

REF 300800 NeuMoDx™ SARS-CoV-2 Test Strip**R only**

PRECAUCIÓN: Para exportaciones de EE. UU. exclusivamente

IVD Para uso diagnóstico *in vitro* con el NeuMoDx 288 y el NeuMoDx 96 Molecular System*Para ver actualizaciones en los folletos adjuntos, vaya a: www.qiagen.com/neumodx-ifu**Para obtener instrucciones detalladas, consulte el Manual del operador del NeuMoDx 288 Molecular System; ref. 40600108**Para obtener instrucciones detalladas, consulte el Manual del operador del NeuMoDx 96 Molecular System; ref. 40600317**Para obtener instrucciones detalladas, consulte las Instrucciones de uso del NeuMoDx Saliva Collection Kit; ref. 40600441*

USO PREVISTO

El NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, realizado en el NeuMoDx 288 Molecular System y el NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx Molecular System[s]), es una prueba de diagnóstico de RT-RPC inmediata diseñada para la detección cualitativa de ARN del coronavirus SARS-CoV-2 en exudados nasales, nasofaríngeos y orofaríngeos en medio de transporte, y muestras de lavado broncoalveolar (bronchoalveolar lavage, BAL) de personas con sospecha de COVID-19 por parte de su profesional médico.

Esta prueba también está concebida para su uso con muestras de saliva recogidas dentro de un centro sanitario de personas utilizando NeuMoDx Saliva Collection Kit cuando un profesional médico lo considere adecuado.

Los resultados se utilizan para la identificación de ARN del SARS-CoV-2. El ARN del SARS-CoV-2 generalmente se puede detectar en muestras respiratorias durante la fase aguda de la infección. Los resultados positivos son indicativos de la presencia de ARN de SARS-CoV-2. Es necesaria la correlación clínica con los antecedentes del paciente y otra información de diagnóstico para determinar el estado de infección del paciente. Los resultados positivos no descartan las infecciones bacterianas ni las infecciones concomitantes por otros virus. Los laboratorios que se encuentran en EE. UU. y sus territorios deben informar de todos los resultados positivos a las autoridades sanitarias públicas competentes.

Los resultados negativos no excluyen la infección por SARS-CoV-2 y no deben utilizarse como única base para tomar las decisiones relacionadas con el tratamiento del paciente. Los resultados negativos se deben combinar con observaciones clínicas, los antecedentes del paciente e información epidemiológica. Los resultados negativos en el ARN del SARS-CoV-2 de la saliva se deben confirmar mediante el análisis de un tipo de muestra alternativo si se indica desde el punto de vista clínico.

El ensayo NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay está concebido para su uso por parte de personal de laboratorio clínico capacitado que ha recibido instrucción y formación específicas en las técnicas de RPC inmediata y procedimientos de diagnóstico *in vitro*.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Los exudados nasofaríngeos, orofaríngeos o nasales se recogen en el Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) System o en el BD™ Universal Viral Transport System (UVT). Para preparar la prueba, se asigna un código de barras al tubo de extracción primario (con el exudado y el tapón quitados), a una alícuota pura del medio de muestra o una alícuota del medio de transporte pretratado con el tampón NeuMoDx Viral Lysis Buffer en un tubo de muestras secundario y se cargan en el NeuMoDx System utilizando un soporte de tubos de muestras; a continuación, el procesamiento comienza de forma automática. Para cada muestra, se aspira una alícuota de 400 µl con el NeuMoDx System y se mezcla con el tampón NeuMoDx Lysis Buffer 3 (muestras directas) o con el tampón NeuMoDx Lysis Buffer 2 (muestras pretratadas).

Las muestras de saliva se recogen en el NeuMoDx Saliva Collection kit de acuerdo con las Instrucciones de uso (ref. 40600441-ES). Para preparar la prueba, la saliva recogida se transfiere desde el NeuMoDx Saliva Collection Vial al NeuMoDx Specimen Stabilization Tube mediante la pipeta de transferencia para establecer una proporción de 1:1,67 de saliva/SSB (v/v). La saliva y el tampón de estabilización se mezclan minuciosamente invirtiendo el vial de 5 a 8 veces. La saliva estabilizada se puede analizar directamente en el NeuMoDx System o almacenarse para análisis posteriores.

El NeuMoDx System realiza automáticamente todos los pasos necesarios para extraer el ácido nucleico del analito, preparar el ARN aislado para la reacción en cadena de la polimerasa inmediata con transcripción inversa (RT-RPC) y, si corresponde, amplificar y detectar los productos de la amplificación: el gen de la proteína 2 no estructural (NSP2) y el gen N del genoma de SARS-CoV-2. El NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay incluye un control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC2) de ARN para ayudar a supervisar la presencia de posibles sustancias inhibitoras y de fallos de los reactivos o del NeuMoDx System que pueden encontrarse durante el proceso de extracción y amplificación.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay combina la extracción automatizada de ARN y la amplificación y detección mediante RT-RPC inmediata. Las muestras de exudado nasofaríngeo, orofaríngeo o nasal se recogen en el Copan UTM-RT System o en el BD UVT System. Las muestras de saliva se recogen en el NeuMoDx Saliva Collection Kit. Existen dos flujos de trabajo disponibles para la preparación de muestras de exudado con el NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. El flujo de trabajo directo permite que el tubo de recogida de exudado o una alícuota del medio de transporte que se encuentra en un tubo secundario se carguen en el NeuMoDx System para su procesamiento sin ninguna otra intervención. De forma alternativa, el medio de muestra de exudado se pretrata con el tampón NeuMoDx Viral Lysis Buffer antes de colocarlo en el NeuMoDx System para su procesamiento. Para la muestra de saliva, el operador carga el tubo de estabilización de muestras principales, que contiene saliva estabilizada, directamente en el NeuMoDx System. El NeuMoDx System comienza automáticamente el procesamiento aspirando una alícuota de la matriz de la muestra de exudado o la saliva estabilizada y mezclándola con el tampón NeuMoDx Lysis Buffer y los reactivos que contiene la NeuMoDx Extraction Plate. El NeuMoDx System automatiza e integra la extracción y la concentración de ARN, la preparación de los reactivos de RPC, y la amplificación y la detección del ácido nucleico de las secuencias del analito mediante RT-RPC inmediata. El control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC2) incluido ayuda a supervisar la presencia de posibles sustancias inhibitoras, así como los fallos de los reactivos, del proceso o del sistema. No es necesaria la intervención del operador una vez cargada la muestra en el NeuMoDx System.

El NeuMoDx System utiliza una combinación de calor, enzimas líticas y reactivos de extracción para realizar automáticamente la lisis, la extracción del ARN y la eliminación de inhibidores empleando los reactivos de NeuMoDx disponibles por separado. Las partículas paramagnéticas capturan los ácidos nucleicos liberados. Las partículas, con ácido nucleico unido, se cargan en el NeuMoDx Cartridge donde los elementos no unidos se eliminan con el NeuMoDx Wash Reagent. A continuación, el ARN unido se eluye utilizando el NeuMoDx Release Reagent. El NeuMoDx System utiliza el ARN eluido para rehidratar la mezcla para RT-RPC de amplificación NeuDry™ patentada que contiene todos los elementos necesarios para la amplificación de los analitos de SARS-CoV-2 y SPC2. Esto permite la amplificación y la detección simultáneas tanto del analito como de SPC2 en una sola reacción. Tras la reconstitución de los reactivos secos de la RPC con retrotranscriptasa, el NeuMoDx System dispensa la mezcla preparada para la RT-RPC en una cámara de RPC (por muestra) del NeuMoDx Cartridge. La transcripción inversa, la amplificación y la detección de las secuencias del analito y de control (si están presentes) tienen lugar en la cámara de RCP. El NeuMoDx Cartridge está diseñado para contener el amplicón tras la RT-RPC, eliminando prácticamente el riesgo de contaminación después de la amplificación.

Los analitos amplificados se detectan en tiempo real utilizando productos químicos de sonda de hidrólisis (frecuentemente denominados productos químicos TaqMan®) mediante moléculas de sonda de oligonucleótidos fluorógenos específicas de los amplicones para sus respectivos analitos. Las sondas TaqMan constan de un fluorocromo unido covalentemente al extremo 5' de la sonda de oligonucleótidos y un supresor de la señal en el extremo 3'. Mientras la sonda está intacta, el fluorocromo y el supresor de la señal están cerca, permitiendo que la molécula supresora de la señal extinga la fluorescencia que emite el fluorocromo mediante la transferencia de energía de resonancia de Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Las sondas TaqMan están diseñadas para hibridarse en una región de ADN amplificada por un conjunto específico de cebadores. A medida que la polimerasa de ADN Taq extiende el cebador y sintetiza la nueva hebra, la actividad de la exonucleasa 5' a 3' de la polimerasa de ADN Taq degrada la sonda que se ha hibridado con la plantilla. La degradación de la sonda libera el fluorocromo y rompe su proximidad con el supresor de la señal, por lo que se vence el efecto supresor debido a la FRET y se permite la detección del fluorocromo. La señal fluorescente resultante detectada en el termociclador de RT-RPC cuantitativa del NeuMoDx System es directamente proporcional al fluorocromo liberado y se puede correlacionar con la cantidad de analito presente. La sonda TaqMan etiquetada con un fluorocromo FAM (470/510 nm) se usa para detectar la región de NSP2 del genoma del SARS-CoV-2 y la sonda TaqMan etiquetada con un fluorocromo HEX (530/555 nm) se usa para detectar el gen N del genoma del SARS-CoV-2. Para detectar el SPC2, la sonda TaqMan está etiquetada con un fluorocromo de color rojo lejano (680/715 nm). El software del NeuMoDx System supervisa la señal fluorescente que emiten las sondas TaqMan al final de cada ciclo de amplificación. Una vez finalizada la amplificación, el software del NeuMoDx System analiza los datos y genera un informe del resultado (POSITIVE [Positivo], NEGATIVE [Negativo], INDETERMINATE [Indeterminado], NO RESULTS [Sin resultados], UNRESOLVED [No resuelto]).

REACTIVOS/CONSUMIBLES

Materiales suministrados

REF	Contenido	Pruebas por unidad	Pruebas por paquete
300800	NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip <i>Reactivos secos para RT-RPC que contienen sondas y cebadores TaqMan específicos de SARS-CoV-2, sondas y cebadores TaqMan específicos de SPC2</i>	16	96

Materiales adicionales necesarios pero no suministrados (disponibles por separado en NeuMoDx)

REF	Contenido
100100	NeuMoDx Cartridge
100200	NeuMoDx Extraction Plate
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
400500 (Opcional*)	NeuMoDx Lysis Buffer 2
400600**	NeuMoDx Lysis Buffer 3
401600 (Opcional*)	NeuMoDx Viral Lysis Buffer
235903	Puntas Hamilton CO-RE/CO-RE II (300 µl) con filtros
235905	Puntas Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µl) con filtros

* Se requiere solo si se desea llevar a cabo un paso de pretratamiento para lisis fuera del instrumento antes de proceder a la carga de las muestras. Consulte la sección "Instrucciones de uso".

** Se requiere solo para el procesamiento directo de muestras puras. Consulte la sección "Instrucciones de uso" a continuación.

Hisopo y medios de transporte (no suministrados)

Tipo de muestra	Dispositivos de recogida	Dispositivo de recogida recomendado	Exudado recomendado
Exudado nasofaríngeo	Aplicador de plástico con hisopos de poliéster y de rayón hilado e hisopos flocados de nylon estériles recogidos en UTM®: Universal Transport Medium (Copan Diagnostic Inc, CA) o UVT BD Universal Viral Transport System (UVT) (BD, NJ)	3 ml/1 ml Universal Transport Medium (Copan UTM-RT) o Universal Viral Transport System (BD UVT)	Flexible Minitip Size Nylon® Flocked Swab (Copan) o Flexible minitip flocked swab (BD)
Exudado orofaríngeo			
Exudado nasal			

Material de recogida de saliva (disponible por separado en NeuMoDx)

REF	Contenido
100500	NeuMoDx Saliva Collection Kit Contiene (1) NeuMoDx Saliva Collection Vial, (1) NeuMoDx Specimen Stabilization Tube con 1 ml NeuMoDx saliva stabilization buffer y (1) pipeta de transferencia desechable (suficiente para la recogida de una muestra por kit; consulte las instrucciones de uso para obtener más información; ref. 40600441-ES)

Instrumentos necesarios

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] o NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200].


PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- El NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay es para uso diagnóstico *in vitro* con los NeuMoDx Systems exclusivamente.
- Solo para uso prescriptivo.
- No reutilizar.
- Las muestras se deben tratar siempre como material infeccioso y de acuerdo con los procedimientos seguros de laboratorio como los descritos en Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories¹ y en el documento M29-A4 del CLSI.²
- La ejecución del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay se limita al uso por parte del personal formado en el uso del NeuMoDx System y en la manipulación de materiales infecciosos.
- Para el análisis de muestras de saliva, el ensayo NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay está destinado a su uso solamente con el NeuMoDx Saliva Collection Kit.
- No utilice los reactivos o consumibles después de la fecha de caducidad indicada.
- No utilice los reactivos si el sello de seguridad está roto o si el embalaje está dañado en el momento de su recepción.
- No utilice consumibles o reactivos si la bolsa protectora está abierta o rota en el momento de su recepción.
- El volumen mínimo de la muestra de las alícuotas secundarias depende del tamaño del tubo o del soporte del tubo de muestras, tal y como se define a continuación. Un volumen por debajo del valor mínimo especificado podría dar lugar al error "Quantity Not Sufficient" (Cantidad insuficiente).
- El uso de muestras almacenadas a temperaturas inadecuadas o más allá de los tiempos de almacenamiento especificados puede producir resultados erróneos o no válidos.
- Evite la contaminación microbiana y por ribonucleasa de todos los reactivos y consumibles. Se recomienda el uso de pipetas de transferencia estériles sin ribonucleasa y desechables con barreras para aerosoles cuando se utilizan tubos secundarios. Utilice una pipeta nueva para cada muestra.
- Para evitar la contaminación, no manipule ni separe los NeuMoDx Cartridge después de la amplificación. No recupere los NeuMoDx Cartridges del contenedor para desechos con riesgo biológico (NeuMoDx 288 Molecular System) ni del recipiente para desechos con riesgo biológico (NeuMoDx 96 Molecular System) bajo ninguna circunstancia. El NeuMoDx Cartridge está diseñado para evitar la contaminación.
- En caso de que el laboratorio también realice pruebas de la RCP con el tubo abierto, debe prestarse atención para garantizar que la NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip, los consumibles y reactivos adicionales necesarios para las pruebas, el equipo de protección individual como los guantes y las batas de laboratorio y el NeuMoDx System no estén contaminados.
- Se deben llevar guantes limpios de nitrilo sin talco al manipular los reactivos y consumibles NeuMoDx. Se debe tener cuidado de no tocar la superficie superior del NeuMoDx Cartridge, la superficie del sello metálico de la NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip ni de la NeuMoDx Extraction Plate, o la superficie superior de los recipientes de tampón NeuMoDx Lysis Buffer; para manipular los consumibles y los reactivos, solo se deben tocar las superficies laterales.
- Las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) están disponibles en www.qiagen.com/neumodx-ifu
- Lavarse bien las manos después de realizar la prueba.
- No pipetear con la boca. No fumar, beber ni comer en zonas en las que se estén manipulando las muestras o los reactivos.
- Eliminar los reactivos no utilizados y los desechos de conformidad con la normativa nacional, provincial, regional y local.
- Los instrumentos y los procedimientos de ensayo reducen el riesgo de contaminación por productos de la amplificación. No obstante, la contaminación del ácido nucleico procedente de controles o muestras positivos se debe controlar mediante prácticas recomendadas de laboratorio.
- Para evitar la contaminación, se recomienda seguir las prácticas recomendadas de laboratorio, entre las que se incluye cambiar de guantes entre la manipulación de las muestras de pacientes.



ALMACENAMIENTO, MANIPULACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS PRODUCTOS

- Las NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strips permanecen estables en el embalaje primario hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta externa del producto cuando se almacenan a una temperatura de 4 a 28 °C.
- No utilice consumibles ni reactivos que estén caducados.
- No utilice productos para pruebas si el embalaje primario o secundario no está visualmente intacto.
- No vuelva a cargar ningún producto para pruebas que se haya cargado previamente en otro NeuMoDx System.
- Una vez cargada, la NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip puede permanecer en el instrumento NeuMoDx System durante 7 días. La vida útil restante de las tiras reactivas cargadas la controla el software, que informa al usuario en tiempo real. La retirada de una tira reactiva que se ha utilizado más tiempo del permitido la solicitará el sistema.

RECOLECCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

Manipule todas las muestras como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos.

Muestras nasofaríngeas y nasales

Las muestras se deben recoger empleando el Copan UTM-RT System o el BD UVT System con los hisopos flocados de nylon validados (consulte «Materiales no suministrados»). Además, los hisopos flocados, los hisopos de poliéster y rayón son tipos de hisopo aceptables. Siga las instrucciones del fabricante para la recogida, el transporte y el almacenamiento que se proporcionan en las instrucciones de uso del Copan UTM-RT System/ BD UVT System:

- Tras la recogida, las muestras se deben almacenar a una temperatura de entre 2 y 25 °C y procesarse en las siguientes 48 horas.
- Si el tiempo de envío y procesamiento supera las 48 horas, las muestras se deben transportar en hielo seco y, una vez que estén en el laboratorio, se deben congelar a -70 °C o a menor temperatura.

Muestras de saliva

Para obtener instrucciones detalladas, consulte NeuMoDx Saliva Collection Kit; ref. 40600441-ES

Las muestras se deben recoger con el NeuMoDx Saliva Collection Kit. La saliva recogida se transfiere del NeuMoDx Saliva Collection Vial al NeuMoDx Specimen Stabilization Tube con la pipeta de transferencia para establecer una proporción de 1:1,67 de saliva/SSB (v/v). La saliva y el tampón de estabilización se mezclan minuciosamente invirtiendo el vial de 5 a 8 veces. La saliva estabilizada se puede analizar directamente en el NeuMoDx System o almacenarse para análisis posteriores.

- Las muestras de saliva se pueden almacenar hasta 2 horas en condiciones ambientales antes de mezclarse NeuMoDx Stabilization Buffer (SSB).
- Tras mezclar la saliva con el tampón de estabilización, compruebe el volumen en el tubo de estabilización de muestras. Si el volumen total se encuentra por debajo de la línea de llenado, añada agua de calidad molecular para que el volumen total alcance la línea de llenado.
- La saliva estabilizada se puede almacenar hasta 24 horas en condiciones ambientales, y hasta 7 días a una temperatura de entre 2 y 8 °C. Se debe dejar que la muestra alcance la temperatura ambiente antes de la prueba.
- La saliva estabilizada se puede almacenar durante 12 horas en los NeuMoDx Molecular Systems.
- La saliva estabilizada se debe transportar en paquetes de hielo y después refrigerarse a una temperatura de entre 2 y 8 °C si el tiempo entre la recogida y el procesamiento supera las 48 horas.

INSTRUCCIONES DE USO

El NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay ofrece dos flujos de trabajos diferentes, en función de la preferencia del laboratorio o del usuario:

Flujo de trabajo 1: DIRECTO: la muestra de exudado en medio de transporte y la saliva en tampón de estabilización se cargan directamente en el NeuMoDx System en el tubo de recogida primario o en tubos de muestra secundarios.

○

Flujo de trabajo 2: PRETRATADO: la muestra de exudado en medio de transporte se pretrata con el tampón NeuMoDx Viral Lysis Buffer antes de cargarla en el NeuMoDx System en el tubo de recogida primario o en tubos de muestra secundarios

Preparación de las pruebas: flujo de trabajo DIRECTO para muestras de exudado directo y de saliva

Nota: Mantenga las muestras a temperatura ambiente (de 15 a 30 °C) antes de llevar a cabo el procesamiento.

1. Aplique la etiqueta de código de barras de muestra a un tubo de muestras compatible con el NeuMoDx System, como se describe en los puntos 4 y 5 a continuación.
2. Si realiza el análisis de la muestra en el tubo de recogida primario (muestras de exudado) o en el tubo de estabilización de muestras (muestras de saliva), coloque el tubo con código de barras en un soporte de tubos de muestras y asegúrese de que se quiten el tapón y/o el exudado antes de cargarlo en el NeuMoDx System.
3. De manera alternativa, se puede transferir una alícuota del medio de transporte o la saliva estabilizada a un tubo secundario con código de barras y colocarse en un soporte de tubos de muestras de 32 tubos. Si utiliza un tubo secundario, transfiera una alícuota del medio de transporte o la saliva estabilizada al tubo de muestra con código de barras compatible con el NeuMoDx System según los volúmenes que se definen a continuación:

4. Para muestras de exudado:

- Soporte de tubos de muestras (32 tubos): 11-14 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo $\geq 550 \mu\text{l}$
- Soporte de tubos de muestras (24 tubos): 14,5-18 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo $\geq 1000 \mu\text{l}$
- Soporte de tubos de muestras de volumen bajo (32 tubos): tubo de microcentrífuga de fondo cónico de 1,5 ml; volumen de llenado mínimo $\geq 500 \mu\text{l}$

5. Para muestras de saliva estabilizada:

- Soporte de tubos de muestras (32 tubos): 11-14 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo $\geq 800 \mu\text{l}$
- Soporte de tubos de muestras de volumen bajo (32 tubos): tubo de microcentrífuga de fondo cónico de 1,5 ml; volumen de llenado mínimo $\geq 700 \mu\text{l}$

Preparación de las pruebas: flujo de trabajo PRETRATADO para muestras de exudado pretratadas

Nota: Mantenga las muestras a temperatura ambiente (de 15 a 30 °C) antes de llevar a cabo el procesamiento.

ADVERTENCIA: El pretratamiento de las muestras de exudado con el tampón NeuMoDx Viral Lysis Buffer no garantiza la inactivación de cualquier virus presente. Todas las muestras se deben manipular como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos.

1. Pretrate el medio de transporte de la muestra con un volumen de proporción 1:1 del tampón NeuMoDx Viral Lysis Buffer. Esto se puede llevar a cabo en el tubo de recogida de exudado primario si se conoce el volumen del medio de transporte. De forma alternativa, el pretratamiento se puede realizar en un tubo secundario mediante la combinación de una alícuota del medio de transporte con un volumen igual del tampón NeuMoDx Viral Lysis Buffer. La mezcla resultante debe cumplir los requisitos de volumen mínimo que se especifican a continuación.
2. Mezcle suavemente con la pipeta para asegurar una distribución uniforme del tampón NeuMoDx Viral Lysis Buffer.
3. Si realiza el análisis de la muestra en el tubo de recogida primario, coloque el tubo con código de barras en un soporte de tubos de muestras y asegúrese de que se quiten el tapón y el exudado antes de cargarlo en el NeuMoDx System.
4. Si utiliza un tubo secundario, transfiera una alícuota del lisado del medio de transporte al tubo de muestra con código de barras compatible con el NeuMoDx System según los volúmenes que se definen a continuación:
 - Soporte de tubos de muestras (32 tubos): 11-14 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo $\geq 550 \mu\text{l}$
 - Soporte de tubos de muestras (24 tubos): 14,5-18 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo $\geq 1000 \mu\text{l}$
 - Soporte de tubos de muestras de volumen bajo (32 tubos): tubo de microcentrífuga de fondo cónico de 1,5 ml; volumen de llenado mínimo $\geq 500 \mu\text{l}$

Funcionamiento del NeuMoDx System

Para obtener instrucciones detalladas, consulte los Manuales del operador del NeuMoDx 288 Molecular System y del NeuMoDx 96 Molecular System.

1. Cargue el pedido de prueba en el NeuMoDx System según el flujo de trabajo utilizado para la preparación de las pruebas:
 - Las muestras de exudado sin tratar y puras preparadas utilizando el flujo de trabajo DIRECTO se prueban definiendo la prueba como "Transport Medium" (Medio de transporte)
 - Las muestras de exudado pretratadas utilizando el flujo de trabajo PRETRATADO se prueban definiendo la muestra como "UserSpecified1" (Especificada por el usuario 1)
 - La saliva estabilizada utilizando el flujo de trabajo DIRECTO se analiza definiendo la muestra como "UserSpecified2" (Especificada por el usuario 2).
2. Rellene uno o más soportes de tiras reactivas con las NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strips y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes de tiras reactivas en el NeuMoDx System.
3. Si el software del NeuMoDx System lo solicita, añada los consumibles necesarios al instrumento (NeuMoDx Cartridges, NeuMoDx Extraction Plates, NeuMoDx Lysis Buffer 2, NeuMoDx Lysis Buffer 3, puntas CO-RE) en los soportes de consumibles del NeuMoDx System y use la pantalla táctil para cargar el o los soportes en el NeuMoDx System, según corresponda.
4. Si el software del NeuMoDx System lo solicita, sustituya el NeuMoDx Wash Reagent y/o el NeuMoDx Release Reagent, según corresponda.
5. Si el software del NeuMoDx System lo solicita, vacíe los residuos de cebado, el contenedor para desechos con riesgo biológico (solo el NeuMoDx 288 Molecular System), el recipiente para puntas de desecho (solo NeuMoDx 96 Molecular System) o el recipiente para desechos con riesgo biológico (solo NeuMoDx 96 Molecular System), según corresponda.
6. Cargue la o las muestras en el soporte de tubos de muestras y asegúrese de que se hayan retirado los tapones de todos los tubos.
7. Coloque los soportes de tubos de muestras en el estante del cargador automático y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes en el NeuMoDx System. De ese modo, se iniciará el procesamiento de las muestras cargadas para los análisis identificados, dado que hay un pedido de prueba válido en el sistema.

LIMITACIONES

- El NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay solo se ha evaluado para su uso en los NeuMoDx Molecular Systems.
- El NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay se ha diseñado para la detección de ARN de SARS-CoV-2 en muestras de exudado nasofaríngeo, orofaríngeo y nasal recogidas con Copan UTM-RT System (UTM-RT) o con BD Universal Viral Transport System (UVT) o muestras de saliva recogidas con el NeuMoDx Saliva Collection Kit. No se ha evaluado el uso del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay con otros tipos de muestras y se desconocen las características del rendimiento.
- La fiabilidad de los resultados depende de la recogida, manipulación y almacenamiento correctos de las muestras.
- Las muestras de exudados nasales y exudados nasales del cornete medio, así como las muestras de lavado broncoalveolar, se consideran tipos de muestra aceptables para su uso con el NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, pero no se ha establecido el rendimiento con estos tipos de muestra. El análisis de exudados nasales y exudados nasales del cornete medio (recogidos por el propio paciente bajo supervisión, o bien recogidos por un profesional médico) se limita a pacientes con síntomas de COVID-19.
- Para el análisis de muestras de saliva, el ensayo NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay está destinado a su uso solamente con el NeuMoDx Saliva Collection Kit.
- Los resultados erróneos se podrían deber a una recogida, una manipulación o un almacenamiento incorrectos de la muestra, o bien a un error técnico o a una confusión de los tubos de muestras. Un volumen de saliva incorrecto en el tubo de estabilización de muestras puede reducir la sensibilidad de la prueba. Además, podrían producirse resultados negativos falsos debido a que el número de partículas víricas de la muestra es inferior al límite de detección del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay.
- Si no se amplifican ni el analito del SARS-CoV-2 ni el analito del SPC2, se emitirá una notificación de un resultado no válido (Indeterminate [Indeterminado], No Results [Sin resultados] o Unresolved [No resuelto]) y deberá repetirse la prueba.
- Las eliminaciones o mutaciones en las regiones diana del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay pueden afectar la detección y podrían dar lugar a un resultado erróneo.
- La presencia de pasta dental para protección de encías avanzada Crest® Pro-Health en muestras de saliva puede interferir con la detección de ARN de SARS-CoV-2 y provocar un resultado erróneo.
- Un resultado positivo indica la presencia de ARN de SARS-CoV-2, pero no indica necesariamente la presencia de SARS-CoV-2 infeccioso.
- Los resultados negativos no excluyen la infección por el virus SARS-CoV-2 y no deben ser la única base para tomar decisiones de tratamiento de los pacientes o tomar decisiones de salud pública.
- Los resultados del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay deben utilizarse como complemento de las observaciones clínicas y otra información que el médico tenga a su disposición.
- Para evitar la contaminación, se recomienda seguir las prácticas recomendadas de laboratorio, entre las que se incluye cambiar de guantes entre la manipulación de las muestras de pacientes.

RESULTADOS

Los resultados disponibles de la prueba se pueden ver o imprimir desde la pestaña “Results” (Resultados), en la ventana “Results” (Resultados) en la pantalla táctil del NeuMoDx System. El resultado de una prueba se denomina Positive (POS) (Positivo), Negative (NEG) (Negativo), Indeterminate (IND) (Indeterminado), No results (NR) (Sin resultados) o Unresolved (UNR) (No resuelto) en función del estado de la amplificación del analito y el control de proceso de la muestra (Sample Process Control, SPC2).

Los criterios para un resultado positivo o negativo se especifican en el archivo de definición de ensayo (Assay Definition File, ADF) del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, tal y como se ha instalado en el NeuMoDx System. Los resultados de muestras de exudado y de saliva se comunican según el algoritmo de decisión del ADF, resumido en las *tablas 1 y 2*, respectivamente, a continuación.

Todos los controles de prueba se deben examinar antes de interpretar los resultados del paciente. Si los controles no son válidos, los resultados del paciente no se pueden interpretar.

Tabla 1. Interpretación de los resultados del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

RESULTADO GENERAL	ANALITO 1 (gen NSP2) de FAM	ANALITO 2 (gen N) de HEX	CONTROL DE PROCESO (Sample Process Control, SPC2) de rojo lejano	Interpretación
POSITIVE (POSITIVO)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) $5 \leq Ct < 20$ AND (Y) $EPR \geq 1,2$ AND (Y) $EP \geq 700$ OR (O) $20 \leq Ct \leq 40$ AND (Y) $EP \geq 700$	N/A (N/D)	N/A (N/D)	ARN de SARS-CoV-2 detectado**
	N/A (N/D)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) $[(5 \leq Ct < 20$ AND (Y) $EPR \geq 1,5)$ AND (Y) $EP \geq 1000$] OR (O) $20 \leq Ct \leq 40$ AND (Y) $EP > 1000$		
NEGATIVE (NEGATIVO)	NOT AMPLIFIED (NO AMPLIFICADO) N/A (N/D) OR (O) $5 \leq Ct < 20$ AND (Y) $EPR < 1,2$ OR (O) $20 \leq Ct \leq 40$ AND (Y) $EP < 700$ OR (O) $(Ct > 40)$	NOT AMPLIFIED (NO AMPLIFICADO) N/A (N/D) OR (O) $5 \leq Ct < 20$ AND (Y) $EPR < 1,5$ OR (O) $20 \leq Ct \leq 40$ AND (Y) $EP < 1000$ OR (O) $(Ct > 40)$	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) $24 \leq Ct \leq 33$ AND (Y) $EP \geq 1000$	ARN de SARS-CoV-2 no detectado
IND*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Completed (No amplificado/Se han detectado errores del sistema, procesamiento de la muestra completado)			Todos los resultados del analito fueron no válidos; vuelva a analizar la muestra
NR*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Aborted (No amplificado/Se han detectado errores del sistema, procesamiento de la muestra anulado)			El procesamiento de la muestra fue anulado; vuelva a realizar la muestra
UNR*	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (NO AMPLIFICADO/sin errores del sistema observados)			Todos los resultados del analito fueron no válidos; vuelva a analizar la muestra

* El sistema está equipado con una función Rerun/Repeat (nuevo análisis/repetición) automática que el usuario final puede elegir para asegurar que se vuelva a procesar de manera automática un resultado IND/NR/UNR para así minimizar los retrasos en el informe de resultados.

** Si lo desea, puede repetir la prueba en caso de que solo se amplifique uno de los dos analitos del SARS-CoV-2.

Tabla 2. Interpretación de los resultados del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay: muestras de saliva

RESULTADO GENERAL	ANALITO 1 (gen NSP2) de FAM	ANALITO 2 (gen N) de HEX	CONTROL DE PROCESO (Sample Process Control, SPC2) de rojo lejano	Interpretación
POSITIVE (POSITIVO)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) [5 ≤ Ct < 28 AND (Y) EP ≥ 600 AND (Y) EPR > 1,2] OR (O) [28 ≤ Ct ≤ 40 AND (Y) EP ≥ 600]	N/A (N/D)	N/A (N/D)	ARN de SARS-CoV-2 detectado**
	N/A (N/D)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) [5 ≤ Ct < 28 AND (Y) EP ≥ 675 AND (Y) EPR > 1,2] OR (O) [28 ≤ Ct ≤ 40 AND (Y) EP ≥ 675]		
NEGATIVE (NEGATIVO)	NOT AMPLIFIED (NO AMPLIFICADO) N/A (N/D) OR (O) [5 ≤ Ct < 28 AND (Y) EPR ≤ 1,2] OR (O) [28 ≤ Ct ≤ 42 AND (Y) EP < 600] OR (O) [Ct > 40]	NOT AMPLIFIED (NO AMPLIFICADO) N/A (N/D) OR (O) [5 ≤ Ct < 28 AND (Y) EPR ≤ 1,2] OR (O) [28 ≤ Ct ≤ 42 AND (Y) EP < 675] OR (O) [Ct > 40]	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) (24 ≤ Ct ≤ 33 AND (Y) EP ≥ 1000)	ARN de SARS-CoV-2 no detectado
IND*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Completed (No amplificado/Se han detectado errores del sistema, procesamiento de la muestra completado)			Todos los resultados del analito fueron no válidos; vuelva a analizar la muestra
NR*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Aborted (No amplificado/Se han detectado errores del sistema, procesamiento de la muestra anulado)			El procesamiento de la muestra fue anulado; vuelva a realizar la muestra
UNR*	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (NO AMPLIFICADO/sin errores del sistema observados)			Todos los resultados del analito fueron no válidos; vuelva a analizar la muestra

* EI

sistema está equipado con una función Rerun/Repeat (nuevo análisis/repeticón) automática que el usuario final puede elegir para asegurar que se vuelva a procesar de manera automática un resultado IND/NR/UNR para así minimizar los retrasos en el informe de resultados.

** Si lo desea, puede repetir la prueba en caso de que solo se amplifique uno de los dos analitos del SARS-CoV-2.

Se puede informar un resultado positivo sobre las muestras que arrojen un estado de amplificación diferencial, de manera que solo se amplifique uno de los analitos: el analito 1 (gen NSP2) o el analito 2 (gen N). Esto puede ocurrir debido a 1) una muestra que se encuentra en una concentración cercana al límite de detección de la prueba o por debajo de él, 2) una mutación en una de las regiones del analito o 3) otros factores. En el caso de una prueba positiva en la que solo se amplifica uno de los analitos, se puede considerar repetir la prueba si el control de SPC2 es negativo. Si el resultado de la repetición sigue siendo el mismo, se deberán llevar a cabo pruebas adicionales de confirmación si se indica clínicamente.

Resultados no válidos

Si un NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay realizado en el NeuMoDx System no logra generar un resultado válido, se notificará como Indeterminate (Indeterminado), No Results (Sin resultados) o Unresolved (No resuelto) según el tipo de error que se haya producido, y la prueba se debe repetir para obtener un resultado válido.

Se notificará un resultado Indeterminate (Indeterminado) si se detecta un error del NeuMoDx System durante el procesamiento de la muestra. En caso de obtener un resultado Indeterminate (Indeterminado), se recomienda repetir la prueba.

Se notificará un resultado No Result (Sin resultados) si se detecta un error del NeuMoDx System y se anula el procesamiento de la muestra. En caso de obtener un resultado No Result (Sin resultados), se recomienda repetir la prueba.

Se notificará un resultado Unresolved (No resuelto) si no se detecta ningún analito ni existe amplificación del control de proceso de muestras, lo que indica un posible fallo de los reactivos o la presencia de inhibidores. En caso de obtener un resultado Unresolved (No resuelto), se recomienda repetir la prueba como primer paso. Si la nueva prueba falla, puede utilizarse una muestra diluida para mitigar el efecto de una posible inhibición.

Control de calidad

Los laboratorios son responsables de realizar procedimientos de control que supervisen la exactitud y precisión del proceso analítico completo, y deben establecer el número, tipo y frecuencia de los materiales de control de las pruebas.

1. Los materiales de control no se suministran con el NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. No obstante, NeuMoDx validó y recomendó el siguiente material de control. Los controles deben cumplir las mismas especificaciones de volumen mínimo que las muestras clínicas especificadas anteriormente en función de las dimensiones del soporte de tubos de muestras.

Para muestras de exudado, se recomiendan los siguientes controles

- Control positivo:
 - ARN genómico de SARS-CoV-2 purificado (n.º de cat. VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, EE. UU.) a una concentración final de 5E3 cop/ml
 - SARS-CoV-2 inactivado por calor (n.º de cat. VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, EE. UU.) a una concentración final de 5E3 cop/ml
 - 5 ml de disolución madre de NATtrol™ SARS-CoV-2 (recombinante) (solo contiene gen N, n.º de cat. 0831042, ZeptoMetrix, Buffalo, NY, EE. UU.) en 1 ml de medio BD UVT.
- Control negativo: medio Copan/ BD UVT o equivalente.

Para las muestras de saliva, se recomiendan los siguientes controles

Control positivo: Diluya uno de los materiales siguientes en una mezcla de agua de calidad molecular y SSB en una proporción de 1:1,67 de agua/SSB (v/v):

- ARN genómico de SARS-CoV-2 purificado (n.º de cat. VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, EE. UU.) a una concentración final de 5E3 cop/ml
- SARS-CoV-2 inactivado por calor (n.º de cat. VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, EE. UU.) a una concentración final de 5E3 cop/ml
- Disolución madre NATtrol™ SARS-CoV-2 (recombinante) (solo contiene gen N, n.º de cat. 0831042, ZeptoMetrix, Buffalo, NY, EE. UU.) en dilución a 1:20.

Control negativo: 0,6 ml de agua de calidad molecular añadidos a 1 ml de tampón de estabilización de saliva (SSB), o en una proporción de 1:1,67 de agua/SSB (v/v).

2. Se recomienda que los usuarios procesen un conjunto de controles positivos y negativos cada 24 horas y antes de procesar las muestras de los pacientes.
3. Si está procesando los controles, coloque los controles etiquetados en un soporte de tubos de muestras y utilice la pantalla táctil para cargar el soporte en el NeuMoDx System desde el estante del cargador automático. Una vez definidos, el NeuMoDx System reconocerá los códigos de barras y comenzará a procesar los controles.
4. Los cebadores y la sonda específicos para el control de proceso de muestras 2 (Sample Process Control 2, SPC2) se incluyen en cada NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip. Este control de proceso de muestras permite al NeuMoDx System supervisar la eficacia de los procesos de extracción de ARN y amplificación por RT-RPC.
5. Antes de la RT-RPC, el NeuMoDx System lleva a cabo de forma automática un "FILL CHECK" (Control de llenado) para asegurar que la cámara de RPC se llena de solución y contiene una cantidad adecuada de sonda fluorescente.
6. El software del NeuMoDx System supervisa de forma continua los sensores y activadores en el instrumento para asegurar un funcionamiento seguro y efectivo del sistema.
7. Se implementan varios modos de recuperación de errores relacionados con fluidos mediante la supervisión activa de las maniobras de aspiración y dispensación para garantizar que el sistema pueda completar el procesamiento de todas las muestras de manera segura y eficaz o proporcionar un código de error adecuado.
8. El NeuMoDx System está equipado con una función Rerun (Nuevo análisis)/Repeat (Repetición) automática que el usuario final puede elegir para asegurar que se vuelva a procesar de manera automática un resultado INVALID (No válido) para así minimizar los retrasos en el informe de resultados.
9. El resultado positivo de una prueba notificado para una muestra de control negativo puede indicar que existe un problema de contaminación de la muestra. Para obtener consejos sobre la resolución de problemas, consulte el *Manual del operador del NeuMoDx 288 Molecular System* o el *Manual del operador del NeuMoDx 96 Molecular System*.
10. Un resultado negativo notificado para una muestra de control positivo puede indicar que existe un problema relacionado con el NeuMoDx System o con los reactivos. Para obtener consejos sobre la resolución de problemas, consulte el *Manual del operador del NeuMoDx 288 Molecular System* o el *Manual del operador del NeuMoDx 96 Molecular System*.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Sensibilidad analítica: muestras de exudado nasofaríngeo

El límite de detección (Limit of Detection, LoD) del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay se determinó al analizar una serie de dilución de muestras clínicas de exudados nasofaríngeos negativos combinadas (hisopo flocado de nylon recogido en UTM [Copan Diagnostic Inc, CA] o UVT [BD, NJ]) mezclados con ARN genómico de SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) y se procesó utilizando los flujos de trabajo DIRECTO y PRETRATADO. Se evaluaron al menos veinte réplicas de cada dilución en ambos NeuMoDx Systems para cada flujo de trabajo. Se determinó que el LoD era de **150 copias/ml**.

Tabla 3. Tasa de detección y límite de detección del SARS-CoV-2 en el NeuMoDx 96 Molecular System: Flujo de trabajo pretratado

LoD del SARS-CoV-2: N96, flujo de trabajo pretratado								
Nivel del analito	Resultados válidos	Gen NSP2 positivo		Tasa de detección del gen NSP2	Gen N Positive (Positivo)		Tasa de detección del gen N	Tasa de ambos analitos amplificados
		n	Ct media		n	Ct media		
250 cop/ml	22	22	31,7	100 %	22	30,9	100 %	100 %
150 cop/ml	20	20	31,5	100 %	20	31,0	100 %	100 %
50 cop/ml	24	0	n/a (N/D)	0 %	22	31,8	91,7 %	0 %
Negative (Negativo)	30	n/a (N/D)		0 %	0	n/a (N/D)	0 %	0 %
LoD N96: 150 cop/ml [nivel del analito más bajo que muestra una tasa de detección >95 % de ambos analitos]								

Tabla 4. Tasa de detección y límite de detección del SARS-CoV-2 en el NeuMoDx 288 Molecular System: Flujo de trabajo pretratado

LoD del SARS-CoV-2: N288, flujo de trabajo pretratado								
Nivel del analito	Resultados válidos	Gen Nsp2 Positive (Positivo)		Tasa de detección del gen NSP2	Gen N Positive (Positivo)		Tasa de detección del gen N	Tasa de ambos analitos amplificados
		n	Ct media		n	Ct media		
250 cop/ml	21	21	32,1	100 %	21	31,4	100 %	100 %
150 cop/ml	26	26	31,7	100 %	26	31,2	100 %	100 %
50 cop/ml	21	11	32,2	52,4 %	20	32,2	95,2 %	52,4 %
Negative (Negativo)	20	0	n/a (N/D)	0 %	0	n/a (N/D)	0 %	0 %
LoD N288: 150 cop/ml [nivel del analito más bajo que muestra una tasa de detección >95 % de ambos analitos]								

Tabla 5. Tasa de detección y límite de detección del SARS-CoV-2 en el NeuMoDx 96 Molecular System: Flujo de trabajo directo

LoD del SARS-CoV-2: N96, flujo de trabajo directo								
Nivel del analito	Resultados válidos	Gen Nsp2 Positive (Positivo)		Tasa de detección del gen NSP2	Gen N Positive (Positivo)		Tasa de detección del gen N	Tasa de ambos analitos amplificados
		n	Ct media		n	Ct media		
400 cop/ml	24	23*	32,4	95,8 %	24	31,1	100,0 %	95,8 %
250 cop/ml	24	24	33,0	100,0 %	24	31,7	100,0 %	100,0 %
150 cop/ml	24	24	33,4	100,0 %	24	32,4	100,0 %	100,0 %
50 cop/ml	24	12	32,6	50,0 %	18	32,8	75,0 %	41,7%**
Negative (Negativo)	22	0		0 %	0		0 %	0 %
LoD N96: 150 cop/ml [nivel del analito más bajo que muestra una tasa de detección >95 % de ambos analitos]								

* Esta muestra también demostró una amplificación débil de SPC2, y se considera que la ausencia de amplificación era un artefacto del procesamiento del sistema. Esto está respaldado por una tasa de detección del 100 % en la misma concentración del analito en RPT-8505B (evaluación clínica). Además, para este estudio, se logró una tasa de detección del 100 % en las concentraciones más bajas de 250 cop/ml y de 150 cop/ml.

** En diez de las 24 muestras se detectaron ambos analitos en una concentración de 50 cop/ml, para una tasa de positividad general del 41,7 %.

Tabla 6. Tasa de detección y límite de detección del SARS-CoV-2 en el NeuMoDx 288 Molecular System: Flujo de trabajo directo

LoD del SARS-CoV-2: N288, flujo de trabajo directo								
Nivel del analito	Resultados válidos	Gen Nsp2 Positivo (Positivo)		Tasa de detección del gen NSP2	Gen N Positivo (Positivo)		Tasa de detección del gen N	Tasa de ambos analitos amplificados
		n	Ct media		n	Ct media		
400 cop/ml	24	24	32,8	100,0 %	24	31,7	100,0 %	100,0 %
250 cop/ml	24	24	33,0	100,0 %	24	32,0	100,0 %	100,0 %
150 cop/ml	22	21	33,5	95,5 %	22	32,4	100,0 %	95,5 %
50 cop/ml	24	20	34,3	83,3 %	24	33,4	100,0 %	83,3 %
Negative (Negativo)	24	0		0,0 %	0		0,0 %	0,0 %
LoD N288: 150 cop/ml [nivel del analito más bajo que muestra una tasa de detección >95 % de ambos analitos]								

Sensibilidad analítica: muestras de saliva

El límite de detección (Limit of Detection, LoD) del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay con muestras de saliva se evaluó analizando una serie de dilución de muestras de saliva negativas combinadas (mezcladas con NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer en una proporción de saliva y tampón de 1:1,67) a las que se añadió el virus SARS-CoV-2 irradiado con radiación gamma (BEI Resources NR-52287) o ARN genómico de SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) y se procesaron con el flujo de trabajo Directo. Se evaluaron al menos cinco réplicas en cada dilución en torno al LoD previsto, tras lo cual se realizó el procesamiento de confirmación de al menos veinte réplicas con los niveles mínimos que generaron todos resultados positivos. Los LoD para el ARN genómico y el virus irradiado con radiación gamma se determinaron respectivamente en **50 copias/ml** y **0,0075 TCID50/ml**.

Tabla 7. Tasas de detección y límite de detección preliminar con SARS-CoV-2 irradiado con radiación gamma

LoD de SARS-CoV-2; virus SARS-CoV-2 irradiado con radiación gamma								
Nivel del analito	Resultados válidos	Gen Nsp2 Positivo (Positivo)		Tasa de detección del gen NSP2	Gen N Positivo (Positivo)		Tasa de detección del gen N	Tasa de ambos analitos amplificados
		N	Ct media		n	Ct media		
0,01 TCID50/ml	5	5	32,8	100 %	5	32,6	100 %	100 %
0,005 TCID50/ml	5	5	34,0	100 %	5	33,1	100 %	100 %
0,0025 TCID50/ml	10	4	33,5	40 %	5	32,7	50 %	30 %*
LoD preliminar: virus irradiado con radiación gamma: 0,005 TCID50/ml [nivel del analito más bajo que muestra una tasa de detección >95 % de ambos analitos]								
* Tres de diez (3/10) muestras tenían ambos analitos detectados a 0,0025 TCID50/ml, con una tasa de positividad general del 30 %.								

Tabla 8. Tasas de detección y límite de detección preliminar con ARNg de SARS-CoV-2

LoD de SARS-CoV-2; ARN genómico de SARS-CoV-2								
Nivel del analito	Resultados válidos	Gen Nsp2 Positivo (Positivo)		Tasa de detección del gen NSP2	Gen N Positivo (Positivo)		Tasa de detección del gen N	Tasa de ambos analitos amplificados
		N	Ct media		n	Ct media		
100 cop/ml	5	5	32,7	100 %	5	31,8	100 %	100 %
50 cop/ml	5	5	33,3	100 %	5	32,5	100 %	100 %
40 cop/ml	10	6	34,4	60 %	9	33,1	90 %	60 %*
25 cop/ml	10	4	34,1	40 %	9	33,0	90 %	40 %**
LoD preliminar, ARNg: 50 cop/ml [nivel del analito más bajo que muestra una tasa de detección >95 % de ambos analitos]								
* En seis de diez (6/10) muestras se detectaron ambos analitos en una concentración de 40 cop/ml, para una tasa de positividad general de 60 %								
** En cuatro de diez (4/10) muestras se detectaron ambos analitos en una concentración de 25 cop/ml, para una tasa de positividad general de 40 %								

Tabla 9. Confirmación de las tasas de detección y del límite de detección con SARS-CoV-2 irradiado con radiación gamma

LoD de SARS-CoV-2; virus SARS-CoV-2 irradiado con radiación gamma									
Sistema	Nivel del analito	Resultados válidos	Gen Nsp2 Positive (Positivo)		Tasa de detección del gen NSP2	Gen N Positive (Positivo)		Tasa de detección del gen N	Tasa de ambos analitos amplificados
			N	Ct media		n	Ct media		
N288	0,0075 TCID50/ml	20	20	33,7	100 %	20	33,0	100 %	100 %
N96	0,0075 TCID50/ml	20	20	34,2	100 %	20	33,8	100 %	100 %
N288	0,005 TCID50/ml	20	18	33,4	90 %	18	33,3	90 %	85 %*
N96	0,005 TCID50/ml	20	15	33,4	80 %	16	33,3	80 %	65 %**
LoD N288: 0,0075 TCID50/ml [nivel del analito más bajo que muestra una tasa de detección >95 % de ambos analitos] LoD N96: 0,0075 TCID50/ml [nivel del analito más bajo que muestra una tasa de detección >95 % de ambos analitos]									
* En diecisiete (17) de veinte (20) muestras se detectaron ambos analitos en N288, para una tasa de positividad general de 85 %									
** En trece (13) de veinte (20) muestras se detectaron ambos analitos en N96, para una tasa de positividad general de 65 %									

Tabla 10. Confirmación de las tasas de detección y del límite de detección con ARNg de SARS-CoV-2

LoD de SARS-CoV-2; ARN genómico de SARS-CoV-2									
Sistema	Nivel del analito	Resultados válidos	Gen Nsp2 Positive (Positivo)		Tasa de detección del gen NSP2	Gen N Positive (Positivo)		Tasa de detección del gen N	Tasa de ambos analitos amplificados
			N	Ct media		n	Ct media		
N288	50 cop/ml	20	20	34,4	100 %	20	33,9	100 %	100 %
N96	50 cop/ml	20	19	33,9	95 %	19	33,8	95 %	95 %*
LoD N288: 50 cop/ml [nivel del analito más bajo que muestra una tasa de detección >95 % de ambos analitos] LoD N96: 50 cop/ml [nivel del analito más bajo que muestra una tasa de detección >95 % de ambos analitos]									
* En diecinueve (19) de veinte (20) muestras se detectaron ambos analitos en N96, para una tasa de positividad general de 95 %									

Integralidad

La integralidad del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay se evaluó mediante un *análisis informático* que identificó los cebadores y las sondas del ensayo para todas las secuencias de SARS-CoV-2 disponibles (n = 96) en la base de datos del NCBI hasta el 14 de marzo de 2020. Las regiones de las sondas y de los cebadores de la prueba se compararon mediante un *análisis informático* para verificar la semejanza de las secuencias con cepas circulantes del SARS-CoV-2. El NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay tuvo un 100 % de semejanza con todas las secuencias para el gen NSP2 (Analito 1), excepto una. Se observó que la secuencia excepcional tenía solo una discrepancia nucleotídica en el cebador directo sin que se predijera un impacto en el rendimiento del ensayo. Se observó una semejanza del 100 % entre el gen N (Analito 2), los cebadores y la sonda para todas las secuencias disponibles.

Reactividad cruzada/interferencia microbiana

Se realizó una *evaluación informática* del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay para detectar cualquier posible reactividad cruzada con los microorganismos que se muestran en la *Tabla 11* mediante la asignación individual de los cebadores y las sondas del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a las secuencias de la base de datos del NCBI. Ninguna de las secuencias analizadas mostró semejanza para los cebadores o la sonda del gen NSP2 (Analito 1). *Haemophilus influenzae* (CP000672.1) mostró semejanza con el cebador directo del gen N (Analito 2) pero no mostró una semejanza significativa con el cebador inverso y la sonda. De forma similar, el SARS coronavirus (AY345986.1) mostró semejanza con el cebador directo y la sonda del gen N pero no mostró una semejanza significativa con el cebador inverso. *Pseudomonas aeruginosa* (CP000438.1) mostró semejanza con el cebador directo de SPC2, pero no mostró semejanza con ninguno de los analitos del SARS-CoV-2. Por lo tanto, el *análisis informático* no mostró ninguna reactividad cruzada probable con ninguna de las secuencias evaluadas. Se realizaron pruebas húmedas adicionales para confirmar que *H. influenzae* y *P. aeruginosa* no presentaban riesgos de reactividad cruzada ni de interferencias microbianas. Sus resultados se presentan en las *Tablas 12 y 13*.

Tabla 11. Análisis informático para microorganismos de reactividad cruzada

Microorganismo	Número(s) de acceso al GenBank del NCBI	Microorganismo	Número(s) de acceso al GenBank del NCBI
Coronavirus humano 229E	KF514433.1	Gripe B	MK969560.1
	KF514432.1	Enterovirus	JF896312.1
Coronavirus humano OC43	KX344031.1	Virus respiratorio sincicial	JN032120.1
	KF530099.1	Rinovirus	NC_001490.1
Coronavirus humano HKU1	KF430201.1	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	NZ_LN847241.1
	MH940245.1	<i>Haemophilus influenzae</i>	CP000672.1
Coronavirus humano NL63	KF530114.1	<i>Legionella pneumophila</i>	CP015928.1
	KF530113.1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	AP018036.1
SARS coronavirus	AY686863.1	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	CP027540.1
		<i>Streptococcus pyogenes</i>	AE009949.1
MERS coronavirus	MH013216.1	<i>Bordetella pertussis</i>	CP011448.1
Adenovirus	AC_000017.1	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	CP039772.1
Metaneumovirus humano (MNVh)	KJ627437.1	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	MH010446.1
Virus paragripal 1	KX639498.1	<i>Candida albicans</i>	NC_018046.1
Virus paragripal 2	KM190939.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CP000438.1
Virus paragripal 3	KF530243.1	<i>Staphylococcus epidermis</i>	KY750253.1
Virus paragripal 4	KF483663.1	<i>Streptococcus salivarius</i>	CP020451.2
Gripe A	MH798556.1		

Tabla 12. Pruebas de reactividad cruzada y de interferencias para *H. Influenzae*

MUESTRA		Resultados válidos	N.º de positivos Gen N	% de gen N positivo (amarillo)	Ct promedio del gen N	N.º de gen NSP2 positivo	% de gen NSP2 positivo (verde)	Ct promedio del gen NSP2	Ct promedio de SPC2
Reactividad cruzada	UVT puro (control negativo)	3	0	0 %	N/A (N/D)	0	0 %	N/A (N/D)	27,7
	UVT + <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 UFC/ml)	3	0	0 %	N/A (N/D)	0	0 %	N/A (N/D)	28,3
Interferencias	UVT + puro ARN de SARS-CoV-2 (750 copias/ml) (control positivo)	3	3	100 %	32,03	3	100 %	34,05	27,8
	UVT+ <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 ufc/ml) + ARN de SARS-CoV-2 (750 copias/ml)	3	3	100 %	32,45	3	100 %	33,98	27,7

Tabla 13. Pruebas de reactividad cruzada y de interferencias para *P. aeruginosa*

MUESTRA		Resultados válidos	Gen N (HEX)			Gen Nsp2 (FAM)			SPC2 (Rojo lejano)
			Pos	% de pos	Ct promedio	Pos	% de pos	Ct promedio	Ct promedio
Reactividad cruzada	UVT + <i>P. aeruginosa</i> (1 ⁶ UFC/ml)	3	0	0 %	N/A (N/D)	0	0 %	N/A (N/D)	27,5
Interferencias	Control de UVT puro	3	3	100 %	30,3	3	100 %	32,0	26,9
	Positive (Positivo)								
	UVT + <i>P. aeruginosa</i> (1 ⁶ UFC/ml) + ARN del SARS-CoV-2 (450 copias/ml)	3	3	100 %	30,4	3	100 %	32,0	27,0

Sustancias causantes de interferencias: muestras de exudado nasofaríngeo

El NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay se evaluó en busca de susceptibilidad a la interferencia causada por sustancias posiblemente asociadas a la recogida de muestras de exudado nasofaríngeo. Se mezclaron muestras clínicas residuales de exudados nasofaríngeos negativos con ARN genómico de SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) a 5 veces el LoD y se procesaron en presencia y ausencia de los agentes que se muestran a continuación en la *tabla 14*. Ninguna de las sustancias incluidas en la prueba tuvo un efecto adverso en el rendimiento del ensayo.

Tabla 14. Sustancias analizadas en busca de interferencia

	Sustancia	Concentración*
Endógena	Mucina	0,5 % (masa/volumen)
	Sangre	2 % (volumen/volumen)
Exógena	Afrin® Original (oximetazolina)	15 % (volumen/volumen)
	Zicam® aerosol nasal, medicamento para el resfriado	5 % (volumen/volumen)
	Flonase® alivio de la alergia (fluticasona)	5 % (volumen/volumen)
	Beclometasona	10 mg/ml
	Mupirocina	11,4 mg/ml
	Relenza® (zanamivir)	5,25 mg/ml
	Tamiflu® (oseltamivir)	7,5 mg/ml
Tobramicina	1,8 mg/ml	

* Nota: Las concentraciones indicadas son las utilizadas para saturar los exudados antes de dosificar muestras clínicas positivas elaboradas con la sustancia causante de interferencias. Por lo tanto, son representativas del nivel que se puede tolerar en el lugar de recogida de exudados.

Sustancias causantes de interferencias: muestras de saliva

El NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay se ha evaluado para determinar la susceptibilidad a las interferencias causadas por sustancias potencialmente asociadas a la recogida de muestras de saliva. Se mezcló saliva negativa combinada con virus SARS-CoV-2 irradiado con radiación gamma (BEI Resources NR-52287) a 10 veces el LoD, preparada con el NeuMoDx Saliva Collection Kit, y se procesó en presencia y ausencia de los agentes que se muestran a continuación en la *Tabla 15*. Ninguna de las sustancias incluidas en la prueba tuvo un efecto adverso en el rendimiento del ensayo con las concentraciones proporcionadas.

Tabla 15. Sustancias analizadas en busca de interferencias: muestras de saliva

	Sustancia	Concentración
Endógena	Sangre completa	1 % volumen/volumen
	Altoids™ (menta)	2 % masa/volumen
Exógena	Aspirin™	1 % masa/volumen
	Enjuague bucal antiséptico ultralimpio LISTERINE®	1 % volumen/volumen
	Caramelos para la tos Halls™ (mentol-eucalipto)	1 % masa/volumen
	Protección de encías avanzada Crest Pro-Health	0,001 % masa/volumen*
	Jarabe para la tos Wal-Tussin® DM Max	1 % volumen/volumen

* La concentración de esta sustancia se notifica como resultado de un estudio de dosis-respuesta desde el 0,1 %, donde se mostró que era inhibitoria.

Reproducibilidad

La reproducibilidad dentro del laboratorio del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay se verificó mediante un análisis retrospectivo del rendimiento utilizando muestras clínicas de exudado nasofaríngeo negativas y positivas elaboradas. Los datos resumidos en las *tablas 16a-c* representan las pruebas llevadas a cabo por varios operarios en dos instrumentos en el transcurso de un periodo de tres días. Se muestran los resultados de las muestras preparadas con los flujos de trabajo DIRECTO y PRETRATADO.

Tabla 16a. Reproducibilidad general y precisión del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Nivel de SARS-CoV-2 (copias/ml)	N	Analito de N			Analito de NSP2			SPC2		
		% de positivos	Ct promedio	% de CV de Ct	% de positivos	Ct promedio	% de CV de Ct	% de positivos	Ct promedio	% de CV de Ct
2000	16	100 %	29,3	2,1 %	100 %	30,7	2,4 %	100 %	27,1	2,1 %
1000	14	100 %	29,9	2,1 %	100 %	31,2	2,6 %	100 %	27,1	2,3 %
500	28	100 %	30,9	2,2 %	100 %	32,0	2,8 %	100 %	27,3	1,6 %
400	77	100 %	31,2	2,1 %	99 %	32,4	2,2 %	100 %	27,2	1,7 %
250	91	100 %	31,5	2,1 %	100 %	32,4	2,6 %	100 %	27,4	1,6 %
150	46	100 %	31,1	1,8 %	100 %	31,6	1,7 %	100 %	27,1	2,0 %
0	178	0 %	N/A (N/D)	N/A (N/D)	0%	N/A (N/D)	N/A (N/D)	100 %	27,5	2,6 %

Tabla 16b. Reproducibilidad y precisión del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Analito	Nivel (copias/ml)	NeuMoDx 288 Molecular System				NeuMoDx 96 Molecular System			
		N	% de positivos	Ct promedio	% de CV de Ct	N	% de positivos	Ct promedio	% de CV de Ct
Analito de N	2000	12	100 %	29,3	2,3 %	4	100 %	29,3	1,4 %
	1000	11	100 %	30,0	2,0 %	3	100 %	29,5	1,6 %
	500	21	100 %	30,8	2,2 %	7	100 %	31,1	1,7 %
	400	46	100 %	31,2	2,3 %	31	100 %	31,1	1,9 %
	250	45	100 %	31,7	2,0 %	46	100 %	31,3	2,0 %
	150	26	100 %	31,2	1,6 %	20	100 %	31,0	1,9 %
Analito de NSP2	2000	12	100 %	30,7	2,3 %	4	100 %	30,8	2,6 %
	1000	11	100 %	31,3	2,5 %	3	100 %	26,8	0,4 %
	500	21	100 %	31,9	2,9 %	7	100 %	32,1	2,0 %
	400	46	100 %	32,4	2,4 %	31	97 %	32,3	2,0 %
	250	45	100 %	32,6	2,3 %	46	100 %	32,3	2,8 %
	150	26	100 %	31,7	1,8 %	20	100 %	31,5	1,6 %

Tabla 16c. Reproducibilidad general y precisión del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Analito	Nivel (copias/ml)	Flujo de trabajo DIRECTO				Flujo de trabajo PRETRATADO			
		N	% de positivos	Ct promedio	% de CV de Ct	N	% de positivos	Ct promedio	% de CV de Ct
Analito de N	2000	8	100 %	29,7	0,8 %	8	100 %	28,8	1,9 %
	1000	7	100 %	30,5	0,7 %	7	100 %	29,4	1,2 %
	500	15	100 %	31,3	1,3 %	13	100 %	30,3	1,4 %
	400	63	100 %	31,4	1,8 %	14	100 %	30,3	1,0 %
	250	48	100 %	31,9	1,5 %	43	100 %	31,1	2,0 %
Analito de NSP2	2000	8	100 %	31,2	1,3 %	8	100 %	30,1	1,9 %
	1000	7	100 %	31,9	0,6 %	7	100 %	30,4	1,5 %
	500	15	100 %	32,6	1,6 %	13	100 %	31,3	2,2 %
	400	63	98 %	32,6	1,6 %	14	100 %	31,4	2,0 %
	250	48	100 %	33,0	1,8 %	43	100 %	31,9	2,2 %

Rendimiento clínico

a. Análisis de muestras elaboradas: muestras de exudado nasofaríngeo

Se evaluó el rendimiento del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay con muestras clínicas residuales de exudado nasofaríngeo (exudado flocado de nylon recogido en UTM [Copan Diagnostic Inc, CA] o UVT [BD, NJ]) utilizando un panel de 82 muestras clínicas negativas y 87 muestras clínicas positivas elaboradas. Estas se habían sometido previamente a pruebas de gripe y/o de virus respiratorio sincial y provenían de pacientes con signos y síntomas de infección de las vías respiratorias superiores. Se prepararon muestras positivas elaboradas mezclando ARN genómico de SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) con muestras clínicas negativas. De las 87 muestras positivas elaboradas, 57 estuvieron en concentraciones 1-2 veces el LoD y 30 estaban en concentraciones de entre 4 y 8 veces el LoD. El procesamiento de las muestras se realizó utilizando los flujos de trabajo DIRECTO y PRETRATADO con ambos NeuMoDx Systems.

Se notificaron como positivas todas las muestras positivas y se notificaron como negativas todas las muestras negativas, tal y como se detalla en las *Tablas 17-20*.

Tabla 17. Muestras de exudado pretratadas exclusivamente en el NeuMoDx 288 Molecular System

Flujo de trabajo pretratado: NeuMoDx 288 Molecular System					
Concentración de la muestra	n	Analito 1 (gen NSP2)		Analito 2 (gen N)	
		% de positivos (IC del 95 % bilateral)	Ct media	% de positivos (IC del 95 % bilateral)	Ct media
225 cop/ml Aprox. 1,5 veces el LoD	12	100 (75,6-99,9)	32,5	100 (75,6-99,9)	32,2
400 cop/ml Aprox. 2,7 veces el LoD	11	100 (74,0-99,9)	31,4	100 (74,0-99,9)	30,2
500 cop/ml Aprox. 3,3 veces el LoD	10	100 (72,1-99,9)	31,2	100 (72,1-99,9)	30,2
1000 cop/ml	5	100 (56,4-99,9)	30,5	100 (56,4-99,9)	29,4
2000 cop/ml	6	100 (60,8-99,9)	30,2	100 (60,8-99,9)	28,8
Negative (Negativo)	29	0 (N/D)	n/a (N/D)	0 (N/D)	n/a (N/D)
Rendimiento frente a los resultados esperados: Porcentaje de concordancia positivo 44/44 = 100 % (IC del 95 %: 91,9 %-100 %) Porcentaje de concordancia negativo 29/29 = 100 % (IC del 95 %: 88,2 %-100 %)					

Tabla 18. Muestras de exudado pretratadas exclusivamente en el NeuMoDx 96 Molecular System

Flujo de trabajo pretratado: NeuMoDx 96 Molecular System					
Concentración de la muestra	n	Analito 1 (gen NSP2)		Analito 2 (gen N)	
		% de positivos (IC del 95 % bilateral)	Ct media	% de positivos (IC del 95 % bilateral)	Ct media
225 cop/ml Aprox. 1,5 veces el LoD	12	100 (75,6-99,9)	32,0	100 (75,6-99,9)	31,5
400 cop/ml Aprox. 2,7 veces el LoD	3	100 (43,7-99,8)	31,2	100 (43,7-99,8)	30,4
500 cop/ml Aprox. 3,3 veces el LoD	3	100 (43,7-99,8)	31,5	100 (43,7-99,8)	30,6
1000 cop/ml	2	100 (34,2-99,8)	30,2	100 (34,2-99,8)	29,2
2000 cop/ml	2	100 (34,2-99,8)	30,1	100 (34,2-99,8)	28,9
Negative (Negativo)	20	0 (N/D)	n/a (N/D)	0 (N/D)	n/a (N/D)
Rendimiento frente a los resultados esperados: Porcentaje de concordancia positivo 22/22 = 100 % (IC del 95 %: 85,0 %-100 %) Porcentaje de concordancia negativo 20/20 = 100 % (IC del 95 %: 83,8 %-100 %)					

Tabla 19. Muestras de exudado de flujo de trabajo directo exclusivamente en el NeuMoDx 288 Molecular System

Flujo de trabajo directo: NeuMoDx 288 Molecular System					
Concentración de la muestra	n	Analito 1 (gen NSP2)		Analito 2 (gen N)	
		% de positivos (IC del 95 % bilateral)	Ct media	% de positivos (IC del 95 % bilateral)	Ct media
225 cop/ml Aprox. 1,5 veces el LoD	12	100 (75,6-99,9)	33,8	100 (75,6-99,9)	32,7
400 cop/ml Aprox. 2,7 veces el LoD	11	100 (74,0-99,9)	32,4	100 (74,0-99,9)	31,1
500 cop/ml Aprox. 3,3 veces el LoD	11	100 (74,0-99,9)	32,5	100 (72,1-99,9)	31,3
1000 cop/ml	6	100 (60,8-99,9)	31,9	100 (56,4-99,9)	30,5
2000 cop/ml	6	100 (60,8-99,9)	31,1	100 (60,8-99,9)	29,7
Negative (Negativo)	33	0 (N/D)	n/a (N/D)	0 (N/D)	n/a (N/D)
Rendimiento frente a los resultados esperados:					
Porcentaje de concordancia positivo		46/46 = 100 % (IC del 95 %: 92,2 %-100 %)			
Porcentaje de concordancia negativo		33/33 = 100 % (IC del 95 %: 89,5 %-100 %)			

Tabla 20. Muestras de exudado de flujo de trabajo directo exclusivamente en el NeuMoDx 96 Molecular System

Flujo de trabajo directo: NeuMoDx 96 Molecular System					
Concentración de la muestra	n	Analito 1 (gen NSP2)		Analito 2 (gen N)	
		% de positivos (IC del 95 % bilateral)	Ct media	% de positivos (IC del 95 % bilateral)	Ct media
225 cop/ml Aprox. 1,5 veces el LoD	12	100 (75,6-99,9)	33,4	100 (75,6-99,9)	32,3
400 cop/ml Aprox. 2,7 veces el LoD	4	100 (50,9-99,9)	32,7	100 (50,9-99,9)	31,7
500 cop/ml Aprox. 3,3 veces el LoD	4	100 (50,9-99,9)	32,6	100 (50,9-99,9)	31,5
1000 cop/ml	1	100 (20,7-99,8)	31,9	100 (20,7-99,8)	30,2
2000 cop/ml	2	100 (34,2-99,8)	31,5	100 (34,2-99,8)	29,7
Negative (Negativo)	0	0 (N/D)	N/A (N/D)	0 (N/D)	N/A (N/D)
Rendimiento frente a los resultados esperados:					
Porcentaje de concordancia positivo		23/23 = 100 % (IC del 95 %: 85,6 %-100 %)			
Porcentaje de concordancia negativo:		N/D			

b. Análisis de muestras elaboradas: muestras de saliva

Se evaluó el rendimiento del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay con muestras de saliva (preparadas con el NeuMoDx Saliva Collection Kit) utilizando un panel de 36 muestras negativas de donantes. Cada muestra de donante sano se usó para preparar una muestra negativa y positiva elaborada mediante la adición de virus SARS-CoV-2 irradiado con radiación gamma (BEI Resources NR-52287), con un total de 72 muestras para análisis. De las 36 muestras positivas elaboradas, 28 tenían una concentración de 1,5-2 veces el LoD, 4 tenían una concentración de 10 veces el LoD y 4 tenían una concentración de 20 veces el LoD. El procesamiento de muestras se realizó con el flujo de trabajo UserSpecified2 (Especificado por el usuario 2).

Se notificaron como positivas todas las muestras positivas y se notificaron como negativas todas las muestras negativas, tal y como se detalla en la *Tabla 21*.

Tabla 21. Muestras de saliva en el NeuMoDx 288 Molecular System

Concentración de la muestra	n	Analito 1 (gen NSP2)		Analito 2 (gen N)													
		% de positivos (IC del 95 % bilateral)	Ct media	% de positivos (IC del 95 % bilateral)	Ct media												
0,01125-0,015 TCID50/ml (1,5-2 veces el LoD)	27	96 (81,7-99,3)	33,2	100 (87,6-100)	33,1												
0,075 TCID50/ml (10 veces el LoD)	4	100 (51,0-100)	32,7	100 (51,0-100)	32,3												
0,15 TCID50/ml (20 veces el LoD)	4	100 (51,0-100)	31,0	100 51,0-100	30,9												
Negative (Negativo)	35	0 (N/D)	n/a (N/D)	0 (N/D)	n/a (N/D)												
<p>Rendimiento frente a los resultados esperados:</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="padding-left: 20px;">Porcentaje de concordancia positivo del gen de NSP2</td> <td style="padding-left: 20px;">34/35 = 97,1 % (IC del 95 %: 85,5 %-99,5 %)</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 20px;">Porcentaje de concordancia negativo del gen de NSP2</td> <td style="padding-left: 20px;">35/35 = 100 % (IC del 95 %: 90,1 %-100 %)</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 20px;">Porcentaje de concordancia positivo del gen N</td> <td style="padding-left: 20px;">35/35 = 100 % (IC del 95 %: 90,1 %-100 %)</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 20px;">Porcentaje de concordancia negativo del gen N</td> <td style="padding-left: 20px;">35/35 = 100 % (IC del 95 %: 90,1 %-100 %)</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 20px;">Porcentaje de concordancia positivo total</td> <td style="padding-left: 20px;">35/35 = 100 % (IC del 95 %: 90,1 %-100 %)</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 20px;">Porcentaje de tolerancia negativo total</td> <td style="padding-left: 20px;">35/35 = 100 % (IC del 95 %: 90,1 %-100 %)</td> </tr> </table>						Porcentaje de concordancia positivo del gen de NSP2	34/35 = 97,1 % (IC del 95 %: 85,5 %-99,5 %)	Porcentaje de concordancia negativo del gen de NSP2	35/35 = 100 % (IC del 95 %: 90,1 %-100 %)	Porcentaje de concordancia positivo del gen N	35/35 = 100 % (IC del 95 %: 90,1 %-100 %)	Porcentaje de concordancia negativo del gen N	35/35 = 100 % (IC del 95 %: 90,1 %-100 %)	Porcentaje de concordancia positivo total	35/35 = 100 % (IC del 95 %: 90,1 %-100 %)	Porcentaje de tolerancia negativo total	35/35 = 100 % (IC del 95 %: 90,1 %-100 %)
Porcentaje de concordancia positivo del gen de NSP2	34/35 = 97,1 % (IC del 95 %: 85,5 %-99,5 %)																
Porcentaje de concordancia negativo del gen de NSP2	35/35 = 100 % (IC del 95 %: 90,1 %-100 %)																
Porcentaje de concordancia positivo del gen N	35/35 = 100 % (IC del 95 %: 90,1 %-100 %)																
Porcentaje de concordancia negativo del gen N	35/35 = 100 % (IC del 95 %: 90,1 %-100 %)																
Porcentaje de concordancia positivo total	35/35 = 100 % (IC del 95 %: 90,1 %-100 %)																
Porcentaje de tolerancia negativo total	35/35 = 100 % (IC del 95 %: 90,1 %-100 %)																

c. Análisis de muestras clínicas: muestras de exudado nasofaríngeo

También se evaluó el rendimiento del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay con muestras clínicas. Se recogieron muestras clínicas sobrantes de exudado nasofaríngeo (NF) anonimizadas de pacientes sintomáticos con hisopos Minitip flocados en 3 ml de BD Universal Viral Transport Medium (BD UVT). Las muestras se enviaron para análisis de SARS-CoV-2 a dos centros de análisis externos, que realizaron el análisis comparativo de estas muestras con pruebas previamente autorizadas por la FDA de EE. UU. para uso en emergencias. El análisis con el NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay se realizó en un centro de análisis interno y en uno externo. Se procesó un total de 40 muestras empleando el NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. Algunas muestras se analizaron en ambos N288 y N96 NeuMoDx Systems y se usaron flujos de trabajo tanto PRETRATADO como DIRECTO. Los resultados del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay pusieron de manifiesto una concordancia total con los resultados de los ensayos de comparación para todas las muestras clínicas analizadas en este estudio comparativo de métodos (Tablas 22 y 23).

Tabla 22. Resultados cualitativos de comparación de métodos para el NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay en NeuMoDx Molecular Systems frente a las pruebas de referencia: flujo de trabajo PRETRATADO

N96 y N288, Pretratado		Ensayo(s) comparativo(s)		
		Pos	Neg	Total
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Pos	25	0	25
	Neg	0	15	15
	Total	25	15	40
Sensibilidad clínica del 100 % (IC del 95 %, 86,6-100 %)				
Especificidad clínica del 100 % (IC del 95 %, 79,5-99,9 %)				

Tabla 23. Resultados cualitativos de comparación de métodos para el NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay frente a las pruebas de referencia: flujo de trabajo DIRECTO (a) en el NeuMoDx 288 Molecular System (N288) y (b) en el NeuMoDx 96 Molecular System (N96)

(a)

N288, Directo		Ensayo(s) comparativo(s)		
		Pos	Neg	Total
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Pos	10	0	10
	Neg	0	9	9
	Total	10	9	19
Sensibilidad clínica del 100 % (IC del 95 %, 72,1-99,9 %)				
Especificidad clínica del 100 % (IC del 95 %, 69,9-99,9 %)				

(b)

N96, Directo		Ensayo(s) comparativo(s)		
		Pos	Neg	Total
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Pos	5	0	5
	Neg	0	6	6
	Total	5	6	11
Sensibilidad clínica del 100 % (IC del 95 %, 56,4-99,9 %)				
Especificidad clínica del 100 % (IC del 95 %, 60,8-99,9 %)				

d. Análisis de muestras clínicas: muestras de saliva

El rendimiento del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay con muestras de saliva (preparadas con el NeuMoDx Saliva Collection Kit) se evaluó usando 112 muestras de exudado nasofaríngeo (NF) y de saliva emparejadas y anonimizadas, ya fueran recogidas consecutivamente de forma prospectiva o residuales (también recogidas consecutivamente) de la misma persona. Los NeuMoDx Saliva Collection Kits se usaron para la recogida prospectiva de muestras de saliva, mientras que las muestras de saliva residuales se recogieron en un vial de muestras que no contiene conservantes, y se almacenaron congeladas a -80 °C hasta su análisis con NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer. Se recogieron muestras de exudado NF con hisopos Minitip flocados en 3 ml de BD Universal Viral Transport Medium (BD UVT). Todas las muestras de saliva y la mayoría de muestras de exudado nasofaríngeo (NF) se analizaron con el NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay y una combinación de N288 y N96 NeuMoDx Systems. El resto de las muestras NF se procesó empleando otras pruebas comparativas autorizadas para EUA (autorización de uso de emergencia). El análisis se realizó en un centro de análisis interno y en dos centros de análisis externos. En total, se mostró > 95 % de concordancia positiva y negativa con los resultados de la prueba de referencia para las muestras de exudado NF con el NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay usando muestras de saliva, como se detalla en la Tabla 24.

Tabla 24. Resultados cualitativos de comparación de métodos para el NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay con muestras de saliva frente a muestras de exudado NF

Concordancia cualitativa		Muestras de exudado NF		
		Pos	Neg	Total
Muestras de saliva	Pos	41	2	43
	Neg	2	67	69
	Total	43	69	112
Sensibilidad clínica 95,4 % (84,5 %-98,7 %)				
Especificidad clínica 97,1 % (90,0 %-99,2 %)				

REFERENCIAS

1. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

MARCAS COMERCIALES

NeuMoDx™ y NeuDry™ son marcas comerciales de NeuMoDx Molecular, Inc.
 Afrin® es una marca comercial registrada de Bayer AG
 Altoids™ es una marca comercial de Callard and Bowser Limited
 Aspirin™ es una marca comercial registrada de Bayer AG
 BD™ es una marca comercial de Becton, Dickinson and Company
 Crest® Pro-Health es una marca comercial registrada de Procter and Gamble Company
 Flonase® es una marca comercial registrada de GlaxoSmithKline plc
 Halls™ es una marca comercial del Mondelēz International Group
 Hamilton® es una marca comercial registrada de Hamilton Company
 Listerine® es una marca comercial registrada de Johnson & Johnson
 Relenza® es una marca comercial registrada de GlaxoSmithKline plc
 Tamiflu® es una marca comercial registrada de Genentech USA, Inc.
 TaqMan® es una marca comercial registrada de Roche Molecular Systems, Inc.
 UTM-RT® es una marca comercial registrada de Copan Diagnostics, Inc.
 Wal-Tussin® es una marca comercial registrada de Walgreens Company
 Zicam® es una marca comercial registrada de Matrixx Initiatives, Inc.

El resto de los nombres de productos, marcas comerciales y marcas comerciales registradas que pueden aparecer en este documento son propiedad de sus respectivos dueños.

CLAVE DE SÍMBOLOS

R only	Solo para uso prescriptivo		Límite de temperatura
	Fabricante		No reutilizar
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>		Contenido suficiente para <n> pruebas
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Consultar las instrucciones de uso
REF	Número de referencia		Precaución
LOT	Código de lote		Riesgos biológicos
	Fecha de caducidad	CE	Marca CE



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

Patrocinador (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



Servicio técnico/Informes de vigilancia: support@qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents