

REF 300901 NeuMoDx™ FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip

R only

ATENȚIE: Doar pentru export din S.U.A.

IVD A se utiliza pentru diagnosticarea *in vitro* cu sistemele NeuMoDx 288 și NeuMoDx 96 Molecular System



Versiunea electronică este disponibilă la www.qiaqen.com/neumodx-ifu

Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx 288 Molecular System; Nr.P. 40600108

Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx 96 Molecular System; Nr.P. 40600317

DOMENIUL DE UTILIZARE

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay este o testare multiplex pentru diagnosticare *in vitro* RT-PCR în timp real, destinată detectării calitative și diferențierii simultane a virusului gripal A (Gripă de tip A), a virusului gripal B (Gripă de tip B), a virusului sincițial respirator (Respiratory Syncytial Virus, RSV) și a ARN-ului SARS-CoV-2 din eșantioane pe tampon nazofaringiene (Nasopharyngeal, NP) recoltate în mediu de transport de la indivizi cu semne și simptome de boală asemănătoare gripei (Influenza Like Illness, ILI).

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, așa cum este acesta efectuat pe NeuMoDx 288 Molecular System și NeuMoDx 96 Molecular System, încorporează extracția automată de ARN pentru a izola acizii nucleici țintă din eșantion și RT-PCR în timp real care vizează o singură regiune conservată pentru Gripa de tip A și RSV și două regiuni conservate pentru SARS-CoV-2 și Gripa de tip B.

Rezultatele acestei testări nu trebuie utilizate ca singură bază pentru diagnosticare, tratament sau pentru alte decizii de gestionare a pacienților. Rezultatele pozitive indică prezența ARN-ului de SARS-CoV-2 și/sau Gripă de tip A și/sau Gripă de tip B și/sau RSV, dar nu exclud infecția bacteriană sau coinfectia cu alte virusuri. Corelarea clinică cu istoricul pacientului și alte informații de diagnosticare este necesară pentru a determina stadiul de infectare a pacientului.

Rezultatele negative nu exclud infecția cu Gripa de tip A, Gripa de tip B, RSV sau SARS-CoV-2 și nu trebuie utilizate ca singură bază pentru diagnosticare, pentru tratament sau pentru alte decizii de gestionare a pacienților. Rezultatele negative trebuie combinate cu observații clinice, anamneza pacientului și/sau informații epidemiologice.

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay este destinat utilizării de către personalul instruit al laboratoarelor clinice, pregătit și instruit special în tehnicile RT-PCR în timp real și procedurile de diagnosticare *in vitro* și/sau sistemele NeuMoDx Molecular System. NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay nu este destinat autotestării sau utilizării în locații din afara sistemului sanitar.

REZUMAT ȘI EXPLICAȚII

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay este un test calitativ pentru utilizare pe sistemele de instrumente NeuMoDx 96 și NeuMoDx 288 pentru detecția ARN-ului de SARS-CoV-2, virus gripal A, virus gripal B și/sau RSV în probe pe tampon nazofaringian. Testul nu diferențiază între ARN-ul de RSV A și RSV B. Eșantioanele pe tampon nazofaringian sunt recoltate în Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) (Copan UTM-RT, Copan, CA, USA) sau BD™ Universal Viral Transport System (UVT) (BD™ UVT, BD, NJ, USA). Testarea utilizează o substanță de control internă pentru procesarea probei de ARN (Sample Process Control, SPC2), care este încorporată în timpul preparării probelor și servește la monitorizarea întregului proces de preparare a probelor, revers-transcriere și amplificare PCR. NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay permite fluxuri de lucru de procesare a până la două eșantioane, în funcție de necesarul laboratorului: un flux de lucru direct și un flux de lucru pretrat. NeuMoDx Molecular System efectuează automat toate etapele necesare extragerii acizilor nucleici țintă, pregătește ARN-ul izolat pentru reacția de polimerizare în lanț revers-transcriptază în timp real (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) și transcriere invers, amplifică și detectează producția de amplificare, dacă sunt prezenți. NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay vizează regiunile conservate ale genelor Nsp2 SARS-CoV-2 și ale genelor O-riboză-metiltransferază, regiunile din proteina matricială a virusului gripal A și a virusului sincițial respirator, precum și genele proteinei matriciale și genele nestructurale ale proteinei (non-structural, NS1) ale virusului gripal B.

PRINCIPIILE PROCEDURII

Stadiul actual al tipului de detecție a infecției acute cu Gripă de tip A/Gripă de tip B/RSV/SARS-CoV-2 este amplificarea acidului nucleic în regiunile conservate din genomul țintei, care este în conformitate cu PCR revers-transcriere în timp real utilizată de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, așa cum este acesta efectuat pe NeuMoDx 288 Molecular System și NeuMoDx 96 Molecular System.

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay combină extracția automată de ARN și amplificarea/detecția ARN-ului de SARS-CoV-2, Gripă de tip A, Gripă de tip B și/sau RSV prin RT-PCR în timp real. Probele pe tampon nazofaringian sunt recoltate în Copan UTM-RT System sau BD™ UVT System. Fluxul de lucru Direct permite etichetarea cu cod de bare a eprubetei principale pentru recoltarea pe tampon sau a unei părți alicote din mediul de transport într-o eprubetă secundară, care va fi încărcată pe NeuMoDx System pentru procesare. Alternativ, eșantionul pe tampon în mediul de transport poate fi tratat mai întâi cu un volum egal de NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) înainte de încărcarea acestuia pe sistem, fără alte intervenții din partea utilizatorului. NeuMoDx System aspiră automat o parte alicotă din eșantion pentru amestecarea acesteia cu NeuMoDx Lysis Buffer 3 pentru fluxul de lucru direct sau o parte alicotă din eșantionul pretrat pentru amestecarea acesteia cu Lysis Buffer 2 și cu reactivii incluși în NeuMoDx Extraction Plate, pentru începerea procesării. În mod specific, utilizând fluxul de lucru direct, eprubeta principală de recoltare (cu tamponul și capacul îndepărtat) sau o parte alicotă din mediul de probă într-o eprubetă secundară este etichetată cu coduri de bare și încărcată pe NeuMoDx System, utilizând un suport dedicat pentru eprubete pentru eșantioane. Pentru fluxul de lucru pretrat, eșantionul în mediul de transport este mai întâi tratat cu un volum egal de NeuMoDx VVLB înainte de încărcarea acestuia pe sistem. Pentru fluxul de lucru Direct, o parte alicotă de 400 μl din probă este aspirată de NeuMoDx System și amestecată cu un volum egal de NeuMoDx Lysis Buffer 3; pentru fluxul de lucru Pretrat, 550 μl din proba pretrată sunt combinați cu un volum egal de Lysis Buffer 2. NeuMoDx System automatizează și integrează extracția și concentrarea ARN-ului, pregătirea reactivilor, precum și amplificarea/detecția acidului nucleic aferente secvențelor țintă, utilizând RT-PCR în timp real. Substanța de control pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC2) ajută la monitorizarea prezenței substanțelor inhibitorie, precum și a erorilor de sistem, de proces sau de reactiv. După încărcarea eșantionului pe NeuMoDx System nu mai este necesară intervenția operatorului.

NeuMoDx System utilizează o combinație de căldură, enzimă litică și reactivi de extracție pentru a efectua automat liza, extracția ARN-ului și eliminarea inhibitorilor. Acizii nucleici degajați sunt captați de particule paramagnetice. Particulele, împreună cu acidul nucleic legat, sunt încărcate în NeuMoDx Cartridge, unde elementele nelegate sunt spălate cu NeuMoDx Wash Reagent. ARN-ul legat este apoi eluat folosind NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx System utilizează ARN-ul eluat pentru rehidratarea reactivilor brevetate de amplificare NeuDry™, care conțin toate elementele necesare pentru amplificarea țintelor pentru gripă de tip A, gripă de tip B, RSV, SARS-CoV-2 și SPC2. Acest proces permite amplificarea și detecția simultană a tuturor țintelor și a secvențelor ARN-ului substanței de control pentru procesarea probei. La reconstituirea reactivilor RT-PCR deshidratați, NeuMoDx System distribuie amestecul pregătit compatibil cu RT-PCR într-o cameră PCR (pe eșantion) a NeuMoDx Cartridge. Revers-transcrierea, amplificarea și detecția secvențelor substanței de control și ale țintei (dacă există) au loc în camera PCR. NeuMoDx Cartridge este conceput pentru a îngloba ampliconul generat după RT-PCR, eliminând practic riscul contaminării post-amplificare.

Țintele amplificate sunt detectate în timp real, utilizând chimia sondei de hidroliză (denumită în mod popular drept chimia TaqMan®), utilizând molecule depistate cu sonda de testare fluorogenică specifică oligonucleotidelor, specifică ampliconilor țintelor respective. Sondele TaqMan constau într-un fluorofor legat covalent de capătul 5' al tulpinii sondei specifice oligonucleotidelor și într-o substanță extincătoare de fosforescență la capătul 3'. Deși sonda este intactă, fluoroforul și substanța extincătoare de fosforescență sunt în apropiere, ceea ce face ca molecula de substanță extincătoare de fosforescență să suprima fluorescența emisă de fluorofor prin transfer de energie de rezonanță Förster (Förster Resonance Energy Transfer FRET).

Sondele TaqMan sunt destinate temperaturii într-o regiune de ADN complementar amplificată printr-un set specific de soluții de amorsare. Pe măsură ce Taq ADN-polimeraza extinde soluția de amorsare și sintetizează noua tulpină, activitatea exonucleazică 5'-3' a Taq ADN-polimerazei degradează sonda care a fost temperată la șablon. Degradarea sondei degajă fluorofor și își întrerupe proximitatea față de substanța extincătoare de fosforescență, astfel prevenind efectul de temperare cauzat de FRET și permițând detecția fluoroforului. Semnalul fluorescent rezultat, detectat în ciclatorul termic pentru RT-PCR NeuMoDx System este direct proporțional cu fluoroforul degajat și poate fi corelat cu cantitatea prezentă de țintă.

Canalele de detectare fluorescente pentru fiecare țintă NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay sunt prezentate în tabelul de mai jos. Software-ul sistemului NeuMoDx System monitorizează semnalul fluorescent emis de sondele TaqMan la sfârșitul fiecărui ciclu de amplificare. Când ciclarea termică este completă, software-ul NeuMoDx System analizează datele și raportează un rezultat (POSITIVE (POZITIV)/NEGATIVE (NEGATIV)/INDETERMINATE (NECONCLUDENT)/NO RESULT (NICIUN REZULTAT)/UNRESOLVED (NEREZOLVAT)).

Tabelul 1. Canale de detectare

Țintă	Regiune țintă	Fluorofor sondă	Excitație/Emisie	Canal de detectare
Gripă de tip A	Proteină matricială	FAM	530/555 nm	Green
Gripă de tip B	Proteină matricială	HEX	470/510 nm	Yellow
	Proteină nestructurală (NS1)			
SARS-CoV-2	Gena Nsp2	Texas Red	585/610 nm	Orange
	O-riboză-metiltransferază			
Virus sincițial respirator	Proteină matricială	Q705	680/715 nm	Far Red
SPC2	Proteină agregată (MS2)	Q670	625/660 nm	Red

REACTIVI/CONSUMABILE

Materiale furnizate

REF	Conținut	Unități pe pachet	Teste pe unitate	Teste per pachet
300901	NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip <i>Reactivi RT-PCR deshidratați care conțin sonde și soluții de amorsare TaqMan specifice Gripei de tip A/Gripei de tip B/RSV/SARS-CoV-2 și sonde și soluții de amorsare TaqMan specifice SPC2.</i> <i>Conține 21,1% Tris-HCl, 8,4% dNTP și alte ingrediente inactice</i>	6	16	96

Materiale necesare, dar nefurnizate (disponibile separat de la NeuMoDx)

REF	Conținut
901200	NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls <i>Seturi de unică folosință de substanțe de control pozitive și negative la Gripa de tip A/Gripa de tip B/RSV/SARS-CoV-2 pentru a stabili validitatea zilnică a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay (câte 1 flacon din fiecare substanță de control = 1 set)</i>
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Particule paramagnetice deshidratate, enzime litice deshidratate și substanțe de control deshidratate pentru procesarea probei</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	Vârfuri Hamilton® CO-RE / CO-RE II (300 µl) cu filtre
235905	Vârfuri Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µl) cu filtre

* Necesar numai pentru procesarea probelor utilizând fluxul de lucru direct, fără o etapă de pretratare. Consultați secțiunea „Instrucțiuni de utilizare” de mai jos.

** Necesar numai pentru procesarea probelor utilizând fluxul de lucru pretratată, cu o etapă de pretratare. Consultați secțiunea „Instrucțiuni de utilizare” de mai jos.

Tampoane și medii de transport (nefurnizate)

Sample Type (Tip probă)	Dispozitiv de recoltare recomandat	Tampon recomandat
Tampon nazofaringian	3 ml Universal Transport Medium (Copan UTM-RT, Copan, CA, USA, 305C) sau 3 ml Universal Viral Transport System (BD UVT, BD, NJ, USA, BD 220531)	Flexible Minitip Nylon® Flocked Swab (Copan, CA, USA) sau Flexible Minitip Flocked Swab (BD, NJ, USA)

Instrumentar necesar

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] sau **NeuMoDx 96 Molecular System** [REF 500200]
NeuMoDx System Software versiunea 1.9.2.6 sau mai recentă



AVERTISMENTE ȘI PRECAUȚII

- NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay este destinat exclusiv diagnosticării *in vitro* cu sistemele NeuMoDx System.
- Nu utilizați reactivii sau consumabilele după data de expirare menționată.
- Nu utilizați reactivii în cazul în care sigiliul de siguranță este rupt sau dacă ambalajul este deteriorat la sosire.
- Nu utilizați consumabilele sau reactivii dacă punga de protecție este deschisă sau ruptă la sosire.
- Volumul minim al eșantionului pentru părți alicote secundare depinde de dimensiunea eprubetei/suportul eprubetelor pentru eșantioane, conform definiției de mai jos. Volumul eșantionului sub minimul specificat poate duce la o eroare „Quantity Not Sufficient” (Cantitate insuficientă).
- Utilizarea eșantioanelor depozitate la temperaturi improprie sau în afara timpilor de depozitare specificați poate produce rezultate nevalide sau eronate.
- Evitați contaminarea microbiană și ribonucleazică (RNază) a tuturor reactivilor și consumabilelor. La utilizarea eprubetelor secundare, se recomandă folosirea pipetelor de transfer sterile de unică folosință, fără RNază. Utilizați câte o pipetă nouă pentru fiecare eșantion.
- Pentru a evita contaminarea nu manipulați și nu desfaceți niciun cartuș NeuMoDx Cartridge după amplificarea. În niciun caz nu recuperați cartușele NeuMoDx Cartridge din recipientul pentru deșeuri biopericuloase (NeuMoDx 288 Molecular System) sau din coșul de gunoi pentru deșeuri biopericuloase (NeuMoDx 96 Molecular System). NeuMoDx Cartridge este conceput pentru a preveni contaminarea.
- În cazurile în care testările PCR cu eprubete deschise sunt realizate, de asemenea, în laborator, aveți grijă să vă asigurați că NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip, consumabilele și reactivii suplimentari necesari pentru testare, echipamentul individual de protecție, precum mănuși și halate de laborator, precum și NeuMoDx System nu sunt contaminate.
- În timpul manipulării reactivilor și a consumabilelor NeuMoDx trebuie purtate mănuși curate din nitril, fără pulbere. Aveți grijă să nu atingeți suprafața superioară a NeuMoDx Cartridge, suprafața de etanșare cu folie a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip și NeuMoDx Extraction Plate, ori suprafața superioară a recipientului cu NeuMoDx Lysis Buffer; manipularea consumabilelor și a reactivilor trebuie efectuată doar prin atingerea suprafețelor laterale.
- Substanțele de control externe NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control [REF 901200] trebuie procesate la fiecare 24 de ore la testarea cu NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.
- Fișele cu date de securitate (Safety Data Sheet, SDS) sunt puse la dispoziție pentru fiecare reactiv (după caz), la www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Spălați-vă bine pe mâini după efectuarea testării.
- Nu pipetați prin intermediul cavității bucale. Nu fumați, nu consumați băuturi sau alimente în zonele în care se manipulează eșantioane sau reactivi.
- Manipulați întotdeauna eșantioanele ca și cum ar fi infecțioase și în conformitate cu procedurile sigure de laborator, cum ar fi cele descrise în *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹ și în Documentul CLSI M29-A4.²
- Atunci când lucrați cu substanțe chimice, purtați întotdeauna un halat de laborator, mănuși de unică folosință și ochelari de protecție adecvate. Pentru informații suplimentare, consultați fișele cu date de securitate (Safety Data Sheet, SDS) corespunzătoare.
- Eliminați reactivii nefolositori și deșeurile în conformitate cu reglementările naționale, federale, regionale, statale și locale.

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip



Conține: acid boric, nonilfenol etoxilat. Pericol! Provoacă iritarea pielii. Provoacă iritarea gravă a ochilor. Poate dăuna fertilității sau fătului. Nociv pentru viața acvatică, având efecte de lungă durată. Procurați instrucțiuni speciale înainte de utilizare. A nu se manipula decât după ce au fost citite și înțelese toate măsurile de securitate. Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței. ÎN CAZ DE expunere sau de posibilă expunere: Consultați medicul. A se depozita sub cheie. Aruncați conținutul/recipientul la un centru omologat pentru eliminarea deșeurilor.

Informații pentru situații de urgență

CHEMTREC

În afara SUA și Canada +1 703-527-3887

Eliminarea

Produsul conține nonilfenol etoxilat, o substanță disruptoare endocrină, care poate avea efecte adverse asupra mediului.

Eliminați deșeurile periculoase în conformitate cu reglementările locale și naționale. Această instrucțiune este valabilă și pentru produsele neutilizate.

Nu eliminați deșeurile lichide în canalizare.

Urmați recomandările din fișa cu date de securitate (Safety Data Sheet, SDS).



DEPOZITAREA, MANIPULAREA ȘI STABILITATEA PRODUSULUI

- Bandelele NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip sunt stabile în ambalajul primar până la data de expirare menționată pe eticheta aplicată direct pe produs, dacă sunt depozitate la o temperatură cuprinsă între 15 și 28 °C.
- Nu reîncărcați niciun produs de testare care a fost încărcat anterior pe un alt NeuMoDx System.
- Odată încărcată, NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip poate rămâne pe NeuMoDx System timp de 14 zile. Termenul de valabilitate rămas al bandelelor de testare încărcate este urmărit de software și raportat utilizatorului în timp real. Eliminarea unei bandelete de testare care a fost utilizată după perioada admisibilă va fi solicitată de NeuMoDx System.

RECOLTAREA, TRANSPORTUL ȘI DEPOZITAREA EȘANTIOANELOR

Manipulați toate eșantioanele ca și cum ar fi capabile să transmită agenți infecțioși.

1. Eșantioanele trebuie recoltate utilizând Copan UTM-RT® System sau BD™ UVT System folosind tamponi poroși Nylon validate (consultați Tamponi și medii de transport). În plus, tamponii poroși, tamponii din poliester și Nylon sunt tipuri de tamponi acceptabile. Urmați instrucțiunile producătorului pentru recoltarea, transportul și depozitarea eșantioanelor.
2. Eșantioanele pot fi testate în eprubete de recoltare primare sau în eprubete pentru eșantioane secundare compatibile.
3. Eșantioanele pot fi depozitate pe NeuMoDx System timp de până la 8 ore înainte de procesare. Dacă este necesar un timp suplimentar de depozitare, se recomandă ca eșantioanele să fie refrigerate sau congelate ca părți alicote secundare.
4. Eșantioanele pregătite trebuie depozitate la 2-8 °C timp de maximum 7 zile înainte de testare.
5. Dacă eșantioanele sunt expediate, acestea trebuie să fie ambalate și etichetate în conformitate cu reglementările naționale ale țării respective și/sau cu reglementările internaționale.
6. Accesați secțiunea *Pregătirea testării*.

PREGĂTIREA TESTĂRII

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay conține două fluxuri de lucru diferite, în funcție de preferințele utilizatorului/laboratorului:

Flux de lucru 1: **DIRECT** – eșantionul pe tampon în mediu de transport este încărcat direct pe NeuMoDx System într-o eprubetă de recoltare primară sau o eprubetă pentru eșantioane secundară

-sau-

Flux de lucru 2: **PRETRATAT** – eșantioanele pe tampon în mediu de transport sunt pretratate cu NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer înainte de încărcare pe NeuMoDx System într-o eprubetă de recoltare primară sau o eprubetă pentru eșantioane secundară

Pregătirea testului – flux de lucru DIRECT pentru eșantioanele directe pe tampon

1. Aplicați o etichetă cu cod de bare a eșantionului pe o eprubetă pentru eșantioane compatibilă cu NeuMoDx System, conform descrierii de la punctul 3 de mai jos.
2. Dacă efectuați testarea eșantionului în eprubeta principală de recoltare, amplasați eprubeta cu cod de bare într-un suport de eprubete pentru eșantioane și asigurați-vă că ați scos capacul și tamponul înainte de încărcarea pe NeuMoDx System.
3. Alternativ, o parte alicotă din mediul de transport poate fi transferată într-o eprubetă secundară etichetată cu cod de bare și introdusă într-un suport de eprubete pentru eșantioane. Dacă utilizați o eprubetă secundară, transferați o parte alicotă a mediului de transport în eprubeta pentru eșantioane marcată cu cod de bare compatibilă cu NeuMoDx System, în funcție de volumele definite mai jos:
 - Suport de eprubete pentru eșantioane (32 de eprubete): diametru cuprins între 11 și 14 mm și înălțime cuprinsă între 60 și 120 mm; volumul minim de umplere ≥ 600 μl
 - Suport de eprubete pentru eșantioane (24 de eprubete): diametru cuprins între 14,5 și 18 mm și înălțime cuprinsă între 60 și 120 mm; volumul minim de umplere ≥ 1000 μl
 - Suport de eprubete cu volum redus pentru eșantioane (32 de eprubete): eprubetă de 1,5 ml cu fundul conic, pentru microcentrifugă; volumul minim de umplere ≥ 500 μl

Pregătirea testului – flux de lucru PRETRATAT pentru eșantioanele pe tampon pretratate

Notă: Aduceți Vantage Viral Lysis Buffer la temperatura camerei (15 până la 30 °C) înainte de utilizare.

AVERTISMENT: Pretratarea probelor pe tampon cu NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer nu garantează inactivarea vreunui virus prezent.
Manipulați toate probele ca și cum ar fi capabile să transmită agenți infecțioși.

1. Pretratați mediul de transport al eșantionului cu un volum 1:1 de NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. Acest lucru se poate efectua în eprubeta principală de recoltare pe tampon, dacă se cunoaște volumul de mediu de transport. Alternativ, pretratarea se poate face într-o eprubetă secundară, prin combinarea unei părți alicote din mediul de transport cu un volum egal de NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. Amestecul rezultat trebuie să îndeplinească cerințele de volum minim specificate la punctul 4 de mai jos.
2. Se amestecă ușor cu o pipetă pentru a asigura distribuția uniformă a NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer.
3. Dacă efectuați testarea eșantionului pretratat în eprubeta principală de recoltare, amplasați eprubeta cu cod de bare într-un suport de eprubete pentru eșantioane și asigurați-vă că ați scos capacul și tamponul înainte de încărcarea pe NeuMoDx System.
4. Dacă utilizați o eprubetă secundară, transferați o parte alicotă de probă pretratată într-o eprubetă pentru eșantioane marcată cu cod de bare compatibilă cu NeuMoDx System și amplasați-o într-un suport de eprubete pentru eșantioane, în funcție de volumele definite mai jos:
 - Suport de eprubete pentru eșantioane (32 de eprubete): diametru cuprins între 11 și 14 mm și înălțime cuprinsă între 60 și 120 mm; volumul minim de umplere $\geq 750 \mu\text{l}$
 - Suport de eprubete pentru eșantioane (24 de eprubete): diametru cuprins între 14,5 și 18 mm și înălțime cuprinsă între 60 și 120 mm; volumul minim de umplere $\geq 1100 \mu\text{l}$
 - Suport de eprubete cu volum redus pentru eșantioane (32 de eprubete): eprubetă de 1,5 ml cu fundul conic, pentru microcentrifugă; volumul minim de umplere $\geq 650 \mu\text{l}$

Utilizarea NeuMoDx System

Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx 288 și 96 Molecular System (Nr.P. 40600108 și 40600317)

1. Încărcați comanda de testare pe NeuMoDx System în conformitate cu fluxul de lucru utilizat pentru pregătirea testării:
 - Eșantioanele pe tampon netratate și pure, preparate folosind fluxul de lucru DIRECT, sunt testate prin definirea eșantionului ca „Transport Medium” (Mediu de transport)
 - Eșantioanele pe tampon pretratate cu NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer folosind fluxul de lucru PRETRATAT sunt testate prin definirea eșantionului ca „UserSpecified1” (Specificat de utilizator 1)Dacă nu este definit în comanda de testare, tipul de eșantion Transport Medium (Mediu de transport) într-o **Secondary Tube** (Eprubetă secundară) va fi folosit implicit.
2. Populați unul sau mai multe suporturi pentru bandelele de testare NeuMoDx System cu bandelele NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suporturilor pentru bandelele de testare în NeuMoDx System.
3. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului sistemului NeuMoDx System, adăugați consumabilele necesare în suporturile de consumabile NeuMoDx System și folosiți ecranul tactil pentru încărcarea suporturilor în NeuMoDx System.
4. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx System, înlocuiți NeuMoDx Wash Reagent și/sau NeuMoDx Release Reagent, goliți deșeurile de amorsare, recipientul pentru deșeuri biopericuloase (doar la NeuMoDx 288 Molecular System), coșul de gunoi pentru aruncarea vârfurilor (doar la NeuMoDx 96 Molecular System) și/sau coșul de gunoi pentru deșeuri biopericuloase (doar la NeuMoDx 96 Molecular System), după caz.
5. Încărcați eprubeta (eprubetele) pentru eșantioane într-un suport de eprubete pentru eșantioane și asigurați-vă că ați scos capacele și posibilele tamponuri din toate eprubetele.
6. Amplasați suportul de eprubete pentru eșantioane pe raftul încărcătorului automat și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suportului (suporturilor) în NeuMoDx System. Această acțiune va iniția procesarea eșantioanelor încărcate pentru testările identificate, cu condiția ca în sistem să existe o comandă de testare validă.

LIMITĂRI

1. NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip poate fi utilizată doar pe sistemele NeuMoDx System.
2. Performanța NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip a fost stabilită pentru eșantioane pe tampon nazofaringian în mediu de transport, recoltate de clinician. Utilizarea NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip cu alte tipuri de eșantioane și medii de recoltare nu a fost evaluată, iar caracteristicile de performanță nu sunt cunoscute.
3. Deoarece detecția țintelor virale depinde în general de numărul de particule virale prezente în probă, rezultatele de încredere depind de recoltarea, manipularea și depozitarea adecvate ale eșantioanelor.
4. Rezultatele eronate pot apărea din recoltarea, manipularea și depozitarea inadecvate ale eșantioanelor, din erori tehnice sau din încurcarea eprubetelor pentru eșantioane. În plus, pot apărea rezultate fals negative din cauză că numărul de particule virale din probă este sub limita de detecție a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.
5. Utilizarea sistemului NeuMoDx System se limitează la utilizarea de către personalul instruit în utilizarea NeuMoDx System.

6. Dacă țintele pentru Gripa de tip A, Gripa de tip B, RSV și SARS-CoV-2, precum și ținta SPC2 nu se amplifică, va fi raportat un rezultat nevalid (Indeterminate (Neconcludent) sau Unresolved (Nerezolvat)), iar testarea trebuie repetată.
7. Dacă survine o eroare de sistem înainte de finalizarea procesării probelor, va fi raportat „No Result” (Niciun rezultat), iar testarea trebuie repetată.
8. Un rezultat pozitiv nu indică neapărat prezența virusului gripal A, a virusului gripal B, a virusului SARS-CoV-2 și/sau a virusului RSV viabil. Cu toate acestea, un rezultat pozitiv presupune prezența ARN-ului virusului gripal A, al virusului gripal B, al virusului SARS-CoV-2 și/sau al virusului RSV.
9. Delețiile sau mutațiile din regiunile conservate vizate de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay pot afecta detecția și pot duce la un rezultat eronat.
10. Rezultatele obținute din NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay trebuie utilizate ca anexe la observațiile clinice și la alte informații disponibile medicului.
11. Bunele practici de laborator, inclusiv schimbarea mănușilor între manipulările eșantioanelor pacienților, se recomandă pentru evitarea contaminării.

REZULTATE

Rezultatele disponibile pot fi vizualizate sau tipărite din fila „Results” (Rezultate) în fereastra Results (Rezultate) pe ecranul tactil al NeuMoDx System. Rezultatele NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay sunt generate automat de software-ul NeuMoDx System utilizând algoritmul de decizie și parametrii de procesare a rezultatelor specificați în fișierul de definiție a testului NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay (FluA-B-RSV-CoV-2 ADF versiunea 4.0.0 sau mai recentă). Un rezultat al NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay poate fi raportat ca Negative (Negativ), Positive (Pozitiv), Indeterminate (Neconcludent), No Result (Niciun rezultat) sau Unresolved (Nerezolvat), în funcție de stadiul de amplificare al țintei și al SPC2. Rezultatele sunt raportate pe baza algoritmului de decizie ADF de procesare a rezultatelor, sintetizate mai jos în *Tabelul 2*.

Tabelul 2. Interpretarea rezultatelor NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay

REZULTAT GLOBAL	TARGET 1 (Gripă de tip A) FAM	TARGET 2 (Gripă de tip B) HEX	TARGET 3 (SARS-CoV-2) TX RED	TARGET 4 (RSV) Lumină roșie îndepărtată	SUBSTANȚĂ DE CONTROL PENTRU PROCESARE (Sample Process Control, SPC2) Roșu	INTERPRETARE
POSITIVE (POZITIV) (ARN țintă detectat)	AMPLIFIED (AMPLIFICAT) [5 ≤ Ct < 25 AND (ȘI) EPR > 2.0 AND (ȘI) EP ≥ 750] OR (SAU) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (ȘI) EP ≥ 750)	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	ARN-ul virusului gripal A detectat
	Nu se aplică	AMPLIFIED (AMPLIFICAT) [5 ≤ Ct < 28 AND (ȘI) EPR > 1.5 AND (ȘI) EP ≥ 600] OR (SAU) [28 ≤ Ct ≤ 37 AND (ȘI) EP ≥ 600]	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	ARN-ul virusului gripal B detectat
	Nu se aplică	Nu se aplică	AMPLIFIED (AMPLIFICAT) [5 ≤ Ct < 25 AND (ȘI) EPR > 1.5 AND (ȘI) EP ≥ 1200] OR (SAU) [25 ≤ Ct ≤ 37 AND (ȘI) EP ≥ 1200]	Nu se aplică	Nu se aplică	ARN-ul virusului SARS-CoV-2 detectat
	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	AMPLIFIED (AMPLIFICAT) [5 ≤ Ct < 30 AND (ȘI) EPR > 1.15 AND (ȘI) EP ≥ 1200] OR (SAU) [30 ≤ Ct ≤ 37 AND (ȘI) EP ≥ 1200]	Nu se aplică	ARN-ul RSV detectat
NEGATIVE (NEGATIV) (ARN țintă nedetectat)	NOT AMPLIFIED (NEAMPLIFICAT) Nu se aplică OR (SAU) (5 ≤ Ct < 25 AND (ȘI) EPR ≤ 2.0) OR (SAU) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (ȘI) EP < 750) OR (SAU) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (NEAMPLIFICAT) Nu se aplică OR (SAU) (5 ≤ Ct < 28 AND (ȘI) EPR ≤ 1.5) OR (SAU) (28 ≤ Ct ≤ 37 AND (ȘI) EP < 600) OR (SAU) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (NEAMPLIFICAT) Nu se aplică OR (SAU) (5 ≤ Ct < 25 AND (ȘI) EPR ≤ 1.5) OR (SAU) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (ȘI) EP < 1200) OR (SAU) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (NEAMPLIFICAT) Nu se aplică OR (SAU) (5 ≤ Ct < 30 AND (ȘI) EPR ≤ 1.15) OR (SAU) (30 ≤ Ct ≤ 37 AND (ȘI) EP < 1200) OR (SAU) (Ct > 37)	AMPLIFIED (AMPLIFICAT) (24 ≤ Ct ≤ 31 AND (ȘI) EP ≥ 1800)	ARN-ului virusului gripal A, al virusului gripal B și al virusului SARS-CoV-2 RNA nedetectate

REZULTAT GLOBAL	TARGET 1 (Gripă de tip A) FAM	TARGET 2 (Gripă de tip B) HEX	TARGET 3 (SARS-CoV-2) TX RED	TARGET 4 (RSV) Lumină roșie îndepărtată	SUBSTANȚĂ DE CONTROL PENTRU PROCESARE (Sample Process Control, SPC2) Roșu	INTERPRETARE
NR*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Neamplificat, Eroare de sistem detectată, Procesarea probelor abandonată)					Procesarea probei a fost abandonată; retestați proba
IND*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Neamplificat, Eroare de sistem detectată, Procesarea probelor finalizată)					Toate rezultatele țintei au fost nevalide; retestați proba
UNR*	Not Amplified, No System Error Detected (Neamplificat, Nu s-au observat erori de sistem)					Toate rezultatele țintei au fost nevalide; retestați proba

* Sistemul are capacitatea opțională Rerun/Repeat (Repetarea execuției/Repetare) pentru a permite reprocesarea automată în cazul unui rezultat nevalid, pentru a reduce la minimum întârzierile în raportarea rezultatelor.

Rezultate nevalide

Dacă o analiză NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay efectuată pe NeuMoDx System nu produce un rezultat valid, acesta va fi raportat fie ca Indeterminate (Neconcludent), No Result (Niciun rezultat), fie ca Unresolved (Nerezolvat), în funcție de tipul erorii survenite, iar testarea trebuie repetată pentru obținerea unui rezultat valid.

Un rezultat Indeterminate (Neconcludent) va fi raportat dacă este detectată o eroare NeuMoDx System în timpul procesării probelor. În cazul în care este raportat un rezultat Indeterminate (Neconcludent), se recomandă repetarea testării.

Un rezultat No Result (Niciun rezultat) va fi raportat dacă este detectată o eroare NeuMoDx System și procesarea probelor este abandonată. În cazul în care este raportat un rezultat No Result (Niciun rezultat), se recomandă repetarea testării.

Un rezultat Unresolved (Nerezolvat) va fi raportat dacă nu este detectată nicio țintă și dacă nu are loc nicio amplificare a substanței de control pentru procesare probei, ceea ce indică un posibil eșec al reactivului sau prezența inhibitorilor. În cazul în care este raportat un rezultat Unresolved (Nerezolvat), se recomandă repetarea testării, ca prim pas. Dacă repetarea testării eșuează, poate fi folosit un eșantion diluat pentru a atenua efectul unei posibile inhibări.

Consultați manualul de operare al NeuMoDx 288 Molecular System (Nr.P.: 40600108) sau manualul de operare al NeuMoDx 96 Molecular System (Nr.P.: 40600317) pentru o listă a codurilor de eroare care pot fi asociate cu orice rezultate nevalide.

NeuMoDx System este echipat cu funcția automată Rerun/Repeat (Repetarea execuției/Repetare) pe care utilizatorul final poate alege să o utilizeze pentru a se asigura că un rezultat INVALID (NEVALID) este reprocessat automat pentru a reduce la minimum întârzierile în raportarea rezultatelor.

Controlul calității

Reglementările locale specifică de obicei faptul că laboratorul este responsabil pentru procedurile de control care monitorizează acuratețea și precizia procesului analitic complet, și trebuie să stabilească numărul, tipul și frecvența testării materialelor de control utilizând specificații de performanță verificate pentru un sistem de testare aprobat și nemodificat.

Substanțe de control externe

- Este necesar ca utilizatorii să proceseze un set de substanțe de control externe NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control [REF 901200] la fiecare 24 de ore și înainte de procesarea probelor pacienților. Dacă nu există un set de rezultate externe valide ale substanțelor de control, software-ul NeuMoDx System îi va solicita utilizatorului procesarea acestor substanțe de control înainte să poată fi raportate rezultatele probelor.
- Dacă sunt necesare substanțe de control externe, procesați substanțele de control (1 substanță de control pozitivă și 1 substanță de control negativă):

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	Schemă de culori a etichetei
Substanțe de control pozitive NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control(s)	Roșu
Substanțe de control negative NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Negative Control(s)	Negru

- La procesarea substanțelor de control, amplasați substanțele de control într-un suport de eprubete pentru eșantioane și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suportului în NeuMoDx System din raftul încărcătorului automat. NeuMoDx System va recunoaște codurile de bare și va începe procesarea substanțelor de control, dacă nu sunt disponibili/e reactivii sau consumabilele necesare pentru testare.
- Validitatea acestor substanțe de control externe va fi evaluată de NeuMoDx System în funcție de rezultatele preconizate.

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	Rezultat FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	Rezultat SPC2
Substanțe de control pozitive NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control(s)	ARN-ul virusului gripal A, al virusului gripal B, al RSV și al SARS-CoV-2 detectat	Nu se aplică
Substanțe de control negative NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Negative Control(s)	ARN-ul virusului gripal A, al virusului gripal B, al RSV și al SARS-CoV-2 nedetectat	Pozitiv la SPC2

5) Manipularea rezultatelor contradictorii pentru substanțele de control externe trebuie făcută astfel:

- Un rezultat Positive (Pozitiv) al testării pentru o probă cu substanță de control negativă poate indica o contaminare, iar procedurile de control al calității aferente laboratorului trebuie examinate pentru a găsi cauza principală. Asigurați-vă că utilizați zone diferite pentru prepararea probelor, manipularea substanțelor de control și configurarea RT-PCR. Consultați *Manualul de operare NeuMoDx 288 sau 96 Molecular System* pentru sfaturi suplimentare privind remediarea problemelor.
- Un rezultat Negative (Negativ) al testării raportat pentru o probă cu substanță de control pozitivă poate indica faptul că există o problemă legată de reactiv sau de NeuMoDx System. Consultați *Manualul de operare NeuMoDx 288 sau 96 Molecular System* pentru sfaturi privind remediarea problemelor.
- În oricare dintre situațiile de mai sus sau în cazul unui rezultat No Result (Niciun rezultat) (NR), Unresolved (Nerezolvat) (UNR) sau Indeterminate (Neconcludent) (IND), repetați procesul pentru substanțele de control eșuate cu flacoane proaspăt decongelate pentru substanțele de control care au eșuat în testarea validității.
- Dacă substanța de control pozitivă continuă să raporteze un rezultat Negative (Negativ) al testării, contactați Asistența tehnică QIAGEN.
- Dacă substanța de control negativă continuă să raporteze un rezultat Positive (Pozitiv) al testării, încercați să eliminați toate sursele de posibilă contaminare, inclusiv înlocuirea tuturor reactivilor și repetarea testării, înainte de a contacta Asistența tehnică QIAGEN.
- Dacă substanțele de control externe nu generează rezultatele preconizate, trebuie să repetați un set de substanțe de control pozitive și negative. Rezultatele pacientului nu vor fi raportate, dacă substanțele de control nu generează rezultatele preconizate.

Substanțe de control (interne) pentru procesarea probei

O substanță de control exogenă pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC2) este încorporată în NeuMoDx Extraction Plate și suferă întregul proces de extracție a acidului nucleic și amplificarea RT-PCR în timp real cu fiecare probă. Soluțiile de amorsare și sondele specifice SPC2 sunt, de asemenea, incluse în fiecare godeu pentru NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip, permițând detecția SPC2 împreună cu ARN-ul țintă (dacă există) prin PCR multiplex. Detecția amplificării SPC2 îi permite software-ului sistemului NeuMoDx System să monitorizeze eficacitatea proceselor de extracție ARN și amplificare RT-PCR.

Înainte de RT-PCR, NeuMoDx System efectuează automat „FILL CHECK” (VERIFICAREA UMLERII) pentru a se asigura că camera PCR este umplută cu soluție și conține o cantitate adecvată de sondă fluorescentă.

Software-ul NeuMoDx System monitorizează continuu senzorii și mecanismele de acționare de pe instrument pentru a asigura o funcționare sigură și eficientă a sistemului.

Modurile de recuperare a erorilor fluidice multiple sunt implementate prin monitorizarea activă a operațiunilor de aspirare și de distribuire pentru a se asigura faptul că sistemul poate procesa complet toate probele într-un mod sigur și eficient, sau poate furniza un cod de eroare adecvat.

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ

Sensibilitate analitică

Sensibilitatea analitică a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay pe sistemele NeuMoDx Molecular System a fost caracterizată în două etape. Limita de detecție (Limit of Detection, LoD) a fost caracterizată utilizând resturi comasate de eșantioane clinice negative pe tampon nazofaringian cu elementele de identificare anulate, recoltate în matrice UVT și tulpini model ale fiecărei ținte. Tulpinile model utilizate pentru fiecare țintă sunt prezentate în *Tabelul 3*. În prima etapă a fost preparată o serie de diluție utilizând tulpini model ale fiecărei ținte în UVT cu fluxul de lucru direct și cel pretrat, apoi aceasta a fost procesată de NeuMoDx System pentru a determina o valoare preliminară a limitei de detecție (Limit of Detection, LoD). În a doua parte a testării, aceste valori preliminare ale LoD au fost confirmate utilizând un studiu al ratei de succes atât pe NeuMoDx 288 Molecular System, cât și pe NeuMoDx 96 Molecular System pentru ambele fluxuri de lucru. LoD preliminară a fost acceptată, dacă testarea ratei de succes a atins o rată de pozitivitate de 95% pentru ambele fluxuri de lucru pe ambele sisteme. Ratele de detecție pentru LoD preliminară sunt ilustrate în *Tabelul 4*, în timp ce *Tabelul 5* details the hit-rate confirmation for the N288 System and *Table 6* detaliază confirmarea ratei de succes pentru N96 System. Revendicările cu privire la LoD finală din *Tabelul 4* sunt indicate cu fonturi **îngroșate**.

Tabelul 3. Tulpină utilizată pentru fiecare țintă

Țintă/Tulpină	Sursă	Nr. cat.	Nr. lot	Tip de material
Virus gripal A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1688	70031602	Supernatant clarificat din celule infectate
Virus gripal A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1690	70032253	Supernatant clarificat din celule infectate
Virus gripal A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	Virapur	Nu se aplică	B1904J	Țiței brut
Virus gripal A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	Virapur	Nu se aplică	C2030D	Țiței brut
Virus gripal B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	IRR	FR-1619	70015942	Supernatant clarificat din celule infectate
Virus gripal B, Colorado/6/2017 (Victoria)	IRR	FR-1592	70013310	Supernatant clarificat din celule infectate
Virus gripal B, Florida/78/2015 (Victoria)	ATCC	VR-1931	70020870	Fluid de cultură clarificat și lizat celular
Virus gripal B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	Virapur	Nu se aplică	B1904N	Țiței brut
RSV A2	ATCC	VR-1540	60430286	Fluid de cultură și lizat celular
RSV B (WV/14617/85)	ATCC	VR-1400	70013461	Fluid de cultură și lizat celular
SARS-CoV-2, Primul standard internațional al OMS	NIBSC	20/146	Nu se aplică	Acid liofilizat și virus dezactivat termic
SARS-CoV-2, USA-WA1/2020 izolat	BEI	NR-52285	70037779	Virus dezactivat termic

Tabelul 4. Ratele de detecție pozitivă pentru determinarea limitei de detecție preliminară a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay – (a) flux de lucru pretratată; (b) flux de lucru direct

(a) Flux de lucru Pretratată

Țintă/Tulpină	Nivel	U.M.	Nr. rezultate valide (n/N)	Nr. poz.	% poz	Ct mediu	Abatere medie Ct
Virus gripal A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,02	TCID ₅₀ /ml	10/10	7	70%	33,97	0,90
	0,06		10/10	10	100%	33,36	0,96
	0,17		10/10	10	100%	32,17	0,45
	0,5		10/10	10	100%	31,05	0,42
	1,5		10/10	10	100%	31,01	0,45
Virus gripal A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,17	TCID ₅₀ /ml	10/10	8	80%	33,72	1,00
	0,5		10/10	10	100%	32,97	0,51
	1,5		10/10	10	100%	32,28	0,60
Virus gripal A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,17	TCID ₅₀ /ml	10/10	8	80%	32,81	0,38
	0,5		10/10	10	100%	31,68	0,84
	1,5		10/10	10	100%	31,69	0,65
Virus gripal A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,17	TCID ₅₀ /ml	20/20	15	75%	32,15	1,70
	0,5		10/10	9	90%	32,37	0,50
	1,5		10/10	10	100%	32,63	1,35
Virus gripal B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,01	TCID ₅₀ /ml	10/10	8	80%	32,90	1,27
	0,03		10/10	10	100%	32,26	0,48
	0,08		10/10	10	100%	31,48	0,78
	0,25		10/10	10	100%	30,59	0,40
Virus gripal B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,003	TCID ₅₀ /ml	10/10	10	100%	33,97	0,58
	0,01		10/10	10	100%	33,90	0,39
	0,03		10/10	10	100%	33,85	0,56
Virus gripal B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,083	TCID ₅₀ /ml	20/20	18	90%	34,39	0,84
	0,25		10/10	10	100%	32,53	0,21
	0,75		10/10	10	100%	32,57	0,40
Virus gripal B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	0,33	TCID ₅₀ /ml	20/20	15	75%	33,58	1,50
	1		10/10	10	100%	34,03	0,69
	3		10/10	10	100%	32,30	0,66
RSV A2	0,17	TCID ₅₀ /ml	10/10	5	50%	32,68	0,43
	0,5		10/10	10	100%	31,72	0,85
	1,5		10/10	10	100%	31,71	1,35
RSV B (WV/14617/85)	0,017	TCID ₅₀ /ml	10/10	5	50%	32,20	1,10
	0,05		10/10	10	100%	31,50	0,49
	0,15		10/10	10	100%	29,94	0,93
SARS-CoV-2, Primul standard internațional al OMS	50	UI/ml	10/10	6	60%	34,36	0,64
	150		10/10	10	100%	34,20	0,31
	450		10/10	10	100%	33,04	0,63
SARS-CoV-2, USA-WA1/2020 izolat	50	copii/ml	10/10	6	60%	34,20	1,19
	150		10/10	10	100%	33,46	0,58
	450		10/10	10	100%	32,62	1,06

(b) Flux de lucru Direct

Țintă/Tulpină	Nivel	U.M.	Nr. rezultate valide (n/N)	Nr. poz.	% poz	Ct mediu	Abatere medie Ct
Virus gripal A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,02	TCID ₅₀ /ml	20/20	17	85%	33,11	1,30
	0,06		10/10	10	100%	33,18	0,86
	0,17		10/10	10	100%	32,63	1,14
	0,5		10/10	10	100%	31,33	0,74
	1,5		10/10	10	100%	30,79	0,31
Virus gripal A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,17	TCID ₅₀ /ml	20/20	18	90%	33,41	1,10
	0,5		10/10	9	90%	32,54	1,03
	1,5		10/10	10	100%	32,05	0,26
Virus gripal A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,17	TCID ₅₀ /ml	10/10	7	70%	33,39	0,16
	0,5		10/10	10	100%	32,70	1,01
	1,5		10/10	10	100%	31,12	1,07
Virus gripal A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,17	TCID ₅₀ /ml	10/10	8	80%	34,11	0,69
	0,5		10/10	10	100%	33,68	0,50
	1,5		10/10	10	100%	32,27	1,29
Virus gripal B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,01	TCID ₅₀ /ml	20/20	18	90%	33,31	0,95
	0,03		10/10	10	100%	31,51	0,94
	0,08		10/10	10	100%	31,76	0,46
	0,25		10/10	10	100%	30,11	0,45
Virus gripal B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,003	TCID ₅₀ /ml	10/10	9	90%	34,82	0,39
	0,01		10/10	10	100%	34,37	0,55
	0,03		10/10	10	100%	33,64	0,34
Virus gripal B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,083	TCID ₅₀ /ml	20/20	18	90%	33,78	1,11
	0,25		10/10	10	100%	33,89	0,69
	0,75		10/10	10	100%	32,38	0,47
Virus gripal B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	0,25	TCID ₅₀ /ml	10/10	8	80%	33,23	1,17
	0,75		20/20	19	95%	32,63	1,22
	2,25		10/10	10	100%	31,24	1,58
RSV A2	0,42	TCID ₅₀ /ml	10/10	7	70%	32,61	0,70
	1,25		10/10	10	100%	30,99	1,55
	3,75		10/10	10	100%	31,49	1,04
RSV B (WV/14617/85)	0,017	TCID ₅₀ /ml	10/10	6	60%	33,63	1,49
	0,05		10/10	10	100%	32,42	1,12
	0,15		10/10	10	100%	31,81	0,81
SARS-CoV-2, Primul standard internațional al OMS	50	UI/ml	10/10	7	70%	34,80	0,56
	150		20/20	19	95%	32,88	1,22
	450		10/10	10	100%	33,38	0,46
SARS-CoV-2, USA-WA1/2020 izolat	66,7	copii/ml	10/10	7	70%	33,53	0,58
	200		10/10	10	100%	32,63	1,25
	600		10/10	10	100%	32,69	0,86

Tabelul 5. Ratele de detecție pozitivă pentru determinarea limitei de detecție de confirmare pentru NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay – N288, (a) flux de lucru pretratată; (b) flux de lucru direct

(a) Flux de lucru Pretratată

Țintă/Tulpină	Nivel	U.M.	Nr. rezultate valide (n/N)	Nr. poz.	% detecție	Ct mediu	Abatere medie Ct
Virus gripal A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,89	0,57
Virus gripal A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	33,81	0,44
Virus gripal A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,17	0,47
Virus gripal A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	33,77	0,52
Virus gripal B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	29/30	29	100%	32,32	1,09
Virus gripal B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	34,50	0,68
Virus gripal B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,83	0,44
Virus gripal B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	1	TCID ₅₀ /ml	29/30	29	100%	33,04	0,69
RSV A2	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	32,17	1,23
RSV B (WV/14617/85)	0,05	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	32,39	0,41
SARS-CoV-2, Primul standard internațional al OMS	150	UI/ml	30/30	30	100%	33,63	0,61
SARS-CoV-2, USA-WA1/2020 izolat	150	copii/ml	29/30	28	96,6%	33,59	1,01

(b) Flux de lucru Direct

Țintă/Tulpină	Nivel	U.M.	Nr. rezultate valide (n/N)	Nr. poz.	% detecție	Ct mediu	Abatere medie Ct
Virus gripal A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,92	0,69
Virus gripal A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,75	0,57
Virus gripal A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	32,96	0,48
Virus gripal A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,67	0,48
Virus gripal B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	29/30	28	96,6%	31,74	1,19
Virus gripal B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,0033	TCID ₅₀ /ml	10/10	8	80%	34,88	0,95
	0,01	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	34,22	0,51
Virus gripal B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,55	0,38
Virus gripal B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	0,75	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,33	0,74
RSV A2	1,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	31,87	0,95
RSV B (WV/14617/85)	0,05	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	32,46	0,72
SARS-CoV-2, Primul standard internațional al OMS	150	UI/ml	30/30	29	96,7%	33,78	0,77
SARS-CoV-2, USA-WA1/2020 izolat	200	copii/ml	30/30	30	100%	34,18	0,83

Tabelul 6. Ratele de detecție pozitivă pentru confirmarea ratei de succes a limitei de detecție pentru NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay – N96, (a) flux de lucru pretratată; (b) flux de lucru direct

(a) Flux de lucru Pretratată

Țintă/Tulpină	Nivel	U.M.	Nr. rezultate valide (n/N)	Nr. poz.	% detecție	Ct mediu	Abatere medie Ct
Virus gripal A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,05	0,81
Virus gripal A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	33,53	0,75
Virus gripal A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	32,33	1,11
Virus gripal A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	32,98	0,96
Virus gripal B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	32,75	0,69
Virus gripal B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,0033	TCID ₅₀ /ml	10/10	4	40%	34,75	0,58
	0,01	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,91	0,75
Virus gripal B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	33,25	0,97
Virus gripal B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	1	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	33,21	0,96
RSV A2	0,5	TCID ₅₀ /ml	29/30	28	96,6%	32,39	1,10
RSV B (WV/14617/85)	0,05	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	32,06	0,76
SARS-CoV-2, Primul standard internațional al OMS	150	UI/ml	30/30	29	96,7%	33,79	0,67
SARS-CoV-2, USA-WA1/2020 izolat	150	copii/ml	30/30	29	96,7%	33,59	1,05

(b) Flux de lucru Direct

Țintă/Tulpină	Nivel	U.M.	Nr. rezultate valide (n/N)	Nr. poz.	% detecție	Ct mediu	Abatere medie Ct
Virus gripal A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,42	0,54
Virus gripal A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,35	1,10
Virus gripal A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	32,17	1,24
Virus gripal A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,22	0,50
Virus gripal B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	32,78	0,56
Virus gripal B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	34,21	0,50
Virus gripal B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,41	0,65
Virus gripal B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	0,75	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	33,36	1,04
RSV A2	1,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	32,29	0,99
RSV B (WV/14617/85)	0,05	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	32,17	0,75
SARS-CoV-2, Primul standard internațional al OMS	150	UI/ml	30/30	29	96,7%	33,50	0,78
SARS-CoV-2, USA-WA1/2020 izolat	200	copii/ml	29/30	29	100%	34,45	0,39

Nivelurile acceptate ca valori ale limitei de detecție pentru NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay pe sistemele NeuMoDx System sunt sintetizate în *Tabelul 7*.

Tabelul 7. Sumarul studiului privind limitele de detecție

Țintă	Tulpină	Limită de detecție		
		Flux de lucru Pretrat	Flux de lucru Direct	U.M.
Influenza A (Gripă de tip A) – H1N1	Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	0,06	TCID ₅₀ /ml
	Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	0,5	
Influenza A (Gripă de tip A) – H3N2	Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	0,5	
	Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	0,5	
Influenza B (Gripă de tip B) – linia Victoria	Hong Kong/286/2017	0,03	0,03	
	Colorado/6/2017	0,01	0,01	
	Florida/78/2015	0,25	0,25	
Influenza B (Gripă de tip B) – linia Yamagata	Phuket/3073/2013	1	0,75	
RSV A	A2	0,5	1,25	
RSV B	(WV/14617/85)	0,05	0,05	
SARS-CoV-2	Primul standard internațional al OMS	150	150	UI/ml
	USA-WA1/2020 izolat	150	200	copii/ml

Interferența competitivă pentru organisme țintă: virusul gripal A, virusul gripal B, RSV și SARS-CoV-2

Interferența competitivă a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay a fost evaluată utilizând paneluri de ținte virale, îmbogățite în eșantioane clinice negative pe tampon nazofaringian, recoltate în UVT. Zece paneluri au conținut una sau două ținte în apropierea limitei proprii de detecție (3-10X LoD) și o singură țintă la $\geq 1E5$ copii/ml, reprezentând ținta coinfectată. Un al unsprezecelea panel a conținut câte una dintre cele patru ținte, la 2X LoD. Prezența a două până la trei virusuri la concentrații variate într-un singur eșantion și efectele acestora asupra sensibilității analitice sunt prezentate în *Tabelul 8*.

Rezultatele negative la virusul gripal A și RSV A trebuie presupuse în probele cu un rezultat SARS-CoV-2 pozitiv, iar rezultatele negative la RSV trebuie presupuse în probele cu un rezultat pozitiv la virusul gripal A. Studiile privind interferența competitivă au demonstrat că virusul SARS-CoV-2, atunci când este prezent la concentrații mai mari sau egale cu $1E5$ copii/ml, poate inhiba detecția și amplificarea ARN-ului virusului gripal A și al RSV A, dacă este prezent la $1,5$ TCID₅₀/ml sau, respectiv, la $6,25$ TCID₅₀/ml sau sub aceste valori și poate genera rezultate fals negative. În plus, virusul gripal A, atunci când este prezent la concentrații mai mari sau egale cu $1E5$ cp/ml, poate inhiba detecția și amplificarea ARN-ului virusului RSV A, dacă este prezent la $3,75$ TCID₅₀/ml sau sub această valoare și poate genera rezultate fals negative pentru RSV. În cazul în care coinfectia cu virusul gripal A sau RSV este suspectată în probele cu un rezultat SARS-CoV-2 pozitiv sau coinfectia cu virusul RSV este suspectată în probele cu un rezultat pozitiv la virusul gripal A, proba trebuie retestată cu o altă testare omologată, aprobată sau autorizată de FDA pentru gripă sau RSV, dacă detecția virusului gripal sau RSV ar modifica gestionarea clinică.

Tabelul 8. Sumarul studiului interferenței competitive

Panou	Țintă	Nivel de panel	Conc. țintă	Rezultate valide	Nr. poz.	% detecție
1	Gripă de tip A	3X	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV A	3X	3,75 TCID ₅₀ /ml	24	23	96%
	Gripă de tip B	Ridicat	1E5 cp/ml	24	24	100%
2 (Testare 1)	Gripă de tip A	3X	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	19	79%
	RSV A	3X	3,75 TCID ₅₀ /ml	24	8	33%
	SARS-CoV-2	Ridicat	1E5 cp/ml	24	24	100%
2 (Testare 2)	Gripă de tip A	5X	2,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV A	5X	6,25 TCID ₅₀ /ml	24	16	67%
	SARS-CoV-2	Ridicat	1E5 cp/ml	24	24	100%
2 (Testare 3)	Gripă de tip A	5X	2,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV A	10X	12,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	SARS-CoV-2	Ridicat	1E5 cp/ml	24	24	100%
3	Gripă de tip A	3X	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	SARS-CoV-2	3X	450 UI/ml	24	24	100%
	RSV B	Ridicat	1E5 cp/ml	24	24	100%
4	Gripă de tip B	3X	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV B	3X	0,15 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	Gripă de tip A	Ridicat	1E5 cp/ml	24	24	100%
5	Gripă de tip B	3X	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV B	3X	0,15 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	SARS-CoV-2	Ridicat	1E5 cp/ml	24	24	100%
6	Gripă de tip B	3X	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV B	Ridicat	1E5 cp/ml	24	24	100%
7	SARS-CoV-2	3X	450 UI/ml	24	24	100%
	Gripă de tip A	Ridicat	1E5 cp/ml	24	24	100%
8	SARS-CoV-2	3X	450 UI/ml	24	24	100%
	Gripă de tip B	Ridicat	1E5 cp/ml	24	24	100%
9 (Testare 1)	RSV A	3X	3,75 TCID ₅₀ /ml	24	20	83%
	Gripă de tip A	Ridicat	1E5 cp/ml	24	24	100%
9 (Testare 2)	RSV A	5X	6,25 TCID ₅₀ /ml	24	23	96%
	Gripă de tip A	Ridicat	1E5 cp/ml	24	24	100%
10	RSV B	3X	0,15 TCID ₅₀ /ml	24	23	96%
	Gripă de tip B	Ridicat	1E5 cp/ml	24	24	100%
11	Gripă de tip A	2X	1 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	Gripă de tip B	2X	0,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV B	2X	0,1 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	SARS-CoV-2	2X	300 UI/ml	24	24	100%

Reactivitatea analitică și inclusivitatea

Reactivitatea analitică a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay a fost evaluată pe baza mai multor tulpini/izolate de virus al gripei A, virus al gripei B, RSV și SARS-CoV-2. Reactivitatea fiecărei tulpini/fiecărui izolat a fost caracterizată în două părți. Evaluarea inițială a nivelurilor de reactivitate pentru fiecare țintă a fost efectuată cu fiecare tulpină țintă în parte, testată la 3 concentrații în matrice simulată de tampon nazofaringian (pregătită cu 3.000 de celule epiteliale umane per ml de UVT), *Tabelul 9*. În cea de-a doua parte, cel mai mic nivel care a obținut o rată pozitivă de 100 % în faza 1 a fost confirmat ca nivel de reactivitate, prin testarea a minimum 20 de replicare, *Tabelul 10*. Au fost testate în total 14 tulpini ale virusului gripal A, 6 tulpini ale virusului gripal B, 1 izolat al virusului RSV A, 1 izolat al virusului RSV B și 6 izolate ale virusului SARS-CoV-2.

Tabelul 9. Tulpini ale virusului gripal A, virusului gripal B, virusului RSV A, virusului RSV B și virusului SARS-CoV-2 – analiza preliminară a nivelului de reactivitate

Analiză preliminară						
Țintă	Tulpină	Niveluri testate	Nr. rezultate valide	% poz		
Gripă de tip A	H1N1	Brisbane/02/2018	0,5 TCID ₅₀ /ml	8	75,0%	
			1,5 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			4,5 TCID ₅₀ /ml	7	100%	
		Guangdong-Moanan/SWL 1536/2019	0,33 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%	
			1 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			3 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
		Michigan/272/2017 (H1N1)pdm09	0,17 TCID ₅₀ /ml	6	50%	
			0,5 TCID ₅₀ /ml	6	100%	
			1,5 TCID ₅₀ /ml	6	100%	
		A/Iowa/53/2015 (H1N1)pdm09	0,33 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%	
			1 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			3 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
		A/Bangladesh/3002/2015 (H1N1)pdm09	3,3 CEID ₅₀ /ml	8	62,5%	
			10 CEID ₅₀ /ml	8	87,5%	
			30 CEID ₅₀ /ml	8	100%	
		H3N2	Elveția/9715293/2013 (H3N2)	0,17 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%
				0,5 TCID ₅₀ /ml	8	100%
				1,5 TCID ₅₀ /ml	8	100%
	Hong Kong/4801/2014 (H3N2)		0,15 TCID ₅₀ /ml	7	28,6%	
			0,5 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			1,5 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
	Kansas/14/2017 (H3N2)		2,67 TCID ₅₀ /ml	8	50%	
			8 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%	
			24 TCID ₅₀ /ml	7	100%	
	A/Wisconsin/04/2018 (H3N2)		3,3 CEID ₅₀ /ml	6	83,3%	
			10 CEID ₅₀ /ml	6	100%	
			30 CEID ₅₀ /ml	6	100%	
	A/California/02/2014 (H3N2)		0,01 TCID ₅₀ /ml	8	85,7%	
			0,03 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			0,1 TCID ₅₀ /ml	7	100%	
			0,33 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			1 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			3 TCID ₅₀ /ml	7	100%	
	H2N2	A2/Japonia/305/57 (H2N2)	10,87 pg/ml ¹	8	100%	
			32,6 pg/ml ¹	8	87,5%	
			97,8 pg/ml ¹	7	100%	
	H5N2	A/Rață/Pennsylvania/10218/84 (H5N2)	8 pg/ml ¹	8	100%	
			25 pg/ml ¹	8	100%	
			75 pg/ml ¹	7	100%	
	H7N9	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	1:3E ⁵	8	50%	
			1:1E ⁵	7	87,5%	
			1:3.3E ⁴	8	100%	
H10N7	A/găini/Germania/N/49 (H10N7)	22,67 pg/ml ¹	8	100%		
		68 pg/ml ¹	8	100%		
		204 pg/ml ¹	8	100%		

Analiză preliminară							
Țintă	Tulpină		Niveluri testate	Nr. rezultate valide	% poz		
Gripă de tip B	Linia Victoria	Malaysia/2506/2004 (Victoria)	1 TCID ₅₀ /ml	8	100%		
			3 TCID ₅₀ /ml	8	100%		
			9 TCID ₅₀ /ml	8	100%		
		Washington/02/2019 (Victoria)	2,5 CEID ₅₀ /ml	8	25,0%		
			5 CEID ₅₀ /ml	8	87,5%		
			15 CEID ₅₀ /ml	8	100%		
	B/Maryland/15/2016 (Victoria)	0,01 TCID ₅₀ /ml	12	91,7%			
		0,03 TCID ₅₀ /ml	8	100%			
		0,1 TCID ₅₀ /ml	8	100%			
		0,33 TCID ₅₀ /ml	16	100%			
		1 TCID ₅₀ /ml	8	100%			
		3 TCID ₅₀ /ml	8	100%			
Gripă de tip B (continuare)	Linia Yamagata	Wisconsin/1/2010 (Yamagata)	0,17 CEID ₅₀ /ml	8	75,0%		
			0,5 CEID ₅₀ /ml	8	100%		
			1,5 CEID ₅₀ /ml	8	100%		
		B/Utah/09/2014 (linia Yamagata)	0,06 CEID ₅₀ /ml	8	25,0%		
			0,19 CEID ₅₀ /ml	8	87,5%		
			0,56 CEID ₅₀ /ml	7	85,7%		
	B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N) (Yamagata)	1,7 CEID ₅₀ /ml	6	100%			
		5 CEID ₅₀ /ml	6	100%			
		15 CEID ₅₀ /ml	6	100%			
	RSV	RSVA	A (lungă)	0,33 TCID ₅₀ /ml	8	25,0%	
				1 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%	
				3 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
RSVB		B (9320)	0,67 ufp/ml	8	37,5%		
			2 ufp/ml	8	100%		
			6 ufp/ml	7	100%		
SARS-CoV-2	SUA/CA-Stanford-15_S02/2021 (Kappa, B.1.617.1)	0,06 TCID ₅₀ /ml	0,06 TCID ₅₀ /ml	8	0%		
			0,17 TCID ₅₀ /ml	8	12,5%		
			0,5 TCID ₅₀ /ml	8	37,5%		
			1,5 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%		
			4,5 TCID ₅₀ /ml	8	100%		
		13,5 TCID ₅₀ /ml	13,5 TCID ₅₀ /ml	8	100%		
			SUA/CA_CDC_5574/2020 (Alpha, B.1.1.7)	0,006 TCID ₅₀ /ml	0,006 TCID ₅₀ /ml	8	62,5%
					0,02 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%
					0,06 TCID ₅₀ /ml	8	100%
					0,17 TCID ₅₀ /ml	7	100%
		0,5 TCID ₅₀ /ml			7	100%	
		1,5 TCID ₅₀ /ml	1,5 TCID ₅₀ /ml	7	100%		
			Japonia/TY7-503/2021 (Gamma, Brazilia P.1)	0,002 TCID ₅₀ /ml	0,002 TCID ₅₀ /ml	8	62,5%
					0,006 TCID ₅₀ /ml	8	100%
					0,02 TCID ₅₀ /ml	8	100%
	0,06 TCID ₅₀ /ml				8	100%	
	0,17 TCID ₅₀ /ml	8			100%		
	0,5 TCID ₅₀ /ml	0,5 TCID ₅₀ /ml	8	100%			
		SUA/PHC658/2021 (Delta, B.1.617.2)	0,001 TCID ₅₀ /ml	0,001 TCID ₅₀ /ml	8	37,5%	
				0,004 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%	
				0,013 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
				0,04 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
	0,11 TCID ₅₀ /ml			8	100%		
	0,33 TCID ₅₀ /ml	0,33 TCID ₅₀ /ml	4	100%			
		Italia-INMI1	7,44 cp/ml ¹	7,44 cp/ml ¹	8	37,5%	
				22,33 cp/ml ¹	8	87,5%	
				67 cp/ml ¹	8	100%	
				200 cp/ml ¹	8	100%	
	600 cp/ml ¹			8	100%		
	Izolat Hong Kong/VM20001061/2020	7,44 cp/ml ¹	7,44 cp/ml ¹	8	25,0%		
			22,33 cp/ml ¹	8	87,5%		
			67 cp/ml ¹	7	100%		
			200 cp/ml ¹	7	100%		
			600 cp/ml ¹	7	100%		

¹Aceste variante au fost furnizate doar cu o cuantificare a „ARN-ului total”, care include atât ARN viral, cât și ARN al celei gazdă.

Tabelul 10. Tulpini ale virusului gripal A, virusului gripal B, virusului RSV A, virusului RSV B și virusului SARS-CoV-2 – confirmarea nivelului de reactivitate

Confirmare					
Țintă	Tulpină		Nivel	Nr. rezultate valide	% poz
Gripă de tip A	H1N1	Brisbane/02/2018	1,0 TCID ₅₀ /ml	23	91,3%
			1,5 TCID ₅₀ /ml	23	100%
		Guangdong-Moanan/SWL 1536/2019	0,5 TCID ₅₀ /ml	23	82,6%
			1,0 TCID ₅₀ /ml	24	100%
		Michigan/272/2017 (H1N1)pdm09	0,5 TCID ₅₀ /ml	24	100%
			0,33 TCID ₅₀ /ml	24	85,7%
		A/Iowa/53/2015 (H1N1)pdm09	0,67 TCID ₅₀ /ml	24	95,2%
		A/Bangladesh/3002/2015 (H1N1)pdm09	10 CEID ₅₀ /ml	24	100%
	H3N2	Elveția/9715293/2013 (H3N2)	0,25 TCID ₅₀ /ml	24	87,0%
			0,5 TCID ₅₀ /ml	24	100%
		Hong Kong/4801/2014 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /ml	23	91,3%
			1,0 TCID ₅₀ /ml	23	95,7%
		Kansas/14/2017 (H3N2)	12 TCID ₅₀ /ml	23	100%
			5 CEID ₅₀ /ml	23	91,3%
		A/Wisconsin/04/2018 (H3N2)	10 CEID ₅₀ /ml	23	100%
		A/California/02/2014 (H3N2)	0,01 TCID ₅₀ /ml	24	91,7%
			0,03 TCID ₅₀ /ml	24	100%
	H2N2	A2/Japonia/305/57 (H2N2)	10,87 pg/ml ¹	24	100%
H5N2	A/Rață/Pennsylvania/10218/84 (H5N2)	2 pg/ml ¹	24	83,3%	
		4 pg/ml ¹	23	100%	
		8 pg/ml ¹	23	100%	
H7N9	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	1:3.3E4 ¹	24	95,7%	
H10N7	A/găini/Germania/N/49 (H10N7)	7,6 pg/ml ¹	23	73,9%	
		22,67 pg/ml ¹	23	100%	
Gripă de tip B	Linia Victoria	Malaysia/2506/2004 (Victoria)	1 TCID ₅₀ /ml	23	95,7%
			5 CEID ₅₀ /ml	24	95,8%
		Washington/02/2019 (Victoria)	10 CEID ₅₀ /ml	24	100%
			0,01 TCID ₅₀ /ml	23	83,3%
		B/Maryland/15/2016 (Victoria)	0,03 TCID ₅₀ /ml	24	100%
	Linia Yamagata	Wisconsin/1/2010 (Yamagata)	0,05 CEID ₅₀ /ml	24	100%
			0,56 TCID ₅₀ /ml	24	87,0%
		B/Utah/09/2014 (linia Yamagata)	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	100%
		0,75 TCID ₅₀ /ml	24	87,5%	
	B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N) (Yamagata)	1,5 TCID ₅₀ /ml	20	95,0%	
		3,0 TCID ₅₀ /ml	24	100%	
RSV	RSVA	A (lungă)	2 ufp/ml	24	91,7%
			4 ufp/ml	24	95,8%
	RSVB	B (9320)	0,15 ufp/ml	24	100%
			0,3 ufp/ml	21	100%
SARS-CoV-2	SUA/CA-Stanford-15_S02/2021 (Kappa, B.1.617.1)		1,5 TCID ₅₀ /ml	24	100%
			3 TCID ₅₀ /ml	24	100%
			4,5 TCID ₅₀ /ml	24	100%
			0,02 TCID ₅₀ /ml	24	95,8%
			0,06 TCID ₅₀ /ml	24	100%
			0,006 TCID ₅₀ /ml	24	95,8%
	SUA/CA_CDC_5574/2020 (Alpha, B.1.1.7)		0,006 TCID ₅₀ /ml	24	87,5%
			0,013 TCID ₅₀ /ml	24	100%
		Japonia/TY7-503/2021 (Gamma, Brazilia P.1)	22 cp/ml ¹	24	95,8%
			67 cp/ml ¹	24	100%
SUA/PHC658/2021 (Delta, B.1.617.2)		22 cp/ml ¹	24	57,1%	
		67 cp/ml ¹	24	100%	
SARS-CoV-2 (continuare)	Italia-INMI1				
	Izolată Hong Kong/VM20001061/2020				

¹Aceste variante au fost furnizate doar cu o cuantificare a „ARN-ului total”, care include atât ARN viral, cât și ARN al celulei gazdă.

Reactivitatea NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay în detecția diferitelor izolate clinice de SARS-CoV-2 a fost demonstrată prin efectuarea unei analize *in silico* cu soluțiile de amorsare și sondele analizei pe toate secvențele disponibile în GenBank (în noiembrie 2021) folosind instrumentul web NCBI Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Rezultatele arată că soluțiile de amorsare și sonda pentru SARS-CoV-2 au o omologie 100% cu peste 98% dintre secvențe. În general, soluțiile de amorsare și sonda au o omologie > 95% cu toate secvențele analizate.

Reproductibilitatea la nivel de laborator

Reproductibilitatea la nivel de laborator pentru NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay a fost caracterizată prin testarea a zece panouri de virus gripal A, virus gripal B, RSV A, RSV B sau SARS-CoV-2, îmbogățite individual la 2 niveluri [moderat pozitiv (5x LoD) și slab pozitiv (2x LoD)] și a unui panel negativ. Panelurile au fost testate la nivelul a trei loturi de bandetele NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip produse sub marca GMP, la nivelul a două sisteme NeuMoDx System și în șase zile neconsecutive. Membrii panelului au fost pregătiți în eșantioane pe tampon nazofaringian simulate, preparate cu 3.000 de celule epiteliale umane per ml de mediu Universal Viral Transport (UVT) și au îmbogățit o tulpină reprezentativă a virusului gripal A, a virusului gripal B, a virusului RSV A, a virusului RSV B și a virusului SARS-CoV-2. Bandetele NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip și NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) au fost identificate ca reactivi cheie specifici testării, capabili să influențeze performanța analizei și, prin urmare, s-a utilizat fluxul de lucru pretratată pentru încorporarea VVLB în studiu. Abaterile standard pentru valorile Ct în cadrul și între trei loturi de bandete de testare NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, două sisteme NeuMoDx Molecular System a fost $\leq 1,2$, cu coeficienții de variație (Coefficient of Variation, CV) $\leq 4,0\%$ pentru toate țintele, demonstrând o reproductibilitate excelentă, *Tabelele 11, 12 și 13*.

Tabelul 11. Reproductibilitatea bandetelor de testare NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip la nivelul tuturor sistemelor/loturilor/zilelor

Țintă	Nivel țintă	Valid N	% Pozitiv	Ct mediu	SD	%CV
Gripă de tip A	Mod poz	72	100%	31,21	0,59	1,9%
	Slab poz	72	100%	32,01	0,58	1,8%
Gripă de tip B	Mod poz	72	100%	31,02	0,39	1,3%
	Slab poz	72	100%	31,88	0,56	1,7%
RSV A	Mod poz	72	100%	29,71	0,95	3,2%
	Slab poz	72	100%	30,75	1,18	3,8%
RSV B	Mod poz	72	100%	28,43	0,53	1,9%
	Slab poz	72	100%	29,45	0,56	1,9%
SARS-CoV-2	Mod poz	72	100%	32,70	0,51	1,5%
	Slab poz	72	100%	33,68	0,56	1,7%
Adevărat negativ		72	0%	N/A (Nu se aplică)	N/A (Nu se aplică)	N/A (Nu se aplică)

Tabelul 12. Reproductibilitatea bandetelor de testare NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip după fiecare sistem

Panou		N000096					N000012				
Țintă	Nivel țintă	Valid N	% Pozitiv	Ct mediu	SD	%CV	Valid N	% Pozitiv	Ct mediu	SD	%CV
Gripă de tip A	Mod poz	36	100%	31,37	0,66	2,1%	36	100%	31,05	0,46	1,5%
	Slab poz	36	100%	32,07	0,65	2,0%	36	100%	31,95	0,51	1,6%
Gripă de tip B	Mod poz	36	100%	31,10	0,40	1,3%	36	100%	30,94	0,37	1,2%
	Slab poz	36	100%	31,84	0,57	1,8%	36	100%	31,91	0,55	1,7%
RSV A	Mod poz	36	100%	29,94	0,97	3,2%	36	100%	29,49	0,89	3,0%
	Slab poz	36	100%	30,93	1,19	3,8%	36	100%	30,57	1,16	3,8%
RSV B	Mod poz	36	100%	28,60	0,58	2,0%	36	100%	28,26	0,42	1,5%
	Slab poz	36	100%	29,60	0,53	1,8%	36	100%	29,29	0,56	1,9%
SARS-CoV-2	Mod poz	36	100%	32,80	0,56	1,7%	36	100%	32,61	0,43	1,3%
	Slab poz	36	100%	33,83	0,64	1,9%	36	100%	33,52	0,42	1,2%
Adevărat negativ		36	0%	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	36	0%	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică

Tabelul 13. Reproductibilitatea bandetelor de testare NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip după fiecare lot de reactivi

Panou		Lot 1				Lot 2				Lot 3			
Țintă	Nivel țintă	Valid N	Ct mediu	SD	%CV	Valid N	Ct mediu	SD	%CV	Valid N	Ct mediu	SD	%CV
Gripă de tip A	Mod poz	24	31,06	0,38	1,2%	24	31,49	0,62	2,0%	24	31,08	0,65	2,1%
	Slab poz	24	32,02	0,59	1,8%	24	32,18	0,50	1,6%	24	31,82	0,61	1,9%
Gripă de tip B	Mod poz	24	31,05	0,39	1,2%	24	31,08	0,47	1,5%	24	30,94	0,29	0,9%
	Slab poz	24	31,93	0,36	1,1%	24	32,01	0,77	2,4%	24	31,69	0,42	1,3%
RSV A	Mod poz	24	29,04	0,71	2,4%	24	30,40	0,66	2,2%	24	29,69	0,94	3,2%
	Slab poz	24	31,53	0,50	1,6%	24	29,45	0,79	2,7%	24	31,25	0,87	2,8%
RSV B	Mod poz	24	28,65	0,54	1,9%	24	28,29	0,52	1,8%	24	28,35	0,47	1,7%
	Slab poz	24	29,31	0,48	1,6%	24	29,46	0,64	2,2%	24	29,57	0,55	1,8%
SARS-CoV-2	Mod poz	24	32,82	0,43	1,3%	24	32,70	0,56	1,7%	24	32,59	0,50	1,5%
	Slab poz	24	33,42	0,58	1,7%	24	33,80	0,57	1,7%	24	33,81	0,47	1,4%
Adevărat negativ		24	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	24	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	24	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică

Performanța clinică

Caracteristicile de performanță clinică ale NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay au fost determinate utilizând un studiu comparativ al metodelor retrospective interne, utilizând eșantioane reziduale pe tampon nazofaringiene (Nasopharyngeal, NP) provenite din 4 locații de laborator clinic diferite din punct de vedere geografic. Diluțiile probelor clinice pozitive la SARS-CoV-2 au fost, de asemenea, incluse în acest studiu pentru a demonstra sensibilitatea clinică din apropierea LoD.

Elementele de identificare ale eșantioanelor reziduale pe tampon nazofaringiene, recoltate de la pacienți simptomatici, au fost anulate, eșantioanele primind câte un număr unic de identificare din partea laboratorului furnizor; acestea au stabilit o listă confidențială, care lega ID-ul pacientului de eșantioanele cu elemente de identificare anulate testate pentru studiu. În total, pentru acest studiu au fost recoltate 747 de eșantioane individuale pe tampon nazofaringian. Toate eșantioanele au fost procesate atât prin intermediul fluxului de lucru direct, cât și al fluxului de lucru pretrat, producând în ultimă instanță 739 de rezultate valide și 8 rezultate nevalide în fluxul de lucru direct și 736 de rezultate valide și 11 nevalide în fluxul de lucru pretrat. Dintre aceste probe valide, 121 au fost dedicate exclusiv evaluării țintelor gripă de tip A, gripă de tip B și RSV. Probele pozitive la gripa de tip A reprezintă 54 dintre aceste eșantioane, în timp ce probele pozitive la gripa de tip B sunt 34, iar probele pozitive la RSV sunt 33. În acest grup de 121 de probe, rezultatele pentru toate cele 3 ținte de interes au fost puse la dispoziție de laboratoarele clinice furnizoare. Prin urmare, acest grup de probe pozitive a furnizat, de asemenea, 67 de rezultate negative la gripa de tip A, 87 de rezultate negative la gripa de tip B și 88 de rezultate negative la RSV. Rezultatele negative menționate anterior au fost suplimentate în continuare cu 59 de eșantioane clinice, cu rezultate negative confirmate prin analiza comparativă pentru toate cele 4 ținte. Global, 106 probe au fost identificate ca pozitive la SARS-CoV-2 în ambele fluxuri de lucru. Probele clinice negative la SARS-CoV-2 au fost confirmate cu un rezultat NeuMoDx valid în 512 probe prin fluxul de lucru direct și 509 probe prin fluxul de lucru pretrat.

Starea de testare a acestor probe a fost ascunsă operatorului, pentru punerea în aplicare a unui „studiu simplu orb”. Rezultatele raportate de dispozitivele moleculare comercializate legal, aprobate de FDA și CE, utilizate de laboratoare ca testare a standardului de îngrijire au fost folosite pentru a efectua analiza comparativă a metodelor.

Rezultatele NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay au generat o sensibilitate clinică de 98,1 % pentru ambele fluxuri de lucru pentru ținta gripă de tip A și o specificitate clinică de 100 % și 99,2 % pentru fluxul de lucru direct și, respectiv, pentru fluxul de lucru pretrat (Tabelul 14A). Rezultatele pentru ținta virusului gripal B au oferit o sensibilitate clinică și o specificitate clinică de 97,1% și, respectiv, 100%, pentru ambele fluxuri de lucru (Tabelul 14B). Rezultatele pentru ținta RSV (nediferențiat) au generat o sensibilitate clinică de 97 % pentru ambele fluxuri de lucru și o specificitate clinică de 99,3 % și de 98,6 % în fluxul de lucru direct și, respectiv, fluxul de lucru pretrat (Tabelul 14C). Rezultatele pentru ținta SARS-CoV-2 au generat o sensibilitate clinică de 97,2 % pentru ambele fluxuri de lucru și o specificitate clinică de 98,4 % în fluxul de lucru direct și de 98,2 % în fluxul de lucru pretrat (Tabelul 14D). Limita inferioară și cea superioară ale intervalelor de încredere 95 % sunt prezentate în Tabelele 14A, 14B, 14C și 14D de mai jos și au fost calculate utilizând procedura Wilson cu corecția continuității.

Tabelul 14A. Sumarul performanței clinice – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Detecția virusului gripal A
(a) flux de lucru Direct și (b) flux de lucru Pretrat

(a) Flux de lucru Direct

Gripă de tip A		Rezultatul testării de referință aprobat FDA/CE		
		POZ	NEG	Total
Rezultatul testării NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	53	0	53
	NEG	1	126	127
	Total	54	126	180
Sensibilitate clinică (Gripă de tip A) = 98,1 % (88,8-99,9 %)				
Specificitate clinică (Gripă de tip A) = 100 % (96,3-100 %)				

(b) Flux de lucru Pretrat

Gripă de tip A		Rezultatul testării de referință aprobat FDA/CE		
		POZ	NEG	Total
Rezultatul testării NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	53	1	54
	NEG	1	125	126
	Total	54	126	180
Sensibilitate clinică (Gripă de tip A) = 98,1 % (88,8-99,9 %)				
Specificitate clinică (Gripă de tip A) = 99,2 % (95,0-100 %)				

Tabelul 14B. Sumarul performanței clinice – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Detecția virusului gripal B
(a) flux de lucru Direct și (b) flux de lucru Pretrat

(a) Flux de lucru Direct

Gripă de tip B		Rezultatul testării de referință aprobat FDA/CE		
		POZ	NEG	Total
Rezultatul testării NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	33	0	33
	NEG	1	146	147
	Total	34	146	180
Sensibilitate clinică (Gripă de tip B) = 97,1 % (82,9-99,8 %)				
Specificitate clinică (Gripă de tip B) = 100 % (96,8-100 %)				

(b) Flux de lucru Pretrat

Gripă de tip B		Rezultatul testării de referință aprobat FDA/CE		
		POZ	NEG	Total
Rezultatul testării NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	33	0	33
	NEG	1	146	147
	Total	34	146	180
Sensibilitate clinică (Gripă de tip B) = 97,1 % (82,9-99,8 %)				
Specificitate clinică (Gripă de tip B) = 100 % (96,8-100 %)				

Tabelul 14C. Sumarul performanței clinice – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Detecția virusului RSV prin
(a) fluxul de lucru direct și (b) fluxul de lucru pretrat

(a) Flux de lucru Direct

RSV		Rezultatul testării de referință aprobat FDA/CE		
		POZ	NEG	Total
Rezultatul testării NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	32	1	33
	NEG	1	146	147
	Total	33	147	180
Sensibilitate clinică (RSV) = 97,0 % (82,5-99,8 %)				
Specificitate clinică (RSV) = 99,3 % (95,7-100 %)				

(b) Flux de lucru Pretrat

RSV		Rezultatul testării de referință aprobat FDA/CE		
		POZ	NEG	Total
Rezultatul testării NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	32	2	34
	NEG	1	145	146
	Total	33	147	180
Sensibilitate clinică (RSV) = 97,0 % (82,5-99,8 %)				
Specificitate clinică (RSV) = 98,6 % (94,7-99,8 %)				

Tabelul 14D. Sumarul performanței clinice – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Detecția virusului SARS-CoV-2 prin (a) flux de lucru Direct și (b) flux de lucru Pretrat

(a) Flux de lucru Direct

SARS-CoV-2		Rezultatul testării de referință aprobat FDA/CE		
		POZ	NEG	Total
Rezultatul testării NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	103	8	111
	NEG	3	504	507
	Total	106	512	618
Sensibilitate clinică (SARS-CoV-2) = 97,2 % (91,3-99,3 %)				
Specificitate clinică (SARS-CoV-2) = 98,4 % (96,8-99,3 %)				

(b) Flux de lucru Pretrat

SARS-CoV-2		Rezultatul testării de referință aprobat FDA/CE		
		POZ	NEG	Total
Rezultatul testării NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	103	9	112
	NEG	3	500	503
	Total	106	509	615
Sensibilitate clinică (SARS-CoV-2) = 97,2 % (91,3-99,3 %)				
Specificitate clinică (SARS-CoV-2) = 98,2 % (96,5-99,1 %)				

Specificitate analitică și reactivitate încrucișată

Specificitatea analitică a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay a fost evaluată prin testarea unui panel de 47 de organisme, constând în 22 de tulpini virale, 24 bacteriene și 1 tulpină de drojdie, reprezentând agenți patogeni respiratori obișnuiți sau floră prezentă de obicei în tractul respirator. Bacteriile și drojdia au fost testate la concentrații de ~6E6 UFC/ml sau UFI/ml, cu excepția cazului în care se menționează altfel. Virusurile au fost testate la concentrații de 1E5 până la 1E6 TCID₅₀/ml sau copii/ml, u excepția cazului în care se menționează altfel. Pentru a confirma posibila reactivitate încrucișată între SARS-CoV-2 și familia Coronavirus (229E, OC43, NL63, MERS și SARS-1) împreună cu *Legionella pneumophila*, au fost incluse replicare suplimentare (> 20) pentru îndeplinirea cerinței MDCG pentru dispozitivele medicale de diagnosticare SARS-CoV-2 in vitro. Specificitatea analitică a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay a fost de 100 % pentru virusul gripal A, virusul gripal B, RSV A, RSV B și SARS-CoV-2.

HKU1 a fost un alt membru al familiei Coronavirus care trebuia testat, totuși, din cauza indisponibilității ARN-ului viral și genomic, au fost testate 4 replicare de material sintetic. De asemenea, a fost efectuată o analiză *in silico* între soluțiile de amorsare și sondele NeuMoDx SARS-CoV-2 și genomurile de coronavirus HKU1 publicate în GenBank pentru a investiga posibila reactivitate încrucișată. În total, s-au obținut 57 de secvențe de genomuri HKU1 din baza de date NCBI Virus a NIH. Toate secvențele de HKU1 au prezentat 3 sau mai multe nepotriviri cu fiecare dintre soluțiile de amorsare și sondele NeuMoDx SARS-CoV-2. Nu a fost detectată nicio omologie apropiată. Prin urmare, nu se preconizează apariția unei reactivități încrucișate între Coronavirus HKU1 și NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.

Tabelul 15. Rezultatele specificității analitice

Organism	Concentrație	Gripă de tip A	Gripă de tip B	RSV	SARS-CoV-2
Adenovirus tip 1	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Adenovirus tip 7	5E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Bordetella pertussis</i> 1176	10 ng/ml	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	10 ng/ml	-	-	-	-
<i>Corynebacterium xerosis</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
EBV	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Hemophilus influenzae</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
HHV 6A	1E6 cp/ml	-	-	-	-
HHV 7	1E6 cp/ml	-	-	-	-
HHV 8	1E6 cp/ml	-	-	-	-
HSV 1	1E6 cp/ml	-	-	-	-
HSV 2	1E6 cp/ml	-	-	-	-
Coronavirus uman 229E	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Coronavirus uman HKU1	1E6 cp/ml	-	-	-	-

Organism	Concentrație	Gripă de tip A	Gripă de tip B	RSV	SARS-CoV-2
Coronavirus uman NL63	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Coronavirus uman OC43	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Enterovirus uman 68	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Metapneumovirus uman	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Virusul parainfluenza umană tip 1	5E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Virusul parainfluenza umană tip 2	5E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Virusul parainfluenza umană tip 3	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Rinovirus uman tip 1A	5E3 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus brevis</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus jensoni</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus lactis</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
Virus rujeolic	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Coronavirus MERS EMC/2012	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
Virusul oreionului	5E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero A	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero B	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero C	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero D	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
Coronavirus SARS	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
Virus gripal A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016	3x LoD	+	-	-	-
Virus gripal B, Florida/78/2015 (Victoria)	3x LoD	-	+	-	-
RSV A2	3x LoD	-	-	+	-
RSV B (WV/14617/85)	3x LoD	-	-	+	-
SARS-CoV-2, Primul standard internațional al OMS	3x LoD	-	-	-	+
Substanță de control negativă (fără agenți patogeni)	Nu se aplică	-	-	-	-

Tabelul 16. Specificitatea analitică – familia Coronavirus împreună cu *Legionella pneumophila* (> 20 replicate testate)

Organism	Concentrație	SARS-CoV-2
Coronavirus uman NL63	1.00E+04 TCID ₅₀ /ml	-
Coronavirus SARS-1	1.00E+06 ufp/ml	-
Coronavirus MERS EMC/2012	1.00E+04 TCID ₅₀ /ml	-
Coronavirus uman 229E	1.00E+05 TCID ₅₀ /ml	-
Coronavirus uman OC43	1.00E+05 TCID ₅₀ /ml	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6.00E+06 UFC/ml	-
Substanță de control pozitivă: SARS-CoV-2 Primul standard al OMS	3x LoD	+
Substanță de control negativă (fără agenți patogeni)	Nu se aplică	-

Substanțe de interferență – Organisme comensale

The NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay a fost testată pentru interferență în prezența organismelor nevizate (posibil prezente în tractul respirator superior), prin evaluarea performanței analizei la niveluri reduse (~3X LoD) de virus gripal A, virus gripal B, RSV A, RSV B și SARS-CoV-2 în prezența concentrațiilor mari din organismele enumerate în *Tabelul 15* de mai sus. În plus, pentru a confirma posibila interferență dintre SARS-CoV-2 și familia Coronavirus (229E, OC43, NL63, MERS și SARS-1) împreună cu *Legionella pneumophila* (*Tabelul 16*), au fost incluse replicare suplimentare (> 20) pentru îndeplinirea cerinței MDCG pentru dispozitivele medicale de diagnosticare SARS-CoV-2 in vitro. Aceste probe au fost îmbogățite cu SARS-CoV-2 doar la ~3X LoD pentru partea de interferență a studiului. Pentru toate țintele s-a observat o rată de detecție de 100 %. Prin urmare, nu s-a observat nicio interferență la detecția vreunei ținte cu oricare dintre organismele comensale.

Substanțe de interferență – endogene/exogene

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay a fost evaluat pentru susceptibilitate la interferențe cauzate de substanțe potențial asociate cu recoltarea de eșantioane pe tampon nazofaringian. Eșantioanele clinice negative reziduale pe tampon nazofaringian au fost îmbogățite individual cu virusul gripal A, virusul gripal B, RSV A, RSV B sau SARS-CoV-2 la 3X LoD și procesate în prezența și în absența agenților prezenți în *Tabelul 17*. Niciuna dintre substanțele incluse în testare nu a avut un efect negativ asupra performanței analizei pentru niciuna dintre ținte.

Tabelul 17. Substanțe testate pentru interferență

	Substanță	Descriere/Ingredient activ	Concentrație*
Exogenă	Neo-Syneprine	Phenylephrine	15% v/v
	Nasal Gel – Ayr Saline Nasal Gel	Clorură de sodiu cu conservanți	15% v/v
	Homeopathic Allergy Relief – Similasan	Cardiospermum, Sabadilla, Luffa operculate, Galphimia glauca	15% v/v
	Nature’s Bounty Zinc	Zinc Gluconate	0,1 mg/ml
	Oral Anesthetic/Analgesic – Oragel	Benzocaine, Benzalkonium chloride	1% v/v
	Spray nazal– Afrin	Oximetazolină	15% w/v
	Spray nazal – Zicam	<i>Luffa operculata</i> , <i>Galphimia glauca</i> , Histaminum hydrochloricum, Sulfur	15% v/v
	Corticosteroid nazal – Flonase	Fluticazonă	5% v/v
	Corticosteroid nazal – Rhinocort	Budesonid	5% v/v
	Corticosteroid nazal – Nasacort	Triamcinolon	5% v/v
	Corticosteroid nazal – Dexamethasone	Dexametazonă	10 mg/ml
	Corticosteroid nazal – Mometasone	Mometazonă	10 mg/ml
	Corticosteroid nazal – Beclomethasone	Beclometazonă	10 mg/ml
	Chloraseptic Throat Lozenge	Benzocaină, mentol	2 mg/ml
	Antibiotic, unguent nazal	Mupirocin	10 mg/ml
	Relenza Medicament antiviral	Zanamivir	7,5 mg/ml
	Tamiflu Medicament antiviral	Oseltamivir	25 mg/ml
Antibiotic sistemic	Tobramycin	15 mg/ml	
Endogenă	Mucină	Proteină purificată mucină	2,5% w/v
	Sânge uman	Sânge	2% v/v

*Notă: Concentrațiile prezentate sunt cele utilizate pentru a satura tamponale înainte de a doza probele clinice pozitive recoltate cu substanță de interferență. Prin urmare, sunt reprezentative pentru nivelul care poate fi tolerat, de la locul de recoltare pe tampon.

Contaminare încrucișată

Rata de contaminare încrucișată pentru NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay pe sistemele NeuMoDx Molecular 288 și 96 a fost determinată prin procesarea probelor puternic pozitive și negative într-un tipar „tablă de șah” alternativ. Toate probele au constat din material pe tampon nazofaringian simulat, cu probele pozitive îmbogățite cu $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml (sau $\geq 10.000X$ LoD). Au fost efectuate cinci seturi de testări cu tipar tablă de șah, producând în ultimă instanță un total de 60 de replicare negative și 60 de replicare pozitive pe ambele sisteme NeuMoDx 288 și 96 Molecular System. Pe ambele tipuri de sisteme, toate cele 120 de replicare ale probei negative au fost raportate cu acuratețe ca negative, ceea ce demonstrează că nu s-a produs nicio contaminare încrucișată în timpul procesării probelor pe sistemele NeuMoDx System.

Timpul de procesare

Timpul de procesare pentru 8 probe utilizând NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay este determinat a fi de ~85 de minute pe sistemul N288 și de ~78 de minute pe sistemul NeuMoDx 96 pentru procesarea a 4 probe.

Rata de eroare a întregului sistem

Rata de eroare a întregului sistem pentru NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay a fost evaluată prin testarea a 1 nivel de țintă SARS-CoV-2 la o concentrație de ~3X LoD, preparat prin îmbogățirea eșantioanelor clinice negative pe tampon nazofaringian cu Primul standard internațional al OMS pentru SARS-CoV-2. În total au fost procesate 200 de replicare utilizând fluxul de lucru direct pe ambele sisteme NeuMoDx 96 și 288 Molecular System (câte 100 de replicare per sistem). Rata de eroare a fost calculată la procentul de rezultate fals negative din numărul total de rezultate valide obținute. Rata de detecție pentru ținta SARS-CoV-2 în NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay s-a descoperit a fi de 100 % pentru ambele sisteme NeuMoDx 96 și 288 Molecular System, ceea ce demonstrează o rată de eroare de 0 % la nivelul ambelor sisteme.

Soliditatea sistemului – inhibare

Rata de inhibare a fost determinată prin calcularea ratei de rezultate Unresolved (Nerezolvat) (substanța de control pentru procesarea probei nu este amplificată în absența erorii la nivelul sistemului) pentru toate probele negative, testate pe parcursul studiilor de verificare și de validare. În total s-au obținut 11 rezultate Unresolved (Nerezolvat) dintr-un total de 1.221 de probe negative procesate, ceea ce demonstrează o rată de inhibare de 0,9 % pentru NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.

REFERINȚE

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

MĂRCI COMERCIALE

BD™ este marcă comercială a Becton, Dickinson and Company

Hamilton® este marcă comercială înregistrată a Hamilton Company

Minitip Nylon® Flocked Swab este marcă comercială înregistrată a Copan Diagnostics, Inc.









NeuMoDx™ și NeuDry™ sunt mărci comerciale ale NeuMoDx Molecular, Inc.


TaqMan® este marcă comercială înregistrată a Roche Molecular Systems, Inc.

UTM-RT® este marcă comercială înregistrată a Copan Diagnostics, Inc.

Toate celelalte nume de produse, mărci comerciale și mărci comerciale înregistrate care pot apărea în acest document sunt deținute de proprietarii respectivi.

LEGENDĂ

R only	Doar pe bază de rețetă		A nu se reutiliza
	Producător		Conține suficient pentru <n> (de) testări
IVD	Dispozitiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i>		Consultați instrucțiunile de utilizare
EC REP	Reprezentanță autorizată în Comunitatea Europeană		Atenție
REF	Număr de catalog	CE	Marcaj CE
LOT	Cod lot	CONT	Conține
	Termen de valabilitate		Conține material biologic de origine animală
	Limită de temperatură		

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

Asistență tehnică/Raportarea vigilenței: support@qiagen.com

Brevet: www.neumodx.com/patents

EC REP

QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden
GERMANY
+49 2103 290

CE