

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

OPREZ: samo za izvoz u SAD

IVD Za *in vitro* dijagnostičku uporabu sa sustavima NeuMoDx 288 i NeuMoDx 96 Molecular SystemZa ažurirane upute posjetite stranicu: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Detaljnije upute potražite u korisničkom priručniku za sustav NeuMoDx 288 Molecular System; br. dijela 40600108

Detaljnije upute potražite u korisničkom priručniku za sustav NeuMoDx 96 Molecular System; br. dijela 40600317

NAMJENA

Ispitivanje NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay, koje se izvodi na sustavu NeuMoDx 96 Molecular System i sustavu NeuMoDx 288 Molecular System, brzi je, automatiziran, kvalitativan *in vitro* test na temelju amplifikacije nukleinske kiseline za izravnu detekciju i diferencijaciju bakterija *Streptococcus pyogenes* (β-hemolitički streptokok skupine A (group A *Streptococcus*, GAS)) i *Streptococcus dysgalactiae* (piogeni β-hemolitički streptokok skupine C i G, uključujući podvrstu *dysgalactiae* skupine C i podvrstu *equisimilis* *Streptococcus dysgalactiae* skupine C i G (group C *Streptococcus* /group G *Streptococcus*, GCS/GGS)) u ispitcima brisa grla prikupljenima od pacijenata sa znakovima i simptomima faringitisa. Ispitivanje upotrebljava lančanu reakciju polimerazom (PCR) u stvarnom vremenu za zasebnu detekciju DNK bakterija *Streptococcus pyogenes* i *Streptococcus dysgalactiae* u ispitcima brisa grla. Ispitivanje NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay namijenjeno je za uporabu kao pomoć u postavljanju dijagnoze infekcija bakterijama GAS i GCS/GGS kod simptomatskih pacijenata, ali ne i za odabir tijekom liječenja ili praćenje liječenja infekcija bakterijama GAS ili GCS/GGS. Popratne kulture mogle bi biti potrebne za dobivanje organizama za epidemiološku tipizaciju ili za dodatno testiranje osjetljivosti.

SAŽETAK I OBJAŠNJENJE

Ispitivanje NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay namijenjeno je za istovremenu detekciju i diferencijaciju DNK bakterija GAS i GCS/GGS. Ispitivanje cilja regiju za protein koji sadrži domenu s LPXTG motivom za ugradnju u staničnu stijenku u genomu bakterije GAS i sekvencu za protein otpornosti na nizin prisutnu u genomima bakterija GCS/GGS. Za detekciju DNK bakterije GAS i/ili bakterija GCS/GGS uz primjenu ispitivanja NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay uzorak brisa grla prikuplja se u tekući Amies transportni medij. Kao priprema za testiranje, epruveta s tekućim Amies transportnim medijem stavlja se u namjenske nosače uzoraka i postavlja u sustav NeuMoDx System za početak obrade. Za svaki uzorak sustav NeuMoDx System miješa 50 μl alikvota tekućeg Amies transportnog medija s puferom NeuMoDx Lysis Buffer 6 i automatski izvodi sve korake potrebne za ekstrakciju ciljne nukleinske kiseline, pripremu izolirane DNK za PCR amplifikaciju u stvarnom vremenu i, ako su prisutni, amplifikaciju i detekciju produkata amplifikacije (segmenata *ciljnih* sekvenci genoma bakterije GAS, GCS ili GGS).

Ispitivanje NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay uključuje kontrolu obrade uzorka (Sample Process Control, SPC1) DNK za praćenje prisutnosti potencijalno inhibirajućih tvari te pogrešaka sustava NeuMoDx System ili reagensa koje se mogu dogoditi tijekom postupaka ekstrakcije i amplifikacije.

Infekcija bakterijom *Streptococcus pyogenes*, beta-hemolitičkom bakterijom koja spada u serogrupu A prema Lancefield, a također je poznata kao streptokok skupine A (group A streptococci, GAS), uzrokuje niz bolesti kod ljudi. Kao sveprisutan organizam, *S. pyogenes* je najčešća bakterijska etiologija akutnog faringitisa, odnosno upale ždrijela, koja se obično naziva streptokoknom upalom grla. Streptokokna upala grla češća je kod djece i uzrokuje oko 20–30 % epizoda faringitisa. U usporedbi s time, uzrokuje približno 5–15 % slučajeva infekcija faringitisa kod odraslih osoba.^{1,2} Purulentne komplikacije faringitisa obično se javljaju kod pacijenata koji nisu liječeni antimikrobnim lijekovima, a uključuju upalu srednjeg uha, sinusitis, peritonzilarni ili retrofaringealni apsces i supurativni cervikalni adenitis. Nesupurativne komplikacije uključuju akutnu reumatsku groznicu (Acute Rheumatic Fever, ARF) i akutni glomerulonefritis.³

Bakterije *Streptococcus dysgalactiae* podvrsta *equisimilis* (GGS/GCS) normalna su komenzalna flora gornjih dišnih puteva kod ljudi i često su asimptomatski kolonizatori kože, gastrointestinalnog sustava i ženskog genitalnog sustava. To često uzrokuje podcjenjivanje njihove uloge kao uzročnika streptokokne bolesti, jer se bakterije GCS/GGS povezuju s istim spektrom bolesti koje uzrokuje bakterija *S. pyogenes*. Kod djece, ti su organizmi najčešće uključeni u infekcije dišnih puteva, osobito faringitis. Istinsku incidenciju faringitisa uzrokovanu streptokokom skupine C i G teško je utvrditi zbog učestalosti asimptomatske kolonizacije. Usprkos tome, uvjerljivi dokazi pokazuju da su streptokoki skupine C i G istinski uzročnici faringitisa.²⁻⁴ Za bakterije GCS/GGS ljudskog porijekla sada se smatra da čine jedinstvenu podvrstu, *Streptococcus dysgalactiae* podvrste *equisimilis*. Usporedba cijele genomske sekvence kliničkog izolata bakterije GGS, *S. dysgalactiae* podvrste *equisimilis*, sa sekvencom drugih vrsta streptokoka pokazala je najveću srodnost s vrstom *S. pyogenes*, sa sličnosti sekvenci od 72 posto.⁵ *S. dysgalactiae* podvrsta *equisimilis* dijeli mnoge faktore virulencije s vrstom *S. pyogenes*, uključujući antifagocitni M protein, streptolizin O, streptolizin S, streptokinazu i jedan ili više pirogenih egzotoksina sličnih onima uključenima u streptokokni sindrom toksičnog šoka.⁵

Iako je faringitis uzrokovan streptokokom obično samoograničavajući, važna je brza i točna detekcija jer je poznato da rano liječenje odgovarajućim antibioticima smanjuje ozbiljnost i trajanje simptoma, prijenos organizma i rizik od akutne reumatske groznice.³ S obzirom na to da je većina faringitisa virusnog porijekla, točna dijagnoza može smanjiti nepotrebnu uporabu antibiotika i potencijalni razvoj otpornosti na antibiotike. Ipak, postavljanje dijagnoze samo na temelju kliničkih značajki teško je jer se simptomi infekcije bakterijom GAS preklapaju sa simptomima virusnog faringitisa. „Zlatni standard” za detekciju bakterije GAS u pedijatrijskoj populaciji je kultura brisa grla na krvnom agaru. Međutim, relativno dugo vrijeme između prikupljanja ispitka i konačne mikrobiološke dijagnoze od otprilike 48 sati ograničava korisnost ove metode za rutinsku uporabu u ambulantama. Od 80-ih godina 20. stoljeća godina komercijalni testovi za brzo otkrivanje antigena (Rapid Antigen Detection Tests, RADT) na raspolaganju su kao način detekcije bakterije GAS.^{6,7} Prednost RADT testova je u tome što se oni mogu brzo obaviti u liječničkoj ordinaciji. Međutim, iako imaju dobru specifičnost (> 95 %), RADT testovi često imaju smanjenu osjetljivost (~ 86 %) u usporedbi s kulturom.⁵ Stalna potreba za brzim ispitivanjima velike osjetljivosti koja mogu konkurirati metodama kulture otvorila je put razvoju molekularnih ispitivanja. Testovi amplifikacije nukleinske kiseline (Nucleic Acid Amplification Test, NAAT) razvijeni za detekciju bakterije GAS obično imaju veću osjetljivost (> 90 %) i dobru specifičnost (> 95 %).⁸⁻¹⁰

Ispitivanje NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay omogućuje brzu, točnu detekciju streptokoka skupine A i piogenih streptokoka skupine C i G.

NAČELA POSTUPKA

Ispitivanje NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay kombinira tehnologije ekstrakcije DNK i amplifikacije/detekcije PCR-om u stvarnom vremenu. Uzorci brisa grla prikupljaju se epruvetama za prikupljanje s tekućim Amies transportnim medijem. Sustav NeuMoDx System automatski aspirira alikvot uzorka brisa u tekućem Amies mediju kako bi ga pomiješao s puferom NeuMoDx Lysis Buffer 6 i ekstrakcijskim reagensima sadržanim u pločici NeuMoDx Extraction Plate za početak obrade. Sustav NeuMoDx System automatizira i integrira ekstrakciju i koncentraciju DNK, pripremu reagensa i amplifikaciju nukleinske kiseline te detekciju ciljnih sekvenci primjenom PCR-a u stvarnom vremenu. Uključena kontrola obrade uzorka (Sample Process Control, SPC1) pomaže u praćenju prisutnosti potencijalno inhibirajućih tvari i grešaka sustava, postupka ili reagensa. Jednom kada je ispitak postavljen na sustav NeuMoDx System, intervencija korisnika nije potrebna.

Za provođenje lize stanica i ekstrakcije DNK te za uklanjanje inhibitora sustavi NeuMoDx Systems služe se kombinacijom topline, litičkog enzima i ekstrakcijskih reagensa. Paramagnetske čestice hvataju oslobođene nukleinske kiseline. Mikrosfere s vezanim nukleinskim kiselinama postavljaju se u uložak NeuMoDx Cartridge, gdje se nevezane komponente koje nisu dio DNK ispiru s pomoću reagensa NeuMoDx Wash Reagent, a vezana DNK se eluira s pomoću reagensa NeuMoDx Release Reagent. U sustu NeuMoDx System eluirana DNK zatim se upotrebljava za rehidraciju patentiranih NeuDry™ reagensa za amplifikaciju koji sadrže sve elemente neophodne za amplifikaciju ciljnih sekvenci bakterija GAS i GCS/GGS i segmenta sekvence SPC1. To omogućava istovremenu amplifikaciju i detekciju ciljnih i kontrolnih DNK sekvenci. Nakon rekonstitucije suhih reagensa za PCR, sustav NeuMoDx System pipetira pripremljenu mješavinu za PCR u jednu PCR komoru (po ispitku) uložka NeuMoDx Cartridge. Amplifikacija i detekcija kontrolnih i ciljnih (ako su prisutne) DNK sekvenci odvija se u PCR komori. Uložak NeuMoDx Cartridge, kao i PCR komora, osmišljen je da zadrži amplikon nakon ciklusa PCR-a u stvarnom vremenu i na taj način ukloni rizik od kontaminacije nakon amplifikacije.

Amplificirane ciljne sekvence detektirane su u stvarnom vremenu s pomoću kemijskog protokola na temelju proba za hidrolizu (obično se naziva TaqMan® kemijski protokol) u kojem se upotrebljavaju fluorogene oligonukleotidne molekularne probe specifične za amplikone odgovarajućih ciljnih sekvenci.

TaqMan probe sastoje se od fluorokroma kovalentno vezanog na 5' kraj oligonukleotidne probe i prigušivača na 3' kraju. Dok je proba netaknuta, fluorokrom i prigušivač nalaze se u blizini, zbog čega molekula prigušivača prigušuje fluorescenciju koju fluorokrom emitira putem FRET-a (Försterov prijenos rezonantne energije, Förster Resonance Energy Transfer).

TaqMan probe osmišljene su za sparivanje unutar regije DNK amplificirane određenim kompletom početnica. Kako DNK polimeraza Taq produžuje početnicu i sintetizira novi lanac, 5' do 3' egzozonukleazna aktivnost DNK polimeraze Taq degradira probu sparnu s predložkom. Degradacijom probe iz nje se oslobađa fluorokrom i prekida se njegova blizina prigušivaču, čime se zbog FRET-a prevladava učinak prigušivanja i omogućava povećanje fluorescencije.

TaqMan proba označena fluorokromom (pobuda: 470 nm i emisija: 510 nm) na 5' kraju i tamnim prigušivačem na 3' kraju upotrebljava se za detekciju DNK bakterije GAS, a TaqMan proba označena fluorokromom (pobuda: 585 nm i emisija: 610 nm) na 5' kraju i tamnim prigušivačem na 3' kraju upotrebljava se za detekciju DNK bakterije GCS/GGS. Za detekciju kontrole obrade uzorka TaqMan proba označena je drugom fluorescentnom bojom (pobuda: 530 nm i emisija: 555 nm) na 5' kraju i tamnim prigušivačem na 3' kraju. Sustav NeuMoDx System prati fluorescentni signal koji emitiraju TaqMan probe na kraju svakog ciklusa amplifikacije. Kada amplifikacija završi, sustav NeuMoDx System analizira podatke i izvještava konačni kvalitativni rezultat (POSITIVE (POZITIVNO) / NEGATIVE (NEGATIVNO) / INDETERMINATE (NEODREĐENO) / UNRESOLVED (NERAZRIJEŠENO)).

REGENSI / POTROŠNI MATERIJAL

Isporučeni materijal

| REF. | Sadržaj | Testova po jedinici | Testova po pakiranju |
|--------|---|---------------------|----------------------|
| 209102 | Testna traka NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip <i>Suhi reagensi za PCR u stvarnom vremenu koji sadrže TaqMan probe i početnice specifične za bakterije GAS i GCS/GGS te TaqMan probu i početnice specifične za kontrolu obrade uzorka.</i> | 16 | 96 |

Reagensi i potrošni materijal koji su potrebni, ali nisu isporučeni (mogu se naručiti zasebno od tvrtke NeuMoDx)

| REF. | Sadržaj |
|--------|--|
| 100200 | Pločica NeuMoDx Extraction Plate <i>Suhe paramagnetske čestice, litički enzim i kontrole obrade uzorka</i> |
| 401700 | Pufer NeuMoDx Lysis Buffer 6* |
| 400100 | Reagens NeuMoDx Wash Reagent |
| 400200 | Reagens NeuMoDx Release Reagent |
| 100100 | Uložak NeuMoDx Cartridge |
| 235903 | Vršci s filtrima (300 µl) Hamilton CO-RE / CO-RE II |
| 235905 | Vršci s filtrima (1000 µl) Hamilton CO-RE / CO-RE II |

*Napomena: u inačicama softvera sustava NeuMoDx System ranijima od inačice 1.8.0.0 pufer NeuMoDx Lysis Buffer 6 prepoznat će se kao „Lysis Buffer 4“. Pogledajte upute za upotrebu pufera NeuMoDx Lysis Buffer 6 (br. dijela 40600406) za detaljna upozorenja i mjere opreza.

Potrebni instrumenti

Sustav **NeuMoDx 288 Molecular System** [REF. 500100] ili sustav **NeuMoDx 96 Molecular System** [REF. 500200]

UPOZORENJA I MJERE OPREZA

- Ovaj je test namijenjen samo za *in vitro* dijagnostičku uporabu sa sustavima NeuMoDx Systems.
- Ne upotrebljavajte potrošni materijal ili reagense nakon navedenog datuma isteka roka trajanja.
- Ne upotrebljavajte reagense ako je zaštitna folija potrgana ili ako je pakiranje oštećeno po dolasku.
- Ne upotrebljavajte potrošni materijal ili reagense ako je zaštitna vrećica otvorena ili oštećena pri dolasku.
- Ispitivanje NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay nije odobreno za uporabu s konzervansima.
- Ne prikupljajte ispitke brisa u transportni medij koji nije tekući Amies medij ili njegov ekvivalent. Ispitivanje NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay nije odobreno za uporabu s drugim transportnim medijima.
- Minimalni volumen ispitka ovisi o veličini epruvete / nosaču epruveta za ispitke kako je navedeno u korisničkim priručnicima za sustave NeuMoDx 288 i 96 Molecular System (br. dijela 40600108 i 40600317).
- Testiranje ispitaka brisa grla starijih više od 2 dana (koji se čuvaju na 2 – 8 °C) može dati nevažne ili pogrešne rezultate ako se upotrebljava testna traka NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip.
- Izbjegavajte kontaminaciju reagensa mikroorganizmima i deoksiribonukleazama (DNaza). Ako se ispitak prenosi u sekundarnu epruvetu, preporučuje se uporaba sterilnih jednokratnih pipeta za prijenos bez DNaze. Za svaki ispitak upotrebljavajte novu pipetu.
- Kako biste izbjegli kontaminaciju, ne rukujte uloškom NeuMoDx Cartridge i ne rastavljajte ga nakon amplifikacije. Ni u kojem slučaju ne vadite uloške NeuMoDx Cartridges iz spremnika za otpad. Uložak NeuMoDx Cartridge osmišljen je za sprječavanje kontaminacije.
- U slučajevima kada se u laboratoriju provode PCR testovi na otvorenim epruvetama, potreban je oprez kako ne bi došlo do kontaminacije testne trake NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip, dodatnog potrošnog materijala i reagensa potrebnih za testiranje, osobne zaštitne opreme poput rukavica i laboratorijskih kuta te sustava NeuMoDx System.
- Pri rukovanju reagensima i potrošnim materijalom NeuMoDx potrebno je nositi čiste nitrilne rukavice bez pudera. Pazite da ne dodirujete gornju površinu uloška NeuMoDx Cartridge, površinu folije testne trake NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip ili pločice NeuMoDx Extraction Plate ili gornju površinu pufera NeuMoDx Lysis Buffer 6; pri rukovanju potrošnim materijalom i reagensima smiju se dodirivati samo bočne površine.
- Nakon izvođenja testa temeljito operite ruke.
- Ne pipetirajte ustima. Ne pušite, ne konzumirajte hranu i piće u područjima u kojima se rukuje ispitcima ili reagensima.
- Ispitcima uvijek rukujte kao da su infektivni te u skladu sa sigurnim laboratorijskim postupcima poput onih opisanih u *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹¹ i dokumentu M29-A3 instituta CLSI.¹²
- Odložite nekorištene reagense i otpad u skladu s državnim, saveznim, pokrajinskim i lokalnim propisima.

POHRANA, RUKOVANJE I STABILNOST PROIZVODA

- Uz svaki se reagens ako je potrebno isporučuje sigurnosno-tehnički list (Safety Data Sheets, SDS).
- Testne trake NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strips stabilne su u primarnom pakiranju do datuma isteka roka trajanja navedenog na oznaci proizvoda kada se čuvaju na temperaturi u rasponu 15 – 23 °C.
- Ne upotrebljavajte potrošni materijal i reagense nakon datuma isteka roka trajanja.
- Ne upotrebljavajte bilo koji proizvod za testiranje ako je primarno ili sekundarno pakiranje vidljivo oštećeno.
- Nakon postavljanja, testna traka NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip može ostati na sustavu NeuMoDx System 14 dana. Softver prati preostali uporabni vijek postavljenih testnih traka i obavještava korisnika u stvarnom vremenu. Sustav će zatražiti uklanjanje testne trake koja se upotrebljava dulje od dopuštenog razdoblja.

PRIKUPLJANJE / PRIJEVOZ / POHRANA ISPITAKA

- Testna traka NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip testirana je s pomoću ispitaka brisa grla koje je prikupio liječnik. Radni učinak s ispitcima koji nisu navedeni nije procijenjen.
- Prikupljeni ispitci brisa moraju se tijekom prijevoza čuvati na temperaturi preporučenoj na kompletu za uzimanje brisova.
- Ispitci brisa do testiranja moraju biti pohranjeni na temperaturi u rasponu 2 – 8 °C najviše 2 dana i na sobnoj temperaturi najviše 8 sati.

UPUTE ZA UPOTREBU

Prikupljanje/prijevoz ispitaka

1. Brisovi grla koje prikuplja liječnik trebaju se prikupiti u tekući Amies transportni medij.
2. Ako se ispitci ne testiraju unutar 8 sata, moraju do testiranja biti pohranjeni na temperaturi od 2 do 8 °C najviše 2 dana.

Priprema za test

1. Nalijepite naljepnicu s crtičnim kodom za ispitak na epruvetu za ispitak kompatibilnu sa sustavom NeuMoDx System. Primarna epruveta za prikupljanje može se označiti i postaviti izravno na nosač za ispitke. Također, alikvot tekućeg Amies medija može se prenijeti u sekundarnu epruvetu za obradu na sustavu NeuMoDx System.
2. Ispitak brisa kratko promiješajte vorteks miješalicom u primarnom spremniku da biste postigli jednaku raspodjelu.
3. Ako ispitak brisa testirate u primarnoj epruveti za prikupljanje brisa, postavite epruvetu označenu crtičnim kodom u nosač epruveta za ispitke i pobrinite se da uklonite čep i štapić za bris prije postavljanja na sustav NeuMoDx System. **NE OSTAVLJAJTE štapić za bris u epruveti.**
4. Ako upotrebljavate sekundarnu epruvetu, prenesite alikvot od $\geq 0,5$ ml ispitka u tekućem Amies mediju u epruvetu za ispitak s crtičnim kodom kompatibilnu s nosačem NeuMoDx 32-Tube Specimen Tube Carrier.

Rad sustava NeuMoDx System

Detaljnije upute potražite u korisničkim priručnicima za sustave NeuMoDx 288 i 96 Molecular System (br. dijelova 40600108 i 40600317).

1. Popunite jedan ili više nosača NeuMoDx test strip carrier(s) testnim trakama NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip(s) i s pomoću zaslona osjetljivog na dodir postavite nosač/e testnih traka u sustav NeuMoDx System.
2. Ako vas softver sustava NeuMoDx system to zatraži, u nosače potrošnog materijala sustava NeuMoDx System dodajte potreban potrošni materijal i s pomoću zaslona osjetljivog na dodir postavite nosač/e u sustav NeuMoDx System.
3. Ako vas softver sustava NeuMoDx system to zatraži, zamijenite reagense NeuMoDx Wash Reagent i NeuMoDx Release Reagent te prema potrebi ispraznite otpad od ispiranja, spremnik za biološki opasan otpad (samo NeuMoDx 288), koš za otpad za vrške (samo NeuMoDx 96) ili koš za biološki opasan otpad (samo NeuMoDx 96).
4. Postavite epruvetu/epruvete s ispitcima u odgovarajući nosač epruveta za ispitke i pobrinite se da uklonite čepove sa svih epruveta za ispitke.
5. Postavite nosač epruveta za ispitke na policu za automatsko postavljanje i s pomoću zaslona osjetljivog na dodir postavite nosač u sustav NeuMoDx System. Time će se pokrenuti obrada postavljenog ispitka ili ispitaka za identificirane testove.

OGRANIČENJA

- Testna traka NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip može se upotrebljavati samo na sustavima NeuMoDx Systems.
- Radni učinak testne trake NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip utvrđen je s pomoću ispitaka brisa grla koje je prikupio liječnik.
- Uporaba testne trake NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip s drugim izvorima nije procijenjena i radne značajke ovog testa za druge vrste ispitaka nisu poznate.
- Budući da detekcija bakterija GAS i GCS/GGS ovisi o broju organizama prisutnih u uzorku, pouzdani rezultati ovise o propisnom prikupljanju, rukovanju i pohrani ispitaka.
- Pogrešni rezultati testiranja mogu se javiti zbog nepropisnog prikupljanja, rukovanja i skladištenja ispitaka, tehničke pogreške ili zamjene uzoraka. Dodatno, lažno negativni rezultati mogu se javiti jer je broj organizama u ispitku ispod analitičke osjetljivosti testa.
- Testiranje je ograničeno na osoblje obučeno za uporabu sustava NeuMoDx System.
- Ako ne dođe do amplifikacije kontrole obrade uzorka, a rezultat testa NeuMoDx Strep A/C/G Vantage test prijavljen je kao Negative (Negativno), prijavljuje se nevažeci rezultat (Indeterminate (Neodređeno) ili Unresolved (Nerazriješeno)) te je potrebno ponoviti test.
- Pozitivan rezultat testa ne naznačava nužno prisutnost vijabilnih organizama. Međutim, upućuje na vjerojatnu prisutnost DNK bakterije GAS i/ili GCS/GGS.
- Iako nema poznatih sojeva/izolata bakterije GAS u kojoj nedostaje regija za protein koji sadrži domenu s LPXTG motivom za ugradnju u staničnu stijenku ili bakterija GCS/GGS u kojima nedostaje regija za protein otpornosti na nizin, pojava takvog soja mogla bi dovesti do pogrešnih rezultata kada se upotrebljava testna traka NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip.
- Mutacije na regijama za vezanje početnica/proba mogu utjecati na detekciju kada se upotrebljava testna traka NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip.

- Rezultati ispitivanja NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay trebaju se upotrebljavati kao dodatak kliničkim opažanjima i ostalim informacijama koje su liječniku dostupne. Test nije namijenjen za razlikovanje nositelja DNK bakterije CAS i/ili GCS/GGS od onih sa streptokoknom bolesti.
- Na rezultate testa može utjecati istovremena terapija antibioticima jer je DNK bakterija GAS i GCS/GGS i dalje moguće detektirati nakon antimikrobne terapije.
- Preporučuje se dobra laboratorijska praksa, uključujući mijenjanje rukavica između rukovanja ispitcima pacijenata, kako bi se izbjegla kontaminacija ispitaka.

REZULTATI

Sustavi NeuMoDx Molecular Systems

Dostupni rezultati mogu se pregledavati ili ispisivati s kartice „Results“ (Rezultati) u prozoru Results (Rezultati) na zaslonu osjetljivom na dodir sustava NeuMoDx System. Rezultat testa prijavljuje se kao Positive (POS) (Pozitivno), Negative (NEG) (Negativno), Indeterminate (IND) (Neodređeno) ili Unresolved (UNR) (Nerazriješeno) na temelju statusa amplifikacije ciljne sekvence i kontrole obrade uzorka (Sample Process Control, SPC1).

Kriteriji za pozitivan ili negativan rezultat navedeni su u datoteci definicije ispitivanja (Assay Definition File, ADF) za ispitivanje NeuMoDx System Strep A/C/G Vantage Assay koju je na sustav(e) instalirala tvrtka NeuMoDx Molecular, Inc. Rezultati se prijavljuju na temelju algoritma odlučivanja u ADF-u, koji je sažet u *tablici 1* u nastavku.

Tablica 1. Sažetak algoritma odlučivanja za ispitivanje Strep A/C/G Vantage Assay

| REZULTAT | CILJNE SEKVENCE BAKTERIJA GAS I/ILI GCS/GGS | KONTROLA OBRADE (Sample Process Control, SPC1) |
|---------------------|---|--|
| POS (POZITIVNO) | Amplified (Amplificirano) | N/P |
| NEG (NEGATIVNO) | Not Amplified (Nije amplificirano) | Amplified (Amplificirano) |
| IND (NEODREĐENO) | Not Amplified, System Error Detected (Nije amplificirano, Uočena pogreška sustava) | |
| UNR (NERAZRIJEŠENO) | Not Amplified (Nije amplificirano), No System Error Detected (Nema uočenih pogrešaka sustava) | |

Nevažeci rezultati

Ako ispitivanje NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay koje se izvodi na sustavu NeuMoDx System ne uspije dati valjani rezultat, prijavljuje se kao Indeterminate (Neodređeno) ili Unresolved (Nerazriješeno), ovisno o vrsti pogreške koja se pojavila, te se test mora ponoviti kako bi se dobio valjani rezultat.

Rezultat Indeterminate (Neodređeno) prijavljuje se ako se tijekom obrade uzorka detektira pogreška sustava NeuMoDx System.

Rezultat Unresolved (Nerazriješeno) prijavljuje se ako nema detektiranih ciljnih sekvenci i ako nema amplifikacije kontrole obrade uzorka, što ukazuje na moguću grešku reagensa ili na prisutnost inhibitora.

Kontrola kvalitete

Lokalni propisi obično navode da je laboratorij odgovoran za postupke kontrole kojima se prati točnost i preciznost cijelog analitičkog postupka te da mora utvrditi broj, vrstu i učestalost primjene materijala za kontrolu testa s pomoću provjerenih specifikacija radnog učinka za nemodificirani, odobreni sustav testa.

1. Tvrtka NeuMoDx Molecular, Inc. ne isporučuje vanjski (korisnički definirani) kontrolni materijal. Odgovarajuće kontrole mora odabrati i odobriti laboratorij. Kontrole moraju ispunjavati jednake specifikacije za minimalni volumen kao navedeni klinički uzorci. Korisnik može definirati specifične crtične kodove za svaku pozitivnu i negativnu kontrolu ili nasumično dodijeliti crtične kodove.
2. Preporučuje se sljedeće: 1 *Streptococcus pyogenes* LYFO DISK™ (Microbiologics® 0508L) i 1 *Streptococcus dysgalactiae* podvrsta *equisimilis* LYFO DISK (Microbiologics® 0602L) rekonstituirani prema uputama proizvođača, razrijeđeni u 50 ml tekućeg Amies medija, pohranjeni i korišteni u alikvotima od 0,5 ml. Ako obrađujete kontrole, postavite označene kontrole u nosač epruveta za ispitke i s pomoću zaslona osjetljivog na dodir postavite nosač u sustav NeuMoDx System s police za automatsko postavljanje. Sustav NeuMoDx System prepoznaje crtične kodove (ako je korisnik to unaprijed definirao) i započinje obradu kontrola, osim ako prikladni reagensi ili potrošni materijal nužni za testiranje nisu dostupni.
3. Početnice i proba specifične za kontrolu obrade uzoraka 1 (Sample Process Control 1, SPC1) uključene su u svaku testnu traku NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip. Kontrola obrade uzoraka sustavu NeuMoDx System omogućava praćenje učinkovitosti postupaka ekstrakcije DNK i PCR amplifikacije.

- Rezultat testiranja Positive (Pozitivno) prijavljen za negativan kontrolni uzorak ukazuje na problem kontaminacije ispitka. Savjete za rješavanje problema potražite u *korisničkom priručniku za sustav NeuMoDx 288 ili 96 Molecular System*.
- Negativan rezultat prijavljen za pozitivan kontrolni uzorak može ukazivati na problem povezan s reagensima ili sustavom NeuMoDx System. Savjete za rješavanje problema potražite u *korisničkom priručniku za sustav NeuMoDx 288 ili 96 Molecular System*.

RADNE ZNAČAJKE

Klinički radni učinak

Kliničke radne značajke ispitivanja NeuMoDx Strep Vantage A/C/G Assay utvrđene su s pomoću internog retrospektivnog ispitivanja usporedbe metoda korištenjem preostalih ispitaka brisa grla iz dva klinička laboratorija na geografski različitim lokacijama.

Preostalim ispiticima brisa grla prikupljenima od simptomatskih pacijenata uklonjeni su identifikacijski podaci i klinički laboratoriji su im dodijelili jedinstveni ID broj, čime je utvrđen povjerljivi popis koji povezuje ID pacijenata s ispiticima bez identifikacijskih podataka testiranim u svrhu ispitivanja. Testirano je ukupno 230 preostalih ispitaka iz dva klinička laboratorija. Među 230 uzoraka, klinički su laboratoriji za 68 uzoraka utvrdili da su pozitivni na bakteriju GAS, a za 47 uzoraka da su pozitivni na bakteriju GCS/GGS. Za jedan ispitak dobiven je pozitivan rezultat i za bakteriju GAS i za bakteriju GCS/GGS, što ukazuje na dvojnju infekciju ili koinfekciju. Stanje testiranja ovih uzoraka skriveno je od korisnika kako bi se moglo provesti „jednostruko slijepo ispitivanje“. Za analizu usporedbe metoda upotrebljavali su se rezultati dobiveni određenim molekularnim proizvodima zakonito stavljenima na tržišta koje je odobrila agencija FDA i koji nose oznaku CE te koje laboratoriji upotrebljavaju za ispitivanje standarda skrbi.

Rezultati testa NeuMoDx Strep A/C/G Vantage test dali su kliničku osjetljivost od 100 % za ciljnu sekvencu bakterije GAS i 95,9 % za ciljnu sekvencu bakterije GCS/GGS uz 95 %-tni interval pouzdanosti (Confidence Interval, CI). Utvrđeno je da klinička specifičnost ispitivanja uz 95 %-tni CI iznosi 100 % za GAS i GCS/GGS. Donja i gornja granica 95 %-tnog intervala pouzdanosti (Confidence Interval, CI) prikazane u *tablicama 2A i 2B* u nastavku izračunate su korištenjem Wilsonova postupka s korekcijom za kontinuitet.

Tablica 2A. Sažetak kliničkog radnog učinka – detekcija bakterije *S. pyogenes* s pomoću testne trake NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip

| GAS | | Rezultat dobiven referentnim testom koji je odobrila FDA / koji nosi oznaku CE | | |
|--|--------|--|------|--------|
| | | POZ. | NEG. | Ukupno |
| NeuMoDx Strep A/C/G | POZ. | 68 | 0 | 68 |
| | NEG. | 0 | 162 | 162 |
| | Ukupno | 68 | 162 | 230 |
| Klinička osjetljivost (GAS) = 100 % (93,3 – 100) | | | | |
| Klinička specifičnost (GAS) = 100 % (97,1 – 100) | | | | |

Tablica 2B. Sažetak kliničkog radnog učinka – detekcija bakterije *S. dysgalactiae* s pomoću testne trake NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip

| GCS/GGS | | Rezultat dobiven referentnim testom koji je odobrila FDA / koji nosi oznaku CE | | |
|--|--------|--|------|--------|
| | | POZ. | NEG. | Ukupno |
| NeuMoDx Strep A/C/G | POZ. | 47 | 0 | 47 |
| | NEG. | 2 | 181 | 183 |
| | Ukupno | 49 | 181 | 230 |
| Klinička osjetljivost (GCS/GGS) = 95,9 % (84,9 – 99,3) | | | | |
| Klinička specifičnost (GCS/GGS) = 100 % (97,4 – 100) | | | | |

Analitička osjetljivost

Granica detekcije (Limit of Detection, LoD) ispitivanja NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay određena je iz negativnih kliničkih brisova grla u koje su dodane ciljne bakterije GAS, GCS i GGS: redom *Streptococcus pyogenes* (ATCC 700294), *Streptococcus dysgalactiae* podvrsta *equisimilis* (ATCC 35666) i *Streptococcus dysgalactiae* podvrsta *equisimilis* (ATCC 12384). Svi uzorci za ispitivanje pripremljeni su iz probranog poola kliničkih ispitaka brisa grla negativnih na Streptococcus i ciljne bakterije u njih su dodane zasebno u koncentracijama od 50 CFU/ml bakterije GAS, 2500 CFU/ml bakterije GCS odnosno 10.000 CFU/ml bakterije GGS. Svaka ciljna bakterija testirana je u 40 ponavljanja i analiza stope uspješnosti upotrebljavala se radi potvrde da je postignuta stopa detekcije $\geq 95\%$ pa su navedene koncentracije prihvaćene kao LoD navedenih ciljnih bakterija. Sažetak nalaza ispitivanja granice detekcije nalazi se u *tablici 3* u nastavku.

Tablica 3. Određivanje stope uspješnosti granice detekcije ispitivanja NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay

| Koncentracija | ciljne bakterije (CFU/ml) | n | Br. pozitivnih | % pozitivnih | LoD (stopa uspješnosti) |
|---------------|---------------------------|----|----------------|--------------|-------------------------|
| 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 |

Utvrđeno je da granica detekcije ispitivanja NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay iznosi 50 CFU/ml za GAS, 2500 CFU/ml za GCS i 10.000 CFU/ml za GGS.

Detekcija varijanti

Analiitička osjetljivost ispitivanja NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay dodatno je potvrđena primjenom 11 različitih sojeva bakterije GAS, 7 sojeva bakterije GCS i 9 sojeva bakterije GGS. Testiranje je provedeno s pomoću sojeva GAS, GCS i GGS navedenih u *tablici 4* u nastavku. Navedene razine ciljnih bakterija dodane su u negativne kliničke ispitke brisa prije testiranja pri 2 x relevantnog LoD-a navedenog gore radi potvrde detekcije $\geq 95\%$. Varijante sojeva koji nisu ispunili taj uvjet ponovno su testirani pri višim koncentracijama dok nije postignuta detekcija $\geq 95\%$. Razina pri kojoj je to postignuto za svaki soj navedena je u *tablici 4* kao granica detekcije (Limit of Detection, LoD) za tu varijantu.

Tablica 4. Testirane varijante sojeva bakterija GAS, GCS i GGS

| | Soj | n | Koncentracija, CFU/ml | Positive (Pozitivno) | Negative (Negativno) | Stopa detekcije (%) |
|---|----------------|------|-----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|
| S. pyogenes (skupina 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 podvrsta equisimilis (skupina 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 podvrsta equisimilis (skupina 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 |

Analitička specifičnost

Ukupno 45 izolata kulture ili DNK organizama koji potencijalno žive uz ili su filogenetski slični bakteriji GAS ili GCS/GGS procijenjeni su kako bi se utvrdila mogućnost križne reaktivnosti prilikom testiranja s pomoću testne trake NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay. Organizmi su pripremljeni u poolovima koji su sadržavali po 3 do 6 organizama i testirani su pri visokim koncentracijama. Bakterijski organizmi dodani su u tekući Amies medij negativan na GAS/GCS/GGS pri koncentraciji od $6 - 9 \times 10^6$ CFU/ml, a virusni agensi pri koncentraciji od 1×10^8 kopija DNK/ml, osim ako nije drugačije naznačeno. Nije uočena križna reaktivnost s bilo kojim od patogena testiranih u ovom ispitivanju. Popis testiranih organizama prikazan je u *tablici 5*.

Tablica 5. Popis patogena korištenih za dokazivanje analitičke specifičnosti

| Bakterije | Bakterije | Bakterije | |
|-------------------------------------|---|---------------------------------|-------------------------------|
| <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> | Virusi | |
| <i>Escherichia coli</i> | <i>Streptococcus agalactiae</i> | | |
| <i>Fusobacterium necrophorum</i> | <i>Streptococcus anginosus</i> | | |
| <i>Klebsiella pneumonia</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> | | |
| | | | Adenovirus tipa I* |
| | | | Haemophilus influenzae tipa A |
| | | | Influenza A |
| | | | Influenza B |
| | | | Parainfluenza tipa 4b† |
| | | Rinivirus tipa 1A | |

* Adenovirus tipa I dodan je u koncentraciji od 1x10⁶ TCID₅₀/ml

† *Bordetella pertussis* i parainfluenza tipa 4b dodani su u koncentraciji od 10 ng/ml

Interferirajuće tvari – komenzalni organizmi

Interferencija ispitivanja NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay testirana je u prisutnosti organizama koji nisu ciljani ispitivanjem (koji se također nalaze u stražnjem dijelu ždrijela) procjenom radnog učinka ispitivanja NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay na sustavu NeuMoDx Molecular System pri niskim razinama bakterija GAS i GCS/GGS. U ovom se ispitivanju upotrebljavao isti panel od 45 organizama [tablica 5] koji se upotrebljavao za procjenu križne reaktivnosti. Organizmi su prikupljeni u poolove od 3 do 6 organizama u tekući Amies medij negativan na GAS/GCS/GGS i u njih su dodane ciljne bakterije u koncentraciji od 150 CFU/ml bakterije GAS, 7500 CFU/ml bakterije GCS i 30.000 CFU/ml bakterije GGS. Nisu uočene interferencije s komenzalnim organizmima.

Interferirajuće tvari – endogene i egzogene tvari iz kliničkih ispitaka brisa grla

Radni učinak ispitivanja NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay procijenjen je u prisutnosti potencijalno interferirajućih tvari koje mogu biti povezane s uzimanjem brisa grla pacijenta [tablica 6]. Svi agensi testirani su na potencijalnu interferenciju u odsustvu i prisustvu bakterija GAS, GCS i GGS. U uzorke tekućeg Amies medija u koje su dodane ciljne bakterije pri koncentraciji od 3 X LoD-a s pomoću natopljenog štapića za bris dodane su endogene i egzogene tvari otopljene ili razrijeđene u vodi stupnja čistoće za molekularne testove u navedenim koncentracijama. Nijedna od ispitivanih tvari nije imala negativan učinak na detekciju bakterija GAS ili GCS/GGS.

Tablica 6. Egzogeni i endogeni interferirajući agensi testirani u ispitcima brisa u tekućem Amies mediju

| | Interferirajuća tvar | Izvorna koncentracija |
|----------|--|-----------------------|
| Egzogeni | Altoids™ (Spearmint) | 10 % (w/v) |
| | Aspirin™ | 10 % (w/v) |
| | Pastile CEPACOL® Extra Strength Sore Throat & Cough | 5 % (w/v) |
| | Children's Dimetapp® Cold & Cough | 15 % (v/v) |
| | Pastile Chloraseptic® Max Sore Throat Lozenges | 10 % (w/v) |
| | Sprej Chloraseptic Sore Throat | 10 % (v/v) |
| | Cold-EEZE® pastile s cinkom | 15 % (w/v) |
| | Zubna pasta Crest® Pro-Health Advanced Gum Protection | 4 % (w/v) |
| | Pastile Halls™ Cough Drops (Cherry) | 15 % (w/v) |
| | Pastile Halls Cough Drops (Menthol-Lyptus) | 15 % (w/v) |
| | Mentoli ICE BREAKERS® Mints (Cool Mint) | 10 % (w/v) |
| | Vodica za usta LISTERINE® Total Care | 15 % (v/v) |
| | Vodica za usta LISTERINE Ultra-clean Antiseptic | 15 % (v/v) |
| | *Bomboni Ricola® Original Swiss Sugar Free Herb Cough Suppressant Throat Drops | 15 % (w/v) |
| | Sirup Robitussin® Max Strength Nighttime Cough DM | 10 % (v/v) |
| | Pastile Sucrets® Sore Throat & Cough (Vapor Cherry) | 5 % (w/v) |
| | Tic Tac® Freshmints | 10 % (w/v) |
| | Sirup za kašalj Wal-Tussin DM Max | 10 % (v/v) |
| Endogeni | Slina | 100 % |
| | Puna krv | 10 % (v/v) |

*Na početku nije došlo do amplifikacije u 1 od 3 uzorka s bakterijom GAS testirana pri 3 X granice detekcije (Limit of Detection, LoD) u prisutnosti Ricola bombona za grlo, no nakon ponovnog testiranja radni učinak bio je u skladu s očekivanjem.

Obnovljivost među serijama

Obnovljivost ispitivanja NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay među serijama provjerena je retrospektivnom analizom podataka ispitivanja kvalitete za tri zasebne serije testne trake NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip i pufera NeuMoDx Lysis Buffer 6. Ti podaci dobiveni su funkcionalnim testiranjem reagensa u tekućem Amies transportnom mediju u koji su dodani reprezentativni sojevi bakterija GAS i GCS pri LoD-u tih ciljnih bakterija. Ukupno 64 pozitivna i 16 negativnih ponavljanja obrađena su po seriji testne trake NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip; u procjenu pufera NeuMoDx Lysis Buffer 6 bilo je uključeno 16 pozitivnih i 8 negativnih ponavljanja. Varijacija među proizvodnim serijama analizirana je određivanjem prosječne C_t vrijednosti, standardne devijacije i koeficijenta varijacije izraženog u postocima (Coefficient of Variation percentage, % CV), a te su vrijednosti prikazane u *tablici 7*. Vrijednosti standardne devijacije $\leq 1,1$ i vrijednosti koeficijenta varijacije $\leq 3,0$ % za ciljne bakterije GAS i GCS pokazali su izvrsnu obnovljivost među serijama ključnih reagensa ispitivanja NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay.

Tablica 7. Analiza % CV prema ciljnim bakterijama među serijama ključnih komponenti ispitivanja NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay

| | GAS | | | GCS | | | Svi rezultati | | |
|-------------------------------|-------------|----------|--------|-------------|----------|--------|---------------|----------|-------|
| | \bar{C}_t | C_t SD | % CV | \bar{C}_t | C_t SD | % CV | \bar{C}_t | C_t SD | % CV |
| (među 3 serije) | | | | | | | | | |
| 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 % |

Ekvivalencija svježih u odnosu na zamrznute ispitke

Testiranje je provedeno u svrhu dokazivanja ekvivalencija matrice ispitka svježih i zamrznutih ispitaka brisa grla. U negativne kliničke ispitke dodane su ciljne bakterije GAS, GCS i GGS pri koncentracijama od 3 X LoD-a ispitivanja NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay i obrađeni su ispitivanjem NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay. Svaki se uzorak zatim čuvao na -80 °C dok se nije zamrznuo, odmrznuo i ponovno obradio. Rezultati svježih i zamrznutih ispitaka brisa uspoređeni su metodom regresijske analize kako bi se utvrdila ekvivalentnost. Podaci su pokazali odličnu ekvivalenciju između svježih i zamrznutih ispitaka brisa.

Učinkovitost kontrole

Učinkovitost kontrole obrade uzorka uključene u testnu traku NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip za prijavljivanje bilo kakvih neuspjelih koraka obrade ili inhibicija koje utječu na radni učinak ispitivanja NeuMoDx A/C/G Vantage Assay procijenjena je na sustavu NeuMoDx Molecular System. Testirani uvjeti predstavljaju ključne neuspjele korake obrade koji bi se potencijalno mogli dogoditi tijekom obrade uzoraka i koje *možda nisu detektirali* senzori na sustavu koji prate radni učinak sustava NeuMoDx System. Učinkovitost kontrole procijenjena je simuliranjem neuspjeha različitih koraka tijeka obrade uzorka kako bi se oponašala potencijalna pogreška sustava i dodavanjem poznatog inhibitora u ispitak kako bi se promatrao učinak koji neučinkovito ublažavanje inhibitora ima na detekciju kontrole obrade uzorka (pogledajte *tablicu 8*). U slučajevima kada pogreške obrade nisu negativno utjecale na radni učinak kontrole obrade uzorka (NO WASH/NO WASH BLOWOUT (NEMA REAGENSA ZA ISPIRANJE / NEMA ISPUŠTANJA REAGENSA ZA ISPIRANJE)), test se ponovio s ispitcima koji su sadržavali niske razine bakterija GAS i GCS/GGS (blizu granice detekcije (Limit of Detection, LoD)) kako bi se potvrdilo da pogreška obrade nema negativan učinak ni na detekciju ciljnih sekvenci bakterije GAS ili GCS/GGS. U *tablici 8* nalazi se sažetak rezultata testa provjere učinkovitosti kontrole.

Tablica 8. Sažetak podataka o učinkovitosti kontrole

| Uvjet | Očekivani rezultat | Dobiveni rezultat |
|---|--|----------------------------|
| Normal Processing (Normalna obrada) | Negative (Negativno) | Negative (Negativno) |
| Normal Processing + Inhibitor (Normalna obrada + inhibitor) | Unresolved (Nerazriješeno) | Unresolved (Nerazriješeno) |
| No Wash Reagent (Nema reagensa za ispiranje) | Unresolved (Nerazriješeno) ili Negative (Negativno) | Negative (Negativno)* |
| No Wash Blowout (Nema ispuštanja reagensa za ispiranje) | Unresolved (Nerazriješeno) ili Negative (Negativno) | Negative (Negativno) |
| No Release Reagent (Nema reagensa za ispuštanje) | Indeterminate (Neodređeno) | Indeterminate (Neodređeno) |
| No PCR Master Mix Reagents (Nema glavne mješavine reagensa za PCR) | Indeterminate (Neodređeno) | Indeterminate (Neodređeno) |

* U rijetkim slučajevima nisko pozitivni uzorci bakterije GAS dali su lažno negativan rezultat u kombinaciji s greškom sustava pri dovodu reagensa za ispiranje. To je uočeno pri razinama bakterije GAS nižima od 500 CFU/ml, daleko ispod prosječne koncentracije pozitivnog kliničkog ispitka brisa, a u većini slučajeva može se očekivati rješavanje problema vjerojatnim izvođenjem ponovnog testiranja nakon jednom dobivenog lažno negativnog rezultata.

Stabilnost uzoraka brisa na sustavu

U kliničke ispitke brisa negativne na streptokok dodane su ciljne bakterije GAS, GCS i GGS pri koncentraciji u rasponu 10 – 15 X LoD-a, pohranjeni su na temperaturi od 4 °C u trajanju od 48 sati, a zatim su obrađeni ispitivanjem NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay zajedno s jednakim brojem negativnih ispitaka. Na kraju obrade sve su epruvete s pozitivnim i negativnim ispitcima ostavljene na radnoj površini sustava na sobnoj temperaturi 8 sati, a zatim ponovno obrađene. Očekivani rezultat za vremenske točke od 0 i 8 sati bio je POSITIVE (POZITIVNO) (za odgovarajuću ciljnu sekvencu) za sve ispitke brisa u koje su dodane ciljne sekvence bakterije GAS, GCS ili GGS te NEGATIVE (NEGATIVNO) (za obje ciljne sekvence) za ispitke brisa kojima nije dodana ciljna sekvenca. 100 %-tna podudarnost s očekivanim rezultatima uočena je u obje vremenske točke, što dokazuje 8-satnu stabilnost testiranja na sustavu s testnom trakom NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip. Sažetak rezultata nalazi se u *tablici 9* u nastavku.

Tablica 9. Sažetak podataka o stabilnosti uzoraka na sustavu

| Stabilnost ispitaka na sustavu | % pozitivnih, T ₀ | | | % pozitivnih, 8 sati | | |
|--------------------------------|------------------------------|---------|------|----------------------|---------|------|
| | 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 (Negativno) | 0 | 0 | 100 | 0 | 100 | 100 |

REFERENCE

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

Zahvale

Sljedeći reagens dobiven je putem BEI Resources, NIAID, NIH: *Streptococcus pyogenes*, Strain MGAS15186, NR-15373

Sljedeći reagens dobiven je putem BEI Resources, NIAID, NIH kao dio projekta Human Microbiome Project: *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, Strain WGLW3, HM-748.

Sljedeći reagens dobiven je putem BEI Resources, NIAID, NIH kao dio projekta Human Microbiome Project: *Streptococcus anginosus*, Strain F0211, HM-282.

Sljedeći reagens dobiven je putem BEI Resources, NIAID, NIH kao dio projekta Human Microbiome Project: *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus*, Strain TX20005, HM-272.

Sljedeći reagens dobiven je putem BEI Resources, NIAID, NIH kao dio projekta Human Microbiome Project: *Streptococcus intermedius*, Strain F0413, HM-368.

Sljedeći reagens dobiven je putem BEI Resources, NIAID, NIH: *Burkholderia cepacia*, Strain UCB 717, NR-707.

Sljedeći reagens dobiven je putem BEI Resources, NIAID, NIH kao dio projekta Human Microbiome Project: *Streptococcus mitis*, Strain F0392, HM-262.










Sljedeći reagens dobiven je putem BEI Resources, NIAID, NIH kao dio projekta Human Microbiome Project: *Parvimonas micra*, Strain CC57A (Deposited as *Peptostreptococcus micros*, Strain CC57A), HM-1052.

ZAŠTITNI ZNAKOVI

NeuMoDx™ je zaštitni znak tvrtke NeuMoDx Molecular, Inc.

NeuDry™ je zaštitni znak tvrtke NeuMoDx Molecular, Inc.
TaqMan® je registrirani zaštitni znak tvrtke Roche Molecular Systems, Inc.
LYFO DISK™ je zaštitni znak tvrtke Microbiologics, Inc.
ATCC® je registrirani zaštitni znak organizacije American Type Culture Collection
Aspirin™ je zaštitni znak tvrtke Bayer AG
Altoids™ je zaštitni znak tvrtke Callard and Bowser Limited
CEPACOL® je registrirani zaštitni znak tvrtke Reckitt Benckiser Limited
Chloraseptic® je registrirani zaštitni znak tvrtke Prestige Brands Holdings, Inc.
Dimetapp® je registrirani zaštitni znak tvrtke Pfizer, Inc.
Cold-EEZE® je registrirani zaštitni znak tvrtke Prophase Labs, Inc.
Crest® Pro-Health je registrirani zaštitni znak tvrtke Procter and Gamble Company
Halls™ je zaštitni znak grupacije Mondelēz International Group
ICE BREAKERS® je registrirani zaštitni znak tvrtke Hershey Chocolate & Confectionery Company
LISTERINE® je registrirani zaštitni znak tvrtke Johnson & Johnson
Ricola® je registrirani zaštitni znak tvrtke Ricola Group AG
Robitussin® je registrirani zaštitni znak tvrtke Pfizer, Inc.
Screts® je registrirani zaštitni znak tvrtke Prestige Brands Holdings, Inc.
Tic Tac® je registrirani zaštitni znak tvrtke Ferrero, Inc.
Wal-Tussin® je registrirani zaštitni znak tvrtke Walgreens Company

SIMBOLI

| SIMBOL | ZNAČENJE |
|---|---|
| R only | Za uporabu samo uz recept |
|  | Proizvođač |
| IVD | Medicinski proizvod za <i>in vitro</i> dijagnostiku |
| EC REP | Ovlašteni predstavnik u Europskoj zajednici |
| REF | Kataloški broj |
| LOT | Kôd šarže |
|  | Upotrijebiti do |
|  | Temperaturno ograničenje |
|  | Ograničenje vlage |
|  | Nije za ponovnu uporabu |
|  | Sadrži dovoljno za <n> testova |
|  | Pročitajte upute za upotrebu |
|  | Oprez |
|  | Biološke opasnosti |
| CE | Oznaka CE |



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

Naručitelj (Australija):
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



Tehnička podrška / izvještaj o kontroli sigurnosti: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents