

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

R only

DĖMESIO. Skirta tik JAV eksportui

IVD Skirta *in vitro* diagnostikai naudojant sistemas „NeuMoDx 288“ ir „NeuMoDx 96 Molecular System“


Informacinių lapelių atnaujinimai pateikiami svetainėje: www.qiagen.com/neumodx-ifu
 Išsamias instrukcijas žr. „NeuMoDx 288 Molecular System“ operatoriaus vadove; leid. Nr. 40600108
 Išsamias instrukcijas žr. „NeuMoDx 96 Molecular System“ operatoriaus vadove; leid. Nr. 40600317

PASKIRTIS

Tyrimas „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“, atliekamas sistemomis „NeuMoDx 96 Molecular System“ ir „NeuMoDx 288 Molecular System“, yra greitas automatizuotas kokybinis *in vitro* nukleorūgščių amplifikacijos tyrimas, skirtas tiesiogiai aptikti ir atskirti *Streptococcus pyogenes* (piogeninį A grupės β hemolizinį *Streptococcus* [AGS]) ir *Streptococcus dysgalactiae* (piogeninį C ir G grupės β hemolizinį streptokoką, įskaitant C grupės *dysgalactiae* porūšį ir *Streptococcus dysgalactiae* C ir G grupės *equisimilis* porūšį [GCS / GGS]) gerklės tepinėlių mėginiuose, gautuose iš pacientų, kuriems pasireiškė faringito požymiai ir simptomai. Tyrime naudojama realiojo laiko polimerazės grandininė reakcija (PGR), siekiant atskirti nustatyti *Streptococcus pyogenes* ir *Streptococcus dysgalactiae* DNR gerklės tepinėlių mėginiuose. Tyrimas „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ skirtas naudoti kaip pagalbines priemones diagnozuojant AGS ir GCS / GGS infekcijas simptomų turintiems pacientams. Šis tyrimas nėra skirtas AGS ar CGS / GGS infekcijų gydymui nustatyti ar stebėti. Norint atkurti organizmus epidemiologiniam tipo nustatymui arba tolesniam jautrumo tyrimui, gali prireikti kelių tuo pačiu metu išaugintų kultūrų.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Tyrimas „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ yra skirtas AGS ir CGS / GGS DNR tuo pat metu aptikti ir atskirti. Tyrime tiriama baltymo, kuriame yra LPXTG motyvo ląstelės sienelę prijungiantis domenas, sritis ir CGS / GGS genomuose esančio atsparumo nizinui baltymo seka. Norint tyrimu „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ aptikti AGS ir (arba) CGS / GGS DNR, gerklės tepinėlio ėminys surenkamas į skystą Amies transportavimo terpę. Ruošiantis tyrimui, skystos Amies transportavimo terpės mėgintuvėlis įdedamas į specialius ėminių laikiklius ir įkeliamas į sistemą „NeuMoDx System“, kad galima būtų pradėti apdorojimą. Kiekvienam ėminiui sistema „NeuMoDx System“ sumaišo 50 μl alikvotinės skystos Amies transportavimo terpės dalies su lizės buferiniu tirpalu „NeuMoDx Lysis Buffer 6“ ir automatiškai atlieka visus veiksmus, reikiamus norint ekstrahuoti taikinio nukleorūgštį, paruošti realiojo laiko PGR amplifikacijai skirtą izoliuotą DNR ir, jei yra, amplifikuoti bei aptikti amplifikacijos produktus (*tikslinių* AGS, CGS ar GGS genomų genų sekų sritis).

Tyrimas „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ yra DNR ėminio apdoravimo kontrolinė medžiaga (Sample Process Control 1, SPC1), padedanti stebėti galimai slopinančias medžiagas ir sistemas „NeuMoDx System“ ar reagentų triktis, kurios gali atsirasti ekstrahavimo ir amplifikacijos procesų metu.

Užsikrėtus *Streptococcus pyogenes*, Lancefield A serogrupei priklausančia beta-hemolizine bakterija, dar vadinama A grupės streptokokais (AGS), žmonėms kyla daugybė įvairių ligų. Plačiai paplitęs *S. pyogenes* organizmas yra pati dažniausia ūminio faringito arba ryklės uždegimo, dažnai vadinamo streptokokine angina, bakterinė etiologija. Streptokokine angina dažniau suseraga vaikai. Dėl šios bakterijos vaikams kyla apie 20–30 % faringito infekcijų, o suaugusiesiems – apie 5–15 %.^{1,2} Antimikrobinėmis medžiagomis negydomiems pacientams dažniausiai pasireiškia pūlingos faringito komplikacijos, įskaitant vidurinės ausies uždegimą, sinusitą, peritonilinius ar retrofaringinius abscesus ir pūlingą gimdos kaklelio adenitą. Taip pat galimos tokios nepūlingos komplikacijos, kaip ūmi reumatinė karštligė (Acute Rheumatic Fever, ARF) ir ūmus glomerulonefritas.³

Streptococcus dysgalactiae por. *equisimilis* (GGS / CGS) – tai įprasta komensalinė žmogaus viršutinių kvėpavimo takų flora. Šie organizmai dažnai yra besimptomiai odos, virškinimo trakto ir moterų lytinių takų kolonizatoriai. Dėl to dažnai nuvertinamas jų vaidmuo streptokokinės ligos naštai atžvilgiu, nes CGS / GGS siejami su tomis pačiomis ligomis, kurias sukelia *S. pyogenes*. Vaikams šie organizmai dažniausiai sukelia kvėpavimo takų infekcijas, ypač faringitą. Tikrajį C ir G grupių streptokokų sukeltą faringito sergamumą rodiškai sunku nustatyti dėl besimptomės kolonizacijos dažnumo. Nepaisant to, yra įtikinamų įrodymų, kad C ir G grupės streptokokai yra tikrieji faringito sukėlėjai.²⁻⁴ Žmogaus kilmės CGS / GGS dabar laikomi vienu porūšiu – *Streptococcus dysgalactiae* por. *equisimilis*. Palyginus visą GGS klinikinio izoliato genomą su *S. dysgalactiae* por. *equisimilis*, su kitos streptokokų rūšies genomu seka, nustatyta, kad ji glaudžiausiai susijusi su *S. pyogenes* – sekų panašumas siekia 72 proc.⁵ *S. dysgalactiae* por. *equisimilis* ir *S. pyogenes* būdinga daug tų pačių virulentiškumo veiksnių, įskaitant antifagocitinį M baltymą, streptoliziną O, streptoliziną S, streptokinazę ir vieną ar daugiau pirogeninių egzotoksinių, panašių į tuos, kurie pasireiškia streptokokinio toksinio šoko metu.⁵

Nors streptokokų sukeltas faringitas paprastai savaime praeina, svarbu greitai ir tiksliai jį nustatyti, nes pradėjus anksti gydyti tinkamais antibiotikais galima sumažinti simptomų sunkumą ir trukmę, organizmo perdavimą ir ūminės reumatinės karštligės riziką.³ Kadangi daugelis faringito atvejų yra virusinės kilmės, tiksliai diagnozė gali sumažinti nereikalingą antibiotikų vartojimą ir galimą atsparumo antibiotikams vystymąsi. Vis dėlto yra sudėtinga nustatyti diagnozę remiantis vien tik klinikiniais požymiais, nes AGS ir virusinio faringito simptomai yra tokie patys. Auksinis AGS aptikimo standartas vaikų populiacijoje – tai gerklės tepinėlių kultūra naudojant kraujo agarą. Tačiau dėl santykinai ilgo laiko tarpo tarp mėginio paėmimo ir galutinės mikrobiologinės diagnozės (maždaug 48 valandos), šis metodas yra mažiau naudingas įprastam ambulatoriniam gydymui. Nuo devintojo dešimtmečio AGS nustatyti buvo naudojami rinkoje prieinami greitieji antigenų testai (Rapid Antigen Detection Test, RADT).^{6,7} RADT privalumas yra tas, kad juos galima greitai atlikti gydytojo kabinete. Tačiau nepaisant gero specifiškumo (>95 %), RADT jautris (~86 %) dažnai yra mažesnis nei kultūros metodo.⁶ Nuolatinis kultūros metodus galinčių pranokti itin jautrių ir greitų tyrimų poreikis paskatino plėtoti molekulinis tyrimus. AGS aptikti buvo sukurti nukleorūgščių amplifikacijos tyrimo (Nucleic Acid Amplification Test, NAAT) metodai, kurie dažniausiai yra jautresni (>90 %) ir pasižymi geru specifiškumu (>95 %).⁸⁻¹⁰

Naudojant tyrimą „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“, galima greitai ir tiksliai aptikti A grupės bei piogeninius C ir G grupės streptokokus.

PROCEDŪROS PRINCIPAI

Tyrimė „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ naudojamos DNR ekstrahavimo, amplifikavimo / aptikimo realiojo laiko PGR metodu technologijos. Gerklės tepinėlių ėminiai surenkami į skystos Amies transportavimo terpės paėmimo mėgintuvėlius. Sistema „NeuMoDx System“ automatiškai išsiurbia alikvotinę skystos Amies terpės tepinėlio mėginio dalį, kad sumaišytų su lizės buferiniu tirpalu „NeuMoDx Lysis Buffer 6“ ir plokštelėje „NeuMoDx Extraction Plate“ esančiais ekstrahavimo reagentais bei pradėtų apdorojimą. „NeuMoDx System“, naudodama realiojo laiko PGR metoda, automatizuoja ir integruoja DNR ekstrahavimą ir koncentravimą, reagento paruošimą ir tikslių sekų nukleorūgščių amplifikavimą / aptikimą. Naudojant pridėtą ėminio apdoravimo kontrolinę medžiagą (Sample Process Control 1, SPC1), galima stebėti galimai slopinančias medžiagas ir su sistema, apdorojimu ar reagentu susijusias triktis. Įkėlus mėginį į sistemą „NeuMoDx System“, operatoriui jokių papildomų veiksmų atlikti nereikia.

Sistemose „NeuMoDx System“ naudojant kaitinimo, lizės fermento ir ekstrahavimo reagentų derinį, atliekama ląstelių lizė, DNR ekstrahavimas ir inhibitorių pašalinimas. Išsiskyrusias nukleorūgštis sulaiko paramagnetinės dalelės. Mikrosferos su prijungtomis nukleorūgštimis įkeliamos į kasetę „NeuMoDx Cartridge“, kurioje neprijungti, ne DNR komponentai toliau išplaunami plovimo reagentu „NeuMoDx Wash Reagent“, o prijungta DNR eliuuojama reagentu „NeuMoDx Release Reagent“. Tada eliuota DNR naudojama sistemoje „NeuMoDx System“, kad galima būtų rehidrinti patentuotus „NeuDry™“ amplifikavimo reagentus, kurių sudėtyje yra visi specifinių AGS ir CGS / GGS taikinių amplifikavimui būtini elementai bei SPC1 sekos sritis. Tokiu būdu vienu metu galima amplifikuoti ir aptikti taikinio (-ių) ir kontrolinės medžiagos DNR sekas. Atkūrus sausus PGR reagentus, sistema „NeuMoDx System“ paruoštą PGR mišinį išpilsto į vieną kasetės „NeuMoDx Cartridge“ PGR kamerą (vienam mėginiui). PGR kameroje vyksta kontrolinės medžiagos ir tikslių (jei yra) DNR sekų amplifikacija ir aptikimas. Kasetė „NeuMoDx Cartridge“, įskaitant PGR kamerą, pagaminta taip, kad po realiojo laiko PGR amplikonas liktų joje, taip iš esmės pašalinant užteršimo po amplifikacijos riziką.

Amplifikuoti taikiniai aptinkami realiuoju laiku, naudojant hidrolizės zondų chemiją (dažnai vadinamą „TaqMan®“ chemija), kurioje naudojamos amplikonams būdingos fluorogeninio oligonukleotidų zondo molekulės atitinkamoms jų tikslinėms sekoms.

„TaqMan“ zondai sudaryti iš fluoroforo, kovalentiškai prisijungusio prie oligonukleotido zondo 5' galo, ir slopiklio ties 3' galu. Kol zondas yra nepažeistas, fluoroforas ir slopiklis yra arti, todėl slopiklio molekulė slopina fluorescenciją dėl Förster rezonansinės energijos pernašos (angl. „Förster Resonance Energy Transfer“, FRET).

„TaqMan“ zondai sukurti taip, kad prisijungtų prie specifinių pradmenų rinkiniu amplifikuotos DNR sritys. Kai Taq DNR polimerazė ilgina pradmenį ir sintetina naują grandinę, Taq DNR polimerazės 5'–3' egzozonukleazės aktyvumas skaido prie matricos prisijungusį zondą. Zondo skilimas išlaisvina fluoroforą ir padidina buvusį artimą atstumą iki slopiklio, todėl įveikiamas slopinamasis poveikis dėl FRET ir galima padidinti fluorescenciją.

„TaqMan“ zondas, 5' gale pažymėtas fluoroforu (sužadinimas: 470 nm, emisija: 510 nm), o 3' gale – tamsiuoju slopikliu (angl. *dark quencher*), yra naudojamas AGS DNR aptikti. „TaqMan“ zondas, 5' gale pažymėtas fluoroforu (sužadinimas: 585 nm, emisija: 610 nm), o 3' gale – tamsiuoju slopikliu (angl. *dark quencher*), yra naudojamas CGS / GGS DNR aptikti. Norint aptikti ėminio apdoravimo kontrolinę medžiagą, „TaqMan“ zondas 5' gale pažymimas alternatyviu fluorescenciniu dažikliu (sužadinimas: 530 nm, emisija: 555 nm), o 3' gale – tamsiuoju slopikliu (angl. *dark quencher*). Sistema „NeuMoDx System“ stebi „TaqMan“ zondų skleidžiamą fluorescencinį signalą kiekvieno amplifikacijos ciklo pabaigoje. Atlikus amplifikaciją, sistema „NeuMoDx System“ analizuoja duomenis ir pateikia galutinį kokybinį rezultatą („POSITIVE“ (TEIGIAMA) / „NEGATIVE“ (NEIGIAMA) / „INDETERMINATE“ (NEAIŠKU) / „UNRESOLVED“ (NEIŠSPRĘSTA)).

REAGENTAI / EKSPLOATACINIAI REIKMENYS

Pateikiamos medžiagos

NUOR.	Turinys	Tyrimų skaičius vienete	Tyrimų pakuotėje
209102	„NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“ Sausi realiojo laiko PGR reagentai, kurių sudėtyje yra AGS ir CGS / GGS specifinių „TaqMan“ zondų ir pradmenų bei ėminio apdoravimo kontrolinės medžiagos specifinis „TaqMan“ zondas ir pradmenys.	16	96

Nepateikiami, bet reikalingi reagentai ir eksploatacinės medžiagos (galima įsigyti atskirai iš „NeuMoDx“)

NUOR.	Turinys
100200	„NeuMoDx Extraction Plate“ ekstrahavimo plokštelė Sausos paramagnetinės dalelės, lizės fermentas ir ėminio apdoravimo kontrolinės medžiagos
401700	„NeuMoDx Lysis Buffer 6“**
400100	„NeuMoDx Wash Reagent“
400200	„NeuMoDx Release Reagent“
100100	„NeuMoDx Cartridge“
235903	„Hamilton CO-RE / CO-RE II“ antgaliai (300 µl) su filtrais
235905	„Hamilton CO-RE / CO-RE II“ antgaliai (1000 µl) su filtrais

*Pastaba. Ankstesnės nei 1.8.0.0 versijos „NeuMoDx System“ programinė įranga atpažins lizės buferinį tirpalą „NeuMoDx Lysis Buffer 6“ kaip „Lysis Buffer 4“. Daugiau išsamios informacijos apie perspėjimus ir atsargumo priemones rasite „NeuMoDx Lysis Buffer 6“ naudojimo instrukcijoje (leid. Nr. 40600406).

Reikalingi prietaisai

„NeuMoDx 288 Molecular System“ [nuor. Nr. 500100] ar „NeuMoDx 96 Molecular System“ [nuor. Nr. 500200]

PERSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Šis tyrimas yra skirtas tik *in vitro* diagnostikai sistemose „NeuMoDx System“.
- Nenaudokite eksploatacinių reikmenų ar reagentų pasibaigus nurodytam tinkamumo laikui.
- Nenaudokite reagentų, jeigu apsauginė plomba arba gauta pakuotė yra pažeista.
- Nenaudokite eksploatacinių reikmenų arba reagentų, jeigu gautas apsauginis maišelis yra atidarytas arba pažeistas.
- Tyrimas „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ nėra patvirtintas naudoti su konservantais.
- Tepinėlių mėginius rinkite tik į skystą Amies ar atitinkamą transportavimo terpę. Tyrimas „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ nėra patvirtintas naudoti su kitų tipų transportavimo terpėmis.
- Kaip nurodyta sistemų „NeuMoDx 288“ ir „96 Molecular System“ operatoriaus vadovuose (leid. Nr. 40600108 ir 40600317), minimalus mėginio tūris priklauso nuo mėgintuvėlio dydžio / mėginių mėgintuvėlių laikiklio.
- Juostelė „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“ tiriant senesnius nei 2 dienų gerklės tepinėlių mėginius (laikytus 2–8 °C temperatūroje), gali būti gauti negaliojantys ar klaidingi rezultatai.
- Reagentų neužterškite mikrobais ir deoksiribonukleaze (DNaze). Perkeliant mėginį į antrinį mėgintuvėlį, rekomenduojama naudoti steriliais (be DNazės) vienkartinėmis perkėlimo pipetėmis. Kiekvienam mėginiui naudokite naują pipetę.
- Norėdami išvengti užteršimo, po amplifikacijos nenaudokite ir nelaužykite kasečių „NeuMoDx Cartridge“. Jokių būdu neimkite kasečių „NeuMoDx Cartridge“ iš atliekų talpyklų. „NeuMoDx Cartridge“ yra sukurta taip, kad apsaugotų nuo užteršimo.
- Tais atvejais, kai laboratorija taip pat atlieka atvirų mėgintuvėlių PGR tyrimus, reikia pasirūpinti, kad juostelė „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“, papildomi eksploataciniai reikmenys ir reagentai, reikalingi tyrimams atlikti, asmeninės apsaugos priemonės, tokios kaip pirštinės ir laboratoriniai chalatai, ir sistema „NeuMoDx System“ nebūtų užteršti.
- Dirbant su „NeuMoDx“ reagentais ir eksploataciniais reikmenimis būtina mūvėti švarias nitrilines pirštines be talko. Reikia stengtis neliesti viršutinio kasetės „NeuMoDx Cartridge“ paviršiaus, juostelės „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“ ar plokštelės „NeuMoDx Extraction Plate“ folijos plėvelės paviršiaus arba viršutinio lizės buferinio tirpalo „NeuMoDx Lysis Buffer 6“ paviršiaus. Naudojant eksploatacinius reikmenis ir reagentus, galima liesti tik šoninius paviršius.
- Atliekę tyrimą kruopščiai nusiplaukite rankas.
- Nesiurbkite į pipetę burna. Nerūkykite, negerkite ir nevalgykite tose vietose, kur apdorojami mėginiai arba reagentai.
- Su mėginiais visada elkitės kaip su infekcinėmis medžiagomis ir laikykitės saugių laboratorinių procedūrų, pvz., aprašytų *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹¹ ir CLSI dokumente M29-A3.¹²
- Išmeskite nepanaudotus reagentus ir atliekas laikydamiesi šalies, federalinių, provincijos, valstijos ir vietos teisės aktų.

PRODUKTO LAIKYMAS, NAUDOJIMAS IR STABILUMAS

- Kiekvienam reagentui, jei taikytina, pateikiamas saugos duomenų lapas (SDL).
- Juostelės „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strips“ yra stabilios pirminėje pakuotėje visą produkto etiketėje nurodytą tinkamumo laiką, laikant 15–23 °C temperatūroje.
- Nenaudokite eksploatacinių reikmenų ir reagentų pasibaigus nurodytam tinkamumo laikui.
- Nenaudokite jokio tyrimo produkto, jei pirminė ar antrinė pakuotė vizualiai pažeista.
- „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“ gali būti laikoma įkelta į sistemą „NeuMoDx System“ 14 dienų. Programinė įranga stebi likusią įkeltų tyrimo juostelių laikymo trukmę ir praneša ją naudotojui realiuoju laiku. Sistema paragins, kai reikės išimti per ilgai naudotą tyrimo juostelę.

MĖGINIO PAĖMIMAS / GABENIMAS / LAIKYMAS

- Juostelė „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“ buvo tirta naudojant gydytojo paimtus gerklės tepinėlių mėginius. Tyrimo efektyvumas buvo įvertintas tik su nurodytais mėginiais.
- Paimti tepinėlių mėginiai gabenimo metu turėtų būti laikomi rekomenduojamoje temperatūroje, tepinėlių paėmimo rinkinyje.
- Tepinėlių mėginiai prieš tyrimą turi būti laikomi 2–8 °C temperatūroje ne ilgiau nei 2 dienas arba kambario temperatūroje ne ilgiau nei 8 valandas.

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Mėginio paėmimas / gabenimas

1. Gydytojo paimti tepinėliai turėtų būti laikomi skystoje Amies transportavimo terpėje.
2. Jei mėginiai neištiriami per 8 valandas, prieš tyrimą jie turėtų būti laikomi 2–8 °C temperatūroje iki 2 dienų.

Pasiruošimas tyrimui

1. Ant mėginio mėgintuvėlio, suderinamo su sistema „NeuMoDx System“, užklijuokite mėginio brūkšninio kodo etiketę. Pirminį paėmimo mėgintuvėlį su užklijuota etikete galima įdėti tiesiai į mėginių laikiklį. Arba alikvotinė skystos Amies terpės dalis gali būti perkelta į antrinį mėgintuvėlį ir apdorota sistema „NeuMoDx System“.
2. Trumpai kratydami sumaišykite pirminėje talpyklėje esantį tepinėlio mėginį, kad jis tolygiai pasiskirstytų.
3. Tirdami tepinėlio mėginį pirminiame paėmimo mėgintuvėlyje, įdėkite brūkšninio kodu pažymėtą mėgintuvėlį į mėginių mėgintuvėlių laikiklį ir prieš įkeldami jį į sistemą „NeuMoDx System“ nuimkite dangtelį ir (arba) tamponą. NEPALIKITE tampono mėgintuvėlyje.
4. Jei naudojate antrinį mėgintuvėlį, perkelkite $\geq 0,5$ ml alikvotinės skystos Amies terpės mėginio dalies į brūkšninio kodu pažymėtą mėgintuvėlį, suderinamą su „NeuMoDx“ 32 mėginių mėgintuvėlių laikikliu.

Sistemos „NeuMoDx System“ naudojimas

Išsamios informacijos rasite „NeuMoDx 288 Molecular System“ ir „NeuMoDx 96 Molecular System“ operatoriaus vadovuose (leid. Nr. 40600108 ir 40600317).

1. Užpildykite vieną ar daugiau laikiklių „NeuMoDx Test Strip Carrier“ juostele (-ėmis) „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“ ir naudodami jutiklinį ekraną įkelkite tyrimo juostelių laikiklį (-ius) į sistemą „NeuMoDx System“.
2. „NeuMoDx System“ programinei įrangai paraginus, į „NeuMoDx System“ eksploatacinių reikmenų laikiklius įdėkite reikiamus eksploatacinius reikmenis ir naudodami jutiklinį ekraną įkelkite laikiklį (-ius) į sistemą „NeuMoDx System“.
3. „NeuMoDx System“ programinei įrangai paraginus, atitinkamai pakeiskite „NeuMoDx Wash Reagent“, „NeuMoDx Release Reagent“ ir ištuštinkite užpildymo atliekas, biologiškai pavojingų atliekų talpyklą (tik sistemoje „NeuMoDx 288“), antgalių atliekų dėžę (tik sistemoje „NeuMoDx 96“) arba biologiškai pavojingų atliekų dėžę (tik sistemoje „NeuMoDx 96“).
4. Įkelkite mėginio mėgintuvėlį (-ius) į mėginių mėgintuvėlių laikiklį (-ius) ir įsitinkinkite, kad nuo visų mėginių mėgintuvėlių nuimti dangteliai.
5. Įstatykite mėginių mėgintuvėlių laikiklį į automatinio įkėliklio lentyną ir naudodamiesi jutikliniu ekranu įkelkite laikiklį į sistemą „NeuMoDx System“. Tokiu būdu bus pradėtas įkelto (-ų) mėginio (-ių) apdorojimas nurodytiems tyrimams.

APRIBOJIMAI

- Juostelę „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“ galima naudoti tik sistemose „NeuMoDx System“.
- Juostelės „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“ efektyvumas buvo nustatytas naudojant gydytojo paimtus gerklės tepinėlių mėginius.
- „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“ naudojimas su kitomis medžiagomis nebuvo įvertintas. Efektyvumo charakteristikos tiriant kitus mėginių tipus yra nežinomos.
- AGS ir CGS / GGS aptikimui įtakos turi ėminyje esantis organizmų skaičius, todėl patikimi rezultatai priklauso nuo tinkamo mėginio paėmimo, naudojimo ir laikymo.
- Klaidingų tyrimo rezultatų priežastis gali būti netinkamas mėginių paėmimas, naudojimas, laikymas, techninė klaida ar ėminių sumaišymas. Be to, klaidingus neigiamus rezultatus gali lemti tai, kad mėginyje esančių organizmų skaičius yra mažesnis už tyrimo analitinį jautrumą.
- Tyrimą gali atlikti tik darbuotojai, kurie yra išmokyti dirbti su sistema „NeuMoDx System“.
- Jei ėminio apdorojimo kontrolinė medžiaga neamplifikuojama ir tyrimo „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage“ rezultatas yra „Negative“ (neigiama), bus pateiktas negaliojantis rezultatas („Indeterminate“ (neaišku) ar „Unresolved“ (neišspręsta) ir tyrimą reikės pakartoti.
- „Positive“ (teigiamas) tyrimo rezultatas nebūtinai reiškia, kad mėginyje yra gyvybingų organizmų. Tačiau tai gali reikšti, kad jame yra AGS ir (arba) CGS / GGS DNR.
- Nors nėra žinomų AGS padermių / izoliatų, neturinčių baltymo, kuriame yra LPXTG motyvo ląstelės sienelę prijungiantis domenas, srities, arba CGS / GGS padermių / izoliatų, neturinčių atsparumo nizinui baltymo srities, atsiradus tokiai padermei naudojant juostelę „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“ gali būti gautas klaidingas rezultatas.
- Mutacijos pradmens / zondo prisijungimo srityje gali turėti įtakos aptikimui naudojant juostelę „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“.
- Tyrimo „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ rezultatai turėtų būti naudojami kartu su klinikinio stebėjimo duomenimis ir kita gydytojo turima informacija. Tyrimas nėra skirtas AGS ir (arba) CGS / GGS DNR nešiotojams atskirti nuo chlamidinės ir (arba) streptokokinės ligos nešiotojų.
- Tyrimų rezultatams gali turėti įtakos tuo pat metu atliekamas gydymas antibiotikais, nes po gydymo antimikrobiniais vaistais AGS ir CGS / GGS DNR vis dar gali būti aptinkama.
- Tvarkant pacientų mėginius rekomenduojama taikyti gerąją laboratorinę praktiką, įskaitant pirštinių keitimą, kad būtų galima išvengti užteršimo.

REZULTATAI

Sistemos „NeuMoDx Molecular System“

Prieinamus rezultatus galima peržiūrėti ir spausdinti sistemos „NeuMoDx System“ jutiklinio ekrano lango „Results“ (rezultatai) skirtuke „Results“ (rezultatai). Remiantis taikinio amplifikacijos būseną ir ėminio apdorojimo kontroline medžiaga (Sample Process Control 1, SPC1), pateikiami tokie tyrimo rezultatai: „Positive“ (teigiama) (POS), „Negative“ (neigiama) (NEG), „Indeterminate“ (neaišku) (IND) arba „Unresolved“ (neišspręsta) (UNR).

Teigiamą ir neigiamą rezultatą lemiantys veiksniai aprašyti „NeuMoDx Molecular, Inc.“ sistemoje (-ose) įdiegtame „NeuMoDx System Strep A/C/G Vantage“ tyrimo apibrėžimo faile (Assay Definition File, ADF). Rezultatai pateikiami pagal ADF sprendimų algoritmą, apibendrintą toliau pateiktoje 1 lentelėje.

1 lentelė. Tyrimo „Strep A/C/G Vantage Assay“ sprendimų algoritmo suvestinė

REZULTATAS	AGS ir (arba) CGS / GGS TAIKINIAI	APDOROJIMO KONTROLINĖ MEDŽIAGA (SPC1)
POS	Amplified (Amplifikuota)	N/A (Netaikytina)
NEG	Not Amplified (Neamplifikuota)	Amplified (Amplifikuota)
IND	„Not Amplified, System Error Detected“ (neamplifikuota, aptikta sistemos klaida)	
UNR	„Not Amplified, No System Error Detected“ (neamplifikuota, neaptikta jokios sistemos klaidos)	

Netinkami rezultatai

Jei atlikus tyrimą „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ sistemoje „NeuMoDx System“, nepavyksta gauti galiojančio rezultato, pagal įvykusio klaidos tipą rezultatas bus pateikiamas kaip „Indeterminate“ (neaišku) arba „Unresolved“ (neišspręsta) ir reikės pakartotinai atlikti tyrimą, kad galima būtų gauti galiojantį rezultatą.

Rezultatas „Indeterminate“ (neaišku) pateikiamas tuo atveju, kai ėminio apdorojimo metu aptinkama sistemos „NeuMoDx System“ klaida.

Rezultatas „Unresolved“ (neišspręsta) pateikiamas tuo atveju, kai neaptinkamas joks taikinyis ir ėminio apdorojimo kontrolinė medžiaga neamplifikuojama, o tai reiškia, kad įvyko su reagentu susijusi triktis arba sudėtyje yra inhibitorių.

Kokybės kontrolė

Vietiniuose reikalavimuose dažniausiai nurodoma, kad laboratorija yra atsakinga už kontrolės procedūrų, kuriomis stebimas viso analitinio proceso tikslumas ir glaudumas, vykdymą. Naudodama patvirtintas nemodifikuotas tyrimo sistemos veikimo specifikacijas, laboratorija turi nustatyti kontrolinių medžiagų tyrimų skaičių, tipą ir dažnumą.

- „NeuMoDx Molecular, Inc.“ neteikia išorinių (naudotojo nustatytų) kontrolinių medžiagų. Laboratorija turi pasirinkti ir patvirtinti atitinkamas kontrolines medžiagas. Kontrolinės medžiagos turi atitikti tas pačias minimalaus tūrio specifikacijas, kaip ir klinikiniai ėminiai. Naudotojas gali nustatyti konkrečius teigiamų ir neigiamų kontrolinių medžiagų brūkšninius kodus arba atsitiktinai priskirti brūkšninį (-ius) kodą (-us).
- Rekomenduojama: 1 *Streptococcus pyogenes* „LYFO DISK™“ („Microbiologics®“ 0508L) ir 1 *Streptococcus dysgalactiae* por. *equisimilis* „LYFO DISK™“ („Microbiologics®“ 0602L), atskiesti pagal gamintojo instrukcijas 50 ml skystos Amies terpės, laikyti ir naudoti 0,5 ml alikvotinėmis dalimis. Kontrolinių medžiagų apdorojimo metu įstatykite pažymėtas kontrolines medžiagas į mėginių mėgintuvėlių laikiklį ir naudodami jutiklinį ekraną įkelkite laikiklį iš automatinio įkėliklio lentynos į sistemą „NeuMoDx System“. Jei tyrimui reikalingi atitinkami reagentai ir eksploataciniai reikmenys įkelti, „NeuMoDx System“ atpažins (naudotojo iš anksto nustatytus) brūkšninius kodus ir pradės kontrolinių medžiagų apdorojimą.
- Su kiekviena „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“ pridėdami ėminio apdorojimo kontrolinei medžiagai (Sample Process Control 1, SPC1) skirti pradmenys ir mėginiai. Naudojant šią ėminio apdorojimo kontrolinę medžiagą, „NeuMoDx System“ gali stebėti DNR ekstrahavimo ir PGR amplifikacijos procesų efektyvumą.
- „Positive“ (teigiamas) neigiamos kontrolinės medžiagos ėminio tyrimo rezultatas reiškia, kad mėginys yra užterštas. Patarimų, kaip pašalinti triktis, rasite „NeuMoDx 288 Molecular System“ ar „NeuMoDx 96 Molecular System“ operatoriaus vadove.
- Gavus „negative“ (neigiamą) teigiamos kontrolinės medžiagos ėminio tyrimo rezultatą, tai gali reikšti, kad kilo su reagentu ar sistema „NeuMoDx System“ susijusi klaida. Patarimų, kaip pašalinti triktis, rasite „NeuMoDx 288 Molecular System“ ar „NeuMoDx 96 Molecular System“ operatoriaus vadove.

EFEKTYVUMO CHARAKTERISTIKOS

Klinikinis efektyvumas

Tyrimo „NeuMoDx Strep Vantage A/C/G Assay“ klinikinės efektyvumo charakteristikos buvo nustatytos naudojant vidinį retrospektyvinį metodą palyginimo tyrimą ir likusius gerklės tepinėlių mėginius, gautus iš dviejų skirtingose geografinėse vietovėse esančių klinikinių laboratorijų.

Likę gerklės tepinėlių mėginiai, paimti iš pacientų, kuriems pasireiškė simptomai, buvo nežymėti. Klinikinės laboratorijos kiekvienam mėginiui suteikė unikalų ID numerį ir sudarė konfidencialų sąrašą, susiejantį paciento ID su nežymėtais, tyrimo tikslais tirtais mėginiais. Iš viso ištirta 230 likusių mėginių, gautų iš dviejų klinikinių laboratorijų. Klinikinės laboratorijos nustatė, kad iš 230 ėminių 68 ėminiai buvo AGS teigiami, o 47 ėminiai – CGS / GGS teigiami. Vienas mėginys buvo teigiamas tiek AGS, tiek CGS / GGS, o tai reiškia, kad užsikrėsta dviejų padermių ar susijusia infekcija. Šių ėminių tyrimo būseną nebuvo sakoma operatoriui, kad galima būtų atlikti viengubai aklą tyrimą. Metodų palyginimo analizei buvo naudojami rezultatai, gauti konkrečiais FDA ir CE patvirtintais, teisėtai parduodamais molekuliniais prietaisais, naudojamais laboratorijose sveikatos priežiūros kokybės tyrimams.

Pagal tyrimo „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage“ rezultatus nustatyta, kad AGS taikinio klininis jautris yra 100 %, o CGS / GGS taikinio – 95,9 %, abiem atvejais naudojant 95 % pasiklovimo intervalą (PI). Taip pat nustatyta, kad tyrimo klininis specifiškumas tiriant AGS ir CGS / GGS siekia 100 %, naudojant 95 % PI. Apatinės ir viršutinės 95 % PI ribinės vertės, nurodytos toliau pateiktose 2A ir 2B lentelėse, buvo apskaičiuotos naudojant Wilsono procedūrą su tęstinumo korekcija.

2A lentelė. Klinikinio efektyvumo suvestinė – *S. pyogenes* aptikimas naudojant juostelę „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“

AGS		FDA / CE patvirtintas Pamatinio tyrimo rezultatas		
		POS	NEG	Iš viso
NeuMoDx Strep A/C/G	POS	68	0	68
	NEG	0	162	162
	Iš viso	68	162	230
Klininis jautris (AGS) = 100 % (93,3–100)				
Klininis specifiškumas (AGS) = 100 % (97,1–100)				

2B lentelė. Klinikinio efektyvumo suvestinė – *S. dysgalactiae* aptikimas naudojant juostelę „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“

CGS / GGS		FDA / CE patvirtintas Pamatinio tyrimo rezultatas		
		POS	NEG	Iš viso
NeuMoDx Strep A/C/G	POS	47	0	47
	NEG	2	181	183
	Iš viso	49	181	230
Klininis jautris (CGS / GGS) = 95,9 % (84,9–99,3)				
Klininis specifiškumas (CGS / GGS) = 100 % (97,4–100)				

Analitinis jautris

Tyrimo „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ aptikimo riba (Limit of Detection, LoD) buvo nustatyta neigiamuose klinikiuose gerklės tepinėliuose, į kuriuos pridėta šių AGS, CGS ir GGS taikinių: *Streptococcus pyogenes* (ATCC 700294), *Streptococcus dysgalactiae* por. *equisimilis* (ATCC 35666) ir *Streptococcus dysgalactiae* por. *equisimilis* (ATCC 12384) (atitinkamai). Visi tyrimai naudoti ėminiai buvo paruošti sudėtinėse ir atrankiniuose būdu patikrintuose streptokokui neigiamuose klinikiuose gerklės tepinėlių mėginiuose ir atskirai pridėta 50 CFU/ml AGS, 2500 CFU/ml CGS ar 10 000 CFU/ml GGS taikinių. Norint patvirtinti, kad pasiektas $\geq 95\%$ aptikimo dažnis, ir pripažinti šias koncentracijas kaip pateiktą taikinių LoD, kiekvienas taikiny buvo ištirtas 40 kartotinių mėginių ir atlikta pasisiekimo koeficiento analizė. Aptikimo ribos tyrimo išvados apibendrintos toliau pateiktoje 3 lentelėje.

3 lentelė. Tyrimo „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ aptikimo ribos nustatymas naudojant pasisiekimo koeficiento analizę

Tikslinė seka	Koncentracija (CFU/ml)	Skaičius	Teigiamų skaičius	Teigiamų %	LoD (pasisiekimo koeficientas)
AGS	50	40	40	100	50 CFU/ml
CGS	2500	40	40	100	2500 CFU/ml
GGS	10 000	40	40	100	10 000 CFU/ml

Nustatyta, kad tyrimo „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ aptikimo riba tiriant AGS yra 50 CFU/ml, tiriant CGS – 2500 CFU/ml, tiriant GGS – 10 000 CFU/ml.

Atmainų aptikimas

Tyrimo „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ analitinis jautris taip pat buvo patvirtintas naudojant 11 skirtingų AGS padermių, 7 CGS padermes ir 9 GGS padermes. Tyrimas atliktas naudojant toliau pateiktoje 4 lentelėje nurodytas AGS, CGS ir GGS padermes. Norint patvirtinti $\geq 95\%$ aptikimą, nurodytų koncentracijų taikinių buvo pridėta į neigiamus klinikius tepinėlių mėginius ir jie ištirti taikant 2X atitinkamą LoD koncentraciją, kaip nurodyta anksčiau. Atmainų padermės, kurios neatitiko šio reikalavimo, pakartotinai tirtos taikant aukštesnes koncentracijas, kol pasiektas $\geq 95\%$ aptikimas. Koncentracija, kuriai esant pavyko tai pasiekti kiekvienai padermei, nurodyta 4 lentelėje kaip tos atmainos LoD.

4 lentelė. Tirtos AGS, CGS ir GGS atmainų padermės

	Padermė	Skaičius	Koncentracija, CFU/ml	Teigiamas	Negative (Neigiamas)	Aptikimo dažnis (%)
S. pyogenes (A grupės)	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 por. equisimilis (C grupės)	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 por. equisimilis (G grupės)	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

Analitinis specifiškumas

Tyrimu „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ dėl galimo kryžminio reaktyvumo iš viso ištirti 45 kultūros izoliatai ar DNR iš galimai kartu gyvenančių arba filogenetiškai į AGS ar CGS / GGS panašių organizmų. Organizmai paruošti 3–6 organizmų telkiniuose ir tirti esant aukštai koncentracijai. Bakterijų organizmų pridėta į sudėtinę AGS / CGS / GGS neigiamą skystą Amies terpę 6–9X10⁶ CFU/ml koncentracija, o virusinės medžiagos – 1x10⁶ DNR kop./ml koncentracija, išskyrus nurodytus atvejus. Nepastebėta kryžminio reaktyvumo nė su vienu iš šiame tyrime tirtų patogenų. Tirtų organizmų sąrašas nurodytas 5 lentelėje.

5 lentelė. Analitiniams specifikiškumui pademonstruoti naudotų patogenų sąrašas

Bakterijos	Bakterijos	Bakterijos
<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>	Virusai
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>	I tipo adenovirusas*
<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	A tipo <i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptococcus canis</i>	A tipo gripas
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus canis</i> (STR T1)	B tipo gripas
<i>Legionella micdadei</i>	<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i> (group C)	4b tipo paragripas†
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>	1A tipo rinovirusas
<i>Moraxella cartarrhalis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	

*Prie I tipo adenoviruso buvo pridėta 1×10^6 TCID50/ml koncentracijos

†Prie *Bordetella pertussis* ir 4b tipo paragripo pridėta 10 ng/ml koncentracijos

Trukdančiosios medžiagos – komensaliniai organizmai

„NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ buvo ištirtas dėl interferencijos su ne tiksliniais organizmais (kartu gyvenančiais užpakalinėje ryklės dalyje), įvertinus tyrimo „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ efektyvumą sistemoje „NeuMoDx Molecular System“, esant žemoms AGS ir CGS / GGS koncentracijoms. Šiame tyrime naudota ta pati 45 organizmų grupė [žr. 5 lentelę], kuri buvo naudota kryžminiam reaktyvumui įvertinti. Organizmai AGS / CGS / GGS neigiamoje skystoje Amies terpėje buvo sujungti į grupes po 3–6 ir pridėta 150 CFU/ml AGS, 7500 CFU/ml CGS ir 30 000 CFU/ml GGS taikinių.

Nepastebėta interferencijos nė su vienu komensaliniu organizmu.

Trukdančiosios medžiagos – endogeninės ir egzogeninės medžiagos, aptiktos klinikiniuose gerklės tepinėlių mėginiuose

Tyrimo „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ efektyvumas buvo įvertintas su galimai trukdančiosiomis medžiagomis, kurios gali atsirasti imant gerklės tepinėlį iš paciento [žr. 6 lentelę]. Visos šios medžiagos tirtos dėl galimos interferencijos su ir be AGS, CGS ir GGS. Skystos Amies terpės éminiai, į kuriuos pridėta 3X LoD, buvo sumaišyti su endogeninėmis ir egzogeninėmis medžiagomis, nurodytomis koncentracijomis ištirpintomis arba atskiestomis molekulinės biologijos tyrimams skirtame vandenyje, naudojant prisotintą tamponą. Jokia tirta medžiaga neturėjo neigiamo poveikio AGS ar CGS / GGS aptikimui.

6 lentelė. Egzogeninės ir endogeninės trukdančiosios medžiagos, tirtos skystos Amies terpės tepinėlių mėginiuose

	Trukdančioji medžiaga	Pradinė koncentracija
Egzogeninė	Altoids™ (Spearmint)	10 % (w/v)
	Aspirin™	10 % (w/v)
	CEPACOL® Extra Strength Sore Throat & Cough Lozenges	5 % (w/v)
	Children's Dimetapp® Cold & Cough	15 % (v/v)
	Chloraseptic® Max Sore Throat Lozenges	10 % (w/v)
	Chloraseptic Sore Throat Spray	10 % (v/v)
	Cold-EEZE® Zinc Lozenges	15 % (w/v)
	Crest® Pro-Health Advanced Gum Protection	4 % (w/v)
	Halls™ Cough Drops (Cherry)	15 % (w/v)
	Halls Cough Drops (Menthol-Lyptus)	15 % (w/v)
	ICE BREAKERS® Mints (Cool Mint)	10 % (w/v)
	LISTERINE® Total Care Mouthwash	15 % (v/v)
	LISTERINE Ultra-clean Antiseptic Mouthwash	15 % (v/v)
	*Ricola® Original Swiss Sugar Free Herb Cough Suppressant Throat Drops	15 % (w/v)
	Robitussin® Max Strength Nighttime Cough DM	10 % (v/v)
	Sucrets® Sore Throat & Cough Lozenges (Vapor Cherry)	5 % (w/v)
	Tic Tac® Freshmints	10 % (w/v)
	Wal-Tussin DM Max Cough Syrup	10 % (v/v)
	Endogeninė	Seilės
Visos sudėties kraujas		10 % (v/v)

* Iš pradžių 1 iš 3 AGS mėinių, tirtų esant 3X LoD, nepavyko amplifikuoti su pastilėmis „Ricola Throat Drops“. Tačiau pakartotinai atlikus tyrimą, pavyko pasiekti norimų rezultatų.

Atkuriamumas tarp partijų

Tyrimo „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ atkuriamumas tarp partijų buvo patvirtintas retrospektyviai išanalizavus trijų atskirų juostelės „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“ ir lizės buferinio tirpalo „NeuMoDx Lysis Buffer 6“ partijų kokybinio tyrimo duomenis. Šie duomenys buvo gauti atlikus funkcinis reagentų tyrimus, naudojant skystą Amies transportavimo terpę, pridėjus tipinių AGS ir CGS padermių (tų taikinių LoD koncentracijos). Iš viso viena juostelės „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“ partija apdoroti 64 teigiami kartotiniai mėginiai ir 16 neigiamų kartotinių mėginių. Atliekant lizės buferinio tirpalo „NeuMoDx Lysis Buffer 6“ įvertinimą, iširta 16 teigiamų kartotinių mėginių ir 8 neigiami kartotiniai mėginiai. Variacija tarp gamybos partijų buvo išanalizuota nustatčius vidutinę C_t vertę, standartinį nuokrypį ir variacijos koeficiento procentą (%CV), kaip parodyta 7 lentelėje. AGS ir CGS taikinių $\leq 1,1$ standartinio nuokrypio vertės ir $\leq 3,0$ % variacijos koeficiento vertės rodo puikų atkuriamumą tarp pagrindinių tyrimo „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ reagentų partijų.

7 lentelė. %CV analizė pagal taikinius tarp pagrindinių tyrimo „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ komponentų partijų

	AGS			CGS			Visi rezultatai		
	\bar{C}_t	C_t SD	%CV	\bar{C}_t	C_t SD	%CV	\bar{C}_t	C_t SD	%CV
(tarp 3 partijų)									
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 %

Šviežių ir užšaldytų mėginių ekvivalentiškumas

Buvo atliktas tyrimas, siekiant pademonstruoti mėginių matricos ekvivalentiškumą tarp šviežių ir užšaldytų gerklės tepinėlių mėginių. Į neigiamus klinikinius mėginius buvo pridėta 3X LoD koncentracijos tyrimo „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ AGS, CGS ir GGS taikinių ir jie apdoroti naudojant tyrimą „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“. Tada kiekvienas mėginys buvo laikomas -80 °C temperatūroje, kol bus užšaldytas, atitirpintas ir iš naujo apdorotas. Šviežių ir užšaldytų tepinėlių mėginių rezultatų ekvivalentiškumas buvo palygintas atlikus regresinę analizę. Duomenys parodė puikų ekvivalentiškumą tarp šviežių ir užšaldytų tepinėlių mėginių.

Kontrolinės medžiagos efektyvumas

Ėminio apdoravimo kontrolinės medžiagos, įtrauktos į juostelę „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“ apdoravimo etapų triktims arba „NeuMoDx A/C/G Vantage Assay“ tyrimą neigiamai veikiančiam slopinimui aptikti, efektyvumas buvo įvertintas sistemoje „NeuMoDx Molecular System“. Tirtos sąlygos atspindi kritinių apdoravimo etapų triktis, kurios gali atsirasti apdorojant ėminius ir kurių sistemos „NeuMoDx System“ efektyvumo stebėjimo jutikliai gali neaptikti. Kontrolinės medžiagos efektyvumas buvo įvertintas imituojant įvairių ėminių apdoravimo srauto etapų triktis, siekiant atkurti galimą sistemos klaidą, ir pridėdant į mėginį žinomo inhibitoriaus, kad būtų galima stebėti neefektyvų inhibitoriaus slopinimo poveikį ėminio apdoravimo kontrolinės medžiagos aptikimui (žr. 8 lentelę). Tais atvejais, kai apdoravimo klaidos neigiamai nepaveikė ėminio apdoravimo kontrolinės medžiagos efektyvumo („NO WASH“ (BE PLOVIMO REAGENTO) / „NO WASH BLOWOUT“ (BE PLOVIMO REAGENTO IŠPŪTIMO)), tyrimas buvo pakartotinai atliktas naudojant žemų AGS ir CGS / GGS koncentracijų (beveik prilygstančių LoD) mėginius, siekiant patvirtinti, kad apdoravimo klaida taip pat neturi neigiamo poveikio AGS ar CGS / GGS taikinio aptikimui. Kontrolinės medžiagos efektyvumo patvirtinimo tyrimo rezultatai apibendrinti 8 lentelėje.

8 lentelė. Kontrolinės medžiagos efektyvumo duomenų suvestinė

Sąlyga	Numatomas rezultatas	Nustatytas rezultatas
„Normal Processing“ (įprastas apdorojimas)	„Negative“ (neigiama)	„Negative“ (neigiama)
„Normal Processing + Inhibitor“ (įprastas apdorojimas su inhibitoriumi)	„Unresolved“ (neišspręsta)	„Unresolved“ (neišspręsta)
„No Wash Reagent“ (be plovimo reagento)	„Unresolved“ (neišspręsta) ar „Negative“ (neigiama)	„Negative“ (neigiama)*
„No Wash Blowout“ (be plovimo reagento išpūtimo)	„Unresolved“ (neišspręsta) ar „Negative“ (neigiama)	„Negative“ (neigiama)
„No Release Reagent“ (be išlaisvinimo reagento)	„Indeterminate“ (neaišku)	„Indeterminate“ (neaišku)
„No PCR Master Mix Reagents“ (be PGR pagrindinio mišinio reagentų)	„Indeterminate“ (neaišku)	„Indeterminate“ (neaišku)

*Nustatyta, kad retais atvejais, kai įvyksta sistemos triktis tiekiant plovimo reagentą „Wash Reagent“, silpnai teigiami AGS ėminiai duoda klaidingai neigiamą rezultatą. Tai pastebėta esant mažesniai nei 500 CFU/ml AGS lygiui, kuris yra žymiai mažesnis už teigiamo klinikinio tepinėlio mėginio vidutinę koncentraciją. Manoma, kad daugeliu atvejų šią problemą galima išspręsti pakartotinai atlikus tyrimą po to, kai vieną kartą gautas klaidingai neigiamas rezultatas.

Tepinėlių mėginių stabilumas sistemoje

Į streptokokui neigiamus klinikinį tepinėlių mėginius buvo pridėta AGS, CGS ir GGS taikinių 10–15X LoD koncentracija, jie laikyti 4 °C temperatūroje 48 valandas, po to apdoroti naudojant tyrimą „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay“ ir vienodą skaičių neigiamų mėginių. Apdoravimo pabaigoje visi teigiamų ir neigiamų mėginių mėgintuvėliai buvo palikti 8 valandoms kambario temperatūroje ant sistemos darbatalio ir po to iš naujo apdoroti. Visais 0 ir 8 val. laiko momentais numatomas visų tepinėlių mėginių, į kuriuos pridėta AGS, CGS ar GGS taikinių, rezultatas buvo „POSITIVE“ (teigiama) (atitinkamam taikiniui), o tepinėlių mėginių be taikinio – „NEGATIVE“ (neigiama) (abiem taikiniams). Abiem laiko momentais pastebėta 100 % atitiktis numatytam rezultatui, o tai reiškia, kad atliekant tyrimą juostele „NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip“ tepinėlių mėginiai yra stabilūs sistemoje 8 valandas. Rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje 9 lentelėje.

9 lentelė. Ėminių stabilumo sistemoje duomenų suvestinė

Mėginių stabilumas sistemoje	Teigiamų %, T ₀			Teigiamų %, 8 val.		
	AGS	CGS / GGS	SPC1	AGS	CGS / GGS	SPC1
AGS [ATCC 700294]	100	0	100	100	0	100
CGS [ATCC 35666]	0	100	100	0	100	100
GGG [ATCC 12384]	0	100	100	0	100	100
Negative (Neigiamas)	0	0	100	0	100	100

LITERATŪRA

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. Gemelli, 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

Padėka

Šis reagentas buvo gautas per „BEI Resources“, NIAID, NIH: *Streptococcus pyogenes*, Strain MGAS15186, NR-15373

Šis reagentas buvo gautas per „BEI Resources“, NIAID, NIH, kuris yra „Human Microbiome Project“ dalis: *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, Strain WGLW3, HM-748.

Šis reagentas buvo gautas per „BEI Resources“, NIAID, NIH, kuris yra „Human Microbiome Project“ dalis: *Streptococcus anginosus*, Strain F0211, HM-282.

Šis reagentas buvo gautas per „BEI Resources“, NIAID, NIH, kuris yra „Human Microbiome Project“ dalis: *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus*, Strain TX20005, HM-272.

Šis reagentas buvo gautas per „BEI Resources“, NIAID, NIH, kuris yra „Human Microbiome Project“ dalis: *Streptococcus intermedius*, Strain F0413, HM-368.

Šis reagentas buvo gautas per „BEI Resources“, NIAID, NIH: *Burkholderia cepacia*, Strain UCB 717, NR-707.


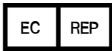








Šis reagentas buvo gautas per „BEI Resources“, NIAID, NIH, kuris yra „Human Microbiome Project“ dalis: *Streptococcus mitis*, Strain F0392, HM-262.

Šis reagentas buvo gautas per „BEI Resources“, NIAID, NIH, kuris yra „Human Microbiome Project“ dalis: *Parvimonas micra*, Strain CC57A (Deposited as *Peptostreptococcus micros*, Strain CC57A), HM-1052.

PREKIŲ ŽENKLAI

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

SIMBOLIAI

SIMBOLIS	REIŠMĖ
R only	Naudoti tik pagal receptą
	Gamintojas
IVD	<i>In vitro</i> diagnostikos medicinos priemonė
	Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje
REF	Katalogo numeris
LOT	Partijos kodas
	Tinka naudoti iki
	Temperatūros riba
	Drėgmės apribojimas
	Nenaudoti pakartotinai
	Pakanka atlikti tyrimų: <n>
	Žr. naudojimo instrukcijas
	Dėmesio
	Biologiniai pavojai
CE	CE ženklas



„NeuMoDx Molecular, Inc.“
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, JAV

Rėmėjas (AUS):
„QIAGEN Pty Ltd“
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148,
Australija



„Emergo Europe B.V.“
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
Nyderlandai



Techninė pagalba / budrumo ataskaitų teikimas: support@qiagen.com

Patentas: www.neumodx.com/patents