

REF 300800 NeuMoDx™ SARS-CoV-2 Test Strip**R only**

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

IVD A se utiliza pentru diagnosticarea *in vitro* cu NeuMoDx 288 și NeuMoDx 96 Molecular System*Pentru actualizări ale prospectului, accesați: www.qiagen.com/neumodx-ifu**Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx 288 Molecular System; Nr.P. 40600108**Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx 96 Molecular System; Nr.P. 40600317**Pentru instrucțiuni detaliate, consultați instrucțiunile de utilizare ale NeuMoDx Saliva Collection Kit; Nr.P. 40600441***DOMENIUL DE UTILIZARE**

NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay efectuat pe NeuMoDx 288 Molecular System și NeuMoDx 96 Molecular System (sistemele NeuMoDx Molecular System) este o testare pentru diagnosticare RT-PCR în timp real, destinată detectării calitative a ARN-ului coronavirusului SARS-CoV-2 în tamponurile nazale, nazofaringiene și orofaringiene în mediul de transport și în eșantioanele de lavaj bronho-alveolar (bronchoalveolar lavage, BAL) prelevate de la indivizi suspecți de furnizorul de servicii medicale ca având COVID-19.

Această testare este destinată și utilizării cu eșantioane de salivă care sunt recoltate în cadrul unei unități sanitare de la anumite persoane, utilizând NeuMoDx Saliva Collection Kit, atunci când un furnizor de servicii medicale consideră că este necesar.

Rezultatele sunt pentru identificarea ARN-ului SARS-CoV-2. În general, ARN-ul SARS-CoV-2 este detectabil în eșantioane respiratorii în faza acută a infecției. Rezultatele pozitive indică prezența ARN-ului SARS-CoV-2. Corelarea clinică cu istoricul pacientului și alte informații de diagnosticare este necesară pentru a determina stadiul de infectare a pacientului. Rezultatele pozitive nu exclud infecția bacteriană sau coinfectia cu alte virusuri. Laboratoarele din Statele Unite și teritoriile acestora trebuie să raporteze toate rezultatele pozitive autorităților de sănătate publică corespunzătoare.

Rezultatele negative nu exclud infecția cu SARS-CoV-2 și nu trebuie utilizate ca singură bază pentru deciziile de gestionare a pacienților. Rezultatele negative trebuie combinate cu observații clinice, anamneza pacientului și informații epidemiologice. Rezultatele negative pentru ARN-ul SARS-CoV-2 din salivă trebuie confirmate prin testarea unui tip alternativ de eșantion, dacă acest lucru este indicat clinic.

NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay este destinat utilizării de către personalul instruit al laboratoarelor clinice, pregătit și instruit special în tehnicile PCR în timp real și procedurile de diagnosticare *in vitro*.

REZUMAT ȘI EXPLICAȚII

Tampoanele nazofaringiene, orofaringiene sau nazale sunt recoltate în Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) System sau în BD™ Universal Viral Transport System (UVT). Pentru pregătirea pentru testare, eprubeta principală de recoltare (cu tampon și capacul îndepărtat), o parte alicotă pură din mediul de probă sau o parte alicotă din mediul de transport pretratată cu NeuMoDx Viral Lysis Buffer într-o eprubetă pentru eșantioane secundară este etichetată cu coduri de bare și încărcată pe NeuMoDx System, utilizând un suport dedicat pentru eprubete pentru eșantioane, după care procesarea începe automat. Pentru fiecare eșantion, o parte alicotă de 400 μl este aspirată de NeuMoDx System și amestecată cu NeuMoDx Lysis Buffer 3 (probe directe) sau NeuMoDx Lysis Buffer 2 (probe pretratate).

Eșantioanele de salivă sunt recoltate în NeuMoDx Saliva Collection kit, conform instrucțiunilor de utilizare (Nr.P. 40600441). Pentru a fi pregătită pentru testare, saliva recoltată este transferată din NeuMoDx Saliva collection vial în NeuMoDx Specimen Stabilization Tube utilizând pipeta de transfer pentru a stabili un raport de 1:1,67 salivă/SSB (v/v). Saliva și soluția tampon de stabilizare sunt temeinic, prin răsturnarea flaconului de 5-8 ori. Saliva stabilizată poate fi testată direct pe NeuMoDx System sau depozitată pentru testare ulterioară.

NeuMoDx System efectuează automat toate etapele necesare extragerii acidului nucleic țintă, pregătirii ARN-ului izolat pentru reacția de polimerizare în lanț revers-transcriere în timp real (Real-Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) și amplificării și detectării produsilor de amplificare, dacă sunt prezenți: gena nestructurală a proteinei 2 (non-structural protein, Nsp2) și gena N a genomului SARS-CoV-2. NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay include o substanță de control pentru procesarea probei de ARN (Sample Process Control, SPC2), care ajută la monitorizarea prezenței unor substanțe potențial inhibitoare și a erorilor NeuMoDx System sau de reactiv, care pot fi întâlnite în timpul proceselor de extracție și amplificare.

PRINCIPIILE PROCEDURII

Testul NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay combină extracția automatizată a ARN-ului cu amplificarea/detecția prin RT-PCR în timp real. Probele pe tampon nazofaringian, orofaringian sau nazal sunt recoltate în Copan UTM-RT System sau BD UVT System. Eșantioanele de salivă sunt recoltate în NeuMoDx Saliva Collection Kit. Există două fluxuri de lucru disponibile pentru pregătirea eșantionului pe tampon cu NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. Fluxul de lucru direct permite încărcarea eprubetei pentru recoltarea tampoanelor sau a unei părți alicote din mediul de transport într-o eprubetă secundară, care va fi încărcată pe NeuMoDx System pentru procesare, fără alte intervenții. Alternativ, mediul de probă pe tampon este pretratată cu NeuMoDx Viral Lysis Buffer înainte de a fi plasat pe NeuMoDx System pentru procesare. Pentru eșantionul de salivă, operatorul încarcă eprubeta primară de stabilizare a eșantionului, care conține salivă stabilizată, direct pe NeuMoDx System. NeuMoDx System începe automat procesarea, prin aspirarea unei părți alicote din matricea probei pe tampon sau din saliva stabilizată și amestecarea acesteia cu NeuMoDx Lysis Buffer și cu reactivii înglobați în NeuMoDx Extraction Plate. NeuMoDx System automatizează și integrează extracția și concentrarea ARN-ului, pregătirea reactivilor pentru PCR, precum și amplificarea/detecția acidului nucleic aferente secvențelor țintă, utilizând RT-PCR în timp real. Substanța de control pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC2) inclusă ajută la monitorizarea prezenței substanțelor inhibitoare, precum și a erorilor de sistem, de proces sau de reactiv. După încărcarea eșantionului pe NeuMoDx System nu mai este necesară intervenția operatorului.

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

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

Sondele TaqMan sunt destinate temperaturii într-o regiune ADN amplificată printr-un set specific de soluții de amorsare. Pe măsură ce Taq ADN-polimeraza extinde soluția de amorsare și sintetizează noua tulpină, activitatea exonucleazică 5'-3' a Taq ADN-polimerazei degradează sonda care a fost temperată la șablon. Degradarea sondei degajă fluorofor și își întrerupe proximitatea față de substanța extincătoare de fosforescență, astfel prevenind efectul de temperare cauzat de FRET și permițând detecția fluoroforului. Semnalul fluorescent rezultat, detectat în ciclul termic pentru RT-PCR cantitativ NeuMoDx System este direct proporțional cu fluoroforul degajat și poate fi corelat cu cantitatea prezentă de țintă. O sondă TaqMan etichetată cu un fluorofor FAM (470/510 nm) este utilizată pentru a detecta regiunea Nsp2 a genomului de SARS-CoV-2, iar o sondă TaqMan etichetată cu un fluorofor HEX (530/555 nm) este utilizată pentru a detecta gena N a genomului SARS-CoV-2. Pentru detectarea SPC2, sonda TaqMan este etichetată cu un fluorofor cu lumină roșie îndepărtată (680/715 nm). Software-ul sistemului NeuMoDx System monitorizează semnalul fluorescent emis de sondele TaqMan la sfârșitul fiecărui ciclu de amplificare. Când amplificarea este completă, software-ul NeuMoDx System analizează datele și raportează un rezultat (POSITIVE (POZITIV)/NEGATIVE (NEGATIV)/INDETERMINATE (NECONCLUDENT)/NO RESULTS (NICIUN REZULTAT)/UNRESOLVED (NEREZOLVAT)).

REACTIVI/CONSUMABILE

Materiale furnizate

REF	Conținut	Testări pe unitate	Teste per pachet
300800	NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip <i>Reactivi RT-PCR deshidratați care conțin sonde și soluții de amorsare TaqMan specifice SARS-CoV-2, sonde și soluții de amorsare TaqMan specifice SPC2</i>	16	96

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

REF	Conținut
100100	NeuMoDx Cartridge
100200	NeuMoDx Extraction Plate
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
400500 (Optional*)	NeuMoDx Lysis Buffer 2
400600**	NeuMoDx Lysis Buffer 3
401600 (Optional*)	NeuMoDx Viral Lysis Buffer
235903	Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (300 µL) with Filters
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (1000 µL) with Filters

*Necesar numai dacă se dorește o etapă de pretratare pentru liza efectuată în afara aparatului, înainte de încărcarea probelor. Consultați secțiunea „Instrucțiuni de utilizare”.

**Necesar doar pentru procesarea directă a probelor pure. Consultați secțiunea „Instrucțiuni de utilizare” de mai jos.

Tampon și medii de transport (nefurnizate)

Sample Type (Tip probă)	Dispozitive de recoltare	Dispozitiv de recoltare recomandat	Tampon recomandat
Tampon nazofaringian	Aplicator de plastic cu tamponare sterile răsucite Rayon și din poliester și tamponare poroase Nylon, recoltate în UTM®: Universal Transport Medium (Copan Diagnostic Inc, CA) sau UVT BD Universal Viral Transport System (BD, NJ)	3 ml/1 ml Universal Transport Medium (Copan UTM-RT) sau Universal Viral Transport System (BD UVT)	Flexible Minitip Size Nylon® Flocked Swab (Copan) sau Flexible minitip flocked swab (BD)
Tampon orofaringian			
Tampon nazal			

Material de recoltare a salivei (disponibil separat de NeuMoDx)

REF	Conținut
100500	NeuMoDx Saliva Collection Kit Conține (1) NeuMoDx Saliva Collection Vial, (1) NeuMoDx Specimen Stabilization Tube cu 1 ml NeuMoDx saliva stabilization buffer și (1) pipetă de transfer de unică folosință (suficient pentru recoltarea unei probe per kit; consultați instrucțiunile de utilizare pentru detalii; Nr.P. 40600441)

Instrumentar necesar

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



AVERTISMENTE ȘI PRECAUȚII

- NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay este destinat exclusiv diagnosticării *in vitro* cu sistemele NeuMoDx System.
- Doar pe bază de rețetă.
- A nu se reutiliza.
- Eșantioanele trebuie manipulate întotdeauna ca și cum ar fi infecțioase și în conformitate cu procedurile sigure de laborator, cum ar fi cele descrise în Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories¹ și în Documentul CLSI M29-A4.²
- Performanța NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay este limitată la utilizarea de către personal instruit în utilizarea NeuMoDx System și în manipularea materialelor infecțioase.
- Pentru testarea eșantioanelor de salivă, NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay este destinat utilizării numai cu NeuMoDx Saliva Collection kit.
- Nu utilizați reactivii sau consumabilele după data de expirare menționată.
- Nu utilizați reactivii în cazul în care sigiliul de siguranță este rupt sau dacă ambalajul este deteriorat la sosire.
- Nu utilizați consumabilele sau reactivii dacă punga de protecție este deschisă sau ruptă la sosire.

- Volumul minim al eșantionului pentru părți alicote secundare depinde de dimensiunea eprubetei/suportul eprubetelor pentru eșantioane, conform definiției de mai jos. Volumul sub minimul specificat poate duce la o eroare „Quantity Not Sufficient” (Cantitate insuficientă).
- Utilizarea eșantioanelor depozitate la temperaturi improprie sau în afara timpilor de depozitare specificați poate produce rezultate nevalide sau eronate.
- Evitați contaminarea microbiană și ribonucleazică (RNază) a tuturor reactivilor și consumabilelor. La utilizarea eprubetelor secundare, se recomandă folosirea pipetelor de transfer sterile de unică folosință, fără RNază, cu bariere de aerosoli. Utilizați câte o pipetă nouă pentru fiecare eșantion.
- Pentru a evita contaminarea nu manipulați și nu desfaceți niciun cartuș NeuMoDx Cartridge după amplificarea. În niciun caz nu recuperați cartușele NeuMoDx Cartridge din recipientul pentru deșeuri biopericuloase (NeuMoDx 288 Molecular System) sau din coșul de gunoi pentru deșeuri biopericuloase (NeuMoDx 96 Molecular System). NeuMoDx Cartridge este conceput pentru a preveni contaminarea.
- În cazurile în care testările PCR cu eprubete deschise sunt realizate, de asemenea, în laborator, aveți grijă să vă asigurați că NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip, consumabilele și reactivii suplimentari necesari pentru testare, echipamentul individual de protecție, precum mănuși și halate de laborator, precum și NeuMoDx System nu sunt contaminate.
- În timpul manipulării reactivilor și a consumabilelor NeuMoDx trebuie purtate mănuși curate din nitril, fără pulbere. Aveți grijă să nu atingeți suprafața superioară a NeuMoDx Cartridge, suprafața de etanșare cu folie a NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip și NeuMoDx Extraction Plate, ori suprafața superioară a recipientelor NeuMoDx Lysis Buffer; manipularea consumabilelor și a reactivilor trebuie efectuată doar prin atingerea suprafețelor laterale.
- Fișele cu date de securitate (Safety Data Sheet, SDS) sunt disponibile la www.qiagen.com/neumodx-ifu
- Spălați-vă bine pe mâini după efectuarea testării.
- Nu pipetați prin intermediul cavității bucale. Nu fumați, nu consumați băuturi sau alimente în zonele în care se manipulează eșantioane sau reactivi.
- Eliminați reactivii nefolosiți și deșeurile în conformitate cu reglementările naționale, federale, regionale, statale și locale.
- Instrumentele și procedurile de analiză reduc riscul contaminării cu produsul de amplificare. Cu toate acestea, contaminarea cu acid nucleic de la substanțele de control pozitive sau din eșantioane trebuie controlată prin bune practici de laborator.
- Bunele practici de laborator, inclusiv schimbarea mănușilor între manipulările eșantioanelor pacienților, se recomandă pentru evitarea contaminării.



DEPOZITAREA, MANIPULAREA ȘI STABILITATEA PRODUSULUI

- Bandelele NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip sunt stabile în ambalajul primar până la data de expirare menționată pe eticheta aplicată direct pe produs, dacă sunt depozitate la o temperatură cuprinsă între 4 și 28 °C.
- Nu utilizați consumabilele și reactivii după data de expirare menționată.
- Nu utilizați niciun produs de testare dacă ambalajul primar sau cel secundar a fost compromis vizual.
- Nu reîncărcați niciun produs de testare care a fost încărcat anterior pe un alt NeuMoDx System.
- Odată încărcată, NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip poate rămâne pe NeuMoDx System timp de 7 zile. Termenul de valabilitate rămas al bandelelor de testare încărcate este urmărit de software și raportat utilizatorului în timp real. Eliminarea unei bandelete de testare care a fost utilizată după perioada admisibilă va fi solicitată de sistem.

