

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

VORSICHT: Nur für den US-Export

IVD Nur zur Verwendung mit dem NeuMoDx 288 Molecular System und dem NeuMoDx 96 Molecular System in der *In-vitro*-Diagnostik vorgesehen.

 Für Aktualisierungen dieser Beilage siehe: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Detaillierte Anleitungen sind dem Benutzerhandbuch für das NeuMoDx 288 Molecular System, Teile-Nr. 40600108, zu entnehmen.

Detaillierte Anleitungen sind dem Benutzerhandbuch für das NeuMoDx 96 Molecular System, Teile-Nr. 40600317, zu entnehmen.

VERWENDUNGSZWECK

Der NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay, wie auf dem NeuMoDx 96 Molecular System und dem NeuMoDx 288 Molecular System durchgeführt, ist ein schneller, automatisierter, qualitativer *In-vitro*-Nukleinsäureamplifikationstest für den direkten Nachweis und die Differenzierung von *Streptococcus pyogenes* (β -hämolytischer *Streptococcus* Gruppe A [GAS]) und *Streptococcus dysgalactiae* (pyogener β -hämolytischer *Streptococcus* Gruppe C und G, einschließlich subsp. *dysgalactiae* Gruppe C und *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* Gruppe C und G [GCS/GGS]) in Rachenabstrichproben von Patienten mit Anzeichen und Symptomen einer Pharyngitis. Der Assay arbeitet mit Echtzeit-Polymerasekettenreaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR) für den separaten Nachweis von *Streptococcus pyogenes*- und *Streptococcus dysgalactiae*-DNA in Rachenabstrichproben. Der NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay ist als Hilfsmittel bei der Diagnose von GAS- und GCS-/GGS-Infektionen bei symptomatischen Patienten vorgesehen, nicht aber zur Steuerung oder Überwachung der Behandlung von GAS- oder GCS-/GGS-Infektionen. Gleichzeitige Kulturen können erforderlich sein, um Organismen für die epidemiologische Typisierung oder weitere Suszeptibilitätstests zu gewinnen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Der NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay dient dem gleichzeitigen Nachweis und der Differenzierung von GAS- und GCS-/GGS-DNA. Der Assay zielt im GAS-Genom auf die Region für das LPXTG-motif cell wall anchor domain-containing-Protein und im GCS-/GGS-Genom auf die Sequenz für das Nisinresistenzprotein ab. Zum Nachweis von GAS- und/oder GCS-/GGS-DNA mit dem NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay wird eine Rachenabstrichprobe in flüssiges Amies-Transportmedium gegeben. Zur Vorbereitung des Tests wird das Röhrchen mit flüssigem Amies-Transportmedium in dafür vorgesehenen Probenträgern in das NeuMoDx System geladen, um mit der Verarbeitung zu beginnen. Für jede Probe vermischt das NeuMoDx System ein Aliquot von 50 μ l Amies-Transportmedium mit dem NeuMoDx Lysis Buffer 6 und führt automatisch alle Schritte durch, die erforderlich sind, um die Zielnukleinsäure zu extrahieren, die isolierte DNA für die Echtzeit-PCR-Amplifikation vorzubereiten und die Amplifikationsprodukte (Abschnitte der Ziel-Gensequenz im GAS-, GCS- oder GGS-Genom), falls vorhanden, zu amplifizieren.

Der NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay umfasst eine DNA-Probenprozesskontrolle (Sample Process Control 1, SPC1), mit der überwacht wird, ob mögliche inhibitorische Substanzen sowie Fehler im NeuMoDx System oder bei Reagenzien vorliegen, die bei der Extraktion und dem Amplifikationsprozess auftreten können.

Die Infektion mit *Streptococcus pyogenes*, einem β -hämolytischen Bakterium der Lancefield-Serogruppe A, auch bekannt als Gruppe-A-Streptokokken (GAS), kann beim Menschen eine Vielzahl von Krankheiten auslösen. Der weit verbreitete Organismus *S. pyogenes* ist der häufigste bakterielle Auslöser von akuter Pharyngitis oder Rachenentzündungen, häufig bezeichnet als „Halsentzündungen“. Streptokokkeninfektionen des Rachens treten bei Kindern häufiger auf; sie sind bei ihnen für etwa 20–30 % der Pharyngitisfälle verantwortlich. Bei Erwachsenen verursachen sie dagegen nur etwa 5–15 % aller Pharyngitisinfektionen.^{1,2} Häufig treten bei Patienten, die nicht mit antimikrobiellen Mitteln behandelt werden, purulente Komplikationen der Pharyngitis auf. So kann es zu Mittelohrentzündungen, Nasennebenhöhlenentzündungen, Peritonsillär- oder Retropharyngealabszessen und eitriger zervikaler Adenitis kommen. Zu den nichteitrigen Komplikationen zählen u. a. akutes rheumatisches Fieber (ARF) und akute Glomerulonephritis.³

Streptococcus dysgalactiae subsp. *equisimilis* (GGS/GCS) gehören zur normalen kommensalen Flora der oberen Atemwege des Menschen und besiedeln häufig asymptomatisch Haut, Gastrointestinaltrakt und den weiblichen Genitaltrakt. Oft werden sie aus diesem Grund in ihrer Rolle als krankheitsverursachende Streptokokken unterschätzt – denn GCS/GGS können das gleiche Spektrum an Erkrankungen hervorrufen wie *S. pyogenes*. Bei Kindern sind diese Organismen am häufigsten an Infektionen der oberen Atemwege beteiligt, insbesondere Pharyngitis. Die tatsächliche Inzidenz der durch Streptokokken der Gruppen C und G verursachten Pharyngitis lässt sich aufgrund der Häufigkeit asymptomatischer Besiedlungen nur schwer bestimmen. Trotzdem liegen überzeugende Beweise vor, dass Streptokokken der Gruppen C und G in der Tat Auslöser von Pharyngitis sind.²⁻⁴ GCS/GGS menschlichen Ursprungs werden nun als gesonderte Subspezies geführt, *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*. Ein Vergleich der kompletten Genomsequenz eines klinischen Isolats des GGS *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* mit der von anderen Streptokokkenarten ergab, dass die nächste Verwandtschaft mit *S. pyogenes* besteht, mit einer Sequenzähnlichkeit von 72 %.⁵ *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* hat viele Virulenzfaktoren mit *S. pyogenes* gemeinsam, darunter das antiphagozytische M-Protein, Streptolysin O, Streptolysin S, Streptokinase sowie ein oder mehrere pyrogene Exotoxine, die mit denen bei einem durch Streptokokken ausgelösten toxischen Schock vergleichbar sind.⁵

Obwohl die durch Streptokokken ausgelöste Pharyngitis üblicherweise selbstbegrenzend ist, ist ein schneller und genauer Nachweis wichtig. Eine frühzeitige Behandlung mit geeigneten Antibiotika reduziert bekanntermaßen Schweregrad und Dauer der Symptome, vermindert die Übertragung des Organismus und senkt das Risiko für rheumatisches Fieber.³ Da zumeist Viren die Auslöser von Pharyngitis sind, kann eine genaue Diagnose zudem die unnötige Verabreichung von Antibiotika und die mögliche Entwicklung einer Antibiotikaresistenz verhindern. Eine Diagnose allein auf Grundlage klinischer Merkmale ist jedoch schwierig, da die GAS-Symptome sich mit denen einer viralen Pharyngitis überschneiden. Der „Goldstandard“ für den Nachweis von GAS in der pädiatrischen Population ist die Kultur eines Rachenabstrichs in Blutagar. Allerdings schränkt die relative große Zeitverzögerung zwischen Entnahme der Probe und endgültiger mikrobiologischer Diagnose – etwa 48 Stunden – den Nutzen dieser Methode zur routinemäßigen Anwendung bei ambulanten Patienten ein. Seit den 1980er Jahren sind zum Nachweis von GAS schnelle Antigennachweistests (Rapid antigen detection tests, RADTs) verfügbar.^{6,7} RADTs haben den Vorteil, dass sie schnell und direkt im Sprechzimmer durchgeführt werden können. Trotz der guten Spezifität (> 95 %) weisen RADTs allerdings oft eine im Vergleich zur Kultur reduzierte Sensitivität (~ 86 %) auf.⁸ Der weiterhin bestehende Bedarf an hochempfindlichen und schnellen Assays, die Kulturmethoden ersetzen können, hat zur Entwicklung molekularer Assays geführt. Zum Nachweis von GAS entwickelte Nukleinsäureamplifikationstests (Nucleic acid amplification tests, NAATs) weisen üblicherweise eine höhere Sensitivität (> 90 %) und gute Spezifität (> 95 %) auf.⁸⁻¹⁰

Der NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay ermöglicht den schnellen und genauen Nachweis von Streptokokken der Gruppe A und pyogenen Streptokokken der Gruppen C und G.

PRINZIPIEN DES VERFAHRENS

Der NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay kombiniert die Technologien der DNA-Extraktion und der Amplifikation/des Nachweises mittels Echtzeit-PCR. Rachenabstrichproben werden in Röhrchen mit flüssigem Amies-Transportmedium gegeben. Das NeuMoDx System aspiriert automatisch ein Aliquot der Rachenprobe in flüssigem Amies und mischt es mit NeuMoDx Lysis Buffer 6 und den Extraktionsreagenzien in der NeuMoDx Extraction Plate, um die Verarbeitung zu beginnen. Das NeuMoDx System automatisiert und integriert die DNA-Extraktion und -Konzentration, die Reagenz Vorbereitung und Nukleinsäureamplifikation sowie den Nachweis der Zielsequenz mittels Echtzeit-PCR. Die enthaltene Probenprozesskontrolle (Sample Process Control, SPC1) unterstützt die Überwachung auf das Vorhandensein potenzieller inhibitorischer Substanzen sowie auf Fehler des Systems, der Prozesse oder Reagenzien. Es ist kein Bedieneingriff erforderlich, sobald die Probe in das NeuMoDx System geladen ist.

Die NeuMoDx Systeme verwenden eine Kombination aus Wärme, lytischem Enzym und Extraktionsreagenzien, um die Zellyse, DNA-Extraktion und Entfernung von Inhibitoren durchzuführen. Die freigesetzten Nukleinsäuren werden durch paramagnetische Partikel aufgenommen. Die Mikrosphären werden dann zusammen mit den gebundenen Nukleinsäuren in die NeuMoDx Cartridge geladen, wo die ungebundenen Nicht-DNA-Komponenten mithilfe des NeuMoDx Wash Reagent ausgewaschen werden. Zuletzt wird die gebundene DNA mit NeuMoDx Release Reagent eluiert. Das NeuMoDx System verwendet die eluierte DNA anschließend zur Rehydrierung proprietärer NeuDry™ Amplifikationsreagenzien, die alle für die Amplifikation der GAS- und GCS-/GGS-Zielsequenzen sowie einen Teil der SPC1-Sequenz erforderlichen Elemente enthalten. Auf diese Weise können Amplifikation und Nachweis der Ziel- und Kontroll-DNA-Sequenzen gleichzeitig erfolgen. Nach der Rekonstruktion der PCR-Reagenzien dispensiert das NeuMoDx System die vorbereitete PCR-fertige Mischung in eine PCR-Kammer (pro Probe) der NeuMoDx Cartridge. Die Amplifikation und der Nachweis der Kontroll- und Ziel-DNA-Sequenzen erfolgen (wenn vorhanden) in der PCR-Kammer. Die NeuMoDx Cartridge, einschließlich PCR-Kammer, ist dafür konzipiert, das Amplifikat nach der Echtzeit-PCR zu enthalten und damit im Wesentlichen das Kontaminationsrisiko nach Amplifikation zu beseitigen.

Die amplifizierten Ziele werden in Echtzeit anhand von Hydrolyse-Sonden-Chemie (allgemein als TaqMan® Chemie bezeichnet) nachgewiesen, wobei fluorogene Oligonukleotidsondenmoleküle angewendet werden, die spezifisch für die Amplifikate ihrer jeweiligen Ziele sind.

TaqMan Sonden bestehen aus einem Fluorophor, das kovalent am 5'-Ende der Oligonukleotidsonde gebunden ist, und einem Quencher am 3'-Ende. Bei intakter Sonde führt die Nähe des Fluorophors zum Quencher dazu, dass das Quencher-Molekül die Fluoreszenz des Fluorophors durch Förster-Resonanzenergietransfer (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) unterdrückt.

TaqMan Sonden sind dafür konzipiert, sich in einer durch einen bestimmten Satz an Primern amplifizierten DNA-Region anzulagern. Während die Taq-DNA-Polymerase den Primer verlängert und den neuen Strang synthetisiert, sorgt die 5'-3'-Exonuklease-Aktivität der Taq-DNA-Polymerase für den Abbau der Sonde, die sich an das Template angelagert hat. Durch Abbau der Sonde wird das Fluorophor freigesetzt, und der geringe Abstand zwischen Fluorophor und Quencher vergrößert sich. Dadurch wird der Löscheffekt durch FRET aufgehoben und die Fluoreszenz nimmt zu.

Eine TaqMan-Sonde, die mit einem Fluorophor (Anregung: 470 nm und Emission: 510 nm) am 5'-Ende und einem dunklen Quencher am 3'-Ende markiert ist, wird zum Nachweis von GAS-DNA verwendet, und eine TaqMan Sonde, die mit einem Fluorophor (Anregung: 585 nm und Emission: 610 nm) am 5'-Ende und einem dunklen Quencher am 3'-Ende markiert ist, wird zum Nachweis von GCS-/GGS-DNA verwendet. Für den Nachweis der Probenprozesskontrolle wird die TaqMan Sonde mit einem alternativen Fluoreszenzfarbstoff (Anregung: 530 nm und Emission: 555 nm) am 5'-Ende und einem dunklen Quencher am 3'-Ende markiert. Das NeuMoDx System überwacht das von den TaqMan Sonden am Ende jedes Amplifikationszyklus abgegebene Fluoreszenzsignal. Nach Abschluss der Amplifikation analysiert das NeuMoDx System die Daten und meldet ein qualitatives Endergebnis (POSITIVE (POSITIV)/NEGATIVE (NEGATIV)/INDETERMINATE UNBESTIMMT/UNRESOLVED (OFFEN)).

REAGENZIEN/VERBRAUCHSMATERIALIEN

Bereitgestelltes Material

REF	Inhalt	Tests pro Einheit	Tests pro Packung
209102	NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip <i>RT-PCR-Trockenreagenzien, die GAS- und GCS-/GGS-spezifische TaqMan Sonden und Primer sowie eine für die Probenprozesskontrolle spezifische TaqMan Sonde und für die Probenprozesskontrolle spezifische Primer enthalten.</i>	16	96

Benötigte, aber nicht bereitgestellte Reagenzien und Verbrauchsmaterialien (separat bei NeuMoDx erhältlich)

REF	Inhalt
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Getrocknete paramagnetische Partikel und Probenprozesskontrollen sowie getrocknetes lytisches Enzym</i>
401700	NeuMoDx Lysis Buffer 6*
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton CO-RE / CO-RE II Spitzen (300 µl) mit Filtern
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II Spitzen (1000 µl) mit Filtern

**Hinweis: NeuMoDx System Softwareversionen vor 1.8.0.0 erkennen NeuMoDx Lysis Buffer 6 als „Lysis Buffer 4“. Detaillierte Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen siehe Gebrauchsanweisung für NeuMoDx Lysis Buffer 6 (Teile-Nr. 40600406).*

Benötigte Instrumente

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] oder **NeuMoDx 96 Molecular System** [REF 500200]

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Dieser Test ist ausschließlich zur Verwendung in der *In-vitro*-Diagnostik mit NeuMoDx Systems bestimmt.
- Verbrauchsmaterialien oder Reagenzien nach dem aufgelisteten Ablaufdatum nicht mehr verwenden.
- Reagenzien nicht verwenden, wenn das Sicherheitssiegel aufgebrochen oder die Verpackung bei Ankunft beschädigt ist.
- Verbrauchsmaterialien oder Reagenzien nicht verwenden, wenn der Schutzbeutel bei der Ankunft geöffnet oder beschädigt ist.
- Der NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay wurde für die Verwendung mit Konservierungsstoffen nicht validiert.
- Abstrichproben nicht in anderem Transportmedium als Amies (oder gleichwertig) sammeln. Der NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay wurde für die Verwendung mit anderen Transportmedien nicht validiert.
- Das Mindestprobenvolumen ist abhängig von der Röhrchengröße bzw. dem Probenröhrchenträger gemäß Definition in den Benutzerhandbüchern für die NeuMoDx 288 und 96 Molecular Systems (Teile-Nr. 40600108 und 40600317).
- Die Durchführung eines Tests mit einem NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip an Rachenabstrichproben, die älter als 2 Tage sind (gelagert bei 2–8 °C), kann zu ungültigen oder falschen Ergebnissen führen.
- Mikrobielle und Desoxyribonuklease-(DNase-)Kontamination der Reagenzien vermeiden. Für die Überführung von Proben in ein Sekundärrohrchen wird die Verwendung steriler DNase-freier Einwegtransferpipetten empfohlen. Für jede Probe eine neue Pipette verwenden.
- Zur Vermeidung von Kontamination NeuMoDx Cartridge nach der Amplifikation weder handhaben noch beschädigen. NeuMoDx Cartridges unter keinen Umständen aus Abfallbehältern entnehmen. Die NeuMoDx Cartridge ist dafür konzipiert, Kontamination zu verhindern.
- Wenn das Labor auch PCR-Tests mit offenen Röhrchen ausführt, muss unbedingt gewährleistet werden, dass der NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip, die zusätzlich für die Tests benötigten Verbrauchsmaterialien und Reagenzien, persönliche Schutzausrüstung wie Handschuhe und Laborkittel sowie das NeuMoDx System nicht kontaminiert werden.
- Bei der Handhabung von NeuMoDx Reagenzien und Verbrauchsmaterialien sollten saubere, puderfreie Nitrilhandschuhe getragen werden. Es ist darauf zu achten, dass die Oberseite der NeuMoDx Cartridge, die Oberfläche der Versiegelungsfolie eines NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip oder einer NeuMoDx Extraction Plate oder die Oberseite des NeuMoDx Lysis Buffer 6 nicht berührt wird; die Verbrauchsmaterialien und Reagenzien dürfen ausschließlich an den Seitenflächen angefasst werden.
- Nach der Durchführung des Tests Hände gründlich waschen.
- Nicht mit dem Mund pipettieren. In Bereichen, in denen Proben oder Reagenzien verarbeitet werden, nicht rauchen, trinken oder essen.
- Proben sind immer wie infektiöses Material und entsprechend den sicheren Laborverfahren (beschrieben in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹¹ und im CLSI-Dokument M29-A3¹²) zu behandeln.
- Nicht verwendete Reagenzien und Abfall entsprechend den nationalen, bundesstaatlichen, regionalen, kommunalen und lokalen Vorschriften entsorgen.

LAGERUNG, HANDHABUNG UND STABILITÄT VON PRODUKTEN

- Für jedes Reagenz werden Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS) bereitgestellt, sofern erforderlich.
- Die NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strips sind in der Primärverpackung bei Lagerung zwischen 15 und 23 °C bis zum angegebenen Ablaufdatum stabil.
- Die Verbrauchsmaterialien und Reagenzien nach Ablauf des angegebenen Ablaufdatums nicht mehr verwenden.
- Testprodukte nicht verwenden, wenn die Primär- oder Sekundärverpackung sichtbar beschädigt ist.
- Ein einmal in das NeuMoDx System geladener NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip kann dort bis zu 14 Tage belassen werden. Die verbleibende Haltbarkeitsdauer der im Gerät befindlichen Teststreifen wird durch die Software verfolgt und dem Benutzer in Echtzeit mitgeteilt. Das System fordert zur Entfernung von Teststreifen auf, die schon über den zulässigen Zeitraum hinaus in Verwendung sind.

PROBENNAHME, TRANSPORT UND LAGERUNG

- Der NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip wurde an von medizinischem Fachpersonal entnommenen Rachenabstrichproben getestet. Die Leistung mit anderen als den angegebenen Proben wurde nicht bewertet.
- Entnommene Abstrichproben sind während des Transports bei den im Abstrichnahme-Kit empfohlenen Temperaturen aufzubewahren.
- Abstrichproben sollten vor den Tests bei 2–8 °C nicht länger als 2 Tage und bei Raumtemperatur maximal 8 Stunden lang gelagert werden.

GEBRAUCHSANWEISUNG

Probennahme/Transport

1. Durch Ärzte entnommene Rachenabstrichproben sind in flüssiges Amies-Transportmedium zu geben.
2. Wenn Proben nicht innerhalb von 8 Stunden getestet werden, sollten sie vor den Tests zwischen 2 und 8 °C bis maximal 2 Tage lang gelagert werden.

Testvorbereitung

1. Proben-Barcodeetikett auf einem mit dem NeuMoDx System kompatiblen Probenröhrchen anbringen. Das primäre Entnahmeröhrchen kann beschriftet und direkt in den Probenträger eingesetzt werden. Alternativ kann ein Aliquot des flüssigen Amies-Mediums für die Verarbeitung im NeuMoDx System in ein Sekundäröhrchen überführt werden.
2. Die Abstrichprobe im ursprünglichen Behälter vorsichtig vortexen, um eine gleichmäßige Verteilung zu erreichen.
3. Wenn die Abstrichprobe im primären Abstrichentnahmeröhrchen getestet wird, das mit Barcode versehene Röhrchen in den Probenträger stellen und vor dem Einsetzen in das NeuMoDx System sicherstellen, dass Deckel und Wattestäbchen entfernt wurden. Das Wattestäbchen NICHT im Röhrchen belassen.
4. Bei Verwendung eines Sekundäröhrchens ein $\geq 0,5$ -ml-Aliquot der Probe in flüssigem Amies in ein mit Barcode versehenes, mit einem NeuMoDx 32-Tube Specimen Carrier kompatibles Probenröhrchen überführen.

Betrieb des NeuMoDx System

Detaillierte Anleitungen sind den Benutzerhandbüchern für das NeuMoDx 288 Molecular System und das NeuMoDx 96 Molecular System (Teile-Nr. 40600108 und 40600317) zu entnehmen.

1. Einen oder mehrere NeuMoDx Test Strip Carriers mit NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip(s) befüllen und den/die Teststreifenträger über den Touchscreen in das NeuMoDx System laden.
2. Bei Aufforderung durch die NeuMoDx System Software die erforderlichen Verbrauchsmaterialien in die Verbrauchsmaterialträger des NeuMoDx System geben und den/die Träger über den Touchscreen in das NeuMoDx System laden.
3. Bei Aufforderung durch die NeuMoDx System Software das NeuMoDx Wash Reagent oder NeuMoDx Release Reagent ersetzen, den Priming-Abfall, den Behälter für biogefährlichen Abfall (nur NeuMoDx 288 Molecular System), den Spitzenabfallbehälter (nur NeuMoDx 96 Molecular System) oder den Eimer für biogefährlichen Abfall (nur NeuMoDx 96 Molecular System) leeren.
4. Das/die Probenröhrchen in den entsprechenden Probenröhrchenträger laden und darauf achten, dass die Deckel von allen Probenröhrchen entfernt wurden.
5. Den Probenröhrchenträger auf das Autolader-Regal setzen und über den Touchscreen in das NeuMoDx System laden. Dadurch wird die Verarbeitung der für die identifizierten Tests geladenen Probe(n) eingeleitet.

ANWENDUNGSEINSCHRÄNKUNGEN

- Der NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip kann ausschließlich auf NeuMoDx Systems verwendet werden.
- Die Leistung des NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip wurde mit von medizinischem Fachpersonal entnommenen Rachenabstrichproben ermittelt.
- Die Verwendung des NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip mit Proben anderer Herkunft wurde nicht bewertet und die Leistungsmerkmale dieses Tests sind für andere Probentypen unbekannt.

- Da der GAS- und GCS-/GGS-Nachweis von der Anzahl der in der Probe vorhandenen Organismen abhängig ist, sind ordnungsgemäße Probennahme, Handhabung und Lagerung für zuverlässige Ergebnisse erforderlich.
- Eine unsachgemäße Probennahme, Handhabung, Lagerung, technische Fehler oder eine Verwechslung von Probenröhrchen können zu fehlerhaften Testergebnissen führen. Darüber hinaus können falsch negative Ergebnisse auftreten, wenn die Anzahl der Organismen in der Probe unter der analytischen Sensitivität des Tests liegt.
- Tests dürfen ausschließlich von Personal durchgeführt werden, das in der Anwendung des NeuMoDx System geschult ist.
- Wenn die Probenprozesskontrolle nicht amplifiziert wird und das Ergebnis des NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test „Negative“ (Negativ) ist, wird ein ungültiges Ergebnis („Indeterminate“ (Unbestimmt) oder „Unresolved“ (Offen)) gemeldet und der Test sollte wiederholt werden.
- Ein positives Testergebnis gibt nicht unbedingt das Vorhandensein lebensfähiger Organismen an. Es lässt jedoch die Vermutung des Vorhandenseins von GAS- und/oder GCS-/GGS-DNA zu.
- Zwar gibt es keine bekannten Stämme/Isolate von GAS, denen die Region für das LPXTG-motif cell wall anchor domain-containing-Protein fehlt oder von GCS/GGS, denen die Region für das Nisinresistenzprotein fehlt, sollte ein solcher Stamm jedoch existieren, könnte er bei Verwendung des NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip zu einem falschen Ergebnis führen.
- Mutationen im Bindungsbereich des Primers/der Sonde können sich bei Verwendung des NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip auf den Nachweis auswirken.
- Ergebnisse des NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay sollten zusätzlich zu klinischen Beobachtungen und sonstigen Informationen, die dem Arzt zur Verfügung stehen, herangezogen werden. Der Test dient nicht dazu, Träger von GAS- und/oder GCS-/GGS-DNA von Trägern mit Streptokokken-Erkrankung zu differenzieren.
- Die Testergebnisse können durch eine gleichzeitige Antibiotikatherapie beeinträchtigt werden, da die GAS- und GCS-/GGS-DNA nach einer antimikrobiellen Therapie möglicherweise weiterhin nachgewiesen wird.
- Um die Kontamination von Proben zu vermeiden, werden gute Laborpraktiken, einschließlich des Wechsels der Handschuhe bei Handhabung verschiedener Patientenproben, empfohlen.

ERGEBNISSE

NeuMoDx Molecular Systems

Die verfügbaren Ergebnisse können unter der Registerkarte „Results“ (Ergebnisse) im Fenster „Results“ (Ergebnisse) auf dem Touchscreen des NeuMoDx System angezeigt oder ausgedruckt werden. Ein Testergebnis wird auf Grundlage des Amplifikationsstatus der Zielsequenz und der Probenprozesskontrolle (Sample Process Control, SPC1) als „Positive“ (Positiv) (POS), „Negative“ (Negativ) (NEG), „Indeterminate“ (Unbestimmt) (IND) oder „Unresolved“ (Offen) (UNR) bezeichnet.

Die Kriterien für eine positive oder negative Bestimmung sind in der NeuMoDx System Strep A/C/G Vantage Assay Definitionsdatei (Assay Definition File, ADF), wie durch NeuMoDx Molecular, Inc. auf dem/den System(en) installiert, spezifiziert. Die Ergebnisse werden auf Grundlage des ADF-Entscheidungsalgorithmus gemäß der Zusammenfassung in der nachstehenden *Tabelle 1* ausgegeben.

Tabelle 1. Zusammenfassung des Strep A/C/G Vantage Assay Entscheidungsalgorithmus

ERGEBNIS	GAS- und/oder GCS-/GGS-ZIELE	PROZESSKONTROLLE (SPC1)
POS	Amplified (Amplifiziert)	n. z.
NEG	Not Amplified (Nicht amplifiziert)	Amplified (Amplifiziert)
IND (Unbestimmt)	Not Amplified, System Error Detected (Nicht amplifiziert, Systemfehler festgestellt)	
UNR (Offen)	Not Amplified, No System Error Detected (Nicht amplifiziert, kein Systemfehler festgestellt)	

Ungültige Ergebnisse

Wenn ein im NeuMoDx System durchgeführter NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay kein gültiges Ergebnis erzeugt, wird dies auf der Grundlage der Art des aufgetretenen Fehlers entweder als „Indeterminate“ (Unbestimmt) oder als „Unresolved“ (Offen) gemeldet und der Test sollte wiederholt werden, um ein gültiges Ergebnis zu erzielen.

Das Ergebnis „Indeterminate“ (Unbestimmt) wird gemeldet, wenn während der Probenverarbeitung ein Fehler im NeuMoDx System erkannt wird.

Das Ergebnis „Unresolved“ (Offen) wird gemeldet, wenn kein Ziel nachgewiesen wird und keine Amplifikation der Probenprozesskontrolle erfolgt, was auf einen möglichen Reagenzfehler oder das Vorhandensein von Inhibitoren hinweist.

Qualitätskontrolle

Die lokalen Vorschriften legen in der Regel fest, dass das Labor für die Kontrollverfahren verantwortlich ist, die die Richtigkeit und Präzision des kompletten Analyseprozesses überwachen, und unter Verwendung bestätigter Leistungsspezifikationen für ein unverändertes, zugelassenes Testsystem Anzahl, Typ und Häufigkeit der Testkontrollmaterialien feststellen muss.

1. Externe (anwenderdefinierte) Kontrollmaterialien werden von NeuMoDx Molecular, Inc. nicht bereitgestellt. Geeignete Kontrollen müssen vom Labor ausgewählt und validiert werden. Die Kontrollen müssen die gleichen Mindestanforderungen an das Volumen erfüllen wie klinische Proben. Es steht dem Anwender frei, spezifische Barcodes für Positiv- und Negativkontrolle zu definieren oder Barcodes zufällig zuzuweisen.
2. Empfohlen: 1 *Streptococcus pyogenes* LYFO DISK™ (Microbiologics® 0508L) und 1 *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* LYFO DISK (Microbiologics® 0602L), nach Herstellerangaben rekonstituiert, in 50 ml flüssigem Amies verdünnt und in Aliquoten von 0,5 ml aufbewahrt. Bei der Verarbeitung von Kontrollen die beschrifteten Kontrollen in einen Probenröhrchenträger setzen und den Träger über den Touchscreen aus dem Autolader-Regal in das NeuMoDx System laden. Das NeuMoDx System erkennt die Barcodes (wenn durch den Anwender vordefiniert) und startet die Verarbeitung der Kontrollen, sofern die für die Tests erforderlichen adäquaten Reagenzien oder Verbrauchsmaterialien verfügbar sind.
3. Die für die Probenprozesskontrolle 1 (Sample Process Control 1, SPC1) spezifische(n) Primer und Sonde sind in jedem NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip enthalten. Diese Probenprozesskontrolle ermöglicht dem NeuMoDx System, die Effizienz des DNA-Extraktions- und PCR-Amplifikationsprozesses zu überwachen.
4. Ein für eine Negativkontrollprobe gemeldetes positives Testergebnis weist auf ein Probenkontaminationsproblem hin. Tipps zur Fehlerbehebung siehe *Benutzerhandbuch für das NeuMoDx 288 bzw. 96 Molecular System*.
5. Ein für eine Positivkontrollprobe gemeldetes negatives Ergebnis kann darauf hinweisen, dass ein Problem im Zusammenhang mit dem Reagenz oder dem NeuMoDx System besteht. Tipps zur Fehlerbehebung siehe *Benutzerhandbuch für das NeuMoDx 288 bzw. 96 Molecular System*.

LEISTUNGSMERKMALE

Klinische Leistung

Die klinischen Leistungsmerkmale des NeuMoDx Strep Vantage A/C/G Assay wurden in einer internen retrospektiven Methodenvergleichsstudie mit aus zwei geografisch unterschiedlichen klinischen Laborstandorten bezogenen Rachenabstrichproben bestimmt.

Übrig gebliebene Rachenabstrichproben von symptomatischen Patienten wurden von klinischen Labors anonymisiert und erhielten eine eindeutige ID-Nummer. So wurde eine vertrauliche Liste erstellt, die die Patienten-ID mit den zu Studienzwecken getesteten anonymisierten Proben verknüpfte. Insgesamt wurden 230 von zwei klinischen Labors bereitgestellte Restproben getestet. Von den 230 Proben wurden 68 Proben durch die klinischen Labors als GAS-positiv und 47 Proben als GCS-/GGS-positiv identifiziert. Eine Probe ergab sowohl für GAS als auch für GCS/GGS ein positives Ergebnis, ein Hinweis auf eine Doppel- oder Koinfektion. Der Teststatus dieser Proben wurde vom Betreiber zurückgehalten, um eine „einfach verblindete Studie“ zu implementieren. Für die Methodenvergleichsanalyse wurden die von den spezifischen FDA- und CE-zugelassenen, rechtmäßig vermarkteten und von den Labors für Tests im Rahmen der standardmäßigen Behandlung verwendeten Molekulargeräten gemeldeten Ergebnisse verwendet.

Die Ergebnisse des NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test wiesen eine klinische Sensitivität von 100 % für das GAS- und von 95,9 % für das GCS-/GGS-Ziel auf, wobei beide mit 95%-Konfidenzintervall (KI) ausgegeben wurden. Die klinische Spezifität aus der Studie wurde sowohl für GAS als auch für GCS/GGS als 100 % bestimmt, auch hier unter Verwendung des 95%-KI. Die untere und obere Grenze des 95%-Konfidenzintervalls (KI), die in den nachstehenden *Tabellen 2A* und *2B* gezeigt sind, wurden nach dem Wilson-Verfahren mit Kontinuitätskorrektur berechnet.

Tabelle 2A. Zusammenfassung der klinischen Leistung – Nachweis von *S. pyogenes* mit dem NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip

GAS		FDA-/CE-zugelassen Referenztestergebnis		
		POS	NEG	Gesamt
NeuMoDx Strep A/C/G	POS	68	0	68
	NEG	0	162	162
	Gesamt	68	162	230
Klinische Sensitivität (GAS) = 100 % (93,3–100)				
Klinische Spezifität (GAS) = 100 % (97,1–100)				

Tabelle 2B. Zusammenfassung der klinischen Leistung – Nachweis von *S. dysgalactiae* mit dem NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip

GCS/GGS		FDA-/CE-zugelassen Referenztestergebnis		
		POS	NEG	Gesamt
NeuMoDx Strep A/C/G	POS	47	0	47
	NEG	2	181	183
	Gesamt	49	181	230
Klinische Sensitivität (GCS/GGS) = 95,9 % (84,9–99,3)				
Klinische Spezifität (GCS/GGS) = 100 % (97,4–100)				

Analytische Sensitivität

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) des NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay wurde anhand von mit GAS-, GCS- und GGS-Zielen versetzten negativen klinischen Rachenabstrichen bestimmt: *Streptococcus pyogenes* (ATCC 700294), *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (ATCC 35666) bzw. *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (ATCC 12384). Alle für die Studie verwendeten Proben wurden in gepoolten und als Streptokokken-negativ getesteten klinischen Rachenabstrichproben hergestellt. Diese wurden einzeln mit Zielen in den Konzentrationen 50 KbE/ml GAS, 2.500 KbE/ml GCS bzw. 10.000 KbE/ml GGS versetzt. Jedes Ziel wurde in 40 Replikaten getestet und eine Trefferquotenanalyse wurde durchgeführt, um das Erreichen einer Nachweisrate von $\geq 95\%$ bestätigen und so diese Konzentrationen als jeweilige LoD der Ziele annehmen zu können. Die Ergebnisse der Studie zur Nachweisgrenze sind nachstehend in *Tabelle 3* zusammengefasst.

Tabelle 3. Trefferquotenbestimmung für die Nachweisgrenze des NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay

Ziel	Konzentration (KbE/ml)	n	Anzahl positiv	% positiv	LoD (Trefferquote)
GAS	50	40	40	100	50 KbE/ml
GCS	2.500	40	40	100	2.500 KbE/ml
GGG	10.000	40	40	100	10.000 KbE/ml

Die Nachweisgrenzen für den NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay werden mit 50 KbE/ml für GAS, 2.500 KbE/ml für GCS und 10.000 KbE/ml für GGS angegeben.

Nachweis von Varianten

Die analytische Sensitivität des NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay wurde anhand von 11 verschiedenen GAS-, 7 GCS- und 9 GGS-Stämmen weiter bestätigt. Tests wurden mit den nachstehend in *Tabelle 4* aufgelisteten GAS-, GCS- und GGS-Stämme durchgeführt. Negative klinische Abstrichproben wurden mit Zielen in den angegebenen Konzentrationen versetzt, um anschließend beim Doppelten der oben angegebenen LoD getestet zu werden und einen Nachweis von $\geq 95\%$ zu bestätigen. Einzelne Stämme, welche diese Anforderung nicht erfüllt haben, wurden in höheren Konzentrationen erneut getestet, bis die Nachweisrate von $\geq 95\%$ erreicht wurde. Die Konzentration, in der dies für jeden Stamm der Fall war, ist in *Tabelle 4* als die LoD für die jeweilige Variante angegeben.

Tabelle 4. Getestete GAS-, GCS- und GGS-Stämme

	Stamm	n	Konzentration KbE/ml	Positive (Positiv)	Negative (Negativ)	Nachweisrate (%)
<i>S. pyogenes</i> (Gruppe A)	M3	5	100	5	0	100
	M82	5	100	5	0	100
	M4	5	100	5	0	100
	M18	20	100	19	1	95
	M28	20	300	19	1	95
	M73	20	500	20	0	100
	M78	20	500	20	0	100
	M77	19	500	19	0	100
	M12	20	500	20	0	100
	M75	20	1500	20	0	100
M49	20	2500	19	1	95	
<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i> (Gruppe C)	C74	5	5000	5	0	100
	13-166	5	5000	5	0	100
	1180	5	5000	5	0	100
	C46	5	5000	5	0	100
	UCM 74/02P	5	5000	5	0	100
	SVA XVI 172	5	5000	5	0	100
	Lancefield H64	5	5000	5	0	100
	CCUG 28238	5	5000	5	0	100
<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i> (Gruppe G)	NIH 1129	5	10000	5	0	100
	G16	5	10000	5	0	100
	CCUG 15679	5	10000	5	0	100
	G47	5	10000	5	0	100
	CCUG 27483	5	10000	5	0	100
	CCUG 33802	5	10000	5	0	100
	CCUG 502	5	10000	5	0	100
	CCUG 15680	5	20000	5	0	100
	CCUG 24070	5	20000	5	0	100

Analytische Spezifität

Insgesamt 45 Kulturisolate oder DNA-Proben von Organismen, die möglicherweise mit GAS oder GCS/GGS zusammen vorkommen oder phylogenetisch verwandt sind, wurden auf eine mögliche Kreuzreaktivität beim Testen mit dem NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay untersucht. Die Organismen wurden in Pools mit jeweils 3–6 Organismen vorbereitet und bei hoher Konzentration getestet. GAS-/GCS-/GGS-negatives flüssiges Amies-Medium wurde mit bakteriellen Organismen in Konzentrationen von 6–9 x 10⁶ KbE/ml und viralen Erregern in einer Konzentration von 1 x 10⁶ Kopien DNA/ml versetzt, sofern nicht anders angegeben. Es wurde keine Kreuzreaktivität mit den in dieser Studie getesteten Pathogenen festgestellt. Die Liste der Organismen ist in *Tabelle 5* dargestellt.

Tabelle 5. Liste der zur Demonstration der analytischen Spezifität verwendeten Pathogene

Bakterien	Bakterien	Bakterien
<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>	Viren
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>	Adenovirus Typ I*
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	Haemophilus influenzae Typ A
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptococcus canis</i>	Influenza A
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus canis</i> (STR T1)	Influenza B
<i>Legionella micdadei</i>	<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i> (group C)	Parainfluenza Typ 4b†
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>	Rhinovirus Typ 1A
<i>Moraxella cartarrhalis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	

* Adenovirus Typ I wurde in einer Konzentration von 1x10⁶ TCID₅₀/ml zugesetzt

† *Bordetella pertussis* und Parainfluenza Typ 4b wurden in einer Konzentration von 10 ng/ml zugesetzt

Störsubstanzen – kommensale Organismen

Der NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay wurde auf Störungen bei Vorhandensein von Nicht-Zielorganismen (ebenfalls im hinteren Rachen vorkommend) getestet, indem die Leistung des NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay bei geringen GAS- und GCS-/GGG-Konzentrationen im NeuMoDx Molecular System bewertet wurde. Für diese Studie wurde das gleiche Panel mit 45 Organismen [Tabelle 5] verwendet, das für die Bewertung der Kreuzreaktivität verwendet wurde. Die Organismen wurden in 3er- bis 6er-Gruppen in GAS-/GCS-/GGG-negativem flüssigem Amies-Medium gepoolt und mit 150 KbE/ml GAS-, 7.500 KbE/ml GCS- und 30.000 KbE/ml GGS-Zielen versetzt. Es wurde keine Wechselwirkung mit den kommensalen Organismen festgestellt.

Störsubstanzen – endogene und exogene Substanzen in klinischen Rachenabstrichproben

Die Leistung des NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay wurde in Gegenwart potenzieller Störsubstanzen bewertet, die in einem dem Patienten entnommenen Rachenabstrich vorhanden sein können [Tabelle 6]. Alle wurden auf eine potenzielle Störung bei Nichtvorhandensein und Vorhandensein von GAS, GCS und GGS getestet. Flüssigen Amies-Proben, die mit dem 3-fachen der LoD versetzt waren, wurden mithilfe eines gesättigten Wattestäbchens in Wasser gelöst oder verdünnte endogene und exogene Substanzen in den angegebenen Konzentrationen zugesetzt. Für keine der getesteten Substanzen ergab sich eine nachteilige Auswirkung auf den Nachweis von GAS oder GCS/GGS.

Tabelle 6. Mit Wattestäbchenproben in flüssigem Amies getestete exogene und endogene Störsubstanzen

	Störsubstanz	Stammkonzentration
Exogen	Altoids™ (Spearmint)	10 % (w/v)
	Aspirin™	10 % (w/v)
	CEPACOL® Extra Strength Sore Throat & Cough Lutschtabletten	5 % (w/v)
	Dimetapp® Cold & Cough für Kinder	15 % (v/v)
	Chloraseptic® Max Sore Throat Lutschtabletten	10 % (w/v)
	Chloraseptic Sore Throat Spray	10 % (v/v)
	Cold-EEZE® Zinc Lutschtabletten	15 % (w/v)
	Crest® Pro-Health Advanced Gum Protection Zahnpasta	4 % (w/v)
	Halls™ Hustenbonbons (Cherry)	15 % (w/v)
	Halls Hustenbonbons (Menthol-Lyptus)	15 % (w/v)
	ICE BREAKERS® Mints (Cool Mint)	10 % (w/v)
	LISTERINE® Total Care Mundspülung	15 % (v/v)
	LISTERINE Ultra-clean Antiseptische Mundspülung	15 % (v/v)
	*Ricola® Original Schweizer zuckerfreie hustenstillende Kräuterhalsbonbons	15 % (w/v)
	Robitussin® Max Strength Nighttime Cough DM	10 % (v/v)
	Sucrets® Sore Throat & Cough Lutschtabletten (Vapor Cherry)	5 % (w/v)
	Tic Tac® Freshmints	10 % (w/v)
	Wal-Tussin DM Max Hustensirup	10 % (v/v)
Endogen	Speichel	100 %
	Vollblut	10 % (v/v)

**Zunächst wies eine der drei bei 3x LoD getesteten GAS-Proben in Gegenwart von Ricola Halsbonbons keine Amplifikation auf; bei einem erneuten Test war diese aber wie erwartet.*

Interchargen-Reproduzierbarkeit

Die Charge-zu-Charge-Reproduzierbarkeit des NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay wurde durch retrospektive Analyse von Qualitätstestdaten für drei verschiedene Chargen des NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip und des NeuMoDx Lysis Buffer 6 verifiziert. Diese Daten wurden durch Funktionstests der Reagenzien an flüssigem Amies-Transportmedium generiert, welches mit den entsprechenden GAS- und GCS-Stämmen im Bereich der jeweiligen LoD versetzt war. Pro Charge NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip wurden insgesamt 64 positive und 16 negative Replikate verarbeitet; die Evaluation des NeuMoDx Lysis Buffer 6 umfasste 16 positive und 8 negative Replikate. Die Variation zwischen den Produktionschargen wurde durch Bestimmung des C_t -Werts, der Standardabweichung und des prozentualen Variationskoeffizienten (% VK) analysiert, wie in *Tabelle 7* dargestellt. Werte für die Standardabweichung von $\leq 1,1$ und für den Variationskoeffizienten von $\leq 3,0$ % sowohl für GAS- als auch für GCS-Ziele belegen für die wesentlichen Reagenzien des NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay eine ausgezeichnete Reproduzierbarkeit von Charge zu Charge.

Tabelle 7. %-VK-Analyse nach Zielen über mehrere Chargen der Hauptkomponenten des NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay

	GAS			GCS			Alle Ergebnisse		
	\bar{C}_t	C_t SD	% VK	\bar{C}_t	C_t SD	% VK	\bar{C}_t	C_t SD	% VK
(über 3 Chargen)									
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 %

Gleichwertigkeit frischer und gefrorener Proben

Tests wurden durchgeführt, um die Vergleichbarkeit der Probenmatrix von frischen und gefrorenen Rachenabstrichproben zu demonstrieren. Negative klinische Proben wurden mit GAS-, GCS- und GGS-Zielen bei 3x LoD des NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay versetzt und unter Anwendung des NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay verarbeitet. Die einzelnen Proben wurden dann bei -80 °C eingefroren, wieder aufgetaut und erneut verarbeitet. Die Ergebnisse für frische und gefrorene Abstrichproben wurden mittels Regressionsanalyse auf ihre Gleichwertigkeit untersucht. Die Daten zeigten eine ausgezeichnete Vergleichbarkeit von frischen und gefrorenen Rachenabstrichproben.

Wirksamkeit der Kontrolle

Die Effektivität der im NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip enthaltenen Probenprozesskontrolle zur Meldung von fehlgeschlagenen Prozessschritten oder Inhibitionen, welche die Leistung des NeuMoDx A/C/G Vantage Assay beeinträchtigen, wurde auf dem NeuMoDx Molecular System bewertet. Die getesteten Bedingungen sind repräsentativ für kritische Fehlschläge von Prozessschritten, die potenziell bei der Probenverarbeitung auftreten und von den Sensoren im Gerät, die die Leistung des NeuMoDx System überwachen, *nicht unbedingt erkannt werden*. Die Wirksamkeit der Kontrolle wurde durch Simulation von Ausfällen verschiedener Schritte des Probenprozessflows bewertet, indem ein potenzieller Systemfehler imitiert wurde und Proben mit einem bekannten Inhibitor versetzt wurden, um die Auswirkung der ineffizienten Abschwächung des Inhibitors auf den Nachweis der Probenprozesskontrolle zu beobachten (siehe *Tabelle 8*). In den Fällen, in denen die Verarbeitungsfehler sich nicht negativ auf die Leistung der Probenprozesskontrolle auswirkten (NO WASH/NO WASH BLOWOUT (keine Waschung/kein Wasch-Blowout)), wurde der Test mit Proben mit geringem GAS- und GCS-/GGG-Gehalt (nahe LoD) wiederholt, um zu bestätigen, dass der Prozessfehler auf den Nachweis des GAS- oder GCS-/GGG-Ziels ebenfalls keine negativen Auswirkungen hatte. In *Tabelle 8* sind die Ergebnisse des Tests zur Verifizierung der Kontrolleffektivität zusammengefasst.

Tabelle 8. Zusammenfassung der Daten zur Effektivität der Kontrollen

Bedingung	Erwartetes Ergebnis	Beobachtetes Ergebnis
Normal Processing (Normale Verarbeitung)	Negative (Negativ)	Negative (Negativ)
Normal Processing + Inhibitor (Normale Verarbeitung + Inhibitor)	Unresolved (Offen)	Unresolved (Offen)
No Wash Reagent (Kein Wash Reagent)	Unresolved (Offen) oder Negative (Negativ)	Negative (Negativ)*
No Wash Blowout (Kein Wasch-Blowout)	Unresolved (Offen) oder Negative (Negativ)	Negative (Negativ)
No Release Reagent (Kein Release Reagent)	Indeterminate (Unbestimmt)	Indeterminate (Unbestimmt)
No PCR Master Mix Reagents (Keine PCR-Master-Mix-Reagenzien)	Indeterminate (Unbestimmt)	Indeterminate (Unbestimmt)

* In seltenen Fällen ergab sich für schwach positive GAS-Proben bei Kombination mit einem Systemfehler (fehlendes Wash Reagent) ein falsch negatives Ergebnis. Diese Beobachtung wurde bei GAS-Konzentrationen unter 500 Kbe/ml gemacht, weit unter der durchschnittlichen Konzentration in positiven klinischen Abstrichproben. In den meisten Fällen kann zudem davon ausgegangen werden, dass der Wiederholungstest, der zunächst negativen Ergebnissen stets folgt, das Ergebnis korrigiert.

Probenstabilität im Gerät für Abstrichproben

Streptokokken-negative klinische Abstrichproben wurden mit GAS-, GCS- und GGS-Zielen im Bereich 10–15x LoD versetzt, für 48 Stunden bei 4 °C aufbewahrt und dann zusammen mit der gleichen Anzahl von Negativproben mit dem NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Assay verarbeitet. Nach Abschluss der Verarbeitung wurden alle Positiv- und Negativprobenröhrchen für 8 Stunden bei Raumtemperatur auf der Systemarbeitsplattform belassen und danach erneut verarbeitet. Das erwartete Ergebnis war für alle mit GAS-, GCS- oder GGS-Ziel versetzten Abstrichproben an den 0- und 8-Stunden-Zeitpunkten POSITIVE (POSITIV) (für das entsprechende Ziel) und für die nicht mit Ziel versetzten Abstrichproben NEGATIVE (NEGATIV) (für beide Ziele). An beiden Zeitpunkten wurde 100 % Übereinstimmung mit dem erwarteten Ergebnis festgestellt, was belegt, dass für Tests mit dem NeuMoDx Strep A/C/G Vantage Test Strip von einer Stabilität im Gerät von 8 Stunden ausgegangen werden kann. Die Ergebnisse sind nachstehend in *Tabelle 9* zusammengefasst.

Tabelle 9. Zusammenfassung der Daten zur Probenstabilität im Gerät

Probenstabilität im Gerät	% Positiv, T ₀			% Positiv, 8 h		
	GAS	GCS/GGS	SPC1	GAS	GGG/GCS	SPC1
GAS [ATCC 700294]	100	0	100	100	0	100
GCS [ATCC 35666]	0	100	100	0	100	100
GGG [ATCC 12384]	0	100	100	0	100	100
Negative (Negativ)	0	0	100	0	100	100

LITERATUR

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

Danksagungen

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.

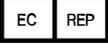
The following reagent was obtained through BEI Resources, NIAID, NIH as part of the Human Microbiome Project: *Streptococcus mitis*, Strain F0392, HM-262.

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.

MARKENNAMEN

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

SYMBOLLE

SYMBOL	BEDEUTUNG
R only	Nur zur Anwendung durch Fachpersonal
	Hersteller
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft
	Katalognummer
	Chargencode
	Verfallsdatum
	Zulässiger Temperaturbereich
	Zulässiger Luftfeuchtigkeitsbereich
	Nicht zur Wiederverwendung
	Inhalt ausreichend für <n> Tests
	Gebrauchsanweisung beachten
	Vorsicht
	Biologische Risiken
	CE-Kennzeichnung



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



Technischer Support/Vigilanzberichterstattung: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents