

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

HUOMIO: Vain vietäväksi Yhdysvaltojen ulkopuolelle

IVD Tarkoitettu NeuMoDx 288 Molecular System- ja NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmillä tehtävää *in vitro* -diagnostiikkaa varten

 Selostepäivitykset ovat osoitteessa: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Lisätietoja on NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa, tuotenumero 40600108

Lisätietoja on NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa, tuotenumero 40600317

KÄYTTÖTARKOITUS

NeuMoDx 96 Molecular System- ja NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmissä tehtävä NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määritys on nopea, automaattinen, kvalitatiivinen nukleinihappojen *in vitro* -monistustesti, jolla tunnistetaan ja erotetaan suoraan *Streptococcus pyogenes* (A-ryhmän beetahemolyyttinen streptokokki [GAS]) ja *Streptococcus dysgalactiae* (pyogeeninen C-ryhmän streptokokki ja G-ryhmän beetahemolyyttinen streptokokki, mukaan lukien C-ryhmän subsp. *dysgalactiae* sekä C- ja G-ryhmän *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* [GCS/GGS]) nielun limakalvonäytteistä, kun potilaalla on nielutulehduksen oireita. Testissä *Streptococcus pyogenes* ja *Streptococcus dysgalactiae* bakteerien DNA tunnistetaan erikseen reaaliaikaisen polymeraasiketjureaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR) avulla nielun limakalvonäytteistä. NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrityksen tuloksia voidaan käyttää apuna oireisten potilaiden GAS- ja GCS/GGS-infektioiden diagnosoimisessa, mutta ei GAS- tai GCS/GGS-infektioiden hoidon seurannassa ja ohjaamisessa. Testin rinnalla tehtävä viljely voi olla tarpeen epidemiologista tyyppitystä tai herkkyden testausta varten.

YHTEENVETO JA SELITYKSET

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määritys on tarkoitettu GAS- ja GCS/GGS-bakteerien DNA:n samanaikaiseen tunnistamiseen ja erotteluun. Määritys kohdistuu GAS-bakteerin genomin LPXTG-motiivin soluseinämän domeenin sisältämän ankkuriproteiinin alueeseen ja GCS/GGS-bakteerin genomissa olevan nisiiniresistenssiproteiinin sekvenssiin. NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrityksellä suoritettava GAS- ja/tai GCS/GGS-bakteerien DNA:n tunnistamista varten nielusta otetaan limakalvonäyte Liquid Amies -kuljetusaineeseen. Testiä valmisteltaessa Liquid Amies -kuljetusaineputki asetetaan määritettyihin näytetelineisiin ja NeuMoDx System -järjestelmään käsittelyn aloittamista varten. Kustakin Liquid Amies -kuljetusaineesta olevasta näytteestä NeuMoDx System sekoittaa 50 µl:n alikvootin NeuMoDx Lysis Buffer 6 -lyysauspuskuriin ja suorittaa automaattisesti kaikki vaiheet: se eristää kohdenukleinihapon, valmistelee eristetyn DNA:n reaaliaikaisen PCR:n monistusvaihetta varten sekä monistaa ja tunnistaa monistamisen tuotteet, jos niitä on näytteessä (GAS- ja GCS/GGS-bakteerien genomin *kohdegeenisekvenssien* osat).

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määritys sisältää DNA-näytteen prosessikontrollin (Sample Process Control, SPC1), jolla valvotaan mahdollisia estäviä aineita sekä eristämisen ja monistamisprosessien aikaisia NeuMoDx System -järjestelmän ja reagenssien toimintahäiriöitä.

Streptococcus pyogenes on GAS-bakteereihin kuuluva, Lancefield-ryhmän beetahemolyyttinen A-streptokokki, jonka aiheuttama infektio ilmenee ihmisissä monenlaisina sairauksina. Kaikkialla esiintyvä *S. pyogenes* -organismi on yleisin akuuttia faryngiittiä eli nielutulehdusta aiheuttava bakteeri. Nielutulehdusta esiintyy yleisemmin lapsilla: noin 20–30 % tapauksista on lapsilla. Aikuisilla se aiheuttaa noin 5–15 % nielutulehduksista.^{1,2} Märkäistä nielutulehdusta esiintyy yleensä potilailla, jotka eivät ole saaneet antibioottihoitoa. Siihen voi liittyä välikorvatulehdus, sivuontelotulehdus, kurkkupaise tai nieluntakainen paise ja märkivä imusolmuketulehdus kaulalla. Muihin kuin märkiviin komplikaatioihin kuuluvat reumakuume ja akuutti glomerulonefriitti.³

Streptococcus dysgalactiae subsp. *equisimilis* (GCS/GGS) -bakteerit ovat ihmisen ylähengitysteiden normaaliflooraan kuuluvia bakteereita. Kolonisaatiot iholla, maha-suolikanavassa ja naisen sukupuolielimissä eivät yleensä aiheuta oireita. Siksi niiden merkitystä streptokokkien aiheuttamassa sairastavuudessa on aliarvioitu, sillä GCS/GGS-bakteerien ja *S. pyogenes* -bakteerin aiheuttamat taudit kuuluvat samaan tautikirjoon. Lapsilla nämä organismit liittyvät yleisimmin ylähengitystieinfektioihin, varsinkin nielutulehdukseen. C- ja G-ryhmän streptokokkien aiheuttaman nielutulehduksen todellista ilmaantuvuutta on vaikeaa arvioida, koska kolonisaatiot eivät useinkaan aiheuta oireita. On kuitenkin vakuuttavaa näyttöä siitä, että C- ja G-ryhmän streptokokit ovat nielutulehduksen varsinaisia aiheuttajia.²⁻⁴ Ihmisen GCS/GGS-bakteereita pidetään nykyään yhtenä alalajina: *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*. GGS-bakteerin (*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*) ja muiden streptokokkilajien koko genomisekvenssin klinisen isolaatin vertailussa selvisi, että GGS on läheisintä sukua *S. pyogenes* -bakteerin kanssa. Sekvenssi oli 72-prosenttisesti samanlainen.⁵ *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* -bakteerilla on monia samoja virulenssitekijöitä *S. pyogenes* -bakteerin kanssa, kuten antifagosyyttinen M-proteiini, streptolysiini O, streptolysiini S, streptokinaasi ja vähintään yksi streptokokin aiheuttamaan toksiseen sokkiin liittyvien pyogeenisten eksotoksiinien kaltainen pyogeeninen eksotoksiini.⁵

Vaikka streptokokkien aiheuttama nielutulehdus on yleensä itsestään rajoittuva, sen nopea ja täsmällinen tunnistaminen on tärkeää, sillä sopivan antibioottihoiton varhaisen aloittamisen tiedetään lievittävän oireiden voimakkuutta ja kestoa, vähentävän tartuntoja ja pienentävän akuutin reumakuumeen riskiä.³ Koska nielutulehduksen aiheuttaja on useimmiten virus, oikealla diagnoosilla voidaan vähentää tarpeettomia antibioottihoitoja ja estää antibioottiresistenssin kehittymistä. Diagnoosiin on kuitenkin vaikea päästä ainoastaan kliinisten oireiden perusteella, sillä monet GAS:n aiheuttamat oireet ovat samoja kuin virusnielutulehduksessa. Tavanomainen menetelmä GAS:n tunnistamiseen lapsipotilailla on nielun limakalvonäytteen viljely veriagarille. Näytteenoton ja mikrobiologisen diagnoosin välinen melko pitkä viive (noin 2 vuorokautta) kuitenkin rajoittaa tämän menetelmän rutiinikäyttöä poliklinikalla. GAS-bakteerin tunnistamiseen on ollut tarjolla kaupallisia antigeenitestejä (RADT-testejä) 1980-luvulta lähtien.^{6,7} Näiden pikatestien etuna on, että ne voidaan tehdä lääkärin vastaanotolla. Hyvästä spesifisyydestä huolimatta (> 95 %) RADT-testeillä on usein viljelyä huonompi herkkyys (~ 86 %).⁶ Molekyyliestejä on ryhdytty kehittämään, koska viljelymenetelmien rinnalle on tarvittu hyvin herkkiä ja nopeita testejä. GAS-bakteerin tunnistamiseen kehitetyillä nukleinihappojen monistustesteillä on yleensä parempi herkkyys (> 90 %) ja hyvä spesifisyys (> 95 %).⁸⁻¹⁰

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrityksellä voidaan tunnistaa nopeasti ja täsmällisesti A-ryhmän streptokokkeja sekä pyogeenisiä C- ja G-ryhmän streptokokkeja.

NeuMoDx Molecular, Inc.

 40600409-FI_D
2023-07

MENETELMÄN TOIMINTAPERIAATE

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrityksessä yhdistyvät DNA:n eristäminen sekä monistaminen ja tunnistaminen reaaliaikaisen PCR:n avulla. Nielun limakalvonäytteet otetaan Liquid Amies -kuljetusaineeseen näyteputkiin. NeuMoDx System -järjestelmä aspiroi automaattisesti alikvootin Liquid Amies -kuljetusaineesta olevasta limakalvonäytteestä, sekoittaa sen NeuMoDx Lysis Buffer 6 -lyysauspuskuriin ja NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevyllä oleviin eristysreagenssiin ja aloittaa käsittelyn. NeuMoDx System -järjestelmä automatisoi ja integroi DNA:n eristämisen ja rikastamisen, reagenssien valmistelun sekä nukleiinihapon monistamisen ja kohdesekvenssin tunnistuksen reaaliaikaisella PCR:llä. Testiin sisältyvällä näytteen prosessikontrollilla (Sample Process Control, SPC1) valvotaan mahdollisia estäviä aineita sekä järjestelmän, prosessin ja reagenssien toimintahäiriöitä. Kun näyte on asetettu NeuMoDx System -järjestelmään, käyttäjän toimia ei enää tarvita.

NeuMoDx System -järjestelmät käyttävät lämmön, hajottavan entsyymin ja eristysreagenssien yhdistelmää solujen hajotuksessa, DNA:n eristämässä ja estäjien poistamisessa. Vapautuneet nukleiinihapot tarttuvat paramagneettisiin hiukkasiin. Mikropallot ja niihin sitoutuneet nukleiinihapot siirretään NeuMoDx Cartridge -kasettiin, jossa sitoutumattomat, muut kuin DNA:n osat pestään pois NeuMoDx Wash Reagent -pesureagenssilla ja sitoutunut DNA eluoidaan NeuMoDx Release Reagent -irrotusreagenssilla. Eluoidun DNA:n avulla NeuMoDx System -järjestelmä rehydroi omistusoikeudellisia NeuDry™-monistusreagensseja, jotka sisältävät kaikki GAS- ja GCS/GGS-kohteiden monistamiseen tarvittavat osat sekä SPC1-sekvenssin osan. Näin kohteet ja kontrolli-DNA-sekvenssit voidaan monistaa ja tunnistaa samanaikaisesti. Kun kuivatut PCR-reagenssit on valmisteltu, NeuMoDx System -järjestelmä annostelee PCR-ajoa varten valmiin seoksen NeuMoDx Cartridge -kasetin yhteen PCR-kammioon (näytekohtaisesti). Kontrolli- ja kohde-DNA-sekvenssit (jos niitä on) monistetaan ja tunnistetaan PCR-kammiossa. Reaaliaikaisen PCR:n jälkeen amplikonit pysyvät NeuMoDx Cartridge -kasetissa ja PCR-kammiossa, mikä poistaa monistamisen jälkeisen kontaminaation riskin.

Monistetut kohteet tunnistetaan reaaliaikaisesti hydrolyysikoettimien avulla eli TaqMan®-tekniikalla, jossa käytetään amplikonikohtaisia fluoresoivia oligonukleotidikoettimien molekyyliä.

TaqMan-koettimet koostuvat fluoresoivasta aineesta, joka on kovalenttisesti kiinnittynyt oligonukleotidikoettimen 5'-päähän, ja 3'-päässä olevasta sammuttajasta. Koettimen ollessa ehjä fluoresoivan aineen ja sammuttajamolekyylin läheisyys tukahduttaa fluoresoivan aineen lähettämän fluoresenssin Förster-tyyppisellä energiansiirrolla (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

TaqMan-koettimet on suunniteltu kiinnittymään tietyn alukejoukon monistamalla DNA:n alueella. Kun Taq DNA -polymeraasi pidentää aluketta ja syntetisoi uuden juosteen, Taq DNA -polymeraasin 5'-3'-eksonukleaasiaktiivisuus hajottaa malliin kiinnittyneen koettimen. Koettimen hajoaminen vapauttaa fluoresoivan aineen ja koetin ja sammuttaja erkanevat toisistaan, jolloin FRET:n tukahduttamisvaikutus estyy ja fluoresenssi voi kasvaa.

Fluoresoivalla aineella leimattu TaqMan-koetin (heräte: 470 nm ja emissio: 510 nm) 5'-päässä ja pimeä sammuttaja 3'-päässä auttavat havaitsemaan GAS:n DNA:n ja fluoresoivalla aineella leimattu TaqMan-koetin (heräte: 585 nm ja emissio: 610 nm) 5'-päässä ja pimeä sammuttaja 3'-päässä auttavat havaitsemaan GCS/GGS:n DNA:n. TaqMan-koetin on leimattu vaihtoehtoisella fluoresoivalla värillä näytteen prosessikontrollin tunnistusta varten (heräte: 530 nm ja emissio: 555 nm) 5'-päässä ja pimeä sammuttaja 3'-päässä. NeuMoDx System -järjestelmä valvoo TaqMan-koettimien lähettämää fluoresenssisignaalia jokaisen monistamissyklin lopussa. Monistumisen päätyttyä NeuMoDx System -järjestelmä analysoi tiedot ja laatii raportin lopullisista kvalitatiivisista tuloksista (POSITIVE (Positiivinen) / NEGATIVE (Negatiivinen) / INDETERMINATE (Epäselvä) / UNRESOLVED (Ratkaisematon)).

REAGENSIT/TARVIKKEET

Toimitetut materiaalit

REF	Sisältö	Testejä/yksikkö	Testejä/pakkaus
209102	NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuska Kuivatut reaaliaikaisen PCR:n reagenssit, jotka sisältävät GAS- ja GCS/GGS-spesifiset TaqMan-koettimet ja alukkeet sekä näytteen prosessikontrollin spesifisen TaqMan-koettimen ja alukkeet.	16	96

Tarvittavat reagenssit ja tarvikkeet, jotka eivät sisälly toimitukseen (saatavilla erikseen NeuMoDx-yhtiöltä)

REF	Sisältö
100200	NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevy Kuivatut paramagneettiset hiukkaset, hajottava entsyymi ja näytteiden prosessikontrollit
401700	NeuMoDx Lysis Buffer 6 -lyysauspuskuri*
400100	NeuMoDx Wash Reagent -pesureagenssi
400200	NeuMoDx Release Reagent -irrotusreagenssi
100100	NeuMoDx Cartridge -kasetti
235903	Hamilton CO-RE / CO-RE II -kärjet (300 µl) ja suodattimet
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II -kärjet (1 000 µl) ja suodattimet

*Huomautus: NeuMoDx System -järjestelmän 1.8.0.0-versiota aiemmat versiot tunnistavat NeuMoDx Lysis Buffer 6 -lyysauspuskurin Lysis Buffer 4 -lyysauspuskuriksi. Varoituksia ja varotoimia koskevia lisätietoja on NeuMoDx Lysis Buffer 6 -lyysauspuskurin käyttöohjeessa (tuotenumero 40600406).

Tarvittavat laitteet

NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmä [REF 500100] tai NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmä [REF 500200]

VAROITUKSET JA VAROTOIMET

- Tämä testi on tarkoitettu ainoastaan NeuMoDx System -järjestelmillä tehtävää *in vitro* -diagnostiikkaa varten.
- Älä käytä tarvikkeita ja reagensseja viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.
- Reagensseja ei saa käyttää, jos suojaosien on rikki tai pakkaus on vahingoittunut vastaanotettaessa.
- Älä käytä tarvikkeita ja reagensseja, jos suojaosien on avautunut tai rikki vastaanotettaessa.
- NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrittystä ei ole validoitu käytettäväksi säilytysaineiden kanssa.
- Älä kerää limakalvonäytteitä muuhun kuin Liquid Amies -kuljetusaineeseen tai vastaavaan. NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrittystä ei ole validoitu käytettäväksi muiden kuljetusaineiden kanssa.
- Näytteen vähimmäismäärä riippuu näyteputken koosta ja näyteputkelineestä, kuten NeuMoDx 288- ja 96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa (tuotenumero 40600108 ja 40600317) esitetään.
- Jos testi tehdään yli 2 vuorokautta vanhoille (2–8 °C:n lämpötilassa säilytetyille) nielun limakalvonäytteille, tuloksista saattaa tulla virheellisiä NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuskaa käytettäessä.
- Vältä reagenssien mikrobi- ja deoksiribonukleasi (DNAasi) -kontaminaatiota. Steriilien DNAasittomien kertakäyttöisten siirtopipettien käyttö on suositeltavaa, jos näyte siirretään toisioputkeen. Käytä jokaiselle näytteelle uutta pipettiä.
- Vältä kontaminaatio: älä käsittele äläkä irrota NeuMoDx Cartridge -kasettia monistamisen jälkeen. Älä koskaan ota NeuMoDx Cartridge -kasetteja takaisin jätteastiasta. NeuMoDx Cartridge -kasetti on suunniteltu estämään kontaminaatiota.
- Kun laboratoriossa tehdään PCR-testejä myös avoimella putkella, on varottava, etteivät NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuska, muut testissä tarvittavat reagenssit, suojaruuvit, kuten käsinetot ja laboratoriotakit, ja NeuMoDx System -järjestelmä kontaminoidu.
- NeuMoDx:n reagensseja ja tarvikkeita käsiteltäessä on käytettävä puhtaita, puuterittomia nitrilikäsineitä. Varo, ettet kosketa NeuMoDx Cartridge -kasetin yläpintaa tai NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuskan tai NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevyn folioteipin yläpintaa tai NeuMoDx Lysis Buffer 6 -lyysauspuskurin yläpintaa. Tarvikkeita ja reagensseja käsiteltäessä saa koskea vain sivupintoihin.
- Pese kädet huolellisesti testin jälkeen.
- Älä pipetoi suun avulla. Älä tupakoi, syö tai juo tiloissa, joissa käsitellään näytteitä tai reagensseja.
- Käsittele näytteitä aina kuten tartuntavaarallisia näytteitä ja noudata laboratorion turvaohjeita: *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹¹ ja CLSI Document M29-A3.¹²
- Hävitä käyttämättömät reagenssit ja jäte paikallisten, alueellisten ja kansallisten säädösten mukaisesti.

TUOTTEEN SÄILYTYS, KÄSITELY JA VAKAUS

- Jokaiselle reagenssille on saatavissa käyttöturvallisuustiedote (Safety Data Sheet, SDS).
- NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuskat ovat stabiileja sisäpakkauksessa tuotteen etiketissä ilmoitettuun viimeiseen käyttöpäivään asti, kun niitä säilytetään 15–23 °C:n lämpötilassa.
- Tarvikkeita ja reagensseja ei saa käyttää viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
- Älä käytä testituetta, jos sen sisä- tai ulkopakkaus näyttää vahingoittuneelta.
- Kun NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip on asetettu, se voi olla NeuMoDx System -järjestelmän sisällä 14 vuorokautta. Ohjelmisto seuraa järjestelmään asetettujen testiliuskosten jäljellä olevaa käyttöikää ja ilmoittaa sen käyttäjälle reaaliaikaisesti. Järjestelmä kehottaa vaihtamaan testiliuskan, joka on ollut käytössä sallittua pidemmän ajan.

NÄYTTEIDEN KERUU, KULJETUS JA SÄILYTYS

- NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuska on testattu kliinisesti otetuilla nielun limakalvonäytteillä. Suoritusaste muilla kuin määrittelyillä näytteillä ei ole arvioitu.
- Limakalvonäytteiden säilytyslämpötilan kuljetuksen aikana on oltava pakkauksen suosituksen mukainen.
- Limakalvonäytteitä saa säilyttää 2–8 °C:n lämpötilassa enintään 2 vuorokautta ennen testausta ja enintään 8 tuntia huoneenlämmössä.

KÄYTTÖOHJEET

Näytteenotto ja kuljetus

1. Kliinisesti otetut nielun limakalvonäytteet on kerättävä Liquid Amies -kuljetusaineeseen.
2. Jos näytteitä ei testata 8 tunnin kuluessa, ne voidaan säilyttää 2–8 °C:n lämpötilassa enintään 2 vuorokautta ennen testausta.

Testin valmistelut

1. Kiinnitä näytteen viivakoodietiketti NeuMoDx System -järjestelmän kanssa yhteensopivaan näyteputkeen. Alkuperäinen näyteputki voidaan merkitä ja asettaa suoraan näytetelineeseen. Vaihtoehtoisesti Liquid Amies -näyteputkesta voidaan siirtää alikvootti toisioputkeen NeuMoDx System -järjestelmässä käsittelyä varten.
2. Vorteksoi näyte pikaisesti astiassa niin, että se jakautuu tasaisesti.
3. Jos testissä käytetään alkuperäistä näyteputkea, aseta viivakoodilla merkitty putki näyteputkelineeseen ja varmista, että korkki ja näytetikku on poistettu ennen telineen asettamista NeuMoDx System -järjestelmään. ÄLÄ jätä näytetikku putkeen.
4. Jos toissijaista putkea käytetään, siirrä Liquid Amies -näytteen $\geq 0,5$ ml:n alikvootti viivakoodilla merkittyyn näyteputkeen, joka on yhteensopiva NeuMoDx System -järjestelmän 32 putken telineen kanssa.

NeuMoDx System -järjestelmän käyttö

Lisätietoja on NeuMoDx 288/96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa (osanumerot 40600108 ja 40600317)

1. Aseta vähintään yhteen NeuMoDx Test Strip Carrier -testiliuskatelineeseen NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuskoja ja lisää testiliuskatelineet NeuMoDx System -järjestelmään kosketusnäytön avulla.
2. Jos NeuMoDx System -järjestelmän ohjelma pyytää lisäämään tarvikkeita, lisää tarvittavat tarvikkeet NeuMoDx System -järjestelmän tarkiteliniisiin ja lisää telineet NeuMoDx System -järjestelmään kosketusnäytön avulla.
3. Jos NeuMoDx System -järjestelmän ohjelman näyttöön tulee sitä koskeva kehote, vaihda tarvittaessa NeuMoDx Wash Reagent -pesureagenssi, NeuMoDx Release Reagent -irrotusreagenssi, tyhjennä esitäytön jäte, biovaarallisen jätteen säiliö (vain NeuMoDx 288 -järjestelmä), kärkien jäteastia (vain NeuMoDx 96 -järjestelmä) tai biovaarallisen jätteen astia (vain NeuMoDx 96 -järjestelmä).
4. Aseta näyteputket sopivaan näyteputkelineeseen ja varmista, että kaikista näyteputkista on irrotettu korkki.
5. Aseta näyteputkeline automaattilataimen hyllylle ja lisää teline NeuMoDx System -järjestelmään kosketusnäytön avulla. Tämän jälkeen järjestelmä alkaa käsitellä järjestelmään ladattuja näytteitä määritetyn testin mukaisesti.

RAJOITUKSET

- NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuskaa voidaan käyttää vain NeuMoDx System -järjestelmissä.
- NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuskan suorituskyky on määritetty kliinisesti otetuille nielun limakalvonäytteille.
- NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuskan käyttöä muiden lähteiden kanssa ei ole arvioitu eikä tämän testin suorituskykyominaisuuksia muilla näytetyypeillä tunnetta.
- Koska näytteessä olevien organismien määrä vaikuttaa GAS- ja GCS/GGS-bakteerien tunnistamiseen, näytteiden oikeanlainen kerääminen, käsittely ja säilytys vaikuttavat tulosten luotettavuuteen.
- Näytteiden virheellinen kerääminen, käsittely, säilytys sekä tekninen virhe ja näytteiden sekaantuminen voivat aiheuttaa virheellisiä testituloksia. Vääriä negatiivisia testituloksia voidaan saada myös silloin, kun näytteessä olevien organismien määrä alittaa testin analyttisen herkkyystason.
- Testin käyttö on tarkoitettu ainoastaan NeuMoDx System -järjestelmän käyttökoulutusta saaneelle henkilöstölle.
- Jos näytteen prosessikontrolli ei monistu ja NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test -testin tulos on Negative (Negatiivinen), raportin tulokseksi tulee Indeterminate (Epäselvä) tai Unresolved (Ratkaisematon) ja testi on toistettava.
- Positiivinen testitulos ei välttämättä tarkoita, että näytteessä on elinkelpoisia organismeja. Sen perusteella voidaan kuitenkin olettaa, että näytteessä on GAS- ja/tai GCS/GGS-bakteerien tai molempien DNA:ta.
- Koska tunnettuja GAS-kantoja/isolaatteja, joista LPXTG-motiivin soluseinämän domeenin sisältämän ankkuriproteiinin alue puuttuu, tai GCS/GGS-kantoja/isolaatteja, joista nisiiniresistenssiproteiinin alue puuttuu, ei ole, sellainen kanta voisi aiheuttaa virheellisiä tuloksia NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuskaa käytettäessä.
- Alukkeen tai koettimen sitoutumisalueilla olevat mutaatiot voivat vaikuttaa NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuskan avulla tehtävään tunnistamiseen.
- NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrityksen tuloksia tulisi käyttää kliinisten havaintojen ja muiden lääkärin käytettävissä olevien tietojen ohella. Testiä ei ole tarkoitettu GAS- ja/tai GCS/GGS-bakteerien DNA:n kantajien ja streptokokki-infektiota sairastavien väliseen erotteluun.
- Meneillään oleva antibioottihoito voi vaikuttaa testituloksiin, sillä näytteestä voi yhä löytyä GAS- ja GCS/GGS-bakteerien DNA:ta mikrobilääkehoidon jälkeen.
- Näytteiden kontaminoitumisen välttäminen edellyttää hyvän laboratoriokäytännön noudattamista, kuten käsineiden käyttämistä aina potilaiden näytteitä käsiteltäessä.

TULOKSET

NeuMoDx Molecular Systems

Tuloksia voidaan katsella ja tulostaa NeuMoDx System -järjestelmän kosketusnäytöstä, Results (Tulokset) -ikkunan Results (Tulokset) -välilehdestä. Testitulos on Positive (Positiivinen) (POS), Negative (Negatiivinen) (NEG), Indeterminate (Epäselvä) (IND) tai Unresolved (Ratkaisematon) (UNR) näytteen prosessikontrollin (Sample Process Control, SPC1) ja kohteen monistumistilan perusteella.

Positiivisen ja negatiivisen tuloksen ratkaisuehdot määritetään NeuMoDx System -järjestelmän Strep A/C/G Vantage Assay -testin määrittystiedostossa (Assay Definition File, ADF), jonka NeuMoDx Molecular, Inc on asentanut järjestelmään. Tulokset raportoidaan ratkaisualgoritmin perusteella. Yhteenveto esitetään alla olevassa *taulukossa 1*.

Taulukko 1. Strep A/C/G Vantage Assay -testin ratkaisualgoritmin yhteenveto

TULOS	GAS:n ja/tai GCS/GGS:n KOHTEET	PROSESSIKONTROLLOI (SPC1)
POS	Amplified (Monistettu)	Ei oleellinen
NEG	Not Amplified (Ei monistettu)	Amplified (Monistettu)
IND	Not Amplified, System Error Detected (Ei monistettu, järjestelmävirhe)	
UNR	Not Amplified, No System Error Detected (Ei monistettu, ei järjestelmävirhettä)	

Epäkelvolliset tulokset

Jos NeuMoDx System -järjestelmällä tehdystä NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrittämisestä ei saada hyväksyttäviä tuloksia, sen kohdalla lukee raportissa Indeterminate (Epäselvä) tai Unresolved (Ratkaisematon) virhetyypin mukaan ja testi on toistettava, jotta siitä saadaan hyväksyttävä tulos.

Raportissa on Indeterminate (Epäselvä) -tulos, jos NeuMoDx System -järjestelmä huomaa näytteen käsittelyn aikana järjestelmävirheen.

Raportissa on Unresolved (Ratkaisematon) -tulos, jos kohdetta ei löytynyt eikä näytteen prosessikontrolli monistunut. Tämä voi johtua reagenssin viasta tai estäjistä.

Laadunvarmistus

Paikallisissa säädöksissä määritetään yleensä, että laboratorio vastaa sellaisten kontrollimenetelmien käytöstä, joilla valvotaan koko analysointiprosessin virheettömyyttä ja tarkkuutta. Laboratorion on määritettävä myös kontrollimateriaalien testauksen toistoväli, tyyppi ja määrä käyttämällä muuttamattoman, hyväksytyyn testijärjestelmän verifioituja suoritusasetietoja.

- NeuMoDx Molecular, Inc. ei toimita ulkoisia (käyttäjän määrittämän testin) kontrollimateriaaleja. Laboratorion on valittava ja validoitava sopivat kontrollit. Kontrolleihin on määritettävä samat vähimmäismäärät kuin aiemmin määritetyissä kliinisissä näytteissä. Käyttäjä voi määrittää tietyt viivakoodit positiiviselle ja negatiiviselle kontrollille tai määrittää viivakoodit satunnaisesti.
- Suositus: 1 *Streptococcus pyogenes* LYFO DISK™ (Microbiologics® 0508L) ja 1 *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* LYFO DISK (Microbiologics® 0602L) sekoitetaan valmistajan ohjeiden mukaan, laimennetaan 50 ml:n Liquid Amies -kuljetusaineessa, säilytetään ja käytetään 0,5 ml:n alikvooteissa. Jos käsittelet kontrolleja, aseta merkityt kontrollit näyteputkelineeseen ja lisää teline NeuMoDx System -järjestelmään automaattilataimen hyllyltä kosketusnäytön avulla. NeuMoDx System -järjestelmä tunnistaa viivakoodit (jos käyttäjä on määrittänyt ne ennalta) ja alkaa käsitellä kontrolleja, jos testissä tarvittavat reagenssit ja tarvikkeet ovat käytettävissä.
- Näytteen prosessikontrollin 1 (Sample Process Control, SPC1) alukkeet ja koetin sisältyvät NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuskaan. Näytteen prosessikontrollin avulla NeuMoDx System -järjestelmä voi valvoa DNA:n eristämisen ja PCR:n monistamisprosessien tehokkuutta.
- Jos negatiivisella kontrollinäytteellä on raportissa positiivinen testitulos, näyte voi olla kontaminoitunut. Vianmäärittäsohjeita on NeuMoDx 288/96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa.
- Jos positiivisella kontrollinäytteellä on raportissa negatiivinen tulos, reagenssiin tai NeuMoDx System -järjestelmään saattaa liittyä ongelmia. Vianmäärittäsohjeita on NeuMoDx 288/96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa.

SUORITUSKYKYMINAISUUDET

Kliininen suorituskyky

NeuMoDx Strep Vantage A/C/G Assay -määrittäksen kliinisiä suorituskykyominaisuuksia selvitetiin sisäisessä retrospektiivisessä menetelmien vertailututkimuksessa nielun limakalvonäytteillä, jotka saatiin kahdesta maantieteelliseltä sijainniltaan erilaisesta kliinisestä laboratorion.

Nielun limakalvonäytteet muutettiin nimettömiksi ja niille annettiin yksilöivä tunnusnumero kliinisten laboratorioden mukaan. Samalla laadittiin luottamuksellinen luettelo, jossa potilastunnus yhdistettiin tutkimusta varten nimettömiksi muutettuihin näytteisiin. Tutkimuksessa testattiin yhteensä 230 näytettä, jotka saatiin kahdesta kliinisestä laboratorionäytteestä. Kaikkiaan 230 näytteen joukosta kliiniset laboratoriot tunnistivat 68 näytettä GAS-positiivisiksi ja 47 näytettä GCS/GGS-positiivisiksi. Yhden näytteen testitulokset olivat sekä GAS- että GCS/GGS-positiivisia eli siitä löytyi yhteisinfektio. Näiden näytteiden testituloksia ei kerrottu käyttäjälle, joten kyseessä oli ”yksöissokkotutkimus”. Menetelmien vertailututkimuksessa käytettiin laboratorioden yleisesti käyttämiä FDA- ja CE-hyväksytyillä molekyylibiologisilla laitteilla saatuja tuloksia.

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test -testitulosten kliininen herkkyys oli GAS-kohteella 100 % ja GCS/GGS-kohteella 95,9 %, molemmat 95 %:n luottamusväleillä. Tutkimuksen kliininen spesifisyys oli sekä GAS:illa että GCS/GGS:illä 100 %, tämäkin 95 %:n luottamusväleillä. *Taulukoissa 2A ja 2B* esitetyn 95 %:n luottamusvälin ala- ja yläraja laskettiin Wilsonin menetelmällä ja jatkuvuuskorjauksella.

Taulukko 2A. Kliinisen suorituskyvyn yhteenveto – NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuska, *S. pyogenes* -bakteerin tunnistus

GAS		FDA-/CE-hyväksytty -vertailutestin tulos		
		POS	NEG	Yhteensä
NeuMoDx Strep A/C/G	POS	68	0	68
	NEG	0	162	162
	Yhteensä	68	162	230
Kliininen herkkyys (GAS) = 100 % (93,3–100)				
Kliininen spesifisyys (GAS) = 100 % (97,1–100)				

Taulukko 2B. Kliinisen suorituskyvyn yhteenveto – NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuska, *S. dysgalactiae* -bakteerin tunnistus

GCS/GGS		FDA-/CE-hyväksytty -vertailutestin tulos		
		POS	NEG	Yhteensä
NeuMoDx Strep A/C/G	POS	47	0	47
	NEG	2	181	183
	Yhteensä	49	181	230
Kliininen herkkyys (GCS/GGS) = 95,9 % (84,9–99,3)				
Kliininen spesifisyys (GCS/GGS) = 100 % (97,4–100)				

Analyttinen herkkyys

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrityksen havaitsemisraja (Limit of Quantitation, LoD) määritettiin negatiivisilla kliinisillä nielun limakalvonäytteillä, joihin oli lisätty GAS-, GCS- ja GGS-kohteita: *Streptococcus pyogenes* (ATCC 700294), *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (ATCC 35666) ja *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (ATCC 12384). Kaikki tutkimuksen näytteet valmistettiin yhdistetyillä ja seulotuilla streptokokkinegatiivisilla kliinisillä nielun limakalvonäytteillä ja niihin lisättiin erikseen kohteita pitoisuuksilla 50 CFU/ml GAS, 2 500 CFU/ml GCS tai 10 000 CFU/ml GGS. Jokaista kohdetta testattiin 40 replikaattina ja osumatarkkuusanalyysillä varmistettiin, että ≥ 95 %:n havaitsemisaste saavutettiin, jolloin nämä pitoisuudet voitiin hyväksyä kohteiden havaitsemisrajaksi (Limit of Detection, LoD). *Taulukossa 3* on yhteenveto havaitsemisrajan tutkimustuloksista.

Taulukko 3. NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrityksen havaitsemisrajan osumatarkkuuden määrittäminen

Kohde	Pitoisuus (CFU/ml)	n	Positiivisten määrä	Positiivisten prosenttiosuus	LoD (osumatarkkuus)
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

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrityksen havaitsemisrajaksi on ilmoitettu GAS-näytteille 50 CFU/ml, GCS-näytteille 2 500 CFU/ml ja GGS-näytteille 10 000 CFU/ml.

Varianttien tunnistaminen

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -testin analyttinen herkkyys varmistettiin edelleen 11 eri GAS-kannalla, seitsemällä GCS-kannalla ja yhdeksällä GGS-kannalla. Testissä käytetyt GAS-, GCS- ja GGS-kannat esitetään *taulukossa 4*. Ennen testiä kohdetta lisättiin negatiivisiin kliinisiin limakalvonäytteisiin 2X LoD-määrä (kuten edellä), jotta ≥ 95 %:n havaitsemisaste voitiin varmistaa. Varianttikantoja, jotka eivät täyttäneet tätä vaatimusta, testattiin uudelleen suuremmilla pitoisuuksilla, kunnes ≥ 95 %:n havaitsemisaste saavutettiin. Kunkin kannan tunnistuksen taso on raportoitu *Taulukossa 4* kyseisen variantin LoD:nä.

Taulukko 4. Testatut GAS-, GCS- ja GGS-varianttikannat

	Kanta	n	Pitoisuus (CFU/ml)	Positive (Positiivinen)	Negative (Negatiivinen)	Havaitsemisaste (%)
<i>S. pyogenes</i> (A-ryhmä)	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	1 500	20	0	100
M49	20	2 500	19	1	95	
<i>S. dysgalactiae subsp. equisimilis</i> (C-ryhmä)	C74	5	5 000	5	0	100
	13-166	5	5 000	5	0	100
	1 180	5	5 000	5	0	100
	C46	5	5 000	5	0	100
	UCM 74/02P	5	5 000	5	0	100
	SVA XVI 172	5	5 000	5	0	100
	Lancefield H64	5	5 000	5	0	100
	CCUG 28238	5	5 000	5	0	100
<i>S. dysgalactiae subsp. equisimilis</i> (G-ryhmä)	NIH 1129	5	10 000	5	0	100
	G16	5	10 000	5	0	100
	CCUG 15679	5	10 000	5	0	100
	G47	5	10 000	5	0	100
	CCUG 27483	5	10 000	5	0	100
	CCUG 33802	5	10 000	5	0	100
	CCUG 502	5	10 000	5	0	100
	CCUG 15680	5	20 000	5	0	100
CCUG 24070	5	20 000	5	0	100	

Analyttinen spesifisyys

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrityksellä tutkittiin ristireaktiivisuuden varalta yhteensä 45 viljelmän isolaattia tai DNA:ta organismeista, jotka mahdollisesti esiintyvät samalla alueella GAS:n tai GCS/GGS:n kanssa tai ovat fylogeneettisesti läheisiä niiden kanssa. Organismit valmisteltiin 3–6 yksikön ryhmissä ja testattiin suurella pitoisuudella. Bakteereja lisättiin GAS/GCS/GGS-negatiiviseen Liquid Amies -näytteeseen pitoisuudella 6–9X10⁶ CFU/ml ja viruksia pitoisuudella 1x10⁶ kopiota DNA/ml, ellei muuta ilmoiteta. Ristireaktiivisuutta ei havaittu millään tässä tutkimuksessa testatulla patogeenilla. Testatut organismit esitetään *taulukossa 5*.

Taulukko 5. Analyttisen spesifisyyden osoittamiseen käytetyt patogeenit

Bakteerit	Bakteerit	Bakteerit
<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>	Virukset
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>	Adenovirus tyyppi 1*
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	Haemophilus influenzae tyyppi A
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptococcus canis</i>	Influenssa A
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus canis</i> (STR T1)	Influenssa B
<i>Legionella micdadei</i>	<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i> (group C)	Parainfluenssa tyyppi 4b [†]
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>	Rinovirus 1A
<i>Moraxella cartarrhalis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	

* Adenoviruksen tyyppiä 1 lisättiin pitoisuudella 1x10⁶ TCID₅₀/ml

[†] *Bordetella pertussis* ja parainfluenssan tyyppiä 4b lisättiin pitoisuudella 10 ng/ml

Häiritsevät aineet – kommensaaliset organismit

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrittystä testattiin häiriöiden varalta (takanielun alueen) muiden kuin kohdeorganismien vaikutusalueella arvioimalla NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrittelyn suoritustasoa pienillä GAS- ja GCS/GGS-määrillä NeuMoDx Molecular System -järjestelmässä. Tässä tutkimuksessa käytettiin samaa 45 organismin paneelia [taulukko 5], jota käytettiin ristireaktiivisuuden arvioinnissa. Organismit jaettiin 3–6 yksikön ryhmiin GAS/GCS/GGS-negatiivisessa Liquid Amies -liuoksessa, johon lisättiin 150 CFU/ml GAS-kohdetta, 7 500 CFU/ml GCS-kohdetta ja 30 000 CFU/ml GGS-kohdetta.

Yhdenkään kommensaalisen organismin yhteydessä ei havaittu häiriöitä.

Häiritsevät aineet – kliinisissä nielun limakalvonäytteissä havaitut endogeeniset ja eksogeeniset aineet

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrittelyn suorituskykyä arvioitiin nielun limakalvonäytteen ottamiseen liittyvien mahdollisesti häiritsevien aineiden vaikutusalueella [taulukko 6]. Kaikkien aineiden mahdollisia häiriöitä testattiin, kun näytteissä oli ja ei ollut GAS-, GCS- ja GGS-bakteereita. Liquid Amies -näytteisiin (3X LoD) annosteltiin endogeenisiä ja eksogeenisiä aineita, jotka liuotettiin tai laimennettiin määritetyillä pitoisuuksilla molekyylibiologiaan soveltuvalla vedellä määrän näytetikun avulla. Yksikään testatuista aineista ei haitannut GAS- ja GCS/GGS-bakteerien tunnistusta.

Taulukko 6. Liquid Amies -limakalvonäytteistä testatut endogeeniset ja eksogeeniset häiritsevät aineet

	Häiritsevä aine	Aineen pitoisuus
Eksogeeninen	Altoids™ (Spearmint)	10 % (w/v)
	Aspirin™	10 % (w/v)
	CEPACOL® Extra Strength Sore Throat & Cough -kurkkupastillit	5 % (w/v)
	Children's Dimetapp® Cold & Cough	15 % (v/v)
	Chloraseptic® Max Sore Throat -kurkkupastillit	10 % (w/v)
	Chloraseptic Sore Throat -suihke	10 % (v/v)
	Cold-EEZE®-sinkkikurkkupastillit	15 % (w/v)
	Crest® Pro-Health Advanced -hammastahna	4 % (w/v)
	Halls™ Cherry -yskänlääke	15 % (w/v)
	Halls Menthol-Lyptus -yskänlääke	15 % (w/v)
	ICE BREAKERS® Cool Mint -pastillit	10 % (w/v)
	LISTERINE® Total Care -suuvesi	15 % (v/v)
	LISTERINE Ultra-clean Antiseptic Mouthwash -suuvesi	15 % (v/v)
	*Ricola® Original Swiss Sugar Free Herb -pastillit	15 % (w/v)
	Robitussin® Max Strength Nighttime Cough DM	10 % (v/v)
	Sucrets® Sore Throat & Cough (Vapor Cherry) -kurkkupastillit	5 % (w/v)
	Tic Tac® -minttupastillit	10 % (w/v)
	Wal-Tussin DM Max -yskänlääke	10 % (v/v)
Endogeeninen	Sylki	100 %
	Kokoveri	10 % (v/v)

**Ricola-pastilleja testattaessa yksi kolmesta testatusta GAS-näytteestä ei ensin monistunut pitoisuudella 3X LoD, mutta ne toimivat odotetusti uusintatestissä.*

Erienvälinen uusittavuus

NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrityksen erienvälinen uusittavuus verifioitiin NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuskan ja NeuMoDx Lysis Buffer 6 -lyysauspuskurin kolmen erillisen erän kvalitatiivisten testitietojen retrospektiivisellä analyysillä. Nämä tiedot saatiin testaamalla toiminnallisesti Liquid Amies -kuljetusaineessa olevia reagensseja, joihin oli lisätty edustavia GAS- ja GCS-kantoja kyseisten kohteiden havaitsemisrajalla olevalla pitoisuudella. NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuskan erää kohti käsiteltiin yhteensä 64 positiivista ja 16 negatiivista replikaattia. NeuMoDx Lysis Buffer 6 -lyysauspuskurin arvioinnissa käytettiin 16 positiivista ja 8 negatiivista replikaattia. Erienvälistä variaatiota analysoitiin määrittämällä keskimääräinen Ct-arvo, keskihajonta ja variaatiokertoimen prosentti (%CV), kuten *taulukossa 7* on raportoitu. GAS- ja GCS-kohteiden keskihajonta oli $\leq 1,1$ ja variaatiokerroin $\leq 3,0$ %, joten NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -reagenssierien välinen uusittavuus oli erinomainen.

Taulukko 7. NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay: erien välinen %CV-analyysi kohteittain

	GAS			GCS			Kaikki tulokset		
	\bar{C}_t	C_t SD	%CV	\bar{C}_t	C_t SD	%CV	\bar{C}_t	C_t SD	%CV
(3 erää) Strep A/C/G Test Strip -testiliuska	35,83	1,06	3,0 %	34,93	0,76	2,2 %	34,06	0,60	1,8 %
Lysis Buffer 6 - lyysauspuskuri	35,71	1,01	2,80 %	34,86	0,63	1,80 %	34,15	0,67	2,0 %

Tuoreen versus pakastetun näytteen ekvivalenssi

Nielun tuoreiden ja pakastettujen limakalvonäytteiden välinen näytematriisin ekvivalenssi osoitettiin testaamalla. Negatiivisiin kliinisiin näytteisiin lisättiin GAS-, GCS- ja GGS-kohteita NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrityksen 3X LoD -pitoisuudella. Näytteet käsiteltiin NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrityksellä. Näytteitä säilytettiin -80 °C:n lämpötilassa, kunnes ne pakastettiin, sulatettiin ja käsiteltiin uudelleen. Tuoreiden ja pakastettujen limakalvonäytteiden tulosten vastaavuutta verrattiin regressioanalyysillä. Tietojen perusteella voitiin osoittaa erinomainen vastaavuus tuoreiden ja pakastettujen limakalvonäytteiden välillä.

Kontrollin teho

NeuMoDx Molecular System -järjestelmässä arvioitiin, kuinka tehokkaasti NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuskaan sisältyvän näytteen prosessikontrolli osoittaa NeuMoDx A/C/G Vantage Assay -määrityksen toimintaan vaikuttavan prosessivaiheen epäonnistumisen tai estämisen. Testatut olosuhteet vastasivat prosessin kriittisten vaiheiden epäonnistumisia, joita voi tapahtua näytteenkäsittelyn aikana ja joita NeuMoDx System -järjestelmän toimintaa valvovat anturit *eivät välttämättä havaitse*. Kontrollin tehoa arvioitiin simuloimalla näyteprosessin eri vaiheiden epäonnistumista aivan kuin mahdollisen järjestelmävirheen tapahtuessa ja lisäämällä näytteeseen tunnettua estäjää ja havainnoimalla estäjän tehottoman heikennyksen vaikutusta näytteen prosessikontrollin tunnistamiseen (*taulukko 8*). Tapauksissa, joissa prosessivirheet eivät haitanneet näytteen prosessikontrollin toimintaa (NO WASH [EI PESUA] / NO WASH BLOWOUT [EI PESUN TYHJENNYSTÄ]), testi toistettiin näytteillä, joissa oli pieniä määriä (lähellä havaitsemisrajaa) GAS- ja GCS/GGS-bakteeria, jotta voitiin varmistua siitä, että prosessivirhe ei haitannut myös GAS- ja GCS/GGS-kohteen tunnistusta. *Taulukossa 8* on yhteenveto kontrollin tehoa koskevan verifiointitestin tuloksista.

Taulukko 8. Kontrollin tehon yhteenveto

Olosuhde	Odotettu tulos	Havaittu tulos
Normal Processing (Normaali käsittely)	Negative (Negatiivinen)	Negative (Negatiivinen)
Normal Processing + Inhibitor (Normaali käsittely + estäjä)	Unresolved (Ratkaisematon)	Unresolved (Ratkaisematon)
No Wash Reagent (Ei Wash-reagenssia)	Unresolved (Ratkaisematon) tai Negative (Negatiivinen)	Negative (Negatiivinen)*
No Wash Blowout (Ei pesun tyhjennystä)	Unresolved (Ratkaisematon) tai Negative (Negatiivinen)	Negative (Negatiivinen)
No Release Reagent (Ei Release-reagenssia)	Indeterminate (Epäselvä)	Indeterminate (Epäselvä)
No PCR Master Mix Reagents (Ei PCR Master Mix -pääseoksen reagensseja)	Indeterminate (Epäselvä)	Indeterminate (Epäselvä)

* Heikosti positiivisten GAS-näytteiden havaittiin harvoissa tapauksissa tuottavan väärän negatiivisen tuloksen pesureagenssin käytön aikana tapahtuneen järjestelmävirheen yhteydessä. Tämä ilmeni alle 500 CFU/ml:n GAS-määrillä eli selvästi positiivisen kliinisen limakalvonäytteen keskimääräisen pitoisuuden alapuolella, ja useimmiten ongelman voidaan olettaa ratkeavan, kun testausta toistetaan yksittäisten väärin negatiivisten tulosten jälkeen.

Näytteen vakaus laitteessa, limakalvonäytteet

Streptokokkinegatiivisiin kliinisiin limakalvonäytteisiin lisättiin GAS-, GCS- ja GGS-kohteita pitoisuuksilla 10–15X LoD. Näytteitä säilytettiin 4 °C:n lämpötilassa 48 tuntia, minkä jälkeen näytteet käsiteltiin NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay -määrityksellä yhtä monen negatiivisen näytteen kanssa. Käsittelyn päätyttyä kaikki positiiviset ja negatiiviset näyteputket jätettiin järjestelmän työalustalle 8 tunniksi huonelämpötilassa ja käsiteltiin sitten uudelleen. Odotettu tulos kaikkina 0 ja 8 tunnin testausajankohtina oli POSITIVE (POSITIIVINEN) (kulloisellekin kohteelle) kaikille limakalvonäytteille, joihin oli lisätty GAS-, GCS- tai GGS-kohdetta, ja NEGATIVE (NEGATIIVINEN) (kummallekin kohteelle) limakalvonäytteille, joihin ei ollut lisätty kohdetta. Yhteneväisyys odotetun tuloksen kanssa oli 100 % kumpanakin ajankohtana, eli 8 tunnin stabiilius laitteessa osoitettiin NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip -testiliuskalla. Tulosten yhteenveto esitetään *taulukossa 9*.

Taulukko 9. Yhteenveto: näytteen vakaus laitteessa

Näytteen stabiilius laitteessa	% Positiivinen, T ₀			% Positiivinen, 8 h		
	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 (Negatiivinen)	0	0	100	0	100	100

LÄHDEVIITTEET

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. Gemell, 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, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
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

Kiitokset

The following reagent was obtained through BEI Resources, NIAID, NIH: *Streptococcus pyogenes*, Strain MGAS15186, NR-15373

The following reagent was obtained through BEI Resources, NIAID, NIH as part of the Human Microbiome Project: *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, Strain WGLW3, HM-748.

The following reagent was obtained through BEI Resources, NIAID, NIH as part of the Human Microbiome Project: *Streptococcus anginosus*, Strain F0211, HM-282.

The following reagent was obtained through BEI Resources, NIAID, NIH as part of the Human Microbiome Project: *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus*, Strain TX20005, HM-272.

The following reagent was obtained through BEI Resources, NIAID, NIH as part of the Human Microbiome Project: *Streptococcus intermedius*, Strain F0413, HM-368.

The following reagent was obtained through BEI Resources, NIAID, NIH: *Burkholderia cepacia*, Strain UCB 717, NR-707.










The following reagent was obtained through BEI Resources, NIAID, NIH as part of the Human Microbiome Project: *Streptococcus mitis*, Strain F0392, HM-262.

The following reagent was obtained through BEI Resources, NIAID, NIH as part of the Human Microbiome Project: *Parvimonas micra*, Strain CC57A (Deposited as *Peptostreptococcus micros*, Strain CC57A), HM-1052.

TAVARAMERKIT

NeuMoDx[™] on NeuMoDx Molecular, Inc:n tavaramerkki.
NeuDry[™] on NeuMoDx Molecular, Inc:n tavaramerkki.
TaqMan[®] on Roche Molecular Systems, Inc:n rekisteröity tavaramerkki.
LYFO DISK[™] on Microbiologics, Inc:n tavaramerkki.
ATCC[®] on American Type Culture Collectionin rekisteröity tavaramerkki.
Aspirin[™] on Bayer AG:n tavaramerkki.
Altoids[™] on Callard and Bowser Limitedin tavaramerkki.
CEPACOL[®] on Reckitt Benckiser Limitedin rekisteröity tavaramerkki.
Chloraseptic[®] on Prestige Brands Holdings, Inc:n rekisteröity tavaramerkki.
Dimetapp[®] on Pfizer, Inc:n rekisteröity tavaramerkki.
Cold-EEZE[®] on Prophase Labs, Inc:n rekisteröity tavaramerkki.
Crest[®] Pro-Health on Procter and Gamble Companyn rekisteröity tavaramerkki.
Halls[™] on Mondelēz International Groupin tavaramerkki.
ICE BREAKERS[®] on Hershey Chocolate & Confectionery Companyn rekisteröity tavaramerkki.
LISTERINE[®] on Johnson & Johnsonin rekisteröity tavaramerkki.
Ricola[®] on Ricola Group AG:n rekisteröity tavaramerkki.
Robitussin[®] on Pfizer, Inc:n rekisteröity tavaramerkki.
Screts[®] on Prestige Brands Holdings, Inc:n rekisteröity tavaramerkki.
Tic Tac[®] on Ferrero, Inc:n rekisteröity tavaramerkki.
Wal-Tussin[®] on Walgreens Companyn rekisteröity tavaramerkki.

SYMBOLIT

SYMBOLI	MERKITYS
R only	Vain lääkärin määräyksestä
	Valmistaja
IVD	<i>In vitro</i> -diagnostinen lääkinnällinen laite
EC REP	Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä
REF	Luettelonumero
LOT	Eräkoodi
	Viimeinen käyttöpäivämäärä
	Lämpötilarajoitus
	Ilmankosteuden rajoitus
	Ei saa käyttää uudelleen
	Sisältö riittää <n> testiin
	Lue käyttöohjeet
	Huomio
	Biologiset vaarat
CE	CE-merkki



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

Toimeksiantaja (AUS):
QIAGEN Pty Ltd
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148
Australia



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



Tekninen tuki / haittatapahtumaraportointi: support@qiagen.com

Patentti: www.neumodx.com/patents