

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

R only

ETTEVAATUST. Ainult USA ekspordiks

IVD Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas koos seadmetega NeuMoDx 288 ja NeuMoDx 96 Molecular System

 Värskenduste sisestamiseks minge aadressile: www.giagen.com/neumodx-ifu

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadme NeuMoDx 288 Molecular System käsiraamatut; tootekood 40600108

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadme NeuMoDx 96 Molecular System käsiraamatut; tootekood 40600317

SIHOTSTARVE

Analüüs NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay, mis viiakse läbi seadmetel NeuMoDx 96 Molecular System ja NeuMoDx 288 Molecular System, on kiire, automatiseeritud, kvalitatiivne *in vitro* nukleiinhappe amplifikatsioonitest *Streptococcus pyogenes*'e (A-rühma β -hemolüütiline *Streptococcus* [GAS]) ja *Streptococcus dysgalactiae* (püogeenne C- ja G-rühma β -hemolüütiline streptokokk, sealhulgas alamliigi *dysgalactiae* group C-rühma ja *Streptococcus dysgalactiae* alamliigi *equilisimilis* C- ja G-rühma [GCS/GGS]) otseseks tuvastamiseks ja eristamiseks farüngiidi nähtude ja sümptomitega patsientidel saadud kurgu tampooniproovides. Analüüsis kasutatakse reaalaajas polümeraasi ahelreaktsiooni (PCR-i) *Streptococcus pyogenes*'e ja *Streptococcus dysgalactiae* DNA eraldamiseks kurgu tampooniproovides. Analüüs NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay on ette nähtud kasutamiseks abivahendina GAS- ja GCS/GGS-nakkuste diagnoosimisel sümptomaatilistel patsientidel, kuid mitte GAS- või GCS/GGS-nakkuste ravi juhendamiseks ega jälgimiseks. Samaaegsed kultuurid võivad olla vajalikud organismide taastamiseks epidemioloogiliseks tüpiseerimiseks või edasiseks tundlikkuse analüüsiks.

KOKKUVÕTE JA SELGITUSED

Analüüs NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay on ette nähtud GAS-i ja GCS/GGS-i DNA samaaegselt tuvastamiseks ja eristamiseks. Analüüs on suunatud GAS-i genoomis paikneva LPXTG-motiivi rakuseina ankurdomeni sisaldava valgu piirkonnale ja GCS/GGS-i genoomides esineva nisiiniresistentsuse valgu järjestusele. GAS-i ja/või GCS/GGS-i DNA tuvastamiseks analüüsi NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay abil kogutakse kurgu tampooniproov vedelasse Amies transpordisöötmesse. Testimiseks ettevalmistamiseks asetatakse vedela Amies transpordisöötme katsuti selleks ette nähtud proovikandjasse ja laaditakse töötlemise alustamiseks seadmesse NeuMoDx System. Iga proovi jaoks segab seade NeuMoDx System 50 μ l alikvoodi vedela Amies transpordisöötme lüüsimispuhvriga NeuMoDx Lysis Buffer 6 ja teostab automaatselt kõik vajalikud etapid sihtnukleiinhappe ekstraheerimiseks, isoleeritud DNA reaalaajas PCR-amplifikatsiooniks ettevalmistamiseks ja vajadusel amplifitseerib ja tuvastab amplifikatsiooniproductid (GAS-i, GCS-i või GGS-i genoomide *sihitud* geenijärjestuste lõigud).

Analüüs NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay sisaldab DNA prooviprotsesside kontrolli (SPC1), et jälgida võimalike inhibeerivate ainete olemasolu ja seadme NeuMoDx System või reaktiivi tõrkeid, mis võivad ilmneda ekstraheerimis- ja amplifitseerimisprotsesside käigus.

Nakatamine *Streptococcus pyogenes*'ega, beeta-hemolüütilise bakteriga, mis kuulub Lancefieldi A-serorühma, mida tuntakse ka A-rühma streptokokkidenäna (GAS), põhjustab inimestel mitmesuguseid haigusi. Kõikjal levinud organism *S. pyogenes* on kõige levinum bakteriaalse etioloogiaga äge farüngiit või kõripõletik, mida tavaliselt nimetatakse „strep-kurguks“. Strep-kurk on lastel tavalisem, moodustades ligikaudu 20–30% farüngiidi juhtudest. Võrdluseks põhjustab see ligikaudu 5–15% täiskasvanute farüngiididest.^{1,2} Farüngiidi mädased tüsistused tekivad tavaliselt patsientidel, keda ei ravita antimikroobsete ainete, ning hõlmavad keskkõrvapõletikku, sinusiiti, peritonsillaarseid või retrofarüngaalseid abstsesse ja kaela mädast adeniiti. Mittemädaste tüsistuste hulka kuuluvad äge reumaatiline palavik (Acute Rheumatic Fever, ARF) ja äge glomerulonefriit.³

Streptococcus dysgalactiae alamliigid *equisimilis* (GGS/GCS) on inimese ülemiste hingamisteede normaalne kommensaalne floora ja on sageli naha, seedetrakti ja naissuguteede asümptomaatilised kolonisaatorid. See põhjustab sageli nende rolli alahindamist streptokokkide haiguskoormuses, kuna GCS/GGS on seotud sama haiguste spektriga, mida tekitab *S. pyogenes*. Lastel tekivad need organismid kõige sagedamini hingamisteede infektsioonides, eriti farüngiiti. C- ja G-rühma streptokokkide põhjustatud farüngiidi tegeliku esinemissagedust on raske kindlaks teha asümptomaatilise kolonisaatsiooni esinemissageduse tõttu. Sellegipoolest viitavad kaalukad tõendid C- ja G-rühma streptokokkidele kui farüngiidi tõelistele põhjustajatele.²⁻⁴ Inimese GCS/GGS-i peetakse nüüd üheks alamliigiks, *Streptococcus dysgalactiae* alamliigiks *equisimilis*. GGS-i, *S. dysgalactiae* alamliigi, *equisimilis*, kliinilise isolaadi täieliku genoomi järjestuse võrdlus teiste streptokokkide liikide omaga näitas, et see on kõige tihedamalt seotud *S. pyogenes*'e järjestusega, järjestuse sarnasusega 72 protsenti.⁵ *S. dysgalactiae* alamliik *equisimilis* jagab paljusid virulentsufaktoreid *S. pyogenes*'ega, sealhulgas antifagotsüütilist M-valku, streptolüsiini O-d, streptolüsiini S-i, streptokinaasi ja üht või mitut püogeenset eksotoksiini, mis on sarnased streptokokkide toksilises šoki osalevatega.⁵

Ekki streptokokkidest põhjustatud farüngiit on tavaliselt isemõõduv, on oluline kiire ja täpne tuvastamine, kuna teadaolevalt vähendab varane ravi sobivate antibiootikumidega sümptomaatika raskust ja kestust, vähendab organismi ülekandumist ja vähendab ägeda reumaatilise palaviku riski.³ Kuna enamik farüngiite on viirusliku päritoluga, võib täpne diagnoosimine vähendada antibiootikumide tarbetut kasutamist ja antibiootikumiresistentsuse võimalikku tekkimist. Ainult kliinilistel tunnustel põhinev diagnoosimine on siiski keeruline, kuna sümptomid kattuvad viirusliku farüngiidi sümptomitega. Laste populatsioonis on GAS-i tuvastamise „kuldstandardiks“ kurgutampoonide kultiveerimine vereagaril. Proovi kogumise ja lõpliku mikrobioloogilise diagnoosimise vahele jääb suhteliselt pikk viivitusaaeg – ligikaudu 48 tundi – piirab selle meetodi kasutamist rutiinsel kasutamisel ambulatoorses keskkonnas. Alates 1980. aastatest on GAS-i tuvastamise vahendina saadaval kaubanduslikud antigeneeni tuvastamise kiirtestid (RADT-d).^{6,7} RADT-de eeliseks on see, et neid saab kiiresti teha arstikabinetis. Vaatamata heale spetsiifilisusele (> 95%) on RADT-del sageli vähenenud sensitiivsus kultuuriga võrreldes (~ 86%).⁶ Püsiv vajadus ülitundlike ja kiirete analüüside järele, et konkureerida kultuurimeetoditega, sillutas teed molekulaarsete analüüside väljatöötamiseks. GAS-i tuvastamiseks on välja töötatud nukleiinhappe amplifikatsioonitesti (NAAT) meetodid, millel on tavaliselt suurem sensitiivsus (> 90%) ja hea spetsiifilisus (> 95%).⁸⁻¹⁰

Analüüs NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay võimaldab A-rühma streptokokkide ning püogeensete C- ja G-rühma streptokokkide kiiret ja täpset tuvastamist.

PROTSEDUURI PÕHIMÕTTED

Analüüs NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay ühendab DNA ekstraheerimise ja amplifitseerimise/tuvastamise tehnoloogiad reaalaaja PCR-i abil. Kurgu tampooniproovid kogutakse vedela Amies transpordisõotme kogumiskatsutitesse. Töötlemise alustamiseks aspireerib seade NeuMoDx System vedela Amies tampooniproovi alikvoodi, et segada see lüüsimispuhvriga NeuMoDx Lysis Buffer 6 ja ekstraheerimisplaadil NeuMoDx Extraction Plate sisalduvate ekstraheerimisreaktiividega. Seade NeuMoDx System automatiseerib ja integreerib DNA ekstraheerimise ja kontsentreerimise, reaktiivide ettevalmistamise ning nukleiinhappe amplifitseerimise ja sihtjärjestuse tuvastamise reaalaaja PCR-i abil. Komplekti kuuluv proovi töötlemise kontroll (Sample Process Control, SPC1) aitab jälgida võimalike inhibeervate ainete olemasolu, samuti süsteemi, protsessi või reaktiivi tõrkeid. Kui proov on laaditud seadmesse NeuMoDx System, pole kasutaja sekkumine vajalik.

Seade NeuMoDx Systems kasutab rakkude lüüsimise, DNA ekstraheerimise ja inhibiitorite eemaldamise teostamiseks kuumutamise, lüütilise ensüümi ja ekstraheerimisreaktiivide kombinatsiooni. Vabanenud nukleiinhapped püütakse kinni paramagnetiliste osakeste abil. Helmed koos seotud nukleiinhapetega laaditakse kassetti NeuMoDx Cartridge, kus seondumata, DNA-d mittesisaldavad komponendid pestakse täiendavalt pesemisreaktiiviga NeuMoDx Wash Reagent ja seotud DNA elueeritakse vabastusreaktiivi NeuMoDx Release Reagent abil. Seejärel kasutab seade NeuMoDx System elueeritud DNA-d patenditud NeuDry™ amplifikatsioonireaktiivide rehüdreerimiseks, mis sisaldavad kõiki GAS-i ja GCS/GGS-i sihtmärkide amplifitseerimiseks vajalikke elemente, samuti osa SPC1 järjestusest. See võimaldab sihtmärkide ja kontroll-DNA sekveneerimise samaaegset amplifikatsiooni ja tuvastamist. Pärast kuivatatud PCR-reaktiivide taastamist jaotab seade NeuMoDx System ettevalmistatud PCR-iks valmis segu kasseti NeuMoDx Cartridge ühte PCR-i kambri (proovi kohta). Kontrolli ja sihtmärgi (kui see on olemas) DNA sekveneerimise amplifitseerimine ja tuvastamine toimub PCR-i kambri. Kassett NeuMoDx Cartridge, sealhulgas PCR-i kamber, on kavandatud amplikoni hoidmiseks pärast reaalaaja PCR-i, vältides seeläbi sisuliselt saastumise ohu amplifikatsiooni järgselt.

Võimendatud sihtmärgid tuvastatakse reaalaajas hüdrolüüsiosondide keemia abil (tavaliselt nimetatakse seda TaqMan®-i keemiaks), kasutades fluoreenseete oligonukleotiidide sondimolekule, mis on spetsiifilised amplikonidele nende vastavate sihtmärkide jaoks.

Sonidid TaqMan koosnevad fluorofoorist, mis on kovalentselt seotud oligonukleotiidi sondi 5'-otsaga, ja kustutist 3'-otsas. Kui sond on intakne, on fluorofoor ja kustuti läheduses, mille tulemuseks on kustuti-molekul, mis kustutab fluorestsentsi, mille fluorofoor eraldab FRET-i (Försteri resonantsenergia ülekande) kaudu.

Sonidid TaqMan on kavandatud anniiluma konkreetse praimerite komplektiga amplifitseeritud DNA piirkonnas. Kui Taq DNA polümeraas pikendab praimerit ja sünteesib uue ahela, siis Taq DNA polümeraasi 5' kuni 3' eksonukleaasi aktiivsus lagundab matriitsiga kokkusulanud sondi. Sondide lagundamine vabastab sellest fluorofoori ja katkestab vahetu läheduse kustutiga, vältides sellega FRET-ist tulenevat kustutusmõju ja võimaldades suurendada fluorestsentsi.

TaqMan-i sondi, mis on märgistatud fluorofooriga (stimuleerimine: lainepikkusel 470 nm ja kiirgus: lainepikkusel 510) 5'-otsas ja tumedat kustutit 3'-otsas kasutatakse GAS-i DNA tuvastamiseks ning fluorofooriga märgistatud TaqMan-sondi (stimuleerimine: lainepikkusel 585 nm ja kiirgus: lainepikkusel 610) 5'-otsas ja tumedat kustutit 3'-otsas kasutatakse GCS/GGS-i DNA tuvastamiseks. Prooviprotsessi kontrolli tuvastamiseks märgistatakse TaqMan-sond alternatiivse fluorestsentsvärviga (stimuleerimine: lainepikkusel 530 nm ja kiirgus: lainepikkusel 555 nm) 5'-otsas ja tumeda kustutiga 3'-otsas. Seade NeuMoDx System jälgib iga amplifitseerimistsükli lõpus sondide TaqMan emiteeritud fluorestsentsignaali. Kui amplifikatsioon on lõpule jõudnud, analüüsib seade NeuMoDx System andmeid ja esitab lõpliku kvalitatiivse tulemuse (POSITIVE (POSITIIVNE) / NEGATIVE (NEGATIIVNE) / INDETERMINATE (MÄÄRAMATU) / UNRESOLVED (LAHENDAMATA)).

REAKTIIVID/KULUKAUBAD

Kaasasolevad materjalid

| REF | Sisukord | Teste ühikus | Teste pakis |
|--------|--|--------------|-------------|
| 209102 | NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip Kuivatatud reaalaaja PCR-reaktiivid, mis sisaldavad GAS- ja GCS/GGS-spetsiifilisi sonde ja praimereid TaqMan koos prooviprotsessi kontrollispetsiifiliste sondide ja praimeritega TaqMan. | 16 | 96 |

Vajalikud, kuid tarnekomplekti mittekuuluvad reaktiivid ja kulukaubad (saadaval eraldi ettevõttelt NeuMoDx)

| REF | Sisukord |
|--------|---|
| 100200 | NeuMoDx Extraction Plate Kuivatatud paramagnetilised osakesed, lüütiline ensüüm ja proovi töötlemise kontrollid |
| 401700 | NeuMoDx Lysis Buffer 6* |
| 400100 | NeuMoDx Wash Reagent |
| 400200 | NeuMoDx Release Reagent |
| 100100 | NeuMoDx Cartridge |
| 235903 | Filtriga otsakud Hamilton CO-RE / CO-RE II (300 µl) |
| 235905 | Filtriga otsakud Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µl) |

*Märkus. Seadme NeuMoDx System tarkvara versioonides, mis on vanemad kui 1.8.0.0, tuntakse puhvrit NeuMoDx Lysis Buffer 6 kui „Lysis Buffer 4“ (lüüsimispuhver 4). Vt lüüsimispuhvri NeuMoDx Lysis Buffer 6 kasutusjuhendit (tootekood 40600406) üksikasjalike hoiatuste ja ettevaatusabinõude kohta.

Vajalikud mõõteseadmed

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] või NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]

HOIATUSED JA ETTEVAATUSABINÕUD

- See test on ette nähtud kasutamiseks *in vitro* diagnostikas ainult seadmega NeuMoDx Systems.
- Ärge kasutage kulukaupu või reaktiive pärast märgitud kõlblikkuskuupäeva.
- Ärge kasutage ühtegi reaktiivi, kui turvasulgur on katki või kui pakend on saabumisel kahjustatud.
- Ärge kasutage kulukaupu ega reaktiive, kui kaitsekott on saabumisel avatud või katki.
- Analüüsi NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay pole valideeritud säilitusainetega kasutamiseks.
- Ärge koguge tamponiproove muudesse transpordisõõtetesse kui vedel Amies või sellega samaväärne. Analüüsi NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay pole valideeritud teiste transpordisõõtetega kasutamiseks.
- Proovi väiksem maht sõltub katsuti suurusest / proovikatsuti kandjast, nagu on määratletud seadmete NeuMoDx 288 ja 96 Molecular System käsiraamatus (p/n 40600108 ja 40600317).
- Üle 2 päeva vanuste kurgutamponiproovidega (mida on hoitud temperatuuril 2–8 °C) testi tegemine võib testriba NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip kasutamisel anda kehtetuid või ekslikke tulemusi.
- Vältige reaktiivide saastumist mikroobide ja desoksüribonukleasid (DNAas). Proovi ülekandmisel sekundaarsesse katsutisse on soovitatav kasutada steriilseid DNAasi-vabu ühekordseid ülekandepipette. Kasutage iga proovi jaoks uut pipetti.
- Saastumise vältimiseks ärge käsitage ega eraldage pärast amplifikatsiooni ühtegi kasseti NeuMoDx Cartridge. Ärge mingil juhul võtke kassette NeuMoDx Cartridge jäätmemahutitest. Kassett NeuMoDx Cartridge on loodud saastumise vältimiseks.
- Juhtudel, kui laboris viiakse läbi ka avatud katsuti PCR-teste, tuleb hoolitseda selle eest, et NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip, testimiseks vajalikud kulukaubad ja reaktiivid, isikukaitsevahendid, nagu kindad ja laborikitlid, ja seade NeuMoDx System ei saastuks.
- NeuMoDx reaktiivide ja kulukaupade käsitlemisel tuleb kanda puhtaid, pulbrivabu nitrilkindaid. Ärge puudutage kassetti NeuMoDx Cartridge ülemist pinda, testriba NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip või ekstraheerimisplaadi NeuMoDx Extraction Plate fooliumtihendi pinda ega lüüsimispuhvri NeuMoDx Lysis Buffer 6 ülemist pinda; kulukaupade ja reaktiivide käsitlemine peaks toimuma ainult külgpindu puudutades.
- Pärast testi tegemist peske hoolikalt käsi.
- Ärge pipeteerige suu abil. Ärge suitsetage, jooge ega sööge kohtades, kus käideldakse proove või reaktiive.
- Käideldel proove alati nakkusohtlikena ja vastavalt ohututele laboriprotseduuridele, mida on kirjeldatud sellistes väljaannetes nagu *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹¹ ja CLSI dokumendis M29-A3.¹²
- Utiliseerige kasutamata reaktiivid ja jäätmed vastavalt riigi, föderaal-, provintsi, osariigi ja kohalikele seadustele.

TOOTE SÄILITAMINE, KÄSITSEMIN JA STABIILSUS

- Iga reaktiivi kohta on vastavalt vajadusele esitatud ohutuskaardid (Safety Data Sheets, SDS).
- Testribad NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strips on esimeses pakendis stabiilsed temperatuuril 15–23 °C kuni toote vahetel etiketil märgitud kõlblikkusaja lõpuni.
- Ärge kasutage kulukaupu ega reaktiive pärast märgitud kõlblikkuskuupäeva.
- Ärge kasutage ühtegi analüüsitoode, kui visuaalsel vaatlusel on leitud esmase või sekundaarse pakendi kahjustusi.
- Pärast laadimist võib testriba NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip jääda seadmesse NeuMoDx System 14 päevaks. Laaditud testribade allesjäänud säilivusaega jälgib tarkvara ja teatab kasutajale reaalajas. Süsteem soovitab testriba eemaldamist, mis on olnud kasutuses pärast selle lubatud perioodi.

PROOVIKOGUMINE/TRANSPORTIMINE/SÄILITAMINE

- Testriba NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip on testitud arsti kogutud kurgutamponiproovide abil. Muude kui täpsustatud proovide toimivust ei ole hinnatud.
- Kogutud tamponiproove tuleks transportimise ajal hoida temperatuuril, mida soovitatakse tamponide kogumiskomplektis.
- Tamponiproove tuleks hoida temperatuuril 2–8 °C mitte kauem kui 2 päeva enne testimist ja kuni 8 tundi toatemperatuuril.

KASUTUSJUHEND

Proovikogumine/transport

1. Arsti kogutud kurgutamponid tuleb koguda vedelasse Amies transpordisõõtetesse.
2. Kui proove ei testita 8 tunni jooksul, tuleks neid enne testimist hoida temperatuuril 2–8 °C kuni 2 päeva.

Testi ettevalmistamine

1. Kandke proovikatsutile, mis ühildub seadmega NeuMoDx System, proovi võõtkoodisilt. Esmase kogumiskatsuti võib märgistada ja asetada otse proovikandjasse. Alternatiivina võib vedela Amies söötme alikvoodi viia sekundaarsesse katsutisse töötlemiseks seadmes NeuMoDx System.
2. Ühtlase jaotumise saavutamiseks keerutage kaapeproovi lühidalt lähtemahutis.
3. Tampooniproovi testimisel esmases tampoonikogumiskatsutis asetage võõtkoodiga märgistatud katsuti proovikatsuti kandjasse ja veenduge, et kork ja tampoon eemaldatakse enne laadimist seadmesse NeuMoDx System. ÄRGE jätke tampooni katsutisse.
4. Sekundaarse katsuti kasutamisel viige vedela Amies proovi $\geq 0,5$ ml alikvoot võõtkoodiga proovikatsutisse, mis ühildub seadmega NeuMoDx 32-Tube Specimen Tube Carrier.

Seadme NeuMoDx System kasutamine

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadmete NeuMoDx 288 ja 96 Molecular System käsiraamatuid; (tootekood 40600108 ja 40600317).

1. Täitke üks või mitu seadme testribakandjat NeuMoDx Test Strip Carrier testriba(de)ga NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip(s) ja kasutage puuteekraani, et laadida testribakandja(d) seadmesse NeuMoDx System.
2. Kui seadme NeuMoDx System tarkvara seda soovitab, lisage vajalikud kulukaubad seadme NeuMoDx System tarbitavatele kandjatele ja kasutage puutetundlikku ekraani kandja(te) laadimiseks seadmesse NeuMoDx System.
3. Kui seadme NeuMoDx System tarkvara seda soovitab, vahetage välja pesemisreaktiiv NeuMoDx Wash Reagent, vabastusreaktiiv NeuMoDx Release Reagent, tühjendage praimingujäätmed, biohtlike jäätmete mahuti (ainult NeuMoDx 288), otsikute jäätmemahuti (ainult NeuMoDx 96) või biohtlike jäätmete nõu (ainult NeuMoDx 96), vastavalt vajadusele.
4. Laadige proovikatsuti(d) sobivasse proovikatsuti kandjasse ja veenduge, et kõigilt proovikatsutitelt on korgid eemaldatud.
5. Asetage proovikatsutite kandja automaatlaadija riulile ja kasutage puutetundlikku ekraani kandja laadimiseks seadmesse NeuMoDx System. Sellega käivitatakse tuvastatavate analüüsise jaoks laaditud proovide töötlemine.

PIIRANGUD

- Testriba NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip saab kasutada ainult seadmetes NeuMoDx System.
- Testriba NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip toimivus on kindlaks tehtud arsti kogutud kurgutampooniproovide abil.
- Testriba NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip kasutamist koos teiste allikatega ei ole hinnatud ja selle testi toimivusnäitajad on muud tüüpi proovide puhul tundmatud.
- Kuna GAS-i ja GCS/GGS-i tuvastamine sõltub proovis esinevate organismide arvust, sõltuvad usaldusväärsed tulemused proovide nõuetekohasest kogumisest, käitlemisest ja säilitamisest.
- Proovide ebaõige kogumise, käitlemise, säilitamise, tehniliste vigade või proovide segiajamise korral võivad tekkida ekslikud katsetulemused. Lisaks võivad tekkida valenegatiivsed tulemused, kuna proovides leiduvate organismide arv on väiksem kui analüüsi analüütiline sensitiivsus.
- Analüüsi tohib teha ainult seadme NeuMoDx System kasutamise väljaõppe saanud personal.
- Kui prooviprotsessi kontroll ei amplifitseeru ja NeuMoDx Strep A/C/G Vantage testitulemus on negatiivne, esitatakse kehtetu tulemus (määramatu või lahendamata) ja testi tuleb korrata.
- Positiivne analüüsi tulemus ei tähenda tingimata elujõuliste organismide esinemist. Siiski võib oletada GAS-i ja/või GCS/GGS-i DNA esinemist.
- Kuigi ei ole teada GAS-i tüvesid/isolaate, millel puudub LPXTG-motiivi raku seina ankurdomeni sisaldava valgu piirkond, ega GCS/GGS-i, millel puudub nisiiniresistentsusvalgu piirkond, võib sellise tüve esinemine põhjustada eksliku tulemuse, kui kasutatakse testriba NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip.
- Mutatsioonid praimer/sondi seondumipiirkondades võivad mõjutada tuvastamist, kui kasutatakse testriba NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip.
- Analüüsi NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay tulemusi tuleks kasutada kliiniliste vaatluste ja muu arstile kättesaadava teabe täiendusena. Testi eesmärk ei ole eristada CAS-i ja/või GCS/GGS-i DNA kandjaid streptokokkhaiguse kandjatest.
- Samaaegne antibiootikumravi võib mõjutada testi tulemusi, kuna pärast antimikroobset ravi võib jätkuvalt tuvastada CAS-i ja/või GCS/GGS-i DNA-d.
- Proovide saastumise vältimiseks on soovitatav hea laboritava, sealhulgas kinnaste vahetamine erinevate patsiendiproovide käitlemise vahel.

TULEMUSED

NeuMoDx Molecular Systems

Kättesaadavaid tulemusi saab vaadata või printida seadme NeuMoDx System puutekraani akna Results (Tulemused) vahekaardilt „Results“ (Tulemused). Testitulemust nimetatakse Positive (Positiivne) (POS), Negative (Negatiivne) (NEG), Indeterminate (Määramatu) (IND) või Unresolved (Lahendamatu) (UNR) sihtmärgi ja prooviprotsessi kontrolli (Sample Process Control, SPC1) amplifikatsiooni oleku alusel.

Positiivse või negatiivse tulemuse kriteeriumid on täpsustatud analüüsi NeuMoDx System Strep A/C/G Vantage Assay analüüsi definitsioonifailis (ADF), nagu on süsteemi(desse) installitud NeuMoDx Molecular, Inc. Tulemused on esitatud ADFi otsustusalgoritmi alusel, kokkuvõtte allpool tabelis 1.

Tabel 1. Analüüsi Strep A/C/G Vantage Assay otsustusalgoritmi kokkuvõtte

| TULEMUS | GAS ja/või GCS/GGS SIHTMÄRGID | TÖÖTLEMISKONTROLL (SPC1) |
|-------------------|---|------------------------------|
| POS | Amplified (Amplifitseeritud) | Pole kohaldatav |
| NEG | Not Amplified (Mitteamplifitseeritud) | Amplified (Amplifitseeritud) |
| IND (MÄÄRAMATU) | Not Amplified, System Error Detected (Mitteamplifitseeritud, tuvastatud süsteemiviga) | |
| UNR (LAHENDAMATA) | Not Amplified, No System Error Detected (Mitteamplifitseeritud, Süsteemiviga pole tuvastatud) | |

Kehtetud tulemused

Kui seadmel NeuMoDx System NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay ei anna kehtivat tulemust, esitatakse see kas tulemusena Indeterminate (Määramatu) või Unresolved (Lahendamatu) olenevalt tekkinud veatüübist ja testi tuleb kehtiva tulemuse saamiseks korrata.

Kui proovi töötlemisel tuvastatakse seadme NeuMoDx System tõrge, esitatakse tulemus Indeterminate (Määramatu).

Tulemus Unresolved (Lahendamatu) esitatakse juhul, kui sihtmärki ei tuvastata ja prooviprotsessi kontrolli amplifitseerimist ei toimu, mis viitab võimalikule reaktiivi tõrkele või inhibiitorite olemasolule.

Kvaliteedikontroll

Kohalikud eeskirjad määravad tavaliselt, et labor vastutab kontrolliprotseduuride eest, millega jälgitakse kogu analüüsiprotsessi täpsust ja kordustäpsust, ning peab määrama kontrollmaterjalide testimise arvu, tüübi ja sageduse, kasutades kontrollitud toimivusspetsifikatsioone modifitseerimata, heakskiidetud testsüsteemi jaoks.

- Väliseid (kasutaja määratud) kontrollmaterjale ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. ei paku. Sobivad kontrollid peab valima ja kinnitama labor. Kontrollid peavad vastama samadele väikseima mahu spetsifikatsioonidele kui täpsustatud kliinilised proovid. Kasutaja võib määratleda konkreetsed vöötkoodid iga positiivse ja negatiivse kontrolli jaoks või määrata vöötkood(id) juhuslikult.
- Soovitavad: 1 *Streptococcus pyogenes* LYFO DISK™ (Microbiologics® 0508L) ja 1 *Streptococcus dysgalactiae* alamliik *equisimilis* LYFO DISK (Microbiologics® 0602L), mis on taastatud vastavalt tootja juhiste, lahendatud 50 ml vedelas Amies söötmes, säilitatud ja kasutatud 0,5 ml alikvootidena. Kontrollide töötlemisel pange märgistatud kontrollid proovikatsutikandjasse ja laadige kandja automaatladija riulilt puuetundliku ekraani abil seadmesse NeuMoDx System. Seade NeuMoDx System tunneb ära vöötkoodid (kui kasutaja on need eelnevalt määranud) ja alustab kontrollide töötlemist, välja arvatud juhul, kui testimiseks vajalikud reaktiivid või kulukaubad pole saadaval.
- Prooviprotsessi kontrolli 1 (Sample Process Control, SPC1) spetsiifilised praimerid ja sond lisatakse igale testribale NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip. See proovi töötlemise kontroll võimaldab seadmel NeuMoDx System jälgida DNA ekstraheerimise ja PCR-i amplifikatsiooniprotsesside tõhusust.
- Negatiivse kontrolliproovi katsetulem Positive (Positiivne) näitab proovi saastumise probleemi. Tõrkeotsingu näpunäiteid leiate NeuMoDx 288 või 96 Molecular System käsiraamatust.
- Positiivse kontrolliproovi negatiivne tulemus võib osutada reaktiiviga või seadmega NeuMoDx System seotud probleemile. Tõrkeotsingu näpunäiteid leiate NeuMoDx 288 või 96 Molecular System käsiraamatust.

TOIMIVUSNÄITAJAD

Kliiniline toimivus

Analüüsi NeuMoDx Strep Vantage A/C/G Assay kliinilised toimivusnäitajad määrati sisemise retrospektiivse meetodi võrdlusuuringu abil, kasutades kurgu tampooniproovide jääkproove, mis olid pärit kahest geograafiliselt erinevast kliinilisest laborist.

Sümptomaatiliste patsientide tampooniproovide jääkproovid tuvastati kliinilistes laborites ja neile anti kordumatu ID-number, luues konfidentsiaalse nimekirja, mis seob patsiendi ID uuringu eesmärgil testitud deidentifitseeritud proovidega. Testiti kokku kahest kliinilisest laborist

saadud 230 jääkproovi. 230 proovi hulgast tuvastati kliiniliste laborite poolt 68 proovi GAS-positiivsena ja 47 proovi GCS/GGS-positiivsena. Üks proov oli positiivne nii GAS-i kui ka GCS/GGS-i suhtes, mis viitab duaalsele või kaasinfektsioonile. „Üksiku pimeuuringu“ läbiviimiseks salastati nende proovide analüüsistaatus kasutaja eest. Meetodite võrdlusanalüüsi tegemiseks kasutati tulemusi, mis saadi konkreetsetest FDA ja CE poolt heakskiidetud, seaduslikult turustatud molekulaarsetest seadmetest, mida kasutati laboratooriumides tavaravi korral testimiseks.

Analüüsi NeuMoDx Strep A/C/G Vantage tulemused andsid kliinilise sensitiivsuse 100% GAS-sihtmärgi ja 95,9% GCS/GGS-sihtmärgi korral, mõlemad esitatuna 95% usaldusvahemikuga (confidence interval, CI). Uuringu kliiniliseks spetsiifilisuseks määrati nii GAS-i kui GCS/GGS-i korral 100%, kasutades jällegi 95% CI-d. Allpool tabelites 2A ja 2B esitatud 95% CI (usaldusvahemiku) alumine ja ülemine piir arvutati Wilsoni protseduuri abil koos pidevuse korrigeerimisega.

Tabel 2A. Kliinilise toimivuse kokkuvõte – *S. pyogenes*'e tuvastamine testribaga NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip

| GAS | | FDA/CE heakskiidetud Võrdlustesti tulemus | | |
|---|-------|---|-----|-------|
| | | POS | NEG | Kokku |
| NeuMoDx Strep A/C/G | POS | 68 | 0 | 68 |
| | NEG | 0 | 162 | 162 |
| | Kokku | 68 | 162 | 230 |
| Kliiniline sensitiivsus (GAS) = 100% (93,3–100) | | | | |
| Kliiniline spetsiifilisus (GAS) = 100% (97,1–100) | | | | |

Tabel 2B. Kliinilise toimivuse kokkuvõte – *S. dysgalactiae* tuvastamine testribaga NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip

| GCS/GGS | | FDA/CE heakskiidetud Võrdlustesti tulemus | | |
|---|-------|---|-----|-------|
| | | POS | NEG | Kokku |
| NeuMoDx Strep A/C/G | POS | 47 | 0 | 47 |
| | NEG | 2 | 181 | 183 |
| | Kokku | 49 | 181 | 230 |
| Kliiniline sensitiivsus (GCS/GGS) = 95,9% (84,9–99,3) | | | | |
| Kliiniline spetsiifilisus (GCS/GGS) = 100% (97,4–100) | | | | |

Analüütiline sensitiivsus

Analüüsi NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay tuvastamispiir (Limit of Detection, LoD) määrati GAS-, GCS- ja GGS-sihtmärkidega rikastatud negatiivsetes kliinilistes kurguproovides: vastavalt *Streptococcus pyogenes* (ATCC 700294), *Streptococcus dysgalactiae* alamliiki *equisimilis* (ATCC 35666) ja *Streptococcus dysgalactiae* alamliiki *equisimilis* (ATCC 12384). Kõik uuringu proovid valmistati ühendatud ja sõelutud streptokokk-negatiivsete kliinilistes kurgutampooniproovides ja rikastati eraldi sihtmärkidega kontsentratsioonides 50 CFU/ml GAS-i, 2500 CFU/ml GCS-i või 10 000 CFU/ml GGS-i. Iga sihtmärki testiti 40 kordusega ja kinnitamiseks kasutati kokkulangevuse analüüsi, et saavutatud on $\geq 95\%$ tuvastamismäär, mis võimaldab neid kontsentratsioone aktsepteerida antud sihtmärkide LoD-na. Tuvastamispiiri uuringu tulemused on kokku võetud allpool tabelis 3.

Tabel 3. Analüüsi NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay tuvastamispiiri kokkulangevuse määramine

| Sihtväärtus | Kontsentratsioon (CFU/ml) | n | Positiivsete arv | Positiivsete % | LoD (kokkulangevus) |
|-------------|---------------------------|----|------------------|----------------|---------------------|
| GAS | 50 | 40 | 40 | 100 | 50 CFU/ml |
| GCS | 2500 | 40 | 40 | 100 | 2500 CFU/ml |
| GGS | 10 000 | 40 | 40 | 100 | 10 000 CFU/ml |

Analüüsi NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay tuvastamispiir on väidetavalt 50 CFU/ml GAS-i korral, 2500 CFU/ml GCS-i korral ja 10 000 CFU/ml GGS-i korral.

Variantide tuvastamine

Analüüsi NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay analüütilist sensitiivsust kinnitati täiendavalt 11 erineva GAS-i tüve, 7 GCS-i tüve ja 9 GGS-i tüvega. Testimiseks kasutati GAS-i, GCS-i ja GGS-i tüvesid, mis on loetletud allpool tabelis 4. Kindlaksmääratud kontsentratsiooniga sihtmärgid rikastati negatiivsetele kliinilistele tampooniproovidele enne testimist vastava 2-kordse LoD-ga, nagu on loetletud eespool, et kinnitada $\geq 95\%$ tuvastamist. Variantseid tüvesid, mis sellele nõudele ei vastanud, testiti uuesti kõrgemates kontsentratsioonides, kuni saavutati tuvastamine $\geq 95\%$. Tase, mille korral see iga tüve jaoks saavutati, on esitatud tabelis 4 selle variandi LoD-na.

Tabel 4. GAS-i, GCS-i ja GGSd testitud varianttüved

| | Tüvi | n | Kontsentratsioon, CFU/ml | Positive (Positiivne) | Negative (Negatiivne) | Tuvastamismäär (%) |
|---|----------------|-------|--------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------|
| S. pyogenes (A-rühm) | 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 alamiliik equisimilis (C-rühm) | 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 alamiliik equisimilis (G-rühm) | NIH 1129 | 5 | 10 000 | 5 | 0 | 100 |
| | G16 | 5 | 10 000 | 5 | 0 | 100 |
| | CCUG 15679 | 5 | 10 000 | 5 | 0 | 100 |
| | G47 | 5 | 10 000 | 5 | 0 | 100 |
| | CCUG 27483 | 5 | 10 000 | 5 | 0 | 100 |
| | CCUG 33802 | 5 | 10 000 | 5 | 0 | 100 |
| | CCUG 502 | 5 | 10 000 | 5 | 0 | 100 |
| | CCUG 15680 | 5 | 20000 | 5 | 0 | 100 |
| CCUG 24070 | 5 | 20000 | 5 | 0 | 100 | |

Analüütiline spetsiifilisus

Analüüsiga NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay testimisel hinnati võimaliku ristreaktiivsuse suhtes 45 kultuuri-isolaati või DNA-d organismidest, mis elavad potentsiaalselt koos või on fülogeneetiliselt sarnased GAS-i või GCS/GGS-iga. Organismid valmistati ette 3–6 organismi kogumites ja neid testiti kõrge kontsentratsiooniga. Bakteriaalsed organismid rikastati GAS/GCS/GGS-negatiivsele vedelale Amies söötmele koguses 6–9 × 10⁶ CFU/ml ja viirusained koguses 1 × 10⁶ koopiat DNA/ml, välja arvatud juhul, kui on märgitud teisiti. Ühegi selles uuringus analüüsitud patogeeni korral ristreaktiivsust ei täheldatud. Testitud organismide loetelu on näidatud tabelis 5.

Tabel 5. Patogeenide loetelu, mida kasutatakse analüütilise spetsiifilisuse tõendamiseks

| Bakterid | Bakterid | Bakterid |
|--|---|--------------------------------------|
| <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> | Viirused |
| <i>Escherichia coli</i> | <i>Streptococcus agalactiae</i> | |
| <i>Fusobacterium necrophorum</i> | <i>Streptococcus anginosus</i> | Adenoviirus, I tüüpi * |
| <i>Klebsiella pneumonia</i> | <i>Streptococcus bovis</i> | <i>Haemophilus influenzae</i> tüüp A |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | <i>Streptococcus canis</i> | A-gripp |
| <i>Lactococcus lactis</i> | <i>Streptococcus canis</i> (STR T1) | B-gripp |
| <i>Legionella micdadei</i> | <i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i> (group C) | Paragripp, tüüp 4b [†] |
| <i>Legionella pneumophila</i> | <i>Streptococcus gordonii</i> | Rinoviirus, tüüp 1A |
| <i>Moraxella cartarrhalis</i> | <i>Streptococcus intermedius</i> | |

* I tüüpi adenoviirusega rikastati koguses 1×10^6 TCID₅₀/ml

[†] *Bordetella pertussis*'ega ja paragripi tüübiga 4b rikastati koguses 10 ng/ml

Segava mõjuga ained – kommensaalsed organismid

Analüüsi NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay testiti häirete suhtes mittesihtrorganismide (neelu tagaosas kaasnevate) juuresolekul, hinnates NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay toimivust GAS-i ja GCS/GGS-i madalate kontsentratsioonide esinemisel seadmel NeuMoDx Molecular System. Selles uuringus kasutati sama 45 organismi paneeli [tabel 5] ristreaktiivsuse hindamiseks. Organismid ühendati 3–6 organismist koosnevatesse rühmadesse GAS/GCS/GGS-negatiivses vedelas Amies söötmes ja neid rikastati 150 CFU/ml GAS-i, 7500 CFU/ml GCS-i ja 30 000 CFU/ml GGS-i sihtmärkidega. Ühegi kommensaalse organismiga segamist ei täheldatud.

Segava mõjuga ained – endogeensed ja eksogeensed ained, mida leidub kurgu kliinilistes tamponiproovides

Analüüsi NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay toimivust hinnati potentsiaalselt segavate ainete juuresolekul, mis võivad olla seotud patsiendilt kurgu tamponiproovi kogumisega [tabel 6]. Kõiki aineid testiti võimalike segamise suhtes GAS-i, GCS-i ja GGS-i puudumisel ja esinemisel. 3-kordse LoD juures rikastatud vedelatele Amies proovidele lisati endogeenseid ja eksogeenseid osi, mis olid lahustatud või lahjendatud molekulaarses vees kindlaksmääratud kontsentratsioonides, kasutades küllastunud tamponi. Ühelgi testitud ainel ei olnud negatiivset mõju GAS-i või GCS/GGS-i tuvastamisele.

Tabel 6. Testitud eksogeensed ja endogeensed segava mõjuga ained vedelates Amies tamponiproovides

| | Segava mõjuga aine | Põhikontsentratsioon |
|---|---|-------------------------|
| Eksogeenne | Altoids™ (Spearmint) | 10% (massi/mahu alusel) |
| | Aspirin™ | 10% (massi/mahu alusel) |
| | CEPACOL® Extra Strength Sore Throat & Cough Lozenges (eriti tugevad kurgu- ja köhapastillid) | 5% (massi/mahu alusel) |
| | Children's Dimetapp® Cold & Cough | 15% (mahu alusel) |
| | Chloraseptic® Max Sore Throat Lozenges (kurguvalu pastillid) | 10% (massi/mahu alusel) |
| | Chloraseptic Sore Throat Spray (kurguvalu pihus) | 10% (mahu alusel) |
| | Cold-EEZE® Zinc Lozenges (tsingipastillid) | 15% (massi/mahu alusel) |
| | Crest® Pro-Health Advanced Gum Protection (täiustatud igemekaitse) | 4% (massi/mahu alusel) |
| | Halls™ Cough Drops (Cherry) (köhatilgad, kirsimaitselised) | 15% (massi/mahu alusel) |
| | Halls Cough Drops (Cherry) (köhatilgad, mentooli-eukalüptimaitselised) | 15% (massi/mahu alusel) |
| | ICE BREAKERS® Mints (Cool Mint) | 10% (massi/mahu alusel) |
| | LISTERINE® Total Care Mouthwash (suuvesi) | 15% (mahu alusel) |
| | LISTERINE Ultra-clean Antiseptic Mouthwash (antiseptiline suuvesi) | 15% (mahu alusel) |
| | *Ricola® Original Swiss Sugar Free Herb Cough Suppressant Throat Drops (suhkruvabad köhapärssivad ürdi-kurgutilgad) | 15% (massi/mahu alusel) |
| | Robitussin® Max Strength Nighttime Cough DM (maksimaalse tugevusega öine köharavim) | 10% (mahu alusel) |
| | Sucrets® Sore Throat & Cough Lozenges (Vapor Cherry) (kurguvalu ja köhapastillid) | 5% (massi/mahu alusel) |
| | Tic Tac® Freshmints | 10% (massi/mahu alusel) |
| Wal-Tussin DM Max Cough Syrup (maksimaalse tugevusega köhasiirup) | 10% (mahu alusel) | |
| Endogeenne | Sülg | 100% |
| | Täisveri | 10% (mahu alusel) |

**Algselt ei amplifitseerunud üks kolmest 3-kordse LoD-ga testitud GAS-proovist Ricola kurgutilkade juuresolekul, kuid toimis ootuspäraselt korduskatsel.*

Partiidevaheline reprodutseeritavus

Analüüsi NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay partiidevahelist reprodutseeritavust kontrolliti testriba NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip ja lüüsimispuhvri NeuMoDx Lysis Buffer 6 kolme eraldi partii kvaliteedianalüüsi andmete retrospektiivse analüüsi abil. Need andmed saadi reaktiivide funktsionaalse testimise teel vedelas Amies transpordisöötmes, millel oli rikastatud GAS-i ja GCS-i tüüpiliste tüvedega nende sihtmärkide LoD koguses. Testriba NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip partii kohta töödeldi kokku 64 positiivset ja 16 negatiivset replikaati; lüüsimispuhvri NeuMoDx Lysis Buffer 6 hindamine hõlmas 16 positiivset ja 8 negatiivset replikaati. Erinevust tootmispartiide vahel analüüsiti keskmise C_t -väärtuse, standardhälbe ja protsentuaalse variatsioonikordaja (%CV) määramisega, nagu on näidatud tabelis 7. Standardhälbe väärtused $\leq 1,1$ ja variatsioonikordaja väärtused $\leq 3,0\%$ nii GAS-i kui GCS-i sihtmärkide korral andsid suurepärase reprodutseeritavuse analüüsi NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay põhireaktiivide partiide osas.

Tabel 7. % CV analüüs sihtmärkide alusel analüüsi NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay põhikomponendi partiide lõikes

| | GAS | | | GCS | | | Kõik tulemused | | |
|-------------------------------|-------------|----------|-------|-------------|----------|-------|----------------|----------|------|
| | \bar{C}_t | C_t SD | %CV | \bar{C}_t | C_t SD | %CV | \bar{C}_t | C_t SD | %CV |
| (3 partii lõikes) | | | | | | | | | |
| 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% |

Värske versus külmutatud proovi ekvivalentsus

Testimine tehti selleks, et näidata proovimaatriksi ekvivalentsust värskete ja külmutatud kurgu tampooniproovide vahel. Negatiivsete kliinilised proovid rikastati GAS-, GCS- ja GGS-sihtmärgiga analüüsi NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay 3-kordses LoD koguses ja neid töödeldi analüüsi NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay abil. Seejärel hoiti iga proovi temperatuuril -80°C kuni külmumiseni, sulatati ja töödeldi uuesti. Värskete ja külmutatud tampooniproovide tulemusi võrreldi ekvivalentsuse osas regressioonanalüüsiga. Andmed näitasid värskete ja külmutatud tampooniproovide suurepärasest ekvivalentsust.

Kontrolli tõhusus

Testribas NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip sisalduva prooviprotsessi kontrolli tõhusust analüüsi NeuMoDx A/C/G Vantage Assay toimivust mõjutavate mistahes protsessietapi tõrgete või inhibeerimise teatamiseks hinnati seadmel NeuMoDx Molecular System. Testitud tingimused esindavad kriitilisi protsessietappide tõrkeid, mis võivad potentsiaalselt tekkida proovide töötlemise ajal ja mida seadme NeuMoDx System toimivust jälgivad süsteemiandurid *ei pruugi tuvastada*. Kontrolli tõhusust hinnati, simuleerides erinevate proovi töötlemise vooretappide ebaõnnestumist, et jäljendada potentsiaalset süsteemi viga, ja lisades proovile teadaolevat inhibiitorit, et jälgida inhibiitorite ebatõhusa leevendamise mõju proovi töötlemiskontrolli tuvastamisele (vt *tabelit 8*). Juhtudel, kui töötlemisvead ei mõjutanud ebasoodsalt prooviprotsessi kontrolli toimimist (NO WASH/NO WASH BLOWOUT) (ei ole pesemist/pesemise väljauhtumist), korraldi katset proovidega, mis sisaldasid madalat GAS-i ja GCS/GGS-i kontsentratsiooni (LoD lähedal), et kinnitada, et protsessi viga ei avaldanud ka kahjulikku mõju GAS-i või GCS/GGS-i sihtmärgi tuvastamisele. *Tabelis 8* on kokku võetud kontrolli verifitseerimistest tõhususe tulemused.

Tabel 8. Kontrolli andmete tõhususe kokkuvõte

| Tingimus | Oodatud tulemus | Täheldatud tulemus |
|---|--|------------------------------|
| Normal Processing (Normaalne töötlemine) | Negative (Negatiivne) | Negative (Negatiivne) |
| Normal Processing + Inhibitor (Normaalne töötlemine + inhibiitor) | Unresolved (Lahendamata) | Unresolved (Lahendamata) |
| No Wash Reagent (Pesemisreaktiivi pole) | Unresolved (Lahendamata) või Negative (Negatiivne) | Negative* (Negatiivne*) |
| No Wash Blowout (Pesemisreaktiivi väljauhtumist ei toimu) | Unresolved (Lahendamata) või Negative (Negatiivne) | Negative (Negatiivne) |
| No Release Reagent (Vabastusreaktiivi pole) | Indeterminate (Määramatu) | Indeterminate (Määramatu) |
| No PCR Master Mix Reagents (PCR-i põhisegu reaktiivi pole) | Indeterminate (Määramatu) | Indeterminate (Määramatu) |

* Harvadel juhtudel leiti, et madalad positiivsed GAS-proovid annavad valenegatiivse tulemuse, ühendatuna süsteemirikkega pesemisreaktiivi kohaletoimetamisel. Seda täheldati GAS-i taseme korral alla 500 CFU/ml, mis on tublisti alla positiivse kliinilise tampooniproovi keskmise kontsentratsiooni, ja enamikul juhtudest võib selle tõenäoliselt lahendada kordustestimise tõenäolise tegemisega pärast ühekordseid valenegatiivseid tulemusi.

Olemasolevate kaapeproovide stabiilsus

Streptokokk-negatiivsete kliinilisi kaapeproove rikastati GAS-, GCS- ja GGS-sihtmärgidega 10–15-kordse LoD-na, hoiti 48 tundi temperatuuril 4°C ja seejärel töödeldi analüüsiga NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay koos võrdse arvu negatiivsete proovidega. Töötlemise lõpus jäeti kõik positiivsed ja negatiivsed proovikatsutid 8 tunniks süsteemi töölaualale toatemperatuurile ja seejärel töödeldi uuesti. Oodatav tulemus kõigis 0- ja 8-tunnistes ajapunktides oli POSITIIVNE (vastava sihtmärgi jaoks) kõigi GAS-, GCS- või GGS-sihtmärgiga rikastatud tampooniproovide ja NEGATIIVSETE (mõlema sihtmärgi korral) tampooniproovide korral, mis ei olnud sihtmärgiga rikastatud. Mõlemas ajapunktis täheldati 100%-list vastavust oodatava tulemusega, mis näitab, et testribaga NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip testimisel on süsteemisene stabiilsus 8 tundi. Tulemused on kokku võetud allpool *tabelis 9*.

Tabel 9. Seadmes olemasoleva proovi stabiilsuse andmete kokkuvõte

| Proovide stabiilsus süsteemis | % positiivne, T ₀ | | | % positiivne, 8 h | | |
|-------------------------------|------------------------------|---------|------|-------------------|---------|------|
| | 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 |
| GGG [ATCC 12384] | 0 | 100 | 100 | 0 | 100 | 100 |
| Negative (Negatiivne) | 0 | 0 | 100 | 0 | 100 | 100 |

VIITED

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

Tähusõnad

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.

KAUBAMÄRGID

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

SÜMBOLID

| SÜMBOL | TÄHENDUS |
|---|---|
| R only | Ainult retsepti alusel |
|  | Tootja |
|  | <i>In vitro</i> diagnostiline meditsiiniseade |
|  | Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses |
|  | Katalooginumber |
|  | Partii kood |
|  | Kasutamise lõppkuupäev |
|  | Temperatuuri piir |
|  | Niiskuse piirmäär |
|  | Mitte korduskasutada |
|  | Sisaldab piisavalt <n> testi jaoks |
|  | Vaadake kasutusjuhendit |
|  | Ettevaatust |
|  | Bioloogilised ohud |
|  | CE-märgis |



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

Sponsor (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



Tehniline tugi / järelevalve analüüs: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents