

REF 300800 NeuMoDx™ SARS-CoV-2 Test Strip

R only

POZOR: Samo za izvoz v ZDA

IVD Za diagnostično uporabo *in vitro* s sistemoma NeuMoDx 288 in NeuMoDx 96 Molecular Systems

 Posodobljena navodila najdete na: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Za podrobna navodila glejte Priročnik za uporabo sistema NeuMoDx 288 Molecular System; št. dela 40600108

Za podrobna navodila glejte Priročnik za uporabo sistema NeuMoDx 96 Molecular System; št. dela 40600317

Za podrobna navodila glejte Navodila za uporabo kompleta za zbiranje sline NeuMoDx Saliva Collection Kit; št. dela 40600441.

NAMEN UPORABE

Test NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, ki se izvaja na sistemih NeuMoDx 288 Molecular System in NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx Molecular System(s)), je diagnostični test na osnovi RT-PCR v realnem času, ki je namenjen kvalitativnemu zaznavanju RNA koronavirusa SARS-CoV-2 v brisih nosu ter nosnega in ustnega dela žrela v transportnem mediju ter primerkih, pridobljenih z bronhoalveolarnim izpiranjem (bronchoalveolar lavage, BAL) pri posameznikih, pri katerih izvajalec zdravstvenih storitev sumi, da imajo COVID-19.

Ta test se uporablja tudi za primerke sline, ki jih s kompletom NeuMoDx Saliva Collection Kit odvzamejo posamezniki v zdravstveni ustanovi, ko izvajalec zdravstvenih storitev presodi, da je to ustrezno.

Rezultati so namenjeni identificiranju RNA virusa SARS-CoV-2. V primerkih iz dihal je RNA virusa SARS-CoV-2 v splošnem mogoče zaznati med akutno fazo okužbe. Pozitivni rezultati kažejo prisotnost RNA virusa SARS-CoV-2. Za določanje stanja okužbe pri pacientu so potrebne klinična korelacija z anamnezo pacienta in druge diagnostične informacije. Pozitivni rezultati ne izključujejo bakterijske okužbe ali sočasne okužbe z drugimi virusi. Laboratoriji v Združenih državah in na njenih teritorijih morajo o vseh pozitivnih rezultatih poročati ustreznih javnim zdravstvenim organom.

Negativni rezultati ne izključujejo okužbe z virusom SARS-CoV-2 in se ne smejo uporabiti kot edina osnova za odločitve pri obravnavanju pacientov. Negativne rezultate je treba kombinirati s kliničnimi opažanji, anamnezo pacienta in epidemiološkimi informacijami. Negativne rezultate za RNA virusa SARS-CoV-2 iz sline je treba potrditi s testiranjem drugega tipa primerka, če je to klinično indicirano.

Test NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay je namenjen usposobljenemu osebju kliničnih laboratorijev, ki so posebej izučeni in usposobljeni za tehnike PCR v realnem času ter diagnostičnih postopkih *in vitro*.

POVZETEK IN RAZLAGA

Primerki brisov nosnega in ustnega dela žrela ali nosu se zbirajo v sistemu univerzalnega transportnega medija Copan (UTM-RT®) ali univerzalnem sistemu za transport virusov BD™ (UVT). Za pripravo na testiranje je primarna epruveta za zbiranje (z odstranjenima brisom in pokrovčkom), čist alikvot medija vzorca ali alikvot transportnega medija, predhodno obdelanega s pufrom NeuMoDx Viral Lysis Buffer, v sekundarni epruveti označena s črtno kodo in naložena v sistem NeuMoDx System s temu namenjenim prenosnikom za epruvete s primerki, nato pa se samodejno začne obdelava. Pri vsakem primerku sistem NeuMoDx System aspirira 400 µl alikvota in ga zmeša s pufrom NeuMoDx Lysis Buffer 3 (neposredni vzorci) ali s pufrom NeuMoDx Lysis Buffer 2 (predhodno obdelani vzorci).

Primerki sline se zbirajo v kompletu NeuMoDx Saliva Collection Kit v skladu z navodili za uporabo (št. dela 40600441). Za pripravo na testiranje se zbrana slina prenese iz vial NeuMoDx Saliva Collection Vial v epruveto NeuMoDx Specimen Stabilization Tube s pipeto za prenos, da je doseženo razmerje med slino in SSB (v/v) 1 : 1,67. Z obračanjem vial navzgor in navzdol od 5- do 8-krat sta slina in stabilizacijski pufer temeljito premešana. Stabilizirano slino je mogoče testirati neposredno na sistemu NeuMoDx System ali pa jo shraniti za poznejše testiranje.

Sistem NeuMoDx System samodejno izvede vse potrebne korake za ekstrakcijo ciljne nukleinske kisline, pripravo izolirane RNA za verižno reakcijo s polimerazo z reverzno transkripcijo v realnem času (RT-PCR) ter amplificira in zazna produkte amplifikacije, če so prisotni: gen z nestrukturno beljakovino 2 (non-structural protein 2, Nsp2) in gen N genoma SARS-CoV-2. Test NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay vključuje kontrolo obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC2) RNA, ki pomaga nadzorovati prisotnost potencialno inhibitornih snovi in napak sistema NeuMoDx System ali reagenta, s katerimi se lahko srečamo med postopkom ekstrakcije in amplifikacije.

NAČELA POSTOPKA

Test NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay združuje avtomatizirano ekstrakcijo in amplifikacijo/zaznavo RNA z RT-PCR v realnem času. Vzorci brisov nosnega ali ustnega dela žrela ali vzorci brisov iz nosu se odvzamejo s sistemom Copan UTM-RT ali BD UVT. Primerki sline se odvzamejo s kompletom NeuMoDx Saliva Collection Kit. Za pripravo primerkov brisov s testom NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay sta na voljo dva poteka dela. Z neposrednim potekom dela je mogoče epruveto za zbiranje brisov ali alikvota transportnega medija v sekundarni epruveti naložiti v sistem NeuMoDx System za obdelavo brez nadaljnega posredovanja. Druga možnost je predhodna obdelava medija vzorca brisa s pufrom NeuMoDx Viral Lysis Buffer, preden je nameščen v sistem NeuMoDx System za obdelavo. Pri primerku sline upravljavec naloži prvotno epruveto s primerkom za stabilizacijo, ki vsebuje stabilizirano slino, neposredno v sistem NeuMoDx System. Sistem NeuMoDx System samodejno začne obdelavo tako, da aspirira alikvot matrice vzorca brisa ali stabilizirane sline ter ga zmeša s pufrom NeuMoDx Lysis Buffer in z reagenti, ki jih vsebuje ekstrakcijska plošča NeuMoDx Extraction Plate. Sistem NeuMoDx System avtomatizira in integrira ekstrakcijo ter koncentracijo RNA, pripravo reagenta za PCR ter amplifikacijo/zaznavanje nukleinske kisline v tarčni sekvenci z uporabo RT-PCR v realnem času. Vključena kontrola obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC2) pomaga nadzirati prisotnost inhibitornih snovi ter napak sistema, postopka ali reagenta. Ko je primerek enkrat naložen v NeuMoDx System, upravljavcu ni več treba posredovati.

Sistem NeuMoDx System uporablja kombinacijo toplote, litičnih encimov in ekstrakcijskih reagentov za samodejno izvedbo lize, ekstrakcije RNA in odstranitev inhibitorjev z ločeno dobavljivimi reagenti NeuMoDx. Sproščene nukleinske kisline ujamejo paramagnetni delci. Delci z vezano nukleinsko kislino se naložijo v kartušo NeuMoDx Cartridge, kjer se nevezani elementi izperejo s pralnim reagentom NeuMoDx Wash Reagent. Vezana RNA se nato izluži z reagentom za sprostitvev NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx System nato uporabi izluženo RNA za rehidracijo lastniške mešanice za amplifikacijo z RT-PCR NeuDry™, ki vsebuje vse potrebne elemente za amplifikacijo tarč SARS-CoV-2 in SPC2. To omogoči sočasno amplifikacijo in zaznavanje tarče in SPC2 v eni reakciji. Po rekonstituciji posušenih reagentov RT-PCR sistem NeuMoDx System sprosti pripravljeno mešanico za RT-PCR v eno od komor PCR (na vsak primerek) kartuše NeuMoDx Cartridge. V komori PCR pride do reverzne transkripcije, amplifikacije ter zaznavanja kontrolnih in ciljnih (če so prisotne) sekvenc. NeuMoDx Cartridge je zasnovan tako, da vsebuje amplikon po RT-PCR, tako da praktično odpravlja tveganje onesnaženja za naknadno amplifikacijo.

Amplificirane tarče so zaznane v realnem času s pomočjo kemikalij v šobi za hidrolizo (splošno imenovano kemija TaqMan®) z uporabo fluorogenih oligonukleotidnih molekul šobe, specifičnih za amplikone za svoje zadevne tarče. TaqMan šobe so sestavljene iz fluorofora, ki je kovalentno vezan na 5'-koncu oligonukleotidne šobe in dušilec na 3'-koncu. Dokler je šoba nedotaknjena, sta fluorofor in dušilec v bližini, zaradi česar lahko molekula dušilca zaduši fluorescenco, ki jo fluorofor oddaja prek Försterjevega resonančnega prenosa energije (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Šobe TaqMan so zasnovane tako, da se prilegajo znotraj regije DNK, ki jo amplificira specifični komplet primerjev. Ko polimeraza Taq DNA razširi primer in sintetizira novo verigo, aktivnost eksonukleaze v smeri 5' proti 3' koncu polimeraze Taq DNA degradira šobo, ki se prilega predlogi. Degradacija šobe sprosti fluorofor in zlomi bližino dušilca ter tako premaga učinek dušenja zaradi FRET ter omogoči zaznavanje fluorofora. Nastali fluorescenčni signal, zaznan v kvantitativnem RT-PCR termopomnoževalniku sistema NeuMoDx System je neposredno proporcionalen s sproščenim fluoroforom in ga je mogoče korelirati s količino prisotne tarče. Za zaznavanje območja Nsp2 genoma SARS-CoV-2 je uporabljena šoba TaqMan, označena s fluoroforom FAM (470/510 nm), za zaznavanje gena N genoma SARS-CoV-2 pa je uporabljena šoba TaqMan, označena s fluoroforom HEX (530/555 nm). Šoba TaqMan je za zaznavo kontrole obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC2) označena z dolgovalovno rdečim fluoroforom (680/715 nm). Programska oprema sistema NeuMoDx System nadzoruje fluorescentni signal, ki ga oddajajo šobe TaqMan na koncu vsakega amplifikacijskega cikla. Ko je amplifikacija končana, programska oprema NeuMoDx System analizira podatke in sporoči rezultat (POSITIVE (POZITIVNO)/NEGATIVE (NEGATIVNO)/INDETERMINATE (NEDOLOČEN)/NO RESULTS (NI REZULTATOV)/UNRESOLVED (NERAZREŠENO)).

