

REF 300900 NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip**R only**

ATTENZIONE: Solo per l'esportazione negli Stati Uniti

IVD Per uso diagnostico *in vitro* con NeuMoDx™ 288 e NeuMoDx™ 96 Molecular SystemPer gli aggiornamenti dei fogli illustrativi, andare su: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Per istruzioni dettagliate fare riferimento al manuale dell'operatore del NeuMoDx™ 288 Molecular System; P/N 40600108

Per istruzioni dettagliate fare riferimento al manuale dell'operatore del NeuMoDx™ 96 Molecular System; P/N 40600317

USO PREVISTO

Il NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay implementato sul NeuMoDx™ 288 Molecular System e sul NeuMoDx™ 96 Molecular System (NeuMoDx Molecular System) è un test diagnostico multiplex, rapido, automatizzato e qualitativo di RT-PCR real-time *in vitro* per rilevamento diretto simultaneo e differenziazione dell'RNA del virus dell'influenza A (Flu A), del virus dell'influenza B (Flu B), del virus respiratorio sinciziale (Respiratory Syncytial Virus, RSV) e del SARS-CoV-2 da campioni di tampone nasofaringeo in un terreno di trasporto, ottenuti da pazienti con segni e sintomi di infezione respiratoria associati a fattori di rischio clinico ed epidemiologico.

I risultati di questo test non devono essere impiegati come unica base per la diagnosi, il trattamento o per adottare altre decisioni in merito alla gestione del paziente. Risultati positivi sono indicativi di infezione attiva. Risultati negativi non escludono l'infezione da virus di influenza, RSV o SARS-CoV-2 e non dovranno essere impiegati come unica base per il trattamento o per adottare altre decisioni in merito alla gestione del paziente.

Le caratteristiche delle prestazioni per il rilevamento del virus influenzale di tipo A e B sono state definite con campioni clinici prelevati durante la stagione influenzale 2019/2020. Le caratteristiche delle prestazioni potrebbero variare con l'insorgere di altri virus influenzali di tipo A e B.

Il NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay è destinato all'uso da parte del personale di laboratori clinici addestrato e formato in maniera specifica nelle tecniche delle procedure diagnostiche PCR real-time e *in vitro* e/o nell'uso dei NeuMoDx Molecular Systems.

SOMMARIO E SPIEGAZIONI

I campioni di tampone nasofaringeo vengono raccolti nel Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) System, BD™ Universal Viral Transport System (UVT) o Biologos Bio-VTM™ Viral Transport Media (VTM). Il NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay consente due flussi di lavoro di elaborazione dei campioni sulla base delle esigenze dei laboratori. Per la preparazione del test mediante il flusso di lavoro diretto, la provetta di raccolta principale (con il tampone e il tappo rimossi), o un'aliquota del terreno del campione in una provetta secondaria, viene fornita di codice a barre e caricata nel NeuMoDx System utilizzando uno specifico portaprovette per campioni. Per il flusso di lavoro pretrattato il campione in terreno di trasporto può essere dapprima trattato con un uguale volume di NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) per poi essere caricato sul sistema. Per il flusso di lavoro diretto, un'aliquota di 400 µl del campione viene aspirata dal NeuMoDx System e miscelata con un uguale volume di NeuMoDx Lysis Buffer 3, mentre per il flusso di lavoro pretrattato 550 µl del campione pretrattato vengono miscelati con un uguale volume di Lysis Buffer 2. Il NeuMoDx Molecular System esegue automaticamente i passaggi richiesti per estrarre l'acido nucleico target, preparare l'RNA isolato per la reazione a catena della polimerasi con trascrittasi inversa (RT-PCR) in tempo reale e, se presenti, amplificare e rilevare i prodotti dell'amplificazione. Il NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay mira alla regione conservata del gene Nsp2 di SARS-CoV-2 e a regioni nei geni M dei genomi dell'influenza A, dell'influenza B e del virus respiratorio sinciziale (A o B). Il NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay include un Controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control, SPC2) dell'RNA per facilitare il monitoraggio della presenza di sostanze potenzialmente inibitorie e gli errori relativi al NeuMoDx System o ai reagenti che si possono verificare durante il processo di estrazione e amplificazione.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay combina l'estrazione automatizzata e l'amplificazione/rilevamento dell'RNA mediante RT-PCR real-time. I campioni di tampone nasofaringeo vengono raccolti nel Copan UTM-RT® System, BD™ UVT System o nel terreno Biologos Bio-VTM™ Viral Transport Media (VTM). Il flusso di lavoro diretto consente di fornire di codice a barre e di caricare la provetta primaria di raccolta del tampone o un'aliquota del terreno di trasporto di una provetta secondaria sul NeuMoDx System per l'elaborazione. In alternativa, un campione di tampone nasofaringeo in terreno di trasporto può essere dapprima trattato con un uguale volume di NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) per poi essere caricato sul sistema senza ulteriore intervento dell'operatore. Il NeuMoDx System aspira automaticamente un'aliquota dei campioni per miscelarla con NeuMoDx Lysis Buffer 3 per il flusso di lavoro diretto oppure un'aliquota del campione pretrattato per miscelarla con il Lysis Buffer 2 e i reagenti contenuti nella NeuMoDx™ Extraction Plate per iniziare il trattamento. Il NeuMoDx System automatizza e integra l'estrazione e la concentrazione dell'RNA, la preparazione dei reagenti, l'amplificazione e la rilevazione dell'acido nucleico delle sequenze target mediante RT-PCR real-time. Il controllo di elaborazione dei campioni (SPC2) incluso consente di monitorare la presenza di potenziali sostanze inibitorie nonché gli errori di sistema, processo o reagente. Una volta caricato il campione sul NeuMoDx System non è necessario alcun intervento dell'operatore.

Il NeuMoDx System utilizza una combinazione di calore, enzima litico e reagenti di estrazione per eseguire automaticamente la lisi, l'estrazione dell'RNA e l'eliminazione degli inibitori. Gli acidi nucleici rilasciati vengono catturati da microsferi paramagnetiche. Le particelle, con l'acido nucleico legato, sono caricate nella NeuMoDx™ Cartridge, dove gli elementi non legati vengono rimossi tramite lavaggio con NeuMoDx™ Wash Reagent. L'RNA legato viene quindi eluito utilizzando il NeuMoDx™ Release Reagent. Il NeuMoDx System utilizza quindi l'RNA eluito per reidratare i reagenti di amplificazione di proprietà NeuDry™ contenenti tutti gli elementi necessari per l'amplificazione dei target di Flu A, Flu B, RSV, SARS-CoV-2 e SPC2. Ciò consente l'amplificazione e la rilevazione simultanea di tutti i target e delle sequenze di RNA di controllo elaborazione campioni. Dopo la ricostituzione dei reagenti RT-PCR essiccati, il NeuMoDx System dispensa la miscela pronta per RT-PCR in una camera PCR (per campioni) della NeuMoDx Cartridge. Trascrizione inversa, amplificazione e rilevazione delle sequenze di controllo e target (se presenti) si verificano nella camera PCR. La NeuMoDx Cartridge è progettata per contenere l'amplicone generato dopo la RT-PCR, eliminando virtualmente il rischio della contaminazione post-amplificazione.

Vantage Test Strip

ISTRUZIONI PER L'USO

I target amplificati vengono rilevati in tempo reale utilizzando la chimica delle sonde a idrolisi (comunemente nota come chimica TaqMan®) che si avvale di molecole di sonde oligonucleotidiche fluorogeniche specifiche per gli ampliconi dei rispettivi target. Le sonde TaqMan consistono in un fluoroforo legato covalentemente all'estremità 5' della sonda oligonucleotidica e in un colorante quencher all'estremità 3'. Mentre la sonda è intatta, il fluoroforo e il colorante quencher sono in prossimità, consentendo alla molecola di colorante quencher di sopprimere la fluorescenza emessa dal fluoroforo tramite FRET (Förster Resonance Energy Transfer).

Le sonde TaqMan® sono progettate in modo tale da eseguire l'annealing all'interno di una regione del DNA amplificata da un set specifico di primer. Quando la Taq DNA polimerasi estende il primer e sintetizza il nuovo filamento, l'attività di esonucleasi 5' - 3' della Taq DNA polimerasi degrada la sonda che ha eseguito l'annealing allo stampo. La degradazione della sonda rilascia il fluoroforo e spezza la prossimità con il colorante quencher, superando quindi l'effetto di smorzamento dovuto al FRET e consentendo il rilevamento del fluoroforo. Il segnale di fluorescenza risultante rilevato nel termociclatore per RT-PCR quantitativa del NeuMoDx System è direttamente proporzionale al fluoroforo rilasciato e può essere correlato alla quantità di target presente.

Le sonde TaqMan® sono marcate con fluorofori all'estremità 5' e con un colorante quencher scuro all'estremità 3' e sono utilizzate per rilevare i target virali. Il canale per il rilevamento fluorescente di ogni target NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay è illustrato nella *Tabella 1*. Il software del NeuMoDx System monitora il segnale fluorescente emesso dalle sonde TaqMan alla fine di ogni ciclo di amplificazione. Quando l'amplificazione è completa, il software del NeuMoDx System analizza i dati e riporta un risultato (POSITIVE (POSITIVO)/NEGATIVE (NEGATIVO)/INDETERMINATE (INDETERMINATO)/NO RESULT (NESSUN RISULTATO)/UNRESOLVED (IRRISOLTO)).

Tabella 1. Canale di rilevamento

Organismo	Regione target	Sonda fluoroforo	Eccitazione/emissione	Canale di rilevamento
Influenza A	Gene M	HEX	530/555 nm	Giallo
Influenza B	Gene M	FAM	470/510 nm	Verde
SARS-CoV-2	Gene Nsp2	Rosso Texas	585/610 nm	Arancione
Virus respiratorio sinciziale	Gene M	Q705	680/715 nm	Rosso intenso
SPC2	Assemblaggio proteico (MS2)	Q670	625/660 nm	Rosso

REAGENTI/MATERIALI DI CONSUMO

Materiali in dotazione

RIF	Contenuto	Unità per confezione	Test per unità	Test per confezione
300900	NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip <i>Reagenti RT-PCR essiccati contenenti sonde e primer TaqMan® specifici per Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2, insieme a sonda e primer TaqMan® specifici per SPC2. Contenente 21,1% Tris-HCl, 8,4% dNTP e altri ingredienti inattivi</i>	6	16	96

Materiali necessari ma non in dotazione (disponibili separatamente da NeuMoDx)

RIF	Contenuto
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Particelle paramagnetiche, enzima litico e controlli di elaborazione dei campioni essiccati</i>
400500**	NeuMoDx™ Lysis Buffer 2
400600*	NeuMoDx™ Lysis Buffer 3
401500**	NeuMoDx™ Vantage Viral Lysis Buffer
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Puntali Hamilton® CO-RE (300 µl) con filtri
235905	Puntali Hamilton® CO-RE (1000 µl) con filtri

*Richiesti solo per trattamento diretto dei campioni, senza passaggio di pretrattamento. Fare riferimento alla sezione "Istruzioni per l'uso" di seguito.

**Richiesti solo se si desidera un passaggio di pretrattamento prima di caricare i campioni. Fare riferimento alla sezione "Istruzioni per l'uso" di seguito.

Tamponi e terreni di trasporto (non in dotazione)

Tipo di campione	Dispositivo di raccolta consigliato	Tampone consigliato
Tampone nasofaringeo	3 ml di Universal Transport Medium (Copan UTM-RT®, Copan, CA, USA)	Flexible Minitip Nylon® Flocked Swab (Copan, CA, USA) Flexible Minitip Flocked Swab (BD, NJ, USA)
	3 ml di Universal Viral Transport System (BD™ UVT, BD, NJ, USA)	
	3 ml di Bio-VTM™ Viral Transport Medium (Bio-VTM™, Biologos LLC, IL, USA)	

Strumentazione richiesta

NeuMoDx™ 288 Molecular System [RIF 500100] oppure NeuMoDx™ 96 Molecular System [RIF 500200]



AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- La NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip è destinata all'uso diagnostico *in vitro* solo con i NeuMoDx™ System.
- Non utilizzare i reagenti o i materiali di consumo dopo la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare alcun reagente se il sigillo di sicurezza è rotto o se la confezione risulta danneggiata all'arrivo.
- Non utilizzare i materiali di consumo o i reagenti se il sacchetto di protezione appare aperto o rotto all'arrivo.
- Il volume minimo del campione dell'aliquota secondaria dipende dalle dimensioni della provetta/dal portaprovette per campioni come definiti di seguito. Un volume al di sotto del minimo specificato può generare un errore "Quantity Not Sufficient" (Quantità non sufficiente).
- L'uso di campioni conservati a temperature non corrette oppure oltre i tempi di stoccaggio specificati può produrre risultati non validi o errati.
- Evitare la contaminazione microbica e da ribonucleasi (RNasi) di tutti i reagenti e i materiali di consumo. In caso di trasferimento del campione in provette secondarie, si raccomanda l'uso di pipette di trasferimento monouso sterili, prive di DNasi. Utilizzare una nuova pipetta per ciascun campione.
- Per evitare la contaminazione, non manipolare o spezzare nessuna NeuMoDx Cartridge dopo l'amplificazione. In nessun caso recuperare le NeuMoDx Cartridge dal contenitore dei materiali di scarto a rischio biologico (NeuMoDx 288 Molecular System) o dal recipiente materiali di scarto a rischio biologico (NeuMoDx 96 Molecular System). La cartuccia NeuMoDx Cartridge è stata progettata in modo da prevenire la contaminazione.
- Nei casi in cui dal laboratorio siano condotti anche test per PCR in provetta aperta, è necessario assicurarsi che la NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip, i materiali di consumo e i reagenti aggiuntivi necessari per i test, i dispositivi di protezione individuale come guanti e camici da laboratorio e il NeuMoDx System non siano contaminati.
- Durante la manipolazione dei reagenti e dei materiali di consumo NeuMoDx, è necessario indossare guanti in nitrile, puliti e privi di polvere. Prestare attenzione a non toccare la superficie superiore della NeuMoDx Cartridge, la superficie della pellicola sigillante della NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip e della piastra NeuMoDx Extraction Plate o la superficie superiore del contenitore del NeuMoDx Lysis Buffer; i materiali di consumo e i reagenti devono essere maneggiati toccando solo le superfici laterali.
- Per ogni reagente vengono fornite le schede tecniche di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) (se applicabile) su www.qiagen.com/safety.
- Lavarsi bene le mani dopo avere eseguito il test.
- Non pipettare con la bocca. Non fumare, mangiare o bere nelle aree in cui vengono manipolati i campioni o i reagenti.
- Trattare sempre i campioni come se fossero infettivi e in conformità a procedure di laboratorio sicure, come quelle descritte in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹ e nel Documento M29-A4 del Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI.²
- Smaltire i reagenti inutilizzati e i materiali di scarto in conformità alle normative nazionali, federali, provinciali, regionali e locali.
- Non riutilizzare.



STOCCAGGIO, MANIPOLAZIONE E STABILITÀ DEL PRODOTTO

- Le NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip sono stabili nell'imballaggio primario fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta esterna del prodotto, se conservate a una temperatura compresa tra 4 °C e 28 °C.
- Non utilizzare i materiali di consumo e i reagenti dopo la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare alcun prodotto di test se la confezione primaria o quella secondaria è stata visivamente compromessa.
- Non ricaricare alcun prodotto di test che sia stato caricato in precedenza su un altro NeuMoDx System.
- Una volta caricata, la NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip può restare a bordo del NeuMoDx System per 7 giorni. Il periodo di validità residuo delle strisce reattive caricate è tracciato dal software e segnalato all'utente in tempo reale. La rimozione di una striscia reattiva utilizzata oltre il periodo consentito sarà richiesta dal sistema.

Vantage Test Strip

ISTRUZIONI PER L'USO

PRELIEVO, TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Trattare tutti i campioni come se fossero potenziali mezzi di trasmissione di agenti infettivi.

1. I campioni dovranno essere prelevati mediante il Copan UTM-RT® System, BD™ UVT System o il Bio-VTM™ ricorrendo a tamponi in nylon floccato approvati (vedere Tamponi e terreni di trasporto). Sono accettabili anche i tipi di tampone floccato, in poliestere e in rayon. Seguire le istruzioni del produttore per il prelievo, il trasporto e lo stoccaggio dei campioni.
2. I campioni possono essere testati in provette di raccolta primarie o in provette per campioni secondarie.
3. Le provette dei campioni possono restare sul NeuMoDx System per un massimo di 8 ore prima dell'elaborazione. Se è necessario un tempo di conservazione maggiore, si raccomanda di mettere i campioni in frigorifero o di congelarli come aliquote secondarie.
4. I campioni preparati devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C per non più di 7 giorni prima del test.
5. Se i campioni vengono spediti, devono essere imballati ed etichettati in conformità alle normative locali e/o internazionali applicabili.
6. Procedere con la sezione *Preparazione del test*.

ISTRUZIONI PER L'USO

Il NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay consente due tipi di flusso di lavoro, a seconda della preferenza dell'utente/del laboratorio:

Flusso di lavoro 1: **DIRETTO**: il campione di tampone nel terreno di trasporto viene caricato direttamente nel NeuMoDx System in una provetta di raccolta primaria o in provette per campioni secondarie

- 0 -

Flusso di lavoro 2: **PRETRATTATO**: il campione di tampone nel terreno di trasporto viene pretrattato con NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer prima del caricamento nel NeuMoDx System nella provetta di raccolta primaria o nelle provette per campioni secondarie

Preparazione del test: flusso di lavoro DIRETTO per campioni di tampone diretti

1. Applicare l'etichetta con codice a barre del campione su una provetta per campioni compatibile con NeuMoDx System, come descritto al punto 4 di seguito.
2. Se il test del campione viene eseguito nella provetta di raccolta del campione primaria, collocare la provetta con l'etichetta con codice a barre in un portaprovette per campioni e accertarsi che il tappo e il tampone vengano rimossi prima del caricamento nel NeuMoDx System.
3. In alternativa, un'aliquota del terreno di trasporto può essere trasferita a una provetta secondaria con codice a barre e collocata in un portaprovette per campioni. Se si utilizza una provetta secondaria, trasferire un'aliquota del terreno di trasporto nella provetta per campioni con codice a barre compatibile con il NeuMoDx System secondo i volumi definiti di seguito:
4. *Per campioni di tampone:*
 - Portaprovette per campioni (32 provette): 11-14 mm di diametro e 60-120 mm di altezza; volume di riempimento minimo $\geq 550 \mu\text{l}$
 - Portaprovette per campioni (24 provette): 14,5-18 mm di diametro e 60-120 mm di altezza; volume di riempimento minimo $\geq 1000 \mu\text{l}$
 - Portaprovette per campioni a volume ridotto (32 provette): provetta per microcentrifuga a fondo conico da 1,5 ml; volume di riempimento minimo $\geq 500 \mu\text{l}$

Preparazione del test: flusso di lavoro PRETRATTATO per campioni di tampone pretrattati

Nota: Portare il Vantage Viral Lysis Buffer a temperatura ambiente (15 - 30 °C) prima di usarlo.

AVVERTENZA: Il pretrattamento dei campioni di tampone con NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer non garantisce la disattivazione di eventuali virus presenti. Tutti i campioni devono essere trattati come se fossero in grado di trasmettere agenti infettivi.

1. Pretrattare il terreno di trasporto dei campioni con un volume 1:1 di NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. Se il volume del terreno di trasporto è noto, tale operazione può essere eseguita nella provetta di raccolta del tampone principale. In alternativa, il pretrattamento può essere eseguito in una provetta secondaria combinando un'aliquota del terreno di trasporto con un uguale volume di NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. La miscela che ne risulta deve soddisfare i requisiti di volume minimo specificati di seguito.
2. Miscelare con delicatezza con una pipetta per garantire la distribuzione uniforme del NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer.
3. Se il test del campione pretrattato viene eseguito nella provetta per il prelievo di raccolta primaria, collocare la provetta con l'etichetta con codice a barre in un portaprovette per campioni e accertarsi che il tappo e il tampone vengano rimossi prima del caricamento nel NeuMoDx System.
4. Se si utilizza una provetta secondaria, trasferire un'aliquota del campione pretrattato in una provetta per campioni con codice a barre compatibile con il NeuMoDx System e inserirla in un portaprovette in base ai volumi definiti di seguito:
 - Portaprovette per campioni (32 provette): 11-14 mm di diametro e 60-120 mm di altezza; volume di riempimento minimo $\geq 700 \mu\text{l}$
 - Portaprovette per campioni (24 provette): 14,5-18 mm di diametro e 60-120 mm di altezza; volume di riempimento minimo $\geq 1100 \mu\text{l}$
 - Portaprovette per campioni a volume ridotto (32 provette): provetta per microcentrifuga a fondo conico da 1,5 ml; volume di riempimento minimo $\geq 650 \mu\text{l}$

Funzionamento del NeuMoDx System

Per istruzioni dettagliate, fare riferimento ai Manuali dell'operatore del NeuMoDx™ 288 e del 96 Molecular System; (P/N 40600108 e 40600317)

1. Caricare l'ordine di test sul NeuMoDx System in base al flusso di lavoro utilizzato per la preparazione del test:
 - I campioni di tampone non diluiti non trattati preparati utilizzando il flusso di lavoro DIRETTO vengono testati definendo il campione come "Transport Medium" (Terreno di trasporto)
 - I campioni pretrattati con VVLB mediante il flusso di lavoro PRETRATTATO vengono testati definendo il campione come "UserSpecified1" (Specificato dall'utente 1)
2. Inserire uno o più supporti per strisce reattive per NeuMoDx™ System con NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip e usare il touchscreen per caricare i supporti per strisce reattive nel NeuMoDx System.
3. Se richiesto dal software del NeuMoDx™ System, aggiungere i materiali di consumo necessari ai supporti dei materiali di consumo del NeuMoDx System e utilizzare il touchscreen per caricare i supporti nel NeuMoDx System.
4. Se richiesto dal software del NeuMoDx System, sostituire NeuMoDx Wash Reagent e NeuMoDx Release Reagent, svuotare il contenitore dei rifiuti di adescamento, dei materiali di scarto a rischio biologico (solo NeuMoDx 288 Molecular System), il recipiente dei puntali di scarto (solo NeuMoDx 96 Molecular System) o il recipiente dei materiali di scarto a rischio biologico (solo NeuMoDx 96 Molecular System), secondo necessità.
5. Caricare le provette per campioni in un portaprovette per campioni standard e assicurarsi che da tutte le provette siano stati rimossi i tappi ed eventuali tamponi.
6. Posizionare i portaprovette sul ripiano del caricatore automatico e utilizzare il touchscreen per caricare il o i portaprovette nel NeuMoDx System. In tal modo verrà avviata l'elaborazione dei campioni caricati per i test identificati, a condizione che nel sistema sia presente un ordine di test valido.

LIMITAZIONI

1. La NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip può essere utilizzata solo sui NeuMoDx Systems.
2. Le prestazioni della NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip sono state stabilite con i campioni di tampone nasofaringeo raccolti da medici in terreno di trasporto. L'uso della NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip con altre fonti cliniche non è stato valutato e le caratteristiche delle prestazioni non sono note per altri tipi di campioni.
3. Poiché il rilevamento dei target virali dipende dal numero di particelle virali presenti nel campione, l'affidabilità dei risultati dipende dalla correttezza delle operazioni di prelievo, trattamento e conservazione dei campioni.
4. Eventuali risultati errati potrebbero essere dovuti a operazioni di prelievo, manipolazione o conservazione dei campioni non corrette, a errori tecnici o a scambi di provette per campioni. Potrebbero inoltre verificarsi falsi negativi se il numero di particelle virali nel campione è al di sotto del limite di rilevazione del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay.
5. Il NeuMoDx System è destinato a essere utilizzato esclusivamente da personale addestrato all'uso del sistema.
6. Se non si amplificano i target Flu A, B, RSV e SARS-CoV-2 e il target SPC2, si otterrà un risultato non valido (Indeterminate (Indeterminato) o Unresolved (Irrisolto)) e sarà necessario ripetere il test.
7. Se si verifica un errore di sistema prima del completamento dell'elaborazione del campione, comparirà "No Result" (Nessun risultato) e si dovrà ripetere il test.
8. Un risultato positivo non indica necessariamente la presenza di virus vitali dell'influenza A, dell'influenza B, del SARS-CoV-2 e/o del virus respiratorio sinciziale. Un risultato positivo, però, suggerisce la presenza di RNA del virus dell'influenza A, dell'influenza B, del SARS-CoV-2 e/o del virus respiratorio sinciziale (A o B).
9. La NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV2 Vantage Test Strip può contenere ingredienti non attivi che potrebbero influire sulla misurazione.
10. Eventuali delezioni o mutazioni nelle regioni target conservate dal NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay possono influire sul rilevamento e portare a un risultato errato.
11. I risultati del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay dovranno essere impiegati in aggiunta alle osservazioni cliniche e ad altre informazioni disponibili al medico.
12. Si raccomandano buone pratiche di laboratorio, compreso il cambio di guanti tra una manipolazione dei campioni dei pazienti e quella successiva, per evitare la contaminazione.

RISULTATI

I risultati disponibili possono essere visualizzati o stampati dalla scheda "Results" (Risultati) nella finestra Results (Risultati) sul touchscreen del NeuMoDx System. I risultati del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay vengono generati automaticamente dal software del NeuMoDx System utilizzando l'algoritmo decisionale e i parametri di elaborazione dei risultati specificati nel file di definizione dell'esame NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay (Flu A-B-RSV SARS-CoV-2 ADF versione 4.0.0 o superiore). Un risultato del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay può essere riportato come Negative (Negativo), Positive (Positivo), Indeterminate (Indeterminato) o Unresolved (Irrisolto) in base allo stato di amplificazione del target e al controllo di elaborazione campioni. I risultati sono riportati nell'algoritmo decisionale di elaborazione dei risultati dell'ADF, riepilogato nella *Tabella 2*.

Tabella 2. Interpretazione dei risultati del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay

RISULTATO	Flu A Target	Flu B Target	RSV Target	Target SARS-CoV-2	CONTROLLO DI ELABORAZIONE (SPC2)	Interpretazione
POSITIVE (POSITIVO)	Amplified (Amplificato)	N/A	N/A	N/A	N/A	Rilevato RNA di Flu A
	N/A	Amplified (Amplificato)	N/A	N/A	N/A	Rilevato RNA di Flu B
	N/A	N/A	Amplified (Amplificato)	N/A	N/A	Rilevato RNA di RSV
	N/A	N/A	N/A	Amplified (Amplificato)	N/A	Rilevato RNA di SARS-CoV-2
NEGATIVE (NEGATIVO)	Not Amplified (Non amplificato)	Not Amplified (Non amplificato)	Not Amplified (Non amplificato)	Not Amplified (Non amplificato)	Amplified (Amplificato)	Non rilevato RNA di Flu A, Flu B, RSV e SARS-CoV-2
NO RESULT* (NESSUN RISULTATO)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Non amplificato, Rilevato errore di sistema, Trattamento del campione interrotto)					Tutti i risultati target erano non validi; testare nuovamente il campione.
IND (INDETERMINATO)*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Non amplificato, Rilevato errore di sistema, Trattamento del campione completato)					L'elaborazione del campione è stata interrotta; testare nuovamente il campione
UNR (IRRISOLTO)*	Not Amplified, No System Error Detected (Non amplificato, Nessun errore di sistema rilevato)					Tutti i risultati target erano non validi; testare nuovamente il campione.

* Il sistema permette di utilizzare la funzione Rerun (Riesegui)/Repeat (Ripeti) per garantire la rielaborazione automatica in caso di risultato non valido e ridurre al minimo i ritardi nell'ottenimento dei risultati.

Risultati non validi

Se un NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay eseguito sul NeuMoDx System non riesce a produrre un risultato valido, verrà segnalato come Indeterminate (Indeterminato), No Result (Nessun risultato) o Unresolved (Irrisolto) in base al tipo di errore che si è verificato, e il test dovrà essere ripetuto per ottenere un risultato valido.

Un risultato Indeterminate (Indeterminato) verrà segnalato se viene rilevato un errore del NeuMoDx System durante il trattamento del campione. Nel caso di un risultato Indeterminate (Indeterminato), è consigliabile ripetere il test.

Il risultato sarà No Result (Nessun risultato) quando viene rilevato un errore del NeuMoDx System e viene interrotta l'elaborazione del campione. Nel caso di un risultato No Result (Nessun risultato), è consigliabile ripetere il test.

Il risultato sarà Unresolved (Irrisolto) quando non viene rilevato alcun target e non vi è amplificazione del controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control): ciò indica un possibile errore relativo al reagente o la presenza di inibitori. Nel caso di un risultato Unresolved (Irrisolto), per prima cosa è consigliabile ripetere il test. Se ancora non si ottiene un risultato valido, è possibile usare un campione diluito per mitigare l'effetto di una possibile inibizione.

Vedere il manuale dell'operatore del NeuMoDx 288 Molecular System (PN: 40600108) o il manuale dell'operatore del NeuMoDx 96 Molecular System (PN: 40600317) per un elenco completo dei codici di errore che possono essere associati a risultati non validi.

Controllo qualità

Le normative locali in genere specificano che il laboratorio è responsabile delle procedure di controllo che monitorano l'accuratezza e la precisione dell'intero processo analitico e devono stabilire il numero, il tipo e la frequenza di test dei materiali di controllo.

Vantage Test Strip

ISTRUZIONI PER L'USO

I materiali di controllo non saranno forniti da NeuMoDx Molecular, Inc. I controlli appropriati dovranno essere scelti e validati dal laboratorio. I controlli devono rispettare le stesse specifiche di volume minimo dei campioni clinici specificate in precedenza sulla base delle dimensioni del portaprovette per campioni. I materiali indicati di seguito sono consigliati come materiale di controllo:

- Controllo positivo (1 ml per controllo):
 - 5 µL di RSV Rapid Control Pack (Zeptomatrix, n. cat.: KZMC034)
 - 5 µL di NATrol Influenza A/B Positive Control (Zeptomatrix, n. cat.: MDZ046)
 - Virus SARS-CoV-2 inattivato a calore (ATCC, VR-1986HK) a una concentrazione finale di 1000 cp/ml
 - BD™ Universal Viral Transport Medium (UVT) o equivalente per volume finale di 1 ml
- Controllo negativo: BD™ Universal Viral Transport Medium (UVT, BD, NJ) o equivalente

Quando si trattano i controlli definiti dall'utente, collocare i controlli etichettati in un portaprovette per campioni e utilizzare il touchscreen per caricare il portaprovette nel NeuMoDx System dal ripiano del caricatore automatico. Una volta definiti (vedere il Manuale dell'operatore del NeuMoDx 288 Molecular System (PN: 40600108) o il Manuale dell'operatore del NeuMoDx 96 Molecular System (PN: 40600317)), il NeuMoDx System riconoscerà i codici a barre associati e avvierà automaticamente il trattamento considerandoli controlli.

È consigliabile che gli utenti elaborino un set di controlli negativi e positivi prima di elaborare i campioni dei pazienti, una volta ogni 24 ore di funzionamento del sistema.

Controlli (interni) di elaborazione dei campioni

Nella NeuMoDx Extraction Plate è incorporato un Controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control, SPC2) esogeno, che si sottopone all'intero processo di estrazione dell'acido nucleico e amplificazione mediante RT-PCR real-time con ogni campione. In ogni pozzetto della NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip sono inclusi anche primer e sonda specifici per SPC2, consentendo il rilevamento della presenza dell'SPC2 insieme all'RNA target (se presente) tramite PCR multiplex. Il rilevamento dell'amplificazione di SPC2 consente al software del NeuMoDx System di monitorare l'efficacia dei processi di estrazione e di amplificazione dell'RNA mediante PCR.

Prima della RT-PCR, il NeuMoDx System esegue automaticamente un "FILL CHECK" (CONTROLLO RIEMPIMENTO) per verificare che la camera PCR sia riempita con la soluzione e che contenga un'adeguata quantità di sonda fluorescente.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Sensibilità analitica

La sensibilità analitica del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay nei NeuMoDx Molecular Systems è stata caratterizzata in due parti. Per prima cosa è stata preparata una serie di diluizioni usando ceppi modello di ogni target in UVT con il flusso di lavoro pretrattato e poi elaborata sul NeuMoDx System per determinare un valore preliminare del limite di rilevamento (LoD). Nella seconda parte del test, questo valore LoD preliminare è stato confermato mediante l'impiego di uno studio hit-rate su entrambi i NeuMoDx 288 e NeuMoDx 96 Molecular Systems per entrambi i flussi di lavoro. L'LoD preliminare è stato accettato se i test hit-rate hanno ottenuto un tasso di positività del 95% per entrambi i flussi di lavoro su entrambi i sistemi. I tassi di rilevamento per l'LoD preliminare sono illustrati nella *Tabella 3* mentre nella *Tabella 4* sono indicati i dettagli della conferma hit-rate per il sistema N288 e nella *Tabella 5* quelli per il sistema N96.

Tabella 3. Tassi di rilevamento positivi per la determinazione dell'LoD del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay

Target/ceppo	Livello	Unità	N. di risultati validi	N. di positivi	% rilevamento	
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	10	10	100%	
	0,25		10	9	90,0%	
Flu A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5		10	10	100%	
	0,25		10	8	80,0%	
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,25		10	10	100%	
	0,05		10	10	100%	
	0,01		8	8	100%	
Flu B, Florida/78/2015 (Yamagata)	0,25		10	10	100%	
	0,1		10	9	90,0%	
RSV A2	0,5		9	9	100%	
	0,25		9	8	88,9%	
RSV B (WV/14617/85)	0,25		10	10	100%	
	0,05		9	9	100%	
SARS-CoV-2, Isolato USA-WA1/2020	300		copie/ml	10	10	100%
	200			10	10	100%
	150			10	10	100%
	100	10		7	70,0%	

Vantage Test Strip

ISTRUZIONI PER L'USO

Tabella 4. Tassi di rilevamento positivi per conferma hit-rate dell'LoD per il NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay – N288, (a) flusso di lavoro pretrattato; (b) flusso di lavoro diretto

(a) Flusso di lavoro pretrattato

Target/ceppo	Livello	N. di risultati validi	N. di positivi	% rilevamento
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
Flu A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5 TCID ₅₀ /ml	23	23	100%
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
Flu B, Florida/78/2015 (Yamagata)	0,25 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
RSV A2	0,5 TCID ₅₀ /ml	21	20	95,2%
RSV B (WV/14617/85)	0,25 TCID ₅₀ /ml	22	22	100%
SARS-CoV-2, Isolato USA-WA1/2020	150 copie/ml	23	23	100%
SARS-CoV-2, Isolato Italia-INMI1	150 copie/ml	23	23	100%

(b) Flusso di lavoro diretto

Target/ceppo	Livello	N. di risultati validi	N. di positivi	% rilevamento
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
Flu A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01 TCID ₅₀ /ml	24	23	95,8%
Flu B, Florida/78/2015 (Yamagata)	0,25 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
RSV A2	1 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
RSV B (WV/14617/85)	0,05 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
SARS-CoV-2, Isolato USA-WA1/2020	250 copie/ml	23	22	95,7%
SARS-CoV-2, Isolato Italia-INMI1	250 copie/ml	23	23	100%

Tabella 5. Tassi di rilevamento positivi per conferma hit-rate dell'LoD per il NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay – N96, (a) flusso di lavoro pretrattato; (b) flusso di lavoro diretto

(a) Flusso di lavoro pretrattato

Target/ceppo	Livello	N. di risultati validi	N. di positivi	% rilevamento
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /ml	24	23	95,8%
Flu A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5 TCID ₅₀ /ml	22	21	95,5%
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01 TCID ₅₀ /ml	24	23	95,8%
Flu B, Florida/78/2015 (Yamagata)	0,25 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
RSV A2	0,5 TCID ₅₀ /ml	22	22	100%
RSV B (WV/14617/85)	0,25 TCID ₅₀ /ml	23	23	100%
SARS-CoV-2, Isolato USA-WA1/2020	150 copie/ml	23	22	95,7%
SARS-CoV-2, Isolato Italia-INMI1	150 copie/ml	22	21	95,5%

(b) Flusso di lavoro diretto

Target/ceppo	Livello	N. di risultati validi	N. POS	% rilevamento
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /ml	24	23	95,8%
Flu A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5 TCID ₅₀ /ml	23	23	100%
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
Flu B, Florida/78/2015 (Yamagata)	0,25 TCID ₅₀ /ml	24	23	95,8%
RSV A2	1 TCID ₅₀ /ml	22	22	100%
RSV B (WV/14617/85)	0,05 TCID ₅₀ /ml	23	23	100%
SARS-CoV-2, Isolato USA-WA1/2020	250 copie/ml	23	22	95,7%
SARS-CoV-2, Isolato Italia-INMI1	250 copie/ml	23	22	95,7%

I livelli accettati come valori LoD per il NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay sui NeuMoDx Systems sono riassunti nella *Tabella 6*. Il limite di rilevamento del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay è pari a 0,5 TCID₅₀/ml per Flu A, 0,25 TCID₅₀/ml per Flu B, 1,0 TCID₅₀/ml per RSV A, 0,05 TCID₅₀/ml per RSV B e 250 copie/ml per SARS-CoV-2.

Tabella 6. Riepilogo dello studio sul limite di rilevamento

Target	Ceppo	Limite di rilevamento		
		Flusso di lavoro pretrattato	Flusso di lavoro diretto	Unità
Influenza A (Flu A) – H3N2	Singapore/INIFMIH-16-0019/2016	0,5	0,5	TCID ₅₀ /ml
Influenza A (Flu A) – H1N1	Michigan/272/2017 pdm09	0,5	0,5	
Influenza B (Flu B) – ceppo Victoria	Colorado/6/2017	0,01	0,01	
Influenza B (Flu B) – ceppo Yamagata	Florida/78/2015	0,25	0,25	
RSV A	A2	0,25	1	
RSV B	(WV/14617/85)	0,05	0,05	
SARS-CoV-2	isolato USA-WA1/2020	150	250	copie/ml

Interferenza competitiva sul rilevamento di SARS-CoV-2

La sensibilità analitica del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay è stata valutata nel contenuto di una co-infezione artificiale di SARS-CoV-2 con gli altri tre target, Flu A, Flu B o RSV. Questo scenario è stato valutato con campioni preparati diluendo il SARS-CoV-2 inattivato a calore con la matrice del tampone negativo pre-screening a 1X LoD in presenza dei target Flu A, Flu B e/o RSV a concentrazioni $\geq 3 \text{ Log}_{10}$ TCID₅₀/ml dei rispettivi livelli LoD. Il tasso di rilevamento di SARS-CoV-2 al livello del LoD non ha subito ripercussioni negative causate dalla presenza di alti titoli virali di Flu A, Flu B, RSV A o RSV B, *Tabella 7*.

Tabella 7. Riepilogo dello studio di interferenza competitiva

Campione	n	SARS-CoV-2			Flu A, Flu B, RSV A o RSV B		
		% positivo	Valore medio Ct	DS	% positivo	Valore medio Ct	DS
SARS-CoV-2 /Flu A	24	96%	33,53	0,42	100%	25,22	0,53
SARS-CoV-2 /Flu B	24	96%	34,01	0,72	100%	24,43	0,46
SARS-CoV-2 /RSV A	24	100%	33,76	0,44	100%	19,47	0,69
SARS-CoV-2 /RSV B	24	100%	33,84	0,43	100%	20,55	0,62

Reattività analitica e inclusività

La reattività del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay è stata valutata confrontandola con più ceppi/isolati di influenza A, influenza B, virus respiratori sinciziali e SARS-CoV-2. Ceppi/isolati virali sono stati testati in almeno 20 replicati. Sono stati testati complessivamente 24 ceppi di Flu A, 6 ceppi di Flu B, 3 isolati di RSV A, 2 isolati di RSV B e 4 isolati di SARS-CoV-2, *Tabella 8*.

Vantage Test Strip

ISTRUZIONI PER L'USO

Tabella 8. Ceppi Flu A, Flu B, RSV A, RSV B e SARS-CoV-2 testati

Target	Ceppo	Concentrazione	% Pos	
Flu A	H1N1	Brisbane/02/2018	1 TCID ₅₀ /ml	95,5%
		California/07/2009	1 TCID ₅₀ /ml	100%
		California/07/2009 NYMC X-179A (H1N1)pdm09	18 TCID ₅₀ /ml	95,5%
		Louisiana/08/2013 pdm 09, ceppo di riferimento AVR, M2: S31N, NA: H275Y	8 TCID ₅₀ /ml	100%
		New York/18/2009 (H1N1)pdm09	6 TCID ₅₀ /ml	100%
		Guangdong-Moanan/SWL 1536/2019	1 TCID ₅₀ /ml	100%
	H2N2	A2/Giappone/305/57	32,6 pg/ml	100%
		Corea/426/68 (HA, NA) x A/PR/8/34	6,25 pg/ml	100%
	H3N2	Hong Kong/4801/2014	0,5 TCID ₅₀ /ml	100%
		Hong Kong/2671/2019	0,5 TCID ₅₀ /ml	100%
		Svizzera/9715293/2013	0,5 TCID ₅₀ /ml	100%
		Kansas/14/2017 (H3N2)	8 TCID ₅₀ /ml	100%
		Texas/50/2012 (H3N2)	4 TCID ₅₀ /ml	100%
		Wisconsin/15/2009 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /ml	95,5%
	H5N1 - H5N3	Pollo/Vietnam/NCVD-016/2008(H5N1)-PR8-IDCDC-RG12	1:50.000*	100%
		Egitto/N03072/2010(H5N1)-PR8-IDCDC-RG29	1:100.000*	100%
		Hubei/1/2010(H5N1)-PR8-IDCDC-RG30	1:10.000*	100%
		Anatra/Pennsylvania/10218/84 (H5N2)	2,55 pg/ml	100%
		Fagiano/New Jersey/1355/1998(H5N2)-PR8-IBCDC-4	1:50.000*	100%
		Anatra/Singapore/645/97 (H5N3) V-331-0E5-271	24,8 pg/ml	100%
	H7N2, H7N7, H7N9	A/tacchino/Virginia/4529/2002 (H7N2) x PR8-IBCDC-5	1:100.000*	95,5%
A/anatra selvatica/Olanda/12/2000(H7N7)/PR8-IBCDC-1, RNA genomico		1:100.000*	100%	
A/Anhui/1/2013 (H7N9)		1:100.000*	100%	
H10N7	A/pulcino/Germania/N/49 (H10N7)	68 pg/ml	100%	
Flu B	Victoria	Brisbane/60/2008	1 TCID ₅₀ /ml	100%
	Victoria	Malesia/2506/2004	3 TCID ₅₀ /ml	100%
	Yamagata	Phuket/3703/2013	0,5 TCID ₅₀ /ml	95,2%
	N/A	Virginia/ATCC5/2012	0,02 pfu/ml	100%
	Victoria	Washington/02/2019	5 TCID ₅₀ /ml	100,0%
	Yamagata	Wisconsin/1/2010	0,05 CEID ₅₀ /ml	95,5%
RSV	RSV A	A (long)	2 pfu/ml	95,5%
		A2001/3-12	8 TCID ₅₀ /ml	95,5%
	RSV B	A2001/2-20	8 TCID ₅₀ /ml	100%
		B, 9320	0,1 pfu/ml	100%
SARS-CoV-2		B1	4 TCID ₅₀ /ml	100%
		USA-IL1/2020	250 cp/ml	95,5%
		USA-AZ1/2020	250 cp/ml	100%
		USA-CA3/2020	250 cp/ml	100%
		Hong Kong/VM20001061/2020	250 cp/ml	100%

La reattività del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay nel rilevamento di differenti isolati clinici di SARS-CoV-2 è stata dimostrata mediante un'analisi in silico con i primer e le sonde dell'esame rispetto a tutte le sequenze disponibili nella GenBank (aggiornata al 12 agosto 2020), utilizzando il NCBI Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) basato su web. I risultati mostrano che i primer e le sonde per il SARS-CoV-2 hanno omologia del 100% con oltre 98% delle sequenze. In generale, i primer e la sonda hanno omologia >95% per tutte le sequenze analizzate.

Riproducibilità da lotto a lotto

La riproducibilità tra lotto per il NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay è stata verificata mediante analisi retrospettiva dei dati generati dai test di qualificazione eseguiti da tre operatori su tre NeuMoDx System in tre giorni non consecutivi per tre lotti di NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip prodotte secondo la BPL. L'Universal Viral Transport Medium (UVT) è stato arricchito con 2,0 TCID₅₀/ml di un ceppo rappresentativo di Flu A, Flu B e RSV e con 500 copie/ml di RNA genomico di SARS-CoV-2. La deviazione standard per i valori di Ct entro tutti i tre lotti delle strisce reattive NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay ≤1,1 con coefficienti di variazione (CV) ≤3,5% per tutti i target, a dimostrazione dell'eccellente riproducibilità, *Tabella 9*.

Tabella 9. Riproducibilità di tre lotti di NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strips

N. lotto	Flu A 2,0 TCID ₅₀ /ml			Flu B 2,0 TCID ₅₀ /ml			SARS-CoV-2 (500 copie/ml)			RSV 2,0 TCID ₅₀ /ml			Controllo elaborazione campioni 2 (SPC2)		
	C _t medio	C _t DS	% CV	C _t medio	C _t DS	% CV	C _t medio	C _t DS	% CV	C _t medio	C _t DS	% CV	C _t medio	C _t DS	% CV
10499X	32,74	0,56	1,7%	32,46	1,10	3,4%	32,35	1,02	3,2%	30,95	0,92	3,0%	26,21	0,43	1,6%
10508X	31,73	0,57	1,8%	32,11	0,56	1,8%	32,70	0,48	1,5%	31,02	0,37	1,2%	25,88	0,73	2,8%
10519X	32,61	0,41	1,3%	32,38	0,27	0,8%	32,71	0,73	2,2%	31,03	0,23	0,7%	26,27	0,29	1,1%
Tra tutti i tre lotti	32,35	0,69	2,1%	32,31	0,74	2,3%	32,59	0,78	2,4%	31,00	0,58	1,9%	26,12	0,54	2,1%

Prestazioni cliniche

Le caratteristiche delle prestazioni cliniche del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay sono state determinate utilizzando uno studio di confronto con metodo retrospettivo interno con campioni di tamponi nasofaringei residui provenienti da due sedi di laboratori geograficamente diversificate.

I campioni di tamponi nasofaringei residui di pazienti sintomatici sono stati deidentificati e hanno ricevuto un numero ID univoco dai laboratori clinici, stabilendo un elenco riservato che collega l'ID del paziente ai campioni deidentificati testati per scopi di studio. Dei 215 singoli campioni di tamponi nasofaringei testati sia con il flusso di lavoro diretto che pretrattato (per un totale di 439 risultati validi generati), 30 sono stati identificati come positivi a Flu A, 30 sono stati identificati come positivi a Flu B, 30 sono stati identificati come positivi a RSV A/B (non differenziati) e 30 sono stati identificati come positivi a SARS-CoV-2 dai laboratori clinici. Inoltre, 50 campioni singoli sono stati identificati come negativi per i target Flu A, Flu B e RSV, e altri 50 campioni singoli sono stati identificati come negativi a SARS-CoV-2 dai laboratori clinici. L'operatore era tenuto all'oscuro dello stato del test di questi campioni per implementare uno "studio in singolo cieco". Ciascun campione è stato analizzato per ciascun target di ciascun flusso di lavoro utilizzato per i test dei campioni. Per eseguire l'analisi comparativa dei metodi sono stati utilizzati i risultati riportati dagli specifici dispositivi molecolari commercializzati legalmente approvati da FDA e CE utilizzati dai laboratori per test standard di cura.

I risultati del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay hanno evidenziato una sensibilità clinica e una specificità clinica del 100% per entrambi i flussi di lavoro per il target Flu A (*Tabella 10A*). I risultati per il target Flu B hanno evidenziato rispettivamente una sensibilità clinica del 96,7% e una specificità clinica del 98% per entrambi i flussi di lavoro (*Tabella 10B*). I risultati per la RSV (non differenziati) hanno evidenziato una sensibilità clinica del 100% per entrambi i flussi di lavoro, mentre la specificità clinica è pari al 98% per il flusso di lavoro e al 100% per il flusso di lavoro pretrattato (*Tabella 10C*). I risultati per il target SARS-CoV-2 hanno evidenziato una sensibilità clinica del 100% e una specificità clinica del 98% per entrambi i flussi di lavoro (*Tabella 10D*). I limiti inferiore e superiore dell'intervallo di confidenza al 95% sono presentati nelle *Tabelle 10A, 10B, 10C, and 10D* di seguito e sono stati calcolati utilizzando la procedura Wilson con correzione di continuità.

Tabella 10A. Riepilogo delle prestazioni cliniche – NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip: Rilevamento di Flu A
(a) flusso di lavoro diretto e (b) flusso di lavoro pretrattato

(a) Flusso di lavoro diretto

Flu A		Risultato test di riferimento approvato FDA/CE		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	29	0	29
	NEG	0	50	50
	Totale	29	50	79
Sensibilità clinica (Flu A) = 100% (85,4% – 100%)				
Specificità clinica (Flu A) = 100% (91,1% – 100%)				

(b) Flusso di lavoro pretrattato

Flu A		Risultato test di riferimento approvato FDA/CE		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	0	30
	NEG	0	50	50
	Totale	30	50	80
Sensibilità clinica (Flu A) = 100% (85,9% – 100%)				
Specificità clinica (Flu A) = 100% (91,1% – 100%)				

Tabella 10B. Riepilogo delle prestazioni cliniche – NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip: Rilevamento di **Flu B**
(a) flusso di lavoro diretto e (b) flusso di lavoro pretrattato

(a) Flusso di lavoro diretto

Flu B		Risultato test di riferimento approvato FDA/CE		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	29	1	30
	NEG	1	49	50
	Totale	30	50	80
Sensibilità clinica (Flu B) = 96,7% (80,9% – 99,8%)				
Specificità clinica (Flu B) = 98,0% (88,0% – 99,9%)				

(b) Flusso di lavoro pretrattato

Flu B		Risultato test di riferimento approvato FDA/CE		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	29	1	30
	NEG	1	49	50
	Totale	30	50	80
Sensibilità clinica (Flu B) = 96,7% (80,9% – 99,8%)				
Specificità clinica (Flu B) = 98,0% (88,0% – 99,9%)				

Vantage Test Strip

ISTRUZIONI PER L'USO

Tabella 10C. Riepilogo delle prestazioni cliniche – NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip: Rilevamento di **RSV A/B** mediante (a) flusso di lavoro diretto e (b) flusso di lavoro pretrattato

(a) Flusso di lavoro diretto

RSV A/B		Risultato test di riferimento approvato FDA/CE		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	1	31
	NEG	0	49	49
	Totale	30	50	80
Sensibilità clinica (RSV A/B) = 100% (85,9% – 100%)				
Specificità clinica (RSV A/B) = 98,0% (87,9% – 99,9%)				

(b) Flusso di lavoro pretrattato

RSV A/B		Risultato test di riferimento approvato FDA/CE		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	0	30
	NEG	0	50	50
	Totale	30	50	80
Sensibilità clinica (RSV A/B) = 100% (85,9% – 100%)				
Specificità clinica (RSV A/B) = 100% (91,1% – 100%)				

Tabella 10D. Riepilogo delle prestazioni cliniche – NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip: Rilevamento di **SARS-CoV-2** mediante (a) flusso di lavoro diretto e (b) flusso di lavoro pretrattato

(a) Flusso di lavoro diretto

SARS-CoV-2		Risultato test di riferimento approvato FDA/CE		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	1	31
	NEG	0	49	49
	Totale	30	50	80
Sensibilità clinica (SARS-CoV-2) = 100% (85,9% – 100%)				
Specificità clinica (SARS-CoV-2) = 98,0% (87,9% – 99,9%)				

(b) Flusso di lavoro pretrattato

SARS-CoV-2		Risultato test di riferimento approvato FDA/CE		
		POS	NEG	Totale
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	1	31
	NEG	0	49	49
	Totale	30	50	80
Sensibilità clinica (SARS-CoV-2) = 100% (85,9% – 100%)				
Specificità clinica (SARS-CoV-2) = 98,0% (87,9% – 99,9%)				

Vantage Test Strip

ISTRUZIONI PER L'USO

Specificità analitica e reattività crociata

La specificità analitica del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay è stata valutata testando un pannello di 47 organismi, formati da 22 ceppi virali, 24 ceppi batterici e 1 ceppo di lievito, rappresentanti i comuni agenti patogeni respiratori o la flora comunemente presente nelle vie respiratorie. I batteri e i lieviti sono stati testati a concentrazioni di ~6E6 CFU/ml IFU/ml, tranne ove altrimenti annotato. I virus sono stati testati a concentrazioni di 1E5 - 1E6 TCID50/ml o copia/ml, tranne ove altrimenti annotato. La specificità analitica del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay è stata del 100% per Flu A, Flu B, RSV A, RSV B e SARS-CoV-2.

Tabella 11. Risultati specificità analitica

Organismo	Concentrazione	Flu A	Flu B	RSV A	RSV B	SARS-CoV-2
Adenovirus tipo 1	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Adenovirus tipo 7	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Bordetella pertussis I176	10 ng/ml	-	-	-	-	-
Candida albicans	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Chlamydia pneumoniae	6E6 IFU/ml	-	-	-	-	-
Corynebacterium xerosis	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
EBV	1E6 cp/ml	-	-	-	-	-
Escherichia coli	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Hemophilus influenzae	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
HHV 6A	1E6 cp/ml	-	-	-	-	-
HHV 7	1E6 cp/ml	-	-	-	-	-
HHV8	1E6 cp/ml	-	-	-	-	-
HSV1	1E6 cp/ml	-	-	-	-	-
HSV2	1E6 cp/ml	-	-	-	-	-
Coronavirus umano 229E	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Coronavirus umano HKU1	1E6 cp/ml	-	-	-	-	-
Coronavirus umano NL63	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Coronavirus umano OC43	5E3 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Enterovirus umano 68	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Metapneumovirus umano	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Parainfluenza umana tipo 1	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Parainfluenza umana tipo 2	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Parainfluenza umana tipo 3	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Rhinovirus umano tipo 1A	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Lactobacillus acidophilus	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Lactobacillus brevis	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Lactobacillus jensoni	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Lactobacillus lactis	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Legionella pneumophila	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Morbillo	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Coronavirus della MERS EMC/2012	0,5 ng/ml	-	-	-	-	-
Moraxella catarrhalis	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Virus della parotite	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Mycobacterium tuberculosis	10 ng/ml	-	-	-	-	-
Mycoplasma pneumoniae	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Neisseria gonorrhoeae	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Neisseria meningitidis, siero A	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Neisseria meningitidis, siero B	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Neisseria meningitidis, siero C	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Neisseria meningitidis, siero D	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Coronavirus della SARS	1E6 pfu/ml	-	-	-	-	-
Staphylococcus aureus	1E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Staphylococcus epidermidis	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Streptococcus pneumoniae	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Streptococcus pyogenes	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Streptococcus salivarius	6E6 CFU/ml	-	-	-	-	-
Flu A (Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1))	3x LoD	+	-	-	-	-
Flu B, Florida/78/2015 (Yamagata)	3x LoD	-	+	-	-	-
RSV A, A2	3x LoD	-	-	+	-	-
RSV B (WV/14617/85)	3x LoD	-	-	-	+	-
SARS-CoV-2, USA-WA1/2020	3x LoD	-	-	-	-	+
Controllo negativo (nessun patogeno)	N/A	-	-	-	-	-

Sostanze interferenti – Organismi commensali

Il NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay è stato testato per verificare interferenza in presenza di organismi non target (potenzialmente presenti nelle alte vie respiratorie), valutando le prestazioni dell'esame a livelli bassi (~3X LoD) di Flu A, Flu B, RSV A, RSV B e SARS-CoV-2 in presenza di alte concentrazioni degli organismi elencati nella *Tabella 11*, vedi sopra. Non sono state osservate interferenze nel rilevamento di nessuno dei target con nessuno degli organismi commensali.

Sostanze interferenti – endogene/esogene

Il NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay è stato valutato per verificare la suscettibilità all'interferenza causata dalle sostanze potenzialmente associate al prelievo di campioni con tampone nasofaringeo. I campioni clinici residui dei tamponi nasofaringei negativi sono stati arricchiti individualmente con Flu A, Flu B, RSV A, RSV B o SARS-CoV-2 a 3X LoD ed elaborati in presenza e in assenza degli agenti indicati nella *Tabella 12*. Nessuna delle sostanze incluse nei test ha avuto effetti negativi sulle prestazioni dell'esame per nessuno dei target.

Tabella 12. Sostanze testate per l'interferenza

	Sostanza	Descrizione/Principio attivo	Concentrazione*
Esogena	Neo-sinefrina	Fenilefrina	15% v/v
	Afrin spray nasale	Ossimetazolina	15% m/v
	Spray nasale salino	Cloruro di sodio con conservanti	15% v/v
	Zicam spray nasale	Luffa operculata, Galphimia glauca, Histaminum hydrochloricum, zolfo	15% v/v
	Corticosteroide nasale – Flonase	Fluticasone	5% v/v
	Corticosteroide nasale – Rhinocort	Budesonide	5% v/v
	Corticosteroide nasale – Nasacort	Triamcinolone	5% v/v
	Corticosteroide nasale – Desametasone	Desametasone	10 mg/ml
	Corticosteroide nasale – Mometasone	Mometasone	10 mg/ml
	Corticosteroide nasale – Beclometasone	Beclometasone	10 mg/ml
	Pastiglia per la gola Chloraseptic	Benzocaina, mentolo	2 mg/ml
	Antibiotico, pomata nasale	Mupirocina	10 mg/ml
	Relenza farmaco antivirale	Zanamivir	7,5 mg/ml
	Tamiflu farmaco antivirale	Oseltamivir	25 mg/ml
	Antibiotico, sistemico	Tobramicina	1,5 mg/ml
Endogena	Mucina	Mucina purificata	2,5% m/v
	Sangue umano	Sangue	2% v/v

*Nota: Le concentrazioni mostrate sono quelle utilizzate per saturare i tamponi prima di dosare i campioni clinici artificiali positivi con la sostanza interferente. Pertanto sono rappresentative del livello nel sito di prelievo del tampone che è possibile tollerare.

BIBLIOGRAFIA

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

MARCHI COMMERCIALI

BD™ è un marchio commerciale di Becton, Dickinson and Company

Bio VTM™ è un marchio registrato di Biologos LLC.

Hamilton® è un marchio commerciale registrato di Hamilton Company















Minitip Nylon® Flocked Swab è un marchio commerciale registrato di Copan Diagnostics, Inc.

NeuMoDx™ e NeuDry™ sono marchi commerciali di NeuMoDx Molecular, Inc. TaqMan® è un marchio commerciale registrato di Roche Molecular Systems, Inc.

UTM-RT® è un marchio commerciale registrato di Copan Diagnostics, Inc.

Tutti gli altri nomi di prodotto, i marchi commerciali e i marchi commerciali registrati che possono apparire in questo documento sono di proprietà dei rispettivi proprietari.

LEGENDA DEI SIMBOLI

 Solo su prescrizione medica	 Limite di temperatura
 Produttore	 Non riutilizzare
 Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	 Contenuto sufficiente per <n> test
 Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea	 Consultare le istruzioni per l'uso
 Numero di catalogo	 Attenzione
 Codice lotto	 Rischio biologico
 Data di scadenza	 Marchio CE



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

+1 888 301 NMDX (6639)
support@qiagen.com

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



Segnalazione di vigilanza: support@qiagen.com

Brevetto: www.neumodx.com/patents