

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

注意：僅限美國出口使用

IVD 適用於體外診斷，並搭配 NeuMoDx 288 及 NeuMoDx 96 Molecular System

 如需取得說明書更新版本，請瀏覽網頁：www.qiaagen.com/neumodx-ifu

如需詳細說明，請參閱 NeuMoDx 288 Molecular System 操作人員手冊；P/N 40600108 [REF 500100]

如需詳細說明，請參閱 NeuMoDx 96 Molecular System 操作人員手冊；P/N 40600317 [REF 500200] 或 P/N 40600655 [REF 500201]

用途

在 NeuMoDx 96 Molecular System 和 NeuMoDx 288 Molecular System 上進行的 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay，是一項快速、自動化、質性體外核酸擴增檢測，用於從出現咽喉炎表徵及症狀的患者取得之喉嚨拭子，直接偵測和鑑別化膿鏈球菌 (*Streptococcus pyogenes*) (A 型 β 溶血性鏈球菌 [GAS]) 與缺乳鏈球菌 (*Streptococcus dysgalactiae*) (化膿 C 和 G 型 β 溶血性鏈球菌，包括 subsp. *dysgalactiae* group C 和 *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* Group C 與 G [GCS/GGS])。測定利用即時聚合酶鏈鎖反應 (PCR) 分別偵測喉嚨拭子樣品中的 *Streptococcus pyogenes* 和 *Streptococcus dysgalactiae* DNA。NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 適用於輔助診斷有症患者的 GAS 和 GCS/GGS 感染，但並非用於指引或監測 GAS 或 GCS/GGS 感染的治療。可能需要同時進行培養，以回收生物體進行流行病學分型或進一步的易感性檢測。

摘要與說明

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 設計用於同時偵測與鑑別 GAS 和 GCS/GGS DNA。此測定針對 GAS 基因體中，含 LPXTG 模體細胞壁錨定區塊蛋白質的區域，以及 GCS/GGS 基因體中存在的乳酸鏈球菌素 (Nisin) 抗性蛋白序列。為了使用 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 偵測 GAS 和/或 GCS/GGS DNA，會在液態 Amies 運送培養基中收集一份咽喉拭子檢體。為了準備進行檢測，液態 Amies 運送培養基試管放入指定的檢體托架內，並裝載到 NeuMoDx System 開始處理。對於每份檢體，NeuMoDx System 會混合 50 μL 的分裝液態 Amies 運送培養基和 NeuMoDx Lysis Buffer 6，並自動進行萃取目標核酸、準備分離 DNA 進行 *real-time* PCR 擴增、及存在時擴增及偵測擴增產物 (GAS、GCS 或 GGS 基因體的目標基因序列區段) 所需的全部步驟。

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 包含一份 DNA 檢體處理品管液 (SPC1)，用於監測潛在抑制物質是否存在，與萃取和擴增過程期間可能遇到的 NeuMoDx System 故障或試劑失效。

感染屬於 Lancefield 血清型 A，也稱為 A 型鏈球菌 (GAS) 的 β 溶血性細菌 *Streptococcus pyogenes*，會對人類造成多種疾病。*S. pyogenes* 是普遍存在的生物體，是最常見的細菌性病原因，會導致急性咽喉炎，或咽喉發炎，通常稱為「鏈球菌性咽喉炎」。鏈球菌性咽喉炎在兒童中較常見，約佔咽喉炎發病的 20–30%。相較起來，約導致成人 5–15% 的咽喉炎感染。^{1,2} 未接受抗微生物藥物治療的患者，經常發生咽喉炎的膿性併發症，包括中耳炎、鼻竇炎、扁桃腺炎或咽後膿瘍、和化膿性頸腺炎。非化膿性併發症包括急性風濕熱 (ARF) 和急性腎絲球腎炎。³

Streptococcus dysgalactiae subsp. *equisimilis* (GGS/GCS) 是人類上呼吸道的一般共生菌落，且是皮膚、胃腸道和女性生殖道的無症狀移生菌。這經常會導致低估這些細菌在鏈球菌疾病中扮演的角色，因為 GCS/GGS 與 *S. pyogenes* 造成的系列疾病同樣相關。對於兒童，這些生物體最常涉及呼吸道感染，特別是咽喉炎。C 型和 G 型鏈球菌造成的實際咽喉炎發生率難以確認，因為發生無症狀移生的頻率很高。不論如何，令人信服的證據指出 C 型和 G 型鏈球菌是咽喉炎的真正成因。²⁻⁴ 來自人體的 GCS/GGS，現在被歸屬於單一亞種，*Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*。GGS 臨床分離株 *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* 的完整基因體序列，與其他鏈球菌珠的比較，證明其與 *S. pyogenes* 最接近，具有 72% 的序列相似性。⁵ *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* 與 *S. pyogenes* 具有許多共同致病因子，包括抗吞噬 M 蛋白、鏈球菌溶血素 O、鏈球菌溶血素 S、鏈球菌激酶、和一種或多種與鏈球菌毒性休克相關的內毒素相似的發熱性內毒素。⁵

雖然鏈球菌造成的咽喉炎通常為自限性，但快速且準確偵測很重要，因為已知以適當抗生素早期治療，可降低症狀嚴重度並縮短持續時間、減少生物體的傳播、及減少急性風濕熱的風險。³ 由於大部分咽喉炎由病毒造成，準確診斷可減少不必要的抗生素使用和可能發生的抗生素抗藥性。不過，僅依據臨床特徵診斷仍然很困難，因為 GAS 症狀與病毒性咽喉炎重疊。在兒童族群中偵測 GAS 的「黃金標準」是在血液洋菜中培養咽喉拭子。不過，收集樣品和最終微生物學診斷之間相對較長的遲滯時間 (大約 48 小時)，限制在門診環境中例行使用這項方法的效用。自 1980 年代起，市售快速抗原偵測檢測 (RADT) 已可用來作為偵測 GAS 的方法。^{6,7} RADT 的優勢為，可以在醫師診間快速進行。然而即便特異性良好 (>95%)，RADT 的靈敏度 (~86%) 通常低於培養。⁶ 對於可和培養方法競爭的高度靈敏且快速測定之持續需求，為分子測定的研發創造條件。研發用於偵測 GAS 的核酸擴增檢測 (NAAT) 方法，通常具有較高靈敏度 (>90%) 和良好特異性 (>95%)。⁸⁻¹⁰

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 可快速、準確偵測 A 型鏈球菌和化膿型 C 型和 G 型鏈球菌。

程序原理

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 結合 DNA 萃取與 *real-time* PCR 擴增/偵測技術。會以液態 Amies 運送培養基收集試管，收集咽喉拭子檢體。NeuMoDx System 會自動抽取液態 Amies 拭子樣品的一份分裝樣品，與 NeuMoDx Lysis Buffer 6 和 NeuMoDx Extraction Plate 中包含的萃取試劑混合，以開始處理。NeuMoDx System 自動化並整合 DNA 萃取和濃縮、試劑製備，及使用 *real-time* PCR 進行核酸擴增與目標序列的偵測。包含的檢體處理品管液 (SPC1) 可協助偵測可能抑制物質是否存在，以及是否發生系統、程序或試劑失效。將樣品裝載至 NeuMoDx System 後，無需操作人員介入操作。

NeuMoDx System 合併使用加熱、溶解酵素和萃取試劑，進行細胞溶解、DNA 萃取和去除抑制劑。順磁顆粒可抓取釋放的核酸。將含結合核酸的微球體裝載至 NeuMoDx Cartridge，其中未結合的非 DNA 成分以 NeuMoDx Wash Reagent 徹底沖掉，而結合的 DNA 使用 NeuMoDx Release Reagent 析出。然後，NeuMoDx System 使用析出的 DNA 對 NeuDry™ 專有擴增試劑進行再水化，該試劑含有擴增 GAS 和 GCS/GGS 目標及 SPC1 序列所需的所有成分。這可同時擴增和偵測目標與品管液 DNA 序列。配製好乾的 PCR 試劑後，NeuMoDx System 會將（每個樣品）製備好的 PCR 就緒混合物，分注至 NeuMoDx Cartridge 的一個 PCR 腔室。品管和目標（若有）DNA 序列的擴增和偵測，會在 PCR 腔室內進行。NeuMoDx Cartridge 包含 PCR 腔室，可用於容納 real-time PCR 後的擴增子，進而實質去除擴增後的污染風險。

使用針對各別目標之擴增子的螢光寡核苷酸探針分子，以水解探針化學法（一般稱為 TaqMan® 化學法）即時偵測擴增目標。

TaqMan 探針由共價結合於寡核苷酸探針 5' 端的螢光團及 3' 端淬滅劑組成。探針完好時，螢光團和淬滅劑距離相近，導致淬滅劑分子經由 FRET（螢光共振能量轉移）淬滅螢光團發出的螢光。

TaqMan 探針設計可在由特定引子集合擴增的 DNA 區域內黏合。隨著 Taq DNA 聚合酶延長引子並合成新股，Taq DNA 聚合酶的 5' 至 3' 核酸外切酶活性會降解與模板黏合的探針。探針降解會從其釋放出螢光團，令其和淬滅劑分離，進而克服 FRET 造成的淬滅作用，讓螢光增加。

會使用在 5' 端以螢光團標記（激發：470 nm 和發射：510 nm），並在 3' 端以不發光的淬滅劑標記的 TaqMan 探針偵測 GAS DNA，以及使用在 5' 端以螢光團標記（激發：585 nm 和發射：610 nm），並在 3' 端以不發光的淬滅劑標記的 TaqMan 探針偵測 GCS/GGS DNA。為了偵測檢體處理品管液，TaqMan 探針會在 5' 端以另一種螢光染料（激發：530 nm 和發射：555 nm）標記，並在 3' 端以不發光的淬滅劑標記。NeuMoDx System 在每個擴增循環結束時，監測 TaqMan 探針發出的螢光訊號。擴增完成時，NeuMoDx System 分析資料並報告最終質性結果（POSITIVE（陽性）/NEGATIVE（陰性）/INDETERMINATE（不確定）/UNRESOLVED（未解決））。

試劑/耗材

提供的材料

REF	內容物	每單位檢測次數	每包裝檢測次數
209102	NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 含有 GAS 和 GCS/GGS 特異性 TaqMan 探針及引子，以及檢體處理品管液特異性 TaqMan 探針及引子的乾 real-time PCR 試劑。	16	96

需要但未提供的試劑和耗材（可從 NeuMoDx 另行取得）

REF	內容物
100200	NeuMoDx Extraction Plate 乾順磁顆粒、溶解酵素及檢體處理品管液
401700	NeuMoDx Lysis Buffer 6*
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton CO-RE / CO-RE II 管尖 (300 µL) 附濾網
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II 管尖 (1000 µL) 附濾網

*備註：1.8.0.0 之前的 NeuMoDx System 軟體，會將 NeuMoDx Lysis Buffer 6 辨識為「Lysis Buffer 4」。詳細警告與注意事項，請參閱 NeuMoDx Lysis Buffer 6 使用說明 (P/N 40600406)。

需要的儀器

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

警告與注意事項

- 此項檢測適用於體外診斷，僅限搭配 NeuMoDx System 使用。
- 超過所列有效日期後，請勿使用耗材或試劑。
- 若試劑送達時安全封條破損或包裝損壞，請勿使用。
- 若耗材或試劑送達時保護袋已開啟或破損，請勿使用。
- 並未驗證 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 搭配防腐劑使用的情況。
- 請勿以液態 Amies 或等效產品以外的運送培養基收集拭子樣品。並未驗證 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 搭配其他運送培養基使用的情況。

- 最小樣品容量取決於試管大小/樣品試管托架，定義參閱 NeuMoDx 288 和 96 Molecular System 操作人員手冊 (p/n 40600108 & 40600317/40600655)。
- 使用 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 時，針對超過 2 天（存放在 2 – 8°C 下）的咽喉拭子樣品進行檢測，可能會產生無效或錯誤結果。
- 避免試劑受到微生物及去氧核糖核酸酶 (DNase) 污染。若將樣品轉移到次要試管，建議使用無菌的不含 DNase 拋棄式移液吸量管。每份樣品使用一個新的吸量管。
- 為了避免污染，請勿在擴增後處理或拆開任何 NeuMoDx Cartridge。在任何情況下，都請勿從廢棄物容器取出 NeuMoDx Cartridges。NeuMoDx Cartridge 的設計可防止污染。
- 若實驗室也進行開放試管 PCR 檢測，須注意確保 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip、檢測所需的額外耗材和試劑、手套和實驗衣等個人防護裝備及 NeuMoDx System 皆未受到污染。
- 處理 NeuMoDx 試劑和耗材時，必須穿戴乾淨、無粉末腓基手套。請注意不要接觸 NeuMoDx Cartridge 頂部表面、NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 或 NeuMoDx Extraction Plate 的薄膜密封表面，或 NeuMoDx Lysis Buffer 6 的頂部表面；處理耗材及試劑時只能接觸側面來完成。
- 進行檢測後徹底清洗雙手。
- 請勿以嘴抽吸移液。請勿在處理樣品或試劑場所吸菸或飲食。
- 請務必依照 *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*（微生物和生物醫學實驗室之生物安全）¹¹ 及 CLSI 文件 M29-A3¹² 說明的安全實驗室程序來處理樣品，將其視為具有感染性。
- 依據國家、聯邦、省、州和地方法規棄置未使用的試劑和廢棄物。
- 處理化學品時，務必穿戴適當的實驗服、拋棄式手套和防護眼鏡。如需更多資訊，請參閱適當的安全資料表 (SDS)。這些安全資料表以簡潔方便的 PDF 格式在線上提供：www.qiagen.com/safety，其中可找到、瀏覽並列印每種 NeuMoDx 試劑組和每種試劑組成分的 SDS。

注意事項

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip	
	<p>危險</p> <p>內含：硼酸。</p> <p>危險 可能會傷害生育能力或未出生的孩子。</p> <p>使用前請取得特別說明。請先閱讀並理解所有安全注意事項再進行處理。請穿戴防護手套/防護服/護目鏡/面罩。若意外接觸或有疑慮：請尋求醫療協助。保存處請上鎖。請依據地方、地區、國家和國際法規，將內容物/容器丟棄至核准的設施。</p>

緊急聯絡資訊

CHEMTREC

美國和加拿大以外地區：+1 703-527-3887

棄置

請按照當地及國家法規視為危害廢棄物處置。這也適用於仍未使用的產品。

請遵循安全資料表 (SDS) 的建議。

產品存放、處理與穩定性

- www.qiagen.com/safety 網站提供每種試劑（若適用）的安全資料表 (SDS)。
- NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 若保存於 15 – 23°C，可在初級包裝中維持穩定，直到當前產品標籤所標示的有效日期。
- 請勿使用超過所列有效日期的耗材和試劑。
- 若初級或次級包裝有明顯破損，請勿使用任何檢測產品。
- NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 裝載後，可在 NeuMoDx System 上保留 14 天。裝載的檢測反應盤剩餘架儲期由軟體追蹤，並即時通報使用者。系統將提示移除已使用超過容許期限的檢測反應盤。

樣品收集/運送/儲存

- 已使用臨床人員收集的咽喉拭子樣品，測試過 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip。尚未評估用於指定樣品以外樣品的效能。
- 收集的拭子樣品，運送期間應保存在拭子收集試劑組建議的溫度下。
- 拭子樣品在檢測前，應在 2 – 8°C 之間保存不超過 2 天，且在室溫下保存最多 8 小時。

使用說明

樣品收集/運送

1. 臨床人員收集的咽喉拭子，應以液態 Amies 運送培養基收集。
2. 若不會在 8 小時內檢測樣品，檢測前應在 2 至 8°C 下保存最多 2 天。

檢測準備

1. 將樣品條碼標籤貼到與 NeuMoDx System 相容的樣品試管上。主要收集試管可貼上標籤並直接放入樣品托架。也可將一份液態 Amies 培養基分裝轉移到次要試管，以在 NeuMoDx System 上處理。
2. 在主容器內短時間震盪拭子樣品，以達到均勻分佈。
3. 若在主要拭子收集試管內檢測拭子樣品，將條碼標示的試管放入樣品試管托架，並確認取下蓋子及拭子再裝載至 NeuMoDx System。請不要將拭子留在試管內。
4. 若使用次要試管，轉移一份 ≥ 0.5 mL 的液態 Amies 分裝樣品到與 NeuMoDx 32 根試管樣品試管托架相容、條碼標示的樣品試管內。

NeuMoDx System 操作

如需詳細說明，請參閱 NeuMoDx 288 及 96 Molecular System 操作人員手冊 (p/n 40600108 & 40600317/40600655)。

1. 以 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 填充一個或多個 NeuMoDx 檢測反應盤托架，並使用觸控螢幕將檢測反應盤托架裝載至 NeuMoDx System。
2. 若 NeuMoDx system 軟體提示，將必要的耗材新增至 NeuMoDx System 耗材托架，再使用觸控螢幕將托架裝載至 NeuMoDx System。
3. 若 NeuMoDx system 軟體提示，需更換 NeuMoDx Wash Reagent、NeuMoDx Release Reagent、並視情況清空灌注廢液、生物危害廢棄物容器（僅限 NeuMoDx 288）、管尖廢棄物箱（僅限 NeuMoDx 96）、或生物危害廢棄物箱（僅限 NeuMoDx 96）。
4. 將樣品試管裝載到適當的樣品試管托架，並確保從所有樣品試管取下蓋子。
5. 將樣品試管托架放於自動裝載器架，然後使用觸控螢幕將托架裝載至 NeuMoDx System。這會針對識別的檢測，開始處理裝載的樣品。

限制

- NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 僅能在 NeuMoDx System 上使用。
- 已使用臨床人員收集的拭子樣品，確立 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 的效能。
- 並未評估過 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 用於其他來源，且這項檢測用於其他樣品類型的效能特性不明。
- 由於 GAS 和 GCS/GGS 的偵測仰賴檢體中出現的生物體數量，可靠結果取決於正確的樣品收集、處理與儲存。
- 不正確的樣品收集、處理、儲存、技術錯誤或檢體混淆，可能會導致錯誤的檢測結果。此外，可能因為樣品內的生物體數量低於檢測的分析靈敏度，而發生偽陰性結果。
- 檢測僅限由接受過 NeuMoDx System 使用訓練的人員使用。
- 若檢體處理品管液並未擴增，且 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage test 結果為陰性，將報告無效結果（不確定或未解決），且應重複檢測。
- 陽性檢測結果不必然表示活性生物體存在。然而將推定 GAS 和/或 GCS/GGS DNA 存在。
- 雖然並無已知缺少含 LPXTG 模體細胞壁錨定區塊蛋白區域的 GAS，或缺少乳酸鏈球菌素 (Nisin) 抗性蛋白序列的 GCS/GGS 的菌株/分離株，但出現此類菌株可能會導致使用 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 時獲得錯誤結果。
- 引子/探針結合區域中的突變，可能會影響使用 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 進行的偵測。
- NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 的結果應作為醫師對臨床觀察及其他資訊的參考。檢測並非用於鑑別 GAS 和/或 GCS/GGS DNA 帶原者和鏈球菌病患者。
- 檢測結果可能會受到同時進行的抗生物療法影響，因為抗微生物療法後，可能會持續偵測到 GAS 和 GCS/GGS DNA。
- 建議採行優良實驗室操作規範，包括處理不同患者樣品之間更換手套，以避免樣品污染。

結果

NeuMoDx Molecular System

可從 NeuMoDx System 觸控螢幕 Results (結果) 視窗的「Results (結果)」分頁查看或列印現有結果。檢測結果會依據目標和檢體處理品管液 (SPC1) 的擴增狀態，判定為陽性 (POS)、陰性 (NEG)、不確定 (IND) 或未解決 (UNR)。

陽性或陰性判定的標準，列於由 NeuMoDx Molecular, Inc. 安裝在系統上的 NeuMoDx System Strep A/C/G Vantage Assay 測定定義檔 (ADF)。結果會依據摘述於下方表 1 的 ADF 決策演算法報告。

表 1：Strep A/C/G Vantage Assay 決策演算法的摘要

結果	GAS 和/或 GCS/GGS 目標	處理品管液 (SPC1)
POS	已擴增	N/A
NEG	未擴增	已擴增
IND	未擴增，偵測到系統錯誤	
UNR	未擴增，未偵測到系統錯誤	

無效結果

若在 NeuMoDx System 上進行的 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 未能產生有效結果，將依據發生的錯誤類型報告為不確定或未解決，且應重複檢測以取得有效結果。

若檢體處理期間偵測到 NeuMoDx System 錯誤，將報告不確定結果。

若未偵測到目標且檢體處理品管液並未擴增，將報告未解決結果，這表示可能發生試劑失效或有抑制劑存在。

品質控制

當地法規通常規定實驗室負責監控整個分析過程準確度及精確度的品管程序，且必須使用未經修改、經核准檢測系統的驗證效能規範，以確立檢測品管材料的數量、類型及頻率。

- NeuMoDx Molecular, Inc. 將不會提供外部（使用者定義的）品管液材料。必須由實驗室選擇並確認適當的品管液。品管液必須符合與指定臨床檢體相同的最小容量規格。使用者可依據陽性或陰性品管液定義指定條碼，或隨機指派條碼。
- 建議做法：1 依據製造商說明配製 *Streptococcus pyogenes* LYFO DISK™ (Microbiologics® 0508L) 和 1 份 *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* LYFO DISK (Microbiologics® 0602L)，以 50 mL 液態 Amies 稀釋，並以 0.5 mL 分裝量保存。若處理品管液，將條碼標示的品管液放入樣品試管托架，並使用觸控螢幕將托架從自動裝載器裝載至 NeuMoDx System。除非缺少檢測所需的適當試劑或耗材，NeuMoDx System 將辨識條碼（若由使用者預先定義）並開始處理品管液。
- 每個 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 都包含檢體處理品管液 1 (SPC1) 的特異性引子和探針。這份檢體處理品管液可讓 NeuMoDx System 監測 DNA 萃取和 PCR 擴增流程的效力。
- 對於陰性品管液檢體報告陽性檢測結果，表示發生樣品污染問題。有關疑難排除提示，請參閱 *NeuMoDx 288 或 96 Molecular System 操作人員手冊*。
- 陽性品管液檢體報告的陰性結果可能表示存在試劑或 NeuMoDx System 相關問題。有關疑難排除提示，請參閱 *NeuMoDx 288 或 96 Molecular System 操作人員手冊*。

效能特性

臨床效能

已使用內部回溯性方法比較研究，確定 NeuMoDx Strep Vantage A/C/G Assay 的臨床效能特性，這項研究使用來自兩個不同地理位置臨床實驗室的殘餘咽喉拭子樣品。

有症狀患者的殘餘咽喉拭子樣品經過去識別化，並由臨床實驗室提供唯一 ID 編號，並建立一個機密列表，將患者 ID 與為研究目的檢測的去識別化樣品聯繫起來。總計檢測兩個臨床實驗室提供的 230 份殘餘樣品。在這 230 份樣品中，臨床實驗室將 68 份樣品識別為 GAS 陽性，且將 47 份檢體識別為 GCS/GGS 陽性。一份樣品檢測結果為 GAS 和 GCS/GGS 同時呈現陽性，顯示發生雙重或共同感染。這些檢體的檢測狀態不會告知操作人員，以實現「單盲研究」。實驗室針對照護標準檢測利用特定 FDA 及 CE 核准、合法銷售分子設備報告的結果，用於進行方法比較分析。

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage 檢測的結果，針對 GAS 目標提供 100% 的臨床靈敏度，而 GCS/GGS 目標為 95.9%，兩者均在 95% 信賴區間 (CI) 下報告。已確定研究針對 GAS 和 GCS/GGS 的臨床特異性均為 100%，同樣使用 95% CI。下方表 2A 和 2B 所列的 95% CI 下限和上限，是使用具有連續修正的 Wilson 程序計算得出。

表 2A：臨床效能摘要 – NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 偵測 *S. pyogenes*

GAS		FDA/CE 核准的參考檢測結果		
		POS	NEG	總數
NeuMoDx Strep A/C/G	POS	68	0	68
	NEG	0	162	162
	總數	68	162	230
臨床靈敏度 (GAS) = 100% (93.3 - 100)				
臨床特異性 (GAS) = 100% (97.1 - 100)				

表 2B：臨床效能摘要 – NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 偵測 *S. dysgalactiae*

GCS/GGS		FDA/CE 核准的參考檢測結果		
		POS	NEG	總數
NeuMoDx Strep A/C/G	POS	47	0	47
	NEG	2	181	183
	總數	49	181	230
臨床靈敏度 (GCS/GGS) = 95.9% (84.9 – 99.3)				
臨床特異性 (GCS/GGS) = 100% (97.4 - 100)				

分析靈敏度

已針對分別添加 GAS、GCS 和 GGS 目標：*Streptococcus pyogenes* (ATCC 700294)、*Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (ATCC 35666)、和 *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (ATCC 12384) 的陰性臨床咽喉拭子，確定 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 的偵測極限。研究的全部檢體均以合併且篩檢過的鏈球菌陰性臨床咽喉拭子樣品製備，並分別添加濃度 50 CFU/mL 的 GAS、2500 CFU/mL 的 GCS 或 10,000 CFU/mL 的 GGS 目標。每個目標進行 40 次重複檢測，並使用命中率分析確認達到 $\geq 95\%$ 偵測率，讓這些濃度可接受作為給定目標的 LoD。偵測極限研究的結果彙整於下方表 3。

表 3：命中率確定 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 的偵測極限

目標	濃度 (CFU/mL)	n	陽性數	陽性百分比	LoD (命中率)
GAS	50	40	40	100	50 CFU/mL
GCS	2,500	40	40	100	2,500 CFU/mL
GGG	10,000	40	40	100	10,000 CFU/mL

已主張 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 的偵測極限，對於 GAS 為 50 CFU/mL、GCS 為 2,500 CFU/mL、且 GGS 為 10,000 CFU/mL。

變異型偵測

已使用 11 種不同的 GAS 菌株、7 種 GCS 菌株和 9 種 GGS 菌株，進一步確認 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 的分析靈敏度。使用下方表 4 所列的 GAS、GCS 和 GGS 菌株進行檢測。在 2X 前文所列相關 LoD 下檢測前，會將指定濃度下的目標添加至陰性臨床拭子樣品，以確認 $\geq 95\%$ 偵測率。不符合此要求的變異型菌株會在較高濃度下重複檢測，直到達到 $\geq 95\%$ 偵測率為止。每個菌株達到此偵測率的濃度，報告於表 4，作為該變異型的 LoD。

表 4：檢測的 GAS、GCS、和 GGS 變異型菌株

	菌株	n	濃度 (CFU/mL)	陽性	陰性	偵測率 (%)
S. pyogenes (A 型)	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
S. dysgalactiae subsp. equisimilis (C 型)	M49	20	2500	19	1	95
	C74	5	5000	5	0	100
	13-166	5	5000	5	0	100
	1180	5	5000	5	0	100
	C46	5	5000	5	0	100
	UCM 74/02P	5	5000	5	0	100
	SVA XVI 172	5	5000	5	0	100
	Lancefield H64	5	5000	5	0	100
S. dysgalactiae subsp. equisimilis (G 型)	CCUG 28238	5	5000	5	0	100
	NIH 1129	5	10000	5	0	100
	G16	5	10000	5	0	100
	CCUG 15679	5	10000	5	0	100
	G47	5	10000	5	0	100
	CCUG 27483	5	10000	5	0	100
	CCUG 33802	5	10000	5	0	100
	CCUG 502	5	10000	5	0	100
	CCUG 15680	5	20000	5	0	100
CCUG 24070	5	20000	5	0	100	

分析特異性

總計評估與 GAS 或 GCS/GGS 可能共棲或種系關係相近的 40 種生物體之培養分離株或 DNA，以 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 檢測時，是否具有交叉反應性。生物體各以 3 至 6 種生物體合併製備，並在高濃度下檢測。除非另行說明，細菌生物體以 $6 - 9 \times 10^6$ CFU/mL 添加至 GAS/GCS/GGS 陰性液態 Amies，而病毒體以 1×10^6 copies DNA/mL 添加。此研究檢測的任何病原體，都沒有觀察到交叉反應性。檢測的生物體列表列於表 5。

表 5：用於證明分析特異性的病原體列表

細菌	細菌	細菌
<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>	病毒
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptococcus canis</i>	
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus canis</i> (STR T1)	
<i>Legionella micdadei</i>	<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i> (group C)	
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>	
<i>Moraxella cartarrhalis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	
		A 型流行性感冒嗜血桿菌
		A 型流感病毒
		B 型流感病毒
		第 4b 型副流感病毒 [†]
		第 1A 型鼻病毒

* 第 I 型腺病毒以 1×10^6 TCID₅₀/mL 添加

[†] *Bordetella pertussis* 和第 4b 型副流感病毒以 10 ng/mL 添加

干擾物質 - 共生生物體

已透過在 NeuMoDx Molecular System 上，評估 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 在低濃度 GAS 和 GCS/GGS 下的效能，測試 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 在非目標生物體（在咽後共棲）存在時的干擾情況。此研究使用與評估交叉反應性所使用的同樣 45 種生物體組合 [表 5]。生物體在 GAS/GCS/GGS 陰性液態 Amies 中以 3 至 6 種分組合併，並添加 150 CFU/mL 的 GAS、7500 CFU/mL 的 GCS 和 30000 CFU/mL 的 GGS 目標。

任何共生生物體都沒有觀察到干擾。

干擾物質 - 臨床咽喉拭子樣品中遇到的內源性及外源性物質

在可能與從患者收集咽喉拭子相關的可能干擾物質存在時，評估 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 的效能 [表 6]。全部物質均在 GAS、GCS 和 GGS 不存在及存在時，測試過可能的干擾情況。添加 3X LoD 的液態 Amies 檢體，會使用飽和拭子加入以分子等級的水溶化或稀釋之指定濃度內源性和外源性分子部分。測試的物質對於 GAS 或 GCS/GGS 的偵測，都沒有產生不良影響。

表 6：測試過的外源性和內源性干擾物 液態 Amies 拭子樣品

	干擾物質	原液濃度
外源性	Altoids™ (薄荷)	10% (w/v)
	Aspirin™	10% (w/v)
	CEPACOL® 超強效止咳喉片	5% (w/v)
	Children's Dimetapp® 止咳感冒糖漿	15% (v/v)
	Chloraseptic® 強效喉片	10% (w/v)
	Chloraseptic 咽喉噴劑	10% (v/v)
	Cold-EEZE® 鋅片	15% (w/v)
	Crest® Pro-Health Advanced 護齦牙膏	4% (w/v)
	Halls™ 咳嗽滴劑 (櫻桃)	15% (w/v)
	Halls 咳嗽滴劑 (薄荷腦-尤加利)	15% (w/v)
	ICE BREAKERS® 薄荷 (超涼薄荷)	10% (w/v)
	LISTERINE® 全效護理漱口水	15% (v/v)
	LISTERINE 超潔淨抗菌漱口水	15% (v/v)
	*Ricola® 瑞士原味草本無糖止咳咽喉滴劑	15% (w/v)
	Robitussin® 強效止咳夜錠 DM	10% (v/v)
	Sucrets® 止咳喉片 (櫻桃)	5% (w/v)
Tic Tac® 清新薄荷	10% (w/v)	
Wal-Tussin DM 強效止咳糖漿	10% (v/v)	
內源性	唾液	100%
	全血	10% (v/v)

* 一開始在 3X LoD 下檢測的 3 份 GAS 檢體之 1，並未在 Ricola 咽喉滴劑存在時擴增，但重複簡測試達到預期效能。

批次間再現性

已透過回溯性分析三個不同批次的 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 和 NeuMoDx Lysis Buffer 6 之直性檢測資料，驗證 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 的批次間再現性。這些資料是透過針對添加代表性 GAS 和 GCS 之目標 LoD 的液態 Amies 運送培養基，對這些試劑進行功能性測試而產生的。每個批次的 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 總計處理 64 份陽性和 16 份陰性重複檢體；NeuMoDx Lysis Buffer 6 的評估涉及 16 份陽性和 8 份陰性重複檢體。已透過確定平均 C_t 值、標準差和變異係數百分比 (%CV)，如表 7 所示，分析生產批次之間的差異。GAS 和 GCS 目標的標準差數值 ≤ 1.1 且變異係數數值 ≤ 3.0%，證明不同批次的 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 重要試劑之間，具有優異的再現性。

表 7：NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 重要組成批次之間，不同目標的 %CV 分析

	GAS			GCS			全部結果		
	\bar{C}_t	C_t SD	%CV	\bar{C}_t	C_t SD	%CV	\bar{C}_t	C_t SD	%CV
(全部 3 個批次)									
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%

新鮮與冷凍樣品等效性

已進行檢測，證明新鮮和冷凍樣品之間的樣品矩陣等效性。陰性臨床樣品添加 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 之 3X LoD 的 GAS、GCS 和 GGS 目標，並使用 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 處理。每份檢體接著存放在 -80°C 下直到凍結、解凍並重複處理。比較來自新鮮與冷凍拭子樣品的結果，透過迴歸分析比較等效性。資料證明新鮮和冷凍拭子樣品之間具有優異的等效性。

品管液有效性

已在 NeuMoDx Molecular System 上，評估過 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 中包含的檢體處理品管液，報告影響 NeuMoDx A/C/G Vantage Assay 效能之任何處理步驟失敗或抑制的效果。測試的狀況代表檢體處理期間可能發生，且監測 NeuMoDx System 效能之內建感測器可能未能偵測到的關鍵處理步驟失敗。品管液有效性的評估方式為，透過模擬多項檢體處理流程步驟失敗，以模擬可能的系統錯誤，及添加含已知抑制劑的樣品，以觀察無效率抑制劑緩解，對於檢體處理品管液之偵測的作用（參見表 8）。在處理錯誤並未對檢體處理品管液效能產生不良影響的情況下（NO WASH（未清洗）/NO WASH BLOWOUT（未清洗吹出）），會含低濃度 GAS 和 GCS/GGS（接近 LoD）的樣品重複檢測，以確認處理錯誤也不會對 GAS 或 GCS/GGS 目標的偵測產生不良影響。表 8 彙整品管液驗證測試效果的結果。

表 8：品管液有效性資料摘要

狀況	預期結果	觀察到的結果
正常處理	陰性	陰性
正常處理 + 抑制劑	未解決	未解決
無清洗試劑	未解決或陰性	陰性*
未清洗吹出	未解決或陰性	陰性
無釋放試劑	不確定	不確定
無 PCR 主要混合液試劑	不確定	不確定

* 在罕見情況下，發現低度陽性 GAS 檢體與輸送清洗試劑的系統故障合併出現時，會產生偽陰性結果。這是在 GAS 濃度低於 500 CFU/mL 下觀察到的，遠低於陽性臨床拭子樣品的平均濃度，且在大部分情況下，預期可透過一次偽陰性結果後極可能進行的重複檢測排除。

拭子樣品的裝載檢體穩定性

鏈球菌陰性臨床拭子樣品添加 10-15X LoD 下的 GAS、GCS 和 GGS 目標，在 4°C 下保存 48 小時，接著使用 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 和相等數量的陰性樣品處理。處理結束時，全部陽性和陰性樣品試管在室溫下留在系統工作台上 8 小時，接著重新處理。對於添加 GAS、GCS 或 GGS 目標的全部拭子樣品，全部 0 和 8 小時時間點的預期結果均為 POSITIVE（陽性）（針對適當目標），而未添加目標的拭子樣品則為 NEGATIVE（陰性）（對於這兩種目標）。兩個時間點都觀察到與預期結果 100% 一致，顯示可證明以 NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip 檢測具有 8 小時的裝載穩定性。結果彙整於下方表 9。

表 9：裝載檢體穩定性資料摘要

裝載樣品穩定性	陽性 %， T_0			陽性 %，8 小時		
	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
陰性	0	0	100	0	100	100

參考資料

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. Geme III, 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

致謝

以下試劑透過 BEI Resources, NIAID, NIH 取得： *Streptococcus pyogenes*, Strain MGAS15186, NR-15373。

以下試劑在人類微生物體計畫中，透過 BEI Resources, NIAID, NIH 取得： *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, Strain WGLW3, HM-748。

以下試劑在人類微生物體計畫中，透過 BEI Resources, NIAID, NIH 取得： *Streptococcus anginosus*, Strain F0211, HM-282。

以下試劑在人類微生物體計畫中，透過 BEI Resources, NIAID, NIH 取得： *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus*, Strain TX20005, HM-272。

以下試劑在人類微生物體計畫中，透過 BEI Resources, NIAID, NIH 取得： *Streptococcus intermedius*, Strain F0413, HM-368。

以下試劑透過 BEI Resources, NIAID, NIH 取得： *Burkholderia cepacia*, Strain UCB 717, NR-707。

以下試劑在人類微生物體計畫中，透過 BEI Resources, NIAID, NIH 取得： *Streptococcus mitis*, Strain F0392, HM-262。

以下試劑在人類微生物體計畫中，透過 BEI Resources, NIAID, NIH 取得： *Parvimonas micra*, Strain CC57A (Deposited as *Peptostreptococcus micros*, Strain CC57A), HM-1052。

商標

NeuMoDx™ 是 NeuMoDx Molecular, Inc. 的商標

NeuDry™ 是 NeuMoDx Molecular, Inc. 的商標

TaqMan® 是 Roche Molecular Systems, Inc. 的註冊商標

LYFO DISK™ 是 Microbiologics, Inc. 的商標

ATCC® 是 American Type Culture Collection 的註冊商標

Aspirin™ 是 Bayer AG 的商標

Altoids™ 是 Callard and Bowser Limited 的商標

CEPACOL® 是 Reckitt Benckiser Limited 的註冊商標

Chloraseptic® 是 Prestige Brands Holdings, Inc. 的註冊商標

Dimetapp® 是 Pfizer, Inc. 的註冊商標

Cold-EEZE® 是 Prophase Labs, Inc. 的註冊商標

Crest® Pro-Health 是 Proctor and Gamble Company 的註冊商標

Halls™ 是 Mondelēz International Group 的商標

ICE BREAKERS® 是 Hershey Chocolate & Confectionery Company 的註冊商標

LISTERINE® 是 Johnson & Johnson 的註冊商標

Ricola® 是 Ricola Group AG 的註冊商標

Robitussin® 是 Pfizer, Inc. 的註冊商標

Sucrets® 是 Prestige Brands Holdings, Inc. 的註冊商標

Tic Tac® 是 Ferrero, Inc. 的註冊商標

Wal-Tussin® 是 Walgreens Company 的註冊商標

符號

使用說明或包裝及標籤上可能出現以下符號：

符號	意義
R only	僅限處方使用
	製造商
IVD	體外診斷醫療器材
EC REP	歐盟授權代表
REF	目錄編號
LOT	批次代碼
	使用期限
	溫度限制
	濕度限制
	請勿重複使用
	內容物足夠進行「n」次檢測
	參閱使用說明
	注意
	生物風險
CE	CE 標章
	健康危害
	危險



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

技術支援/警示通報：support.qiagen.com
專利：www.neumodx.com/patents

NeuMoDx Molecular, Inc.



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



40600409-ZHTW_E
2024-03