy Unresolved (Megoldatlan), és a tesztet meg kell ismételni.
- A pozitív teszteredmény nem feltétlenül jelenti életképes mikroorganizmus jelenlétét, Azonban feltételezhető a GAS és/vagy GCS/GGS DNS-ének jelenléte.
- Bár nincs olyan ismert GAS törzs/izolátum, amelyből hiányzik a LPXTG-motívumú, sejtfalban horgonyzott domént tartalmazó fehérje régiója, vagy olyan ismert GCS/GGS törzs/izolátum, amelyből hiányzik a nizin rezisztenciafehérje régiója, egy ilyen törzs előfordulása téves eredményhez vezethet a NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip használatakor.
- A primer/próba régiójában található mutációk befolyásolhatják a NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip tesztcsík segítségével történő kimutatást.
- A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay eredményeit a klinikai megfigyelések és az orvos számára rendelkezésre álló egyéb információk kiegészítéseként kell felhasználni. A teszt nem alkalmas a CAS és/vagy GCS/GGS DNS hordozóinak *Streptococcus* által okozott betegségben szenvedőktől történő megkülönböztetésére.
- A teszteredményeket befolyásolhatja az egyidejű antibiotikum-kezelés, mivel a GAS és GCS/GGS DNS-e az antimikrobiális terápiát követően továbbra is kimutatható lehet.
- A minták szennyeződésének elkerülése érdekében javasolt a helyes laboratóriumi gyakorlat alkalmazása, ilyen például az egyes betegminták kezelése közötti védőkesztyűcsere.

EREDMÉNYEK

NeuMoDx Molecular System készülékek

A rendelkezésre álló eredmények megtekinthetők a NeuMoDx System érintőképernyőjén, a Results (Eredmények) ablak „Results” (Eredmények) lapján, ahonnan ki is nyomtathatók. Az eredmények a célszekvencia és a mintafeldolgozáshoz használt kontroll (Sample Process Control, SPC1) amplifikációs állapota alapján a következők lehetnek: Positive (Pozitív), Negative (Negatív), Indeterminate (IND, Nem eldönthető) vagy Unresolved (UNR, Megoldatlan).

A pozitív vagy negatív besorolás kritériumai a NeuMoDx System Strep A/C/G Vantage Assay NeuMoDx Molecular, Inc. által készülék(ek)re telepített assay-definíciós fájljában (ADF) van meghatározva. Az eredmények az ADF döntési algoritmus alapján kerülnek jelentésre; ezt az alábbi 1. táblázat foglalja össze.

1. táblázat: A Strep A/C/G Vantage Assay döntési algoritmusának összefoglalása

EREDMÉNY	GAS- és/vagy GCS-/GGS-CÉLSZEKVENCIÁK	MINTAFELDOLGOZÁSI KONTROLL (SPC1)
POZITÍV	Amplified (Amplifikált)	n.a.
NEGATÍV	Not Amplified (Nem amplifikált)	Amplified (Amplifikált)
IND	Not Amplified (Nem amplifikált), System Error Detected (Rendszerhiba detektálva)	
UNR	Not Amplified (Nem amplifikált), No System Error Detected (Nincs detektált rendszerhiba)	

Érvénytelen eredmények

Ha a NeuMoDx System készüléken elvégzett NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay nem ad érvényes eredményt, az a leletben Indeterminate (Nem eldönthető) vagy Unresolved (Megoldatlan) jelöléssel jelenik meg a bekövetkezett hibától függően, és a tesztet meg kell ismételni az érvényes eredményhez.

Az eredmény akkor kap Indeterminate (Nem eldönthető) jelölést, ha a mintafeldolgozás során a NeuMoDx System hibáját észleli a készülék.

Unresolved (Megoldatlan) eredmény közlésére olyankor kerül sor, ha nem detektálható célszekvencia, és a mintafeldolgozási kontroll nem amplifikálódik, ami esetleges reagenshibára vagy inhibitorok jelenlétére utal.

Minőség-ellenőrzés

A helyi szabályozások jellemzően megadják, hogy a laboratórium a felelős a teljes analitikai folyamat pontosságának és precizitásának monitorozását végző kontroll eljárásokért, és meg kell határozni a tesztkontrollanyagok számát, típusát és alkalmazásuk gyakoriságát a módosítatlan, jóváhagyott tesztrendszerre vonatkozó ellenőrzött teljesítményjellemzők segítségével.

1. A NeuMoDx Molecular, Inc. nem biztosít külső (felhasználó által meghatározott) kontrollanyagokat. A megfelelő kontrollokat a laboratóriumnak kell kiválasztania és validálnia. A kontrollokra ugyanazon minimális térfogatok vonatkoznak, mint a klinikai mintákra. A felhasználó külön vonalkódokat állíthat be a pozitív és negatív kontrollokra vonatkozóan, vagy véletlenszerűen is hozzárendelhet vonalkód(oka)t.
2. Ajánlás: 1 *Streptococcus pyogenes* LYFO DISK™ (Microbiologics® 0508L) és 1 *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *equisimilis* LYFO DISK (Microbiologics® 0602L) a gyártó utasításai szerint feloldva, 50 ml folyékony Amies-tápközegben hígítva, 0,5 ml-es alikvotokban tárolva és felhasználva. A kontrollok feldolgozásakor helyezze a felcímkézett kontrollokat egy mintacsőtartóba, és az érintőképernyő segítségével töltsse be a tartót a NeuMoDx System készülékbe az automatikus betöltőpolcra. A NeuMoDx System felismeri a vonalkódokat (ha a felhasználó előre meghatározta azokat), és elkezd a kontrollok feldolgozását, ha elérhetőek a vizsgálathoz szükséges megfelelő reagensek és fogyóeszközök.
3. Az 1. mintafeldolgozási kontrollhoz (Sample Process Control 1, SPC1) szükséges specifikus primerek és próbák a NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip részét képezik. A mintafeldolgozási kontroll lehetővé teszi, hogy a NeuMoDx System készülék monitorozza a DNS-extrakció és a PCR-amplifikációs eljárások hatékonyságát.
4. Negatív kontrollminta esetén jelentett pozitív teszt eredmény mintaszennyeződésre utal. Hibaelhárítási javaslatokat a *NeuMoDx 288* vagy *96 Molecular System kezelői kézikönyvében* talál.
5. Pozitív kontrollminta esetén jelentett negatív eredmény reagenssel vagy NeuMoDx System készülékkel kapcsolatos problémára utalhat. Hibaelhárítási javaslatokat a *NeuMoDx 288* vagy *96 Molecular System kezelői kézikönyvében* talál.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

Klinikai teljesítmény

A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay klinikai teljesítményjellemzőit belső retrospektív módszer-összehasonlítás vizsgálatokkal határozták meg, amelyben két földrajzilag eltérő elhelyezkedésű laboratóriumból származó maradék torokból vett tamponmintákat használtak.

A tünetekkel rendelkező betegek torokból vett maradék tamponmintákat a klinikai laboratóriumok egyedi azonosító számmal látták el a személyes azonosításra alkalmas adatok helyett. A betegazonosítók és a vizsgálati célból tesztelt, személyes azonosításra alkalmas adatoktól mentesített minták közötti kapcsolatról bizalmasan kezelt listát készítettek. Összesen 230, két klinikai laboratóriumból származó maradék mintát vizsgáltak. A klinikai laboratóriumok a 230 minta közül 68 mintát GAS-pozitívként, 47 mintát pedig GCS-/GGG-pozitívként azonosítottak. Egy minta mind GAS-re, mind GCS-/GGG-re pozitív volt, ami kettős vagy társfertőzésre utal. Ezeknek a mintáknak a vizsgálati státuszát a kezelő nem ismerte, így biztosítva az „egyszeres vak vizsgálatot”. A módszer-összehasonlítás elemzéséhez a specifikus, FDA és CE által engedélyezett, hivatalosan forgalmazott, a laboratóriumok által a standard ellátásban használt vizsgálatokhoz alkalmazott molekuláris eszközökből származó eredményeket használták fel.

A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage teszt eredményei 100%-os klinikai szenzitivitást biztosítottak a GAS-célszekvencia esetében és 95,9%-os klinikai szenzitivitást a GCS-/GGG-célszekvencia esetében, mindkettő esetén 95%-os konfidenciaintervallummal (CI). A vizsgálat klinikai specifikitását 100%-osnak értékelték mind a GAS, mind a GCS-/GGG esetében, szintén 95%-os CI-vel. A 95%-os CI alsó és felső határát az alábbi 2A és 2B táblázat mutatja be, és folyamatosság-korrekcióval, a Wilson-féle eljárással számították ki.

2A. táblázat: Klinikai teljesítmény összefoglalása – *S. pyogenes* detektálása NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip tesztsíccsal

GAS		FDA-/CE-engedéllyel rendelkező referenciateszt eredménye		
		POZITÍV	NEGATÍV	Összes
NeuMoDx Strep A/C/G	POZITÍV	68	0	68
	NEGATÍV	0	162	162
	Összes	68	162	230
Klinikai szenzitivitás (GAS) = 100% (93,3–100)				
Klinikai specifikitás (GAS) = 100% (97,1–100)				

2B. táblázat: A klinikai teljesítmény összefoglalása – *S. dysgalactiae* detektálása NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip tesztsíccsal

GCS/GGS		FDA-/CE-engedéllyel rendelkező referenciateszt eredménye		
		POZITÍV	NEGATÍV	Összes
NeuMoDx Strep A/C/G	POZITÍV	47	0	47
	NEGATÍV	2	181	183
	Összes	49	181	230
Klinikai szenzitivitás (GCS/GGS) = 95,9% (84,9–99,3)				
Klinikai specifikitás (GCS/GGS) = 100% (97,4–100)				

Analitikai szenzitivitás

A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay detektálási határértékét (Limit of Detection, LoD) GAS-, GCS- és GGS-célszekvenciákkal preparált negatív klinikai toroktamponmintákkal határozták meg: *Streptococcus pyogenes* (ATCC 700294), *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *equisimilis* (ATCC 35666), illetve *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *equisimilis* (ATCC 12384). A vizsgálathoz az összes mintát poolozott és szűrt *Streptococcus*-negatív klinikai toroktamponmintákból állították elő, és külön-külön 50 CFU/ml, 2500 CFU/ml vagy 10 000 CFU/ml koncentrációban GAS-, GCS- vagy GGS-célszekvenciákkal preparálták azokat. Minden egyes célpontot 40 párhuzamosan tesztelték, és a találati arány elemzését használták a $\geq 95\%$ -os kimutatási arány elérésének megerősítésére, ezáltal ezeket a koncentrációkat el lehetett fogadni az adott célszekvenciák LoD-jeként. A detektálási határértékre vonatkozó vizsgálat eredményeit az alábbi 3. táblázat foglalja össze.

3. táblázat: A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay detektálási határértékére vonatkozó találati arány meghatározása

Célszekvencia	Koncentráció (CFU/ml)	n	Pozitívák száma	Pozitív eredmények %-os aránya	LoD (találati arány)
GAS	50	40	40	100	50 CFU/ml
GCS	2500	40	40	100	2500 CFU/ml
GGG	10 000	40	40	100	10 000 CFU/ml

A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay megállapított detektálási határértéke 50 CFU/ml a GAS, 2500 CFU/ml a GCS és 10 000 CFU/ml a GGS esetében.

Variánsok detektálása

A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay analitikai szenzitivitását 11 különböző GAS törzssel, 7 GCS törzssel és 9 GGS törzssel is megerősítették. A vizsgálatokat az alábbi 4. táblázatban felsorolt GAS, GCS és GGS törzsekkel végezték. A $\geq 95\%$ -os detektálás megerősítése érdekében a fent felsorolt, vonatkozó LoD 2-szeresével történő vizsgálat előtt a negatív klinikai tamponmintákat meghatározott koncentrációban preparálták célszekvenciákkal. Azokat a törzsvariánsokat, amelyek nem feleltek meg ezen követelménynek, magasabb koncentrációban vizsgálták újra, amíg elérték a $\geq 95\%$ -os detektálási arányt. Az a koncentrációszint, amelyen ezt az egyes törzsek esetében elérték, a 4. táblázatban szerepel az adott variáns LoD-jeként.

4. táblázat: A GAS, GCS és GGS törzsek vizsgált variánsai

	Törzs	n	Koncentráció (CFU/ml)	Positive (Pozitív)	Negative (Negatív)	Kimutatási arány (%)
S. pyogenes (A csoport)	M3	5	100	5	0	100
	M82	5	100	5	0	100
	M4	5	100	5	0	100
	M18	20	100	19	1	95
	M28	20	300	19	1	95
	M73	20	500	20	0	100
	M78	20	500	20	0	100
	M77	19	500	19	0	100
	M12	20	500	20	0	100
	M75	20	1500	20	0	100
	M49	20	2500	19	1	95
S. dysgalactiae subsp. equisimilis (C csoport)	C74	5	5000	5	0	100
	13-166	5	5000	5	0	100
	1180	5	5000	5	0	100
	C46	5	5000	5	0	100
	UCM 74/02P	5	5000	5	0	100
	SVA XVI 172	5	5000	5	0	100
	Lancefield H64	5	5000	5	0	100
S. dysgalactiae subsp. equisimilis (G csoport)	CCUG 28238	5	5000	5	0	100
	NIH 1129	5	10000	5	0	100
	G16	5	10000	5	0	100
	CCUG 15679	5	10000	5	0	100
	G47	5	10000	5	0	100
	CCUG 27483	5	10000	5	0	100
	CCUG 33802	5	10000	5	0	100
	CCUG 502	5	10000	5	0	100
	CCUG 15680	5	20000	5	0	100
CCUG 24070	5	20000	5	0	100	

Analitikai specifititás

A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay-vel történő vizsgálat során összesen 45, a GAS-sel vagy GCS-sel/GGS-sel potenciálisan együttesen előforduló vagy filogenetikailag hasonló mikroorganizmusokból származó tenyésztett izolátumot vagy DNS-t vizsgáltak a lehetséges keresztreaktivitás szempontjából. A mikroorganizmusokat egyenként 3–6 tagú poolokban állították elő, és magas koncentrációban vizsgálták őket. A baktériumokat 6–9X10⁶ CFU/ml, a vírusokat pedig 1x10⁶ DNS-kópia/ml koncentrációban adagolták a GAS-re/GCS-re/GGS-re negatív folyékony Amies-tápközeghez, kivéve, ha másként nem feltüntetve. A vizsgálat során keresztreaktivitás a tesztelt patogének egyikével sem volt megfigyelhető. A tesztelt mikroorganizmusok listája az 5. táblázatban látható.

5. táblázat: Az analitikai specifititás igazolásához használt patogének listája

Baktériumok	Baktériumok	Baktériumok
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	<i>Neisseria subflava</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i> (Parvimonas micra)	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Bordetella pertussis</i> [†]	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Corynebacterium diphtheria</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (MSRE)	<i>Streptococcus suis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Vírusok
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>	Adenovírus, I-es típus*
<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	Haemophilus influenzae, A típus
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptococcus canis</i>	Influenza A
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus canis</i> (STR T1)	Influenza B
<i>Legionella micdadei</i>	<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i> (group C)	Parainfluenza, 4b típus [†]
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>	Rhinovírus, 1A típus
<i>Moraxella cartarrhalis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	

* A mintákat 1x10⁶ TCID₅₀/ml koncentrációban preparálták I. típusú adenovírusal.

[†] A mintákat 10 ng/ml koncentrációban preparálták *Bordetella pertussis* és 4b típusú parainfluenza patogénekkel.

Zavaró anyagok – kommenzális mikroorganizmusok

A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay-t (a posterior pharynxban együtt élő) nem célorganizmusok jelenlétében tesztelték interferencia szempontjából a NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay alacsony GAS- és GCS-/GGS-szint esetén mért teljesítményének értékelésével a NeuMoDx Molecular System készüléken. Ebben a vizsgálatban a keresztreaktivitás értékeléséhez ugyanazt a 45 mikroorganizmusból álló panelt (5. táblázat) használták. A mikroorganizmusokat GAS-re/GCS-re/GGS-re negatív folyékony Amies-tápközegben 3–6 tagú csoportokba poolozták, és 150 CFU/ml, 7500 CFU/ml, valamint 30 000 CFU/ml koncentrációban preparálták GAS-, GCS, illetve GGS-célszekvenciával. Egyik kommenzális mikroorganizmus esetében sem volt interferencia megfigyelhető.

Zavaró anyagok – a klinikai toroktamponmintákban detektált endogén és exogén anyagok

A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay teljesítményét olyan potenciálisan zavaró anyagok jelenlétében vizsgálták, amelyek előfordulhatnak a betegtől vett toroktamponminta gyűjtése során (6. táblázat). Minden anyagot tesztelték a potenciális interferencia szempontjából GAS, GCS és GGS hiányában és jelenlétében is. A 3X LoD-értékkel preparált folyékony Amies-tápközeges mintákat telített tampon segítségével, a meghatározott koncentrációban molekuláris tisztaságú vízben oldott vagy hígított endogén és exogén anyagokkal preparálták. A tesztelésbe bevont egyik anyag sem befolyásolta negatívan a GAS vagy GCS/GGS kimutatását.

6. táblázat: Tesztelt exogén és endogén zavaró anyagok – folyékony Amies-tápközegek minták

	Zavaró anyagok	Törzsoldat koncentrációja
Exogén	Altoids™ (fodormenta)	10 (m/v)%
	Aspirin™	10 (m/v)%
	CEPACOL® extra erős torokfájás és köhögés elleni pasztilla	5 (m/v)%
	Children's Dimetapp® megfázás és köhögés elleni készítmény	15 (v/v)%
	Chloraseptic® Max Sore torokfájás elleni pasztilla	10 (m/v)%
	Chloraseptic torokfájás elleni spray	10 (v/v)%
	Cold-EEZE® cinktartalmú pasztilla	15 (m/v)%
	Crest® Pro-Health Advanced fogínyvédő	4 (m/v)%
	Halls™ köhögés elleni cukorka (cseresznyés)	15 (m/v)%
	Halls köhögés elleni cukorka (mentol-eukaliptusz)	15 (m/v)%
	ICE BREAKERS® mentolos cukorka (hűsítő menta)	10 (m/v)%
	LISTERINE® Total Care szájvíz	15 (v/v)%
	LISTERINE Ultra-clean antiszeptikus szájvíz	15 (v/v)%
	* Ricola® eredeti svájci cukormentes, gyógynövényes köhögés elleni torokcukorka	15 (m/v)%
	Robitussin® Max Strength Nighttime Cough DM köhögés elleni szirup	10 (v/v)%
	Sucrets® torokfájás és köhögés elleni pasztilla (cseresznye)	5 (m/v)%
	Tic Tac® menta ízű cukorka	10 (m/v)%
Wal-Tussin DM Max Cough köhögés elleni szirup	10 (v/v)%	
Endogén	Nyál	100%
	Teljes vér	10 (v/v)%

* A 3X LoD-vel vizsgált 3 GAS-mintából eredetileg 1 nem amplifikálódott a Ricola torokcukorka jelenlétében, de az újbóli teszteléskor a várakozásoknak megfelelően teljesített.

Tételek közötti reprodukálhatóság

A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay tételek közötti reprodukálhatóságát a NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip tesztcsík és a NeuMoDx Lysis Buffer 6 három különálló tételének kvalitatív vizsgálati adatainak retrospektív elemzésével igazolták. Ezeket az adatokat a reagensek funkcionális tesztelésével állították elő folyékony Amies-féle transzport tápközegeken, amelyeket a GAS és GCS reprezentatív törzseinek megfelelő célszekvenciáival preparáltak a hozzájuk tartozó LoD-koncentrációval. A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip tesztcsíkkal tételenként összesen 64 pozitív és 16 negatív párhuzamost dolgoztak fel; a NeuMoDx Lysis Buffer 6 értékelése 16 pozitív és 8 negatív párhuzamost foglalt magában. A gyártási tételek közötti eltéréseket az átlagos C_t -érték, szórás és variációs koefficiens százalékos arányának (CV%) meghatározásával elemezték (lásd 7. táblázat). Mind a GAS-, mind a GCS-célszekvenciák esetében a $\leq 1,1$ szórásértékek és a $\leq 3,0$ CV% értékek kiváló reprodukálhatóságot mutattak a NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay fő reagenseinek tetelei között.

7. táblázat: Célszekvenciák szerinti CV%-elemzés a NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay fő komponenseinek tetelei között

	GAS			GCS			Összes eredmény		
	\bar{C}_t	C_t szórása	CV (%)	\bar{C}_t	C_t szórása	CV (%)	\bar{C}_t	C_t szórása	CV (%)
(3 tétel között)									
Strep A/C/G Test Strip	35,83	1,06	3,0%	34,93	0,76	2,2%	34,06	0,60	1,8%
Lysis Buffer 6	35,71	1,01	2,80%	34,86	0,63	1,80%	34,15	0,67	2,0%

Friss vs. fagyasztott minták egyenértékűsége

Vizsgálatot végeztek a friss és fagyasztott toroktamponminták mintamátrixa közötti egyenértékűség igazolására. A negatív klinikai mintákat a NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 3X LoD-értékének megfelelő koncentrációban preparálták GAS-, GCS- és GGS-célszekvenciákkal, majd feldolgozták őket a NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay-vel. Ezután minden mintát $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tárolták, amíg meg nem fagyott, majd felolvasztották és újból feldolgozták őket. A friss vs. fagyasztott tamponminták eredményeit regressziós elemzéssel hasonlították össze egyenértékűség szempontjából. Az adatok a friss és a fagyasztott tamponminták közötti kiváló egyenértékűséget mutattak.

A kontroll hatékonysága

A NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip tesztcsík részét képező, a folyamatlépés-hibák, illetve a NeuMoDx A/C/G Vantage Assay teljesítményét befolyásoló gátlás jelentésére szolgáló mintafeldolgozási kontroll hatékonyságát a NeuMoDx Molecular System készüléken értékelték. A vizsgált körülmények reprezentatívak a mintafeldolgozás folyamán potenciálisan előforduló olyan kritikus folyamatlépés-hibák tekintetében, amelyeket a NeuMoDx System teljesítményét monitorozó, készülékben lévő érzékelők *nem feltétlenül tudnak kimutatni*. A kontroll hatékonyságát úgy értékelték, hogy különböző folyamatlépés-hibákat szimuláltak a lehetséges rendszerhibák utánzása érdekében, a mintát pedig ismert inhibitorral preparálták, hogy megfigyeljék a nem megfelelő inhibitorcsökkentés mintafeldolgozási kontroll kimutatására kifejtett hatását (lásd: 8. táblázat). Azon esetekben, ahol a feldolgozási hibák nem befolyásolták hátrányosan a mintafeldolgozási kontroll teljesítményét (NO WASH [Nincs mosás]/NO WASH BLOWOUT [Nincs mosási kifújás]), a tesztet megismételték GAS-t és GCS-t/GGS-t alacsony (LoD közeli) koncentrációban tartalmazó mintákkal annak megerősítése érdekében, hogy a feldolgozási hiba nem volt hátrányos hatással a GAS és GCS/GGS kimutatására sem. A kontroll hatékonyságát megerősítő teszt eredményeinek összefoglalása a 8. táblázatban látható.

8. táblázat: A kontroll hatékonyságára vonatkozó adatok összefoglalása

Állapot	Várt eredmény	Megfigyelt eredmény
Normal Processing (Normál feldolgozás)	Negative (Negatív)	Negative (Negatív)
Normal Processing (Normál feldolgozás) + Inhibitor	Unresolved (Nem meghatározható)	Unresolved (Nem meghatározható)
No Wash Reagent (Nincs Wash reagens)	Unresolved (Nem meghatározható) vagy Negative (Negatív)	Negative (Negatív)*
No Wash Blowout (Nincs mosási kifújás)	Unresolved (Nem meghatározható) vagy Negative (Negatív)	Negative (Negatív)
No Release Reagent (Nincs Release reagens)	Indeterminate (Nem eldönthető)	Indeterminate (Nem eldönthető)
No PCR Master Mix Reagents (Nincs PCR mesterkeverék-reagens)	Indeterminate (Nem eldönthető)	Indeterminate (Nem eldönthető)

* Ritkán előfordult, hogy az alacsony koncentrációban pozitív GAS-minták álnegatív eredményt adtak a mosóreagens adagolásának rendszerhibája esetén. Ez 500 CFU/ml alatti GAS-szinteknél volt megfigyelhető, ami jelentősen a pozitív klinikai tamponminta átlagos koncentrációja alatt van, és a legtöbb esetben várhatóan megoldható az egyszeri álnegatív eredményt követő ismételt tesztelés valószínűsíthető alkalmazása miatt.

Készülékbe betöltött tamponminták stabilitása

A Streptococcusra negatív klinikai tamponmintákat a NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 10–15X LoD-értékének megfelelő koncentrációban preparálták GAS-, GCS- és GGS-célszekvenciákkal, 48 órán át $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tárolták, majd egyenlő számú negatív kontroll alkalmazása mellett feldolgozták őket a NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay-vel. A feldolgozás végén az összes pozitív és negatív mintacsövet a rendszer munkasztalán hagyták szobahőmérsékleten 8 órán át, majd újból feldolgozták. A várt eredmény minden 0 és 8 órás időpontban POSITIVE (Pozitív) volt (a megfelelő célszekvenciára) a GAS, GCS vagy GGS célszekvenciával preparált összes tamponmintában, és NEGATIVE (Negatív) (mindkét célszekvenciára) a célszekvenciával nem preparált tamponmintában. Mindkét időpontban 100%-os egyezést figyeltek meg a várt eredményekkel, ami a NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip tesztcsíkkal végzett vizsgálatok 8 órás készülékbe betöltött stabilitását bizonyítja. Az eredményeket az alábbi 9. táblázat foglalja össze.

9. táblázat: Készülékbe betöltött minták stabilitására vonatkozó adatok összefoglalása

Készülékbe betöltött minták stabilitása	Pozitív eredmények %-os aránya, T_0			Pozitív eredmények %-os aránya, 8 óra		
	GAS	GCS/GGS	SPC1	GAS	GGG/GCS	SPC1
GAS [ATCC 700294]	100	0	100	100	0	100
GCS [ATCC 35666]	0	100	100	0	100	100
GGG [ATCC 12384]	0	100	100	0	100	100
Negative (Negatív)	0	0	100	0	100	100

HIVATKOZÁSOK

1. Bisno AL, Gerber MA, Gwaltney JM Jr, Kaplan EL, Schwartz RH, for the Infectious Diseases Society of America. Practice guidelines for the diagnosis and management of group A streptococcal pharyngitis. *Clin Infect Dis*. 2002;35:(2):113–125.
2. Trupti B Naik, Shobha D Nadagir,¹ and Asmabegaum Biradar: Prevalence of Beta-Hemolytic Streptococci Groups A, C, and G in Patients with Acute Pharyngitis. *J Lab Physicians*. 2016 Jan-Jun; 8(1): 45–49.
3. David B. Haslam, Joseph W. St. Gemelli, in *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases (Fifth Edition)*, 2018.
4. Mobin Shah, MD, Robert M. Centor, MD, and May Jennings, MD. Severe Acute Pharyngitis Caused by Group C Streptococcus. *J Gen Intern Med*. 2007 Feb; 22(2): 272–274.
5. Shimomura Y, Okumura K, Murayama SY, Yagi J, Ubukata K, Kirikae T, Miyoshi-Akiyama T. Complete genome sequencing and analysis of a Lancefield group G *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* strain causing streptococcal toxic shock syndrome (STSS). *BMC Genomics*. 2011;12:17. Epub 2011 Jan 11.
6. Gerber MA, Shulman ST. Rapid diagnosis of pharyngitis caused by group A streptococci. *Clin Microbiol Rev*. 2004;17(3):571–580. doi: 10.1128/CMR.17.3.571-580.2004.
7. Rimoin AW, Walker CL, Hamza HS, Elminawi N, Ghafar HA, Vince A, Da Cunha AL, Qazi S, Gardovska D, Steinhoff MC. The utility of rapid antigen detection testing for the diagnosis of streptococcal pharyngitis in low-resource settings. *Int J Infect Dis*. 2010;14(12):e1048–e1053. doi: 10.1016/j.ijid.2010.02.2269.
8. Slinger R, Goldfarb D, Rajakumar D, Moldovan I, Barrowman N, Tam R, Chan F. Rapid PCR detection of group A streptococcus from flocced throat swabs: a retrospective clinical study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2011;10(1):33. doi: 10.1186/1476-0711-10-33.
9. Uhl JR, Adamson SC, Vetter EA, Schleck CD, Harmsen WS, Iverson LK, Santrach PJ, Henry NK, Cockerill FR. Comparison of LightCycler PCR, rapid antigen immunoassay, and culture for detection of group A streptococci from throat swabs. *J Clin Microbiol*. 2003;41(1):242–249. doi: 10.1128/JCM.41.1.242-249.2003.
10. Wei Ling Lean, Sarah Arnup, Margie Danchin, Andrew C. Steer. Rapid Diagnostic Tests for Group A Streptococcal Pharyngitis: A Meta-analysis. *Pediatrics*, October 2014, VOLUME 134 / ISSUE 4.
11. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 6th edition. HHS Publication HHS Publication No. (CDC) 300859, Revised June 2020
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014

Köszönetnyilvánítás

A következő reagenst a BEI Resources, NIAID, NIH biztosította: *Streptococcus pyogenes*, törzs: MGAS15186, NR-15373

A következő reagenst a BEI Resources, NIAID, NIH biztosította a Human Microbiome Project részeként: *Klebsiella pneumoniae* ssp. *pneumoniae*, törzs: WGLW3, HM-748.

A következő reagenst a BEI Resources, NIAID, NIH biztosította a Human Microbiome Project részeként: *Streptococcus anginosus*, törzs: F0211, HM-282.

A következő reagenst a BEI Resources, NIAID, NIH biztosította a Human Microbiome Project részeként: *Streptococcus gallolyticus* ssp. *gallolyticus*, törzs: TX20005, HM-272.

A következő reagenst a BEI Resources, NIAID, NIH biztosította a Human Microbiome Project részeként: *Streptococcus intermedius*, törzs: F0413, HM-368.

A következő reagenst a BEI Resources, NIAID, NIH biztosította: *Burkholderia cepacia*, törzs: UCB 717, NR-707.

A következő reagenst a BEI Resources, NIAID, NIH biztosította a Human Microbiome Project részeként: *Streptococcus mitis*, törzs: F0392, HM-262.

A következő reagenst a BEI Resources, NIAID, NIH biztosította a Human Microbiome Project részeként: *Parvimonas micra*, törzs: CC57A (korábban *Peptostreptococcus micros*, törzs: CC57A), HM-1052.

VÉDJEGYEK

A NeuMoDx™ a NeuMoDx Molecular, Inc. védjegye.

A NeuDry™ a NeuMoDx Molecular, Inc. védjegye.

A TaqMan® a Roche Molecular Systems, Inc. bejegyzett védjegye.

A LYFO DISK™ a Microbiologics, Inc. védjegye.

Az ATCC® a American Type Culture Collection bejegyzett védjegye.

Az Aspirin™ a Bayer AG védjegye.

Az Altoids™ a Callard and Bowser Limited védjegye.

A CEPACOL® a Reckitt Benckiser Limited bejegyzett védjegye.

A Chloraseptic® a Prestige Brands Holdings, Inc. bejegyzett védjegye.

A Dimetapp® a Pfizer, Inc. bejegyzett védjegye.

A Cold-EEZE® a Prophase Labs, Inc. bejegyzett védjegye.

A Crest® Pro-Health a Procter and Gamble Company bejegyzett védjegye.

A Halls™ a Mondelēz International Group védjegye.

Az ICE BREAKERS® a Chocolate & Confectionery Company bejegyzett védjegye.

A LISTERINE® a Johnson & Johnson bejegyzett védjegye.

A Ricola® a Ricola Group AG bejegyzett védjegye.

A Robitussin® a Pfizer, Inc. bejegyzett védjegye.

















A Sucrets® a Prestige Brands Holdings, Inc. bejegyzett védjegye.

A Tic Tac® a Ferrero, Inc. bejegyzett védjegye.

A Wal-Tussin® a Walgreens Company bejegyzett védjegye.

SZIMBÓLUMOK

A használati útmutatóban, a csomagoláson vagy a címkéken a következő szimbólumok szerepelhetnek:

SZIMBÓLUM	JELENTÉS
R only	Kizárólag orvosi rendelvényre
	Gyártó
	<i>In vitro</i> diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Hivatalos képviselő az Európai Közösségben
	Katalógusszám
	Sarzsorszám
	Lejárat dátum
	Hőmérsékleti határértékek
	Páratartalom-korlátozás
	Ne használja újra
	<n> teszthez elegendő mennyiséget tartalmaz
	Lásd a használati útmutatót
	Figyelem!
	Biológiai kockázatok
	CE-jelölés
	Egészségi veszély
	Veszély!



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

Műszaki támogatás/vigilanciajelentés: support.qiagen.com
Szabadalom: www.neumodx.com/patents



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

