

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

R only

UPOZORNĚNÍ: Pouze pro export do USA

IVD Pro diagnostiku *in vitro* se soustavami NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System

 Chcete-li vložit aktualizace, přejděte na internetové stránky: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Podrobné pokyny naleznete v návodu k obsluze soustavy NeuMoDx 288 Molecular System, výr. č. 40600108.

Podrobné pokyny naleznete v návodu k obsluze soustavy NeuMoDx 96 Molecular System, výr. č. 40600317.

ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

Analýza NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay, jak se provádí na molekulární soustavě NeuMoDx 96 Molecular System a NeuMoDx 288 Molecular System, je rychlý, automatizovaný, kvalitativní, amplifikační test *in vitro* pro nukleové kyseliny s přímou detekcí a diferenciací bakterií *Streptococcus pyogenes* (β-hemolytické bakterie *Streptococcus* [GAS] skupiny A) a *Streptococcus dysgalactiae* (pyogenní β-hemolytické bakterie *Streptococcus* skupiny C a G, včetně poddruhu *dysgalactiae* skupiny C a *Streptococcus dysgalactiae* poddruhu *equisimilis* skupiny C a G [GCS/GGS]) ve vzorcích výtěru z krku získaných od pacientů se známkami a příznaky faryngitidy. Analýza využívá kvantitativní polymerázovou řetězovou reakci (Polymerase Chain Reaction, PCR) v reálném čase pro samostatnou detekci DNA bakterií *Streptococcus pyogenes* a *Streptococcus dysgalactiae* ve vzorcích výtěru z krku. Analýza NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay je určena k použití jako pomůcka při diagnostice infekce GAS a GCS/GGS u symptomatických pacientů, ale ne pro vedení nebo sledování léčby infekcí GAS nebo GCS/GGS. K získání organismů pro epidemiologickou typizaci nebo pro další testování citlivosti mohou být nezbytné souběžné kultury.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Analýza NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay je určena k detekci a diferenciaci DNA GAS a GCS/GGS současně. Analýza se zaměřuje na region proteinu obsahujícího kotevní doménu buněčné stěny s motivem LPXTG v genomu GAS a sekvenci proteinu s rezistencí vůči nisinu přítomného v genomech GCS/GGS. Pro detekci DNA GAS a/nebo GCS/GGS pomocí analýzy NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay se odebere vzorek výtěru z krku do kapalného přepravního média Amies. Pro přípravu k testování se zkumavka s kapalným transportním médiem Amies umístí do určených nosičů vzorků a vloží se do systému NeuMoDx System, kde se zahájí zpracování. Pro každý vzorek soustava NeuMoDx System smíchá 50 µl alikvotního podílu kapalného přepravního média Amies s pufrům NeuMoDx Lysis Buffer 6 a automaticky provede všechny kroky potřebné k extrakci cílové nukleové kyseliny, připraví izolovanou DNA pro amplifikaci PCR v reálném čase, a pokud jsou přítomné, amplifikuje a detekuje produkty amplifikace (řezý cílených genomů GAS, GCS nebo GGS).

Analýza NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay zahrnuje procesní kontrolu vzorku DNA (Sample Process Control, SPC1) pro monitorování přítomnosti potenciálních inhibičních látek a selhání soustavy NeuMoDx System nebo reagentů, které se mohou vyskytnout během procesů extrakce a amplifikace.

Infekce bakteriemi *Streptococcus pyogenes*, což jsou beta-hemolytické bakterie patřící do séro skupiny A podle Lancefieldovy klasifikace, známé také jako streptokoky skupiny A (Group A Streptococci, GAS), způsobuje u lidí širokou škálu onemocnění. Všudyprítomný organismus *S. pyogenes* je nejčastější bakteriální etiologie akutní faryngitidy neboli zánětu hltanu, běžně nazývaného „streptokoková angína“. Streptokoková angína je častější u dětí, tvoří asi 20–30 % epizod faryngitidy. Oproti tomu u dospělých způsobuje přibližně 5–15 % infekcí hltanu.^{1,2} Hnisavé komplikace faryngitidy se obvykle vyskytují u pacientů, kteří nebyli léčeni antimikrobiálními látkami, a patří mezi ně zánět středního ucha, sinusitida, peritonsilární nebo retrofaryngeální abscesy a hnisavá cervikální adenitida. Mezi nehnisavé komplikace patří akutní revmatická horečka (Acute Rheumatic Fever, ARF) a akutní glomerulonefritida.³

Bakterie *Streptococcus dysgalactiae*, poddruh *equisimilis*, (GGS/GCS) představují normální komenzální flóru horních cest dýchacích a jsou často asymptomatickými kolonizátory kůže, gastrointestinálního traktu a ženského genitálního traktu. To často způsobuje nedocenění jejich úlohy při zatížení streptokokovými chorobami, protože GCS/GGS jsou spojeny se stejným spektrem onemocnění způsobených bakteriemi *S. pyogenes*. U dětí se tyto organismy nejčastěji podílejí na infekcích dýchacích cest, zejména faryngitidě. Skutečný výskyt faryngitidy způsobený streptokoky skupiny C a G je obtížné určit kvůli četnosti, s níž dochází k asymptomatické kolonizaci. Přesto přesvědčivé důkazy naznačují, že streptokoky skupiny C a G jsou skutečnými příčinami faryngitidy.²⁻⁴ GCS/GGS lidského původu jsou nyní považovány za jeden poddruh, *Streptococcus dysgalactiae*, poddruh *equisimilis*. Porovnání kompletní genomové sekvence klinického izolátu GGS, *S. dysgalactiae*, poddruh *equisimilis*, s jinými streptokokovými druhy, prokázalo, že je nejtěsněji příbuzný s druhem *S. pyogenes*, a to se 72 % sekvencí podobností.⁵ Bakterie *S. dysgalactiae*, poddruh *equisimilis*, sdílí mnoho virulentních faktorů s druhem *S. pyogenes*, včetně antifagocytárního M proteinu, streptolysinu O, streptolysinu S, streptokinázy a jednoho nebo více pyrogenních exotoxinů podobných těm, které se podílejí na streptokokovém toxickém šoku.⁵

Ačkoli faryngitida způsobená streptokoky se obvykle sama upraví, je důležitá rychlá a přesná detekce, protože je známo, že včasná léčba vhodnými antibiotiky snižuje závažnost a trvání symptomů, snižuje přenos organismu a snižuje riziko akutní revmatické horečky.³ Protože většinou je faryngitida virového původu, přesná diagnóza může snížit zbytečné používání antibiotik a potenciální rozvoj rezistence na antibiotika. Přesto je diagnóza založená pouze na klinických funkcích obtížná, protože příznaky GAS se překrývají s příznaky virové faryngitidy. „Zlatý standard“ pro detekci GAS v pediatrické populaci kultivuje výtěr z krku na krevním agaru. Poměrně dlouhá časová prodleva mezi odběrem vzorku a konečnou mikrobiologickou diagnózou – přibližně 48 hodin – však omezuje užitečnost této metody pro rutinní použití v ambulantních zařízeních. Od 80. let 20. století jsou jako prostředek detekce GAS komerčně dostupné testy rychlé detekce antigenu (Rapid Antigen Detection Tests, RADT).^{6,7} Výhodou testů RADT je, že mohou být rychle provedeny v ordinaci lékaře. Přestože testy RADT mají dobrou specifitu (> 95 %), mají často ve srovnání s kultivací sníženou citlivost (~ 86 %).⁶ Přetrvávající potřeba vysoce citlivých a rychlých analýz, které by konkurovaly metodám kultivace, vydláždila cestu pro rozvoj molekulárních analýz. Pro detekci GAS byly vyvinuty metody testování amplifikace nukleových kyselin (Nucleic Acid Amplification Test, NAAT), které obvykle vykazují vyšší citlivost (> 90 %) a dobrou specifitu (> 95 %).⁸⁻¹⁰

Analýza NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay umožňuje rychlou a přesnou detekci streptokoků skupiny A a pyogenních streptokoků skupiny C a G.

PRINCIPY POSTUPU

Analýza NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay kombinuje technologie extrakce DNA a amplifikace/detekce pomocí PCR v reálném čase. Vzorky výtěru z krku se odebírají do odběrových zkumavek s kapalným transportním médiem Amies. Soustava NeuMoDx System automaticky nasaje alikvotní podíl vzorku výtěru s kapalným médiem Amies, smíchá jej s pufrům NeuMoDx Lysis Buffer 6 a extrakčními reagensii obsaženými na destičce NeuMoDx Extraction Plate a zahájí zpracování. Soustava NeuMoDx System automatizuje a integruje extrakci a zkoncentrování DNA, přípravu reagensii a amplifikaci nukleové kyseliny a detekci cílové sekvence pomocí PCR v reálném čase. Zahrnutá procesní kontrola vzorku (Sample Process Control, SPC1) pomáhá monitorovat přítomnost potenciálních inhibičních látek, jakož i selhání systému, procesu nebo reagenzie. Jakmile je vzorek vložen do soustavy NeuMoDx System, není nutný žádný zásah obsluhy.

Soustavy NeuMoDx System k provedení buněčné lýzy, extrakce DNA a odstranění inhibitorů využívají kombinace zahřívání, lytických enzymů a extrakčních reagensii. Uvolněné nukleové kyseliny jsou zachyceny paramagnetickými částicemi. Mikrokuličky s navázanými nukleovými kyselinami se vloží do zásobníku NeuMoDx Cartridge, kde se nenavázané složky, jiné než DNA, dále vymyjí promývací reagensii NeuMoDx Wash Reagent, a navázaná DNA se eluuje pomocí uvolňovací reagenzie NeuMoDx Release Reagent. Soustava NeuMoDx System pak používá eluovanou DNA k rehydrataci proprietárních amplifikačních reagensii NeuDry™ obsahujících všechny prvky nezbytné pro amplifikaci cílů GAS a GCS/GGS, jakož i části sekvence SPC1. To umožňuje současnou amplifikaci a detekci cíle (cílů) a kontrolu sekvencí DNA. Po rekonstituci suchých reagensii PCR nadávkuje soustava NeuMoDx System připravenou PCR-ready směs do jedné PCR komory (na každý vzorek) zásobníku NeuMoDx Cartridge. K amplifikaci a detekci kontrolní a cílové (pokud je přítomna) sekvence DNA dochází v PCR komoře. Zásobník NeuMoDx Cartridge, včetně PCR komory, je určen k tomu, aby se v něm po PCR v reálném čase nacházel amplikon, čímž je po amplifikaci podstatně eliminováno riziko kontaminace.

Amplifikované cíle jsou detekovány v reálném čase pomocí chemizmu hydrolyzační sondy (běžně označované jako chemizmus TaqMan®) za použití fluorogenních oligonukleotidových molekul sondy, specifických pro amplikony pro jejich příslušné cíle.

Sondy TaqMan sestávají z fluoroforu, kovalentně připojeného k 5' konci oligonukleotidové sondy, a ze zhášedla na 3' konci. Zatímco sonda je intaktní, fluorofor a zhášedlo jsou v blízkosti, čímž molekula zhášedla zhájí fluorescenci emitovanou fluoroforem přes FRET (Förster Resonance Energy Transfer, Försterův rezonanční přenos energie).

Sondy TaqMan jsou určeny k reasociaci v oblasti DNA amplifikované specifickou sadou primerů. Jak polymeráza Taq DNA prodlužuje primer a syntetizuje nové vlákno, 5' až 3' exonukleázová aktivita polymerázy Taq DNA degraduje sondu, která reasociovala na templát. Degradací sondy se z ní uvolňuje fluorofor a narušuje těsnou blízkost zhášedla, čímž překonává zhášecí účinek způsobený FRET a umožňuje zvýšení fluorescence.

Sonda TaqMan značená fluoroforem (excitace: 470 nm a emise: 510 nm) na 5' konci a tmavým zhášedlem na 3' konci se používá k detekci DNA GAS a sonda TaqMan značená fluoroforem (excitace: 585 nm a emise: 610 nm) na 5' konci a tmavým zhášedlem na 3' konci se používá k detekci DNA GCS/GGS. Pro detekci kontroly zpracování vzorku je sonda TaqMan značena alternativním fluorescenčním barvivem (excitace: 530 nm a emise: 555 nm) na 5' konci a tmavým zhášedlem na 3' konci. Soustava NeuMoDx System monitoruje fluorescenční signál emitovaný sondami TaqMan na konci každého amplifikačního cyklu. Po dokončení amplifikace soustava NeuMoDx System analyzuje data a ohlásí konečný kvalitativní výsledek (POSITIVE (POZITIVNÍ) / NEGATIVE (NEGATIVNÍ) / INDETERMINATE (NEURČITÝ) / UNRESOLVED (NEROZLIŠENO)).

REAGENCIE / SPOTŘEBNÍ MATERIÁL

Dodaný materiál

REF.	Obsah	Počet testů na jednotku	Počet testů v balení
209102	Testovací proužek NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip <i>Suché reagenzie PCR v reálném čase, které obsahují sondy TaqMan a primery specifické pro GAS a GCS/GGS a sondu TaqMan a primery specifické pro kontrolu zpracování vzorku.</i>	16	96

Požadované, ale nedodávané reagenzie a spotřební materiál (k dispozici samostatně od společnosti NeuMoDx)

REF.	Obsah
100200	Extrakční destička NeuMoDx Extraction Plate <i>Suché paramagnetické částice, lytický enzym a kontroly zpracování vzorků</i>
401700	Pufr NeuMoDx Lysis Buffer 6*
400100	Promývací reagenzie NeuMoDx Wash Reagent
400200	Uvolňovací reagenzie NeuMoDx Release Reagent
100100	Zásobník NeuMoDx Cartridge
235903	Hroty Hamilton CO-RE / CO-RE II (300 µl) s filtry
235905	Hroty Hamilton CO-RE / CO-RE II (1 000 µl) s filtry

*Poznámka: Verze softwaru NeuMoDx System starší než 1.8.0.0 rozpoznají pufr NeuMoDx Lysis Buffer 6 jako „Lysis Buffer 4“ (Lýzový pufr 4). Podrobná varování a bezpečnostní opatření jsou uvedena v návodu k použití pro pufr NeuMoDx Lysis Buffer 6 (výř. č. 40600406).

Potřebné přístrojové vybavení

Molekulární soustava **NeuMoDx 288 Molecular System** [REF 500100] nebo **NeuMoDx 96 Molecular System** [REF 500200]

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Tento test je určen pro diagnostiku *in vitro* pouze u soustav NeuMoDx System.
- Nepoužívejte spotřební materiály nebo reagenty po uplynutí uvedeného data expirace.
- Nepoužívejte žádné reagenty, pokud je bezpečnostní těsnění rozbito nebo je při dodání poškozen obal.
- Spotřební materiál nebo reagenty nepoužívejte, pokud je ochranný váček při dodání otevřený nebo rozbitý.
- Analýza NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay nebyla validována pro použití s konzervačními látkami.
- Vzorky výtěrů neodebírejte do jiných transportních médiích než kapalných médií Amies či ekvivalentních médií. Analýza NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay nebyla validována pro použití s jinými transportními médii.
- Minimální objem vzorku je závislý na velikosti zkumavky / držáku zkumavky se vzorkem, jak je definováno v návodu k obsluze k systémům NeuMoDx 288 a 96 Molecular System (výr. č. 40600108 a 40600317).
- Provedení testu na vzorcích z výtěru krku starších než 2 dny (uložených při teplotě 2–8 °C) může při použití testovacího proužku NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip vést k neplatným nebo chybným výsledkům.
- Vyvarujte se mikrobiální a deoxyribonukleázové (DNáza) kontaminaci reagentů. Při přenosu vzorku do sekundární zkumavky se doporučuje používat sterilní jednorázové přenosové pipety bez DNázy. Na každý vzorek použijte novou pipetu.
- Abyste předešli kontaminaci, s kazetou NeuMoDx Cartridge po amplifikaci nemanipulujte ani ji nerozebírejte. Za žádných okolností nevyjímejte kazety NeuMoDx Cartridge z odpadních nádob. Zásobník NeuMoDx Cartridge je zkonstruován tak, aby kontaminaci zabránil.
- V případech, kdy laboratorář provádí také testy PCR s otevřenými zkumavkami, je třeba dbát na to, aby testovací proužek NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip, další spotřební materiál a reagenty potřebné k testování, osobní ochranné prostředky, jako jsou rukavice a laboratorní pláště, a soustava NeuMoDx System nebyly kontaminovány.
- Při manipulaci s reagenty a spotřebním materiálem NeuMoDx byste měli nosit čisté nitrilové rukavice bez obsahu pudru. Dbejte na to, abyste se nedotkli horní plochy zásobníku NeuMoDx Cartridge, povrchu těsnicí fólie testovacího proužku NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip nebo extrakční destičky NeuMoDx Extraction Plate ani horního povrchu pufru NeuMoDx Lysis Buffer 6; manipulaci se spotřebním materiálem a reagenty je třeba provádět tak, že se budete dotýkat pouze bočních ploch.
- Po provedení testu si důkladně umyjte ruce.
- Nepipetujte ústy. Nekuřte, nepijte ani nejzte v oblastech, kde se manipuluje se vzorky nebo reagenty.
- Se vzorky vždy zacházejte tak, jako by byly infekční. Postupujte v souladu s bezpečnými laboratorními postupy, například těmi popsanými v publikaci *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹¹ a v dokumentu M29-A3¹² institutu CLSI.
- Nepoužité reagenty a odpad likvidujte podle státních, federálních, oblastních a místních předpisů.

UCHOVÁVÁNÍ, MANIPULACE A STABILITA PRODUKTU

- Pro každou reagentii jsou poskytnuty bezpečnostní listy (BL).
- Testovací proužky NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip jsou stabilní v primárním obalu do data expirace uvedeného přímo na etiketě produktu při skladování při teplotě 15–23 °C.
- Po uplynutí uvedeného data expirace spotřební materiály ani reagenty nepoužívejte.
- Nepoužívejte žádný testovací produkt, pokud byl primární či sekundární obal viditelně narušen.
- Testovací proužek NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip může po vložení zůstat v přístroji soustavy NeuMoDx System po dobu 14 dnů. Zbývající životnost vložených testovacích proužků je sledována pomocí softwaru a hlášena uživateli v reálném čase. Soustava vyzve k vyjmutí testovacího proužku, který byl používán po uplynutí povolené doby.

ODBĚR/PŘEPRAVA/UCHOVÁVÁNÍ VZORKŮ

- Testovací proužek NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip byl testován pomocí vzorků výtěru krku odebraných lékařem. Provedení s jinými vzorky, než jsou uvedeny, nebyla hodnocena.
- Odebrané vzorky výtěrů by měly být během přepravy udržovány při teplotě doporučené v sadě pro odběr výtěrů.
- Vzorky výtěrů by měly být skladovány při teplotě 2–8 °C nejdéle 2 dny před testováním a nejvýše 8 hodin při teplotě místnosti.

NÁVOD K POUŽITÍ

Odběr/přeprava vzorků

1. Krční výtěry odebrané lékařem by měly být odebírány do tekutého transportního média Amies.
2. Pokud nejsou vzorky testovány do 8 hodin, měly by být před testováním skladovány při teplotě 2 až 8 °C až 2 dny.

Příprava testu

1. Na zkumavku se vzorkem, kompatibilní se soustavou NeuMoDx System, nalepte štítek s čárovým kódem na vzorky. Primární odběrová zkumavka může být označena a umístěna přímo do stojanu se vzorky. Alternativně může být alikvotní podíl kapalného média Amies přenesen do sekundární zkumavky pro zpracování v systému NeuMoDx System.
2. Vzorek výtěru v hlavní nádobce krátce promíchejte, aby se dosáhlo rovnoměrné distribuce.
3. Pokud testujete vzorek výtěru v primární zkumavce pro odběr výtěrů, vložte zkumavku označenou čárovým kódem do držáku zkumavek se vzorkem a před vložením do systému NeuMoDx System se ujistěte, že je sejmuta víčka a vyjmut tampón. Tampon ve zkumavce NENECHÁVEJTE.
4. Pokud používáte sekundární zkumavku, přeneste alikvotní podíl ($\geq 0,5$ ml) kapalného vzorku Amies do zkumavky se vzorkem s čárovým kódem, která je kompatibilní s 32místným stojanem na zkumavky se vzorky NeuMoDx.

Provoz soustavy NeuMoDx System

Podrobné pokyny jsou uvedeny v návodech k obsluze molekulárních soustav NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System (výr. č. 40600108 a 40600317).

1. Vyplňte jeden nebo více stojanů na testovací proužky NeuMoDx Test Strip Carrier testovacími proužky NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip a pomocí dotykové obrazovky vložte stojany na testovací proužky do soustavy NeuMoDx System.
2. Pokud vás software soustavy NeuMoDx System vyzve, přidejte potřebné spotřební materiály ke stojanům na spotřební materiál soustavy NeuMoDx System a pomocí dotykové obrazovky vložte nosiče do systému NeuMoDx System.
3. Pokud vás software systému NeuMoDx System vyzve, vyměňte podle potřeby promývací reagentii NeuMoDx Wash Reagent, uvolňovací reagentii NeuMoDx Release Reagent, vyprázdněte odpadní reagentie z plnění, nádobu na biologicky nebezpečný odpad (pouze NeuMoDx 288), odpadní koš na hroty (pouze NeuMoDx 96) nebo koš na nebezpečný biologický odpad (pouze NeuMoDx 96).
4. Zkumavky se vzorky vložte do příslušného držáku zkumavek na vzorky a ujistěte se, že jsou ze všech zkumavek se vzorky sejmuta víčka.
5. Umístěte držák zkumavek se vzorky na přihrádku automatického zavaděče a pomocí dotykové obrazovky vložte držák do systému NeuMoDx System. Tím se zahájí zpracování vzorku (vzorků) vložených pro identifikované testy.

OMEZENÍ

- Testovací proužek NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip lze použít pouze v soustavách NeuMoDx System.
- Funkce testovacího proužku NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip byla stanovena pomocí vzorků výtěru krku odebraných lékařem.
- Použití testovacích proužků NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip s jinými zdroji nebylo hodnoceno a výkonové charakteristiky tohoto testu nejsou pro jiné typy vzorků známé.
- Protože detekce GAS a GCS/GGS závisí na počtu organismů přítomných ve vzorku, spolehlivé výsledky závisejí na správném odběru vzorků, zacházení s nimi a jejich skladování.
- Chybné výsledky testu mohou nastat při nesprávném odběru vzorků, při nesprávném zacházení s nimi, nesprávném skladování vzorků, v případě technické chyby nebo smícháním vzorků. Kromě toho mohou nastat falešně negativní výsledky, protože počet organismů ve vzorku je nižší, než je analytická citlivost testu.
- Test mohou provádět pouze pracovníci, kteří absolvovali školení ohledně používání systému NeuMoDx System.
- Pokud se kontrola zpracování vzorku neamplifikuje a výsledek testu NeuMoDx Strep A/C/G Vantage test je Negative (Negativní), bude ohlášen neplatný výsledek (Indeterminate (Neurčitý) nebo Unresolved (Nerozlišeno)) a test by měl být opakován.
- Pozitivní výsledek testu nemusí nutně znamenat přítomnost životaschopných organismů. Předpokládá se však přítomnost DNA GAS a/nebo GCS/GGS.
- I když nejsou známy žádné kmeny/izoláty GAS, postrádající region pro protein obsahující kotvicí doménu buněčné stěny s motivem LPXTG, nebo GCS/GGS, postrádající region pro protein rezistentní vůči nisinu, výskyt takového kmene by mohl při použití testovacího proužku NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip vést k chybnému výsledku.
- Detekci pomocí testovacího proužku NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip mohou ovlivnit mutace ve vazebných oblastech primeru/sondy.
- Výsledky analýzy NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay by měly být použity jako doplněk klinických pozorování a dalších informací, které má lékař k dispozici. Účelem testu není rozlišit nosiče DNA GAS a/nebo GCS/GGS od nosičů se streptokokovou chorobou.
- Výsledky testů mohou být ovlivněny souběžnou antibiotickou léčbou, protože DNA GAS a GCS/GGS mohou být i nadále detekovány i po antimikrobiální léčbě.
- Aby nedošlo ke kontaminaci vzorků, doporučujeme správnou laboratorní praxi, včetně výměny rukavic mezi jednotlivými manipulacemi se vzorky pacientů.

VÝSLEDKY

Soustavy NeuMoDx Molecular System

Dostupné výsledky lze zobrazit na kartě „Results“ (Výsledky) v okně Results (Výsledky) na dotykové obrazovce soustavy NeuMoDx System, případně je lze odtud vytisknout. Výsledek testu je Positive (Pozitivní, POS), Negative (Negativní, NEG), Indeterminate (Neurčitý, IND) nebo Unresolved (Nerozlišeno, UNR) na základě stavu amplifikace cíle a procesní kontroly vzorku (Sample Process Control, SPC1).

Kritéria pro pozitivní nebo negativní výsledek jsou uvedena v souboru definic pro analýzu NeuMoDx System Strep A/C/G Vantage Assay (Assay Definition File, ADF), který společnost NeuMoDx Molecular, Inc. do soustavy (soustav) nainstalovala. Výsledky jsou uváděny na základě rozhodovacího algoritmu ADF, shrnutého v *tabulce 1* níže.

Tabulka 1. Souhrn rozhodovacího algoritmu analýzy Strep A/C/G Vantage Assay

VÝSLEDEK	CÍLE GAS a/nebo GCS/GGS	PROCESNÍ KONTROLA (SPC1)
POZ	Amplified (Amplifikováno)	N/A
NEG	Not Amplified (Není amplifikováno)	Amplified (Amplifikováno)
IND (NEURČITÝ)	Not Amplified, System Error Detected (Není amplifikováno, byla zjištěna chyba systému)	
UNR (NEROZLIŠENO)	Not Amplified, No System Error Detected (Neamplifikováno, Nebyla zjištěna žádná chyba systému)	

Neplatné výsledky

Pokud analýza NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay provedená v soustavě NeuMoDx System nedosáhne platného výsledku, bude na základě typu chyby, která se vyskytla, uveden výsledek jako Indeterminate (Neurčitý) nebo Unresolved (Nerozlišeno). Analýza by měla být opakována, aby se získal platný výsledek.

Výsledek Indeterminate (Neurčitý) bude oznámen tehdy, pokud je během zpracování vzorků detekována chyba soustavy NeuMoDx System.

Výsledek Unresolved (Nerozlišeno) bude oznámen, pokud není detekován žádný cíl a nedojde k žádné amplifikaci kontroly zpracování vzorku, což naznačuje možné selhání reagentie nebo přítomnost inhibitorů.

Kontrola kvality

Místní předpisy obvykle stanoví, že laboratoř je odpovědná za kontrolní postupy, které monitorují přesnost a preciznost celého analytického procesu, a musí stanovit počet, typ a četnost testů kontrolních materiálů pomocí ověřených specifikací výkonu pro nemodifikovaný a schválený testovací systém.

- Společnost NeuMoDx Molecular, Inc. nebude poskytovat externí (uživatelé definované) kontrolní materiály. Příslušné kontroly musejí být vybrány a validovány laboratoří. Kontroly musejí splňovat stejné specifikace minimálního objemu jako specifikované klinické vzorky. Uživatel může definovat konkrétní čárové kódy pro pozitivní a negativní kontrolu nebo čárové kódy přiřadit náhodně.
- Doporučení: 1 *Streptococcus pyogenes* LYFO DISK™ (Microbiologics® 0508L) a 1 *Streptococcus dysgalactiae*, poddruh *equisimilis* LYFO DISK (Microbiologics® 0602L), rekonstituované podle pokynů výrobce, zředěné v 50 ml kapalného média Amies, uložené a použité v 0,5ml alikvotních podílech. Při zpracování kontrolního materiálu umístěte označený kontrolní materiál do stojanu na zkumavky se vzorky a k založení stojanu do soustavy NeuMoDx System z příhrádky automatického podavače použijte dotykovou obrazovku. Soustava NeuMoDx System rozpozná čárové kódy (pokud je předem definováno uživatelem) a spustí zpracování kontrol, pokud nejsou k dispozici odpovídající reagentie nebo spotřební materiál požadovaný pro testování.
- V každém testovacím proužku NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip jsou zahrnuty primery a sondy specifické pro kontrolu zpracování vzorku 1 (Sample Process Control 1, SPC1). Toto kontrolní zpracování vzorků umožňuje soustavě NeuMoDx System sledovat účinnost extrakce DNA a procesy amplifikace pomocí PCR.
- Pozitivní výsledek testu ohlášený u negativní kontroly vzorku ukazuje na problém s kontaminací vzorku. Tipy pro řešení problémů naleznete v *návodu k obsluze molekulárních soustav NeuMoDx 288 Molecular System nebo NeuMoDx 96 Molecular System*.
- Negativní výsledek u vzorku pozitivní kontroly může naznačovat problém související s reagentií nebo soustavou NeuMoDx System. Tipy pro řešení problémů naleznete v *návodu k obsluze molekulárních soustav NeuMoDx 288 Molecular System nebo NeuMoDx 96 Molecular System*.

VÝKONOVÁ CHARAKTERISTIKA

Klinický výkon

Charakteristiky klinického výkonu analýzy NeuMoDx Strep Vantage A/C/G Assay byly stanoveny za použití retrospektivní srovnávací studie interních metod za použití zbytkových vzorků výtěrů z krku pocházejících ze dvou geograficky odlišných míst klinických laboratoří.

Zbytkové vzorky výtěru z krku od symptomatických pacientů klinické laboratoře deidentifikovaly a přidělily jim jedinečné identifikační číslo, čímž byl vytvořen důvěrný seznam spojující ID pacienta s deidentifikovanými vzorky testovanými pro účely studie. Bylo testováno celkem 230 zbytkových vzorků poskytnutých ze dvou klinických laboratoří. Z 230 vzorků bylo 68 vzorků identifikováno jako GAS pozitivní a 47 vzorků bylo klinickými laboratořemi identifikováno jako GCS/GGS pozitivní. Jeden testovaný vzorek byl pozitivní na GAS i GCS/GGS, což ukazuje na dvojitou nebo souběžnou infekci. Zkušební stav těchto vzorků byl operátorem k provedení „jedine slepé studie“ odepřen. Výsledky hlášené ze specifických legálně prodáváných molekulárních zařízení schválených FDA a CE, využívaných laboratořemi pro standardní testování péče, byly použity k provedení analýzy srovnávání metod.

Výsledky testu NeuMoDx Strep A/C/G Vantage poskytly klinickou citlivost 100 % pro cíl GAS a 95,9 % pro cíl GCS/GGS, oba uvedené v 95% intervalu spolehlivosti (confidence interval, CI). Klinická specifita ze studie byla stanovena jako 100% jak pro GAS, tak pro GCS/GGS, opět s použitím 95% CI. Spodní a horní mez 95% intervalu spolehlivosti (Confidence Interval, CI) uvedené níže v tabulkách 2A a 2B byly vypočítány pomocí Wilsonovy metody s korekcí kontinuity.

Tabulka 2A. Souhrn klinického výkonu – detekce testovacích proužků NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip pro *S. pyogenes*

GAS		Schválení FDA/CE Výsledek referenčního testu		
		POZ	NEG	Celkem
NeuMoDx Strep A/C/G	POZ	68	0	68
	NEG	0	162	162
	Celkem	68	162	230
Klinická citlivost (GAS) = 100 % (93,3–100)				
Klinická specifita (GAS) = 100 % (97,1–100)				

Tabulka 2B. Souhrn klinického výkonu – detekce testovacích proužků NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip pro *S. dysgalactiae*

GCS/GGS		Schválení FDA/CE Výsledek referenčního testu		
		POZ	NEG	Celkem
NeuMoDx Strep A/C/G	POZ	47	0	47
	NEG	2	181	183
	Celkem	49	181	230
Klinická citlivost (GCS/GGS) = 95,9 % (84,9–99,3)				
Klinická specifita (GCS/GGS) = 100 % (97,4–100)				

Analytická citlivost

Limit detekce (Limit of Detection, LoD) analýzy NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay byl stanoven v negativních klinických výtěrech z krku obohacených o cíle GAS, GCS a GGS: *Streptococcus pyogenes* (ATCC 700294), *Streptococcus dysgalactiae*, poddruh *equisimilis* (ATCC 35666) a *Streptococcus dysgalactiae*, poddruh *equisimilis* (ATCC 12384). Všechny vzorky pro studii byly připraveny ve spojených a skrývaných klinických vzorcích výtěru z krku, negativních na bakterie Streptococcus, a byly obohaceny cíli v koncentracích 50 KTJ/ml GAS, 2 500 KTJ/ml GCS nebo 10 000 KTJ/ml GGS. Každý cíl byl testován ve 40 replikátech a byla použita analýza míry shody k potvrzení toho, že bylo dosaženo ≥ 95 % míry detekce, takže tyto koncentrace mohly být přijaty jako LoD daných cílů. Zjištění ze studie limitů detekce jsou shrnuta v *tabulce 3* níže.

Tabulka 3. Stanovení míry shody (hit-rate) detekčního limitu analýzy NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay

Cíl	Koncentrace (KTJ/ml)	n	Počet pozitivních	% pozitivních	LoD (míra shody)
GAS	50	40	40	100	50 KTJ/ml
GCS	2 500	40	40	100	2 500 KTJ/ml
GGS	10 000	40	40	100	10 000 KTJ/ml

Limit detekce analýzy NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay je uváděn jako 50 KTJ/ml pro GAS, 2 500 KTJ/ml pro GCS a 10 000 KTJ/ml pro GGS.

Detekce variant

Analytická citlivost analýzy NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay byla dále potvrzena 11 různými kmeny GAS, 7 kmeny GCS a 9 kmeny GGS. Testování bylo provedeno za použití kmenů GAS, GCS a GGS uvedených níže v *tabulce 4*. Cíle na specifikovaných úrovních byly přidány do negativních klinických vzorků výtěru před testováním při 2násobku příslušného LoD, jak je uvedeno výše, za účelem potvrzení ≥ 95 % detekce. Varianty kmenů, které tento požadavek nesplňovaly, byly znovu testovány při vyšších koncentracích, dokud nebylo dosaženo detekce ≥ 95 %. Hladina, při které bylo tohoto dosaženo pro jednotlivé kmeny, je uvedena v *tabulce 4* jako LoD pro tuto variantu.

Tabulka 4. Testované variantní kmeny GAS, GCS a GGS

	Kmen	n	Koncentrace KTJ/ml	Positive (Pozitivní)	Negative (Negativní)	Míra detekce (%)
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, poddruh 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, poddruh 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

Analytická specifčnost

Celkem 45 izolátů kultivace nebo DNA z organismů potenciálně žijících společně s GAS nebo GCS/GGS, případně jim fylogeneticky podobných bylo vyhodnoceno na možnou zkříženou reaktivitu při testování pomocí analýzy NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay. Organismy byly připraveny ve směsích po 3 až 6 organismech na každou směs a testovány při vysoké koncentraci. Bakteriální organismy byly přidány do kapalného média Amies negativního na GAS/GCS/GGS při koncentraci $6 - 9 \times 10^6$ KTJ/ml a virových agens při 1×10^6 kopií DNA/ml, není-li uvedeno jinak. U žádného z patogenů testovaných v této studii nebyla pozorována zkřížená reaktivita. Seznam testovaných organismů je uveden v *tabulce 5*.

Tabulka 5. Seznam patogenů použitých k prokázání analytické specifičnosti

Bakterie	Bakterie	Bakterie
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	<i>Neisseria subflava</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i> (<i>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>	Viry
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>	Adenovirus, typ 1*
<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	Haemophilus influenzae, typ A
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptococcus canis</i>	Chřipka A
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus canis</i> (STR T1)	Chřipka B
<i>Legionella micdadei</i>	<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i> (group C)	Parainfluenza, typ 4b†
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>	Rhinovirus, typ 1A
<i>Moraxella cartarrhalis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	

* Adenovirus typu 1 byl obohacen při 1×10^6 TCID50/ml

† *Bordetella pertussis* a Parainfluenza typu 4b byly obohaceny při 10 ng/ml

Interferující látky – komenzální organismy

Analýza NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay byla testována na interferenci v přítomnosti necílových organismů (společně žijících v zadním hltanu) hodnocením výkonu analýzy NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay při nízkých hladinách GAS a GCS/GGS v molekulární soustavě NeuMoDx Molecular System. Pro tuto studii byl použit stejný panel 45 organismů [tabulka 5] použitý pro hodnocení zkřížené reaktivity. Organismy byly spojeny do skupin po 3 až 6 v kapalném médiu Amies, negativním na GAS/GCS/GGS, a obohaceny o 150 KTJ/ml GAS, 7 500 KTJ/ml GCS a 30 000 KTJ/ml GGS.

Nebyla pozorována žádná interference s žádným z komenzálních organismů.

Interferující látky – endogenní a exogenní látky zjištěné v klinických vzorcích výtěru z krku

Výkon analýzy NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay byl hodnocen v přítomnosti potenciálně interferujících látek, které mohou být spojeny s odběrem výtěru z krku u pacienta [tabulka 6]. Všechny látky byly testovány na potenciální interference v nepřítomnosti a v přítomnosti GAS, GCS a GGS. Vzorky kapalných médií Amies, obohacené na 3X LoD, byly dávkovány s endogenními a exogenními skupinami rozpuštěnými nebo zředěnými ve vodě molekulární kvality ve specifických koncentracích pomocí nasyceného tamponu. Žádná z testovaných látek neměla nepříznivý účinek na detekci GAS nebo GCS/GGS.

Tabulka 6. Exogenní a endogenní interferující látky testované pro vzorky výtěrů v kapalném médiu Amies

	Interferující látka	Koncentrace zásobního roztoku
Exogenní	Altoids™ (Spearmint)	10 % (hm./obj.)
	Aspirin™	10 % (hm./obj.)
	Pastilky CEPACOL® Extra Strength Sore Throat & Cough	5% (hm./obj.)
	Children's Dimetapp® Cold & Cough	15 % (obj./obj.)
	Pastilky Chloraseptic® Max Sore Throat	10 % (hm./obj.)
	Sprej Chloraseptic Sore Throat	10% (obj./obj.)
	Pastilky Cold-EEZE® Zinc	15% (hm./obj.)
	Crest® Pro-Health Advanced Gum Protection	4% (hm./obj.)
	Halls™ Cough Drops (Cherry)	15% (hm./obj.)
	Halls Cough Drops (Menthol-Lyptus)	15% (hm./obj.)
	ICE BREAKERS® Mints (Cool Mint)	10 % (hm./obj.)
	Ústní voda LISTERINE® Total Care	15 % (obj./obj.)
	Antiseptická ústní voda LISTERINE Ultra-clean	15% (obj./obj.)
	*Ricola® Original Swiss Sugar Free Herb Cough Suppressant Throat Drops	15% (hm./obj.)
	Robitussin® Max Strength Nighttime Cough DM	10% (obj./obj.)
	Pastilky Sucrets® Sore Throat & Cough (Vapor Cherry)	5% (hm./obj.)
	Tic Tac® Freshmints	10 % (hm./obj.)
Wal-Tussin DM Max Cough Syrup	10% (obj./obj.)	
Endogenní	Sliny	100 %
	Plná krev	10% (obj./obj.)

**Zpočátku se 1 ze 3 vzorků GAS testovaných při koncentraci 3X LoD neamplifikoval v přítomnosti kapek Ricola Throat Drops, ale po opakovaném testu si vedl podle očekávání.*

Reprodukovatelnost mezi šaržemi

Reprodukovatelnost mezi šaržemi analýzy NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay byla ověřena zpětnou analýzou kvalitativních dat z testů pro tři různé šarže testovacího proužku NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip a pufru NeuMoDx Lysis Buffer 6. Tato data byla získána pomocí funkčního testování reagensů na kapalném transportním médiu Amies obohaceném o reprezentativní kmeny GAS a GCS při LoD pro tyto cíle. U každé šarže testovacích proužků NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip bylo zpracováno celkem 64 pozitivních a 16 negativních replikátů; vyhodnocení pufru NeuMoDx Lysis Buffer 6 zahrnovalo 16 pozitivních a 8 negativních replikátů. Odchylka v celé výrobní šarži se analyzovala stanovením průměrné hodnoty C_t , směrodatné odchylky a variačního koeficientu v procentech (% CV), viz *tabulka 7*. Hodnoty směrodatné odchylky $\leq 1,1$ a variační koeficient $\leq 3,0$ % pro cíle GAS a GCS prokázaly vynikající reprodukovatelnost mezi šaržemi pro klíčové reagenty analýzy NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay.

Tabulka 7. % CV analýzy podle cílů v různých šaržích klíčových složek analýzy NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay

	GAS			GCS			Všechny výsledky		
	\bar{C}_t	C_t SD	% CV	\bar{C}_t	C_t SD	% CV	\bar{C}_t	C_t SD	% CV
(pro 3 šarže) 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%

Shoda čerstvých a zmrazených vzorků

Bylo provedeno testování, aby se prokázala shoda matrice vzorků mezi čerstvými a zmrazenými vzorky výtěrů z krku. Negativní klinické vzorky byly obohaceny o cíle GAS, GCS a GGS při 3X LoD analýze NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay a zpracovány pomocí analýzy NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay. Každý vzorek byl potom udržován při -80 °C, dokud nebyl zmrazen, rozmrazen a znovu zpracován. Výsledky z čerstvých a zmrazených vzorků výtěrů byly porovnány z hlediska shody regresní analýzou. Data prokázala vynikající shodu mezi čerstvými a zmrazenými vzorky výtěrů.

Účinnost kontroly

Účinnost procesní kontroly vzorku, obsažené na testovacím proužku NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip za účelem indikace selhání jakéhokoli kroku procesu anebo indikace inhibice ovlivňující provedení analýzy NeuMoDx A/C/G Vantage Assay, byla posuzována na molekulárním systému NeuMoDx Molecular System. Testované podmínky jsou reprezentativní pro kritická selhání procesních kroků, k nimž by mohlo případně dojít během zpracování vzorku a *nemusejí být detekovány* přístrojovými snímači, které monitorují výkon systému NeuMoDx System. Účinnost kontroly byla hodnocena simulací selhání různých kroků toku zpracování vzorku s cílem napodobit potenciální chybu systému. Účinnost byla dále hodnocena obohacením vzorku známým inhibitorem za účelem pozorování efektu neúčinného zmírnění vlivu inhibitoru na detekci kontroly zpracování vzorku (viz *tabulka 8*). V případech, kdy chyby zpracování neovlivnily nepříznivě funkci kontroly vzorku (NO WASH (BEZ PROMYTÍ) / NO WASH BLOWOUT (BEZ VYPLACHOVÁNÍ)), byl test opakován se vzorky obsahujícími nízké úrovně GAS a GCS/GGS (blízko LoD), aby se potvrdilo, že chyba procesu neměla žádný nepříznivý vliv na detekci cíle GAS nebo GCS/GGS. *Tabulka 8* shrnuje výsledky účinnosti kontrolního ověřovacího testu.

Tabulka 8. Shrnutí údajů o účinnosti kontroly

Podmínka	Očekávaný výsledek	Pozorovaný výsledek
Normal Processing (Běžné zpracování)	Negative (Negativní)	Negative (Negativní)
Normal Processing + Inhibitor (Běžné zpracování + inhibitor)	Unresolved (Nerozlišeno)	Unresolved (Nerozlišeno)
No Wash Reagent (Bez promývací reagentie)	Unresolved (Nerozlišeno) nebo Negative (Negativní)	Negative (Negativní)*
No Wash Blowout (Bez pročištění)	Unresolved (Nerozlišeno) nebo Negative (Negativní)	Negative (Negativní)
No Release Reagent (Bez uvolňovací reagentie)	Indeterminate (Neurčitý)	Indeterminate (Neurčitý)
No PCR Master Mix Reagents (Bez reagentií PCR hlavní směsi)	Indeterminate (Neurčitý)	Indeterminate (Neurčitý)

* Ve vzácných případech bylo zjištěno, že málo pozitivní vzorky GAS vedou k falešně negativním výsledkům, jsou-li spojeny se selháním systému při dodávání promývací reagentie. To bylo pozorováno při hladinách GAS pod 500 KTJ/ml, výrazně pod průměrnou koncentrací pozitivního klinického vzorku výtěru, a ve většině případů lze očekávat, že to bude vyřešeno pravděpodobným opakovaným testováním pro jednorázovým falešně negativním výsledku.

Stabilita vzorků v přístroji – vzorky výtěrů

Klinické vzorky výtěru, negativní na přítomnost bakterií Streptococcus, byly obohaceny o cíle GAS, GCS a GGS při 10–15X LoD, uloženy při teplotě 4 °C po dobu 48 hodin a poté zpracovány pomocí analýzy NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay spolu se stejným počtem negativních vzorků. Na konci zpracování byly všechny zkumavky s pozitivními a negativními vzorky ponechány na pracovním stole systému při teplotě místnosti po dobu 8 hodin a poté znovu zpracovány. Očekávaný výsledek v obou časových bodech 0 hodin a 8 hodin byl POSITIVE (POZITIVNÍ) (pro příslušný cíl) pro všechny vzorky výtěrů obohacené o cíl GAS, GCS nebo GGS a NEGATIVE (NEGATIVNÍ) (pro oba cíle) ve vzorcích výtěrů, které obohaceny nebyly. V obou časových bodech byla pozorována 100% shoda s očekávaným výsledkem, což svědčí o tom, že u testování s testovacím proužkem NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip byla prokázána stabilita v přístroji 8 hodin. Výsledky jsou shrnuty v *tabulce 9* níže.

Tabulka 9. Shrnutí údajů týkajících se stability vzorků v systému

Stabilita vzorku v přístroji	% pozitivní, T ₀			% pozitivní, 8 hodin		
	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 (Negativní)	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

Poděkování

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.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

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

SYMBOLY

SYMBOL	VÝZNAM
R only	Pouze na lékařský předpis
	Výrobce
IVD	Zdravotnický prostředek pro diagnostiku <i>in vitro</i>
EC REP	Autorizovaný zástupce v Evropském společenství
REF	Katalogové číslo
LOT	Číslo šarže
	Datum spotřeby
	Omezení teploty
	Omezení vlhkosti
	Nepoužívejte opakovaně
	Obsahuje dostatečné množství pro <n> testů
	Prostudujte si návod k použití
	Upozornění
	Biologická rizika
CE	Značka CE



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

Zadavatel (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



Technická podpora / vigilanční hlášení: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents