

REF 300800 NeuMoDx™ SARS-CoV-2 Test Strip

R only

OPREZ: samo za izvoz u SAD

IVD Za *in vitro* dijagnostičku uporabu sa sustavima NeuMoDx 288 i NeuMoDx 96 Molecular System*Za ažurirane upute posjetite stranicu: www.qiagen.com/neumodx-ifu**Detaljnije upute potražite u korisničkom priručniku za sustav NeuMoDx 288 Molecular System; br. dijela 40600108**Detaljnije upute potražite u korisničkom priručniku za sustav NeuMoDx 96 Molecular System; br. dijela 40600317**Detaljnije upute potražite u uputama za upotrebu kompleta NeuMoDx Saliva Collection Kit; br. dijela 40600441*

NAMJENA

Ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay koji se provodi na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System i sustavu NeuMoDx 96 Molecular System (sustav(i) NeuMoDx Molecular System) jest RT-PCR dijagnostički test u stvarnom vremenu namijenjen za kvalitativnu detekciju RNK koronavirusa SARS-CoV-2 u nazalnim, nazofaringealnim i orofaringealnim brisovima u transportnom mediju te ispitcima bronhoalveolarne lavaže (BAL) pojedinaca za koje zdravstveni djelatnik sumnja da boluju od bolesti COVID-19.

Ovaj test također se upotrebljava za ispitke sline koji su prikupljeni od pojedinaca u bolničkom okruženju kompletom NeuMoDx Saliva Collection Kit kada je zdravstveni djelatnik utvrdio da je to potrebno.

Rezultati služe za identifikaciju RNK virusa SARS-CoV-2. RNK virusa SARS-CoV-2 obično se može detektirati u ispitcima respiratornog trakta tijekom akutne faze infekcije. Pozitivni rezultati pokazatelji su prisutnosti RNK virusa SARS-CoV-2. Klinička korelacija s anamnezom pacijenta i drugim dijagnostičkim informacijama nužna je za određivanje statusa infekcije pacijenta. Pozitivni rezultati ne isključuju bakterijsku infekciju niti koinfekciju drugim virusima. Laboratoriji u SAD-u i njegovim teritorijima dužni su sve pozitivne rezultate prijaviti odgovarajućim nadležnim tijelima javnog zdravstva.

Negativni rezultati ne isključuju infekciju virusom SARS-CoV-2 i ne smiju se upotrebljavati kao jedina osnova za odluke o zbrinjavanju pacijenta. Negativni rezultati moraju se kombinirati s kliničkim opažanjima, anamnezom pacijenta i epidemiološkim informacijama. Negativni rezultati za RNK virusa SARS-CoV-2 u slini trebaju se potvrditi ispitivanjem alternative vrste ispitka ako je to klinički indicirano.

Ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay namijenjeno je za uporabu od strane obučenog osoblja kliničkog laboratorija koje je posebno obučeno i osposobljeno za tehnike PCR-a u stvarnom vremenu i *in vitro* dijagnostičke postupke.

SAŽETAK I OBJAŠNENJE

Nazofaringealni, orofaringealni ili nazalni brisovi prikupljaju su u Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) System ili BD™ Universal Viral Transport System (UVT). Kako bi se pripremila za testiranje, primarna epruveta za prikupljanje (bez brisa i čepa), čisti alikvot uzorka u mediju ili alikvot transportnog medija prethodno obrađenog puferom NeuMoDx Viral Lysis Buffer u sekundarnoj epruveti za ispitak označava se crtičnim kodom i postavlja na sustav NeuMoDx System u predviđeni nosač epruveta za ispitke, nakon čega se obrada automatski pokreće. Za svaki ispitak sustav NeuMoDx System aspirira 400 µl alikvota i miješa s puferom NeuMoDx Lysis Buffer 3 (izravni uzorci) ili puferom NeuMoDx Lysis Buffer 2 (prethodno obrađeni uzorci).

Ispitci sline prikupljaju se u komplet NeuMoDx Saliva Collection kit u skladu s uputama za upotrebu (br. dijela 40600441). Kako bi se pripremila za testiranje, prikupljena slina prenosi se iz bočice NeuMoDx Saliva collection vial u epruvetu NeuMoDx Specimen Stabilization Tube pipetom za prijenos kako bi se utvrdio omjer 1:1,67 slina/SSB (v/v). Slina i pufer za stabilizaciju temeljito se miješaju preokretanjem bočice 5–8 puta. Stabilizirana slina može se testirati izravno na sustavu NeuMoDx System ili pohraniti za naknadno testiranje.

Sustav NeuMoDx System automatski izvodi sve korake potrebne za ekstrakciju ciljne nukleinske kiseline, pripremu izolirane RNK za lančanu reakciju polimerazom s reverznom transkripcijom u stvarnom vremenu (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) i, ako su prisutni, amplifikaciju i detekciju produkata amplifikacije: gena nestrukturnog proteina 2 (non-structural protein 2, Nsp2) i N gena genoma virusa SARS-CoV-2. Ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay uključuje kontrolu obrade uzorka (Sample Process Control, SPC2) RNK za pomoć s praćenjem prisutnosti potencijalno inhibirajućih tvari te pogrešaka sustava NeuMoDx System ili reagensa koje se mogu dogoditi tijekom postupka ekstrakcije i amplifikacije.

NAČELA POSTUPKA

Ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay kombinira automatiziranu ekstrakciju RNK i amplifikaciju/detekciju izvođenjem RT-PCR-a u stvarnom vremenu. Nazofaringealni, orofaringealni ili nazalni brisovi prikupljaju su u Copan UTM-RT System ili BD UVT System. Ispitci sline prikupljaju se u komplet NeuMoDx Saliva Collection Kit. Dostupna su dva radna tijeka za pripremu ispitaka brisova pomoću ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. Izravni tijek rada omogućuje postavljanje epruvete za prikupljanje brisa ili alikvota transportnog medija u sekundarnoj epruveti na sustav NeuMoDx System za obradu bez dodatne intervencije. Osim toga, uzorak brisa u mediju prethodno je obrađen puferom NeuMoDx Viral Lysis Buffer prije stavljanja na sustav NeuMoDx System radi obrade. Što se tiče ispitka sline, primarnu epruvetu za stabilizaciju ispitka koja sadrži stabiliziranu slinu korisnik postavlja izravno na sustav NeuMoDx System. Sustav NeuMoDx System automatski započinje obradu aspiriranjem alikvota matrice uzorka brisa ili stabilizirane sline i miješa ga s puferom NeuMoDx Lysis Buffer i reagensima sadržanim u pločici NeuMoDx Extraction Plate. Sustav NeuMoDx System automatizira i integrira ekstrakciju i koncentraciju RNK, pripremu reagensa za PCR i amplifikaciju/detekciju nukleinske kiseline ciljnih sekvenci primjenom RT-PCR-a u stvarnom vremenu. Uključena kontrola obrade uzorka (Sample Process Control, SPC2) pomaže u praćenju prisutnosti inhibirajućih tvari i grešaka sustava, postupka ili reagensa. Jednom kada je ispitak postavljen na sustav NeuMoDx System, intervencija korisnika nije potrebna.

Za automatsko provođenje lize i ekstrakcije RNK te za uklanjanje inhibitora sustav NeuMoDx System služi se kombinacijom topline, litičkog enzima i ekstrakcijskih reagensa primjenom zasebno dostupnih reagensa NeuMoDx. Paramagnetske čestice hvataju oslobođene nukleinske kiseline. Čestice s vezanom nukleinskom kiselinom postavljaju se u uložak NeuMoDx Cartridge gdje se nevezani elementi ispiru s pomoću reagensa NeuMoDx Wash Reagent. Vezana RNK zatim se eluira s pomoću reagensa NeuMoDx Release Reagent. U sustavu NeuMoDx System eluirana RNK zatim se upotrebljava za rehidraciju patentirane NeuDry™ RT-PCR mješavine za amplifikaciju koja sadrže sve elemente neophodne za amplifikaciju ciljnih sekvenci specifičnih za SARS-CoV-2 i SPC2. To omogućava istovremenu amplifikaciju i detekciju ciljnih sekvenci i SPC2 u jednoj reakciji. Nakon rekonstitucije suhih reagensa za RT-PCR, sustav NeuMoDx System pipetira pripremljenu mješavinu za RT-PCR u jednu PCR komoru (po ispitku) uložka NeuMoDx Cartridge. Reverzna transkripcija, amplifikacija i detekcija kontrolnih i ciljnih sekvenci (ako su prisutne) odvija se u PCR komori. Uložak NeuMoDx Cartridge osmišljen je da zadrži amplikon nakon RT-PCR-a i na taj način praktički ukloni rizik od kontaminacije nakon amplifikacije.

Amplificirane ciljne sekvence detektirane su u stvarnom vremenu s pomoću kemijskog protokola na temelju proba za hidrolizu (obično se naziva TaqMan® kemijski protokol) u kojem se upotrebljavaju fluorogene oligonukleotidne molekularne probe specifične za amplikone odgovarajućih ciljnih sekvenci. TaqMan probe sastoj se od fluorokroma kovalentno vezanog na 5' kraj oligonukleotidne probe i prigušivača na 3' kraju. Dok je proba netaknuta, fluorokrom i prigušivač nalaze se u blizini, zbog čega molekula prigušivača suzbija fluorescenciju koju fluorokrom emitira putem Försterova prijenosa rezonantne energije (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

TaqMan probe osmišljene su za sparivanje unutar regije DNK amplificirane određenim kompletom početnica. Kako DNK polimeraza Taq proizvodi početnicu i sintetizira novi lanac, 5' do 3' egzonukleazna aktivnost DNK polimeraze Taq degradira probu sparnu s predloškom. Degradacijom probe oslobađa se fluorokrom i prekida se njegova blizina prigušivaču, čime se zbog FRET-a prevladava učinak prigušivanja i omogućava detekcija fluorokroma. Dobiveni fluorescentni signal detektiran u kvantitativnom RT-PCR termocikleru sustava NeuMoDx System izravno je proporcionalan oslobođenom fluorokromu i može se korelirati s količinom prisutne ciljne sekvence. Proba TaqMan obilježena FAM fluorokromom (470/510 nm) upotrebljava se za detekciju regije Nsp2 genoma virusa SARS-CoV-2, a Proba TaqMan obilježena HEX fluorokromom (530/555 nm) upotrebljava se za detekciju N gena genoma virusa SARS-CoV-2. Za detekciju SPC2, proba TaqMan označena je fluorokromom Far-Red (Tamno crveno) (680/715 nm). Softver sustava NeuMoDx System prati fluorescentni signal koji emitiraju TaqMan probe na kraju svakog ciklusa amplifikacije. Kada amplifikacija završi, softver sustava NeuMoDx System analizira podatke i izvještava rezultat (POSITIVE (POZITIVNO) / NEGATIVE (NEGATIVNO) / INDETERMINATE (NEODREĐENO) / NO RESULTS (NEMA REZULTATA) / UNRESOLVED (NERAZRIJEŠENO)).

REAGENSI / POTROŠNI MATERIJAL

Isporučeni materijal

REF.	Sadržaj	Testova po jedinici	Testova po pakiranju
300800	Testna traka NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip <i>Suhi reagensi za RT-PCR koji sadrže TaqMan probe i početnice specifične za SARS-CoV-2 te TaqMan probu i početnice specifične za SPC2</i>	16	96

Dodatni materijali koji su potrebni, ali nisu isporučeni (mogu se naručiti zasebno od tvrtke NeuMoDx)

REF.	Sadržaj
100100	Uložak NeuMoDx Cartridge
100200	Pločica NeuMoDx Extraction Plate
400100	Reagens NeuMoDx Wash Reagent
400200	Reagens NeuMoDx Release Reagent
400500 (Opcionalno*)	Pufer NeuMoDx Lysis Buffer 2
400600**	Pufer NeuMoDx Lysis Buffer 3
401600 (opcionally*)	Pufer NeuMoDx Viral Lysis Buffer
235903	Vršci s filtrima (300 µl) Hamilton CO-RE / CO-RE II
235905	Vršci s filtrima (1000 µl) Hamilton CO-RE / CO-RE II

*Potrebno samo ako za liziranje izvan sustava želite provesti korak prethodne obrade prije postavljanja uzoraka na sustav. Pogledajte odjeljak „Upute za upotrebu.“

**Potrebno samo za izravnu obradu čistih uzoraka. Pogledajte odjeljak „Upute za upotrebu“ u nastavku.

Bris i transportni medij (nisu isporučeni)

Vrsta uzorka	Proizvodi za uzimanje brisa	Preporučeni proizvod za uzimanje brisa	Preporučeni bris
Nazofaringealni bris	Plastični aplikator sa sterilnim ispredenim rejonom i poliesterskim brisovima i brisovima s najlonskim vlaknima prikupljeni u UTM®: Universal Transport Medium (Copan Diagnostic Inc, CA) ili UVT BD Universal Viral Transport System (UVT) (BD, NJ)	3 ml / 1 ml Universal Transport Medium (Copan UTM-RT) ili Universal Viral Transport System (BD UVT)	Flexible Minitip Size Nylon® Flocked Swab (Copan) ili Flexible minitip flocked swab (BD)
Orofaringealni bris			
Nazalni bris			

Materijal za prikupljanje sline (mogu se naručiti zasebno od tvrtke NeuMoDx)

REF.	Sadržaj
100500	Komplet NeuMoDx Saliva Collection Kit Sadrži (1) bočicu NeuMoDx Saliva Collection Vial, (1) epruvetu NeuMoDx Specimen Stabilization Tube s 1 ml pufera NeuMoDx saliva stabilizacija buffer i (1) jednokratnu pipetu za prijenos (dovoljno za prikupljanje jednog uzorka po kompletu; detalje potražite u uputama za upotrebu; br. dijela P/N 40600441)

Potrebni instrumenti

Sustav NeuMoDx 288 Molecular System [REF. 500100] ili sustav NeuMoDx 96 Molecular System [REF. 500200].


UPOZORENJA I MJERE OPREZA

- Ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay namijenjeno je samo za *in vitro* dijagnostičku uporabu sa sustavima NeuMoDx Systems.
- Za uporabu samo uz recept.
- Nije za ponovnu uporabu
- Ispitivanje se uvijek treba rukovati kao da su infektivni te u skladu sa sigurnim laboratorijskim postupcima poput onih opisanih u Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories¹ te u dokumentu M29-A4 instituta CLSI.²
- Radni učinak ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay ograničen je na osoblje obučeno za uporabu sustava NeuMoDx System i rukovanje infektivnim materijalom.
- Kod testiranja ispitaka sline, ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay namijenjeno je za uporabu samo s kompletom NeuMoDx Saliva Collection kit.
- Ne upotrebljavajte reagens ili potrošni materijal nakon navedenog datuma isteka roka trajanja.
- Ne upotrebljavajte reagens ako je zaštitna folija potrgana ili ako je pakiranje oštećeno po dolasku.
- Ne upotrebljavajte potrošni materijal ili reagens ako je zaštitna vrećica otvorena ili oštećena pri dolasku.

- Minimalni volumen ispitka sekundarnih alikvota ovisi o veličini epruvete / nosaču epruveta za ispitke kako je navedeno u nastavku. Volumen manji od navedenog minimuma može rezultirati pogreškom „Quantity Not Sufficient” (Nedovoljna količina).
- Uporaba ispitaka koji su se čuvali pri neprikladnim temperaturama ili dulje od navedenog vremena pohrane može dati nevažne ili pogrešne rezultate.
- Izbjegavajte kontaminaciju svih reagensa i potrošnog materijala mikroorganizmima i ribonukleazama (RNaza). Prilikom uporabe sekundarnih epruveta preporučuje se uporaba sterilnih jednokratnih pipeta za prijenos s barijerama za aerosoli bez RNaze. Za svaki ispitak upotrebljavajte novu pipetu.
- Kako biste izbjegli kontaminaciju, ne rukujte uloškom NeuMoDx Cartridge i ne rastavljajte ga nakon amplifikacije. Nemojte vaditi uloške NeuMoDx Cartridges iz spremnika za biološki opasan otpad (NeuMoDx 288 Molecular System) ili koša za biološki otpad (NeuMoDx 96 Molecular System) ni u kojem slučaju. Uložak NeuMoDx Cartridge osmišljen je za sprječavanje kontaminacije.
- U slučajevima kada se u laboratoriju provode PCR testovi na otvorenim epruvetama, potreban je oprez kako ne bi došlo do kontaminacije testne trake NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip, dodatnog potrošnog materijala i reagensa potrebnih za testiranje, osobne zaštitne opreme poput rukavica i laboratorijskih kuta te sustava NeuMoDx System.
- Pri rukovanju reagensima i potrošnim materijalom NeuMoDx potrebno je nositi čiste nitrilne rukavice bez pudera. Pazite da ne dodirujete gornju površinu uloška NeuMoDx Cartridge, površinu folije testne trake NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip ili ekstrakcijske pločice NeuMoDx Extraction Plate ili gornju površinu spremnika pufera NeuMoDx Lysis Buffer; pri rukovanju potrošnim materijalom i reagensima smiju se dodirivati samo bočne površine.
- Sigurnosno-tehnički listovi (Safety Data Sheets, SDS) dostupni su na www.qiagen.com/neumodx-ifu
- Nakon izvođenja testa temeljito operite ruke.
- Ne pipetirajte ustima. Ne pušite, ne konzumirajte hranu i piće u područjima u kojima se rukuje ispitcima ili reagensima.
- Odložite nekorištene reagense i otpad u skladu s državnim, saveznim, pokrajinskim i lokalnim propisima.
- Instrumenti i postupci ispitivanja smanjuju rizik od kontaminacije produktom amplifikacije. Međutim, kontaminaciju nukleinskom kiselinom iz pozitivnih kontrola ili ispitaka potrebno je kontrolirati dobrim laboratorijskim praksama.
- Preporučuje se dobra laboratorijska praksa, uključujući mijenjanje rukavica između rukovanja ispitcima pacijenata, kako bi se izbjegla kontaminacija.



POHRANA, RUKOVANJE I STABILNOST PROIZVODA

- Testne trake NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strips stabilne su u primarnom pakiranju do datuma isteka roka trajanja navedenog na oznaci proizvoda kada se čuvaju na temperaturi od 4 do 28 °C.
- Ne upotrebljavajte potrošni materijal i reagense nakon datuma isteka roka trajanja.
- Ne upotrebljavajte bilo koji proizvod za testiranje ako je primarno ili sekundarno pakiranje vidljivo oštećeno.
- Nemojte ponovno postavljati nikakve proizvode za testiranje koji su prethodno bili postavljeni na drugi sustav NeuMoDx System.
- Nakon postavljanja testna traka NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip može ostati na sustavu NeuMoDx System 7 dana. Softver prati preostali uporabni vijek postavljenih testnih traka i obavještava korisnika u stvarnom vremenu. Sustav će zatražiti uklanjanje testne trake koja se upotrebljava dulje od dopuštenog razdoblja.

PRIKUPLJANJE, PRIJEVOZ I POHRANA ISPITAKA

Rukujte svim ispitcima kao da mogu prenijeti infektivne agense.

Nazofaringealni i nazalni ispitci

Ispitci se trebaju prikupiti s pomoću sustava Copan UTM-RT System ili BD UVT System primjenom odobrenih brisova s najlonskim vlaknima (pogledajte materijal koji nije isporučen). Osim toga, prihvatljive vrste brisova su brisovi s vlaknima, poliesterski brisovi i brisovi s rejonom. Za prikupljanje, prijevoz i pohranu slijedite upute proizvođača isporučene uz upute za upotrebu sustava Copan UTM-RT System / BD UVT System:

- Nakon prikupljanja ispitke je potrebno čuvati na temperaturi od 2 – 25 °C i obraditi u roku od 48 sati.
- Ako dopremanje i obrada premašuju 48 sati, ispitci se trebaju prevoziti na suhom ledu, a po primitku u laboratorij zamrznuti na temperaturi od -70 °C ili nižoj.

Ispitci sline

Detaljnije upute potražite u kompletu NeuMoDx Saliva Collection Kit; br. dijela 40600441

Ispitci se trebaju prikupljati s pomoću kompleta NeuMoDx Saliva Collection Kit. Prikupljena slina prenosi se iz bočice NeuMoDx Saliva collection vial u epruvetu NeuMoDx Specimen Stabilization Tube pipetom za prijenos kako bi se utvrdio omjer 1:1,67 slina/SSB (v/v). Slina i pufer za stabilizaciju temeljito se miješaju preokretanjem bočice 5 – 8 puta. Stabilizirana slina može se testirati izravno na sustavu NeuMoDx System ili pohraniti za naknadno testiranje.

- Ispitci sline mogu se pohraniti do 2 sata u uvjetima okoline prije miješanja s puferom NeuMoDx Stabilization Buffer (SSB).
- Nakon miješanja sline s puferom za stabilizaciju provjerite volumen epruvete za stabilizaciju ispitka. Ako je ukupni volumen ispod linije razine punjenja, dodajte vodu stupnja čistoće za molekularne testove kako biste ukupni volumen napunili do linije razine punjenja.
- Stabilizirana slina može se pohraniti do 24 sata u uvjetima okoline i do 7 dana na temperaturi od 2 – 8 °C. Pustite da ispitci dosegnu sobnu temperaturu prije testiranja.

- Stabilizirana slina može biti pohranjena na sustavima NeuMoDx Molecular Systems 12 sati.
- Stabilizirana slina treba se prevoziti na paketima leda i zatim čuvati u hladnjaku na temperaturi od 2 – 8 °C ako vrijeme između prikupljanja i obrade premašuje 48 sati.

UPUTE ZA UPOTREBU

Ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay pruža dva različita tijeka rada, ovisno o željama korisnika/laboratorija:

Tijek rada 1: IZRAVNO – ispitak brisa u transportnom mediju i slina u puferu za stabilizaciju postavljaju se izravno na sustav NeuMoDx System u primarnoj epruveti za prikupljanje ili sekundarnim epruvetama za ispitke

-ili-

Tijek rada 2: PRETHODNO OBRAĐENO – ispitak brisa u transportnom mediju prethodno se obrađuje puferom NeuMoDx Viral Lysis Buffer prije postavljanja na sustav NeuMoDx System u primarnoj epruveti za prikupljanje ili sekundarnim epruvetama za ispitke

Priprema testa – tijek rada IZRAVNO za izravne uzorke brisa i sline

Napomena: pobrinite se da svi uzorci dosegnu sobnu temperaturu (15 do 30 °C) prije obrade.

1. Nalijepite naljepnicu s crtičnim kodom za ispitak na epruvetu za ispitak kompatibilnu sa sustavom NeuMoDx System, kako je opisano u koracima 4 i 5 u nastavku.
2. Ako ispitak testirate u primarnoj epruveti za prikupljanje (ispitci brisa) ili epruveti za stabilizaciju ispitka (ispitci sline), postavite epruvetu označenu crtičnim kodom u nosač epruveta za ispitke i pobrinite se da uklonite čep i/ili štapić za bris prije postavljanja na sustav NeuMoDx System.
3. Alternativno, alikvot transportnog medija ili stabilizirane sline mogu se prenijeti u sekundarnu epruvetu s crtičnim kodom i postaviti na nosač epruveta za ispitke za 32 epruvete. Ako upotrebljavate sekundarnu epruvetu, prenesite alikvot transportnog medija ili stabiliziranu slinu u epruvetu za ispitak s crtičnim kodom kompatibilnu sa sustavom NeuMoDx System u skladu s volumenima definiranim u nastavku:
4. *Za ispitke brisa:*
 - Nosač epruveta za ispitke (32 epruvete): promjera 11 – 14 mm i visine 60 – 120 mm; minimalni volumen punjenja ≥ 550 µl
 - Nosač epruveta za ispitke (24 epruvete): promjera 14,5 – 18 mm i visine 60 – 120 mm; minimalni volumen punjenja ≥ 1000 µl
 - Nosač epruveta za ispitke malog volumena (32 epruvete): epruveta od 1,5 ml za mikrocentrifugu sa stožastim dnom, minimalni volumen punjenja ≥ 500 µl.
5. *Za ispitke stabilizirane sline:*
 - Nosač epruveta za ispitke (32 epruvete): promjera 11 – 14 mm i visine 60 – 120 mm; minimalni volumen punjenja ≥ 800 µl
 - Nosač epruveta za ispitke malog volumena (32 epruvete): epruveta od 1,5 ml za mikrocentrifugu sa stožastim dnom, minimalni volumen punjenja ≥ 700 µl.

Priprema testa – tijek rada PRETHODNO OBRAĐENO za prethodno obrađene uzorke brisa

Napomena: pobrinite se da svi uzorci dosegnu sobnu temperaturu (15 do 30 °C) prije obrade.

UPOZORENJE: prethodna obrada uzoraka brisa puferom NeuMoDx Viral Lysis Buffer ne jamči inaktivaciju prisutnog virusa. Svim je uzorcima potrebno rukovati kao da mogu prenijeti infektivne agense.

1. Uzorak u transportnom mediju prethodno obradite volumenom pufera NeuMoDx Viral Lysis Buffer u omjeru 1:1. To možete učiniti u primarnoj epruveti za prikupljanje brisa ako vam je volumen transportnog medija poznat. Alternativno, prethodna obrada može se provesti u sekundarnoj epruveti kombiniranjem alikvota transportnog medija s jednakim volumenom pufera NeuMoDx Viral Lysis Buffer. Dobivena smjesa treba ispunjavati minimalne zahtjeve za volumen navedene u nastavku.
2. Nježno promiješajte pipetom kako biste osigurali jednaku raspodjelu pufera NeuMoDx Viral Lysis Buffer.
3. Ako ispitak testirate u primarnoj epruveti za prikupljanje, postavite epruvetu označenu crtičnim kodom u nosač epruveta za ispitke i pobrinite se da uklonite čep i štapić za bris prije postavljanja na sustav NeuMoDx System.
4. Ako upotrebljavate sekundarnu epruvetu, prenesite alikvot lizata transportnog medija u epruvetu za ispitak s crtičnim kodom kompatibilnu sa sustavom NeuMoDx System u skladu s volumenima definiranim u nastavku:
 - Nosač epruveta za ispitke (32 epruvete): promjera 11 – 14 mm i visine 60 – 120 mm; minimalni volumen punjenja ≥ 550 µl
 - Nosač epruveta za ispitke (24 epruvete): promjera 14,5 – 18 mm i visine 60 – 120 mm; minimalni volumen punjenja ≥ 1000 µl
 - Nosač epruveta za ispitke malog volumena (32 epruvete): epruveta od 1,5 ml za mikrocentrifugu sa stožastim dnom, minimalni volumen punjenja ≥ 500 µl.

Rad sustava NeuMoDx System

Detaljnije upute potražite u korisničkim priručnicima za sustave NeuMoDx 288 i 96 Molecular System.

- Učitajte nalog za test u sustav NeuMoDx System u skladu s tijekom rada koji se upotrebljava za pripremu testa:
 - Neobrađeni čisti uzorci brisa pripremljeni primjenom tijeka rada IZRAVNI testiraju se definiranjem uzorka kao „**Transport Medium**” (Transportni medij)
 - Uzorci brisa prethodno obrađeni tijekom rada PRETHODNO OBRADENO testiraju se definiranjem ispitka kao „**UserSpecified1**” (KorisničkiDefinirano1)
 - Stabilizirana slina obrađena tijekom rada IZRAVNO testira se definiranjem ispitka kao „**UserSpecified2**” (KorisničkiDefinirano2)
- Popunite jedan ili više nosača Test Strip Carrier(s) testnim trakama NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip(s) i s pomoću zaslona osjetljivog na dodir postavite nosač(e) testnih traka u sustav NeuMoDx System.
- Ako vas softver sustava NeuMoDx System to zatraži, u nosače potrošnog materijala sustava NeuMoDx System dodajte potreban potrošni materijal (uloži NeuMoDx Cartridges, pločice NeuMoDx Extraction Plates, pufer NeuMoDx Lysis Buffer 2, pufer NeuMoDx Lysis Buffer 3, vršci CO-RE) i prema potrebi s pomoću zaslona osjetljivog na dodir postavite nosač/e u sustav NeuMoDx System.
- Ako vas softver sustava NeuMoDx System to zatraži, zamijenite reagens NeuMoDx Wash Reagent i/ili NeuMoDx Release Reagent prema potrebi.
- Ako vas softver sustava NeuMoDx System to zatraži, prema potrebi ispraznite otpad od ispiranja, spremnik za biološki opasan otpad (samo za sustav NeuMoDx 288 Molecular System), koš za otpad za vrške (samo za sustav NeuMoDx 96 Molecular System) ili koš za biološki otpad (samo za sustav NeuMoDx 96 Molecular System).
- Postavite ispitak/ispitke u nosač epruveta za ispitke i pobrinite se da uklonite čepove sa svih epruveta.
- Postavite nosač(e) epruveta za ispitke na policu za automatsko postavljanje i s pomoću zaslona osjetljivog na dodir postavite nosač(e) u sustav NeuMoDx System. To će pokrenuti obradu postavljenih ispitaka za identificirane testove ako u sustavu postoji valjani nalog za test.

OGRANIČENJA

- Ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay odobreno je za uporabu samo na sustavima NeuMoDx Molecular Systems.
- Ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay osmišljeno je za detekciju RNK virusa SARS-CoV-2 u uzorcima nazofaringealnih, orofaringealnih i nazalnih brisova prikupljenim s pomoću sustava Copan UTM-RT System (UTM-RT) ili BD Universal Viral Transport System (UVT) ili uzorcima slina prikupljenim s pomoću kompleta NeuMoDx Saliva Collection Kit. Uporaba ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay s drugim vrstama uzoraka nije procijenjena i radne značajke nisu poznate.
- Pouzdana rezultati ovise o propisnom prikupljanju, rukovanju i skladištenju ispitaka.
- Nazalni brisovi i brisovi srednje nosne školjke te ispitci bronhoalveolarne lavaže smatraju se prihvatljivim vrstama ispitaka za uporabu s testom NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, no radni učinak s tim vrstama ispitaka nije utvrđen. Testiranje nazalnih brisova i brisova srednje nosne školjke (samostalno prikupljenih pod nadzorom liječnika ili prikupljenih od strane liječnika) ograničeno je na pacijente sa simptomima bolesti COVID-19.
- Kod testiranja ispitaka slina, ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay namijenjeno je za uporabu samo s kompletom NeuMoDx Saliva Collection kit.
- Pogrešni rezultati javljaju se zbog nepropisnog prikupljanja, rukovanja i pohrane ispitaka, tehničke pogreške ili zamjene epruveta za ispitke. Neispravan volumen slina u epruveti za stabilizaciju ispitka može smanjiti osjetljivost testa. Dodatno, lažno negativni rezultati javljaju se jer je broj virusnih čestica u uzorku niži od granice detekcije ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay.
- Ako ne dođe do amplifikacije ciljnih sekvenci virusa SARS-CoV-2 i ciljne sekvence SPC2, prijavljuje se nevažeci rezultat (Indeterminate (Neodređeno), No Results (Nema rezultata) ili Unresolved (Nerazriješeno)) te je potrebno ponoviti test.
- Delecije ili mutacije u regijama koje su ciljane ispitivanjem NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay mogu utjecati na detekciju i mogu dovesti do pogrešnih rezultata.
- Prisutnost zubne paste Crest® Pro-Health Advanced Gum Protection u ispitcima slina može potencijalno interferirati s detekcijom RNK virusa SARS-CoV-2 te dovesti do pogrešnih rezultata.
- Pozitivan rezultat pokazatelj je prisutnosti RNK virusa SARS-CoV-2, ali ne naznačava nužno prisutnost infektivnog virusa SARS-CoV-2.
- Negativni rezultati ne isključuju infekciju virusom SARS-CoV-2 i ne smiju se upotrebljavati kao jedina osnova za odluke o liječenju/zbrinjavanju pacijenta ili odluke o javnom zdravstvu.
- Rezultati ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay trebaju se upotrebljavati kao dodatak kliničkim opažanjima i ostalim informacijama koje su liječniku dostupne.
- Preporučuje se dobra laboratorijska praksa, uključujući mijenjanje rukavica između rukovanja ispitcima pacijenata, kako bi se izbjegla kontaminacija.

REZULTATI

Dostupni rezultati testa mogu se pregledavati ili ispisivati s kartice „Results” (Rezultati) u prozoru Results (Rezultati) na zaslonu osjetljivom na dodir sustava NeuMoDx System. Rezultat testa prijavljuje se kao Positive (POS) (Pozitivno), Negative (NEG) (Negativno), Indeterminate (IND) (Neodređeno), No Results (NR) (Nema rezultata) ili Unresolved (UNR) (Nerazriješeno) na temelju statusa amplifikacije ciljne sekvence i kontrole obrade uzorka (Sample Process Control, SPC2).

Kriteriji za pozitivno ili negativno prijavljivanje navedeni su u datoteci definicije ispitivanja (Assay Definition File, ADF) za NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay instaliranoj na sustavu NeuMoDx System. Rezultati za ispitke brisa i slina prijavljuju se na temelju algoritma odlučivanja u ADF-u, koji je sažet u tablici 1 i 2 u nastavku.

Sve kontrole za test trebaju se ispitati prije tumačenja rezultata pacijenta. Ako kontrole nisu valjane, rezultati pacijenta ne mogu se protumačiti.

Tablica 1. Tumačenje rezultata ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

SVEUKUPNI REZULTAT	CILJNA SEKVENCA 1 (gen Nsp2) FAM	CILJNA SEKVENCA 2 (N gen) HEX	KONTROLA OBRADE (SPC2) Far Red (Tamno crveno)	Tumačenje
POSITIVE (POZITIVNO)	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO) [5 ≤ Ct < 20 AND (I) EPR ≥ 1,2 AND (I) EP ≥ 700] OR (ILI) (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (I) EP ≥ 700)	N/P	N/P	RNK virusa SARS-CoV-2 detektirana**
	N/P	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO) (5 ≤ Ct < 20 AND (I) EPR ≥ 1,5) AND (I) EP ≥ 1000] OR (ILI) (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (I) EP > 1000)		
NEGATIVE (NEGATIVNO)	NOT AMPLIFIED (NIJE AMPLIFICIRANO) N/P OR (ILI) (5 ≤ Ct < 20 AND (I) EPR < 1,2) OR (ILI) (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (I) EP < 700) OR (ILI) (Ct > 40)	NOT AMPLIFIED (NIJE AMPLIFICIRANO) N/P OR (ILI) (5 ≤ Ct < 20 AND (I) EPR < 1,5) OR (ILI) (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (I) EP < 1000) OR (ILI) (Ct > 40)	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO) (24 ≤ Ct ≤ 33 AND (I) EP ≥ 1000)	RNk virusa SARS-CoV-2 nije detektirana
IND* (NEODREĐENO)	NOT AMPLIFIED / System Errors Noted, Sample Processing Completed (NIJE AMPLIFICIRANO / Uočene pogreške sustava, Obrada uzorka završena)			Svi rezultati ciljne sekvence bili su nevažeći; ponovno testirajte uzorak
NR*	NOT AMPLIFIED / System Errors Noted, Sample Processing Aborted (NIJE AMPLIFICIRANO / Uočene pogreške sustava, Obrada uzorka prekinuta)			Obrada uzorka je prekinuta; ponovno testirajte uzorak
UNR* (NERAZRIJEŠENO)	NOT AMPLIFIED / No System Errors Noted (NIJE AMPLIFICIRANO / Nema uočenih pogrešaka sustava)			Svi rezultati ciljne sekvence bili su nevažeći; ponovno testirajte uzorak

*Sustav je opremljen automatskom opcijom Rerun (Ponovna obrada) / Repeat (Ponavljanje testa) koju krajnji korisnik može odabrati kako bi osigurao da se rezultat IND (Neodređeno)/NR (Nema rezultata)/UNR (Nerazriješeno) automatski ponovno obradi kako bi se minimizirala kašnjenja u izvještavanju rezultata.

**U slučaju amplifikacije samo jedne od dvije ciljne sekvence virusa SARS-CoV-2 po potrebi se može provesti ponovno testiranje.

Tablica 2. Tumačenje rezultata ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay – ispitci sline

SVEUKUPNI REZULTAT	CILJNA SEKVENCA 1 (gen Nsp2) FAM	CILJNA SEKVENCA 2 (N gen) HEX	KONTROLA OBRADE (SPC2) Far Red (Tamno crveno)	Tumačenje
POSITIVE (POZITIVNO)	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO) [5 ≤ Ct < 28 AND (I) EP ≥ 600 AND (I) EPR > 1,2] OR (ILI) [28 ≤ Ct ≤ 40 AND (I) EP ≥ 600]	N/P	N/P	RNK virusa SARS-CoV-2 detektirana**
	N/P	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO) [5 ≤ Ct < 28 AND (I) EP ≥ 675 AND (I) EPR > 1,2] OR (ILI) [28 ≤ Ct ≤ 40 AND (I) EP ≥ 675]		
NEGATIVE (NEGATIVNO)	NOT AMPLIFIED (NIJE AMPLIFICIRANO) N/P OR (ILI) [5 ≤ Ct < 28 AND (I) EPR ≤ 1,2] OR (ILI) [28 ≤ Ct ≤ 42 AND (I) EP < 600] OR (ILI) [Ct > 40]	NOT AMPLIFIED (NIJE AMPLIFICIRANO) N/P OR (ILI) [5 ≤ Ct < 28 AND (I) EPR ≤ 1,2] OR (ILI) [28 ≤ Ct ≤ 42 AND (I) EP < 675] OR (ILI) [Ct > 40]	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO) (24 ≤ Ct ≤ 33 AND (I) EP ≥ 1000)	RNK virusa SARS-CoV-2 nije detektirana
IND* (NEODREĐENO)	NOT AMPLIFIED / System Errors Noted, Sample Processing Completed (NIJE AMPLIFICIRANO / Uočene pogreške sustava, Obrada uzorka završena)			Svi rezultati ciljne sekvence bili su nevažeci; ponovno testirajte uzorak
NR*	NOT AMPLIFIED / System Errors Noted, Sample Processing Aborted (NIJE AMPLIFICIRANO / Uočene pogreške sustava, Obrada uzorka prekinuta)			Obrada uzorka je prekinuta; ponovno testirajte uzorak
UNR* (NERAZRIJEŠENO)	NOT AMPLIFIED / No System Errors Noted (NIJE AMPLIFICIRANO / Nema uočenih pogrešaka sustava)			Svi rezultati ciljne sekvence bili su nevažeci; ponovno testirajte uzorak

*Sustav je opremljen automatskom opcijom Rerun (Ponovna obrada) / Repeat (Ponavlanje testa) koju krajnji korisnik može odabrati kako bi osigurao da se rezultat IND (Neodređeno)/NR (Nema rezultata)/UNR (Nerazriješeno) automatski ponovno obradi kako bi se minimizirala kašnjenja u izvještavanju rezultata.

**U slučaju amplifikacije samo jedne od dvije ciljne sekvence virusa SARS-CoV-2 po potrebi se može provesti ponovno testiranje.

Pozitivan rezultat može se prijaviti za uzorke koji su dali diferencijalni status amplifikacije, takav gdje se amplificira samo jedna od ciljnih sekvenci – ciljna sekvenca 1 (gen Nsp2) ili ciljna sekvenca 2 (N gen). Do toga može doći zbog 1) uzorka u koncentracijama blizu ili ispod granice detekcije testa, 2) mutacije u jednoj od regija ciljne sekvence ili 3) drugih čimbenika. U slučaju pozitivnog testa kod kojeg je amplificirana samo jedna od ciljnih sekvenci, razmotrite ponovno testiranje ako je kontrola SPC2 negativna. Ako ponovljeni rezultat ostane isti, treba provesti dodatno testiranje potvrde ako je ono klinički indicirano.

Nevažeci rezultati

Ako ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay koje se izvodi na sustavu NeuMoDx System ne uspije dati valjani rezultat, prijavljuje se kao Indeterminate (Neodređeno), No Results (Nema rezultata) ili Unresolved (Nerazriješeno) ovisno o vrsti pogreške koja se pojavila te se test mora ponoviti kako bi se dobio valjani rezultat.

Rezultat Indeterminate (Neodređeno) prijavljuje se ako se tijekom obrade uzorka detektira pogreška sustava NeuMoDx System. U slučaju rezultata Indeterminate (Neodređeno) preporučuje se ponovno testiranje.

Rezultat No Result (Nema rezultata) prijavljuje se ako se detektira pogreška sustava NeuMoDx System te se obrada uzorka prekine. U slučaju rezultata No Result (Nema rezultata) preporučuje se ponovno testiranje.

Rezultat Unresolved (Nerazriješeno) prijavljuje se ako nema detektiranih ciljnih sekvenci i ako nema amplifikacije kontrole obrade uzorka, što ukazuje na moguću grešku reagensa ili na prisutnost inhibitora. U slučaju rezultata Unresolved (Nerazriješeno), kao prvi korak preporučuje se ponovno testiranje. U slučaju da ponovno testiranje ne uspije, može se upotrijebiti razrijeđeni ispitak kako bi se ublažio učinak moguće inhibicije.

Kontrola kvalitete

Laboratoriji su odgovorni za postupke kontrole kojima se prati točnost i preciznost cijelog analitičkog postupka te mora utvrditi broj, vrstu i učestalost primjene materijala za kontrolu testa.

1. Kontrolni materijal ne isporučuje se s ispitivanjem NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. Međutim, tvrtka NeuMoDx odobrila je i preporučuje kontrolni materijal u nastavku. Kontrole moraju zadovoljavati jednake prethodno navedene specifikacije za minimalni volumen kao i klinički uzorci, a koje se temelje na veličini nosača epruveta za ispitke.

Za ispitke brisa preporučuju se sljedeće kontrole

- Pozitivna kontrola:
 - Pročišćena genomska RNK virusa SARS-CoV-2 (kat. br. VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, USA) pri konačnoj koncentraciji od 5E3 cp/ml
 - Virus SARS-CoV-2 inaktiviran toplinom (kat. br. VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, USA) pri konačnoj koncentraciji od 5E3 cp/ml
 - 5 ml NATrol™ SARS-CoV-2 (rekombinantni) Stock (sadrži samo N gen, kataloški br. 0831042, ZeptoMetrix, Buffalo, NY, USA) u 1 ml medija BD UVT.
- Negativna kontrola: mediji Copan / BD UVT ili slični proizvodi.

Za ispitke sline preporučuju se sljedeće kontrole:

Pozitivna kontrola: razrijedite bilo koji od sljedećeg materijala u mješavinu vode stupnja čistoće za molekularne testove i SSB-a u omjeru 1:1,67 voda/SSB (v/v):

- Pročišćena genomska RNK virusa SARS-CoV-2 (kat. br. VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, USA) pri konačnoj koncentraciji od 5E3 cp/ml
- Virus SARS-CoV-2 inaktiviran toplinom (kat. br. VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, USA) pri konačnoj koncentraciji od 5E3 cp/ml
- NATrol™ SARS-CoV-2 (Recombinant) Stock (sadrži samo N gen, kat. br. 0831042, Zeptomatrix, Buffalo, NY, USA) u razrjeđenju u omjeru 1:20.

Negativna kontrola: 0,6 ml vode stupnja čistoće za molekularne testove dodane u 1 ml pufera za stabilizaciju sline (Saliva Stabilization Buffer, SSB), ili omjer 1:1,67 voda/SSB (v/v).

2. Preporučuje se da korisnici obrađuju po jedan komplet pozitivnih i negativnih kontrola svaka 24 sata i prije obrade uzoraka pacijenta.
3. Kada obrađujete kontrole, postavite označene kontrole u nosač epruveta za ispitke i s pomoću zaslona osjetljivog na dodir postavite nosač u sustav NeuMoDx System s police za automatsko postavljanje. Nakon definiranja sustav NeuMoDx System prepoznat će crtične kodove i započeti obradu kontrola.
4. Početnice i proba specifične za kontrolu obrade uzoraka 2 (Sample Process Control, SPC2) uključene su u svaku testnu traku NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip. Kontrola obrade uzoraka sustavu NeuMoDx System omogućava praćenje učinkovitosti postupaka ekstrakcije RNK i RT-PCR amplifikacije.
5. Prije RT-PCR-a sustav NeuMoDx System automatski provodi „FILL CHECK“ (PROVJERA NAPUNJENOSTI) kako bi osigurao da je PCR komora napunjena otopinom te da sadržava odgovarajuću količinu fluorescentne probe.
6. Softver sustava NeuMoDx System kontinuirano prati senzore i aktuatora na sustavu kako bi osigurao siguran i učinkovit rad sustava.
7. Više načina uklanjanja pogrešaka tekućina provodi se aktivnim nadzorom postupaka aspiracije i pipetiranja kako bi se osiguralo da sustav može sigurno i učinkovito završiti obradu svih uzoraka ili pružiti odgovarajući kôd pogreške.
8. Sustav NeuMoDx System opremljen je automatskom opcijom Rerun (Ponovna obrada) / Repeat (Ponavlanje testa) koju krajnji korisnik može odabrati kako bi osigurao da se rezultat INVALID (NEVAŽEĆE) automatski ponovno obradi kako bi se minimizirala kašnjenja u izvještavanju rezultata.
9. Pozitivan rezultat testiranja prijavljen za negativan kontrolni uzorak može ukazivati na problem kontaminacije ispitka. Savjete za rješavanje problema potražite u *korisničkom priručniku za sustav NeuMoDx 288 ili 96 Molecular System*.
10. Negativan rezultat prijavljen za pozitivan kontrolni uzorak može ukazivati na problem povezan s reagensima ili sustavom NeuMoDx System. Savjete za rješavanje problema potražite u *korisničkom priručniku za sustav NeuMoDx 288 ili 96 Molecular System*.

RADNE ZNAČAJKE

Analička osjetljivost – uzorci nazofaringealnog brisa

Granica detekcije (Limit of Detection, LoD) ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay utvrđena je testiranjem serije razrjeđenja poola negativnih uzoraka nazofaringealnih brisova (brisovi s najlonskim vlaknima prikupljeni u UTM [Copan Diagnostic Inc, CA] ili UVT [BD, NJ]) u koje je dodana genomska RNK virusa SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) i koji su obrađeni primjenom tijekom rada IZRAVNO i PRETHODNO OBRADENO. Procijenjeno je najmanje dvadeset ponavljanja svakog razrjeđenja na oba sustava NeuMoDx System za svaki tijek rada. Utvrđeno je da LoD iznosi **150 kopija/ml**.

Tablica 3. Stopa detekcije i granica detekcije za SARS-CoV-2 na sustavu NeuMoDx 96 Molecular System: Tijek rada s prethodnom obradom

LoD virusa SARS-CoV-2: N96, prethodno obrađeni tijek rada								
Ciljna razina	Valjani rezultati	Pozitivno na gen Nsp2		Stopa detekcije gena Nsp2	N gen Positive (Pozitivno)		Stopa detekcije N gena	Stopa amplifikacije obje ciljne sekvence
		n	Srednja Ct vrijednost		n	Srednja Ct vrijednost		
250 kopija/ml	22	22	31,7	100 %	22	30,9	100 %	100 %
150 kopija/ml	20	20	31,5	100 %	20	31,0	100 %	100 %
50 kopija/ml	24	0	n/p	0 %	22	31,8	91,7 %	0 %
Negative (Negativno)	30	n/p		0 %	0	n/p	0 %	0 %
LoD sustava N96: 150 cp/ml [najniža ciljna razina koja pokazuje stopu detekcije od > 95 % za obje ciljne sekvence]								

Tablica 4. Stopa detekcije i granica detekcije za SARS-CoV-2 na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System: Tijek rada s prethodnom obradom

LoD virusa SARS-CoV-2: N288, prethodno obrađeni tijek rada								
Ciljna razina	Valjani rezultati	Nsp2 gen Positive (Pozitivno)		Stopa detekcije gena Nsp2	N gen Positive (Pozitivno)		Stopa detekcije N gena	Stopa amplifikacije obje ciljne sekvence
		n	Srednja Ct vrijednost		n	Srednja Ct vrijednost		
250 kopija/ml	21	21	32,1	100 %	21	31,4	100 %	100 %
150 kopija/ml	26	26	31,7	100 %	26	31,2	100 %	100 %
50 kopija/ml	21	11	32,2	52,4 %	20	32,2	95,2 %	52,4 %
Negative (Negativno)	20	0	n/p	0 %	0	n/p	0 %	0 %
LoD sustava N288: 150 cp/ml [najniža ciljna razina koja pokazuje stopu detekcije od > 95 % za obje ciljne sekvence]								

Tablica 5. Stopa detekcije i granica detekcije za SARS-CoV-2 na sustavu NeuMoDx 96 Molecular System: Izravni tijek rada

LoD virusa SARS-CoV-2: N96, izravni tijek rada								
Ciljna razina	Valjani rezultati	Nsp2 gen Positive (Pozitivno)		Stopa detekcije gena Nsp2	N gen Positive (Pozitivno)		Stopa detekcije N gena	Stopa amplifikacije obje ciljne sekvence
		n	Srednja Ct vrijednost		n	Srednja Ct vrijednost		
400 kopija/ml	24	23*	32,4	95,8 %	24	31,1	100,0 %	95,8 %
250 kopija/ml	24	24	33,0	100,0 %	24	31,7	100,0 %	100,0 %
150 kopija/ml	24	24	33,4	100,0 %	24	32,4	100,0 %	100,0 %
50 kopija/ml	24	12	32,6	50,0 %	18	32,8	75,0 %	41,7 %**
Negative (Negativno)	22	0		0 %	0		0 %	0 %
LoD sustava N96: 150 cp/ml [najniža ciljna razina koja pokazuje stopu detekcije od > 95 % za obje ciljne sekvence]								

*Ovaj je uzorak dodatno pokazao slabu amplifikaciju SPC2, a nedostatak amplifikacije smatrao se artefaktom obrade sustava. To podržava 100 %-tna stopa detekcije pri jednakoj ciljnoj koncentraciji u RPT-8505B (klinička procjena). Osim toga, u ovom je ispitivanju 100 %-tna stopa detekcije postignuta pri nižim koncentracijama od 250 cp/ml i 150 cp/ml.

**Kod deset od 24 uzoraka obje su ciljne sekvence detektirane pri 50 cp/ml, što odgovara sveukupnoj stopi pozitivnosti od 41,7 %.

Tablica 6. Stopa detekcije i granica detekcije za SARS-CoV-2 na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System: Izravni tijek rada

LoD virusa SARS-CoV-2: N288, izravni tijek rada								
Ciljna razina	Valjani rezultati	Nsp2 gen Positive (Pozitivno)		Stopa detekcije gena Nsp2	N gen Positive (Pozitivno)		Stopa detekcije N gena	Stopa amplifikacije obje ciljne sekvence
		n	Srednja Ct vrijednost		n	Srednja Ct vrijednost		
400 kopija/ml	24	24	32,8	100,0 %	24	31,7	100,0 %	100,0 %
250 kopija/ml	24	24	33,0	100,0 %	24	32,0	100,0 %	100,0 %
150 kopija/ml	22	21	33,5	95,5 %	22	32,4	100,0 %	95,5 %
50 kopija/ml	24	20	34,3	83,3 %	24	33,4	100,0 %	83,3 %
Negative (Negativno)	24	0		0,0 %	0		0,0 %	0,0 %
LoD sustava N288: 150 cp/ml [najniža ciljna razina koja pokazuje stopu detekcije od > 95 % za obje ciljne sekvence]								

Analitička osjetljivost –uzorci sline

Granica detekcije (Limit of Detection, LoD) ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay utvrđena je testiranjem serije razrjeđenja poola negativnih uzoraka sline (pomiješanih s puferom NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer u omjeru sline i pufera 1:1,67) u koje je dodan virus SARS-CoV-2 ozračen gama-zrakama (BEI Resources NR-52287) ili genomska RNK virusa SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) i koji su obrađeni primjenom izravnog tijeka rada. Najmanje pet ponavljanja svakog razrjeđivanja procijenjeno je oko očekivanog LoD-a, nakon čega je slijedila potvrda obrada najmanje dvadeset ponavljanja pri najnižim razinama koje su dale sve pozitivne rezultate. Utvrđeno je da LoD za genomsku RNK i virus ozračen gama-zrakama iznosi **50 kopija/ml** odnosno **0,0075 TCID50/ml**.

Tablica 7. Stope detekcije i preliminarna granica detekcije s virusom SARS-CoV-2 ozračenim gama-zrakama

LoD virusa SARS-CoV-2; virus SARS-CoV-2 ozračen gama-zrakama								
Ciljna razina	Valjani rezultati	Nsp2 gen Positive (Pozitivno)		Stopa detekcije gena Nsp2	N gen Positive (Pozitivno)		Stopa detekcije N gena	Stopa amplifikacije obje ciljne sekvence
		N	Srednja Ct vrijednost		n	Srednja Ct vrijednost		
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 %*
Preliminarni LoD – virus ozračen gama-zrakama: 0,005 TCID50/ml [najniža ciljna razina koja pokazuje stopu detekcije od > 95 % za obje ciljne sekvence]								
*Kod tri od deset (3/10) uzoraka obje su ciljne sekvence detektirane pri 0,0025 TCID50/ml, što odgovara sveukupnoj stopi pozitivnosti od 30 %.								

Tablica 8. Stope detekcije i preliminarna granica detekcije s genomskom RNK virusa SARS-CoV-2

LoD virusa SARS-CoV-2; genomski RNK virusa SARS-CoV-2								
Ciljna razina	Valjani rezultati	Nsp2 gen Positive (Pozitivno)		Stopa detekcije gena Nsp2	N gen Positive (Pozitivno)		Stopa detekcije N gena	Stopa amplifikacije obje ciljnih sekvenci
		N	Srednja Ct vrijednost		n	Srednja Ct vrijednost		
100 kopija/ml	5	5	32,7	100 %	5	31,8	100 %	100 %
50 kopija/ml	5	5	33,3	100 %	5	32,5	100 %	100 %
40 kopija/ml	10	6	34,4	60 %	9	33,1	90 %	60 %*
25 kopija/ml	10	4	34,1	40 %	9	33,0	90 %	40 %**
Preliminarni LoD – genomski RNK: 50 cp/ml [najniža ciljna razina koja pokazuje stopu detekcije od > 95 % za obje ciljne sekvence]								
*Kod šest od deset (6/10) uzoraka obje su ciljne sekvence detektirane pri 40 cp/ml, što odgovara sveukupnoj stopi pozitivnosti od 60 %.								
**Kod četiri od deset (4/10) uzoraka obje su ciljne sekvence detektirane pri 25 cp/ml, što odgovara sveukupnoj stopi pozitivnosti od 40 %.								

Tablica 9. Stope detekcije i potvrda granica detekcije s virusom SARS-CoV-2 ozračenim gama-zrakama

LoD virusa SARS-CoV-2; virus SARS-CoV-2 ozračen gama-zrakama									
Sustav	Ciljna razina	Valjani rezultati	Nsp2 gen Positive (Pozitivno)		Stopa detekcije gena Nsp2	N gen Positive (Pozitivno)		Stopa detekcije N gena	Stopa amplifikacije obje ciljnih sekvenci
			N	Srednja Ct vrijednost		n	Srednja Ct vrijednost		
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 sustava N288: 0,0075 TCID50/ml [najniža ciljna razina koja pokazuje stopu detekcije od > 95 % za obje ciljne sekvence]									
LoD sustava N96: 0,0075 TCID50/ml [najniža ciljna razina koja pokazuje stopu detekcije od > 95 % za obje ciljne sekvence]									
*Kod sedamnaest (17) od dvadeset (20) uzoraka obje su ciljne sekvence detektirane na sustavu N288, što odgovara sveukupnoj stopi pozitivnosti od 85 %.									
**Kod trinaest (13) od dvadeset (20) uzoraka obje su ciljne sekvence detektirane na sustavu N96, što odgovara sveukupnoj stopi pozitivnosti od 65 %.									

Tablica 10. Stope detekcije i potvrda granice detekcije s genomskom RNK virusa SARS-CoV-2

LoD virusa SARS-CoV-2; genomski RNK virusa SARS-CoV-2									
Sustav	Ciljna razina	Valjani rezultati	Nsp2 gen Positive (Pozitivno)		Stopa detekcije gena Nsp2	N gen Positive (Pozitivno)		Stopa detekcije N gena	Stopa amplifikacije obje ciljnih sekvenci
			N	Srednja Ct vrijednost		n	Srednja Ct vrijednost		
N288	50 kopija/ml	20	20	34,4	100 %	20	33,9	100 %	100 %
N96	50 kopija/ml	20	19	33,9	95 %	19	33,8	95 %	95 %*
LoD sustava N288: 50 cp/ml [najniža ciljna razina koja pokazuje stopu detekcije od > 95 % za obje ciljne sekvence]									
LoD sustava N96: 50 cp/ml [najniža ciljna razina koja pokazuje stopu detekcije od > 95 % za obje ciljne sekvence]									
*Kod devetnaest (19) od dvadeset (20) uzoraka obje su ciljne sekvence detektirane na sustavu N96, što odgovara sveukupnoj stopi pozitivnosti od 95 %.									

Uključivost

Uključivosti ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay procijenjena je *in silico* analizom koja mapira početnice i probe ispitivanja na sve dostupne sekvence virusa SARS-CoV-2 (n = 96) u bazi podataka Nacionalnog centra za biotehnoške informacije (National Center for Biotechnology Information, NCBI) od 14. ožujka 2020. Regije početnica i proba testa uspoređene su *in silico* analizom kako bi se provjerila homologija sekvenci sa sojevima virusa SARS-CoV-2 u krvi. Ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay imalo je 100 %-tnu homologiju sa svim sekvencama gena Nsp2, osim jedne (ciljna sekvenca 1). Ova pojedinačna sekvenca imala je neusklađeni nukleotid u uzvodnoj početnici za koji se ne pretpostavlja da utječe na radni učinak ispitivanja. Homologija između početnica i proba za N gen (ciljna sekvenca 2) bila je 100 % za sve dostupne sekvence.

Križna reaktivnost / interferencija mikroorganizama

Ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay procijenjeno je *in silico* zbog mogućih križnih reaktivnosti s mikroorganizmima navedenim u *tablici 11* pojedinačnim mapiranjem početnica i proba ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay sekvencama u bazi podataka Nacionalnog centra za biotehnoške informacije (National Center for Biotechnology Information, NCBI). Nijedna od analiziranih sekvenci nije ukazala na homologiju za početnice ili probe gena Nsp2 (ciljna sekvenca 1). Bakterija *Haemophilus influenzae* (CP000672.1) ukazala je na homologiju s uzvodnom početnicom N gena (ciljna sekvenca 2), ali nije imala značajnu homologiju s nizvodnom početnicom i probom. Slično tome, koronavirus SARS (AY345986.1) ukazao je na homologiju za uzvodnu početnicu i probu N gena, ali ne i na značajnu homologiju za nizvodnu početnicu. Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* (CP000438.1) ukazala je na homologiju za uzvodnu početnicu SPC2, ali ne i za ciljne sekvence virusa SARS-CoV-2. Stoga *in silico* analiza nije ukazala na vjerojatnu križnu reaktivnost s bilo kojom od procijenjenih sekvenci. Provedeno je dodatno testiranje tekućih uzoraka kako bi se potvrdilo da bakterije *H. influenzae* i *P. aeruginosa* ne predstavljaju opasnost od križne reaktivnosti ili interferencije mikroorganizama, a njegovi rezultati prikazani su u *tablicama 12* i *13*.

Tablica 11. *In silico* analiza križno reaktivne organizme

Organizam	Pristupni broj(evi) baze podataka GenBank NCBI-ja	Organizam	Pristupni broj(evi) baze podataka GenBank NCBI-ja
Humani koronavirus 229E	KF514433.1 KF514432.1	Influenca B	MK969560.1
		Enterovirus	JF896312.1
Humani koronavirus OC43	KX344031.1 KF530099.1	Respiratorni sincicijski virus	JN032120.1
		Rinovirus	NC_001490.1
Humani koronavirus HKU1	KF430201.1 MH940245.1	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	NZ_LN847241.1
		<i>Haemophilus influenzae</i>	CP000672.1
Humani koronavirus NL63	KF530114.1 KF530113.1	<i>Legionella pneumophila</i>	CP015928.1
		<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	AP018036.1
Koronavirus SARS	AY686863.1	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	CP027540.1
		<i>Streptococcus pyogenes</i>	AE009949.1
Koronavirus MERS	MH013216.1	<i>Bordetella pertussis</i>	CP011448.1
Adenovirus	AC_000017.1	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	CP039772.1
Humani metapneumovirus	KJ627437.1	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (Pneumocystis jirovecii pneumonija, PJP)	MH010446.1
Virus parainfluence 1	KX639498.1	<i>Candida albicans</i>	NC_018046.1
Virus parainfluence 2	KM190939.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CP000438.1
Virus parainfluence 3	KF530243.1	<i>Staphylococcus epidermis</i>	KY750253.1
Virus parainfluence 4	KF483663.1	<i>Streptococcus salivarius</i>	CP020451.2
Influenca A	MH798556.1		

Tablica 12. Testiranje križne reaktivnosti i interferencije za *H. Influenzae*

UZORAK		Valjani rezultati	Br. pozitivnih N gen	% pozitivnih N gena (žuto)	Prosječni Ct N gena	Br. pozitivnih gena Nsp2	% pozitivnih gena Nsp2 (zeleno)	Prosječni Ct gena Nsp2	Srednji Ct SPC2
Križna reaktivnost	Čisti UVT (negativna kontrola)	3	0	0 %	N/P	0	0 %	N/P	27,7
	UVT + <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 CFU/ml)	3	0	0 %	N/P	0	0 %	N/P	28,3
Interferencija	Čisti UVT + RNK virusa SARS-CoV-2 (750 kopija/ml) (pozitivna kontrola)	3	3	100 %	32,03	3	100 %	34,05	27,8
	UVT + <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 CFU/ml) + RNK virusa SARS-CoV-2 (750 kopija/ml)	3	3	100 %	32,45	3	100 %	33,98	27,7

Tablica 13. Testiranje križne reaktivnosti i interferencije za *P. aeruginosa*

UZORAK		Valjani rezultati	N gen (HEX)			Nsp2 gen (FAM)			SPC2 (Far Red (Tamno crveno))
			Poz.	% poz.	Prosječni Ct	Poz.	% poz.	Prosječni Ct	Prosječni Ct
Križna reaktivnost	UVT + <i>P. aeruginosa</i> (1 ⁶ CFU/ml)	3	0	0 %	N/P	0	0 %	N/P	27,5
Interferencija	Čista UVT kontrola	3	3	100 %	30,3	3	100 %	32,0	26,9
	Positive (Pozitivno)								
	UVT + <i>P. aeruginosa</i> (1 ⁶ CFU/ml) + RNK virusa SARS-CoV-2 (450 kopija/ml)	3	3	100 %	30,4	3	100 %	32,0	27,0

Interferirajuće tvari – uzorci nazofaringealnog brisa

Za ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay procijenjena je osjetljivost na interferenciju uzrokovanu tvarima potencijalno povezanim a s prikupljanjem ispitaka nazofaringealnih brisova. U rezidualne kliničke negativne ispitke nazofaringealnih brisova dodana je genomska RNK virusa SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) pri 5 X LoD te su obrađeni u prisutnosti i u odsustvu agensa prikazanih u *tablici 14* u nastavku. Nijedna tvar uključena u testiranje nije imala negativan učinak na radni učinak ispitivanja.

Tablica 14. Tvari testirane na interferenciju

	Tvar	Koncentracija*
Endogeni	Mucin	0,5 % (w/v)
	Krv	2 % (v/v)
Egzogeni	Afrin® Original (oksimetazolin)	15 % (v/v)
	Sprej za nos Zicam® Cold Remedy	5 % (v/v)
	Flonase® Allergy Relief (flutikazon)	5 % (v/v)
	Beklometazon	10 mg/ml
	Mupirocin	11,4 mg/ml
	Relenza® (zanamivir)	5,25 mg/ml
	Tamiflu® (oseltamivir)	7,5 mg/ml
	Tobramicin	1,8 mg/ml

*Napomena: Prikazane koncentracije odnose se na one koje se upotrebljavaju za zasićivanje brisova prije doziranja pozitivnih kliničkih surogat uzoraka s interferirajućom tvari. Stoga su reprezentativne za razinu koja se može tolerirati na mjestu prikupljanja brisa.

Interferirajuće tvari – uzorci sline

Za ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay procijenjena je osjetljivost na interferenciju uzrokovanu tvarima potencijalno povezanim s prikupljanjem ispitaka sline. U pool negativne sline dodan je virus SARS-CoV-2 ozračen gama-zrakama (BEI Resources NR-52287) pri 10 X granice detekcije (Limit of Detection, LoD) te je pripremljen kompletom NeuMoDx Saliva Collection Kit i obrađen u prisutnosti i odsustvu agensa prikazanih u *tablici 15*. Nijedna tvar uključena u testiranje nije imala negativan učinak na radni učinak ispitivanja u navedenim koncentracijama.

Tablica 15. Tvari za koje je testirana interferencija – uzorci sline

	Tvar	Koncentracija
Endogeni	Puna krv	1 % v/v
Egzogeni	Altoids™ (Spearmint)	2 % w/v
	Aspirin™	1 % w/v
	Vodica za usta LISTERINE® Ultra-clean Antiseptic	1 % v/v
	Pastile Halls™ (mentol i eukaliptus)	1 % w/v
	Zubna pasta Crest Pro-Health Advanced Gum Protection	0,001 % w/v*
	Sirup za kašalj Wal-Tussin® DM Max	1 % v/v

*Koncentracija ove tvari prijavljena je kao rezultat ispitivanja odgovora na dozu od 0,1 %, gdje se pokazalo da je ona inhibirajuća.

Obnovljivost

Obnovljivost ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay unutar laboratorija provjerena je retrospektivnom analizom radnog učinka primjenom negativnih i surogat pozitivnih kliničkih uzoraka nazofaringealnog brisa. Podaci sažeti u *tablicama 16a – c* predstavljaju testiranje koje su različiti korisnici proveli na dva instrumenta u razdoblju od tri dana. Predstavljani su rezultati uzoraka pripremljenih primjenom radnih tijekova IZRAVNO i PRETHODNO OBRADENO.

Tablica 16a. Sveukupna obnovljivost i preciznost ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Razina virusa SARS-CoV-2 (cp/ml)	N	Ciljna sekvenca N gena			Ciljna sekvenca gena Nsp2			SPC2		
		% pozitivnih	Prosječni Ct	% CV-a Ct vrijednosti	% pozitivnih	Prosječni Ct	% CV-a Ct vrijednosti	% pozitivnih	Prosječni Ct	% CV-a Ct vrijednosti
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/P	N/P	0 %	N/P	N/P	100 %	27,5	2,6 %

Tablica 16b. Obnovljivost i preciznost ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Ciljna sekvenca	Razina (cp/ml)	Sustav NeuMoDx 288 Molecular System				Sustav NeuMoDx 96 Molecular System			
		N	% pozitivnih	Prosječni Ct	% CV-a Ct vrijednosti	N	% pozitivnih	Prosječni Ct	% CV-a Ct vrijednosti
Ciljna sekvenca N gena	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 %
Ciljna sekvenca gena 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 %

Tablica 16c. Sveukupna obnovljivost i preciznost ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Ciljna sekvenca	Razina (cp/ml)	Tijek rada IZRAVNO				Tijek rada S PRETHODNOM OBRADOM			
		N	% pozitivnih	Prosječni Ct	% CV-a Ct vrijednosti	N	% pozitivnih	Prosječni Ct	% CV-a Ct vrijednosti
Ciljna sekvenca N gena	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 %
Ciljna sekvenca gena 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 %

Klinički radni učinak
a. Testiranje surogat uzoraka – uzorci nazofaringealnog brisa

Radni učinak ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay s rezidualnim kliničkim uzorcima nazofaringealnih brisova (brisovi s najlonskim vlaknima prikupljeni u UTM [Copan Diagnostic Inc, CA] ili UVT [BD, NJ]) procijenjen je s pomoću panela 82 negativna klinička uzorka i 87 surogat pozitivnih kliničkih uzoraka koji su prethodno predani na testiranje na influencu i/ili respiratorni sincicijski virus, a prikupljeni su od pacijenata sa znakovima i simptomima infekcije gornjeg respiratornog trakta. Pozitivni surogat uzorci pripremljeni su tako što je u negativne kliničke uzorke dodana genomska RNK virusa SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285). Od 87 surogat pozitivnih uzoraka, 57 uzoraka bilo je pri koncentracijama od 1 – 2 X LoD-a, a 30 ih je bilo pri koncentracijama od 4 – 8 X LoD-a. Obrada uzoraka provedena je primjenom tijekom rada IZRAVNO i PRETHODNO OBRADENO na oba sustava NeuMoDx Systems.

Svi pozitivni uzorci prijavljeni su kao pozitivni, a svi negativni uzorci prijavljeni su kao negativni, kao što je detaljno navedeno u *tablicama 17–20*.

Tablica 17. Ispitci brisa prethodno obrađeni samo na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System

Tijek rada s prethodnom obradom: Sustav NeuMoDx 288 Molecular System					
Koncentracija uzorka	n	Ciljna sekvenca 1 (gen Nsp2)		Ciljna sekvenca 2 (N gen)	
		% pozitivnih (dvostrani 95 %-tni CI)	Srednja Ct vrijednost	% pozitivnih (dvostrani 95 %-tni CI)	Srednja Ct vrijednost
225 kopija/ml ~1,5 X LoD	12	100 (75,6 – 99,9)	32,5	100 (75,6 – 99,9)	32,2
400 kopija/ml ~2,7 X LoD	11	100 (74,0 – 99,9)	31,4	100 (74,0 – 99,9)	30,2
500 kopija/ml ~3,3 X LoD	10	100 (72,1 – 99,9)	31,2	100 (72,1 – 99,9)	30,2
1000 kopija/ml	5	100 (56,4 – 99,9)	30,5	100 (56,4 – 99,9)	29,4
2000 kopija/ml	6	100 (60,8 – 99,9)	30,2	100 (60,8 – 99,9)	28,8
Negative (Negativno)	29	0 (n/p)	n/p	0 (n/p)	n/p
Radni učinak u usporedbi s očekivanim rezultatima jest sljedeći: Postotak pozitivnog podudaranja 44/44 = 100 % (95 %-tni CI: 91,9 % – 100 %) Postotak negativnog podudaranja 29/29 = 100 % (95 %-tni CI: 88,2 % – 100 %)					

Tablica 18. Ispitci brisa prethodno obrađeni samo na sustavu NeuMoDx 96 Molecular System

Tijek rada s prethodnom obradom: Sustav NeuMoDx 96 Molecular System					
Koncentracija uzorka	n	Ciljna sekvenca 1 (gen Nsp2)		Ciljna sekvenca 2 (N gen)	
		% pozitivnih (dvostrani 95 %-tni CI)	Srednja Ct vrijednost	% pozitivnih (dvostrani 95 %-tni CI)	Srednja Ct vrijednost
225 kopija/ml ~1,5 X LoD	12	100 (75,6 – 99,9)	32,0	100 (75,6 – 99,9)	31,5
400 kopija/ml ~2,7 X LoD	3	100 (43,7 – 99,8)	31,2	100 (43,7 – 99,8)	30,4
500 kopija/ml ~3,3 X LoD	3	100 (43,7 – 99,8)	31,5	100 (43,7 – 99,8)	30,6
1000 kopija/ml	2	100 (34,2 – 99,8)	30,2	100 (34,2 – 99,8)	29,2
2000 kopija/ml	2	100 (34,2 – 99,8)	30,1	100 (34,2 – 99,8)	28,9
Negative (Negativno)	20	0 (n/p)	n/p	0 (n/p)	n/p
Radni učinak u usporedbi s očekivanim rezultatima jest sljedeći:					
Postotak pozitivnog podudaranja		22/22 = 100 % (95 %-tni CI: 85,0 % – 100 %)			
Postotak negativnog podudaranja		20/20 = 100 % (95 %-tni CI: 83,8 % – 100 %)			

Tablica 19. Izravni tijek rada ispitaka brisa samo na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System

Izravni tijek rada: Sustav NeuMoDx 288 Molecular System					
Koncentracija uzorka	n	Ciljna sekvenca 1 (gen Nsp2)		Ciljna sekvenca 2 (N gen)	
		% pozitivnih (dvostrani 95 %-tni CI)	Srednja Ct vrijednost	% pozitivnih (dvostrani 95 %-tni CI)	Srednja Ct vrijednost
225 kopija/ml ~1,5 X LoD	12	100 (75,6 – 99,9)	33,8	100 (75,6 – 99,9)	32,7
400 kopija/ml ~2,7 X LoD	11	100 (74,0 – 99,9)	32,4	100 (74,0 – 99,9)	31,1
500 kopija/ml ~3,3 X LoD	11	100 (74,0 – 99,9)	32,5	100 (72,1 – 99,9)	31,3
1000 kopija/ml	6	100 (60,8 – 99,9)	31,9	100 (56,4 – 99,9)	30,5
2000 kopija/ml	6	100 (60,8 – 99,9)	31,1	100 (60,8 – 99,9)	29,7
Negative (Negativno)	33	0 (n/p)	n/p	0 (n/p)	n/p
Radni učinak u usporedbi s očekivanim rezultatima jest sljedeći:					
Postotak pozitivnog podudaranja		46/46 = 100 % (95 %-tni CI: 92,2 % – 100 %)			
Postotak negativnog podudaranja		33/33 = 100 % (95 %-tni CI: 89,5 % – 100 %)			

Tablica 20. Izravni tijek rada ispitaka brisa samo na sustavu NeuMoDx 96 Molecular System

Izravni tijek rada: Sustav NeuMoDx 96 Molecular System					
Koncentracija uzorka	n	Ciljna sekvenca 1 (gen Nsp2)		Ciljna sekvenca 2 (N gen)	
		% pozitivnih (dvostrani 95 %-tni CI)	Srednja Ct vrijednost	% pozitivnih (dvostrani 95 %-tni CI)	Srednja Ct vrijednost
225 kopija/ml ~1,5 X LoD	12	100 (75,6 – 99,9)	33,4	100 (75,6 – 99,9)	32,3
400 kopija/ml ~2,7 X LoD	4	100 (50,9 – 99,9)	32,7	100 (50,9 – 99,9)	31,7
500 kopija/ml ~3,3 X LoD	4	100 (50,9 – 99,9)	32,6	100 (50,9 – 99,9)	31,5
1000 kopija/ml	1	100 (20,7 – 99,8)	31,9	100 (20,7 – 99,8)	30,2
2000 kopija/ml	2	100 (34,2 – 99,8)	31,5	100 (34,2 – 99,8)	29,7
Negative (Negativno)	0	0 (n/p)	N/P	0 (n/p)	N/P
Radni učinak u usporedbi s očekivanim rezultatima jest sljedeći: Postotak pozitivnog podudaranja 23/23 = 100 % (95 %-tni CI: 85,6 % – 100 %) Postotak negativnog podudaranja N/P					

b. Testiranje surogat ispitaka – uzorci sline

Radni učinak ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay s uzorcima sline (pripremljenima s pomoću kompleta NeuMoDx Saliva Collection Kit) procijenjen je s pomoću panela 36 negativnih uzoraka davatelja. Svaki uzorak zdravog davatelja upotrebljavao se za pripremu negativnog i surogat pozitivnog uzorka dodavanjem virusa SARS-CoV-2 ozračenog gama-zrakama (BEI Resources NR-52287), čime su dobivena ukupno 72 uzorka za testiranje. Od 36 surogat pozitivnih uzoraka, 28 uzoraka bilo je pri koncentracijama od 1,5 – 2 X LoD-a, 4 ih je bilo pri koncentracijama od 10 X LoD-a i 4 ih je bilo pri koncentracijama od 20 X LoD-a. Obrada uzoraka provedena je s pomoću tijeka rada UserSpecified2 (KorisničkiDefinirano2). Svi pozitivni uzorci prijavljeni su kao pozitivni, a svi negativni uzorci prijavljeni su kao negativni, kao što je detaljno navedeno u *tablici 21*.

Tablica 21. Uzorci sline na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System

Koncentracija uzorka	n	Ciljna sekvenca 1 (gen Nsp2)		Ciljna sekvenca 2 (N gen)	
		% pozitivnih (dvostrani 95 %-tni CI)	Srednja Ct vrijednost	% pozitivnih (dvostrani 95 %-tni CI)	Srednja Ct vrijednost
0,01125 – 0,015 TCID50/ml (1,5 – 2 X LoD)	27	96 (81,7 – 99,3)	33,2	100 (87,6 – 100)	33,1
0,075 TCID50/ml (10 X LoD)	4	100 (51,0 – 100)	32,7	100 (51,0 – 100)	32,3
0,15 TCID50/ml (20 X LoD)	4	100 (51,0 – 100)	31,0	100 51,0 – 100	30,9
Negative (Negativno)	35	0 (n/p)	n/p	0 (n/p)	n/p
Radni učinak u usporedbi s očekivanim rezultatima jest sljedeći: Postotak pozitivnog podudaranja za gen Nsp2 34/35 = 97,1 % (95 %-tni CI: 85,5 % – 99,5 %) Postotak negativnog podudaranja za gen Nsp2 35/35 = 100 % (95 %-tni CI: 90,1 % – 100 %) Postotak pozitivnog podudaranja za N gen 35/35 = 100 % (95 %-tni CI: 90,1 % – 100 %) Postotak negativnog podudaranja za N gen 35/35 = 100 % (95 %-tni CI: 90,1 % – 100 %) Postotak sveukupnog pozitivnog podudaranja 35/35 = 100 % (95 %-tni CI: 90,1 % – 100 %) Postotak sveukupnog negativnog podudaranja 35/35 = 100 % (95 %-tni CI: 90,1 % – 100 %)					

c. Testiranje kliničkih ispitaka – ispitci nazofaringealnog brisa

Radni učinak ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay procijenjen je i s pomoću kliničkih ispitaka. Preostali deidentificirani klinički ispitci nazofaringealnog (nasopharyngeal, NP) brisa simptomatskih pacijenata prikupljeni su brisovima s vrlo malim vlaknima u BD Universal Viral Transport Medium (BD UVT) volumena 3 ml. Ispitci su predani na testiranje na virus SARS-CoV-2 dvjema vanjskim lokacijama testiranja na kojima je provedeno komparativno testiranje ispitaka u odnosu na testove koje je prethodno odobrila agencija FDA u SAD-u za upotrebu u izvanrednim stanjima. Testiranje s pomoću ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay provedeno je na jednoj internoj i jednoj eksternoj lokaciji testiranja. Ukupno 40 uzoraka obrađenoj je ispitivanjem NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. Neki od uzoraka testirani su na oba sustava, sustavu N288 NeuMoDx System i sustavu N96 NeuMoDx System, te primjenom tijekom rada PRETHODNO OBRADENO i tijekom rada IZRAVNO. Rezultati ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay potpuno su se podudarali s rezultatima komparativnog ispitivanja za sve kliničke uzorke testirane u ovom ispitivanju usporedbe metoda (tablice 22 i 23).

Tablica 22. Rezultati usporedbe kvalitativnih metoda za ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay na sustavima NeuMoDx Molecular Systems u odnosu na referentne testove – tijekom rada PRETHODNO OBRADENO

Prethodno obrađeno na sustavima N96 i N288		Komparativno/a ispitivanje/a		
		Poz.	Neg.	Ukupno
Ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Poz.	25	0	25
	Neg.	0	15	15
	Ukupno	25	15	40
Klinička osjetljivost 100 % (95 %-tni CI 86,6 – 100 %)				
Klinička specifičnost 100 % (95 %-tni CI 79,5 – 99,9 %)				

Tablica 23. Rezultati usporedbe kvalitativnih metoda za ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay u odnosu na referentne testove – tijekom rada IZRAVNO

(a) na sustavu NeuMoDx 288 Molecular System (N288) i (b) na sustavu NeuMoDx 96 Molecular System (N96)

(a)

Izravno na sustavu N288		Komparativno/a ispitivanje/a		
		Poz.	Neg.	Ukupno
Ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Poz.	10	0	10
	Neg.	0	9	9
	Ukupno	10	9	19
Klinička osjetljivost 100 % (95 %-tni CI 72,1 – 99,9 %)				
Klinička specifičnost 100 % (95 %-tni CI 69,9 – 99,9 %)				

(b)

Izravno na sustavu N96		Komparativno/a ispitivanje/a		
		Poz.	Neg.	Ukupno
Ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Poz.	5	0	5
	Neg.	0	6	6
	Ukupno	5	6	11
Klinička osjetljivost 100 % (95 %-tni CI 56,4 – 99,9 %)				
Klinička specifičnost 100 % (95 %-tni CI 60,8 – 99,9 %)				

d. Testiranje kliničkih ispitaka – ispitci sline

Radni učinak ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay s uzorcima sline (pripremljenima s pomoću kompleta NeuMoDx Saliva Collection Kit) procijenjen je s pomoću 112 deidentificiranih parova ispitaka sline i ispitaka nazofaringealnog (Nasopharyngeal, NP) brisa koji su prikupljeni uzastopno prospektivno ili su preostali (također prikupljeni uzastopno) od istog pojedinca. Kompleti NeuMoDx Saliva Collection Kits upotrebljavali su se za prospektivno prikupljanje ispitaka sline, dok su preostali uzorci sline prikupljeni u bočicu za uzorke koja nije sadržavala konzervanse te su zamrznuti na temperaturi od -80 °C do testiranja s puferom NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer. Ispitci nazofaringealnog (nasopharyngeal, NP) brisa prikupljeni su brisovima s vrlo malim vlaknima u BD Universal Viral Transport Medium (BD UVT) volumena 3 ml. Svi ispitci sline i većina ispitaka nazofaringealnog (nasopharyngeal, NP) brisa testirani su s pomoću ispitivanja NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay i kombinacije sustava N288 NeuMoDx System i N96 NeuMoDx System. Preostali nazofaringealni (nasopharyngeal, NP) ispitci obrađeni su primjenom drugih komparativnih testova odobrenih za hitnu uporabu (Emergency Use Authorization, EUA). Testiranje je provedeno na jednoj internoj i dvije eksterne lokacije testiranja. Sveukupno gledajući, > 95 % pozitivnog i negativnog podudaranja s rezultatima referentnih testova za ispitke nazofaringealnih (nasopharyngeal, NP) briseva dokazano je za ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay s pomoću ispitaka sline, kao što je detaljno navedeno u *tablici 24*.

Tablica 24. Rezultati usporedbe kvalitativnih metoda za ispitivanje NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay s ispitcima sline u odnosu na ispitke nazofaringealnog brisa

Kvalitativno podudaranje		Ispitci nazofaringealnog brisa		
		Poz.	Neg.	Ukupno
Ispitci sline	Poz.	41	2	43
	Neg.	2	67	69
	Ukupno	43	69	112
Klinička osjetljivost 95,4 % (84,5 – 98,7 %)				
Klinička specifičnost 97,1 % (90,0 – 99,2 %)				

REFERENCE









- 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.

ZAŠTITNI ZNAKOVI

NeuMoDx™ i NeuDry™ su zaštitni znakovi tvrtke NeuMoDx Molecular, Inc.
 Afrin® je registrirani zaštitni znak tvrtke Bayer AG
 Altoids™ je zaštitni znak tvrtke Callard and Bowser Limited
 Aspirin™ je registrirani zaštitni znak tvrtke Bayer AG
 BD™ je zaštitni znak tvrtke Becton, Dickinson and Company
 Crest® Pro-Health je registrirani zaštitni znak tvrtke Procter and Gamble Company
 Flonase® je zaštitni znak tvrtke GlaxoSmithKline plc
 Halls™ je zaštitni znak grupacije Mondelēz International Group
 Hamilton® je registrirani zaštitni znak tvrtke Hamilton Company
 Listerine® je registrirani zaštitni znak tvrtke Johnson & Johnson
 Relenza® je zaštitni znak tvrtke GlaxoSmithKline plc
 Tamiflu® je registrirani zaštitni znak tvrtke Genentech USA, Inc.
 TaqMan® je registrirani zaštitni znak tvrtke Roche Molecular Systems, Inc.
 UTM-RT® je registrirani zaštitni znak tvrtke Copan Diagnostics, Inc.
 Wal-Tussin® je registrirani zaštitni znak tvrtke Walgreens Company
 Zicam® je registrirani zaštitni znak tvrtke Matrixx Initiatives, Inc.

Svi drugi nazivi proizvoda, zaštitni znakovi i registrirani zaštitni znakovi koji se mogu pojaviti u ovome dokumentu u vlasništvu su svojih vlasnika.

LEGENDA SIMBOLA

R only	Za uporabu samo uz recept		Temperaturno ograničenje
	Proizvođač		Nije za ponovnu uporabu
IVD	Medicinski proizvod za <i>in vitro</i> dijagnostiku		Sadrži dovoljno za <n> testova
EC REP	Ovlašteni predstavnik u Europskoj zajednici		Pročitajte upute za upotrebu
REF	Kataloški broj		Oprez
LOT	Kôd šarže		Biološke opasnosti
	Upotrijebiti do	CE	Oznaka CE



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

Naručitelj (Australija):
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



Tehnička podrška / izvještaj o kontroli sigurnosti: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents