

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

FIGYELEM! Kizárólag az Egyesült Államokból történő exportra

IVD In vitro diagnosztikai használatra a NeuMoDx 288 és a NeuMoDx 96 Molecular System készülékkelAz elektronikus verzió a következő weboldalon érhető el: www.giaqen.com/neumodx-ifu

Részletes útmutatásért olvassa el a NeuMoDx 288 Molecular System kezelői kézikönyvét; cikkszám: 40600108.

Részletes útmutatásért olvassa el a NeuMoDx 96 Molecular System kezelői kézikönyvét; cikkszám: 40600317.

ALKALMAZÁSI TERÜLET

A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay multiplex, *in vitro*, valós idejű RT-PCR diagnosztikai teszt, amely az influenza A-vírus (Flu A), az influenza B-vírus (Flu B), a respiratorikus szinciciális vírus (RSV) és a SARS-CoV-2 RNS-ének egyidejű kvalitatív kimutatására és differenciálására szolgál influenzaszerű betegség (Influenza like illness, ILI) tüneteit mutató egyénektől transzport tápközegbe gyűjtött nazopharingeális (NP) tamponmintákból.

A NeuMoDx 288 Molecular System és a NeuMoDx 96 Molecular System készüléken elvégzett NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay magában foglalja a célnukleinsavak mintából történő izolálására szolgáló automatizált RNS-extrakciót, valamint az influenza A és az RSV esetén egyetlen konzervált régiót, a SARS-CoV-2 és az influenza B esetén két konzervált régiót megcélzó valós idejű RT-PCR-t.

Nem szabad kizárólag a teszt eredményeire alapozni a diagnózist, a kezelést vagy a beteggel kapcsolatos egyéb döntéseket. A pozitív eredmények azt jelzik, hogy jelen van a SARS-CoV-2 és/vagy az influenza A és/vagy az influenza B és/vagy az RSV RNS-e, de nem zárják ki a bakteriális fertőzést vagy a más vírusokkal való társfertőzés lehetőségét. A beteg fertőzési státuszának megállapításához szükséges a klinikai korreláció megállapítása a beteg kórelőzményével és egyéb diagnosztikai információkkal.

A negatív eredmények nem zárják ki az influenza A-, influenza B-, RSV- vagy SARS-CoV-2-fertőzést, és nem szabad kizárólag erre alapozni a diagnózist, a kezelést vagy a beteggel kapcsolatos egyéb döntéseket. A negatív eredményeket a klinikai megfigyelésekkel, a beteg kórtörténetével és/vagy az epidemiológiai információkkal együtt kell értékelni.

A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay tesztet olyan szakképzett klinikai laboratóriumi személyzet használhatja, aki speciális képzéssel és gyakorlattal rendelkezik a valós idejű RT-PCR-technikák, az *in vitro* diagnosztikai eljárások és/vagy a NeuMoDx Molecular System készülékek terén. A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay nem használható öntesztelésre, és nem alkalmazható a betegágy mellett.

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS MAGYARÁZAT

A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay a NeuMoDx 96 és a NeuMoDx 288 készülékeken használható kvalitatív assay a SARS-CoV-2, az influenza A, az influenza B és/vagy az RSV RNS-ének nazopharingeális tamponmintákból történő kimutatására. Az assay nem különbözteti meg az RSV A és az RSV B RNS-ét. A nazopharingeális tamponmintákat Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) transzport tápközegbe (Copan UTM-RT, Copan, CA, USA) vagy BD™ Universal Viral Transport System (UVT) transzport tápközegbe (BD™ UVT, BD, NJ, USA) kell gyűjteni. A teszt belső RNS-mintafeldolgozási kontrollt (Sample Process Control, SPC2) alkalmaz a minta-előkészítés során, hogy segítségével monitorozni tudja a minta-előkészítést, a reverz transzkripció és a PCR-amplifikáció teljes folyamatát. A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay kétféle mintafeldolgozási munkafolyamattal használható a laboratórium igényeinek függvényében: a közvetlen és az előkezeléses munkafolyamattal. A NeuMoDx Molecular System automatikusan elvégzi a célnukleinsav extrakciójához szükséges összes lépést, előkészíti az izolált RNS-t a valós idejű reverz transzkriptáz polimeráz láncreakcióra (reverse transcriptase polymerase chain reaction, RT-PCR), és ha van jelen amplifikációs termék, reverz transzkripciót hajt végre rajta, majd amplifikálja és detektálja azt. A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 assay a SARS-CoV-2 vírus Nsp2 és O-ribóz metiltranszferáz génjeinek konzervált régióit, illetve az influenza A-vírus és a respiratorikus szinciciális vírus mátrixfehérjéjének, valamint az influenza B-vírus mátrixfehérjéjének és nem strukturális fehérje (non-structural protein, NS1) génjeinek régióit célozza meg.

AZ ELJÁRÁS ELVE

A tudomány jelenlegi állása szerint az akut influenza A- / influenza B- / RSV- / SARS-CoV-2-fertőzés a célvírusok genomjában található konzervált régiók nukleinsav-amplifikációjával mutatható ki. Ezzel összhangban áll a NeuMoDx 288 Molecular System és a NeuMoDx 96 Molecular System készülékeken végrehajtható NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay által alkalmazott valós idejű, reverz transzkripció PCR.

A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay egyesíti az automatizált RNS-extrakciót, valamint a SARS-CoV-2, az influenza A, az influenza B és/vagy az RSV RNS-ének valós idejű RT-PCR-rel történő amplifikációját/detektálását. A nazopharingeális tamponmintákat Copan UTM-RT rendszerbe vagy BD™ UVT rendszerbe kell gyűjteni. A Direct (Közvetlen) munkafolyamat során az elsődleges tamponvételi csövet vagy a transzport tápközeg másodlagos csőbe helyezett alikvotját vonalkóddal lehet ellátni, valamint be lehet tölteni a NeuMoDx System készülékbe a feldolgozáshoz. Másik lehetőségként a transzport tápközegben lévő tamponminta először előkezelhető azonos mennyiségű NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) lízispuferrel, mielőtt betöltenék a készülékbe, ahol már nincs szükség további felhasználói beavatkozásra. A NeuMoDx System a Direct (Közvetlen) munkafolyamat esetén automatikusan felszív egy alikvotot a mintából, és összekeveri NeuMoDx Lysis Buffer 3 lízispuferrel, vagy az előkezelt minta alikvotját szívja fel, amelyet Lysis Buffer 2 lízispuferrel és a NeuMoDx Extraction Plate lemezen található reagensekkel kever össze a feldolgozás megkezdéséhez. A Direct (Közvetlen) munkafolyamat használata esetén el kell látni vonalkóddal az elsődleges mintavételi csövet vagy a mintatápközeg másodlagos csőben lévő alikvotját, és be kell tölteni (az elsődleges csőből a tampon és a kupak eltávolítása után) a NeuMoDx System készülékbe egy erre a célra szolgáló mintacsőtartó segítségével. A Pretreated (Előkezeléses) munkafolyamat esetén a transzport tápközegben lévő mintát először elő kell kezelni azonos mennyiségű NeuMoDx VVLB lízispuferrel, mielőtt betöltenék a készülékbe. A Direct (Közvetlen) munkafolyamat esetében a NeuMoDx System felszív 400 µl mintaalikvotot, és összekeveri azonos mennyiségű NeuMoDx Lysis Buffer 3 lízispuferrel. A Pretreated (Előkezeléses) munkafolyamathoz a készülék 550 µl előkezelt mintát kever össze azonos mennyiségű Lysis Buffer 2 lízispuferrel. A NeuMoDx System automatizálja és integrálja az RNS-extrakciót és -koncentrációt, a reagens-előkészítést, valamint a célszekvenciák valós idejű RT-PCR segítségével történő nukleinsav-amplifikációját/detektálását. A mintafeldolgozási kontroll (Sample Process Control, SPC2) segítségével monitorozható az inhibitorok jelenléte, valamint a rendszer-, a folyamat- és a reagenshibák. Miután a mintát behelyezték a NeuMoDx System készülékbe, nincs szükség kezelői beavatkozásra.

A NeuMoDx System hő, lítikus enzimek és extrakciós reagensek kombinálásával automatikusan végzi a sejtízist, az RNS-extrakciót és az inhibitorok eltávolítását. A felszabaduló nukleinsavakat paramágneses részecskék segítségével fogják be. A rendszer betölti a részecskéket a hozzájuk kötődő nukleinsavval együtt a NeuMoDx Cartridge kazettába, ahol kimossa a nem kötődő elemeket a NeuMoDx Wash Reagent reagenssel. A kötődő RNS-t ezután eluálja a NeuMoDx Release Reagent reagenssel. A NeuMoDx System az eluált RNS segítségével rehidratálja a szabadalmazott NeuDry™ amplifikációs reagenseket, amelyek az influenza A-, influenza B-, RSV-, SARS-CoV-2- és SPC2-célszekvenciák amplifikációjához szükséges valamennyi elemet tartalmazzák. Ez lehetővé teszi a célszekvenciák és a mintafeldolgozási kontroll RNS-szekvenciáinak egyidejű amplifikációját és detektálását. A szárított RT-PCR reagensek rekonstitúciója után a NeuMoDx System kiadagolja az előkészített, RT-PCR-hez való, használatra kész keveréket a NeuMoDx Cartridge egy-egy PCR-kamrájába (mintánként). A kontroll és a célszekvenciák (ha jelen vannak) reverz transzkripciója, amplifikációja és detektálása a PCR-kamrában történik. Kialakítása révén a NeuMoDx Cartridge tartalmazza a létrehozott amplikont az RT-PCR-t követően, ezáltal lényegében kiküszöbölhető az amplifikáció utáni szennyeződés kockázata.

Az amplifikált célszekvenciák detektálása valós időben, hidrolízispróba (általánosan használt elnevezése TaqMan® próba) segítségével történik, ahol a megfelelő célszekvenciákat tekintve az amplikonokra specifikus fluorogén oligonukleotid próbamolekulákat használnak. A TaqMan próbák egy, az oligonukleotid próba 5' végéhez kovalens módon kötődő fluorofór-, és a 3' végen pedig egy quencher molekulát tartalmaznak. Ha a próba intakt, a fluorofór és a quencher közel vannak egymáshoz, ami lehetővé teszi, hogy a quencher molekula Förster-féle rezonáns energiaátadás/Förster-féle rezonáns energiaátadás (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) révén elnyomja a fluorofór által kibocsátott fluoreszcenciát.

Kialakításuk révén a TaqMan próbák feltapadnak a primerek specifikus csoportja által amplifikált cDNS-régióon belül. Amint a Taq DNS-polimeráz meghosszabbítja a primert és szintetizálja az új szálát, a Taq DNS-polimeráz 5'–3' exonukleáz aktivitása lebontja a templátra feltapadt próbát. A próba lebomlásakor felszabadul a fluorofór, és távolabb kerül a quencher-től, így túléli a FRET (Förster Resonance Energy Transfer, Förster-féle rezonáns energiaátadás) miatti kioltó hatást, és képes lesz a fluorofór detektálására. A NeuMoDx System RT-PCR-készülékben detektált fluoreszcens jel egyenesen arányos a felszabadult fluorofórral, és összefügg a jelen lévő célszekvencia mennyiségével.

A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay által megcélzott egyes célszekvenciák fluoreszcens detektáló csatornái az alábbi táblázatban láthatók. A NeuMoDx System szoftvere monitorozza a TaqMan próbák által az egyes amplifikációs ciklusok végén kibocsátott fluoreszcens jeleket. A hőciklus befejeztével a NeuMoDx System szoftvere elemzi az adatokat és eredményt ad (POSITIVE [Pozitív] / NEGATIVE [Negatív] / INDETERMINATE [Nem eldönthető] / NO RESULT (Nincs eredmény) / UNRESOLVED [Megoldatlan]).

1. táblázat: Detektáló csatornák

Célszekvencia	Célrégió	Próbafluorofór	Gerjesztés/emisszió	Detektáló csatorna
Influenza A	Mátrixfehérje	FAM	530/555 nm	Green
Influenza B	Mátrixfehérje	HEX	470/510 nm	Yellow
	Nem strukturális fehérje, NS1			
SARS-CoV-2	Nsp2-gén	Texas vörös	585/610 nm	Orange
	O-ribóz metiltransferáz			
Respiratorikus szinciciális vírus	Mátrixfehérje	Q705	680/715 nm	Far Red
SPC2	Összekötő fehérje (MS2)	Q670	625/660 nm	Red

REAGENSEK/FOGYÓESZKÖZÖK

Szállított anyagok

REF	Tartalom	Egység/csomag	Testt/egység	Testt/csomag
300901	NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip Szárított RT-PCR reagensek, amelyek influenza A-ra / influenza B-re / RSV-re / SARS-CoV-2-re specifikus TaqMan próbákat és primereket, valamint SPC2-re specifikus TaqMan próbákat és primereket tartalmaznak. 21,1% Tris-HCl-t, 8,4% dNTP-t és egyéb inaktív összetevőket tartalmaz	6	16	96

Szükséges, de nem biztosított anyagok (külön kaphatók a NeuMoDx vállalatától)

REF	Tartalom
901200	NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls Influenza A-ra / influenza B-re / RSV-re / SARS-CoV-2-re pozitív és negatív kontrollból álló, egyszer használatos készletek a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay napi érvényességének megállapításához (mindegyik kontrollból 1 üveg = 1 készlet)
100200	NeuMoDx Extraction Plate Szárított paramágneses részecskék, lítikus enzim és mintafeldolgozási kontrollok
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	Hamilton® CO-RE / CO-RE II hegyek (300 µl) szűrőkkel
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II hegyek (1000 µl) szűrőkkel

* Kizárólag akkor szükséges, ha a mintákat a Direct (Közvetlen) munkafolyamattal, előkezelési lépés nélkül dolgozzák fel. Lásd az alábbi „Használati útmutató” című részt.

** Kizárólag akkor szükséges, ha a mintákat a Pretreated (Előkezeléses) munkafolyamattal, előkezelési lépés alkalmazásával dolgozzák fel. Lásd az alábbi „Használati útmutató” című részt.

Tamponok és transzport tápközegek (nem biztosított)

Mintatípus	Javasolt mintavételi eszköz	Ajánlott tampon
Nazopharingeális tampon	3 ml-es Universal Transport Medium (Copan UTM-RT, Copan, CA, USA, 305C) vagy 3 ml-es Universal Viral Transport System (BD UVT, BD, NJ, USA, BD 220531)	Flexible Minitip Nylon® pelyhesített tampon (Copan, CA, USA) vagy Flexible Minitip pelyhesített tampon (BD, NJ, USA)

Szükséges készülékek

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] vagy NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]
NeuMoDx System szoftver, 1.9.2.6-os vagy újabb verzió



FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

- A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay kizárólag a NeuMoDx System készülékekkel használható *in vitro* diagnosztikai célra.
- A reagensek és a fogyóeszközök a címkén feltüntetett lejárati időn túl nem használhatók.
- Ha sérült a biztonsági plomba, vagy az átvételkor a csomagoláson sérülések láthatók, ne használja a reagenseket.
- Tilos a fogyóeszközöket vagy a reagenseket felhasználni, ha a védőtasak felbontott állapotban van vagy sérült érkezéskor.
- A másodlagos alikvotok minimális mintatérfogata a cső méretétől / mintacsőtartótól függ, az alábbiakban megadottak szerint. Az előírt minimumnál kisebb mintatérfogot „Quantity Not Sufficient” (Nem elegendő mennyiség) hibát eredményezhet.
- A nem megfelelő hőmérsékleten vagy a megadott tárolási időn túl tárolt minták használata érvénytelen vagy hibás eredményeket adhat.
- Ügyeljen arra, hogy egyik reagensbe és fogyóeszközre se kerüljön mikrobiális vagy ribonukleáz (RNáz) szennyeződés. Steril, RNáz-mentes, egyszer használatos transzferpipetták használata ajánlott másodlagos csövek használata esetén. Minden egyes mintához használjon új pipettát.
- A kontamináció elkerülése érdekében amplifikáció után ne manipulálja és ne bontsa fel a NeuMoDx Cartridge kazettákat. Semmilyen körülmények között se vegye ki a NeuMoDx Cartridge kazettákat a biológiai veszélyt jelentő hulladékok tartályából (NeuMoDx 288 Molecular System) vagy a biológiai veszélyt jelentő hulladékok tárolójából (NeuMoDx 96 Molecular System). A NeuMoDx Cartridge úgy lett kialakítva, hogy megakadályozza a szennyeződést.
- Olyan esetekben, amikor a laboratórium nyitott csöves PCR-teszteteket is végez, különös figyelmet kell arra fordítani, hogy a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip, a teszthez szükséges további fogyóeszközök és reagensek, az egyéni védőeszközök (pl. kesztyű és laboratóriumi köpeny), valamint a NeuMoDx System ne szennyeződjenek.
- NeuMoDx reagensek és fogyóeszközök kezelésekor tiszta, púdermentes nitril védőkesztyűt kell használni. Ügyeljen arra, hogy ne érintse meg a NeuMoDx Cartridge felső felületét, a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip és a NeuMoDx Extraction Plate zárófóliás felületét vagy a NeuMoDx Lysis Buffer tartályának felső felületét. A fogyóeszközök és reagensek manipulálása során csak az oldalfelületeket szabad megérinteni.
- A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay teszttel végzett vizsgálat során 24 óránként fel kell dolgozni a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control [REF 901200] külső kontrollokat.
- Minden reagenshez a www.qiagen.com/neumodx-ifu weboldalon biztosítunk (szükség szerint) biztonsági adatlapot (Safety Data Sheet, SDS).
- A teszt végrehajtását követően alaposan mosson kezet.
- Tilos szájjal pipettázni. Tilos enni, inni, dohányozni az olyan területeken, ahol mintákat vagy reagenseket kezelnek.
- A mintákat mindig potenciálisan fertőző anyagként, biztonságos, például a *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹ és az M29-A4 jelű CLSI dokumentumban² leírt laboratóriumi eljárásoknak megfelelően kell kezelni.
- Vegyszerhasználat során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. A további tudnivalókat a megfelelő biztonsági adatlapok (Safety Data Sheets, SDS-ek) tartalmazzák.
- A nem felhasznált reagensek és a hulladék ártalmatlanítását az országos, szövetségi, regionális, állami és helyi szabályozásoknak megfelelően kell elvégezni.

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



Tartalom: bórsav, etoxilezett nonilfenol. Veszély! Bőrirritáló hatású. Súlyos szemirritációt okoz. Károsíthatja a termékenységet vagy a születendő gyermeket. Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. Használat előtt ismerje meg az anyagra vonatkozó különleges utasításokat. Ne használja addig, amíg az összes biztonsági óvintézkedést el nem olvasta és meg nem értette. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező. Expozíció vagy annak gyanúja esetén: Kérjen orvosi ellátást. Tárolja elzárva. A tartalmat/edényt jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben helyezze el.

Vészhelyzeti információk

CHEMTREC

Az USA-n és Kanadán kívül: +1 703-527-3887

Ártalmatlanítás

A termék etoxilált nonilfenolt tartalmaz, amely ártalmas az endokrin rendszerre, és káros hatást fejthet ki a környezetre.

Ártalmatlanítsa veszélyes hulladékként, a helyi és országos előírásoknak megfelelően. Ez a nem használt termékekre is vonatkozik.

Ne öntse a folyékony hulladékot a csatornarendszerbe.

Kövesse a biztonsági adatlapon (Safety Data Sheet, SDS) található ajánlásokat.

NeuMoDx Molecular, Inc.

40600555-HU_C
2023-08



A TERMÉK TÁROLÁSA, KEZELÉSE ÉS STABILITÁSA

- A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip tesztcsíkok elsődleges csomagolásukban, 15–28 °C között tárolva a termék közvetlen címkéjén feltüntetett lejárati időig stabilak.
- Ne helyezzen vissza olyan tesztterméket, amelyet korábban egy másik NeuMoDx System készülékbe töltöttek be.
- A NeuMoDx System készülékbe behelyezett NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip 14 napig maradhat a berendezésben. A betöltött tesztcsíkok fennmaradó eltarthatósági idejét a szoftver nyomon követi és valós időben jelenti a felhasználóknak. A NeuMoDx System felszólítja a felhasználót, hogy távolítsa el a megengedett időtartamon túl használatban lévő tesztcsíkokat.

MINTAGYŰJTÉS, -SZÁLLÍTÁS ÉS -TÁROLÁS

Minden mintát potenciális fertőzésforrásként kell kezelni.

1. A mintákat Copan UTM-RT® rendszerbe vagy BD™ UVT rendszerbe kell gyűjteni a validált, pelyhesített nejlontamponok használatával (lásd a „Tamponok és transzport tápközegek” című részt). Ezenkívül a pelyhesített tamponok, valamint a poliészter és a nejlontamponok is elfogadható tampon típusok. Kövesse a gyártó mintagyűjtésre, -szállításra és -tárolásra vonatkozó utasításait.
2. A minták kompatibilis elsődleges mintavételi csövekben vagy másodlagos mintacsövekben tesztelhetők.
3. A minták a feldolgozás előtt legfeljebb 8 órán át maradhatnak a NeuMoDx System készülékben. Ha ennél hosszabb tárolási időre van szükség, javasolt a mintákat másodlagos alikvotok formájában lehűteni vagy lefagyasztani.
4. Az előkészített minták vizsgálat előtt 2–8 °C-on legfeljebb 7 napig tárolhatók.
5. Szállítás esetén a mintákat a vonatkozó országos és/vagy nemzetközi szabályozásoknak megfelelően kell becsomagolni és felcímkézni.
6. Lépjen tovább „A teszt előkészítése” című részhez.

A TESZT ELŐKÉSZÍTÉSE

A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay két különböző munkafolyamattal használható a felhasználó/laboratórium preferenciájától függően:

1-es munkafolyamat: **DIRECT** (Közvetlen) – a transzport tápközegben lévő tamponmintát közvetlenül betöltik a NeuMoDx System készülékbe elsődleges mintavételi csőben vagy másodlagos mintacsőben

– vagy –

2-es munkafolyamat: **PRETREATED** (Előkezelés) – a transzport tápközegben lévő tamponmintát előkezelik NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer lízispufferrel, mielőtt betöltenék a NeuMoDx System készülékbe elsődleges mintavételi csőben vagy másodlagos mintacsőben

A teszt előkészítése – DIRECT (Közvetlen) munkafolyamat közvetlen tamponminták esetében

1. Ragassza fel a mintavonalkód-címkét a NeuMoDx System készülékkel kompatibilis mintacsőre az alábbi 3. lépésben leírtak szerint.
2. Ha a mintát az elsődleges mintavételi csőben teszteli, helyezze a vonalkóddal ellátott csövet egy mintacsőtartóba, ügyelve arra, hogy eltávolítsa a kupakot és a tampont a NeuMoDx System készülékbe történő behelyezés előtt.
3. Másik lehetőségként a transzport tápközeg egy alikvotját átviheti egy vonalkóddal ellátott másodlagos csőbe, amelyet a mintacsőtartóba helyezhet. Ha másodlagos csövet használ, adagoljon a szállítóközegből származó alikvotot a NeuMoDx System rendszerrel kompatibilis vonalkódos mintacsőbe, az alábbiakban megadott mennyiségek szerint:
 - Mintacsőtartó (32 csöves): 11–14 mm átmérőjű és 60–120 mm magas; a minimális töltőtérfogat $\geq 600 \mu\text{l}$
 - Mintacsőtartó (24 csöves): 14,5–18 mm átmérőjű és 60–120 mm magas; a minimális töltőtérfogat $\geq 1000 \mu\text{l}$
 - Kis térfogatú mintacsőtartó (32 csöves): 1,5 ml-es kúpos aljú mikrocentrifuga-cső; a minimális töltőtérfogat $\geq 500 \mu\text{l}$

A teszt előkészítése – PRETREATED (Előkezelés) munkafolyamat előkezelt tamponminták esetében

Megjegyzés: Használat előtt hagyja a Vantage Viral Lysis Buffer lízispuffert szobahőmérsékletre (15–30 °C) felmelegedni.

VIGYÁZAT! A tamponminták NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer lízispufferrel való előkezelése nem garantálja az esetlegesen jelen lévő vírus inaktiválását. Minden mintát potenciális fertőzésforrásként kell kezelni.

1. Kezelje elő a minta transzport tápközegét NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer lízispufferrel 1:1 térfogatarányban. Ezt megteheti az elsődleges tamponvételi csőben, ha a transzport tápközeg térfogata ismert. Másik lehetőségként az előkezelés elvégezhető egy másodlagos csőben a transzport tápközeg alikvotjának azonos térfogatú NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer lízispufferrel történő összekeverésével. A kapott keveréknek meg kell felelnie az alábbi 4. lépésben megadott minimális térfogat-követelményeknek.
2. Keverje össze finoman pipettával a NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer egyenletes eloszlásának biztosításához.
3. Ha az előkezelt mintát az elsődleges mintavételi csőben teszteli, helyezze a vonalkóddal ellátott csövet egy mintacsőtartóba, ügyelve arra, hogy eltávolítsa a kupakot és a tampont a NeuMoDx System készülékbe történő behelyezés előtt.
4. Ha másodlagos csövet használ, adagolja az előkezelt minta egy alikvotját a NeuMoDx System rendszerrel kompatibilis vonalkódos mintacsőbe, és helyezze egy mintacsőtartóba, figyelembe véve az alábbiakban megadott mennyiségeket:
 - Mintacsőtartó (32 csöves): 11–14 mm átmérőjű és 60–120 mm magas; a minimális töltőtérfogat $\geq 750 \mu\text{l}$

- Mintacsőtartó (24 csöves): 14,5–18 mm átmérőjű és 60–120 mm magas; a minimális töltőtérfogat $\geq 1100 \mu\text{l}$
- Kis térfogatú mintacsőtartó (32 csöves): 1,5 ml-es kúpos aljú mikrocentrifuga-cső; a minimális töltőtérfogat $\geq 650 \mu\text{l}$

A NeuMoDx System használata

Részletes útmutatásért olvassa el a NeuMoDx 288, illetve 96 Molecular System kezelői kézikönyvét (cikkszám: 40600108 és 40600317).

1. Töltse be a tesztkéretet a NeuMoDx System készülékbe a teszt előkészítéséhez használt munkafolyamatnak megfelelően:
 - A kezetlen, higítatlan tamponminták DIRECT (Közvetlen) munkafolyamattal történő vizsgálata során a minta típusa „**Transport Medium**” (Transzport tápközeg).
 - A NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer lízispufferrel előkezelt tamponminták PRETREATED (Előkezeléses) munkafolyamattal történő vizsgálata során a minta típusa „**UserSpecified1**” (Felhasználó által megadott – 1)Ha a tesztkéretben nincs megadva, a Transport Medium (Transzport tápközeg) mintatípus (közvetlen munkafolyamat) esetén a készülék alapértelmezés szerint a **Secondary Tube** (Másodlagos cső) beállítását használja.
2. Töltsön fel egy vagy több NeuMoDx System Test Strip Carrier tartót NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip tesztcsík(ok)kal, és az érintőképernyő segítségével töltsön be a tesztcsíktartó(ka)t a NeuMoDx System rendszerbe.
3. Amikor a NeuMoDx System szoftvere felszólítja erre, helyezze be a szükséges fogyóeszközöket a NeuMoDx System fogyóeszköztartójába és az érintőképernyő segítségével töltsön be a tartó(ka)t a NeuMoDx System készülékbe.
4. Ha a NeuMoDx System szoftvere felszólítja erre, szükség szerint cserélje ki a NeuMoDx Wash Reagent és/vagy a NeuMoDx Release Reagent reagenst, ürítse ki a feltöltési hulladékot, a biológiai veszélyt jelentő hulladékok tartályát (csak a NeuMoDx 288 Molecular System esetében), a hegyek hulladékátrolóját (csak a NeuMoDx 96 Molecular System esetében) és/vagy a biológiai veszélyt jelentő hulladékok tárolóját (csak a NeuMoDx 96 Molecular System esetében).
5. Helyezze be a mintacsöve(ke)t egy mintacsőtartóba és ügyeljen arra, hogy minden mintacsőről eltávolítsa a kupakot, valamint hogy eltávolítsa belőlük a tamponokat.
6. Helyezze a mintacsőtartó(ka)t az automatikus betöltőpolcra és az érintőképernyő segítségével töltsön be a tartó(ka)t a NeuMoDx System készülékbe. Ez elindítja az azonosított tesztekre vonatkozó betöltött minták feldolgozását, amennyiben a rendszerben jelen van egy érvényes tesztkéret.

KORLÁTOZÁSOK

1. A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip csak a NeuMoDx System készülékeken használható.
2. A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip tesztcsíkok teljesítményét egészségügyi szakember által vett nazopharyngeális tamponmintákkal határozták meg, amelyeket transzport tápközegbe helyeztek. A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip más mintatípusokkal és mintavételi közegekkel való használatát nem vizsgálták, és a teljesítményjellemzők nem ismertek.
3. Mivel a vírus-célszekvenciák detektálása függ a mintában jelen lévő vírusrészecskék számától, az eredmények megbízhatósága a megfelelő mintagyűjtéstől, -kezeléstől és -tárolástól függ.
4. A minta nem megfelelő gyűjtése, kezelése és tárolása, a technikai hibák és a mintacsövek felcserélése hibás eredményekhez vezethet. Ezenkívül álnegatív eredményekhez vezethet, ha a vírusrészecskék a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay detektálási határértéke alatti számban vannak jelen a mintában.
5. A NeuMoDx System készüléket kizárólag a NeuMoDx System használatával kapcsolatos képzésben részesült személyek működtethetik.
6. Ha az influenza A, influenza B, RSV és SARS-CoV-2 célszekvenciák, illetve az SPC2 célszekvencia nem amplifikálódik, a rendszer érvénytelen eredményt ad (Indeterminate [Nem eldönthető] vagy Unresolved [Megoldatlan]), és a tesztet meg kell ismételni.
7. Ha a mintafeldolgozás befejezése előtt rendszerhiba következik be, a készülék „No Result” (Nincs eredmény) jelölést ad, és a tesztet meg kell ismételni.
8. A pozitív eredmény nem feltétlenül jelenti életképes influenza A, influenza B, SARS-CoV-2 és/vagy RSV vírus jelenlétét. A pozitív eredmény azonban valószínűsíti az influenza A, influenza B, SARS-CoV-2 és/vagy RSV RNS jelenlétét.
9. A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay által megcélzott konzervált régiókban létrejött deléciók vagy mutációk befolyásolhatják a detektálást, és hibás eredményekhez vezethetnek.
10. A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay eredményeit a klinikai megfigyelések és az orvos számára rendelkezésre álló egyébinformációk kiegészítéseként kell felhasználni.
11. A szennyeződés elkerülése érdekében javasolt a helyes laboratóriumi gyakorlat alkalmazása, ilyen például az egyes betegminták kezelése közötti védőkesztyűcsere.

EREDMÉNYEK

A rendelkezésre álló eredmények megtekinthetők a NeuMoDx System érintőképernyőjén, a Results (Eredmények) ablak „Results” (Eredmények) lapján, ahonnan ki is nyomtathatók. A NeuMoDx System szoftvere a döntési algoritmus és a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay assay-definíciós fájljában (4.0.0-s vagy újabb verziójú FluA-B-RSV-CoV-2 ADF) megadott eredményfeldolgozási paraméterek segítségével automatikusan generálja a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay eredményeit. A célszekvenciák és az SPC2 amplifikációs státusza alapján a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay eredménye Negative (Negatív), Positive (Pozitív), Indeterminate (Nem eldönthető), No Result (Nincs eredmény) vagy Unresolved (Megoldatlan) lehet. Az eredményeket az alábbi 2. táblázatban összefoglalt ADF eredményfeldolgozó döntési algoritmus alapján jelentik.

2. táblázat: A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay eredményeinek értelmezése

ÁLTALÁNOS EREDMÉNY	1. CÉLSZEKVENCIA (Influenza A) FAM	2. CÉLSZEKVENCIA (Influenza B) HEX	3. CÉLSZEKVENCIA (SARS-CoV-2) TX RED	4. CÉLSZEKVENCIA (RSV) Távolsági vörös	PROCESS CONTROL (SPC2) FOLYAMATKONTROLL Vörös	ÉRTELMEZÉS
POSITIVE (Pozitív) (Cél RNS detektálható)	AMPLIFIED (Amplifikált) [5 ≤ Ct < 25 AND (ÉS) EPR > 2,0 AND (ÉS) EP ≥ 750] OR (VAGY) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (ÉS) EP ≥ 750)	N/A	N/A	N/A	N/A	Influenza A RNS detektálható
	N/A	AMPLIFIED (Amplifikált) [5 ≤ Ct < 28 AND (ÉS) EPR > 1,5 AND (ÉS) EP ≥ 600] OR (VAGY) [28 ≤ Ct ≤ 37 AND (ÉS) EP ≥ 600]	N/A	N/A	N/A	Influenza B RNS detektálható
	N/A	N/A	AMPLIFIED (Amplifikált) [5 ≤ Ct < 25 AND (ÉS) EPR > 1,5 AND (ÉS) EP ≥ 1200] OR (VAGY) [25 ≤ Ct ≤ 37 AND (ÉS) EP ≥ 1200]	N/A	N/A	SARS-CoV-2 RNS detektálható
	N/A	N/A	N/A	AMPLIFIED (Amplifikált) [5 ≤ Ct < 30 AND (ÉS) EPR > 1,15 AND (ÉS) EP ≥ 1200] OR (VAGY) [30 ≤ Ct ≤ 37 AND (ÉS) EP ≥ 1200]	N/A	RSV RNS detektálható
NEGATIVE (Negatív) (Nem detektálható cél RNS)	NOT AMPLIFIED (Nem amplifikált) N/A OR (VAGY) (5 ≤ Ct < 25 AND (ÉS) EPR ≤ 2,0) OR (VAGY) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (ÉS) EP < 750) OR (VAGY) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (Nem amplifikált) N/A OR (VAGY) (5 ≤ Ct < 28 AND (ÉS) EPR ≤ 1,5) OR (VAGY) (28 ≤ Ct ≤ 37 AND (ÉS) EP < 600) OR (VAGY) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (Nem amplifikált) N/A OR (VAGY) (5 ≤ Ct < 25 AND (ÉS) EPR ≤ 1,5) OR (VAGY) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (ÉS) EP < 1200) OR (VAGY) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (Nem amplifikált) N/A OR (VAGY) (5 ≤ Ct < 30 AND (ÉS) EPR ≤ 1,15) OR (VAGY) (30 ≤ Ct ≤ 37 AND (ÉS) EP < 1200) OR (VAGY) (Ct > 37)	AMPLIFIED (Amplifikált) (24 ≤ Ct ≤ 31 AND (ÉS) EP ≥ 1800)	Influenza A, Influenza B, RSV AND (ÉS) SARS-CoV-2 RNS nem detektálható

ÁLTALÁNOS EREDMÉNY	1. CÉLSZEKVENCIA (Influenza A) FAM	2. CÉLSZEKVENCIA (Influenza B) HEX	3. CÉLSZEKVENCIA (SARS-CoV-2) TX RED	4. CÉLSZEKVENCIA (RSV) Távoli vörös	PROCESS CONTROL (SPC2) FOLYAMATKONTROLL Vörös	ÉRTELMEZÉS
NR (Nincs eredmény)*	Not Amplified (Nem amplifikált), System Error Detected (Rendszerhiba detektálva), Sample Processing Aborted (Minta feldolgozása megszakadt)					A minta feldolgozása megszakadt; a mintát újra kell tesztelni
IND (Nem eldönthető)*	Not Amplified (Nem amplifikált), System Error Detected (Rendszerhiba detektálva), Sample Processing Completed (Minta feldolgozása befejezve)					Az összes célszekvencia-eredmény érvénytelen volt; a mintát újra kell tesztelni
UNR (Megoldatlan)*	Not Amplified (Nem amplifikált), No System Error Detected (Nincs detektált rendszerhiba)					Az összes célszekvencia-eredmény érvénytelen volt; a mintát újra kell tesztelni

* A rendszer opcionális Rerun (Újrafuttatás) / Repeat (Ismétlés) funkcióval rendelkezik, ami érvénytelen eredmény esetén lehetővé teszi az automatikus újrafeldolgozást, ezzel minimálisra csökkentve a leletkiadás késését.

Érvénytelen eredmények

Ha a NeuMoDx System készüléken elvégzett NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay nem ad érvényes eredményt, az a leletben Indeterminate (Nem eldönthető), No Result (Nincs eredmény) vagy Unresolved (Megoldatlan) jelöléssel jelenik meg a bekövetkezett hibától függően, és a tesztet meg kell ismételni az érvényes eredményhez.

Az eredmény akkor kap Indeterminate (Nem eldönthető) jelölést, ha a mintafeldolgozás során a NeuMoDx System hibáját észleli a készülék. Indeterminate (Nem eldönthető) eredmény esetén a tesztet ajánlott megismételni.

Az eredmény akkor kap No Result (Nincs eredmény) jelölést, ha a mintafeldolgozás során a NeuMoDx System hibáját észleli a készülék. No Result (Nincs eredmény) jelölés esetén a tesztet ajánlott megismételni.

Unresolved (Megoldatlan) eredmény közlésére olyankor kerül sor, ha nem detektálható célszekvencia, és a mintafeldolgozási kontroll nem amplifikálódik, ami esetleges reagenshibára vagy inhibitorok jelenlétére utal. Unresolved (Megoldatlan) eredmény esetén első lépésként javasolt megismételni a tesztet. Ha az ismételt tesztelés sikertelen, hígított minta használható az esetleges gátló hatások csökkentésére.

A NeuMoDx 288 Molecular System kezelői kézikönyvében (cikkszám: 40600108) vagy a NeuMoDx 96 Molecular System kezelői kézikönyvében (cikkszám: 40600317) megtalálja az érvénytelen eredményekkel esetlegesen összefüggő hibakódok listáját.

A NeuMoDx System automatikus Rerun (Újrafuttatás) / Repeat (Ismétlés) funkcióval rendelkezik, amelyet a végfelhasználó kiválaszthat annak biztosítása érdekében, hogy INVALID (Érvénytelen) eredmény esetén a rendszer automatikusan újrafeldolgozza a mintát, ezzel minimálisra csökkentve a leletkiadás késleltetését.

Minőség-ellenőrzés

A helyi szabályozások jellemzően megadják, hogy a laboratórium a felelős a teljes analitikai folyamat pontosságának és precizitásának monitorozását végző kontrollanyagokért, és meg kell határoznia a tesztkontrollanyagok számát, típusát és alkalmazásuk gyakoriságát a módosítatlan, jóváhagyott tesztrendszerre vonatkozó ellenőrzött teljesítményjellemzők segítségével.

Külső kontrollok

- 1) A felhasználóknak a betegminták feldolgozása előtt 24 óránként fel kell dolgozniuk egy NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls [REF 901200] készletet. Ha nem áll rendelkezésre érvényes külsőkontroll-eredmény, a NeuMoDx System szoftvere felszólítja a felhasználót, hogy dolgozzon fel kontrollokat, mielőtt a mintaeredményeket jelenteni lehetne.
- 2) Ha külső kontrollokra van szükség, dolgozza fel a kontrollokat (1 pozitív kontrollt és 1 negatív kontrollt):

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	Címke színe
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control(s)	Vörös
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Negative Control(s)	Fekete

- 3) A külső kontrollok feldolgozásakor helyezze a kontrollokat egy mintacsőtartóba, és az érintőképernyő segítségével töltsse be a tartót a NeuMoDx System készülékbe az automatikus betöltőpolcra. A NeuMoDx System felismeri a vonalkódokat, és elkezd a kontrollok feldolgozását, ha elérhetőek a vizsgálathoz szükséges reagensek és fogyóeszközök.
- 4) A NeuMoDx System a várt eredmények alapján kiértékeli a külső kontrollok érvényességét.

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 eredmény	SPC2 eredmény
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control(s)	Influenza A, influenza B, RSV, SARS-CoV-2 RNS detektálható	N/A
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Negative Control(s)	Nem detektálható influenza A, influenza B, RSV, SARS-CoV-2 RNS	SPC2 pozitív

- 5) A külső kontrollokkal kapcsolatos ellentmondó eredményeket a következőképpen kell kezelni:
- A negatív kontrollminta esetén jelentett Positive (pozitív) teszteredmény szennyeződést jelezhet; a kiváltó ok feltárásához meg kell vizsgálni a laboratórium minőség-ellenőrzési eljárásait. Ügyeljen rá, hogy külön területeken történjen a minta-előkészítés, a kontrollok kezelése és az RT-PCR összeállítás. További hibaelhárítási javaslatokat a *NeuMoDx 288 vagy 96 Molecular System kezelői kézikönyvében* talál.
 - A pozitív kontrollminta esetén jelentett Negative (negatív) teszteredmény reagenssel vagy a NeuMoDx System készülékkel kapcsolatos problémára utalhat. Hibaelhárítási javaslatokat a *NeuMoDx 288 vagy 96 Molecular System kezelői kézikönyvében* talál.
 - A fentiek bármelyike, illetve No Result (NR, nincs eredmény), Unresolved (UNR, megoldatlan) vagy Indeterminate (IND, nem eldönthető) eredmény esetén ismételje meg a sikertelen kontrollt az érvényességi teszten sikertelennek bizonyult kontroll újonnan felolvasztott üvegével.
 - Ha a pozitív kontroll továbbra is Negative (Negatív) teszteredményt ad, forduljon a QIAGEN műszaki támogatásához.
 - Ha a negatív kontroll továbbra is Positive (Pozitív) teszteredményt ad, mielőtt a QIAGEN műszaki támogatásához fordulna, próbáljon meg kiküszöbölni minden potenciális kontaminációs forrást (többek között cserélje le az összes reagenst), majd ismételje meg a futtatást.
 - Ha a külső kontrollok nem a várt eredményt adják, ismételten le kell futtatni egy készlet pozitív és negatív kontrollt. Ha a kontrollok nem a várt eredményt adják, a készülék nem adja ki a betegminták eredményeit.

Mintafeldolgozási (belső) kontrollok

A NeuMoDx Extraction Plate extrakciós lemezbe beépítettek egy exogén mintafeldolgozási kontrollt (Sample Process Control, SPC2), amely minden minta esetében átesik a teljes nukleinsav-extrakciós és valós idejű RT-PCR-amplifikációs folyamaton. Az SPC2-re jellemző primerek és próbák is megtalálhatók a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip tesztszíkok mintahelyeiben, ami lehetővé teszi az SPC2 detektálását a cél RNS-sel együtt (ha jelen van) a multiplex PCR révén. Az SPC2 amplifikációja lehetővé teszi a NeuMoDx System szoftvere számára az RNS-extrakciós és az RT-PCR-amplifikációs folyamatok hatásosságának monitorozását.

Az RT-PCR előtt a NeuMoDx System automatikusan elvégzi egy „FILL CHECK” (Feltöltés ellenőrzése) lépést, így biztosítva, hogy a PCR-kamra fel van töltve oldattal és megfelelő mennyiségű fluoreszcens próbát tartalmaz.

A NeuMoDx System szoftvere folyamatosan monitorozza a készüléken belüli szenzorokat és vezérlőrendszereket a rendszer biztonságos és hatékony működésének biztosítása érdekében.

Több folyadékhiba utáni helyreállítási mód van beiktatva a felszívási és adagolási műveletek aktív monitorozása révén, így biztosítva, hogy a rendszer biztonságos és hatékony módon be tudja fejezni az összes minta feldolgozását, vagy megfelelő hibaüzenetet ad.

TEJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

Analitikai szenzitivitás

A NeuMoDx Molecular System készülékeken elvégzett NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay analitikai szenzitivitását két szakaszban jellemezték. A detektálási határ (Limit of Detection, LoD) jellemzéséhez UVT mátrixba gyűjtött, poolozott, maradék negatív klinikai nazopharingeális tamponmintákat használtak, amelyeket személyazonosításra alkalmatlanná tettek, valamint az egyes célvírusok modell törzseit használták. Az egyes célvírusok esetén használt modell törzsek a *3. táblázatban* láthatók. Először hígítási sort készítettek UVT-ben az egyes célvírusok modell törzseinek felhasználásával a Direct (Közvetlen) és a Pretreated (Előkezelés) munkafolyamat alkalmazásával, majd feldolgozták azt a NeuMoDx System készülékkel az előzetes detektálási határ (Limit of Detection, LoD) meghatározásához. A vizsgálat második részében mindkét munkafolyamat esetében megerősítették ezeket az előzetes LoD-értékeket találati arány vizsgálat segítségével a NeuMoDx 288 és a NeuMoDx 96 Molecular System készüléken. Az előzetes LoD-értéket elfogadták, ha a találati arány vizsgálat 95%-os pozitív arányt ért el mindkét munkafolyamat és mindkét készülék esetében. Az előzetes LoD-értékek esetén kapott detektálási arányok a *4. táblázatban* vannak feltüntetve. Az *5. táblázat* az N288 System készülékre, a *6. táblázat* pedig az N96 System készülékre vonatkozó megerősítő találati arány vizsgálat részleteit tartalmazza. A végleges LoD-t a *4. táblázatban félkövér* formázás jelzi.

3. táblázat: Az egyes célvírusok esetén használt törzsek

Célvírus/törzs	Forrás	Katalógusszám	Tételszám	Anyag típusa
Influenza A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1688	70031602	Fertőzött sejtekből származó tisztított felülűszó
Influenza A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1690	70032253	Fertőzött sejtekből származó tisztított felülűszó
Influenza A, Szingapúr/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	Virapur	N/A	B1904J	Élő, nyers
Influenza A, Hongkong/2671/2019 (H3N2)	Virapur	N/A	C2030D	Élő, nyers
Influenza B, Hongkong/286/2017 (Victoria)	IRR	FR-1619	70015942	Fertőzött sejtekből származó tisztított felülűszó
Influenza B, Colorado/6/2017 (Victoria)	IRR	FR-1592	70013310	Fertőzött sejtekből származó tisztított felülűszó
Influenza B, Florida/78/2015 (Victoria)	ATCC	VR-1931	70020870	Tisztított folyékony tenyészet és sejtizátum
Influenza B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	Virapur	N/A	B1904N	Élő, nyers
RSV A2	ATCC	VR-1540	60430286	Folyékony tenyészet és sejtizátum
RSV B (WV/14617/85)	ATCC	VR-1400	70013461	Folyékony tenyészet és sejtizátum
SARS-CoV-2, WHO 1. nemzetközi standardja	NIBSC	20/146	N/A	Liofilizált sav és hővel inaktivált vírus
SARS-CoV-2, USA-WA1/2020 izolátum	BEI	NR-52285	70037779	Hővel inaktivált vírus

4. táblázat: Pozitív detektálási arányok a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay előzetes LoD-értékének meghatározásához – (a) Pretreated (Előkezelés) munkafolyamat; (b) Direct (Közvetlen) munkafolyamat

(a) Pretreated (Előkezelés) munkafolyamat

Célvírus/törzs	Szint	Egység	Érvényes eredmények száma (n/N)	Poz. minták száma	Poz. minták %-os aránya	Átl. Ct	Ct szórása
Influenza 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
Influenza 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
Influenza A, Szingapúr/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
Influenza A, Hongkong/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
Influenza B, Hongkong/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
Influenza 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
Influenza 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
Influenza 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, WHO 1. nemzetközi standardja	50	NE/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 izolátum	50	kópia/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) Direct (Közvetlen) munkafolyamat

Célvírus/törzs	Szint	Egység	Érvényes eredmények száma (n/N)	Poz. minták száma	Poz. minták %-os aránya	Átl. Ct	Ct szórása
Influenza 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
Influenza 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
Influenza A, Szingapúr/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
Influenza A, Hongkong/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
Influenza B, Hongkong/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
Influenza 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
Influenza 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
Influenza 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, WHO 1. nemzetközi standardja	50	NE/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 izolátum	66,7	kópia/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

5. táblázat: Pozitív detektálási arányok a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay LoD-értékének megerősítéséhez – N288, (a) Pretreated (Előkezelés) munkafolyamat; (b) Direct (Közvetlen) munkafolyamat

(a) Pretreated (Előkezelés) munkafolyamat

Célvírus/törzs	Szint	Egység	Érvényes eredmények száma (n/N)	Poz. minták száma	Kimutatási %	Átl. Ct	Ct szórása
Influenza A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,89	0,57
Influenza A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	33,81	0,44
Influenza A, Szingapúr/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,17	0,47
Influenza A, Hongkong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	33,77	0,52
Influenza B, Hongkong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	29/30	29	100%	32,32	1,09
Influenza B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	34,50	0,68
Influenza B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,83	0,44
Influenza 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, WHO 1. nemzetközi standardja	150	NE/ml	30/30	30	100%	33,63	0,61
SARS-CoV-2, USA-WA1/2020 izolátum	150	kópia/ml	29/30	28	96,6%	33,59	1,01

(b) Direct (Közvetlen) munkafolyamat

Célvírus/törzs	Szint	Egység	Érvényes eredmények száma (n/N)	Poz. minták száma	Kimutatási %	Átl. Ct	Ct szórása
Influenza A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,92	0,69
Influenza A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,75	0,57
Influenza A, Szingapúr/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	32,96	0,48
Influenza A, Hongkong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,67	0,48
Influenza B, Hongkong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	29/30	28	96,6%	31,74	1,19
Influenza 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
Influenza B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,55	0,38
Influenza 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, WHO 1. nemzetközi standardja	150	NE/ml	30/30	29	96,7%	33,78	0,77
SARS-CoV-2, USA-WA1/2020 izolátum	200	kópia/ml	30/30	30	100%	34,18	0,83

6. táblázat: Pozitív detektálási arányok a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay LoD-értékének találati arány módszerrel végzett megerősítéséhez – N96, (a) Pretreated (Előkezelés) munkafolyamat; (b) Direct (Közvetlen) munkafolyamat

(a) Pretreated (Előkezelés) munkafolyamat

Célvírus/törzs	Szint	Egység	Érvényes eredmények száma (n/N)	Poz. minták száma	Kimutatási %	Átl. Ct	Ct szórása
Influenza A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,05	0,81
Influenza A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	33,53	0,75
Influenza A, Szingapúr/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	32,33	1,11
Influenza A, Hongkong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	32,98	0,96
Influenza B, Hongkong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	32,75	0,69
Influenza 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
Influenza B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	33,25	0,97
Influenza 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, WHO 1. nemzetközi standardja	150	NE/ml	30/30	29	96,7%	33,79	0,67
SARS-CoV-2, USA-WA1/2020 izolátum	150	kópia/ml	30/30	29	96,7%	33,59	1,05

(b) Direct (Közvetlen) munkafolyamat

Célvírus/törzs	Szint	Egység	Érvényes eredmények száma (n/N)	Poz. minták száma	Kimutatási %	Átl. Ct	Ct szórása
Influenza A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,42	0,54
Influenza A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,35	1,10
Influenza A, Szingapúr/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	32,17	1,24
Influenza A, Hongkong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,22	0,50
Influenza B, Hongkong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	32,78	0,56
Influenza B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	34,21	0,50
Influenza B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,41	0,65
Influenza 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, WHO 1. nemzetközi standardja	150	NE/ml	30/30	29	96,7%	33,50	0,78
SARS-CoV-2, USA-WA1/2020 izolátum	200	kópia/ml	29/30	29	100%	34,45	0,39

A NeuMoDx System készülékeken végzett NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay LoD-értékeként elfogadott koncentrációs szintek összefoglalása a 7. táblázatban található.

7. táblázat: A detektálási határ vizsgálat összefoglalása

Célszekvencia	Törzs	Detektálási határ			
		Pretreated (Előkezeléses) munkafolyamat	Direct (Közvetlen) munkafolyamat	Egység	
Influenza A (Flu 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 (Flu A) – H3N2	Szingapúr/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	0,5		
	Hongkong/2671/2019 (H3N2)	0,5	0,5		
Influenza B (Flu B) – Victoria sejtvonala	Hongkong/286/2017	0,03	0,03		
	Colorado/6/2017	0,01	0,01		
	Florida/78/2015	0,25	0,25		
Influenza B (Flu B) – Yamagata sejtvonala	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	WHO 1. nemzetközi standardja	150	150		NE/ml
	USA-WA1/2020 izolátum	150	200		kópia/ml

A célorganizmusok kompetitív interferenciája: Influenza A, influenza B, RSV és SARS-CoV-2

A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay kompetitív interferenciájának értékeléséhez használt panelek UVT-be gyűjtött negatív klinikai nazopharingeális tamponmintákat tartalmaztak, amelyeket a vírus-célszekvenciákkal preparáltak. Tíz panel egy vagy két célszekvenciát tartalmazott a detektálási határhoz közeli (3–10 × LoD) koncentrációban és egyetlen célszekvenciát ≥10⁵ kópia/ml koncentrációban – ez utóbbi képviselte a társfertőzést jelentő célszekvenciát. A tizenegyedik panel mind a négy célszekvenciát tartalmazta 2 × LoD koncentrációban. Az egy-egy mintában különböző koncentrációban jelen lévő két vagy három vírus és az analitikai szenzitivitásra gyakorolt hatásuk a 8. táblázatban látható.

A SARS-CoV-2-re pozitív mintákban valószínűsíthető, hogy az influenza A és az RSV A eredmények negatívak lesznek, az influenza A-ra pozitív mintákban pedig valószínűsíthető, hogy az RSV-eredmények negatívak lesznek. A kompetitív interferencia vizsgálatok azt mutatták, hogy 10⁵ kópia/ml vagy magasabb koncentráció esetén a SARS-CoV-2 vírus jelenléte gátolhatja az 1,5 TCID₅₀/ml vagy alacsonyabb koncentrációban jelen lévő influenza A RNS-ének és a 6,25 TCID₅₀/ml vagy alacsonyabb koncentrációban jelen lévő RSV A RNS-ének detektálását és amplifikációját, és álnegatív eredményekhez vezethet. Ezenkívül 10⁵ kópia/ml vagy magasabb koncentráció esetén az influenza A vírus gátolhatja a 3,75 TCID₅₀/ml vagy alacsonyabb koncentrációban jelen lévő RSV A-vírus RNS-ének detektálását és amplifikációját, és álnegatív RSV-eredményekhez vezethet. Ha pozitív SARS-CoV-2-eredményt adó mintáknál influenza A- vagy RSV-vírussal való társfertőzést gyanítanak, illetve pozitív influenza A-eredményt adó mintáknál RSV-vírussal való társfertőzést gyanítanak, meg kell ismételni a minta vizsgálatát egy másik, FDA által engedélyezett, jóváhagyott vagy felhasználásra engedélyezett influenza- vagy RSV-teszttel, amennyiben az influenza- vagy RSV-vírus detektálása másfajta klinikai kezelést indokolna.

8. táblázat: A kompetitív interferencia vizsgálatának összefoglalása

Panel	Célszekvencia	Panel szintje	Célkonc.	Érvényes eredmények	Poz. minták száma	Kimutatási %
1	Influenza A	3X	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV A	3X	3,75 TCID ₅₀ /ml	24	23	96%
	Influenza B	Magas	10 ⁵ kópia/ml	24	24	100%
2 (1. futtatás)	Influenza A	3X	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	19	79%
	RSV A	3X	3,75 TCID ₅₀ /ml	24	8	33%
	SARS-CoV-2	Magas	10 ⁵ kópia/ml	24	24	100%
2 (2. futtatás)	Influenza A	5X	2,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV A	5X	6,25 TCID ₅₀ /ml	24	16	67%
	SARS-CoV-2	Magas	10 ⁵ kópia/ml	24	24	100%
2 (3. futtatás)	Influenza A	5X	2,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV A	10X	12,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	SARS-CoV-2	Magas	10 ⁵ kópia/ml	24	24	100%
3	Influenza A	3X	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	SARS-CoV-2	3X	450 NE/ml	24	24	100%
	RSV B	Magas	10 ⁵ kópia/ml	24	24	100%
4	Influenza B	3X	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV B	3X	0,15 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	Influenza A	Magas	10 ⁵ kópia/ml	24	24	100%
5	Influenza B	3X	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV B	3X	0,15 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	SARS-CoV-2	Magas	10 ⁵ kópia/ml	24	24	100%
6	Influenza B	3X	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV B	Magas	10 ⁵ kópia/ml	24	24	100%
7	SARS-CoV-2	3X	450 NE/ml	24	24	100%
	Influenza A	Magas	10 ⁵ kópia/ml	24	24	100%
8	SARS-CoV-2	3X	450 NE/ml	24	24	100%
	Influenza B	Magas	10 ⁵ kópia/ml	24	24	100%
	RSV A	3X	3,75 TCID ₅₀ /ml	24	20	83%
9 (1. futtatás)	Influenza A	Magas	10 ⁵ kópia/ml	24	24	100%
	RSV A	5X	6,25 TCID ₅₀ /ml	24	23	96%
9 (2. futtatás)	Influenza A	Magas	10 ⁵ kópia/ml	24	24	100%
	RSV B	3X	0,15 TCID ₅₀ /ml	24	23	96%
10	Influenza B	Magas	10 ⁵ kópia/ml	24	24	100%
	Influenza A	2X	1 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
11	Influenza 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 NE/ml	24	24	100%

Analitikai reaktivitás és inkluzivitás

A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay analitikai reaktivitását több influenza A, influenza B, RSV és SARS-CoV-2 törzssel/izolátummal értékelték. Minden törzs/izolátum reaktivitását két szakaszban jellemezték. Az egyes célvírusok reaktivitási szintjeinek előzetes meghatározásához minden egyes céltörzset 3 különböző koncentrációban vizsgáltak szimulált nazopharingeális tamponmátrixban (amelynek elkészítéséhez ml-enként 3000 humán hámszövetet adtak az UVT-hez), lásd 9. táblázat. A második szakaszban legalább 20 párhuzamos tesztelésével megerősítették az 1. fázisban 100%-os pozitív arányt eredményező legalacsonyabb koncentrációt mint a reaktivitási szintet, lásd 10. táblázat. Összesen 14 influenza A-törzset, 6 influenza B-törzset, 1 RSV A-izolátumot, 1 RSV B-izolátumot és 6 SARS-CoV-2-izolátumot vizsgáltak.

9. táblázat: Influenza A, influenza B, RSV A, RSV B és SARS-CoV-2 törzsek – a reaktivitási szint előzetes elemzése

Előzetes elemzés					
Célszekvencia	Törzs		A tesztelt szintek	Érvényes eredmények száma	Poz. minták %-os aránya
Influenza 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/Banglades/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	Svájc/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%
		Hongkong/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/Kalifornia/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/Japán/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/kacsa/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: 3 × 10 ⁵ ¹	8	50%
		1: 1 × 10 ⁵ ¹	7	87,5%	
		1: 3,3 × 10 ⁴ ¹	8	100%	
H10N7	A/csirke/Németország/N/49 (H10N7)	22,67 pg/ml ¹	8	100%	
		68 pg/ml ¹	8	100%	
		204 pg/ml ¹	8	100%	
Influenza B	Victoria sejtvonala	Malajzia/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%	

Előzetes elemzés							
Célszekvencia	Törzs		A tesztelt szintek	Érvényes eredmények száma	Poz. minták %-os aránya		
Influenza B (folytatás)			1 TCID ₅₀ /ml	8	100%		
			3 TCID ₅₀ /ml	8	100%		
	Yamagata sejtvonala	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%		
			0,06 CEID ₅₀ /mL	8	25,0%		
		B/Utah/09/2014 (Yamagata sejtvonala)	0,19 CEID ₅₀ /mL	8	87,5%		
			0,56 CEID ₅₀ /mL	7	85,7%		
			1,7 CEID ₅₀ /mL	6	100%		
			5 CEID ₅₀ /mL	6	100%		
	B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N) (Yamagata)	15 CEID ₅₀ /mL	6	100%			
		0,33 TCID ₅₀ /ml	8	25,0%			
		1 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%			
RSV	RSVA	A (long)	3 TCID ₅₀ /ml	8	100%		
			0,67 PFU/ml	8	37,5%		
			2 PFU/ml	8	100%		
	RSVB	B (9320)	6 PFU/ml	7	100%		
			0,03 PFU/ml	8	12,5%		
			0,1 PFU/ml	8	87,5%		
SARS-CoV-2	USA/CA-Stanford-15_S02/2021 (Kappa, B.1.617.1)		0,3 PFU/ml	8	100%		
			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	8	100%		
			USA/CA_CDC_5574/2020 (Alfa, B.1.1.7)		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	7			100%		
	Japán/TY7-503/2021 (Gamma, Brazil P.1)		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	8	100%		
	USA/PHC658/2021 (Delta, B.1.617.2)		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			4	100%			
Olaszország-INMI1		7,44 kópia/ml ¹	8	37,5%			
		22,33 kópia/ml ¹	8	87,5%			
		67 kópia/ml ¹	8	100%			
		200 kópia/ml ¹	8	100%			
		600 kópia/ml ¹	8	100%			
Hongkong/VM20001061/2020 izolátum		7,44 kópia/ml ¹	8	25,0%			
		22,33 kópia/ml ¹	8	87,5%			
		67 kópia/ml ¹	7	100%			
		200 kópia/ml ¹	7	100%			
		600 kópia/ml ¹	7	100%			

¹Ezeknél a variánsoknál csak a „teljes RNS” mennyisége volt meghatározva, amely a vírus RNS-t és a gazdasejt RNS-ét is magában foglalja.

10. táblázat: Influenza A, influenza B, RSV A, RSV B és SARS-CoV-2 törzsek – a reaktivációs szint megerősítése

Megerősítés					
Célszekvencia	Törzs		Szint	Érvényes eredmények száma	Poz. minták %-os aránya
Influenza 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/Banglades/3002/2015 (H1N1) pdm09	10 CEID ₅₀ /mL	24	100%
	H3N2	Svájc/9715293/2013 (H3N2)	0,25 TCID ₅₀ /ml	24	87,0%
			0,5 TCID ₅₀ /ml	24	100%
		Hongkong/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/Kalifornia/02/2014 (H3N2)	0,01 TCID ₅₀ /ml	24	91,7%
			0,03 TCID ₅₀ /ml	24	100%
	H2N2	A2/Japán/305/57 (H2N2)	10,87 pg/ml ¹	24	100%
H5N2	A/kacsa/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: 3,3 × 10 ⁴ ¹	24	95,7%	
H10N7	A/csirke/Németország/N/49 (H10N7)	7,6 pg/ml ¹	23	73,9%	
		22,67 pg/ml ¹	23	100%	
Influenza B	Victoria sejtvonala	Malajzia/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%
	Yamagata sejtvonala	B/Maryland/15/2016 (Victoria)	0,03 TCID ₅₀ /ml	24	100%
		Wisconsin/1/2010 (Yamagata)	0,05 CEID ₅₀ /mL	24	100%
		B/Utah/09/2014 (Yamagata sejtvonala)	0,56 TCID ₅₀ /ml	24	87,0%
			1,5 TCID ₅₀ /ml	24	100%
	B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N) (Yamagata)	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	87,5%	
		1,5 TCID ₅₀ /ml	20	95,0%	
		3,0 TCID ₅₀ /ml	24	100%	
RSV	RSVA	A (long)	2 PFU/ml	24	91,7%
			4 PFU/ml	24	95,8%
	RSVB	B (9320)	0,15 PFU/ml	24	100%
			0,3 PFU/ml	21	100%
SARS-CoV-2	USA/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%	
		Japán/TY7-503/2021 (Gamma, Brazil P.1)	0,006 TCID ₅₀ /ml	24	95,8%
SARS-CoV-2 (folytatás)	USA/PHC658/2021 (Delta, B.1.617.2)	0,006 TCID ₅₀ /ml	24	87,5%	
		0,013 TCID ₅₀ /ml	24	100%	
	Olaszország-INMI1	22 kópia/ml ¹	24	95,8%	
		67 kópia/ml ¹	24	100%	
	Hongkong/VM20001061/2020 izolátum	22 kópia/ml ¹	24	57,1%	
		67 kópia/ml ¹	24	100%	

¹Ezeknél a variánsoknál csak a „teljes RNS” mennyisége volt meghatározva, amely a vírus RNS-t és a gazdasejt RNS-ét is magában foglalja.

A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay különböző SARS-CoV-2 klinikai izolátumok esetében megfigyelhető reaktivitásának igazolásához *in silico* elemzést végeztek az assay primerjeivel és próbáival a GenBank adatbankban (2021 novemberében) rendelkezésre álló összes szekvenciával szemben, az NCBI internetes alapvető helyi illesztési keresőeszköze (Basic Local Alignment Search Tool, BLAST) segítségével. Az eredmények alapján a SARS-CoV-2 primerjei és próbái 100%-os homológiát mutatnak a szekvenciák több mint 98%-ával. Általánosságban a primerek és próbák > 95%-os homológiát mutattak az összes vizsgált szekvenciával.

Laboratóriumon belüli reprodukálhatóság

A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay laboratóriumon belüli reprodukálhatóságának jellemzéséhez egy negatív panelt és tíz olyan panelt vizsgáltak, amelyeket az influenza A, az influenza B, az RSV A, az RSV B vagy a SARS-CoV-2 valamelyikével preparáltak 2 különböző koncentrációban [mérsékelt pozitív (5 × LoD) és gyengén pozitív (2 × LoD)]. A paneleket a helyes gyártási gyakorlat (good manufacturing practice, GMP) kritériumainak megfelelően gyártott három NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip tesztsíkötettel, két NeuMoDx System készüléken, hat nem egymást követő napon vizsgálták. A panelek tagjait szimulált nazopharingeális tamponmintákból hozták létre, amelyek elkészítéséhez ml-enként 3000 humán hámsejtet adtak Universal Viral Transport medium (UVT) tápközeghez, majd azt preparálták az influenza A, az influenza B, az RSV A, az RSV B vagy a SARS-CoV-2 reprezentatív törzsével. Mivel a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip tesztsíkokat és a NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) lízispuffert azonosították az assay teljesítményét befolyásolni képes fő tesztspecifikus reagensekként, a Pre-treated (Előkezelés) munkafolyamatot alkalmazták, hogy a VVLB-t is be lehessen építeni a vizsgálatba. A Ct értékeknek a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay tesztsíkok három tételén belüli és közötti, valamint két NeuMoDx Molecular System készülék esetén kapott szórása ≤ 1,2 volt (variációs koefficiens, CV ≤ 4,0%) minden célvírusra vonatkozóan, ami kiváló reprodukálhatóságot igazolt, lásd 11., 12. és 13. táblázat.

11. táblázat: A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip tesztsíkok reprodukálhatósága az összes készülék/tétel/nap esetén

Célszekvencia	Célszint	Érvényes N	Pozitív eredmények %-os aránya	Átl. Ct	Szórás	%CV
Influenza A	Mérs. poz.	72	100%	31,21	0,59	1,9%
	Gyeng. poz.	72	100%	32,01	0,58	1,8%
Influenza B	Mérs. poz.	72	100%	31,02	0,39	1,3%
	Gyeng. poz.	72	100%	31,88	0,56	1,7%
RSV A	Mérs. poz.	72	100%	29,71	0,95	3,2%
	Gyeng. poz.	72	100%	30,75	1,18	3,8%
RSV B	Mérs. poz.	72	100%	28,43	0,53	1,9%
	Gyeng. poz.	72	100%	29,45	0,56	1,9%
SARS-CoV-2	Mérs. poz.	72	100%	32,70	0,51	1,5%
	Gyeng. poz.	72	100%	33,68	0,56	1,7%
Valódi negatív		72	0%	N/A	N/A	N/A

12. táblázat: A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip tesztsíkok reprodukálhatósága készülékenként

Panel		N0000096					N000012				
Célszekvencia	Célszint	Érvényes N	Pozitív eredmények %-os aránya	Átl. Ct	Szórás	%CV	Érvényes N	Pozitív eredmények %-os aránya	Átl. Ct	Szórás	%CV
Influenza A	Mérs. poz.	36	100%	31,37	0,66	2,1%	36	100%	31,05	0,46	1,5%
	Gyeng. poz.	36	100%	32,07	0,65	2,0%	36	100%	31,95	0,51	1,6%
Influenza B	Mérs. poz.	36	100%	31,10	0,40	1,3%	36	100%	30,94	0,37	1,2%
	Gyeng. poz.	36	100%	31,84	0,57	1,8%	36	100%	31,91	0,55	1,7%
RSV A	Mérs. poz.	36	100%	29,94	0,97	3,2%	36	100%	29,49	0,89	3,0%
	Gyeng. poz.	36	100%	30,93	1,19	3,8%	36	100%	30,57	1,16	3,8%
RSV B	Mérs. poz.	36	100%	28,60	0,58	2,0%	36	100%	28,26	0,42	1,5%
	Gyeng. poz.	36	100%	29,60	0,53	1,8%	36	100%	29,29	0,56	1,9%
SARS-CoV-2	Mérs. poz.	36	100%	32,80	0,56	1,7%	36	100%	32,61	0,43	1,3%
	Gyeng. poz.	36	100%	33,83	0,64	1,9%	36	100%	33,52	0,42	1,2%
Valódi negatív		36	0%	N/A	N/A	N/A	36	0%	N/A	N/A	N/A

13. táblázat: A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip tesztszícek reprodukálhatósága reagenstételenként

Panel		1. tétel				2. tétel				3. tétel			
Célszekvencia	Célszint	Érvényes N	Átl. Ct	Szórás	%CV	Érvényes N	Átl. Ct	Szórás	%CV	Érvényes N	Átl. Ct	Szórás	%CV
Influenza A	Mérs. poz.	24	31,06	0,38	1,2%	24	31,49	0,62	2,0%	24	31,08	0,65	2,1%
	Gyeng. poz.	24	32,02	0,59	1,8%	24	32,18	0,50	1,6%	24	31,82	0,61	1,9%
Influenza B	Mérs. poz.	24	31,05	0,39	1,2%	24	31,08	0,47	1,5%	24	30,94	0,29	0,9%
	Gyeng. poz.	24	31,93	0,36	1,1%	24	32,01	0,77	2,4%	24	31,69	0,42	1,3%
RSV A	Mérs. poz.	24	29,04	0,71	2,4%	24	30,40	0,66	2,2%	24	29,69	0,94	3,2%
	Gyeng. poz.	24	31,53	0,50	1,6%	24	29,45	0,79	2,7%	24	31,25	0,87	2,8%
RSV B	Mérs. poz.	24	28,65	0,54	1,9%	24	28,29	0,52	1,8%	24	28,35	0,47	1,7%
	Gyeng. 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	Mérs. poz.	24	32,82	0,43	1,3%	24	32,70	0,56	1,7%	24	32,59	0,50	1,5%
	Gyeng. poz.	24	33,42	0,58	1,7%	24	33,80	0,57	1,7%	24	33,81	0,47	1,4%
Valódi negatív		24	N/A	N/A	N/A	24	N/A	N/A	N/A	24	N/A	N/A	N/A

Klinikai teljesítmény

A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay klinikai teljesítményjellemzőit belső retrospektív módszer-összehasonlítási vizsgálattal határozták meg, amelyben 4 földrajzilag eltérő elhelyezkedésű laboratóriumból származó maradék nazopharyngeális (NP) tamponmintákat használtak. A vizsgálatba SARS-CoV-2-re pozitív klinikai minták hígításait is bevonták, hogy igazolják a klinikai szenzitivitást a LoD közelében.

A tünetekkel rendelkező betegektől vett maradék NP tamponmintákat a mintát biztosító laboratóriumok egyedi azonosító számmal látták el a személyes azonosításra alkalmas adatok helyett. A betegazonosítók és a vizsgálati célból tesztelt, személyes azonosításra alkalmas adatoktól mentesített minták közötti kapcsolatról bizalmasan kezelt listát készítettek. Összesen 747 egyedi NP tamponmintát gyűjtöttek ehhez a vizsgálathoz. Minden mintát feldolgoztak a Direct (Közvetlen) és a Pretreated (Előkezelés) munkafolyamattal is. A Direct (Közvetlen) munkafolyamat 739 érvényes és 8 érvénytelen eredményt adott, míg a Pretreated (Előkezelés) munkafolyamat 736 érvényes és 11 érvénytelen eredményt adott. Az érvényes minták közül 121-et kizárólag az influenza A, az influenza B és az RSV célszekvenciák értékelésére használtak. Ezekből a mintákból 54 volt az influenza A-ra pozitív minta, 34 az influenza B-re pozitív minta és 33 az RSV-re pozitív minta. A mintákat biztosító klinikai laboratóriumok ennél a 121 mintánál rendelkezésre bocsátották mind a 3 vizsgált célvírusra kapott eredményeket. Így a pozitív minták ezen csoportja 67 negatív influenza A-eredményt, 87 negatív influenza B-eredményt és 88 negatív-RSV-eredményt is magában foglalt. Ezeket a negatív eredményeken felül volt még 59 klinikai minta, amelyknél a komparátor assay mind a 4 célvírus esetében negatív eredményt adott. Mindkét munkafolyamatban összesen 106 olyan minta volt, amelyet SARS-CoV-2-re pozitívként azonosítottak. A SARS-CoV-2-re negatív klinikai mintáknál a Direct (Közvetlen) munkafolyamat esetén 512, a Pretreated (Előkezelés) munkafolyamat esetén 509 esetben született érvényes NeuMoDx-eredmény.

Ezeknek a mintáknak a vizsgálati státuszát a kezelő nem ismerte, így biztosítva az „egyszeres vak vizsgálatot”. A módszer-összehasonlítási elemzéshez specifikus, FDA és CE által engedélyezett, hivatalosan forgalmazott, a laboratóriumok által a standard ellátásban használt vizsgálatokhoz alkalmazott molekuláris eszközökből származó eredményeket használták fel.

A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay eredményei mindkét munkafolyamatnál 98,1%-os klinikai szenzitivitást igazoltak az influenza A célszekvencia esetében, a klinikai specificitás pedig a Direct (Közvetlen) munkafolyamatnál 100%, a Pretreated (Előkezelés) munkafolyamatnál 99,2% volt (14A. táblázat). Az Influenza B célszekvencia esetében a klinikai szenzitivitás 97,1%, a klinikai specificitás pedig 100% volt mindkét munkafolyamatban (14B. táblázat). A (nem differenciált) RSV-célszekvencia esetében a klinikai szenzitivitás 97% volt mindkét munkafolyamatnál, a klinikai specificitás pedig a Direct (Közvetlen) munkafolyamatnál 99,3%, a Pretreated (Előkezelés) munkafolyamatnál 98,6% volt (14C. táblázat). A SARS-CoV-2 célszekvencia esetében a klinikai szenzitivitás 97,2% volt mindkét munkafolyamatnál, a klinikai specificitás pedig a Direct (Közvetlen) munkafolyamatnál 98,4%, a Pretreated (Előkezelés) munkafolyamatnál 98,2% volt (14D. táblázat). A 95%-os konfidenciaintervallumok alsó és felső határértékeit az alábbi 14A., 14B., 14C. és 14D. táblázat tartalmazza; a határértékeket a folytonossági korrekciós Wilson-eljárás segítségével számolták ki.

14A. táblázat: A klinikai teljesítmény összefoglalása – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Az **Influenza A** detektálása
(a) Direct (Közvetlen) munkafolyamat és (b) Pretreated (Előkezelés) munkafolyamat

(a) Direct (Közvetlen) munkafolyamat

Influenza A		FDA-/CE-engedéllyel rendelkező referenciateszt eredménye		
		Pozitív	Negatív	Összes
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 teszteredmény	Pozitív	53	0	53
	Negatív	1	126	127
	Összes	54	126	180
Klinikai szenzitivitás (influenza A) = 98,1% (88,8–99,9%)				
Klinikai specifitás (influenza A) = 100% (96,3–100%)				

(b) Pretreated (Előkezelés) munkafolyamat

Influenza A		FDA-/CE-engedéllyel rendelkező referenciateszt eredménye		
		Pozitív	Negatív	Összes
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 teszteredmény	Pozitív	53	1	54
	Negatív	1	125	126
	Összes	54	126	180
Klinikai szenzitivitás (influenza A) = 98,1% (88,8–99,9%)				
Klinikai specifitás (influenza A) = 99,2% (95,0–100%)				

14B. táblázat: A klinikai teljesítmény összefoglalása – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Az **Influenza B** detektálása
(a) Direct (Közvetlen) munkafolyamat és (b) Pretreated (Előkezelés) munkafolyamat

(a) Direct (Közvetlen) munkafolyamat

Influenza B		FDA-/CE-engedéllyel rendelkező referenciateszt eredménye		
		Pozitív	Negatív	Összes
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 teszteredmény	Pozitív	33	0	33
	Negatív	1	146	147
	Összes	34	146	180
Klinikai szenzitivitás (influenza B) = 97,1% (82,9–99,8%)				
Klinikai specifitás (influenza B) = 100% (96,8–100%)				

(b) Pretreated (Előkezelés) munkafolyamat

Influenza B		FDA-/CE-engedéllyel rendelkező referenciateszt eredménye		
		Pozitív	Negatív	Összes
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 teszteredmény	Pozitív	33	0	33
	Negatív	1	146	147
	Összes	34	146	180
Klinikai szenzitivitás (influenza B) = 97,1% (82,9–99,8%)				
Klinikai specifitás (influenza B) = 100% (96,8–100%)				

14C. táblázat: A klinikai teljesítmény összefoglalása – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Az **RSV** detektálása (a) Direct (Közvetlen) munkafolyamattal és (b) Pretreated (Előkezelés) munkafolyamattal

(a) Direct (Közvetlen) munkafolyamat

RSV		FDA-/CE-engedéllyel rendelkező referenciateszt eredménye		
		Pozitív	Negatív	Összes
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 teszteredmény	Pozitív	32	1	33
	Negatív	1	146	147
	Összes	33	147	180
Klinikai szenzitivitás (RSV) = 97,0% (82,5–99,8%)				
Klinikai specificitás (RSV) = 99,3% (95,7–100%)				

(b) Pretreated (Előkezelés) munkafolyamat

RSV		FDA-/CE-engedéllyel rendelkező referenciateszt eredménye		
		Pozitív	Negatív	Összes
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 teszteredmény	Pozitív	32	2	34
	Negatív	1	145	146
	Összes	33	147	180
Klinikai szenzitivitás (RSV) = 97,0% (82,5–99,8%)				
Klinikai specificitás (RSV) = 98,6% (94,7–99,8%)				

14D. táblázat: A klinikai teljesítmény összefoglalása – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: **SARS-CoV-2** detektálása (a) Direct (Közvetlen) munkafolyamattal és (b) Pretreated (Előkezelés) munkafolyamattal

(a) Direct (Közvetlen) munkafolyamat

SARS-CoV-2		FDA-/CE-engedéllyel rendelkező referenciateszt eredménye		
		Pozitív	Negatív	Összes
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 teszteredmény	Pozitív	103	8	111
	Negatív	3	504	507
	Összes	106	512	618
Klinikai szenzitivitás (SARS-CoV-2) = 97,2% (91,3–99,3%)				
Klinikai specificitás (SARS-CoV-2) = 98,4% (96,8–99,3%)				

(b) Pretreated (Előkezelés) munkafolyamat

SARS-CoV-2		FDA-/CE-engedéllyel rendelkező referenciateszt eredménye		
		Pozitív	Negatív	Összes
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 teszteredmény	Pozitív	103	9	112
	Negatív	3	500	503
	Összes	106	509	615
Klinikai szenzitivitás (SARS-CoV-2) = 97,2% (91,3–99,3%)				
Klinikai specificitás (SARS-CoV-2) = 98,2% (96,5–99,1%)				

Analitikai specificitás és keresztreaktivitás

A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 assay analitikai specificitását gyakori légúti kórokozókat és a légutakban rendszerint jelen lévő flórát képviselő 47 mikroorganizmusból, nevezetesen 22 vírus-, 24 baktérium- és 1 élesztőgombatörzsből álló panel tesztelésével értékelték. A baktériumokat és az élesztőgombát $\sim 6 \times 10^6$ CFU/ml vagy IFU/ml koncentrációban tesztelték, kivéve ahol ezt másként jelölték. A vírusokat 10^5 és 10^6 TCID₅₀/ml vagy kópia/ml közötti koncentrációkban tesztelték, kivéve ahol ezt másként jelölték. A SARS-CoV-2 és a koronavírus család (229E, OC43, NL63, MERS és SARS-1), valamint a *Legionella pneumophila* közötti esetleges keresztreaktivitás ellenőrzéséhez további párhuzamosokat (> 20) voltak be a vizsgálatba, hogy teljesüljön a SARS-CoV-2 in vitro diagnosztikai orvostechonikai eszközökre vonatkozó MDCC-gövetelmény. A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 assay analitikai specificitása 100% volt az influenza A, az influenza B, az RSV A, az RSV B és a SARS-CoV-2 esetében.

A koronavírus család egy másik tagját, a HKU1-t is be kívánták vonni a vizsgálatba. Azonban nem állt rendelkezésre a vírus és a genomiális RNS, így a szintetikus anyag 4 párhuzamosát tesztelték. Ezenkívül az esetleges keresztreaktivitás vizsgálatához *in silico* elemzést is végeztek a NeuMoDx SARS-CoV-2 primerek és próbák, valamint a GenBank adatbankban publikált HKU1 koronavírus-genomok összehasonlításával. Összesen 57 HKU1 genomiális szekvenciát kértek le az NIH részeként működő NCBI vírusadatbázisából. Mindegyik HKU1 szekvenciánál 3 vagy több eltérést figyeltek meg mindegyik NeuMoDx SARS-CoV-2 primerhez és próbához képest. Nem volt kimutatható szoros homológia. Így nem várható keresztreaktivitás a HKU1 koronavírus és a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay között.

15. táblázat: Analitikai specificitási eredmények

Organizmus	Koncentráció	Influenza A	Influenza B	RSV	SARS-CoV-2
Adenovírus 1-es típus	1 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Adenovírus 7-es típus	5 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Bordetella pertussis</i> 1176	10 ng/ml	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	10 ng/ml	-	-	-	-
<i>Corynebacterium xerosis</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
EBV	1 × 10 ⁶ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Hemophilus influenzae</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
HHV 6A	1 × 10 ⁶ kópia/ml	-	-	-	-
HHV 7	1 × 10 ⁶ kópia/ml	-	-	-	-
HHV 8	1 × 10 ⁶ kópia/ml	-	-	-	-
HSV 1	1 × 10 ⁶ kópia/ml	-	-	-	-
HSV 2	1 × 10 ⁶ kópia/ml	-	-	-	-
Humán koronavírus 229E	1 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humán koronavírus HKU1	1 × 10 ⁶ kópia/ml	-	-	-	-
Humán koronavírus NL63	1 × 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humán koronavírus OC43	1 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humán enterovírus 68	1 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humán metapneumovírus	1 × 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humán parainfluenza 1-es típusa	5 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humán parainfluenza 2-es típusa	5 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humán parainfluenza 3-es típusa	1 × 10 ⁶ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humán rhinovírus 1A típusa	5 × 10 ³ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus brevis</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus jensoni</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus lactis</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
Kanyaróvírus	1 × 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
MERS-koronavírus EMC/2012	1 × 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
Mumpszvírus	5 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero A	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero B	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero C	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero D	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
SARS-koronavírus	1 × 10 ⁶ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-

Organizmus	Koncentráció	Influenza A	Influenza B	RSV	SARS-CoV-2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	6 × 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
Influenza A, Szingapúr/INIFMIH-16-0019/2016	3 × LoD	+	-	-	-
Influenza B, Florida/78/2015 (Victoria)	3 × LoD	-	+	-	-
RSV A2	3 × LoD	-	-	+	-
RSV B (WV/14617/85)	3 × LoD	-	-	+	-
SARS-CoV-2, WHO 1. nemzetközi standardja	3 × LoD	-	-	-	+
Negatív kontroll (nincs kórokozó)	N/A	-	-	-	-

16. táblázat: Analitikai specifititás – a koronavírus család és a *Legionella pneumophila* (> 20 párhuzamos tesztelésével)

Organizmus	Koncentráció	SARS-CoV-2
Humán koronavírus NL63	1,00E+04 TCID ₅₀ /ml	-
SARS-koronavírus-1	1,00E+06 PFU/ml	-
MERS-koronavírus EMC/2012	1,00E+04 TCID ₅₀ /ml	-
Humán koronavírus 229E	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml	-
Humán koronavírus OC43	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6,00E+06 CFU/ml	-
Pozitív kontroll: WHO első SARS-CoV-2 standardja	3 × LoD	+
Negatív kontroll (nincs kórokozó)	N/A	-

Zavaró anyagok – kommenzális mikroorganizmusok

Megvizsgálták a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay tesztet (a felső légutakban potenciálisan jelen lévő) nem cél-mikroorganizmusok jelenlétében bekövetkező interferencia tekintetében. Ehhez értékelték az assay teljesítményét az influenza A, influenza B, RSV A, RSV B és SARS-CoV-2 vírus alacsony (~3 × LoD) koncentrációja és a fenti 15. táblázatban felsorolt mikroorganizmusok magas koncentrációja esetén. Ezenkívül a SARS-CoV-2 és a koronavírus család (229E, OC43, NL63, MERS és SARS-1), valamint a *Legionella pneumophila* közötti esetleges interferencia ellenőrzéséhez (16. táblázat) további párhuzamosokat (> 20) vontak be a vizsgálatba, hogy teljesüljön a SARS-CoV-2 in vitro diagnosztikai orvostechikai eszközökre vonatkozó MDCG-követelmény. Ezeket a mintákat csak ~3 × LoD koncentrációban preparálták SARS-CoV-2-vel az interferenciavizsgálathoz. Minden célvírus esetében 100%-os detektálási arányt figyeltek meg. Ez azt jelenti, hogy egyik kommenzális mikroorganizmus esetében sem volt interferencia megfigyelhető egyik célvírus detektálásánál sem.

Zavaró anyagok – Endogén/exogén

Megvizsgálták a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay tesztet a nazopharingeális tamponminták vételével potenciálisan összefüggő anyagok okozta interferenciára való hajlam tekintetében. A maradék negatív klinikai nazopharingeális tamponmintákat influenza A, influenza B, RSV A, RSV B vagy SARS-CoV-2 vírussal preparáltak 3 × LoD-koncentrációban, majd feldolgozták őket a 17. táblázatban feltüntetett ágensek jelenlétében és hiányában. A vizsgálatba bevont anyagok egyike sem fejtett ki nemkívánatos hatást az assay teljesítményére egyik célszekvencia esetében sem.

17. táblázat: Interferencia tekintetében megvizsgált anyagok

Vegyület	Leírás/hatóanyag	Koncentráció*	
Exogén	Neo-Synephrine	Fenilefrin	15% v/v
	Orrgél – Ayr Saline Nasal Gel	Nátrium-klorid tartósítószerrel	15% v/v
	Homeopátiás allergia elleni szer – Similasan	Cardiospermum, Sabadilla, Luffa operculata, Galphimia glauca	15% v/v
	Nature's Bounty Zinc	Cink-glükonát	0,1 mg/ml
	Orális érzéstelenítő és fájdalomcsillapító szer – Oragel	Benzokain, benzalkónium-klorid	1% v/v
	Orrspray – Afrin	Oximetazolin	15% m/v
	Orrspray – Zicam	<i>Luffa operculata</i> , <i>Galphimia glauca</i> , hisztamin-hidroklorid, kén	15% v/v
	Nazális kortikoszteroid – Flonase	Flutikazon	5% v/v
	Nazális kortikoszteroid – Rhinocort	Budezonid	5% v/v
	Nazális kortikoszteroid – Nasacort	Triamcinolon	5% v/v
	Nazális kortikoszteroid – Dexamethasone	Dexametazon	10 mg/ml

	Vegyület	Leírás/hatóanyag	Koncentráció*
	Nazális kortikoszteroid – Mometasone	Mometazon	10 mg/ml
	Nazális kortikoszteroid – Beclomethasone	Beklometazon	10 mg/ml
	Chloraseptic torokcukorka	Benzokain, mentol	2 mg/ml
	Antibiotikum, orrkenőcs	Mupirocin	10 mg/ml
	Relenza vírusellenes gyógyszer	Zanamivir	7,5 mg/ml
	Tamiflu vírusellenes gyógyszer	Oszeltamivir	25 mg/ml
	Szisztémás antibiotikum	Tobramicin	15 mg/ml
Endogén	Mucin	Tisztított mucinfehérje	2,5% m/v
	Humán vér	Vér	2% v/v

*Megjegyzés: A bemutatott koncentrációkat használták a tamponok szaturálásához, mielőtt zavaró anyagokat adagoltak a művilleg megfertőzött pozitív klinikai mintákba. Ezért ezek az értékek reprezentatívak a tamponminta vételének helyén tolerálható koncentráció tekintetében.

Keresztszennyeződés

A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay NeuMoDx Molecular 288 és 96 készülékeken megfigyelhető keresztszennyeződési arányának meghatározásához váltakozva, „sakktaáblaszzerűen” elhelyezett erősen pozitív és negatív mintákat dolgoztak fel. Minden minta szimulált NP tamponminta volt, és a pozitív mintákat $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml (vagy $\geq 10\,000 \times \text{LoD}$) koncentrációban preparálták. Öt sakktaábla-elrendezésű vizsgálatot végeztek, ami összesen 60 negatív és 60 pozitív párhuzamost eredményezett mind a NeuMoDx 288 Molecular System, mind a NeuMoDx 96 Molecular System készüléken. A negatív minták mind a 120 párhuzamosát mindkét készüléktípus pontosan, negatívként azonosította, ami igazolta, hogy nem következett be keresztszennyeződés a NeuMoDx System készülékekben történő mintafeldolgozás során.

Átfutási idő

A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay átfutási ideje 8 minta feldolgozása esetén az N288 készüléken ~85 perc, 4 minta feldolgozása esetén a NeuMoDx 96 készüléken ~78 perc.

Teljes rendszerre vonatkozó hibaarány

A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay teljes rendszerre vonatkozó hibaarányának értékeléséhez a SARS-CoV-2 célszekvencia 1 szintjét tesztelték, $\sim 3 \times \text{LoD}$ koncentrációban. A minta elkészítéséhez negatív klinikai nazopharingeális tamponmintákat preparáltak a WHO 1. nemzetközi SARS-CoV-2 standardjával. Összesen 200 párhuzamost dolgoztak fel a Direct (Közvetlen) munkafolyamattal a NeuMoDx 96 és 288 Molecular System készülékeken (készülékenként 100 párhuzamos). A hibaarány meghatározásához kiszámították az álnegatív eredmények százalékos arányát az összes érvényes eredmény számához képest. A NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay detektálási aránya a SARS-CoV-2 célszekvencia esetén 100% volt a NeuMoDx 96 és 288 Molecular System készüléken is, vagyis mindkét készüléken 0%-os volt a hibaarány.

A rendszer megbízhatósága – gátlás

A gátlási arány meghatározásához kiszámították az Unresolved (Megoldatlan) eredmények arányát (amelyeknél nem amplifikálódott a mintafeldolgozási kontroll, pedig nem volt rendszerhiba) a verifikációs és validálási vizsgálatok során futtatott összes negatív minta számához képest. Az összesen feldolgozott 1221 negatív mintából 11 adott Unresolved (Megoldatlan) eredményt, ami azt jelenti, hogy a NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay gátlási aránya 0,9%.

HIVATKOZÁSOK

- 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.

VÉDJEGYEK

A BD™ a Becton, Dickinson and Company védjegye

A Hamilton® a Hamilton Company bejegyzett védjegye.

A Minitip Nylon® Flocked Swab a Copan Diagnostics, Inc. bejegyzett védjegye.

A NeuMoDx™ és a NeuDry™ a NeuMoDx Molecular, Inc. védjegyei.

A TaqMan® a Roche Molecular Systems, Inc. bejegyzett védjegye.

Az UTM-RT® a Copan Diagnostics, Inc. bejegyzett védjegye.

A dokumentumban előforduló minden más terméknév, védjegy vagy bejegyzett védjegy a megfelelő tulajdonos tulajdonát képezi.

SZIMBÓLUMOK JELENTÉSE

R only	Kizárólag orvosi rendelvényre		Ne használja újra
	Gyártó		<n> teszthez elegendő mennyiséget tartalmaz
IVD	<i>In vitro</i> diagnosztikai orvostechnikai eszköz		Lásd a használati útmutatót
EC REP	Hivatalos képviselő az Európai Közösségben		Figyelem!
REF	Katalógusszám	CE	CE-jelölés
LOT	Sarzsorszám	CONT	Tartalom
	Lejárat dátum		Állati eredetű biológiai anyagot tartalmaz
	Hőmérsékleti határértékek		



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

Műszaki támogatás / Vigilanciajelentés: support@qiagen.com

Szabadalom: www.neumodx.com/patents



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