REAGENTI/POTROŠNI MATERIAL

Priloženi materiali

REF.	Vsebina	Testi na enoto	Testi na paket
300800	NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip <i>Posušeni reagenti RT-PCR, ki vsebujejo šobe in primerje TaqMan, ki so specifični za SARS-CoV-2, šoba in primerji TaqMan, ki so specifični za SPC2</i>	16	96

Dodatni potrebni materiali, ki niso priloženi (na voljo ločeno pri družbi NeuMoDx)

REF.	Vsebina
100100	NeuMoDx Cartridge
100200	NeuMoDx Extraction Plate
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
400500 (Izbirno*)	NeuMoDx Lysis Buffer 2
400600**	NeuMoDx Lysis Buffer 3
401600 (Izbirno*)	NeuMoDx Viral Lysis Buffer
235903	Konice Hamilton CO-RE / CO-RE II (300 µl) s filtri
235905	Konice Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µl) s filtri

*Potrebno le, če je pri lizi zunaj instrumenta pred nalaganjem vzorcev zaželeno predhodna obdelava. Glejte razdelek „Navodila za uporabo“.

**Potrebno le pri neposredni obdelavi čistih vzorcev. Glejte spodnji razdelek „Navodila za uporabo“.

Bris in transportni medij (ni priloženo)

Vrsta vzorca	Naprave za zbiranje	Priporočena naprava za zbiranje	Priporočeni bris
Bris nosnega dela žrela	Plastični aplikator z brisi iz sterilno navitega rajona in poliestra ter krtačasti („flocked“) brisi iz najlona, zbrani v univerzalnem transportnem mediju UTM®: Universal Transport Medium (Copan Diagnostic Inc, CA) ali univerzalnem sistemu za transport virusov UVT BD Universal Viral Transport System (UVT) (BD, NJ).	Universal Transport Medium (Copan UTM-RT), 3 ml/1 ml ali Universal Viral Transport System (BD UVT)	Flexible Minitip Size Nylon® Flocked Swab (Copan) ali Flexible minitip flocked swab (BD)
Bris iz ustnega dela žrela			
Bris iz nosu			

Material za zbiranje sline (na voljo ločeno pri družbi NeuMoDx)

REF.	Vsebina
100500	NeuMoDx Saliva Collection Kit Vsebuje (1) vialo NeuMoDx Saliva Collection Vial, (1) epruveto NeuMoDx Specimen Stabilization Tube z 1 ml pufru za stabilizacijo sline NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer in (1) pipeto za prenos za enkratno uporabo (zadostja za zbiranje enega vzorca na komplet; za podrobnosti glejte navodila za uporabo; št. dela 40600441).

Potrebni instrumenti

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


OPOZORILA IN VARNOSTNI UKREPI

- Test NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay je namenjen samo za diagnostično uporabo *in vitro* s sistemi NeuMoDx Systems.
- Samo za uporabo na recept.
- Ne uporabljajte ponovno.
- S primerki vedno ravnajte, kot da so kužni in v skladu z varnimi postopki v laboratorijih, kot so tisti, opisani v Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories¹ in dokumentu CLSI M29-A4.²
- S testom NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay lahko dela izključno samo osebje, ki je usposobljeno za uporabo sistema NeuMoDx System in za ravnanje z kužnimi materiali.
- Pri testiranju primerkov sline je test NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay namenjen samo uporabi skupaj s kompletom za zbiranje sline NeuMoDx Saliva Collection Kit.
- Ne uporabljajte reagentov ali potrošnega materiala po navedenem roku uporabe.
- Ne uporabljajte reagentov, če je varnostni pečat prelomljen oziroma če je embalaža ob prejemu poškodovana.
- Ne uporabljajte potrošnega materiala ali reagentov, če je zaščitna vrečka ob prejemu odprta ali poškodovana.
- Minimalni volumen primerka sekundarnih alikvotov je odvisen od velikosti epruvete/prenosnika za epruvete s primerki, kot je določeno spodaj. Če je volumen pod navedenim minimumom, se lahko pojavi napaka »Quantity Not Sufficient« (Količina ni zadostna).
- Če so primerki shranjeni pri nepravilnih temperaturah ali dlje od navedenega obdobja shranjevanja, so rezultati lahko neveljavni ali napačni.
- Preprečite kontaminacijo katerega koli reagenta in potrošnega materiala z mikrobi ali ribonukleazo (RNaza). Pri uporabi sekundarnih epruvet je priporočena uporaba sterilnih pipet za prenos za enkratno uporabo brez RNaze. Za vsak primerek uporabite novo pipeto.
- Kartuše NeuMoDx Cartridge po amplifikaciji ne prijemajte oziroma je ne odlopite, da se izognete kontaminaciji. Kartuš NeuMoDx Cartridge v nobenem primeru ne odstranjajte iz zabojnikov za biološke odpadke (NeuMoDx 288 Molecular System) oziroma koša za biološke odpadke (NeuMoDx 96 Molecular System). Kartuša NeuMoDx Cartridge je zasnovana tako, da preprečuje kontaminacijo.
- Če teste PCR z odprtimi epruvetami izvaja tudi laboratorij, je treba poskrbeti, da testni trak NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip, dodatni potrošni material in reagenti, potrebni za testiranje, osebna zaščitna oprema, kot so rokavice in laboratorijski plašči, ter sistem NeuMoDx System ne bodo kontaminirani.
- Pri ravnanju z reagenti in potrošnim materialom NeuMoDx uporabljajte čiste nitrilne rokavice brez pudra. Bodite previdni, da se ne dotaknete zgornje površine kartuše NeuMoDx Cartridge, površine tesnila iz folije pri testnem traku NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip in ekstrakcijske plošče NeuMoDx Extraction Plate oziroma zgornje površine vsebnikov za pufre NeuMoDx Lysis Buffer Containers; s potrošnim materialom in reagenti ravnajte tako, da se dotikate samo stranskih površin.
- Varnostni listi (Safety Data Sheets, SDS) so na voljo na spletni strani www.qiagen.com/neumodx-ifu
- Po izvedbi testa si temeljito umijte roke.
- Pipete ne uporabljajte z usti. Ne kadite, pijte ali jejte v območjih, kjer ravnate s primerki ali reagenti.
- Neuporabljene reagente in odpadke zavrzite v skladu z državnimi, zveznimi, okrajnimi in lokalnimi predpisi.
- Z instrumenti in postopki pri testu je zmanjšano tveganje onesnaženja s produkti amplifikacije. Vendar je treba onesnaženje z nukleinsko kislino iz pozitivnih kontrol ali primerkov nadzorovati z dobrimi laboratorijskimi praksami.
- Priporočene so dobre laboratorijske prakse, vključno z menjavo rokavic med ravnanjem s primerki pacientov, da preprečite kontaminacijo.



SHRANJEVANJE, RAVNANJE IN STABILNOST IZDELKA

- Testni trakovi NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strips so v prvotni embalaži stabilni do roka uporabe, navedenega na oznaki izdelka na stični ovojnini, če je ta shranjen pri temperaturi od 4 do 28 °C.
- Ne uporabljajte potrošnega materiala in reagentov po poteku roka uporabe.
- Ne uporabljajte nobenih testnih izdelkov, če je primarna ali sekundarna embalaža vidno poškodovana.
- Ne uporabljajte nobenih testnih izdelkov, ki so bili predhodno naloženi na drug sistem NeuMoDx System.
- Ko je naložen, lahko testni trak NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip ostane v sistemu NeuMoDx System 7 dni. Programska oprema spremlja preostali rok uporabnosti naloženih testnih trakov in ga sporoča uporabniku v realnem času. Sistem bo pozval k odstranitvi testnega traku, ki je v uporabi dlje, kot je dovoljeno.

ZBIRANJE, TRANSPORT IN SHRANJEVANJE PRIMERKOV

Z vsemi primerki ravnajte, kot da lahko prenašajo povzročitelje okužb.

Primerki iz nosnega dela žrela in nosu

Primerke je treba odvzeti z uporabo sistema Copan UTM-RT System ali BD UVT System z validiranimi krtačastimi („flocked“) brisi iz najlona (glejte razdelek o materialih, ki niso priloženi). Poleg tega so sprejemljive vrste brisov krtačasti („flocked“) brisi ter brisi iz poliestra in rajona. Za zbiranje, transport in shranjevanje upoštevajte navodila za uporabo, ki jih je pripravil proizvajalec in so priložena sistemu Copan UTM-RT System/BD UVT System:

- po zbiranju je treba primerke shraniti pri temperaturi 2–25 °C in ga obdelati v 48 urah;
- če dobava in obdelava trajata več kot 48 ur, je treba primerke premestiti na suhem ledu in jih, ko prispejo v laboratorij, zamrzniti pri temperaturi –70 °C ali nižji.

Primerki slin

Za podrobna navodila glejte komplet za zbiranje slin NeuMoDx Saliva Collection Kit; št. dela 40600441.

Primerke je treba odvzeti s kompletom NeuMoDx Saliva Collection Kit. Zbrana slina se prenese iz vial NeuMoDx Saliva Collection Vial v epruveto NeuMoDx Specimen Stabilization Tube s pipeto za prenos, da je doseženo razmerje med slino in SSB (v/v) 1 : 1,67. Z obračanjem vial navzgor in navzdol od 5- do 8-krat sta slina in stabilizacijski pufer temeljito premešana. Stabilizirano slino je mogoče testirati neposredno na sistemu NeuMoDx System ali pa jo shraniti za poznejše testiranje.

- Primerke slin je pred mešanjem s pufrom NeuMoDx Stabilization Buffer (SSB) mogoče shranjevati do 2 uri pri pogojih okolja.
- Po mešanju slin s stabilizacijskim pufrom preverite volumen v epruveti za stabilizacijo primerka. Če je skupni volumen pod črto napolnjenosti, dodajte vodo, primerno za molekularno biologijo, da bo skupni volumen segal do črte napolnjenosti.
- Stabilizirano slino je mogoče pri pogojih okolja shranjevati 24 ur, pri temperaturi 2–8 °C pa do 7 dni. Pred testiranjem je treba počakati, da se primerke segreje na sobno temperaturo.
- Stabilizirano slino je mogoče v sistemih NeuMoDx Molecular Systems shranjevati 12 ur.
- Če je čas med zbiranjem in obdelavo daljši od 48 ur, je treba stabilizirano slino premeščati na vrečkah ledu in jo nato shraniti v hladilniku pri temperaturi 2–8 °C.

NAVODILA ZA UPORABO

Test NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay je primeren za dva različna poteka dela, odvisno od tega, kaj izbere uporabnik oziroma kaj izberejo v laboratoriju:

Potek dela 1: NEPOSREDNO – primerke vzorca v transportnem mediju in slina v stabilizacijskem pufri sta naložena neposredno v sistem NeuMoDx System v primarno epruveto za zbiranje ali sekundarne epruvete za primerke.

– ali –

Potek dela 2: PREDHODNO OBDELANO – primerke brisa v transportnem mediju je pred nalaganjem v sistem NeuMoDx System v primarno epruveto za zbiranje ali sekundarne epruvete za primerke predhodno obdelan s pufrom NeuMoDx Viral Lysis Buffer.

Priprava testa – potek dela NEPOSREDNO za neposreden bris in vzorce slin

Opomba: pred obdelavo vse vzorce prenesite na sobno temperaturo (od 15 do 30 °C).

1. Kot je opisano v spodnjih točkah 4. in 5., namestite oznako s črtno kodo primerka na epruveto s primerkom, ki je združljiva s sistemom NeuMoDx System.
2. Če se testiranje primerka izvaja v primarni epruveti za zbiranje (primerki brisa) ali epruveti za stabilizacijo primerka (primerki slin), postavite epruveto, označeno s črtno kodo, v prenosnik za epruvete s primerki in poskrbite, da bosta pred nalaganjem v sistem NeuMoDx System odstranjena pokrovček in/ali bris.
3. Druga možnost je, da alikvot transportnega medija ali stabilizirano slino prenesete v sekundarno epruveto, označeno s črtno kodo, in ga postavite v prenosnik za epruvete s primerki s 32 epruvetami. Pri uporabi sekundarne epruvete alikvot transportnega medija ali stabilizirano slino prenesite v primerke v epruveti s črtno kodo, ki je združljiva s sistemom NeuMoDx System, v skladu s spodaj določenimi volumni:

4. *Za primerke brisov:*
 - Prenosnik za epruvete s primerki (za 32 epruvet): 11–14 mm premera ter 60–120 mm višine; minimalni volumen polnjenja $\geq 550 \mu\text{l}$
 - Prenosnik za epruvete s primerki (za 24 epruvet): 14,5–18 mm premera ter 60–120 mm višine; minimalni volumen polnjenja $\geq 1000 \mu\text{l}$
 - Prenosnik za epruvete s primerki z majhnim volumnom (za 32 epruvet): 1,5-ml epruveta za mikrocentrifugiranje s stožčastim dnom; minimalni volumen polnjenja $\geq 500 \mu\text{l}$
5. *Za primerke stabilizirane sline:*
 - Prenosnik za epruvete s primerki (za 32 epruvet): 11–14 mm premera ter 60–120 mm višine; minimalni volumen polnjenja $\geq 800 \mu\text{l}$
 - Prenosnik za epruvete s primerki z majhnim volumnom (za 32 epruvet): 1,5-ml epruveta za mikrocentrifugiranje s stožčastim dnom; minimalni volumen polnjenja $\geq 700 \mu\text{l}$

Priprava testa – potek dela PRETREATED (Predhodno obdelano) za predhodno obdelane primerke brisov

Opomba: pred obdelavo vse vzorce prenesite na sobno temperaturo (od 15 do 30 °C).

OPOZORILO: Če so bili vzorci brisov predhodno obdelani s pufrom NeuMoDx Viral Lysis Buffer, to ni zagotovilo, da morebitni prisotni virus ne bo deaktiviran. Z vsemi vzorci ravnajte, kot da so zmožni prenašati povzročitelje okužb.

1. Transportni medij vzorca predhodno obdelajte z volumnom pufru NeuMoDx Viral Lysis Buffer 1 : 1. Če je volumen transportnega medija znan, to lahko naredite v primarni epruveti za zbiranje vzorcev. Druga možnost je, da predhodno obdelavo opravite v sekundarni epruveti, tako da združite alikvot transportnega medija z enakim volumnom pufru NeuMoDx Viral Lysis Buffer. Zmes, ki jo boste dobili, bi morala izpolnjevati zahteve za minimalni volumen, ki so navedene spodaj.
2. Da poskrbite za enakomerno porazdelitev pufru NeuMoDx Viral Lysis Buffer, nežno mešajte s pipeto.
3. Če testiranje primerka izvajate v primarni epruveti za zbiranje, postavite epruveto, označeno s črtno kodo, v prenosnik za epruvete s primerki in poskrbite, da bosta pred nalaganjem v sistem NeuMoDx System odstranjena pokrovček in bris.
4. Pri uporabi sekundarne epruvete alikvot lizata transportnega medija prenesite v epruveto s primerkom, označeno s črtno kodo, ki je združljiva s sistemom NeuMoDx System, v skladu s spodaj določenimi volumni:
 - Prenosnik za epruvete s primerki (za 32 epruvet): 11–14 mm premera ter 60–120 mm višine; minimalni volumen polnjenja $\geq 550 \mu\text{l}$
 - Prenosnik za epruvete s primerki (za 24 epruvet): 14,5–18 mm premera ter 60–120 mm višine; minimalni volumen polnjenja $\geq 1000 \mu\text{l}$
 - Prenosnik za epruvete s primerki z majhnim volumnom (za 32 epruvet): 1,5-ml epruveta za mikrocentrifugiranje s stožčastim dnom; minimalni volumen polnjenja $\geq 500 \mu\text{l}$

Delovanje sistema NeuMoDx System

Za podrobna navodila glejte Priročnik za uporabo sistemov NeuMoDx 288 in 96 Molecular System.

1. Naložite naročilo testa v sistem NeuMoDx System v skladu s potekom dela, ki se uporablja za pripravo testa:
 - Neobdelani, čisti vzorci brisov, ki so pripravljene s potekom dela DIRECT (Neposredno), so testirani tako, da je vzorec opredeljen kot „**Transport Medium**“ (Transportni medij).
 - Vzorca brisov, ki so predhodno obdelani s potekom dela PREDHODNO OBDELANO, so testirani tako, da je primerek opredeljen kot „**UserSpecified1**“ (UporabniškoOpredeljeno1).
 - Stabilizirana slina, pripravljena s potekom dela NEPOSREDNO, je testirana tako, da je primerek opredeljen kot „**UserSpecified2**“ (UporabniškoOpredeljeno2).
2. Enega ali več prenosnikov testnih trakov napolnite s testnimi trakovi NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip(s) in uporabite zaslon na dotik, da naložite prenosnike testnih trakov v sistem NeuMoDx System.
3. Če to zahteva programska oprema sistema NeuMoDx System, dodajte ustrezen potrošni material za uporabo na instrumentu (kartuše NeuMoDx Cartridges, ekstrakcijske ploščice NeuMoDx Extraction Plates, pufer za lizo NeuMoDx Lysis Buffer 2, pufer za lizo NeuMoDx Lysis Buffer 3, konice CO-RE) v vsebnike potrošnega materiala sistema NeuMoDx System, prek zaslona na dotik pa ustrezno naložite prenosnike v sistem NeuMoDx System.
4. Če to zahteva programska oprema sistema NeuMoDx System, zamenjajte pralni reagent NeuMoDx Wash Reagent in/ali reagent za sprostitvev NeuMoDx Release Reagent, kot je ustrezno.
5. Če to zahteva programska oprema sistema NeuMoDx System, spraznite odpadke pri polnjenju, zabojnik za biološke odpadke (samo pri sistemu NeuMoDx 288 Molecular System), koš za odpadne konice (samo pri sistemu NeuMoDx 96 Molecular System) ali koš za biološke odpadke (samo pri sistemu NeuMoDx 96 Molecular System), kot je ustrezno.
6. Primerke naložite v prenosnike za epruvete s primerki in poskrbite, da so pokrovi odstranjeni z vseh epruvet.
7. Prenosnike za epruvete s primerki postavite na polico samodejnega nalagalnika in uporabite zaslon na dotik, da naložite prenosnike v NeuMoDx System. To bo sprožilo obdelavo naloženih primerkov za opredeljene teste, če je v sistemu predhodno nastavljen veljaven vrstni red testiranja.

OMEJITVE

- Test NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay je ovrednoten le za uporabo pri sistemih NeuMoDx Molecular Systems.
- Test NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay je zasnovan za zaznavanje RNA virusa SARS-CoV-2 v vzorcih brisov nosnega in ustnega dela žrela ter nosu, ki so bili odvzeti s sistemom Copan UTM-RT System (UTM-RT) ali BD Universal Viral Transport System (UVT), ali v vzorcih sline, ki so bili zbrani s kompletom NeuMoDx Saliva Collection Kit. Uporaba testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay z drugimi vrstam vzorcev ni ocenjena in karakteristike delovanja niso znane.
- Zanesljivost rezultatov je odvisna od pravilnega zbiranja primerkov, rokovanja z njimi in njihovega shranjevanja.
- Brisi iz nosu in srednje nosne školjke ter primerki, pridobljeni z bronhoalveolarnim izpiranjem, veljajo za tipe primerkov, ki so pri uporabi s testom NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay sprejemljivi, delovanje s temi tipi primerkov pa ni preučeno. Testiranje brisov iz nosu in srednje nosne školjke (ki jih pod nadzorom zberejo pacienti sami ali pa jih zbere ponudnik zdravstvenih storitev) je omejeno na paciente s simptomi bolezn COVID-19.
- Pri testiranju primerkov sline je test NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay namenjen samo uporabi skupaj s kompletom za zbiranje sline NeuMoDx Saliva Collection Kit.
- Do napačnih rezultatov lahko pride zaradi nepravilnega odvzema, obravnave ali shranjevanja primerkov, tehnične napake ali zamenjave epruvet s primerki. Zaradi nepravilnega volumna sline v epruveti za stabilizacijo primerka je občutljivost testa lahko zmanjšana. Poleg tega se lahko pojavijo lažni negativni vzorci, če je število virusnih delcev v vzorcu pod mejo zaznave testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay.
- Če se tarče SARS-CoV-2 in tarča SPC2 ne amplificirajo, bodo sporočeni neveljavni rezultati (Indeterminate – Nedoločeno, No Result – Ni rezultatov, ali Unresolved – Nerešeno.), zato je test treba ponoviti.
- Brisanja ali mutacije v območjih, ki so tarča testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, lahko vplivajo na zaznavo ali lahko privedejo do napačnih rezultatov.
- Če je v primerkih sline prisotna zobna pasta Crest® Pro-Health Advanced Gum Protection, to lahko moti zaznavanje RNA virusa SARS-CoV-2 in privede do napačnega rezultata.
- Pozitivni rezultat kaže prisotnost RNA virusa SARS-CoV-2, ne pa nujno prisotnosti kužnega virusa SARS-CoV-2.
- Pri negativnih rezultatih ni izključena okužba z virusom SARS-CoV-2 in ne smejo biti edina podlaga za zdravljenje/obravnavo pacienta ali odločitev o javnem zdravju.
- Rezultati testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay se lahko uporabljajo kot dodatek h kliničnim ugotovitvam in drugim razpoložljivim informacijam, ki jih ima na voljo zdravnik.
- Priporočene so dobre laboratorijske prakse, vključno z menjavo rokavic med ravnanjem s primerki pacientov, da preprečite kontaminacijo.

REZULTATI

Razpoložljive rezultate testov si je mogoče ogledati oziroma jih natisniti na zavihku Results (Rezultati) v oknu Results (Rezultati) na zaslonu na dotik sistema NeuMoDx System. Rezultat testa je lahko na podlagi statusa amplifikacije tarče in kontrole obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC2) Positive (POS) (Pozitivno), Negative (NEG) (Negativno), Indeterminate (IND) (Nedoločen), No Results (Ni rezultatov) ali Unresolved (UNR) (Nerešeno).

Merila za pozitivno ali negativno odločitev so določena v definicijski datoteki testa (Assay Definition File, ADF) NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, kot je nameščena na sistemu NeuMoDx System. O rezultatih brisa in primerkov sline je poročano na podlagi algoritma odločanja ADF, katerega povzetek je v spodnji *preglednici 1 oziroma 2*.

Pred interpretacijo rezultatov pri pacientu je treba preveriti vse kontrole testa. Če kontrole niso veljavne, rezultatov pri pacientu ni mogoče interpretirati.

Preglednica 1. Interpretacija rezultatov testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

SKUPNI REZULTAT	TARČA 1 (gen Nsp2) FAM	TARČA 2 (gen N) HEX	KONTROLA OBDELAVE (SPC2) – dolgovalovna rdeča	Interpretacija
POSITIVE (POZITIVNO)	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO) ($5 \leq Ct < 20$ AND (IN) $EPR \geq 1,2$ AND (IN) $EP \geq 700$) ALI ($20 \leq Ct \leq 40$ AND (IN) $EP \geq 700$)	Ni na voljo	Ni na voljo	Zaznana RNA virusa SARS-CoV-2.**
	Ni na voljo	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO) ($5 \leq Ct < 20$ AND (IN) $EPR \geq 1,5$) AND (IN) $EP \geq 1000$) ALI ($20 \leq Ct \leq 40$ AND (IN) $EP > 1000$)		
NEGATIVE (NEGATIVNO)	NOT AMPLIFIED (NI AMPLIFICIRANO) Ni na voljo ALI ($5 \leq Ct < 20$ AND (IN) $EPR < 1,2$) ALI ($20 \leq Ct \leq 40$ AND (IN) $EP < 700$) ALI ($Ct > 40$)	NOT AMPLIFIED (NI AMPLIFICIRANO) Ni na voljo ALI ($5 \leq Ct < 20$ AND (IN) $EPR < 1,5$) ALI ($20 \leq Ct \leq 40$ AND (IN) $EP < 1000$) ALI ($Ct > 40$)	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO) ($24 \leq Ct \leq 33$ AND (IN) $EP \geq 1000$)	RNA virusa SARS-CoV-2 ni zaznana.
IND (Nedoločen)*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Completed (NI AMPLIFICIRANO./Zaznane so napake sistema., Obdelava vzorca je končana.)			Vsi ciljni rezultati so bili neveljavni; ponovno preskusite vzorec.
NR (Ni rezultata)*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Aborted (NI AMPLIFICIRANO./Zaznane so napake sistema., Obdelava vzorca je prekinjena.)			Obdelava vzorca je bila prekinjena; ponovno preskusite vzorec
UNR (Nerešeno)*	NOT AMPLIFIED, No System Errors Noted (NI AMPLIFICIRANO., Sistemske napake niso zabeležene.)			Vsi ciljni rezultati so bili neveljavni; ponovno preskusite vzorec.

*Sistem je opremljen s samodejno funkcijo Rerun (Ponovni zagon)/Repeat (Ponovitev), ki jo lahko končni uporabnik izbere, da zagotovi samodejno ponovno obdelavo rezultata IND/UNR/NR za zmanjšanje zamud pri poročanju o rezultatih.

**Če je amplificirana samo ena od dveh tarč SARS-CoV-2, je mogoče po želji opraviti ponovni test.

Preglednica 2. Interpretacija rezultatov testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay – primerki sline

SKUPNI REZULTAT	TARČA 1 (gen Nsp2) FAM	TARČA 2 (gen N) HEX	KONTROLA OBDELAVE (SPC2) – dolgovalovna rdeča	Interpretacija
POSITIVE (POZITIVNO)	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO) ($5 \leq Ct < 28$ AND (IN) EP ≥ 600 AND (IN) EPR $> 1,2$) ALI [$28 \leq Ct \leq 40$ AND (IN) EP ≥ 600]	Ni na voljo	Ni na voljo	Zaznana RNA virusa SARS-CoV-2. **
	Ni na voljo	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO) ($5 \leq Ct < 28$ AND (IN) EP ≥ 675 AND (IN) EPR $> 1,2$) ALI [$28 \leq Ct \leq 40$ AND (IN) EP ≥ 675]		
NEGATIVE (NEGATIVNO)	NOT AMPLIFIED (NI AMPLIFICIRANO) Ni na voljo ALI ($5 \leq Ct < 28$ AND (IN) EPR $\leq 1,2$) ALI [$28 \leq Ct \leq 42$ AND (IN) EP < 600] ALI (Ct > 40)	NOT AMPLIFIED (NI AMPLIFICIRANO) Ni na voljo ALI ($5 \leq Ct < 28$ AND (IN) EPR $\leq 1,2$) ALI [$28 \leq Ct \leq 42$ AND (IN) EP < 675] ALI (Ct > 40)	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO) ($24 \leq Ct \leq 33$ AND (IN) EP ≥ 1000)	RNA virusa SARS-CoV-2 ni zaznana.
IND (Nedoločen)*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Completed (NI AMPLIFICIRANO./Zaznane so napake sistema., Obdelava vzorca je končana.)			Vsi ciljni rezultati so bili neveljavni; ponovno preskusite vzorec.
NR (Ni rezultata)*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Aborted (NI AMPLIFICIRANO./Zaznane so napake sistema., Obdelava vzorca je prekinjena.)			Obdelava vzorca je bila prekinjena; ponovno preskusite vzorec
UNR (Nerešeno)*	NOT AMPLIFIED, No System Errors Noted (NI AMPLIFICIRANO., Sistemske napake niso zabeležene.)			Vsi ciljni rezultati so bili neveljavni; ponovno preskusite vzorec.

*Sistem je opremljen s samodejno funkcijo Rerun (Ponovni zagon)/Repeat (Ponovitev), ki jo lahko končni uporabnik izbere, da zagotovi samodejno ponovno obdelavo rezultata IND/UNR/NR za zmanjšanje zamud pri poročanju o rezultatih.

**Če je amplificirana samo ena od dveh tarč SARS-CoV-2, je mogoče po želji opraviti ponovni test.

O pozitivnem rezultatu je lahko poročano pri vzorcih, ki dajejo status diferencialne amplifikacije, tako da je amplificirana samo ena od tarč – tarča 1 (gen Nsp2) ali tarča 2 (gen N). Do tega lahko pride zaradi 1) vzorca pri koncentracijah, ki so blizu meje zaznavanja testa ali pod njo, 2) mutacije v eni od tarčnih območij ali 3) drugih dejavnikov. Pri pozitivnem testu, pri katerem se amplificira samo ena od tarč, je mogoče razmisliti o ponovitvi testiranja, če je kontrola SPC2 negativna. Če rezultat ponovljenega testa ostane enak, je treba izvesti dodatno potrditveno testiranje, če je to klinično indicirano.

Neveljavni rezultati

Če test NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, izveden na sistemu NeuMoDx System, ne ustvari veljavnega rezultata, bo na podlagi tipa napake, ki se je pojavila, javljen rezultat Indeterminate (Nedoločeno), No Results (Ni rezultatov.) ali Unresolved (Nerešeno), test pa bo za pridobitev veljavnega rezultata treba ponoviti.

Rezultat Indeterminate (Nedoločen) bo sporočen, če bo med obdelavo vzorca zaznana napaka v sistemu NeuMoDx System. Pri rezultatu Indeterminate (Nedoločeno) je priporočen ponovni test.

Rezultat No Result (Ni rezultata) bo javljen, če bo med obdelavo vzorca zaznana napaka sistema NeuMoDx System in bo obdelava vzorca prekinjena. Pri rezultatu No Result (Ni rezultata) je priporočen ponovni test.

Rezultat Unresolved (Nerešeno) bo prikazan, če ne bo zaznana nobena tarča in če ni amplifikacije kontrole obdelave vzorca, kar kaže na morebitno napako reagenta ali prisotnost inhibitorjev. Pri rezultatu Unresolved (Nerešeno) je kot prvi korak priporočen ponovni test. Če ponovni test ni uspešen, lahko uporabite razredčen primerek, da ublažite učinke morebitne inhibicije.

Nadzor kakovosti

Laboratoriji so odgovorni za to, da imamo vzpostavljene postopke kontrole, s katerimi sta spremljani točnost in natančnost celotnega analitičnega procesa, vzpostaviti pa morajo tudi število, tip in pogostost testiranja kontrolnih materialov.

1. Testu NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay kontrolni materiali niso priloženi. Vendar je družba NeuMoDx ocenila naslednje kontrolne materiale in jih priporoča. Kontrole morajo ustrezati istim specifikacijam najmanjšega volumna kot zgoraj navedeni klinični vzorci na podlagi velikosti prenosnika za epruvete s primerkom.

Pri primerkih brisov so priporočljive naslednje kontrole.

- Pozitivna kontrola:
 - Očiščena genomna RNA virusa SARS-CoV-2 (kat. št. VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, ZDA) pri končni koncentraciji 5E3 cp/ml.
 - S toploto deaktiviran virus SARS-CoV-2 (kat. št. VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, ZDA) pri končni koncentraciji 5E3 cp/ml.
 - 5 ml (rekombinantne) zaloge virusa SARS-CoV-2 NATtrol™ (vsebuje samo gen N, kat. št. 0831042, ZeptoMetrix, Buffalo, NY, ZDA) v 1 ml medija BD UVT.
- Negativna kontrola: Medij Copan/BD UVT ali enakovreden.

Pri primerkih sline so priporočljive naslednje kontrole.

Pozitivna kontrola: Kateri koli naslednji material razredčite v zmes vode, primerne za molekularno biologijo, in SSB v razmerju voda/SSB (v/v) 1 : 1,67:

- Očiščena genomna RNA virusa SARS-CoV-2 (kat. št. VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, ZDA) pri končni koncentraciji 5E3 cp/ml.
- S toploto deaktiviran virus SARS-CoV-2 (kat. št. VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, ZDA) pri končni koncentraciji 5E3 cp/ml.
- (Rekombinantna) zaloga virusa NATtrol™ SARS-CoV-2 (vsebuje samo gen N, kat. št. 0831042, ZeptoMetrix, Buffalo, NY, ZDA) pri razredčitvi 1 : 20.

Negativna kontrola: 0,6 ml vode, primerne za molekularno biologijo, dodane 1 ml pufra za stabilizacijo sline (saliva stabilization buffer, SSB), ali v razmerju voda/SSB (v/v) 1 : 1,67.

2. Uporabnikom priporočamo, da vsakih 24 ur in pred obdelavo vzorcev pacientov obdelajo en niz pozitivnih in negativnih kontrol.
3. Pri obdelavi kontrol postavite označene kontrole na prenosnik za epruvete s primerki in z zaslonom na dotik naložite prenosnik s police samodejnega nalagalnika v sistem NeuMoDx System. Ko je definiran, bo sistem NeuMoDx System prepoznal črtne kode in začel obdelovati kontrole.
4. Primerji in šobe, specifične za kontrolo obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC2), so vključene v vsak testni trak NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip. Ta kontrola obdelave vzorca omogoča, da sistem NeuMoDx System nadzoruje učinkovitost ekstrakcije RNA in postopkov amplifikacije RT-PCR.
5. Pred RT-PCR sistem NeuMoDx System samodejno izvede »FILL CHECK« (Preverjanje polnjenja), da se zagotovi, da je komora PCR napolnjena z raztopino in vsebuje ustrezno količino fluorescentne šobe.
6. Programska oprema sistema NeuMoDx System nenehno nadzoruje vgrajene senzorce in aktuatorje, s čimer zagotavlja varno in učinkovito delovanje sistema.
7. Več načinov odpravljanja tekočih napak se izvaja z aktivnim nadzorom operacij aspiracije in razpršitve, da se zagotovi, da lahko sistem bodisi izvede varno in učinkovito obdelavo vseh vzorcev, bodisi zagotovi ustrezno kodo napake.
8. Sistem NeuMoDx System je opremljen s samodejno funkcijo Rerun (Ponovni zagon)/Repeat (Ponoviti), ki jo lahko končni uporabnik izbere za zagotovitev, da se INVALID (Neveljaven) rezultat samodejno ponovno obdelata, da se zmanjšajo zamude pri poročanju o rezultatih.
9. Pozitiven rezultat testa pri negativnem kontrolnem vzorcu lahko nakazuje težavo z onesnaženjem primerka. Nasvete za odpravljanje težav poiščite v *Priročniku za uporabo NeuMoDx 288 Molecular System ali 96 Molecular System*.
10. Negativni rezultat pri pozitivnem kontrolnem vzorcu lahko kaže na težavo, povezano z reagentom ali s sistemom NeuMoDx System. Nasvete za odpravljanje težav poiščite v *Priročniku za uporabo NeuMoDx 288 Molecular System ali 96 Molecular System*.

KARAKTERISTIKE DELOVANJA

Analična občutljivost – vzorci brisov nosnega dela žrela

Meja zaznavanja (limit of detection, LoD) testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay je bila določena s testiranjem serije razredčitev zbranih negativnih kliničnih vzorcev brisov iz nosnega dela žrela (krtačni („flocked“) brisi iz najlona, zbrani v sistemu UTM (Copan Diagnostic Inc, CA) ali UVT (BD, NJ)), obogatenih z genomsko RNA virusa SARS-CoV-2 (viri BEI NR-52285) in obdelanih s poteki dela NEPOSREDNO in PREDHODNO OBDELANO. Za vsak potek dela je bilo na obeh sistemih NeuMoDx Systems ovrednotenih vsaj 20 replikacij vsake razredčitve. Določeno je bilo, da vrednost LoD znaša **150 kopij/ml**.

Preglednica 3. Stopnja zaznavanja in meja zaznavanja za virus SARS-CoV-2 v sistemu NeuMoDx 96 Molecular System: Potek dela Predhodno obdelano

LoD pri virusu SARS-CoV-2: N96, potek dela Predhodno obdelano								
Raven tarče	Veljavni rezultati	Pozitivno pri genu Nsp2		Stopnja zaznavanja pri genu Nsp2	Gen N Positive (Pozitivno)		Stopnja zaznavanja pri genu N	Stopnja amplifikacije obeh tarč
		n	Srednja vrednost Ct		n	Srednja vrednost Ct		
250 kopij/ml	22	22	31,7	100 %	22	30,9	100 %	100 %
150 kopij/ml	20	20	31,5	100 %	20	31,0	100 %	100 %
50 kopij/ml	24	0	Ni na voljo	0 %	22	31,8	91,7 %	0 %
Negative (Negativno)	30	Ni na voljo		0 %	0	Ni na voljo	0 %	0 %
LoD N96: 150 cp/ml (najnižja raven tarče, ki kaže stopnjo zaznavanja obeh tarč > 95 %)								

Preglednica 4. Stopnja zaznavanja in meja zaznavanja za virus SARS-CoV-2 v sistemu NeuMoDx 288 Molecular System: Potek dela Predhodno obdelano

LoD pri virusu SARS-CoV-2: N288, potek dela Predhodno obdelano								
Raven tarče	Veljavni rezultati	Gen Nsp2 Positive (Pozitivno)		Stopnja zaznavanja pri genu Nsp2	Gen N Positive (Pozitivno)		Stopnja zaznavanja pri genu N	Stopnja amplifikacije obeh tarč
		n	Srednja vrednost Ct		n	Srednja vrednost Ct		
250 kopij/ml	21	21	32,1	100 %	21	31,4	100 %	100 %
150 kopij/ml	26	26	31,7	100 %	26	31,2	100 %	100 %
50 kopij/ml	21	11	32,2	52,4 %	20	32,2	95,2 %	52,4 %
Negative (Negativno)	20	0	Ni na voljo	0 %	0	Ni na voljo	0 %	0 %
LoD N288: 150 cp/ml (najnižja raven tarče, ki kaže stopnjo zaznavanja obeh tarč > 95 %)								

Preglednica 5. Stopnja zaznavanja in meja zaznavanja za virus SARS-CoV-2 v sistemu NeuMoDx 96 Molecular System: Potek dela Neposredno

LoD pri virusu SARS-CoV-2: N96, potek dela Neposredno								
Raven tarče	Veljavni rezultati	Gen Nsp2 Positive (Pozitivno)		Stopnja zaznavanja pri genu Nsp2	Gen N Positive (Pozitivno)		Stopnja zaznavanja pri genu N	Stopnja amplifikacije obeh tarč
		n	Srednja vrednost Ct		n	Srednja vrednost Ct		
400 kopij/ml	24	23*	32,4	95,8 %	24	31,1	100,0 %	95,8 %
250 kopij/ml	24	24	33,0	100,0 %	24	31,7	100,0 %	100,0 %
150 kopij/ml	24	24	33,4	100,0 %	24	32,4	100,0 %	100,0 %
50 kopij/ml	24	12	32,6	50,0 %	18	32,8	75,0 %	41,7%**
Negative (Negativno)	22	0		0 %	0		0 %	0 %
LoD N96: 150 cp/ml (najnižja raven tarče, ki kaže stopnjo zaznavanja obeh tarč > 95 %)								

*Pri tem vzorcu je bila poleg tega amplifikacija SPC2 šibka, do pomanjkanja amplifikacije pa je domnevno prišlo zaradi obdelave sistema. To trditev podpira 100-odstotna raven zaznavanja pri enaki koncentraciji v RPT-8505B (klinična ocena). Poleg tega je bila pri tej študiji dosežena 100-odstotna stopnja zaznavanja pri nižjih koncentracijah 250 cp/ml in 150 cp/ml.

**Pri desetih od 24 vzorcev sta bili obe tarči zaznani pri 50 cp/ml, pri skupni stopnji pozitivnosti 41,7 %.

Preglednica 6. Stopnja zaznavanja in meja zaznavanja za virus SARS-CoV-2 v sistemu NeuMoDx 288 Molecular System: Potek dela Neposredno

LoD pri virusu SARS-CoV-2: N288, potek dela Neposredno								
Raven tarče	Veljavni rezultati	Gen Nsp2 Positive (Pozitivno)		Stopnja zaznavanja pri genu Nsp2	Gen N Positive (Pozitivno)		Stopnja zaznavanja pri genu N	Stopnja amplifikacije obeh tarč
		n	Srednja vrednost Ct		n	Srednja vrednost Ct		
400 kopij/ml	24	24	32,8	100,0 %	24	31,7	100,0 %	100,0 %
250 kopij/ml	24	24	33,0	100,0 %	24	32,0	100,0 %	100,0 %
150 kopij/ml	22	21	33,5	95,5 %	22	32,4	100,0 %	95,5 %
50 kopij/ml	24	20	34,3	83,3 %	24	33,4	100,0 %	83,3 %
Negative (Negativno)	24	0		0,0 %	0		0,0 %	0,0 %
LoD N288: 150 cp/ml (najnižja raven tarče, ki kaže stopnjo zaznavanja obeh tarč > 95 %)								

Analitična občutljivost – vzorci slin

Meja zaznavanja (LoD) testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay v vzorcu slin je bila ovrednotena s testiranjem serije razredčitev zbranih negativnih vzorcev slin (zmešanih s pufrom NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer v razmerju slin in pufra 1 : 1,67), obogatenih z virusom SARS-CoV-2, obsevanim z žarki γ (viri BEI NR-52287) ali genomsko RNA virusa SARS-CoV-2 (viri BEI NR-52285) ter obdelana s potekom dela Neposredno. Vsaj pet replikacij pri vsaki razredčitvi je bilo ovrednotenih približno pri pričakovani vrednosti LoD, nato pa je sledila potrditvena obdelava vsaj dvajsetih replikacij pri najnižjih ravneh, pri katerih so bili vsi rezultati pozitivni. Ugotovljeno je bilo, da vrednost LoD za genomsko RNA in virus, obsevan z žarki γ , znašata **50 kopij/ml** in **0,0075 TCID50/ml**.

Preglednica 7. Stopnje zaznavanja in preliminarna meja zaznavanja pri virusu SARS-CoV-2, obsevanem z žarki γ

LoD pri SARS-CoV-2; virus SARS-CoV-2, obsevan z žarki γ								
Raven tarče	Veljavni rezultati	Gen Nsp2 Positive (Pozitivno)		Stopnja zaznavanja pri genu Nsp2	Gen N Positive (Pozitivno)		Stopnja zaznavanja pri genu N	Stopnja amplifikacije obeh tarč
		N	Srednja vrednost Ct		n	Srednja vrednost Ct		
0,01 TCID50/ml	5	5	32,8	100 %	5	32,6	100 %	100 %
0,005 TCID50/ml	5	5	34,0	100 %	5	33,1	100 %	100 %
0,0025 TCID50/ml	10	4	33,5	40 %	5	32,7	50 %	30 %*
Preliminarna vrednost LoD – virus, obsevan z žarki γ: 0,005 TCID50/ml (najnižja raven tarče, ki kaže stopnjo zaznavanja obeh tarč > 95 %)								
*Pri treh od desetih vzorcev (3/10) sta bili obe tarči zaznani pri 0,0025 TCID50/ml, pri skupni stopnji pozitivnosti 30 %.								

Preglednica 8. Stopnje zaznavanja in preliminarna meja zaznavanja pri gRNA virusa SARS-CoV-2

LoD pri SARS-CoV-2; genomsko RNA virusa SARS-CoV-2								
Raven tarče	Veljavni rezultati	Gen Nsp2 Positive (Pozitivno)		Stopnja zaznavanja pri genu Nsp2	Gen N Positive (Pozitivno)		Stopnja zaznavanja pri genu N	Stopnja amplifikacije obeh tarč
		N	Srednja vrednost Ct		n	Srednja vrednost Ct		
100 kopij/ml	5	5	32,7	100 %	5	31,8	100 %	100 %
50 kopij/ml	5	5	33,3	100 %	5	32,5	100 %	100 %
40 kopij/ml	10	6	34,4	60 %	9	33,1	90 %	60 %*
25 kopij/ml	10	4	34,1	40 %	9	33,0	90 %	40 %**
Preliminarna LoD – gRNA: 50 cp/ml (najnižja raven tarče, ki kaže stopnjo zaznavanja obeh tarč > 95 %)								
*Pri šestih od desetih vzorcev (6/10) sta bili obe tarči zaznani pri 40 cp/ml, pri skupni stopnji pozitivnosti 60 %.								
**Pri štirih od desetih vzorcev (4/10) sta bili obe tarči zaznani pri 25 cp/ml, pri skupni stopnji pozitivnosti 40 %.								

Preglednica 9. Potrditev stopenj zaznavanja in meje zaznavanja pri virusu SARS-CoV-2, obsevanem z žarki γ

LoD pri SARS-CoV-2; virus SARS-CoV-2, obsevan z žarki γ									
Sistem	Raven tarče	Veljavni rezultati	Gen Nsp2 Positive (Pozitivno)		Stopnja zaznavanja pri genu Nsp2	Gen N Positive (Pozitivno)		Stopnja zaznavanja pri genu N	Stopnja amplifikacije obeh tarč
			N	Srednja vrednost Ct		n	Srednja vrednost Ct		
N288	0,0075 TCID50/ml	20	20	33,7	100 %	20	33,0	100 %	100 %
N96	0,0075 TCID50/ml	20	20	34,2	100 %	20	33,8	100 %	100 %
N288	0,005 TCID50/ml	20	18	33,4	90 %	18	33,3	90 %	85 %*
N96	0,005 TCID50/ml	20	15	33,4	80 %	16	33,3	80 %	65 %**
LoD N288: 0,0075 TCID50/ml (najnižja raven tarče, ki kaže stopnjo zaznavanja obeh tarč > 95 %) LoD N96: 0,0075 TCID50/ml (najnižja raven tarče, ki kaže stopnjo zaznavanja obeh tarč > 95 %)									
*Pri sedemnajstih (17) od dvajsetih (20) vzorcev sta bili obe tarči zaznani pri N288, pri skupni stopnji pozitivnosti 85 %. **Pri trinajstih (13) od dvajsetih (20) vzorcev sta bili obe tarči zaznani pri N96, pri skupni stopnji pozitivnosti 65 %.									

Preglednica 10. Potrditev stopenj zaznavanja in meje zaznavanja pri gRNA virusa SARS-CoV-2

LoD pri SARS-CoV-2; genomska RNA virusa SARS-CoV-2									
Sistem	Raven tarče	Veljavni rezultati	Gen Nsp2 Positive (Pozitivno)		Stopnja zaznavanja pri genu Nsp2	Gen N Positive (Pozitivno)		Stopnja zaznavanja pri genu N	Stopnja amplifikacije obeh tarč
			N	Srednja vrednost Ct		n	Srednja vrednost Ct		
N288	50 kopij/ml	20	20	34,4	100 %	20	33,9	100 %	100 %
N96	50 kopij/ml	20	19	33,9	95 %	19	33,8	95 %	95 %*
LoD N288: 50 cp/ml (najnižja raven tarče, ki kaže stopnjo zaznavanja obeh tarč > 95 %) LoD N96: 50 cp/ml (najnižja raven tarče, ki kaže stopnjo zaznavanja obeh tarč > 95 %)									
*Pri devetnajstih (19) od dvajsetih (20) vzorcev sta bili obe tarči zaznani pri N96, pri skupni stopnji pozitivnosti 95 %.									

Inkluzivnost

Inkluzivnost testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay je bila ovrednotena z analizo *in silico*, ki preslika primerje in šobe testa na vse razpoložljive sekvence virusa SARS-CoV-2 (n = 96) v zbirki podatkov NCBI z dne 14. marca 2020. Za potrditev homologije sekvenc s sevi virusa SARS-CoV-2, ki krožijo v okolju, so bila območja primerjev in šob testa primerjana s analizo *in silico*. Homologija testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay z vsemi razen z eno sekvenco gena Nsp2 (tarča 1) je znašala 100 %. Pri eni sekvenci so ugotovili eno neujemanje nukleotida v prednjem primerju brez napovedanega vpliva na delovanje testa. Pri vseh razpoložljivih sekvencah so ugotovili, da homologija med primerji in šobo gena N (tarče 2) znaša 100 %.

Navzkrižna reaktivnost/mikrobne motnje

Test NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay je bil ovrednoten *in silico* glede možnih navzkrižnih reakcij z mikroorganizmi, prikazanih v *preglednici 11*, tako da so bili primerji in šobe testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay posamično preslikani na sekvence v zbirki podatkov NCBI. Pri nobeni od analiziranih sekvenc ni bila dokazana homologija za primerje in šobe gena Nsp2 (tarče 1). Pri virusu *Haemophilus influenzae* (CP000672.1) je bila dokazana homologija s prednjim primerjem gena N (tarče 2), a ni bilo signifikantne homologije z reverznim primerjem in šobo. Podobno je bila pri SARS koronavirusu (AY345986.1) dokazana homologija za prednji primer in šobo gena N, za reverzni primer pa ni bilo dokazane nobene homologije. Pri bakteriji *Pseudomonas aeruginosa* (CP000438.1) je bila dokazana homologija s prednjim primerjem SPC2, ne pa tudi pri kateri koli od obeh tarč SARS-CoV-2. Z analizo *in silico* je bilo tako dokazano, da ni nobene verjetne navzkrižne reaktivnosti na katero koli ovrednoteno sekvenco. Opravljeno je bilo nadaljnje laboratorijsko testiranje za potrditev, da virus *H. influenzae* in bakterija *P. aeruginosa* ne predstavljata tveganja za navzkrižno reaktivnost ali mikrobne motnje, rezultati tega testiranja pa so predstavljeni v *preglednicah 12* in *13*.

Preglednica 11. Analiza *in silico* za navzkrižno reaktivne organizme

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

Preglednica 12. Testiranje navzkrižne reaktivnosti in motenj za virus *H. Influenzae*

VZOREC		Veljavni rezultati	Št. pozitivnih Gen N	% pozitivnih pri genu N (rumeno)	Povpr. Ct pri genu N	Št. pozitivnih pri genu Nsp2	% pozitivnih pri genu Nsp2 (zeleno)	Povpr. Ct pri genu Nsp2	Povpr. Ct pri SPC2
Navzkrižna reaktivnost	Čisti UVT (negativna kontrola)	3	0	0 %	Ni na voljo	0	0 %	Ni na voljo	27,7
	UVT+ <i>H. Influenzae</i> (7.2E6 CFU/ml)	3	0	0 %	Ni na voljo	0	0 %	Ni na voljo	28,3
Motnje	Čisti UVT+ RNA SARS-CoV-2 (750 kopij/ml) (pozitivna kontrola)	3	3	100 %	32,03	3	100 %	34,05	27,8
	UVT + <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 CFU/ml) + RNA SARS-CoV-2 (750 kopij/ml)	3	3	100 %	32,45	3	100 %	33,98	27,7

Preglednica 13. Testiranje navzkrižne reaktivnosti in motenj za bakterijo *P. aeruginosa*

VZOREC		Veljavni rezultati	Gen N (HEX)			Gen Nsp2 (FAM)			SPC2 (Dolgovalovna rdeča)
			Poz.	% poz	Povpr. Ct	Poz.	% poz	Povpr. Ct	Povpr. Ct
Navzkrižna reaktivnost	UVT+ <i>P. aeruginosa</i> (1 ⁶ CFU/ml)	3	0	0 %	Ni na voljo	0	0 %	Ni na voljo	27,5
Motnje	Čisti UVT – kontrola	3	3	100 %	30,3	3	100 %	32,0	26,9
	Positive (Pozitivno)								
	UVT + <i>P. aeruginosa</i> (1 ⁶ CFU/ml) + RNA SARS-CoV-2 (450 kopij/ml)	3	3	100 %	30,4	3	100 %	32,0	27,0

Moteče snovi – vzorci brisov nosnega dela žrela

Test NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay je bil ovrednoten glede dojemljivosti za motnje, katerih vzrok so snovi, ki so lahko povezane z zbiranjem primerkov brisov iz nosnega dela žrela. Preostali klinično negativni primerki brisov nosnega dela žrela so bili obogateni z genomsko RNA virusa SARS-CoV-2 (viri BEI NR-52285) pri 5-kratni vrednosti LoD ter obdelani v prisotnosti in odsotnosti snovi, ki so prikazane spodaj v *preglednici 14*. Nobene snovi, ki so bile vključene v testiranje, niso negativno vplivale na delovanje testa.

Preglednica 14. Snovi, testirane na motnje

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

*Opomba: Prikazane koncentracije so tiste, ki se uporabljajo za nasičenje brisov pred odmerjanjem moteče snovi v namišljene pozitivne klinične vzorce. Zato predstavljajo raven na mestu zbiranja brisov, ki jo je mogoče tolerirati.

Moteče snovi – vzorci sline

Test NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay je bil ovrednoten glede dojemljivosti za motnje, katerih vzrok so snovi, ki so lahko povezane z zbiranjem primerkov sline. Zbrana negativna slina je bila obogatena z virusom SARS-CoV-2, obsevanim z žarki γ (viri BEI NR-52287) pri 10-kratni vrednosti LoD, pripravljena s kompletom NeuMoDx Saliva Collection Kit ter obdelana v prisotnosti in odsotnosti snovi, navedenih v spodnji *preglednici 15*. Nobene snovi, ki so bile vključene v testiranje, pri danih koncentracijah niso negativno vplivale na delovanje testa.

Preglednica 15. Snovi, testiranje na motnje – vzorci sline

	Snov	Koncentracija
Endogena	Polna kri	1 % v/v
Eksogena	Altoids™ (Spearmint)	2 % w/v
	Aspirin™	1 % w/v
	LISTERINE® Ultra-clean Antiseptic Mouthwash	1 % v/v
	Bonboni proti kašlju Halls™ (Mentho-Lyptus)	1 % w/v
	Zaščita za sledni Crest Pro-Health Advanced Gum Protection	0,001 % (w/v)*
	Sirup proti kašlju Wal-Tussin® DM Max	1 % v/v

*O koncentraciji te snovi je poročano zaradi študije odziva na odmerek od 0,1 %, v kateri je bilo dokazano, da ima zaviralni učinek.

Ponovljivost

Ponovljivost testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay v laboratoriju je bila potrjena z retrospektivno analizo delovanja z negativnimi in namišljenimi pozitivnimi kliničnimi vzorci brisov iz nosnega dela žrela. Podatki, katerih povzetek je v *preglednicah 16a–c*, predstavljajo testiranje, ki ga je izvedlo več upravljavcev na dveh instrumentih v obdobju treh dni. Predstavljeni so rezultati vzorcev s potekoma dela NEPOSREDNO in PREDHODNO OBDELANO.

Preglednica 16a. Celotna ponovljivost in natančnost testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Raven SARS-CoV-2 (cp/ml)	N	Tarča N			Tarča Nsp2			SPC2		
		% pozitivnih	Povpr. Ct	Ct % CV	% pozitivnih	Povpr. Ct	Ct % CV	% pozitivnih	Povpr. Ct	Ct % CV
2000	16	100 %	29,3	2,1 %	100 %	30,7	2,4 %	100 %	27,1	2,1 %
1000	14	100 %	29,9	2,1 %	100 %	31,2	2,6 %	100 %	27,1	2,3 %
500	28	100 %	30,9	2,2 %	100 %	32,0	2,8 %	100 %	27,3	1,6 %
400	77	100 %	31,2	2,1 %	99 %	32,4	2,2 %	100 %	27,2	1,7 %
250	91	100 %	31,5	2,1 %	100 %	32,4	2,6 %	100 %	27,4	1,6 %
150	46	100 %	31,1	1,8 %	100 %	31,6	1,7 %	100 %	27,1	2,0 %
0	178	0 %	Ni na voljo	Ni na voljo	0 %	Ni na voljo	Ni na voljo	100 %	27,5	2,6 %

Preglednica 16b. Ponovljivost in natančnost testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Tarča	Raven (cp/ml)	NeuMoDx 288 Molecular System				NeuMoDx 96 Molecular System			
		N	% pozitivnih	Povpr. Ct	Ct % CV	N	% pozitivnih	Povpr. Ct	Ct % CV
Tarča N	2000	12	100 %	29,3	2,3 %	4	100 %	29,3	1,4 %
	1000	11	100 %	30,0	2,0 %	3	100 %	29,5	1,6 %
	500	21	100 %	30,8	2,2 %	7	100 %	31,1	1,7 %
	400	46	100 %	31,2	2,3 %	31	100 %	31,1	1,9 %
	250	45	100 %	31,7	2,0 %	46	100 %	31,3	2,0 %
	150	26	100 %	31,2	1,6 %	20	100 %	31,0	1,9 %
Tarča Nsp2	2000	12	100 %	30,7	2,3 %	4	100 %	30,8	2,6 %
	1000	11	100 %	31,3	2,5 %	3	100 %	26,8	0,4 %
	500	21	100 %	31,9	2,9 %	7	100 %	32,1	2,0 %
	400	46	100 %	32,4	2,4 %	31	97 %	32,3	2,0 %
	250	45	100 %	32,6	2,3 %	46	100 %	32,3	2,8 %
	150	26	100 %	31,7	1,8 %	20	100 %	31,5	1,6 %

Preglednica 16c. Celotna ponovljivost in natančnost testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Tarča	Raven (cp/ml)	Potek dela NEPOSREDNO				Potek dela PREDHODNO OBDELANO			
		N	% pozitivnih	Povpr. Ct	Ct % CV	N	% pozitivnih	Povpr. Ct	Ct % CV
Tarča N	2000	8	100 %	29,7	0,8 %	8	100 %	28,8	1,9 %
	1000	7	100 %	30,5	0,7 %	7	100 %	29,4	1,2 %
	500	15	100 %	31,3	1,3 %	13	100 %	30,3	1,4 %
	400	63	100 %	31,4	1,8 %	14	100 %	30,3	1,0 %
	250	48	100 %	31,9	1,5 %	43	100 %	31,1	2,0 %
Tarča Nsp2	2000	8	100 %	31,2	1,3 %	8	100 %	30,1	1,9 %
	1000	7	100 %	31,9	0,6 %	7	100 %	30,4	1,5 %
	500	15	100 %	32,6	1,6 %	13	100 %	31,3	2,2 %
	400	63	98 %	32,6	1,6 %	14	100 %	31,4	2,0 %
	250	48	100 %	33,0	1,8 %	43	100 %	31,9	2,2 %

Klinična učinkovitost
a. Testiranje namišljenih primerkov – vzorci brisov nosnega dela žrela

Delovanje testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay s preostalimi kliničnimi vzorci brisov iz nosnega dela žrela (krtačastih („flocked“) brisov iz najlona, zbranih s sistemom UTM (Copan Diagnostic Inc, CA) ali UVT (BD, NJ)) je bila ovrednotena s skupino 82 negativnih kliničnih vzorcev in 87 namišljenih pozitivnih kliničnih vzorcev, ki so bili prej predloženi za testiranje za influenco in/ali respiratorni sincicijski virus ter so bili odvzeti pri pacientih z znaki in simptomi okužbe zgornjih dihal. Pozitivni namišljeni vzorci so bili pripravljene z obogatitvijo negativnih kliničnih vzorcev z genomsko RNA virusa SARS-CoV-2 (viri BEI NR-52285). Od 87 namišljenih pozitivnih vzorcev jih je imelo 57 koncentracije, ki so bile 1–2-kratnik vrednosti LoD, 30 pa jih je imelo koncentracije, ki so bile 4–8-kratnik vrednosti LoD. Vzorci so bili obdelani s potekom dela NEPOSREDNO in PREDHODNO OBDELANO na obeh sistemih NeuMoDx Systems.

O vseh pozitivnih vzorcih so poročali kot o pozitivnih in o vseh negativnih kot o negativnih, kot je podrobno navedeno v *preglednicah 17–20*.

Preglednica 17. Primerki brisov, ki so bili predhodno obdelani samo na sistemu NeuMoDx 288 Molecular System.

Potek dela Predhodno obdelano: NeuMoDx 288 Molecular System					
Koncentracija vzorca	n	Tarča 1 (gen Nsp2)		Tarča 2 (gen N)	
		% pozitivnih (dvostranski 95 % IZ)	Srednja vrednost Ct	% pozitivnih (dvostranski 95 % IZ)	Srednja vrednost Ct
225 kopij/ml ~1,5X LoD	12	100 (75,6–99,9)	32,5	100 (75,6–99,9)	32,2
400 kopij/ml ~2,7X LoD	11	100 (74,0–99,9)	31,4	100 (74,0–99,9)	30,2
500 kopij/ml ~3,3X LoD	10	100 (72,1–99,9)	31,2	100 (72,1–99,9)	30,2
1000 kopij/ml	5	100 (56,4–99,9)	30,5	100 (56,4–99,9)	29,4
2000 kopij/ml	6	100 (60,8–99,9)	30,2	100 (60,8–99,9)	28,8
Negative (Negativno)	29	0 (Ni na voljo.)	Ni na voljo	0 (Ni na voljo.)	Ni na voljo
Delovanje v nasprotju s pričakovanimi rezultati: Ujemanje odstotka pozitivnih 44/44 = 100 % (95 % IZ: 91,9–100 %) Ujemanje odstotka negativnih 29/29 = 100 % (95 % IZ: 88,2–100 %)					

Preglednica 18. Primerki brisov, ki so bili predhodno obdelani samo na sistemu NeuMoDx 96 Molecular System.

Potek dela Predhodno obdelano: NeuMoDx 96 Molecular System					
Koncentracija vzorca	n	Tarča 1 (gen Nsp2)		Tarča 2 (gen N)	
		% pozitivnih (dvostranski 95 % IZ)	Srednja vrednost Ct	% pozitivnih (dvostranski 95 % IZ)	Srednja vrednost Ct
225 kopij/ml ~1,5X LoD	12	100 (75,6–99,9)	32,0	100 (75,6–99,9)	31,5
400 kopij/ml ~2,7X LoD	3	100 (43,7–99,8)	31,2	100 (43,7–99,8)	30,4
500 kopij/ml ~3,3X LoD	3	100 (43,7–99,8)	31,5	100 (43,7–99,8)	30,6
1000 kopij/ml	2	100 (34,2–99,8)	30,2	100 (34,2–99,8)	29,2
2000 kopij/ml	2	100 (34,2–99,8)	30,1	100 (34,2–99,8)	28,9
Negative (Negativno)	20	0 (Ni na voljo.)	Ni na voljo	0 (Ni na voljo.)	Ni na voljo
Delovanje v nasprotju s pričakovanimi rezultati: Ujemanje odstotka pozitivnih 22/22 = 100 % (95 % IZ: 85,0–100 %) Ujemanje odstotka negativnih 20/20 = 100 % (95 % IZ: 83,8–100 %)					

Preglednica 19. Primerki brisov neposrednega poteka dela na sistemu NeuMoDx 288 Molecular System.

Potek dela Neposredno: NeuMoDx 288 Molecular System					
Koncentracija vzorca	n	Tarča 1 (gen Nsp2)		Tarča 2 (gen N)	
		% pozitivnih (dvostranski 95 % IZ)	Srednja vrednost Ct	% pozitivnih (dvostranski 95 % IZ)	Srednja vrednost Ct
225 kopij/ml ~1,5X LoD	12	100 (75,6–99,9)	33,8	100 (75,6–99,9)	32,7
400 kopij/ml ~2,7X LoD	11	100 (74,0–99,9)	32,4	100 (74,0–99,9)	31,1
500 kopij/ml ~3,3X LoD	11	100 (74,0–99,9)	32,5	100 (72,1–99,9)	31,3
1000 kopij/ml	6	100 (60,8–99,9)	31,9	100 (56,4–99,9)	30,5
2000 kopij/ml	6	100 (60,8–99,9)	31,1	100 (60,8–99,9)	29,7
Negative (Negativno)	33	0 (Ni na voljo.)	Ni na voljo	0 (Ni na voljo.)	Ni na voljo
Delovanje v nasprotju s pričakovanimi rezultati:					
Ujemanje odstotka pozitivnih		46/46 = 100 % (95 % IZ: 92,2–100 %)			
Ujemanje odstotka negativnih		33/33 = 100 % (95 % IZ: 89,5–100 %)			

Preglednica 20. Primerki brisov neposrednega poteka dela na sistemu NeuMoDx 96 Molecular System.

Potek dela Neposredno: NeuMoDx 96 Molecular System					
Koncentracija vzorca	n	Tarča 1 (gen Nsp2)		Tarča 2 (gen N)	
		% pozitivnih (dvostranski 95 % IZ)	Srednja vrednost Ct	% pozitivnih (dvostranski 95 % IZ)	Srednja vrednost Ct
225 kopij/ml ~1,5X LoD	12	100 (75,6–99,9)	33,4	100 (75,6–99,9)	32,3
400 kopij/ml ~2,7X LoD	4	100 (50,9–99,9)	32,7	100 (50,9–99,9)	31,7
500 kopij/ml ~3,3X LoD	4	100 (50,9–99,9)	32,6	100 (50,9–99,9)	31,5
1000 kopij/ml	1	100 (20,7–99,8)	31,9	100 (20,7–99,8)	30,2
2000 kopij/ml	2	100 (34,2–99,8)	31,5	100 (34,2–99,8)	29,7
Negative (Negativno)	0	0 (Ni na voljo.)	Ni na voljo	0 (Ni na voljo.)	Ni na voljo
Delovanje v nasprotju s pričakovanimi rezultati:					
Ujemanje odstotka pozitivnih		23/23 = 100 % (95 % IZ: 85,6–100 %)			
Ujemanje odstotka negativnih		Ni na voljo.			

b. Testiranje namišljenih primerkov – vzorci sline

Delovanje testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay z vzorci sline (pripravljenimi s kompletom NeuMoDx Saliva Collection Kit) je bilo ovrednoteno s skupino 36 negativnih vzorcev darovalcev. Vsak vzorec zdravega darovalca je bil z obogatitvijo virusa SARS-CoV-2 (viri BEI NR-52287), obsevanega z žarki γ , uporabljen za pripravo negativnega in namišljenega pozitivnega vzorca, kar je znašalo 72 vzorcev za testiranje. Od 36 namišljenih pozitivnih vzorcev jih je bilo 28, pri katerih so koncentracije znašale 1,5–2-kratnik vrednosti LoD, 4, pri katerih so koncentracije znašale 10-kratnik vrednosti LoD, in 4, pri katerih so koncentracije znašale 20-kratnik vrednosti LoD. Vzorci so bili obdelani s potekom dela UserSpecified2 (UporabniškoOpredeljeno2).

O vseh pozitivnih vzorcih so poročali kot o pozitivnih in o vseh negativnih kot o negativnih, kot je podrobno navedeno v preglednici 21.

Preglednica 21. Vzorci sline v sistemu NeuMoDx 288 Molecular System

Koncentracija vzorca	n	Tarča 1 (gen Nsp2)		Tarča 2 (gen N)	
		% pozitivnih (dvostranski 95 % IZ)	Srednja vrednost Ct	% pozitivnih (dvostranski 95 % IZ)	Srednja vrednost Ct
0,01125–0,015 TCID50/ml (1,5–2-x LoD)	27	96 (81,7–99,3)	33,2	100 (87,6–100)	33,1
0,075 TCID50/ml (10-x LoD)	4	100 (51,0–100)	32,7	100 (51,0–100)	32,3
0,15 TCID50/ml (20-x LoD)	4	100 (51,0–100)	31,0	100 51,0-100	30,9
Negative (Negativno)	35	0 (Ni na voljo.)	Ni na voljo	0 (Ni na voljo.)	Ni na voljo
Delovanje v nasprotju s pričakovanimi rezultati: Ujemanje odstotka pozitivnih pri genu Nsp2 34/35 = 97,1 % (95 % IZ: 85,5–99,5 %) Ujemanje odstotka negativnih pri genu Nsp2 35/35 = 100 % (95 % IZ: 90,1–100 %) Ujemanje odstotka pozitivnih pri genu N 35/35 = 100 % (95 % IZ: 90,1–100 %) Ujemanje odstotka negativnih pri genu N 35/35 = 100 % (95 % IZ: 90,1–100 %) Celotno ujemanje odstotka pozitivnih 35/35 = 100 % (95 % IZ: 90,1–100 %) Celotno ujemanje odstotka negativnih 35/35 = 100 % (95 % IZ: 90,1–100 %)					

c. Testiranje kliničnih primerkov – primerki brisov nosnega dela žrela

Delovanje testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay je bilo ovrednoteno tudi s kliničnimi primerki. Primerki kliničnih brisov, odvzeti simptomatskim pacientom iz nosnega dela žrela, ki so ostali in so deidentificirani, so bili s krtačastimi („flocked“) brisi z mini konicami zbrani v 3 ml transportnega medija BD Universal Viral Transport Medium (BD UVT). Primerki so bili poslani na testiranje za virus SARS-CoV-2 na dve zunanji lokaciji, na katerih so opravili primerjalno testiranje teh primerkov s testi, ki jih je Uprava za živila in zdravila (FDA) v ZDA odobrila za uporabo v nujnih primerih. Testiranje s testom NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay so izvedli na eni notranji in eni zunanji lokaciji za testiranje. Skupno je bilo s testom NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay obdelanih 40 vzorcev. Nekateri vzorci so bili testirani na obeh sistemih, N288 in N96 NeuMoDx Systems, uporabljeni pa so bili poteki dela PREDHODNO OBDELANO in NEPOSREDNO. Rezultati testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay so se pri vseh kliničnih vzorcih, ki so jih testirali v tej primerjalni študiji metod, popolnoma skladali z rezultati primerjalnega testa (preglednici 22 in 23).

Preglednica 22. Rezultati kvalitativne primerjave metod za test NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay na sistemih NeuMoDx Molecular Systems v primerjavi z referenčnimi testi – potek dela PREDHODNO OBDELANO

N96 in N288 Predhodno obdelano		Primerjalni test(-i)		
		Poz.	Neg	Skupaj
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Poz.	25	0	25
	Neg	0	15	15
	Skupaj	25	15	40
Klinična občutljivost 100 % (95 % IZ 86,6–100 %)				
Klinična specifičnost 100 % (95 % IZ 79,5–99,9 %)				

Preglednica 23. Rezultati kvalitativne primerjave metod za test NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay v primerjavi z referenčnimi testi – potek dela DIRECT

(a) v sistemu NeuMoDx 288 Molecular System (N288) in (b) v sistemu NeuMoDx 96 Molecular System (N96)

(a)

(b)

N288 Neposredno		Primerjalni test(-i)		
		Poz.	Neg	Skupaj
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Poz.	10	0	10
	Neg	0	9	9
	Skupaj	10	9	19
Klinična občutljivost 100 % (95 % IZ 72,1–99,9 %)				
Klinična specifičnost 100 % (95 % IZ 69,9–99,9 %)				

N96 Neposredno		Primerjalni test(-i)		
		Poz.	Neg	Skupaj
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Poz.	5	0	5
	Neg	0	6	6
	Skupaj	5	6	11
Klinična občutljivost 100 % (95 % IZ 56,4–99,9 %)				
Klinična specifičnost 100 % (95 % IZ 60,8–99,9 %)				

d. Testiranje kliničnih primerkov – primerki sline

Delovanje testa NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay z vzorci sline (pripravljenimi s kompletom NeuMoDx Saliva Collection Kit) je bilo ovrednoteno s 112 deidentificiranimi povezanimi primerki brisov sline in brisov nosnega dela žrela, ki so bili zbrani zapovrstjo prospektivno ali pa so preostali pri istem posamezniku (in so bili tudi zbrani zapovrstjo). Za prospektivno zbiranje primerkov sline so bili uporabljeni kompleti NeuMoDx Saliva Collection Kits, preostali vzorci sline pa so bili zbrani v epruveti za vzorce, ki ni vsebovala nobenih konzervansov, in so bili do testiranja s pufrom NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer shranjeni pri -80°C . Primerki brisov iz nosnega dela žrela so bili s krtačastimi („flocked“) brisi z mini konicami zbrani v 3 ml transportnega medija BD Universal Viral Transport Medium (BD UVT). Vsi primerki sline in večina primerkov brisov iz nosnega dela žrela so bili testirani s testom NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay in s kombinacijo sistemov N288 in N96 NeuMoDx Systems. Preostali primerki brisov iz nosnega dela žrela so bili obdelani z drugimi primerjalnimi testi, ki so bili odobreni za uporabo v nujnih primerih. Testiranje je bilo izvedeno na eni notranji in dveh zunanji lokacijah za testiranje. Skupno je bila pri testu NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay z uporabo primerkov sline dokazana > 95-odstotna pozitivna in negativna konkordanca z rezultati referenčnih testov za primerke brisov iz nosnega dela žrela, kot je podrobno navedeno v preglednici 24.

Preglednica 24. Rezultati kvalitativne primerjave metod za test NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay s primerki sline v primerjavi s primerki brisov iz nosnega dela žrela

Kakovostno ujemanje		Primerki brisov iz nosnega dela žrela		
		Poz.	Neg	Skupaj
Primerki sline	Poz.	41	2	43
	Neg	2	67	69
	Skupaj	43	69	112
Klinična občutljivost 95,4 % (84,5–98,7 %)				
Klinična specifičnost 97,1 % (90,0–99,2 %)				

REFERENCE









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

BLAGOVNE ZNAMKE

NeuMoDx™ in NeuDry™ sta blagovni znamki podjetja NeuMoDx Molecular, Inc.
 Afrin® je registrirana blagovna znamka družbe Bayer AG.
 Altoids™ je blagovna znamka družbe Callard and Bowser Limited.
 Aspirin™ je registrirana blagovna znamka družbe Bayer AG.
 BD™ je blagovna znamka družbe Becton, Dickinson and Company.
 Crest® Pro-Health je registrirana blagovna znamka družbe Procter and Gamble Company.
 Flonase® je registrirana blagovna znamka družbe GlaxoSmithKline plc.
 Halls™ je blagovna znamka družbe Mondelēz International Group.
 Hamilton® je registrirana blagovna znamka družbe Hamilton Company.
 Listerine® je registrirana blagovna znamka družbe Johnson & Johnson.
 Relenza® je registrirana blagovna znamka družbe GlaxoSmithKline plc.
 Tamiflu® je registrirana blagovna znamka družbe Genentech USA, Inc.
 TaqMan® je registrirana blagovna znamka družbe Roche Molecular Systems, Inc.
 UTM-RT® je registrirana blagovna znamka družbe Copan Diagnostics, Inc.
 Wal-Tussin® je registrirana blagovna znamka družbe Walgreens Company.
 Zicam® je registrirana blagovna znamka družbe Matrixx Initiatives, Inc.

Vsa druga imena proizvodov, blagovnih znamk in registriranih blagovnih znamk, ki se morda pojavijo v tem dokumentu, so last njihovih zadevnih lastnikov.

POMEN SIMBOLOV

R only	Samo na recept		Temperaturna meja
	Proizvajalec		Ne uporabljajte ponovno
IVD	Diagnostični medicinski pripomoček <i>in vitro</i>		Vsebuje zadostno količino za <n> testov
EC REP	Pooblaščen predstavnik v Evropski skupnosti		Glejte navodila za uporabo
REF	Kataloška številka		Pozor
LOT	Koda serije		Biološka tveganja
	Rok uporabnosti	CE	Oznaka CE



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

Sponsor (AUS):
QIAGEN Pty Ltd
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148
Australia



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands



Tehnična podpora/poročanje v okviru vigilance: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents