

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

R only

ATTENZIONE: Solo per l'esportazione negli Stati Uniti

IVD Per uso diagnostico *in vitro* con NeuMoDx 288 e NeuMoDx 96 Molecular System

 Per gli aggiornamenti dei fogli illustrativi, andare su: www.qiaqen.com/neumodx-ifu

Per istruzioni dettagliate, fare riferimento al Manuale dell'operatore del NeuMoDx 288 Molecular System; P/N 40600108

[RIF 500100]



Per istruzioni dettagliate fare riferimento al Manuale dell'operatore del NeuMoDx 96 Molecular System; P/N 40600317 [RIF 500200] o P/N 40600655 [RIF 500201]

USO PREVISTO

Il NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay, come eseguito sul NeuMoDx 96 Molecular System e sul NeuMoDx 288 Molecular System, è un test rapido e automatizzato, qualitativo *in vitro* di amplificazione dell'acido nucleico per l'individuazione e la differenziazione dirette dello *Streptococcus pyogenes* (*Streptococcus* [GAS] β-emolitico di gruppo A) e dello *Streptococcus dysgalactiae* (*Streptococcus* β-emolitico di gruppo C e G piogenico, che include la sottospecie *dysgalactiae* gruppo C, e *Streptococcus dysgalactiae* sottospecie *equisimilis* gruppo C e G [GCS/GGS]) nei campioni di tampone della gola ottenuti da paziente con segni e sintomi di faringite. L'esame utilizza la reazione a catena della polimerasi (Polymerase Chain Reaction, PCR) real-time per l'individuazione distinta di DNA di *Streptococcus pyogenes* e *Streptococcus dysgalactiae* nei campioni di tampone della gola. Il NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay è destinato a essere utilizzato come supporto nella diagnosi di infezioni GAS e GCS/GGS nei pazienti sintomatici, ma non per guidare o monitorare il trattamento per le infezioni GAS o GCS/GGS. Per la tipizzazione epidemiologica o per un ulteriore test di predisposizione potrebbero essere necessarie colture concomitanti.

SOMMARIO E SPIEGAZIONI

Il NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay è progettato per rilevare e differenziare contemporaneamente il DNA di GAS e GCS/GGS. L'esame prende di mira la regione per il dominio di ancoraggio della parete cellulare con motivo LPXTG, contenente la proteina nel genoma GAS e la sequenza per la proteina per la resistenza alla nisina presente nei genomi GCS/GGS. Per individuare il DNA GAS e/o GCS/GGS mediante NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay, viene raccolto un campione di tampone della gola in terreno di trasporto liquido Amies. Per la preparazione per il test, la provetta del terreno di trasporto liquido Amies viene collocata in appositi portaprovette e caricata sul NeuMoDx System per iniziare l'elaborazione. Per ciascun campione, il NeuMoDx System miscela un'aliquota di 50 µL di terreno di trasporto liquido Amies con NeuMoDx Lysis Buffer 6 ed esegue automaticamente tutti i passaggi richiesti per estrarre l'acido nucleico target, preparare il DNA isolato per l'amplificazione real-time PCR e, se presenti, amplificare e individuare i prodotti dell'amplificazione (sezioni delle sequenze di geni *target* dei genomi GAS, GCS o GGS).

Il NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay include un controllo di elaborazione dei campioni di DNA (Sample Process Control 1, SPC1) per monitorare la presenza di potenziali sostanze inibitorie nonché gli errori relativi al NeuMoDx System o ai reagenti che si possono verificare durante i processi di estrazione e amplificazione.

L'infezione con *Streptococcus pyogenes*, un batterio β-emolitico appartenente al sierogruppo A di Lancefield, altrimenti noto come streptococchi del gruppo A (GAS), causa un'ampia varietà di malattie negli esseri umani. Organismo onnipresente, lo *S. pyogenes* è l'eziologia batterica più comune della faringite acuta o infiammazione della faringe, chiamata comunemente "faringite". La faringite è più comune nei bambini, circa il 20 – 30% di episodi di faringite. In confronto, causa circa tra il 5 e il 15% di infezioni da faringite negli adulti.^{1,2} Le complicazioni purulente delle faringiti di solito si verificano nei pazienti non trattati con agenti antimicrobici e includono otite media, sinusiti, ascessi peritonsillari retrofaringei e adenite cervicale suppurativa. Le complicazioni non suppurative includono la febbre reumatica acuta e la glomerulonefrite.³

Gli *Streptococcus dysgalactiae* sottospecie *equisimilis* (GGS/GCS) sono una flora normale commensale delle vie aeree superiori dell'uomo e sono di frequente colonizzatori asintomatici della pelle, del tratto gastrointestinale e del tratto genitale femminile. Ciò causa spesso la sottovalutazione del loro ruolo nell'incidenza dell'infezione da streptococco, dal momento che GCS/GGS sono associati allo stesso spettro di malattie causate dallo *S. pyogenes*. Nei bambini, tali organismi sono implicati più comunemente nelle infezioni del tratto respiratorio, in particolare nelle faringiti. La vera incidenza della faringite causata dagli streptococchi dei gruppi C e G è difficile da determinare a causa della frequenza con la quale si verifica la colonizzazione asintomatica. Nondimeno, la prova evidente sottintende gli streptococchi del gruppo C e G come causa vera della faringite.²⁻⁴ I GCS/GGS di origine umana ora sono considerati un'unica sottospecie, lo *Streptococcus dysgalactiae* sottospecie *equisimilis*. Un confronto della sequenza completa del genoma di un isolato clinico del GGS, *S. dysgalactiae* sottospecie *equisimilis*, con quello delle altre specie di streptococco ha dimostrato che è correlato più da vicino allo *S. pyogenes*, con una similarità della sequenza pari al 72 per cento.⁵ Lo *S. dysgalactiae* sottospecie *equisimilis* condivide molti fattori di virulenza con lo *S. pyogenes*, tra cui la proteina M antifagocitaria, la streptolisina O, la streptolisina S, lo streptochinasi e una o più esotossine pirogeniche simili a quelle implicate nello shock tossico da streptococco.⁵

Sebbene la faringite causata dagli streptococchi di solito sia autolimitante, individuarla in modo rapido e preciso è importante, e il trattamento precoce con antibiotici appropriati riduce notoriamente la gravità e la durata dei sintomi, diminuisce la trasmissione dell'organismo e riduce il rischio di febbre reumatica acuta.³ Poiché la maggior parte delle faringiti è di origine virale, una diagnosi precisa è in grado di ridurre l'uso inutile di antibiotici e il potenziale sviluppo della resistenza agli antibiotici. Eppure, la diagnosi basata sulle sole caratteristiche cliniche è complessa, dal momento che i sintomi di GAS si sovrappongono a quelli delle faringiti virali. Lo "standard aureo" per l'individuazione del GAS nella popolazione pediatrica è la coltura di un tampone della gola su agar con sangue. Tuttavia, il ritardo relativamente lungo tra la raccolta dei campioni e la diagnosi microbiologica finale (circa 48 ore) limita l'utilità di questo metodo per l'uso di routine nei contesti ambulatoriali. A partire dagli anni '80, i test rapidi di rilevamento dell'antigene (Rapid Antigen Detection Test, RADT) in commercio sono diventati disponibili come strumento di individuazione del GAS.^{6,7} Il vantaggio dei RADT sta nel fatto che possono essere eseguiti rapidamente nello studio del medico. Tuttavia, nonostante la buona specificità che li caratterizza (>95%), i RADT spesso hanno una ridotta sensibilità (~86%) rispetto alla coltura.⁸ Il bisogno persistente degli esami altamente sensibili e rapidi di competere con i metodi di coltura ha aperto la strada allo sviluppo degli esami molecolari. Sono stati sviluppati dei metodi di test di amplificazione dell'acido nucleico (Nucleic Acid Amplification Test, NAAT) per il rilevamento del GAS caratterizzati di solito da una sensibilità più elevata (>90%) e da una buona specificità (>95%).⁸⁻¹⁰

Il NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay consente l'individuazione rapida e accurata degli streptococchi del gruppo A e degli Streptococcus pyogenes del gruppo C e del gruppo G.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay combina le tecnologie di estrazione e amplificazione/rilevamento del DNA mediante real-time PCR. I campioni di tampone della gola vengono collocati in provette di raccolta con terreno di trasporto liquido Amies. Il NeuMoDx System aspira automaticamente un'aliquota del campione di tampone in liquido Amies per miscelarlo con NeuMoDx Lysis Buffer 6 e i reagenti di estrazione contenuti nella NeuMoDx Extraction Plate per iniziare l'elaborazione. Il NeuMoDx System automatizza e integra l'estrazione e la concentrazione del DNA, la preparazione dei reagenti, l'amplificazione e la rilevazione degli acidi nucleici della sequenza target mediante real-time PCR. Il controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control, SPC1) incluso consente di monitorare la presenza di potenziali sostanze inibitorie nonché gli errori di sistema, processo o reagente. Una volta caricato il campione sul NeuMoDx System non è necessario alcun intervento dell'operatore.

Il NeuMoDx System utilizza una combinazione di calore, enzima litico e reagenti di estrazione per eseguire la lisi cellulare, l'estrazione del DNA e la rimozione degli inibitori. Gli acidi nucleici rilasciati vengono catturati da microsfere paramagnetiche. Le microsfere, con gli acidi nucleici legati, vengono caricate nella NeuMoDx Cartridge, dove i componenti non legati e diversi dal DNA vengono ulteriormente rimossi con il NeuMoDx Wash Reagent e il DNA legato viene eluito utilizzando il NeuMoDx Release Reagent. Il NeuMoDx System utilizza quindi il DNA eluito per reidratare i reagenti di amplificazione NeuDry™ proprietari contenenti tutti gli elementi necessari per l'amplificazione dei target GAS e GCS/GGS nonché di una sezione della sequenza di SPC1. Ciò consente l'amplificazione e l'individuazione simultanee dei target e delle sequenze di DNA di controllo. Dopo la ricostituzione dei reagenti PCR, il NeuMoDx System dispensa la miscela pronta per PCR in una camera PCR (per campioni) NeuMoDx Cartridge. L'amplificazione e la rilevazione delle sequenze di DNA di controllo e target (se presenti) si verificano nella camera PCR. La NeuMoDx Cartridge, inclusa la camera PCR, è progettata per contenere l'amplicone successivo alla real-time PCR, eliminando sostanzialmente il rischio di contaminazione post-amplificazione.

I target amplificati vengono rilevati in tempo reale utilizzando la chimica delle sonde a idrolisi (comunemente nota come chimica TaqMan®) che si avvale di molecole di sonde oligonucleotidiche fluorogeniche specifiche per gli ampliconi per i rispettivi target.

Le sonde TaqMan consistono in un fluoroforo legato covalentemente all'estremità 5' della sonda oligonucleotidica e in un colorante quencher all'estremità 3'. Mentre la sonda è intatta, il fluoroforo e il colorante quencher sono in prossimità, di conseguenza la molecola di colorante quencher estingue la fluorescenza emessa dal fluoroforo tramite il trasferimento di energia per risonanza descritto da Theodor Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Le sonde TaqMan sono progettate per l'annealing all'interno di una regione del DNA amplificata da un set specifico di primer. Quando la Taq DNA polimerasi estende il primer e sintetizza il nuovo filamento, l'attività di esonucleasi 5' - 3' della Taq DNA polimerasi degrada la sonda che ha eseguito l'annealing allo stampo. La degradazione della sonda ne rilascia il fluoroforo e interrompe la stretta vicinanza al colorante quencher, superando così l'effetto di estinzione derivante dal FRET e consentendo un aumento della fluorescenza.

Una sonda TaqMan contrassegnata da un fluoroforo (Eccitazione: 470 nm ed Emissione: 510 nm) all'estremità 5' e un colorante quencher scuro all'estremità 3' vengono utilizzati per rilevare il DNA di GAS e una sonda TaqMan contrassegnata con un fluoroforo (Eccitazione: 585 nm ed Emissione: 610 nm) all'estremità 5' e un colorante quencher scuro all'estremità 3' vengono utilizzati per rilevare il DNA di GCS/GGS. Per il rilevamento del controllo di elaborazione dei campioni, la sonda TaqMan è marcata con un colorante fluorescente alternativo (Eccitazione: 530 nm ed Emissione: 555 nm) all'estremità 5' e un colorante quencher scuro all'estremità 3'. Il NeuMoDx System monitora il segnale fluorescente emesso dalle sonde TaqMan alla fine di ogni ciclo di amplificazione. Quando l'amplificazione è completa, il NeuMoDx System analizza i dati e riporta un risultato finale qualitativo (POSITIVE (POSITIVO) / NEGATIVE (NEGATIVO) / INDETERMINATE (INDETERMINATO) / UNRESOLVED (IRRISOLTO)).

REAGENTI/MATERIALI DI CONSUMO

Materiali in dotazione

RIF	Contenuto	Test per unità	Test per confezione
209102	NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip <i>Reagenti per real-time PCR essiccati contenenti sonde TaqMan specifiche per GCS/GGS e primer insieme a sonda TaqMan specifica per il controllo di elaborazione dei campioni e dei primer.</i>	16	96

Reagenti e materiali di consumo necessari ma non in dotazione (disponibili separatamente da NeuMoDx)

RIF	Contenuto
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Particelle paramagnetiche, enzima litico e controlli di elaborazione dei campioni essiccati</i>
401700	NeuMoDx Lysis Buffer 6*
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Puntali Hamilton CO-RE / CO-RE II (300 µL) con filtri
235905	Puntali Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µL) con filtri

**Nota: le versioni del software NeuMoDx System precedenti alla 1.8.0.0 riconosceranno NeuMoDx Lysis Buffer 6 come "Lysis Buffer 4" (Tampone di lisi 4). Per le avvertenze e le precauzioni dettagliate, vedere le Istruzioni per l'uso di NeuMoDx Lysis Buffer 6 (P/N 40600406).*

Strumentazione richiesta

NeuMoDx 288 Molecular System [RIF 500100] o **NeuMoDx96 Molecular System** [RIF 500200 o 500201]

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Questo test è esclusivamente per uso diagnostico *in vitro* con i NeuMoDx System.
- Non utilizzare i materiali di consumo o i reagenti dopo la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare alcun reagente se il sigillo di sicurezza è rotto o se la confezione risulta danneggiata all'arrivo.
- Non utilizzare i materiali di consumo o i reagenti se il sacchetto di protezione appare aperto o rotto all'arrivo.
- Il NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay non è stato approvato per l'uso con conservanti.
- Non raccogliere campioni di tampone in terreni di trasporto diversi dal liquido Amies o equivalenti. Il NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay non è stato approvato per l'uso con altri terreni di trasporto.
- Il volume minimo del campione dipende dalle dimensioni della provetta o dal portaprovette per campioni, come definito nei manuali dell'operatore del NeuMoDx 288 e del 96 Molecular System (p/n 40600108 e 40600317/40600655).
- L'esecuzione di un test su campioni di tampone della gola raccolti da oltre 2 giorni (conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C) può produrre risultati non validi o errati quando si utilizza NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip.
- Evitare la contaminazione microbica e da desossiribonucleasi (DNasi) dei reagenti. In caso di trasferimento del campione in una provetta secondaria, si raccomanda l'uso di pipette di trasferimento monouso sterili prive di DNasi. Utilizzare una nuova pipetta per ciascun campione.
- Per evitare la contaminazione, non manipolare o spezzare nessuna NeuMoDx Cartridge dopo l'amplificazione. In nessun caso recuperare le cartucce NeuMoDx Cartridges dal contenitore per scarti. La cartuccia NeuMoDx Cartridge è stata progettata in modo da prevenire la contaminazione.
- Nei casi in cui anche i test per PCR in provetta aperta vengono condotti dal laboratorio, occorre prestare particolare attenzione affinché la NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip, gli altri materiali di consumo e reagenti necessari per l'esecuzione del test, i dispositivi di protezione individuale e il NeuMoDx System non siano contaminati.
- Durante la manipolazione dei reagenti e dei materiali di consumo NeuMoDx, è necessario indossare guanti in nitrile, puliti e privi di polvere. Prestare particolare attenzione a non toccare la superficie superiore della NeuMoDx Cartridge, la superficie del sigillante in alluminio della NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip, o la NeuMoDx Extraction Plate o la superficie superiore del NeuMoDx Lysis Buffer 6; la manipolazione dei materiali di consumo e dei reagenti dovrà essere eseguita toccando esclusivamente le superfici laterali.
- Lavarsi bene le mani dopo avere eseguito il test.
- Non pipettare con la bocca. Non fumare, mangiare o bere nelle aree in cui vengono manipolati i campioni o i reagenti.
- Maneggiare sempre i campioni come se fossero infettivi e in conformità con procedure di laboratorio sicure, come quelle descritte in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹¹ e nel Documento M29-A3 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).¹²
- Smaltire i reagenti inutilizzati e i materiali di scarto in conformità alle normative nazionali, federali, provinciali, regionali e locali.
- Quando si lavora con sostanze chimiche, indossare sempre un camice da laboratorio adeguato, guanti monouso e occhiali protettivi. Per ulteriori informazioni, consultare le relative schede tecniche di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS). Queste sono disponibili online in formato PDF comodo e compatto sul sito www.qiagen.com/safety dove è possibile trovare, visualizzare e stampare le SDS per ogni kit NeuMoDx e componente del kit.

PRECAUZIONI

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip	
	<p>PERICOLO Contiene: acido bórico.</p> <p>Pericolo! Può nuocere alla fertilità o al feto.</p> <p>Procurarsi le istruzioni speciali prima dell'uso. Non manipolare finché non sono state lette e comprese tutte le precauzioni di sicurezza. Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. IN CASO DI esposizione o di possibile esposizione: consultare un medico. Conservare sotto chiave. Smaltire il prodotto/contenitore in un impianto approvato in conformità ai regolamenti locali, regionali, nazionali e internazionali.</p>

Informazioni di emergenza

CHEMTREC

Al di fuori degli Stati Uniti e del Canada +1 703-527-3887

Smaltimento

Smaltire come rifiuto pericoloso in conformità alle normative locali e nazionali. Lo stesso vale per i prodotti non utilizzati.

Seguire le raccomandazioni contenute nella scheda tecnica di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS).

STOCCAGGIO, MANIPOLAZIONE E STABILITÀ DEL PRODOTTO

- Per ogni reagente vengono fornite le schede tecniche di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) (se applicabile) su www.qiagen.com/safety.
- Le NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip sono stabili nell'imballaggio primario fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta esterna del prodotto, se conservate a una temperatura compresa tra 15 e 23 °C.
- Non utilizzare i materiali di consumo e i reagenti dopo la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare alcun prodotto di test se la confezione primaria o quella secondaria è stata visivamente compromessa.
- Una volta caricata, la NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip può restare a bordo del NeuMoDx System per 14 giorni. Il periodo di validità residuo delle strisce reattive caricate è tracciato dal software e segnalato all'utente in tempo reale. La rimozione di una striscia reattiva utilizzata oltre il periodo consentito sarà richiesta dal sistema.

PRELIEVO/TRASPORTO/CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

- La NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip è stata testata utilizzando campioni di tampone della gola raccolti da medici. Prestazioni con campioni diversi da quelli specificati non sono state valutate.
- Durante il trasporto, i campioni di tampone raccolti devono essere mantenuti alla temperatura consigliata nel kit di raccolta dei tamponi.
- I campioni di tampone devono essere conservati a una temperatura compresa tra i 2 e gli 8 °C per non più di 2 giorni prima dell'analisi, e per un massimo di 8 ore a temperatura ambiente.

ISTRUZIONI PER L'USO

Prelievo/trasporto dei campioni

1. I tamponi della gola raccolti dai medici devono essere raccolti in un terreno di trasporto liquido Amies.
2. Se i campioni non vengono analizzati entro 8 ore, possono essere conservati a una temperatura compresa tra i 2 e gli 8 °C fino a 2 giorni prima dell'analisi.

Preparazione del test

1. Applicare l'etichetta con codice a barre del campione su una provetta per campioni compatibile con NeuMoDx System. La provetta di raccolta primaria deve essere etichettata e collocata direttamente in un portaprovette per campioni. In alternativa, un'aliquota del terreno liquido Amies può essere trasferito a una provetta secondaria per l'elaborazione sul NeuMoDx System.
2. Agitare brevemente il campione di tampone nel contenitore principale per ottenere una distribuzione uniforme.
3. Se il test del campione di tampone viene eseguito nella provetta di raccolta di tamponi primaria, collocare la provetta con l'etichetta con codice a barre in un portaprovette per campioni e accertarsi che il tappo e il tampone vengano rimossi prima del caricamento nel NeuMoDx System. NON lasciare il tampone nella provetta.
4. Se si utilizza una provetta secondaria, trasferire un'aliquota del campione liquido Amies $\geq 0,5$ ml in una provetta per campioni con codice a barre compatibile con un NeuMoDx 32-Tube Specimen Tube Carrier.

Funzionamento del NeuMoDx System

Per istruzioni dettagliate, fare riferimento ai Manuali dell'operatore del NeuMoDx 288 e del 96 Molecular System (p/n 40600108 e 40600317/40600655)

1. Popolare uno o più supporti per strisce reattive NeuMoDx con NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip(s) e utilizzare il touchscreen per caricare i supporti per strisce reattive nel NeuMoDx System.
2. Se richiesto dal software del NeuMoDx system, aggiungere i materiali di consumo necessari richiesti nei relativi supporti del NeuMoDx System e utilizzare il touchscreen per caricare i supporti nel NeuMoDx System.
3. Se richiesto dal software del NeuMoDx system, sostituire NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, svuotare i rifiuti adescamento, il contenitore dei materiali di scarto a rischio biologico (solo NeuMoDx 288), il recipiente dei puntali di scarto (solo NeuMoDx 96) o il recipiente dei materiali di scarto a rischio biologico (solo NeuMoDx 96) secondo necessità.
4. Caricare le provette per campioni nell'apposito portaprovette per campioni e verificare di aver rimosso i tappi da tutte le provette.
5. Posizionare il portaprovette per campioni sul ripiano del caricatore automatico e utilizzare il touchscreen per caricare il portaprovette nel NeuMoDx System. In tal modo verrà avviata l'elaborazione dei campioni caricati per i test identificati.

LIMITAZIONI

- La NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip può essere utilizzata solo sui NeuMoDx System.
- Le prestazioni della NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip sono state stabilite con i campioni di tampone della gola raccolti da medici.
- L'uso della NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip con altre fonti cliniche non è stato valutato e le caratteristiche di prestazione di questo test non sono note per altri tipi di campioni.
- Poiché il rilevamento di GAS e GCS/GGS dipende dal numero di organismi presenti nel campione, l'affidabilità dei risultati dipende da prelievo, manipolazione e conservazione corretti dei campioni.
- Eventuali risultati errati dei test potrebbero essere dovuti al fatto di non aver eseguito correttamente il prelievo, il trattamento o la conservazione, a errori tecnici o a scambi di campioni. Inoltre, possono verificarsi risultati falsi negativi perché il numero di organismi nel campione è inferiore alla sensibilità analitica del test.
- L'esecuzione del test è limitata all'uso da parte di personale addestrato all'utilizzo del NeuMoDx System.
- Se il controllo di elaborazione dei campioni non amplifica e il risultato del test NeuMoDx Strep A/C/G Vantage è Negative (Negativo), viene riportato un risultato non valido (Indeterminate (Indeterminato) o Unresolved (Irrisolto)) e il test deve essere ripetuto.
- Un risultato positivo non indica necessariamente la presenza di organismi vitali. È tuttavia presuntivo di presenza di DNA di GAS e/o GCS/GGS.
- Sebbene non siano noti ceppi/isolati di GAS a cui manchi la regione per il dominio di ancoraggio della parete cellulare con motivo LPXTG, contenente la proteina o di GCS/GGS a cui manchi la regione per la proteina per la resistenza alla nisina, il manifestarsi di tale ceppo potrebbe portare a un risultato errato utilizzando la NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip.
- Mutazioni nelle regioni di legame primer/sonda possono influenzare il rilevamento quando si utilizza la NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip.
- I risultati del NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay dovranno essere impiegati in aggiunta alle osservazioni cliniche e ad altre informazioni disponibili al medico. Il test non ha lo scopo di differenziare i portatori di DNA di CAS e/o GCS/GGS da quelli con malattia da streptococco.
- I risultati dei test possono essere influenzati da una terapia antibiotica concomitante, in quanto il DNA di GAS e GCS/GGS potrebbe essere ancora rilevato dopo la terapia antimicrobica.
- Si raccomandano buone pratiche di laboratorio, compreso il cambio di guanti tra una manipolazione dei campioni dei pazienti e l'altra, per evitare la contaminazione dei campioni.

RISULTATI

NeuMoDx Molecular System

I risultati disponibili possono essere visualizzati o stampati dalla scheda "Results" (Risultati) nella finestra Results (Risultati) sul touchscreen del NeuMoDx System. Un risultato del test può essere riportato come Positive (Positivo) (POS), Negative (Negativo) (NEG), Indeterminate (Indeterminato) (IND) o Unresolved (Irrisolto) (UNR) in base allo stato di amplificazione del target e al controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control, SPC1).

I criteri per un'indicazione di positività o negatività sono specificati nel file di definizione del test (Assay Definition File, ADF) del NeuMoDx System Strep A/C/G Vantage Assay installato sui sistemi da NeuMoDx Molecular, Inc. I risultati sono riportati in base all'algoritmo decisionale dell'ADF, ripilogato nella *Tabella 1*, di seguito.

Tabella 1. Riepilogo dell'algoritmo decisionale del Strep A/C/G Vantage Assay

RISULTATO	TARGET GAS e/o GCS/GGS	CONTROLLO DI PROCESSO (Sample Process Control 1, SPC1)
POS	Amplified (Amplificato)	N/A
NEG	Not Amplified (Non amplificato)	Amplified (Amplificato)
IND (INDETERMINATO)	Not Amplified, System Error Detected (Non amplificato, Rilevato errore di sistema)	
UNR (IRRISOLTO)	Not Amplified, No System Error Detected (Non amplificato, Nessun errore di sistema rilevato)	

Risultati non validi

Se un NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay eseguito su NeuMoDx System non riesce a produrre un risultato valido, verrà segnalato come Indeterminate (Indeterminato) o Unresolved (Irrisolto) in base al tipo di errore che si è verificato, e il test deve essere ripetuto per ottenere un risultato valido.

Un risultato Indeterminate (Indeterminato) verrà segnalato se viene rilevato un errore del NeuMoDx System durante il trattamento del campione.

Il risultato sarà Unresolved (Irrisolto) quando non viene rilevato alcun target e non vi è amplificazione del controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control): ciò indica un possibile errore relativo al reagente o la presenza di inibitori.

Controllo qualità

Le normative locali in genere specificano che il laboratorio è responsabile delle procedure di controllo che monitorano l'accuratezza e la precisione dell'intero processo analitico e devono stabilire il numero, il tipo e la frequenza di test dei materiali di controllo utilizzando specifiche di prestazione verificate per un sistema di test approvato e non modificato.

- I materiali di controllo esterni (definiti dall'utente) non saranno forniti da NeuMoDx Molecular, Inc. Controlli appropriati devono essere scelti e approvati dal laboratorio. I controlli devono rispettare le stesse specifiche di volume minimo dei campioni clinici specificati. L'utente può definire codici a barre specifici per il controllo Positive (Positivo) e Negative (Negativo) oppure assegnare i codici a barre in modo casuale.
- Raccomandazione: 1 *Streptococcus pyogenes* LYFO DISK™ (Microbiologics® 0508L) e 1 *Streptococcus dysgalactiae* sottospecie *equisimilis* LYFO DISK (Microbiologics® 0602L) ricostituiti in base alle istruzioni del produttore, diluiti in 50 ml di liquido Amies, conservati e utilizzati in aliquote di 0,5 ml. Quando si trattano i controlli, collocare i controlli etichettati in un portaprovette per campioni e utilizzare il touchscreen per caricare il portaprovette nel NeuMoDx System dal ripiano del caricatore automatico. Il NeuMoDx System riconoscerà i codici a barre (se predefiniti dall'utente) e avvierà l'elaborazione dei controlli a meno che i reagenti o i materiali di consumo adeguati richiesti per il test siano non disponibili.
- In ciascuna striscia reattiva NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip sono inclusi i primer e la sonda specifici per il controllo di elaborazione dei campioni 1 (Sample Process Control 1, SPC1). Questo controllo di elaborazione dei campioni consente al NeuMoDx System di monitorare l'efficacia dei processi di estrazione del DNA e di amplificazione della PCR.
- Un risultato del test Positive (Positivo) riportato per un campione di controllo negativo indica un problema di contaminazione del campione. Per suggerimenti in merito alla risoluzione dei problemi, fare riferimento al *Manuale dell'operatore del NeuMoDx 288 o 96 Molecular System*.
- Un risultato negativo riportato per un campione di controllo positivo può indicare la presenza di un problema correlato a un reagente oppure al NeuMoDx System. Per suggerimenti in merito alla risoluzione dei problemi, fare riferimento al *Manuale dell'operatore del NeuMoDx 288 o 96 Molecular System*.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prestazioni cliniche

Le caratteristiche delle prestazioni cliniche del NeuMoDx Strep Vantage A/C/G Assay sono state determinate utilizzando uno studio di confronto con metodo retrospettivo interno utilizzando campioni di tampone residui provenienti da due sedi di laboratori geograficamente diversificate.

I campioni di tampone della gola residui provenienti da pazienti asintomatici sono stati deidentificati e hanno ricevuto un numero ID univoco dai laboratori clinici, stabilendo un elenco riservato che collega l'ID del paziente ai campioni deidentificati testati per scopi di studio. È stato testato un totale di 230 campioni residui, forniti da due laboratori clinici. Dei 230 campioni, 68 sono stati identificati dai laboratori clinici come GAS positivi e 47 come GCS/GGS positivi. Alcuni campioni sono risultati positivi sia per GAS che GCS/GGS, indicando un'infezione doppia o concomitante. L'operatore era tenuto all'oscuro dello stato del test di questi campioni per implementare uno "studio in singolo cieco". Per eseguire l'analisi comparativa dei metodi sono stati utilizzati i risultati riportati dagli specifici dispositivi molecolari commercializzati legalmente approvati da FDA e CE utilizzati dai laboratori per test standard di cura.

I risultati del test NeuMoDx Strep A/C/G Vantage hanno fornito una sensibilità clinica del 100% per il target GAS e del 95,9% per il target GCS/GGS, entrambi riportati all'IC del 95%. La specificità clinica dello studio è stata determinata al 100% sia per GAS che per GCS/GGS, utilizzando sempre l'IC del 95%. I limiti inferiore e superiore dell'IC al 95% presentati nelle *Tabella 2A* e *2B* di seguito sono stati calcolati utilizzando la procedura di Wilson con correzione di continuità.

Tabella 2A. Riepilogo delle prestazioni cliniche – Rilevamento di *S. pyogenes* della NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip

GAS		Risultato test di riferimento approvato da FDA/CE		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx Strep A/C/G	POS	68	0	68
	NEG	0	162	162
	Totale	68	162	230
Sensibilità clinica (GAS) = 100% (93,3-100)				
Specificità clinica (GAS) = 100% (97,1-100)				

Tabella 2B. Riepilogo delle prestazioni cliniche – Rilevamento di *S. dysgalactiae* della NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip

GCS/GGS		Risultato test di riferimento approvato da FDA/CE		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx Strep A/C/G	POS	47	0	47
	NEG	2	181	183
	Totale	49	181	230
Sensibilità clinica (GCS/GGS) = 95,9% (84,9-99,3)				
Specificità clinica (GCS/GAS) = 100% (97,4-100)				

Sensibilità analitica

Il limite di sensibilità (Limit of Detection, LoD) del NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay è stato determinato con tamponi della gola negativi clinici arricchiti con target GAS, GCS e GGS: *Streptococcus pyogenes* (ATCC 700294), *Streptococcus dysgalactiae* sottospecie *equisimilis* (ATCC 35666) e *Streptococcus dysgalactiae* sottospecie *equisimilis* (ATCC 12384), rispettivamente. Tutti i campioni per lo studio sono stati preparati in campioni di tampone della gola clinici streptococco negativi raggruppati, sottoposti a screening e arricchiti separatamente con target a concentrazioni di 50 CFU/ml di GAS, 2500 CFU/ml di GCS o 10.000 CFU/ml di GGS. Ciascun target è stato testato in 40 replicati e per confermare il raggiungimento di un tasso di rilevamento $\geq 95\%$ è stata utilizzata l'analisi con metodo hit-rate, consentendo l'accettazione di tali concentrazioni come LoD di target specificati. I risultati dello studio del limite di sensibilità sono riepilogati nella *Tabella 3*, di seguito.

Tabella 3. Determinazione con metodo hit-rate del limite di sensibilità del NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay

Target	Concentrazione (CFU/ml)	n	N. positivo	% positivo	LoD (hit-rate)
GAS	50	40	40	100	50 CFU/ml
GCS	2.500	40	40	100	2.500 CFU/ml
GGS	10.000	40	40	100	10.000 CFU/ml

Il limite di sensibilità del NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay è pari a 50 CFU/ml per GAS, 2.500 CFU/ml per GCS e 10.000 CFU/ml per GGS.

Rilevazione delle varianti

La sensibilità analitica del NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay è stata ulteriormente confermata con 11 diversi ceppi di GAS, 7 ceppi di GCS e 9 ceppi di GGS. Il test è stato eseguito utilizzando i ceppi di GAS, GCS e GGS elencati di seguito nella *Tabella 4*. I target ai livelli specificati sono stati aggiunti nei campioni di tampone clinici negativi prima del test con 2 volte il valore LoD rilevante, come elencato in alto per confermare il $\geq 95\%$ di rilevamento. I ceppi di varianti che non rispettavano questi requisiti sono stati testati nuovamente a concentrazioni più elevate fino al raggiungimento del $\geq 95\%$ di rilevamento. Il livello al quale tale risultato è stato raggiunto per ciascun ceppo è riportato nella *Tabella 4* come valore LoD per tale variante.

Tabella 4. Varianti dei ceppi GAS, GCS e GGS testate

	Ceppo	n	Concentrazione CFU/ml	Positive (Positivo)	Negative (Negativo)	Tasso di rilevazione (%)
S. pyogenes (gruppo A)	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 (gruppo C)	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
	CCUG 28238	5	5000	5	0	100
S. dysgalactiae subsp. equisimilis (gruppo G)	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

Specificità analitica

Un totale di 45 isolati coltivati o di DNA proveniente da organismi potenzialmente coabitanti o filogeneticamente simili a GAS oppure a GCS/GGS è stato valutato per una possibile reattività crociata durante il test con NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay. Gli organismi sono stati preparati in pool di 3-6 organismi ciascuno e analizzati ad alta concentrazione. Gli organismi batterici sono stati aggiunti a liquido Amies GAS/GCS/GGS negativo a $6 - 9 \times 10^6$ CFU/ml e ad agenti virali a 1×10^6 copie di DNA/ml, eccetto salvo laddove diversamente indicato. Non è stata osservata alcuna reattività crociata con nessuno degli agenti patogeni testati in questo studio. L'elenco degli organismi testati è illustrato nella Tabella 5.

Tabella 5. Elenco degli agenti patogeni utilizzati per dimostrare la specificità analitica

Batteri	Batteri	Batteri
<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 (Parvimonas micra)</i>	<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>	Virus
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>	Adenovirus Tipo I*
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	Haemophilus influenzae Tipo A
<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 Tipo 4b [†]
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>	Rhinovirus Tipo 1A
<i>Moraxella cartarrhalis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	

* L'adenovirus Tipo I è stato arricchito a 1×10^6 TCID₅₀/ml

[†] *Bordetella pertussis* e Parainfluenza Tipo 4b sono stati arricchiti a 10 ng/ml

Sostanze interferenti – Organismi commensali

Il NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay è stato testato per interferenza in presenza di organismi non target (coabitanti nel tratto posteriore della faringe), valutando le prestazioni del NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay a bassi livelli di GAS e GCS/GGS sul NeuMoDx Molecular System. Per questo studio è stato utilizzato lo stesso gruppo di 45 organismi [Tabella 5] utilizzato per la valutazione della reattività crociata. Gli organismi sono stati raggruppati in pool di 3-6 in liquido Amies GAS/GCS/GGS negativo e arricchiti con target di 150 CFU/ml di GAS, 7500 CFU/ml di GCS e 30000 CFU/ml di GGS. Non sono state osservate interferenze con alcuno degli organismi commensali.

Sostanze interferenti - Sostanze endogene ed esogene rilevate nei campioni clinici di tampone della gola

Le prestazioni del NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay sono state valutate in presenza di sostanze potenzialmente interferenti che possono essere associate alla raccolta di un tampone della gola da un paziente [Tabella 6]. Tutti gli agenti sono stati testati per potenziali interferenze in assenza e presenza di GAS, GCS e GGS. I campioni di liquido di Amies arricchiti a un valore pari a 3 volte il valore di LoD sono stati dosati con frammenti endogeni ed esogeni dissolti o diluiti in acqua di grado molecolare a concentrazioni specificate utilizzando un tampone impregnato. Nessuna delle sostanze testate ha avuto effetti negativi sul rilevamento di GAS o GCS/GGS.

Tabella 6. Agenti interferenti esogeni ed endogeni testati nei campioni di tampone di liquido Amies

	Sostanza interferente	Concentrazione comune
Esogena	Altoids™ (caramelle alla menta)	10% (m/v)
	Aspirin™	10% (m/v)
	CEPACOL® Extra Strength Sore Throat & Cough Lozenges	5% (m/v)
	Children's Dimetapp® Cold & Cough	15% (v/v)
	Chloraseptic® Max Sore Throat Lozenges	10% (m/v)
	Chloraseptic Sore Throat Spray	10% (v/v)
	Cold-EEZE® Zinc Lozenges	15% (m/v)
	Crest® Pro-Health Advanced Gum Protection	4% (m/v)
	Halls™ Cough Drops (Cherry)	15% (m/v)
	Halls Cough Drops (Menthol-Lyptus)	15% (m/v)
	ICE BREAKERS® Mints (Cool Mint)	10% (m/v)
	LISTERINE® Total Care Mouthwash	15% (v/v)
	Collutorio antisettico LISTERINE Ultra-clean	15% (v/v)
	*Ricola® Original Swiss Sugar Free Herb Cough Suppressant Throat Drops	15% (m/v)
	Robitussin® Max Strength Nighttime Cough DM	10% (v/v)
	Sucrets® Sore Throat & Cough Lozenges (Vapor Cherry)	5% (m/v)
	Tic Tac® Freshmints	10% (m/v)
	Wal-Tussin DM Max Cough Syrup	10% (v/v)
Endogena	Saliva	100%
	Sangue intero	10% (v/v)

**Inizialmente 1 dei 3 campioni di GAS testati a un livello di LoD pari a 3 volte il valore di LoD non ha eseguito l'amplificazione in presenza di Ricola Throat Drops, ma dopo aver effettuato un nuovo test, le prestazioni sono state quelle previste.*

Riproducibilità da lotto a lotto

La riproducibilità tra lotti del NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay è stata verificata mediante analisi retrospettiva dei dati di test della qualità per tre lotti distinti di NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip e NeuMoDx Lysis Buffer 6. Tali dati sono stati generati tramite test funzionale dei reagenti sui terreni di trasporto liquido Amies arricchiti con ceppi rappresentativi di GAS e GCS al valore di LoD per tali target. Per ogni lotto di NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip è stato elaborato un totale di 64 replicati positivi e 16 replicati negativi; la valutazione del NeuMoDx Lysis Buffer 6 ha coinvolto 16 replicati positivi e 8 replicati negativi. La variazione tra lotti di produzione è stata analizzata determinando il valore medio di C_t , la deviazione standard e la percentuale del coefficiente di variazione (%CV) sono indicati nella *Tabella 7*. Valori di deviazione standard $\leq 1,1$ e valori di coefficiente di variazione $\leq 3,0$ % per i target GAS e GCS hanno dimostrato una riproducibilità eccellente tra lotti di reagenti chiave del NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay.

Tabella 7. Analisi della % di CV per target tra lotti di componente chiave di NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay

	GAS			GCS			Tutti i risultati		
	\bar{C}_t	C_t DS	% CV	\bar{C}_t	C_t DS	% CV	\bar{C}_t	C_t DS	% CV
(tra 3 lotti) 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%

Equivalenza tra campioni freschi e congelati

È stato eseguito un test per dimostrare l'equivalenza della matrice dei campioni tra campioni freschi e congelati dei tamponi della gola. I campioni clinici negativi sono stati arricchiti con target di GAS, GCS e GGS a un valore pari a 3 volte il valore di LoD del NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay ed elaborati utilizzando il NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay. Ciascun campione è stato quindi mantenuto a -80 °C fino al congelamento, scongelato e rielaborato. I risultati dei campioni di tampone freschi rispetto a quelli congelati sono stati confrontati per l'equivalenza mediante analisi della regressione. I dati hanno dimostrato un'equivalenza eccellente tra campioni di tampone freschi e congelati.

Efficacia del controllo

L'efficacia del controllo di elaborazione dei campioni incluso nella NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip per quanto riguarda la segnalazione di eventuali errori nella fase del processo o inibizioni che si ripercuotono sulle prestazioni del NeuMoDx A/C/G Vantage Assay è stata valutata sul NeuMoDx Molecular System. Le condizioni testate sono rappresentative di errori critici della fase del processo che potrebbero verificarsi durante l'elaborazione del campione e *possono non essere rilevati* dai sensori di bordo che stanno monitorando le prestazioni del NeuMoDx System. L'efficacia del controllo è stata valutata riproducendo l'errore di varie fasi del flusso di elaborazione del campione per simulare un potenziale errore di sistema e aggiungendo al campione un inibitore noto per osservare l'effetto di mitigazione dell'inibitore inefficiente al momento del rilevamento del controllo di elaborazione dei campioni (vedere *Tabella 8*). Nei casi in cui gli errori di elaborazione non abbiano avuto un impatto negativo sulle prestazioni del controllo di elaborazione dei campioni (NO WASH (Nessuna soluzione di lavaggio)/NO WASH BLOWOUT (Nessun blow-out di lavaggio)), il test è stato ripetuto con campioni contenenti bassi livelli di GAS e GCS/GGS (vicini al LoD) per confermare che l'errore di elaborazione non ha avuto effetti negativi anche sul rilevamento del target di GAS o GCS/GGS. La *Tabella 8* riassume i risultati del test di verifica dell'efficacia del controllo.

Tabella 8. Riepilogo dei dati dell'efficacia del controllo

Condizione	Risultato atteso	Risultato osservato
Normal Processing (Elaborazione normale)	Negative (Negativo)	Negative (Negativo)
Normal Processing + Inhibitor (Elaborazione normale + Inibitore)	Unresolved (Irrisolto)	Unresolved (Irrisolto)
No Wash Reagent (Nessun reagente di lavaggio)	Unresolved (Irrisolto) o Negative (Negativo)	Negative (Negativo)*
No Wash Blowout (Nessun blow-out di lavaggio)	Unresolved (Irrisolto) o Negative (Negativo)	Negative (Negativo)
No Release Reagent (Nessun reagente di rilascio)	Indeterminate (Indeterminato)	Indeterminate (Indeterminato)
No PCR Master Mix Reagents (Nessun reagente Master Mix PCR)	Indeterminate (Indeterminato)	Indeterminate (Indeterminato)

* In rari casi, è stato rilevato che i campioni di GAS debolmente positivi producevano un risultato False falso negativo quando accoppiati a un errore di sistema nel rilascio del reagente di lavaggio. Tale condizione è stata osservata a livelli di GAS al di sotto di 500 CFU/ml, ben al di sotto della concentrazione media di un campione clinico di tampone positivo, e nella maggior parte dei casi è possibile aspettarsi che sia risolto dal probabile verificarsi di ripetizione del test a seguito di un solo risultato falso negativo.

Stabilità on board dei campioni di tampone

I campioni clinici di tampone streptococco negativi sono stati arricchiti con target di GAS, GCS e GGS a 10-15 volte il valore di LoD, conservati a 4 °C per 48 ore e quindi elaborati utilizzando il NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay insieme a un egual numero di campioni negativi. Al termine dell'elaborazione, tutte le provette di campioni positivi e negativi sono state lasciate sul piano di lavoro del sistema a temperatura ambiente per 8 ore e quindi rielaborate. Il risultato atteso in tutti i punti tempo (a 0 ore e a 8 ore) è stato POSITIVE (POSITIVO) (per il target appropriato) per tutti i campioni di tampone arricchiti con target GAS, GCS, o GGS e NEGATIVE (NEGATIVO) (per entrambi i target) nei campioni di tampone che non sono stati arricchiti con il target. In entrambi i punti di tempo è stata osservata una concordanza del 100% con il risultato atteso, a indicare che la stabilità on-board delle 8 ore è stata dimostrata per il test con la NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip. I risultati sono riepilogati nella *Tabella 9*, di seguito.

Tabella 9. Riepilogo dei dati relativi alla stabilità on board del campione

Stabilità dei campioni on-board	% positiva, T ₀			% positiva, 8 ore		
	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 (Negativo)	0	0	100	0	100	100

BIBLIOGRAFIA

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

Riconoscimenti

Il reagente seguente è stato ottenuto tramite BEI Resources, NIAID, NIH: *Streptococcus pyogenes*, Strain MGAS15186, NR-15373

Il reagente seguente è stato ottenuto tramite BEI Resources, NIAID, NIH come parte del progetto microbioma umano: *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, Strain WGLW3, HM-748.

Il reagente seguente è stato ottenuto tramite BEI Resources, NIAID, NIH come parte del progetto microbioma umano: *Streptococcus anginosus*, Strain F0211, HM-282.

Il reagente seguente è stato ottenuto tramite BEI Resources, NIAID, NIH come parte del progetto microbioma umano: *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus*, Strain TX20005, HM-272.

Il reagente seguente è stato ottenuto tramite BEI Resources, NIAID, NIH come parte del progetto microbioma umano: *Streptococcus intermedius*, Strain F0413, HM-368.

Il reagente seguente è stato ottenuto tramite BEI Resources, NIAID, NIH: *Burkholderia cepacia*, Strain UCB 717, NR-707.

Il reagente seguente è stato ottenuto tramite BEI Resources, NIAID, NIH come parte del progetto microbioma umano: *Streptococcus mitis*, Strain F0392, HM-262.

Il reagente seguente è stato ottenuto tramite BEI Resources, NIAID, NIH come parte del progetto microbioma umano: *Parvimonas micra*, Strain CC57A (Deposited as *Peptostreptococcus micros*, Strain CC57A), HM-1052.

MARCHI COMMERCIALI

NeuMoDx™ è un marchio commerciale di NeuMoDx Molecular, Inc

NeuDry™ è un marchio commerciale di NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® è un marchio commerciale registrato di Roche Molecular Systems, Inc.

LYFO DISK™ è un marchio commerciale di Microbiologics, Inc.

ATCC® è un marchio commerciale registrato dell'American Type Culture Collection

Aspirin™ è un marchio commerciale di Bayer AG

Altoids™ è un marchio commerciale di Callard and Bowser Limited

CEPACOL® è un marchio commerciale registrato di Reckitt Benckiser Limited

Chloraseptic® è un marchio commerciale registrato di Prestige Brands Holdings, Inc.

Dimetapp® è un marchio commerciale registrato di Pfizer, Inc.

Cold-EEZE® è un marchio commerciale registrato di Prophase Labs, Inc.

Crest® Pro-Health è un marchio commerciale registrato di Procter and Gamble Company

Halls™ è un marchio commerciale di Mondelēz International Group

ICE BREAKERS® è un marchio commerciale registrato di Hershey Chocolate & Confectionery Company

LISTERINE® è un marchio commerciale registrato di Johnson & Johnson

Ricola® è un marchio commerciale registrato di Ricola Group AG

Robitussin® è un marchio commerciale registrato di Pfizer, Inc.

Sucrets® è un marchio commerciale registrato di Prestige Brands Holdings, Inc.

Tic Tac® è un marchio commerciale registrato di Ferrero, Inc.

Wal-Tussin® è un marchio registrato di Walgreens Company

SIMBOLI

I seguenti simboli possono comparire nelle istruzioni per l'uso o sulla confezione e sull'etichetta:

SIMBOLO	SIGNIFICATO
R only	Solo su prescrizione medica
	Produttore
	Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>
	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
	Numero di catalogo
	Codice lotto
	Data di scadenza
	Limite di temperatura
	Limiti di umidità
	Non riutilizzare
	Contenuto sufficiente per <n> test
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Attenzione
	Rischio biologico
	Marchio CE
	Pericolo per la salute
	Pericolo



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

Assistenza tecnica/Rapporti di vigilanza: support@qiagen.com
Brevetto: www.neumodx.com/patents



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

