

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

PRZESTROGA: Wyłącznie do eksportu poza Stany Zjednoczone

IVD **Do diagnostyki *in vitro* z wykorzystaniem systemów NeuMoDx 288 Molecular System i NeuMoDx 96 Molecular System**

 Aktualne wersje ulotek informacyjnych można znaleźć pod adresem: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Szczegółowe instrukcje zawiera dokument NeuMoDx 288 Molecular System — podręcznik użytkownika; nr części: 40600108 [NR REF. 500100]

Szczegółowe instrukcje zawiera dokument NeuMoDx 96 Molecular System — podręcznik użytkownika; nr części: 40600317 [NR REF. 500200] lub nr części: 40600655 [NR REF. 500201]

PRZEZNACZENIE

Oznaczenie NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay wykonywane w systemach NeuMoDx 96 Molecular System i NeuMoDx 288 Molecular System to szybki, zautomatyzowany test jakościowy służący do amplifikacji *in vitro* kwasu nukleinowego, przeznaczony do bezpośredniego wykrywania i różnicowania bakterii *Streptococcus pyogenes* (bakterie *Streptococcus* β -hemolizujące z grupy A [GAS]) oraz bakterii *Streptococcus dysgalactiae* (ropotwórcze bakterie *Streptococcus* β -hemolizujące z grupy C i G, w tym subsp. *dysgalactiae* z grupy C i *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* z grupy C i G [GCS/GGS]) w próbkach wymazów z gardła pobranych od pacjentów z przedmiotowymi i podmiotowymi objawami zapalenia gardła. W tym oznaczeniu w celu odrębnej detekcji DNA bakterii *Streptococcus pyogenes* i *Streptococcus dysgalactiae* w próbkach wymazów z gardła wykorzystywana jest łańcuchowa reakcja polimerazy (Polymerase Chain Reaction, PCR) w czasie rzeczywistym. Oznaczenie NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay jest przeznaczone do stosowania pomocniczo podczas ustalania rozpoznania zakażeń bakteriami GAS i GCS/GGS u pacjentów objawowych. Wyników oznaczenia nie można jednak używać jako podstawy do podejmowania decyzji dotyczących leczenia ani monitorowania leczenia zakażeń bakteriami GAS lub GCS/GGS. W celu pozyskania mikroorganizmów do typowania epidemiologicznego lub do dalszych badań lekowności może wystąpić konieczność prowadzenia równoległych hodowli.

PODSUMOWANIE I OBJAŚNIENIE

Oznaczenie NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay jest przeznaczone do równoczesnego wykrywania i rozróżniania DNA bakterii GAS i GCS/GGS. Oznaczenie jest ukierunkowane na region kodujący białko z domeną kotwiczącą w ścianie komórkowej z motywem LPXTG obecny w genomie bakterii GAS oraz na obecną w genomach bakterii GCS/GGS sekwencję kodującą białko oporności na zinyę. W celu detekcji DNA bakterii GAS i/lub bakterii GCS/GGS przy użyciu oznaczenia NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay próbka wymazu z gardła jest pobierana do płynnego podłoża transportowego Amies. W celu przygotowania próbki do testów próbówka z płynnym podłożem transportowym Amies jest ładowana do systemu NeuMoDx System przy użyciu dedykowanego nośnika próbek. Po wykonaniu tej czynności rozpoczyna się analiza. W przypadku każdej próbki system NeuMoDx System miesza porcję zawierającą próbkę płynnego podłoża transportowego Amies o objętości 50 μ l z buforem NeuMoDx Lysis Buffer 6 i automatycznie wykonuje wszystkie kroki wymagane do wyizolowania docelowego kwasu nukleinowego, przygotowania wyizolowanego DNA do amplifikacji w reakcji real-time PCR oraz amplifikacji i detekcji produktów amplifikacji (części *docelowych* sekwencji genów znajdujących się w genomach bakterii GAS, GCS lub GGS), jeśli są obecne.

Oznaczenie NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay zawiera kontrolę przetwarzania próbki (Sample Process Control, SPC1) w postaci DNA, umożliwiającą monitorowanie pod kątem obecności potencjalnych inhibitorów oraz wykrycie nieprawidłowości w działaniu systemu NeuMoDx System lub odczynników, które mogą wystąpić podczas procesów izolacji i amplifikacji.

Zakażenie beta-hemolizującą bakterią *Streptococcus pyogenes* należąca do serogrupy A wg Lancefield, nazywanej również paciorkowcami z grupy A (Group A Streptococci, GAS), jest przyczyną szeregu różnych chorób u ludzi. *S. pyogenes* to występujący powszechnie mikroorganizm, który jest najczęstszym bakteryjnym czynnikiem etiologicznym ostrego zapalenia gardła, nazywanego „paciorkowcowym zapaleniem gardła”. Paciorkowcowe zapalenie gardła najczęściej występuje u dzieci, stanowiąc około 20–30% przypadków zapalenia gardła. Dla porównania, paciorkowcowe zapalenie gardła stanowi około 5–15% zakażeń wywołujących zapalenie gardła u dorosłych^{1,2}. Ropne powikłania zapalenia gardła występują zwykle u pacjentów nieleczonych środkami przeciwdrobnoustrojowymi i obejmują zapalenie ucha środkowego, zapalenie zatok, ropień okołomigdałkowy lub ropień zagardłowy oraz ropne zapalenie węzłów chłonnych szyi. Do powikłań innych niż powikłania ropne należą ostra gorączka reumatyczna (Acute Rheumatic Fever, ARF) i ostre zapalenie kłębuszków nerkowych³.

Bakterie *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (GGS/GCS) stanowią prawidłową mikroflorę komensalną górnych dróg oddechowych człowieka i często są bezobjawowymi kolonizatorami skóry, układu pokarmowego oraz żeńskiego układu rozrodczego. Fakt ten często powoduje niedocenianie roli tych bakterii w obciążeniu zakażeniem paciorkowcami. Bakterie GCS/GGS powiązane jednak z tym samym spektrum chorób, które wywołują bakterie *S. pyogenes*. U dzieci mikroorganizmy te najczęściej biorą udział w zakażeniach dróg oddechowych, zwłaszcza w przypadkach zapalenia gardła. Rzeczywista częstość występowania zapalenia gardła wywołanego przez paciorkowce z grupy C i G jest trudna do określenia ze względu na częstość kolonizacji bezobjawowej. Niemniej jednak istnieją istotne dowody na to, że prawdziwą przyczyną zapalenia gardła są paciorkowce z grupy C i G²⁻⁴. Obecnie uznaje się, że bakterie GCS/GGS pochodzenia ludzkiego stanowią jeden podgatunek — *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*. W wyniku porównania sekwencji pełnego genomu izolatu klinicznego bakterii GGS, *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, z sekwencjami innych gatunków paciorkowców wykazano, że bakteria ta jest najbliższą spokrewnioną z gatunkiem *S. pyogenes*, przy 72-procentowym podobieństwie sekwencji⁵. Bakterie *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* współdzielą z bakteriami *S. pyogenes* wiele czynników wirulencji, w tym białko M ograniczające fagocytozę, streptolizynę O, streptolizynę S, streptokinazę i co najmniej jedną gorączkotwórczą egzotoksynę podobną do toksyn wywołujących zespół paciorkowcowego wstrząsu toksycznego⁶.

Zapalenie gardła wywołane przez paciorkowce zwykle ustępuje samoistnie, jednak szybkie i dokładne wykrycie zakażenia jest bardzo istotne, jako że wczesne wdrożenie odpowiedniej antybiotykoterapii zmniejsza nasilenie i czas trwania objawów, ogranicza przenoszenie mikroorganizmów i obniża ryzyko wystąpienia ostrej gorączki reumatycznej³. Większość przypadków zapalenia gardła ma podłoże wirusowe, dlatego dokładne rozpoznanie czynnika wywołującego zakażenie może zapobiec niepotrzebnemu przyjmowaniu antybiotyków, ograniczając dzięki temu ryzyko potencjalnego rozwoju antybiotykooporności. Ustalanie rozpoznania wyłącznie na podstawie objawów klinicznych stwarza trudności, gdyż objawy zakażenia bakteriami GAS pokrywają się z objawami wirusowego zapalenia gardła. Złotym standardem w wykrywaniu bakterii GAS w populacji dziecięcej jest posiew wymazu z gardła na agar z krwią. Stosunkowo długi czas od pobrania próbki do ustalenia ostatecznego rozpoznania względem mikroorganizmu, około 48 godzin, ogranicza

jednak przydatność tej metody do rutynowego stosowania w warunkach ambulatoryjnych. Od lat 80. XX wieku na rynku dostępne są szybkie testy antygenowe (Rapid Antigen Detection Test, RADT) przeznaczone do wykrywania bakterii GAS^{8,7}. Zaletą testów RADT jest możliwość szybkiego wykonania takiego testu w gabinecie lekarskim. Pomimo dobrej swoistości (>95%) testy RADT często charakteryzują się jednak niższą czułością (~86%) w porównaniu z metodami opartymi na prowadzeniu hodowli⁶. Stałe zapotrzebowanie na wysoce czułe i szybkie oznaczenia, które mogłyby konkurować z metodami hodowli, przyczyniło się do rozwoju oznaczeń molekularnych. Testy oparte na amplifikacji kwasu nukleinowego (Nucleic Acid Amplification Test, NAAT) opracowane do detekcji bakterii GAS zwykle charakteryzują się wyższą czułością (>90%) i dobrą swoistością (>95%)⁸⁻¹⁰.

Oznaczenie NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay umożliwia szybką i dokładną detekcję paciorkowców z grupy A oraz paciorkowców ropotwórczych z grupy C i G.

ZASADY PROCEDURY

W oznaczeniu NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay wykorzystywana jest kombinacja technologii izolacji DNA i amplifikacji/detekcji docelowych sekwencji w reakcji real-time PCR. Próbkę wymazów z gardła są pobierane do próbek do pobierania próbek z płynnym podłożem transportowym Amies. System NeuMoDx System automatycznie zasysa porcję próbki wymazu w płynnym podłożu Amies w celu wymieszania jej z buforem NeuMoDx Lysis Buffer 6 i odczynnikami do izolacji zawartymi na płytce NeuMoDx Extraction Plate w celu rozpoczęcia analizy. System NeuMoDx System umożliwia automatyzację i integrację izolacji i zatężania DNA, przygotowania odczynników oraz amplifikacji kwasów nukleinowych i detekcji docelowych sekwencji przy użyciu reakcji real-time PCR. Zawarta kontrola przetwarzania próbki (Sample Process Control, SPC1) ułatwia monitorowanie pod kątem obecności potencjalnych inhibitorów oraz wykrycie nieprawidłowości związanych z systemem, procesem lub odczynnikami. Po załadowaniu próbki do systemu NeuMoDx System operator nie musi wykonywać żadnych działań.

W celu przeprowadzenia lizy komórek, izolacji DNA oraz usunięcia inhibitorów w systemach NeuMoDx System stosowane są wysoka temperatura, enzym lityczny i odczynniki do izolacji. Uwolnione kwasy nukleinowe są wychwytywane przez cząstki paramagnetyczne. Mikrosfery, wraz ze związanymi kwasami nukleinowymi, są następnie ładowane do kasety NeuMoDx Cartridge, w której niezwiązane składniki niebędące DNA są wymywane przy użyciu odczynnika NeuMoDx Wash Reagent. Związany DNA jest eluowany przy użyciu odczynnika NeuMoDx Release Reagent. System NeuMoDx System wykorzystuje eluowany DNA do uwodnienia zastrzeżonych odczynników do amplifikacji NeuDry™, które zawierają wszystkie składniki wymagane do amplifikacji sekwencji docelowych bakterii GAS i GCS/GGS i części sekwencji kontroli SPC1. Umożliwia to równoczesną amplifikację i detekcję sekwencji DNA docelowego patogenu i kontroli. Po rekonstytucji suchych odczynników do reakcji PCR system NeuMoDx System dozjuje przygotowaną mieszaninę gotową do użycia w reakcji PCR do jednej komory do reakcji PCR (na każdą próbkę) w kasecie NeuMoDx Cartridge. W komorze do reakcji PCR zachodzi amplifikacja i detekcja sekwencji docelowych DNA patogenów (jeśli są obecne) i DNA kontroli. Kasetę NeuMoDx Cartridge, w tym komorę do reakcji PCR, zaprojektowano w taki sposób, aby po reakcji real-time PCR aplikony pozostawały w jej wnętrzu, co praktycznie eliminuje ryzyko zanieczyszczenia po amplifikacji.

Detekcja zamplifikowanych sekwencji docelowych przebiega w czasie rzeczywistym przy użyciu sond hydrolitycznych (nazywanych powszechnie odczynnikami TaqMan®) – cząsteczek oligonukleotydowych sond fluorogenicznych swoistych względem amplikonów odpowiednich sekwencji docelowych.

Sondy TaqMan zawierają fluorofor kowalencyjnie związany z końcem 5' oligonukleotydowej sondy oraz wygaszacz związany z końcem 3'. Jeśli sonda jest nienaruszona, bliskość fluoroforu i wygaszacza powoduje, że wygaszacz tłumi emitowaną przez fluorofor fluorescencję poprzez Försterowskie rezonansowe przeniesienie energii (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Sondy TaqMan hybrydują do regionu DNA amplifikowanego przez swoisty zestaw starterów. Podczas gdy polimeraza DNA Taq wydłuża starter i syntezuje nić potomną, aktywność egzonukleazy 5'–3' polimerazy DNA Taq powoduje rozkład sondy zhybrydowanej z matrycą. Rozkład sondy prowadzi do uwolnienia fluoroforu i oddalenia go od wygaszacza, znosząc tym samym efekt wytlumienia spowodowany przez FRET i umożliwiając wzrost fluorescencji.

Sonda TaqMan znakowana fluoroforem (wzbudzenie: 470 nm i emisja: 510 nm) na końcu 5' i ciemnym wygaszaczem na końcu 3' jest przeznaczona do detekcji DNA bakterii GAS, a sonda TaqMan znakowana fluoroforem (wzbudzenie: 585 nm i emisja: 610 nm) na końcu 5' i ciemnym wygaszaczem na końcu 3' jest przeznaczona do detekcji DNA bakterii GCS/GGS. Sonda TaqMan przeznaczona do detekcji kontroli przetwarzania próbki jest znakowana innym barwnikiem fluorescencyjnym (wzbudzenie: 530 nm i emisja: 555 nm) na końcu 5' i ciemnym wygaszaczem na końcu 3'. System NeuMoDx System monitoruje sygnał fluorescencyjny emitowany przez sondy TaqMan pod koniec każdego cyklu amplifikacji. Po ukończeniu amplifikacji system NeuMoDx System analizuje dane i zgłasza końcowy wynik jakościowy (POSITIVE (Pozytywny) / NEGATIVE (Negatywny) / INDETERMINATE (Nieokreślony) / UNRESOLVED (Nierozstrzygnięty)).

ODCZYNNIKI / MATERIAŁY EKSPLOATACYJNE

Dostarczony materiał

NR REF.	Zawartość	Liczba testów na opakowanie jednostkowe	Liczba testów na opakowanie zbiorcze
209102	NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip <i>Suche odczynniki do reakcji real-time PCR zawierające sondy TaqMan i startery swoiste dla bakterii GAS i GCS/GGS oraz sondę TaqMan i startery swoiste dla kontroli przetwarzania próbki.</i>	16	96

Odczynniki i materiały eksploatacyjne wymagane, ale niedostarczone (oferowane oddzielnie przez firmę NeuMoDx)

NR REF.	Zawartość
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Suche cząstki paramagnetyczne, enzym lityczny i kontrole przetwarzania próbek</i>
401700	NeuMoDx Lysis Buffer 6*
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Końcówki Hamilton CO-RE / CO-RE II (300 µl) z filtrami
235905	Końcówki Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µl) z filtrami

**Uwaga: W przypadku wersji oprogramowania systemu NeuMoDx System starszych niż 1.8.0.0 bufor NeuMoDx Lysis Buffer 6 będzie rozpoznawany jako „Lysis Buffer 4” (Bufor do lizy 4). Szczegółowe ostrzeżenia i środki ostrożności można znaleźć w dokumencie NeuMoDx Lysis Buffer 6 – Instrukcja użycia (nr części: 40600406).*


Wymagany sprzęt

System **NeuMoDx 288 Molecular System** [NR REF. 500100] lub system **NeuMoDx 96 Molecular System** [NR REF. 500200 lub 500201]

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Ten test jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki *in vitro* z wykorzystaniem systemów NeuMoDx System.
- Nie używać materiałów eksploatacyjnych ani odczynników po upływie wskazanej daty ważności.
- Nie używać żadnych odczynników, jeśli plomba zabezpieczająca jest naruszona lub dostarczone opakowanie jest uszkodzone.
- Nie używać materiałów eksploatacyjnych ani odczynników, jeśli dostarczona torebka ochronna jest otwarta lub uszkodzona.
- Oznaczenie NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay nie zostało zwalidowane do użytku z konserwantami.
- Nie pobierać próbek wymazów do podłoża transportowych innych niż płynne podłoże Amies lub podłoże równoważne. Oznaczenie NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay nie zostało zwalidowane do użytku z innymi podłożami transportowymi.
- Minimalna objętość próbki zależy od rozmiaru probówki/nośnika próbek, zgodnie z opisem zawartym w podręcznikach użytkownika systemów NeuMoDx 288 Molecular System i NeuMoDx 96 Molecular System (nr części: 40600108 i 40600317/40600655).
- Jeśli test zostanie wykonany przy użyciu paska testowego NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip na próbkach wymazów z gardła starszych niż 2 dni (przechowywanych w temperaturze 2–8°C), istnieje ryzyko otrzymania nieważnych lub błędnych wyników.
- Unikać zanieczyszczenia odczynników drobnoustrojami i deoksurybonukleazą (DNazą). W przypadku przenoszenia próbki do probówki wtórnej zalecane jest stosowanie sterylnych, jednorazowych pipet transferowych wolnych od DNaz. Do każdej próbki należy używać nowej pipety.
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, po amplifikacji nie należy przenosić kaset NeuMoDx Cartridge ani rozkładać ich na części. Pod żadnym pozorem nie należy wyjmować kaset NeuMoDx Cartridge z pojemników na odpady. Konstrukcja kasety NeuMoDx Cartridge minimalizuje ryzyko zanieczyszczenia.
- Jeśli w laboratorium wykonywane są również testy PCR w otwartych probówkach, należy zachować ostrożność, aby nie dopuścić do zanieczyszczenia paska testowego NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip, dodatkowych materiałów eksploatacyjnych i odczynników wymaganych do przeprowadzenia testu, środków ochrony indywidualnej, takich jak rękawiczki i fartuchy laboratoryjne, oraz systemu NeuMoDx System.
- Podczas pracy z odczynniki i materiałami eksploatacyjnymi NeuMoDx należy nosić czyste, bezpudrowe rękawiczki nitrylowe. Należy unikać dotykania górnej powierzchni kasety NeuMoDx Cartridge, powierzchni paska testowego NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip i płytki NeuMoDx Extraction Plate pokrytych folią uszczelniającą oraz górnej powierzchni pojemnika z buforem NeuMoDx Lysis Buffer 6; podczas pracy należy dotykać wyłącznie bocznych powierzchni materiałów eksploatacyjnych oraz pojemników z odczynniki.
- Po wykonaniu testu dokładnie umyć ręce.
- Nie pipetować ustami. Nie palić i nie spożywać pokarmów ani płynów w miejscach przeznaczonych do pracy z próbkami lub odczynniki.
- Z próbkami należy zawsze postępować w taki sposób, jak z materiałami zakaźnymi, zgodnie z procedurami bezpieczeństwa laboratoryjnego, które opisano w publikacjach, takich jak *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (Bezpieczeństwo w laboratoriach mikrobiologicznych i biomedycznych)¹¹ i w dokumencie M29-A3 instytutu CLSI¹².
- Usuwać nieużyte odczynniki i odpady zgodnie z przepisami federalnymi i stanowymi lub krajowymi, wojewódzkimi i lokalnymi.
- Podczas pracy z substancjami chemicznymi zawsze należy nosić odpowiedni fartuch laboratoryjny, jednorazowe rękawiczki i okulary ochronne. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z odpowiednimi kartami charakterystyki (Safety Data Sheet, SDS). Są one dostępne online w wygodnym i kompaktowym formacie PDF pod adresem www.qiagen.com/safety. Na tej stronie można wyszukiwać, wyświetlać i drukować karty charakterystyki dla poszczególnych zestawów i składników zestawów firmy NeuMoDx.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip	
NIEBEZPIECZEŃSTWO 	<p>Zawiera: kwas borowy.</p> <p>Może działać szkodliwie na płodność lub na dziecko w tonie matki.</p> <p>Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi instrukcjami. Nie używać przed zapoznaniem się i zrozumieniem wszystkich środków bezpieczeństwa. Stosować rękawice ochronne / odzież ochronną / ochronę oczu / ochronę twarzy. W przypadku narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady / zgłosić się pod opiekę lekarza. Przechowywać pod zamknięciem. Zawartość/pojemnik usuwać, przekazując do zatwierdzonej placówki zgodnie z lokalnymi, regionalnymi, krajowymi i międzynarodowymi przepisami.</p>

Informacje dotyczące nagłych przypadków

CHEMTREC

Poza Stanami Zjednoczonymi i Kanadą: +1 703-527-3887

Uswanie

Odpady należy usuwać jako odpady niebezpieczne, zgodnie z przepisami lokalnymi i krajowymi. Dotyczy to również produktów nieużytych.

Należy postępować zgodnie z zaleceniami podanymi w kartach charakterystyki (Safety Data Sheet, SDS).

PRZECHOWYWANIE, STABILNOŚĆ I SPOSÓB POSTĘPOWANIA Z PRODUKTEM

- Dla każdego odczynnika (w stosownych przypadkach) dostępne są odpowiednie karty charakterystyki (Safety Data Sheet, SDS) — można je znaleźć pod adresem www.qiagen.com/safety.
- Paski testowe NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip przechowywane w oryginalnym opakowaniu w temperaturze 15–23°C zachowują stabilność do daty ważności podanej na etykiecie produktu.
- Nie używać materiałów eksploatacyjnych ani odczynników po upływie podanej daty ważności.
- Nie używać żadnego produktu przeznaczonego do wykonywania testu, jeśli oryginalne lub pośrednie opakowanie produktu jest wyraźnie uszkodzone.
- Pasek testowy NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip załadowany do systemu NeuMoDx System może być przechowywany w systemie przez 14 dni. Pozostały okres magazynowania załadowanych pasków testowych jest śledzony przez oprogramowanie i zgłaszany użytkownikowi w czasie rzeczywistym. Po upływie dopuszczalnego okresu magazynowania paska testowego system wyświetli monit o wyjęcie produktu.

POBIERANIE / TRANSPORT / PRZECHOWYWANIE PRÓBEK

- Działanie paska testowego NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip przetestowano przy użyciu próbek wymazów z gardła pobranych przez lekarza. Nie przeprowadzono oceny skuteczności z próbkami innego typu.
- Próbkę wymazów należy transportować w temperaturze określonej w dokumentacji zestawu do pobierania wymazów.
- Przed wykonaniem testu próbki wymazów można przechowywać w temperaturze 2–8°C przez maksymalnie 2 dni lub przez maksymalnie 8 godzin w temperaturze pokojowej.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Pobieranie/transport próbek

1. Wymazy z gardła pobrane przez lekarza należy zbierać do płynnego podłoża transportowego Amies.
2. Jeśli próbki nie zostaną przetestowane w ciągu 8 godzin, można je przechowywać w temperaturze od 2 do 8°C przez maksymalnie 2 dni przed wykonaniem testu.

Przygotowanie do wykonania testu

1. Nakleić etykietę z kodem kreskowym próbki na probówkę zgodną z systemem NeuMoDx System. Pierwotną probówkę do pobierania próbki można oznaczyć i umieścić bezpośrednio w nośniku próbek. W celu analizy próbki w systemie NeuMoDx System można również przenieść porcję płynnego podłoża Amies, do którego pobrano próbkę, do próbki wtórnej.
2. Krótco wytrząsać próbkę wymazu w pojemniku pierwotnym, aby uzyskać jednorodną mieszaninę.
3. W przypadku testowania próbki w probówce pierwotnej przed załadowaniem próbki do systemu NeuMoDx System należy włożyć probówkę oznaczoną kodem kreskowym do nośnika próbek i upewnić się, że zdjęto zatyczkę i wyjęto wymazówkę z próbki. NIE WOLNO pozostawiać wymazówki w probówce.
4. W przypadku korzystania z próbki wtórnej przenieść porcję płynnego podłoża Amies o obj. ≥0,5 ml do oznaczonej kodem kreskowym próbki zgodnej z nośnikiem NeuMoDx 32-Tube Specimen Tube Carrier.

Obsługa systemu NeuMoDx System

Szczegółowe instrukcje przedstawiono w podręcznikach użytkownika systemów NeuMoDx 288 i 96 Molecular System (nr części: 40600108 i 40600317/40600655).

1. Włożyć paski testowe NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip do jednego lub większej liczby nośników NeuMoDx Test Strip Carrier, a następnie załadować nośniki pasków testowych do systemu NeuMoDx System, korzystając z ekranu dotykowego.
2. W przypadku wyświetlenia monitu przez oprogramowanie systemu NeuMoDx System włożyć wymagane materiały eksploatacyjne do nośników materiałów eksploatacyjnych systemu NeuMoDx System, a następnie załadować nośniki do systemu NeuMoDx System, korzystając z ekranu dotykowego.
3. W przypadku wyświetlenia monitu przez oprogramowanie systemu NeuMoDx System wymienić odczynniki NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, opróżnić butelkę na odpady płynne, pojemnik na odpady stwarzające zagrożenie biologiczne (wyłącznie system NeuMoDx 288), kosz na zużyte końcówki (wyłącznie system NeuMoDx 96) lub kosz na odpady stwarzające zagrożenie biologiczne (wyłącznie system NeuMoDx 96), odpowiednio do potrzeb.
4. Załadować próbki do odpowiedniego nośnika próbek i upewnić się, że zdjęto zatyczki ze wszystkich próbek.
5. Umieścić nośnik próbek w szufladzie podajnika automatycznego, a następnie załadować go do systemu NeuMoDx System, korzystając z ekranu dotykowego. Spowoduje to rozpoczęcie analizy załadowanych próbek w celu wykonania określonych testów.

OGRANICZENIA

- Pasek testowy NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip może być używany wyłącznie w systemach NeuMoDx System.
- Skuteczność pasków testowych NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip ustalono dla próbek wymazów z gardła pobranych przez lekarza.
- Nie przeprowadzono oceny działania pasków testowych NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip z próbkami z innych źródeł, a parametry skuteczności tego testu dla innych typów próbek nie są znane.
- Z uwagi na to, że detekcja bakterii GAS i GCS/GGS zależy od ilości mikroorganizmów obecnych w próbce, wiarygodność wyników zależy od prawidłowego pobrania próbki, postępowania z próbką i jej przechowywania.
- Nieprawidłowe pobranie próbki, postępowanie z próbką, przechowywanie próbki, błąd techniczny lub pomylenie próbek może spowodować otrzymanie błędnych wyników testu. Jeśli liczba organizmów w próbce jest niższa niż wartość czułości analitycznej testu, może dojść do wygenerowania fałszywie negatywnych wyników.
- Testy mogą być wykonywane wyłącznie przez personel przeszkolony z obsługi systemu NeuMoDx System.
- Jeśli nie dojdzie do amplifikacji sekwencji docelowych kontroli przetwarzania próbki, a wynik testu NeuMoDx Strep A/C/G Vantage będzie negatywny, zostanie zgłoszony wynik nieważny (Indeterminate (Nieokreślony) lub Unresolved (Nierozstrzygnięty)) i konieczne będzie powtórzenie testu.
- Pozytywny wynik testu nie musi oznaczać obecności żywotnych patogenów. Wskazuje on jednak, że w próbce przypuszczalnie obecne jest DNA bakterii GAS i/lub GCS/GGS.
- Obecnie nie są znane szczepy/izolaty bakterii GAS, w których nie występuje region kodujący białko z domeną kotwiczącą w ścianie komórkowej z motywem LPXTG, ani bakterii GCS/GGS, w których nie występuje region kodujący białko oporności na nizinę. Obecność takiego szczepu mogłaby jednak doprowadzić do uzyskania błędnego wyniku oznaczenia wykonywanego przy użyciu paska testowego NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip.
- Mutacje w regionach wiążących startery/sondę mogą zakłócać detekcję przy użyciu paska testowego NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip.
- Wyniki otrzymane przy użyciu oznaczenia NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay należy traktować jako dane uzupełniające obserwacje kliniczne oraz inne informacje, do których ma dostęp lekarz. Ten test nie jest przeznaczony do odróżniania nosicieli DNA bakterii GAS i/lub GCS/GGS od osób z aktywnym zakażeniem paciorkowcami.
- Prowadzona w tym samym czasie antybiotykoterapia może zakłócić wyniki testu, gdyż DNA bakterii GAS i GCS/GGS może utrzymywać się na wykrywalnym poziomie po leczeniu przeciwdrobnoustrojowym.
- Aby uniknąć zanieczyszczenia próbek, należy przestrzegać zasad dobrej praktyki laboratoryjnej, w tym zmieniać rękawiczki między próbkami pacjentów.

WYNIKI

Systemy NeuMoDx Molecular System

Dostępne wyniki można przeglądać i drukować z karty „Results” (Wyniki) w oknie Results (Wyniki) na ekranie dotykowym systemu NeuMoDx System. W teście można otrzymać następujące wyniki: Positive (Pozytywny, POS), Negative (Negatywny, NEG), Indeterminate (Nieokreślony, IND) lub Unresolved (Nierozstrzygnięty, UNR); są one ustalane na podstawie statusu amplifikacji sekwencji docelowych i sekwencji kontroli przetwarzania próbki (Sample Process Control, SPC1).

Kryteria generowania wyniku pozytywnego i negatywnego określono w pliku definicji oznaczenia NeuMoDx System Strep A/C/G Vantage (Assay Definition File, ADF) zainstalowanym w systemach przez firmę NeuMoDx Molecular, Inc. Wyniki są zgłaszane na podstawie algorytmu decyzyjnego zawartego w pliku ADF, który omówiono poniżej w Tabeli 1.

Tabela 1. Omówienie algorytmu decyzyjnego dla oznaczenia Strep A/C/G Vantage Assay

WYNIK	SEKWENCJE DOCELOWE BAKTERII GAS i/lub GCS/GGS	KONTROLA PRZETWARZANIA (SPC1)
POZ	Amplified (Amplifikacja)	Nd.
NEG	Not Amplified (Brak amplifikacji)	Amplified (Amplifikacja)
IND	Not Amplified, System Error Detected (Brak amplifikacji, wykryto błąd systemu)	
UNR	Not Amplified, No System Error Detected (Brak amplifikacji, nie wykryto błędu systemu)	

Wyniki nieważne

Jeśli w oznaczeniu NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay wykonywanym w systemie NeuMoDx System nie zostanie uzyskany ważny wynik, wynik ten zostanie zgłoszony jako Indeterminate (Nieokreślony) lub Unresolved (Nierozstrzygnięty), odpowiednio do typu napotkanego błędu. W celu uzyskania ważnego wyniku konieczne będzie powtórzenie testu.

Wynik Indeterminate (Nieokreślony) zostanie zgłoszony, jeśli podczas analizy próbki zostanie wykryty błąd systemu NeuMoDx System.

Wynik Unresolved (Nierozstrzygnięty) zostanie zgłoszony, jeśli nie zostanie wykryta żadna sekwencja docelowa i nie dojdzie do amplifikacji kontroli przetwarzania próbki, co wskazuje na prawdopodobne nieprawidłowe działanie odczynników lub obecność inhibitorów.

Kontrola jakości

Lokalne przepisy zazwyczaj określają, że laboratorium jest odpowiedzialne za realizowanie procedur kontrolnych przeznaczonych do monitorowania dokładności i precyzji całego procesu analitycznego oraz ustalenie liczby, rodzaju i częstotliwości badań materiałów kontrolnych na podstawie zweryfikowanych specyfikacji dotyczących skuteczności dla niemodyfikowanego, zatwierdzonego systemu do wykonywania testów.

- Zewnętrzne (zdefiniowane przez użytkownika) materiały kontrolne nie zostaną dostarczone przez firmę NeuMoDx Molecular, Inc. Laboratorium jest odpowiedzialne za dobór i walidację odpowiednich kontroli. Kontrole muszą spełniać takie same wymogi dotyczące minimalnej objętości, jak próbki kliniczne. Użytkownik może zdefiniować określone kody kreskowe dla kontroli pozytywnej i negatywnej lub losowo przypisać kody kreskowe.
- Zalecenie: 1 materiał *Streptococcus pyogenes* LYFO DISK™ (Microbiologics® 0508L) i 1 materiał *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* LYFO DISK (Microbiologics® 0602L) zrekonstruowane zgodnie z instrukcjami producenta, rozcieńczone w 50 ml płynnego podłoża Amies, przechowywane i używane w porcjach po 0,5 ml. W przypadku analizowania kontroli umieścić oznaczone kontrole w nośniku próbek w szufladzie podajnika automatycznego, a następnie załadować nośnik do systemu NeuMoDx System, korzystając z ekranu dotykowego. System NeuMoDx System rozpozna kody kreskowe (jeśli zostały one wstępnie zdefiniowane przez użytkownika) i rozpocznie analizę kontroli, o ile dostępne będą odczynniki i materiały eksploatacyjne do testów.
- W każdym pasku testowym NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip zawarte są startery i sonda swoiste dla kontroli przetwarzania próbki 1 (Sample Process Control 1, SPC1). Kontrola przetwarzania próbki umożliwia monitorowanie skuteczności procesów izolacji DNA i amplifikacji kwasów nukleinowych w reakcji PCR przez system NeuMoDx System.
- Wynik pozytywny testu zgłoszony dla negatywnej próbki kontrolnej wskazuje na problem związany z zanieczyszczeniem próbki. Wskazówki dotyczące rozwiązywania problemów przedstawiono w *podręcznikach użytkownika systemów NeuMoDx 288 i 96 Molecular System*.
- Negatywny wynik zgłoszony dla pozytywnej próbki kontrolnej może wskazywać na problem związany z odczynnikami lub systemem NeuMoDx System. Wskazówki dotyczące rozwiązywania problemów przedstawiono w *podręcznikach użytkownika systemów NeuMoDx 288 i 96 Molecular System*.

PARAMETRY SKUTECZNOŚCI

Skuteczność kliniczna

Parametry skuteczności klinicznej oznaczenia NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay wyznaczono w wewnętrznym retrospektywnym badaniu porównania metod z użyciem pozostałości próbek wymazów z gardła uzyskanych z dwóch laboratoriów z różnych obszarów geograficznych.

W laboratoriach klinicznych usunięto dane identyfikacyjne pozostałości próbek wymazów z gardła pobranych od pacjentów objawowych, a próbkom nadano unikalne numery identyfikacyjne, tworząc jednocześnie poufną listę umożliwiającą połączenie identyfikatora pacjenta z pozbawionymi danych identyfikacyjnych próbkami testowanymi w badaniu. Przetestowano łącznie 230 pozostałości próbek uzyskanych z dwóch laboratoriów klinicznych. Spośród 230 próbek w laboratoriach klinicznych otrzymano wynik pozytywny względem bakterii GAS dla 68 próbek i wynik pozytywny względem bakterii GCS/GGS dla 47 próbek. W jednej próbce otrzymano wynik pozytywny względem bakterii GAS i bakterii GCS/GGS, co wskazywało na zakażenie podwójne lub koinfekcję. Wyniki otrzymane dla tych próbek zostały utajnione przed operatorem, aby przeprowadzić „pojedynczo zaślepienie badanie”. Do analizy porównawczej metod wykorzystano wyniki uzyskane przy użyciu dostępnych na rynku wyrobów do badań molekularnych zatwierdzonych przez agencję FDA i mających certyfikat CE, wykorzystywanych przez laboratoria do testów zgodnych ze standardem opieki.

Wyniki uzyskane przy użyciu testu NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test wskazują, że czułość kliniczna wykrywania sekwencji docelowych wynosi 100% dla bakterii GAS i 95,9% dla bakterii GCS/GGS (obie wartości zgłoszono przy 95-procentowym przedziale ufności (Confidence Interval, CI)). Swoistość kliniczna określona w badaniu wyniosła 100% dla bakterii GAS oraz dla bakterii GCS/GGS (również przy 95-procentowym CI). Dolną i górną granicę 95-procentowego CI przedstawiono poniżej w Tabelach 2A i 2B obliczono metodą Wilsona z korektą ciągłości.

Tabela 2A. Podsumowanie skuteczności klinicznej — detekcja bakterii *S. pyogenes* przy użyciu pasków testowych NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip

GAS		Wynik testu referencyjnego (zatwierdzonego przez FDA/z certyfikatem CE)		
		POZ	NEG	łącznie
NeuMoDx Strep A/C/G	POZ	68	0	68
	NEG	0	162	162
	łącznie	68	162	230
Czułość kliniczna (GAS) = 100% (93,3–100)				
Swoistość kliniczna (GAS) = 100% (97,1–100)				

Tabela 2B. Podsumowanie skuteczności klinicznej — detekcja bakterii *S. dysgalactiae* przy użyciu pasków testowych NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip

GCS/GGS		Wynik testu referencyjnego (zatwierdzonego przez FDA/z certyfikatem CE)		
		POZ	NEG	łącznie
NeuMoDx Strep A/C/G	POZ	47	0	47
	NEG	2	181	183
	łącznie	49	181	230
Czułość kliniczna (GCS/GGS) = 95,9% (84,9–99,3)				
Swoistość kliniczna (GCS/GGS) = 100% (97,4–100)				

Czułość analityczna

Granice wykrywalności (Limit of Detection, LoD) oznaczenia NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay wyznaczono przy użyciu negatywnych klinicznych wymazów z gardła, do których dodano docelowe patogeny GAS, GCS i GGS: odpowiednio *Streptococcus pyogenes* (ATCC 700294), *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (ATCC 35666) i *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (ATCC 12384). Wszystkie próbki wykorzystane do badania były zbiorczymi klinicznymi próbkami wymazów z gardła, dla których w badaniach przesiewowych otrzymano negatywny wynik pod względem paciorkowców. Do próbek dodawano pojedynczo patogeny docelowe w stężeniach 50 CFU/ml w przypadku bakterii GAS, 2500 CFU/ml w przypadku bakterii GCS lub 10 000 CFU/ml w przypadku bakterii GGS. Każdy patogen docelowy testowano w 40 powtórzeniach, a następnie przeprowadzono badanie określające odsetek udanych odczytów w celu potwierdzenia poziomu wykrywalności $\geq 95\%$ i przyjęto te stężenia jako granice LoD dla danych patogenów docelowych. Wyniki badania granicy wykrywalności podsumowano poniżej w Tabeli 3.

Tabela 3. Badanie określające odsetek udanych odczytów przeprowadzone w celu ustalenia granicy wykrywalności oznaczenia NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay

Patogen docelowy	Stężenie (CFU/ml)	n	L. wyników pozytywnych	Odsetek wyników pozytywnych (%)	LoD (odsetek udanych odczytów)
GAS	50	40	40	100	50 CFU/ml
GCS	2500	40	40	100	2500 CFU/ml
GGS	10 000	40	40	100	10 000 CFU/ml

Wyznaczona granica wykrywalności oznaczenia NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay wynosi 50 CFU/ml w przypadku bakterii GAS, 2500 CFU/ml w przypadku bakterii GCS i 10 000 CFU/ml w przypadku bakterii GGS.

Detekcja wariantów

Czułość analityczną oznaczenia NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay potwierdzono dodatkowo przy użyciu 11 różnych szczepów bakterii GAS, 7 szczepów bakterii GCS i 9 szczepów bakterii GGS. Testy wykonywano przy użyciu szczepów bakterii GAS, GCS i GGS wymienionych poniżej w Tabeli 4. Patogeny docelowe dodawano przed testem do negatywnych klinicznych próbek wymazów w stężeniu odpowiadającym 2X właściwej, określonej powyżej granicy LoD w celu potwierdzenia poziomu detekcji $\geq 95\%$. Szczepy, dla których nie osiągnięto takiego poziomu detekcji, testowano ponownie w wyższych stężeniach do momentu osiągnięcia poziomu detekcji $\geq 95\%$. W Tabeli 4 przedstawiono stężenia, przy których dla każdego ze szczepów osiągnięto taki poziom detekcji, stanowiące granicę LoD dla danego wariantu.

Tabela 4. Przetestowane szczepy bakterii GAS, GCS i GGS

	Szczep	n	Stężenie, CFU/ml	Positive (Pozytywny)	Negative (Negatywny)	Poziom detekcji (%)
S. pyogenes (grupa 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 (grupa 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 (grupa 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

Swoistość analityczna

Łącznie 45 próbek zawierających izolaty z hodowli lub DNA wyizolowane z mikroorganizmów/wirusów potencjalnie współwystępujących z bakteriami GAS lub GCS/GGS lub zblizonymi filogenetycznie do tych bakterii przetestowano pod kątem możliwej reaktywności krzyżowej podczas wykonywania oznaczenia NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay. Przygotowano pule po 3–6 mikroorganizmów/wirusów i oznaczano je przy wysokich stężeniach. Bakterie/wirusy dodawano do płynnego podłoża Amies negatywnego względem bakterii GAS/GCS/GGS: bakterie w stężeniu 6–9X10⁶ CFU/ml, a wirusy w stężeniu 1x10⁶ kopii DNA/ml, o ile nie określono inaczej. Nie zaobserwowano żadnej reaktywności krzyżowej w obecności patogenów przetestowanych w tym badaniu. Listę przetestowanych mikroorganizmów/wirusów zawiera Tabela 5.

Tabela 5. Lista patogenów wykorzystanych do wykazania swoistości analitycznej

Bakterie	Bakterie	Bakterie
<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>	Wirusy
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>	Adenowirus typu I*
<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	Haemophilus influenzae typu A
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptococcus canis</i>	Wirus grypy A
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus canis</i> (STR T1)	Wirus grypy B
<i>Legionella micdadei</i>	<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i> (group C)	Wirus paragrypy typu 4b†
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>	Rinowirus typu 1A
<i>Moraxella cartarrhalis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	

* Adenowirus typu I został dodany w stężeniu 1x10⁶ TCID50/ml

† *Bordetella pertussis* i wirus paragrypy typu 4b zostały dodane w stężeniu 10 ng/ml

Substancje zakłócające — komensale

Oznaczenie NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay przetestowano pod kątem zakłóceń spowodowanych obecnością mikroorganizmów/wirusów (zasiedlających tylną część gardła) innych niż patogen docelowy, poprzez ocenę skuteczności oznaczenia NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay przy niskich stężeniach bakterii GAS i GCS/GGS, w systemie NeuMoDx Molecular System. Do tego badania wykorzystano ten sam panel 45 mikroorganizmów/wirusów [Tabela 5], którego użyto do oceny reaktywności krzyżowej. Do płynnego podłoża Amies ujemnego względem bakterii GAS/GCS/GGS dodawano patogeny docelowe w stężeniach 150 CFU/ml w przypadku bakterii GAS, 7500 CFU/ml w przypadku bakterii GCS lub 30 000 CFU/ml w przypadku bakterii GGS i pułki zawierające po 3–6 mikroorganizmów/wirusów. Nie zaobserwowano zakłóceń powodowanych przez komensale.

Substancje zakłócające — substancje endogenne i egzogenne, które mogą być obecne w klinicznych próbkach wymazów z gardła

Skuteczność oznaczenia NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay oceniono w obecności potencjalnie zakłócających substancji, które mogą być powiązane z pobieraniem wymazu z gardła pacjenta [Tabela 6]. Wszystkie substancje przetestowano pod kątem potencjalnych zakłóceń przy braku oraz w obecności bakterii GAS, GCS i GGS. Do próbek o stężeniu 3X LoD w płynnym podłożu Amies za pomocą nasączonej wymazówki dodano endogenne i egzogenne substancje rozpuszczone lub rozcieńczone w wodzie o klasie czystości do biologii molekularnej w określonych stężeniach. Żadna z badanych substancji nie zakłóciła detekcji bakterii GAS ani bakterii GCS/GGS.

Tabela 6. Egzogenne i endogenne czynniki zakłócające badane w próbkach wymazów w płynnym podłożu Amies

	Substancja zakłócająca	Stężenie roztworu
Czynnik egzogeny	Altoids™ (smak miętowy)	10% (w/o)
	Aspirin™	10% (w/o)
	Pastyłki do ssania CEPACOL® Extra Strength Sore Throat & Cough Lozenges	5% (w/o)
	Lek Children's Dimetapp® Cold & Cough	15% (o/o)
	Pastyłki do ssania Chloraseptic® Max Sore Throat Lozenges	10% (w/o)
	Aerozol Chloraseptic Sore Throat Spray	10% (o/o)
	Pastyłki do ssania Cold-EEZE® Zinc Lozenges	15% (w/o)
	Pasta do zębów Crest® Pro-Health Advanced Gum Protection	4% (w/o)
	Cukierki na kaszel Halls™ (wiśniowe)	15% (w/o)
	Cukierki na kaszel Halls (mentolowo-eukaliptusowe)	15% (w/o)
	Miętówki ICE BREAKERS® (smak Cool Mint)	10% (w/o)
	Płyn do płukania jamy ustnej LISTERINE® Total Care	15% (o/o)
	Płyn antyseptyczny do płukania jamy ustnej LISTERINE Ultra-clean	15% (o/o)
	*Cukierki na kaszel Ricola® Original Swiss Sugar Free Herb Cough Suppressant Throat Drops	15% (w/o)
	Płyn Robitussin® Max Strength Nighttime Cough DM	10% (o/o)
	Pastyłki do ssania Sucrets® Sore Throat & Cough Lozenges (smak Vapor Cherry)	5% (w/o)
	Drażetki miętowe Tic Tac®	10% (w/o)
	Syrop na kaszel Wal-Tussin DM Max	10% (o/o)
Czynnik endogeny	Ślina	100%
	Krew pełna	10% (o/o)

* Początkowo w 1 z 3 próbek badanych przy stężeniu 3X LoD bakterii GAS nie zaobserwowano amplifikacji w obecności cukierków na gardło Ricola. Oznaczenie zadziało jednak prawidłowo po ponownym przetestowaniu próbki.

Odtwarzalność między seriami

Odtwarzalność między seriami oznaczenia NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay zweryfikowano, przeprowadzając retrospektywną analizę danych uzyskanych z testów jakościowych wykonywanych przy użyciu trzech odrębnych serii pasków testowych NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip i buforu NeuMoDx Lysis Buffer 6. Dane te otrzymano podczas testów funkcjonalności odczynników wykonywanych przy użyciu płynnego podłoża transportowego Amies, do którego dodano reprezentatywne szczepy bakterii GAS i GCS w stężeniu odpowiadającym granicy LoD dla tych patogenów. Na każdą serię pasków testowych NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip przetestowano łącznie 64 pozytywne powtórzenia i 16 negatywnych powtórzeń; w celu oceny buforu NeuMoDx Lysis Buffer 6 przetestowano łącznie 16 pozytywnych i 8 negatywnych powtórzeń. Zmienność pomiędzy seriami produkcyjnymi analizowano poprzez określenie średniej wartości C_t , odchylenia standardowego i procentowego współczynnika zmienności (%CV). Wyniki przedstawiono w Tabeli 7. Wartości odchylenia standardowego $\leq 1,1$ i współczynnika zmienności $\leq 3,0\%$ dla patogenów docelowych GAS i GCS wskazują na znakomitą odtwarzalność między seriami kluczowych odczynników oznaczenia NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay.

Tabela 7. Analiza procentowego współczynnika zmienności (%CV) według patogenów docelowych między seriami kluczowych składników oznaczenia NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay

	GAS			GCS			Wszystkie wyniki		
	\bar{C}_t	SD war. C_t	%CV	\bar{C}_t	SD war. C_t	%CV	\bar{C}_t	SD war. C_t	%CV
(między 3 seriami)									
Pasek testowy Strep A/C/G Test Strip	35,83	1,06	3,0%	34,93	0,76	2,2%	34,06	0,60	1,8%
Bufor Lysis Buffer 6	35,71	1,01	2,80%	34,86	0,63	1,80%	34,15	0,67	2,0%

Równoważność próbek świeżych i mrożonych

Przeprowadzono testy w celu wykazania równoważności macierzy próbek wymazów z gardła w postaci świeżej i mrożonej. Do negatywnych próbek klinicznych dodano patogeny docelowe GAS, GCS i GGS w stężeniach odpowiadających 3X granicy LoD oznaczenia NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay i przeanalizowano przy użyciu oznaczenia NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay. Następnie każdą próbkę przenoszono do temperatury -80°C w celu całkowitego zamrożenia, po czym rozmrażano ją i analizowano ponownie. Wyniki otrzymane dla świeżych i mrożonych próbek wymazów porównano pod kątem równoważności, wykonując analizę regresji. Dane wskazują na znakomitą równoważność pomiędzy świeżymi i mrożonymi próbkami wymazów.

Skuteczność kontroli

Skuteczność zawartej w pasku testowym NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip kontroli przetwarzania próbki pod względem zgłaszania niepowodzenia dowolnego kroku analizy lub informowania o inhibicji wpływającej na skuteczność oznaczenia NeuMoDx A/C/G Vantage Assay oceniono w systemie NeuMoDx Molecular System. Warunki, w których wykonywano testy, były reprezentatywne dla kluczowych niepowodzeń w krokach analizy, które potencjalnie mogą wystąpić podczas analizy próbki i *pozostać niewykryte* przez czujniki monitorujące działanie systemu NeuMoDx System. Skuteczność kontroli oceniono, symulując niepowodzenie różnych kroków procesu analizy próbki w celu odzwierciedlenia potencjalnego błędu systemu oraz dodając do próbki substancję o znanych właściwościach inhibicyjnych w celu obserwacji wpływu nieskutecznego łagodzenia działania inhibitora na detekcję kontroli przetwarzania próbki (patrz *Tabela 8*). W przypadkach, w których błędy analizy nie wpływały negatywnie na skuteczność kontroli przetwarzania próbki (NO WASH (Brak odczynnika płuczającego) / NO WASH BLOWOUT (Brak usunięcia odczynnika płuczającego)), testy powtórzono przy użyciu próbek o niskich stężeniach bakterii GAS i GCS/GGS (stężenia bliskie granicy LoD) w celu potwierdzenia, że błąd analizy nie wpływa negatywnie również na detekcję patogenów docelowych GAS lub GCS/GGS. *Tabela 8* zawiera podsumowanie wyników testu przeprowadzonego w celu weryfikacji skuteczności kontroli.

Tabela 8. Podsumowanie danych dotyczących skuteczności kontroli

Warunki	Oczekiwany wynik	Obserwowany wynik
Normal Processing (Prawidłowa analiza)	Negative (Negatywny)	Negative (Negatywny)
Normal Processing + Inhibitor (Prawidłowa analiza + inhibitor)	Unresolved (Nierozstrzygnięty)	Unresolved (Nierozstrzygnięty)
No Wash Reagent (Brak odczynnika Wash)	Unresolved (Nierozstrzygnięty) lub Negative (Negatywny)	Negative (Negatywny)*
No Wash Blowout (Brak usunięcia odczynnika płuczającego)	Unresolved (Nierozstrzygnięty) lub Negative (Negatywny)	Negative (Negatywny)
No Release Reagent (Brak odczynnika Release)	Indeterminate (Nieokreślony)	Indeterminate (Nieokreślony)
No PCR Master Mix Reagents (Brak odczynników tworzących mieszaninę Master Mix do reakcji PCR)	Indeterminate (Nieokreślony)	Indeterminate (Nieokreślony)

* W rzadkich przypadkach dla próbek słabo pozytywnych względem bakterii GAS otrzymywano wynik fałszywie negatywny, jeśli awaria systemu dotyczyła braku dozowania odczynnika Wash. Sytuacje takie obserwowano przy stężeniach bakterii GAS poniżej 500 CFU/ml, znacznie poniżej średniego stężenia pozytywnej klinicznej próbki wymazu, i w większości przypadków można oczekiwać, że problem ten zostanie rozwiązany przez prawdopodobne powtórzenie testu po uzyskaniu pojedynczego wyniku fałszywie negatywnego.

Stabilność próbek wymazów w aparacie

Do klinicznych próbek wymazów negatywnych względem paciorkowców dodano patogeny docelowe GAS, GCS i GGS w stężeniach 10–15X LoD. Próbki te przechowywano potem w temperaturze 4°C przez 48 godzin, a następnie przeanalizowano przy użyciu oznaczenia NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay wraz z taką samą liczbą próbek negatywnych. Po zakończeniu analizy wszystkie próbki z próbkami pozytywnymi i negatywnymi pozostawiono na stole roboczym systemu w temperaturze pokojowej przez 8 godzin, a następnie przetestowano ponownie. Oczekiwano, że w obu punktach czasowych (0 i po 8 godzinach) zostanie wygenerowany wynik POSITIVE (Pozytywny) (względem odpowiedniego patogenu docelowego) dla wszystkich próbek wymazów z dodatkiem patogenu docelowego GAS, GCS lub GGS oraz wynik NEGATIVE (Negatywny) (względem każdego z patogenów docelowych) dla próbek wymazów bez dodatku patogenu docelowego. W obu punktach czasowych zaobserwowano pełną (100%) zgodność z wynikiem oczekiwanym, co wskazuje, że próbki przeznaczone do testów przy użyciu paska testowego NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip zachowują stabilność w aparacie przez 8 godzin. Wyniki podsumowano poniżej w *Tabeli 9*.

Tabela 9. Podsumowanie danych dotyczących stabilności próbek w aparacie

Stabilność próbek w aparacie	Odsetek wyników pozytywnych (%), T ₀			Odsetek wyników pozytywnych (%), 8 godz.		
	GAS	GCS/GGS	SPC1	GAS	GGS/GCS	SPC1
GAS [ATCC 700294]	100	0	100	100	0	100
GCS [ATCC 35666]	0	100	100	0	100	100
GGS [ATCC 12384]	0	100	100	0	100	100
Negative (Negatywny)	0	0	100	0	100	100

LITERATURA

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

Informacje dotyczące źródeł odczynników

Następujący odczynnik uzyskano z repozytorium BEI Resources, NIAID, NIH: *Streptococcus pyogenes*, szczep MGAS15186, NR-15373

Następujący odczynnik uzyskano z repozytorium BEI Resources, NIAID, NIH w ramach projektu Human Microbiome Project: *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, szczep WGLW3, HM-748.

Następujący odczynnik uzyskano z repozytorium BEI Resources, NIAID, NIH w ramach projektu Human Microbiome Project: *Streptococcus anginosus*, szczep F0211, HM-282.

Następujący odczynnik uzyskano z repozytorium BEI Resources, NIAID, NIH w ramach projektu Human Microbiome Project: *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus*, szczep TX20005, HM-272.

Następujący odczynnik uzyskano z repozytorium BEI Resources, NIAID, NIH w ramach projektu Human Microbiome Project: *Streptococcus intermedius*, szczep F0413, HM-368.

Następujący odczynnik uzyskano z repozytorium BEI Resources, NIAID, NIH: *Burkholderia cepacia*, szczep UCB 717, NR-707.

Następujący odczynnik uzyskano z repozytorium BEI Resources, NIAID, NIH w ramach projektu Human Microbiome Project: *Streptococcus mitis*, szczep F0392, HM-262.

Następujący odczynnik uzyskano z repozytorium BEI Resources, NIAID, NIH w ramach projektu Human Microbiome Project: *Parvimonas micra*, szczep CC57A (zdeponowany jako *Peptostreptococcus micros*, szczep CC57A), HM-1052.

ZNAKI TOWAROWE

NeuMoDx™ jest znakiem towarowym firmy NeuMoDx Molecular, Inc.

NeuDry™ jest znakiem towarowym firmy NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Roche Molecular Systems, Inc.

LYFO DISK™ jest znakiem towarowym firmy Microbiologics, Inc.

ATCC® jest zastrzeżonym znakiem towarowym organizacji American Type Culture Collection

Aspirin™ jest znakiem towarowym firmy Bayer AG

Altoids™ jest znakiem towarowym firmy Callard and Bowser Limited

CEPACOL® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Reckitt Benckiser Limited

Chloraseptic® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Prestige Brands Holdings, Inc.

Dimetapp® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Pfizer, Inc.

Cold-EEZE® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Prophase Labs, Inc.

Crest® Pro-Health jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Procter and Gamble Company

Halls™ jest znakiem towarowym firmy Mondelēz International Group

ICE BREAKERS® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Hershey Chocolate & Confectionery Company

LISTERINE® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Johnson & Johnson

Ricola® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Ricola Group AG

Robitussin® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Pfizer, Inc.

















Sucrets® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Prestige Brands Holdings, Inc.

Tic Tac® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Ferrero, Inc.

Wal-Tussin® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Walgreens Company

SYMBOLE

Poniższe symbole mogą znajdować się w instrukcji użycia lub na opakowaniu i etykietach:

SYMBOL	ZNACZENIE
R only	Wyłącznie na receptę
	Producent
	Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Upoważniony przedstawiciel na terytorium Wspólnoty Europejskiej
	Numer katalogowy
	Kod partii
	Data ważności
	Zakres temperatur
	Zakres wilgotności
	Nie używać ponownie
	Zawiera materiały wystarczające do przeprowadzenia <n> testów
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Przeostroga
	Zagrożenie biologiczne
	Oznaczenie CE
	Zagrożenie dla zdrowia
	Niebezpieczeństwo



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

Wsparcie techniczne / zgłaszanie danych dotyczących nadzoru nad produktem (vigilance): support.qiagen.com
Patent: www.neumodx.com/patents

NeuMoDx Molecular, Inc.



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



40600409-PL_E
2024-03