RECOLTAREA, TRANSPORTUL ȘI DEPOZITAREA EȘANTIOANELOR

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

Eșantioane nazofaringiene și nazale

Eșantioanele trebuie recoltate utilizând Copan UTM-RT System sau BD UVT System folosind tamponare poroase Nylon validate (consultați materialele nefurnizate). În plus, tamponare poroase, tamponare din poliester și Rayon sunt tipuri de tamponare acceptabile. Urmăriți instrucțiunile producătorului pentru recoltare, transport și depozitare furnizate în instrucțiunile de utilizare pentru Copan UTM-RT System/BD UVT System:

- După recoltare, eșantionul trebuie depozitat între 2 și 25 °C și procesat în decurs de 48 de ore.
- Dacă livrarea și procesarea depășesc 48 de ore, eșantioanele trebuie transportate în gheață carbonică și, după ce ajung în laborator, trebuie congelate la -70 °C sau o temperatură mai scăzută.

Eșantioane de salivă

Pentru instrucțiuni detaliate, consultați NeuMoDx Saliva Collection Kit; Nr.P. 40600441

Eșantioanele trebuie recoltate folosind NeuMoDx Saliva Collection Kit. Saliva recoltată este transferată din NeuMoDx Saliva collection vial în NeuMoDx Specimen Stabilization Tube utilizând pipeta de transfer pentru a stabili un raport de 1:1,67 salivă/SSB (v/v). Saliva și soluția tampon de stabilizare sunt temeinic, prin răsturnarea flaconului de 5-8 ori. Saliva stabilizată poate fi testată direct pe NeuMoDx System sau depozitată pentru testare ulterioară.

- Eșantioanele de salivă pot fi depozitate timp de până la 2 ore în condiții ambientale înainte de amestecarea cu NeuMoDx Stabilization Buffer (SSB).
- După amestecarea salivei cu soluția tampon de stabilizare, verificați volumul din eprubeta de stabilizare a eșantionului. Dacă volumul total este sub linia de umplere, adăugați apă ultrapură pentru a aduce volumul total la linia de umplere.

- Saliva stabilizată poate fi depozitată până la 24 de ore în condiții ambientale și până la 7 zile la 2-8 °C. Eșantionul trebuie lăsat să ajungă la temperatura camerei înainte de testare.
- Saliva stabilizată poate fi depozitată timp de 12 ore pe sistemele NeuMoDx Molecular System.
- Saliva stabilizată trebuie transportată pe acumulatori de gheață, apoi refrigerată la 2-8 °C dacă timpul dintre recoltare și procesare depășește 48 de ore.

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

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

Flux de lucru 1: DIRECT – eșantionul pe tampon în mediu de transport și saliva în soluția tampon de stabilizare sunt încărcate direct pe NeuMoDx System în eprubetele de recoltare primare sau în eprubetele pentru eșantioane secundare

-sau-

Flux de lucru 2: PRETRATAT – eșantioanele pe tampon în mediu de transport sunt pretratate cu NeuMoDx Viral Lysis Buffer înainte de încărcare pe NeuMoDx System în eprubeta de recoltare primară sau în eprubetele pentru eșantioane secundare

Pregătirea testării – Flux de lucru DIRECT pentru probe directe pe tampon și probe de salivă

Notă: Aduceți toate probele la temperatura camerei (15 până la 30 °C) înainte de procesare.

1. Aplicați eticheta cu cod de bare a eșantionului pe o eprubetă pentru eșantioane compatibilă cu NeuMoDx System, conform descrierii de la punctele 4 și 5 de mai jos.
2. Dacă efectuați testarea eșantionului în eprubeta primară de recoltare (eșantioane pe tampon) sau în eprubeta de stabilizare a eșantionului (eșantioane de salivă), amplasați eprubeta cu cod de bare într-un suport de eprubete pentru eșantioane și asigurați-vă că ați scos capacul și/sau tamponul înainte de încărcarea pe NeuMoDx System.
3. Alternativ, o parte alicotă din mediul de transport sau din saliva stabilizată poate fi transferată într-o eprubetă secundară etichetată cu cod de bare și introdusă într-un suport de eprubete pentru eșantioane, cu 32 de eprubete. Dacă utilizați o eprubetă secundară, transferați o parte alicotă din mediul de transport sau din saliva stabilizată în eprubeta pentru eșantioane marcată cu cod de bare compatibilă cu NeuMoDx System, în funcție de volumele definite mai jos:
4. *Pentru eșantioanele pe tampon:*
 - Suport de eprubete pentru eșantioane (32 de eprubete): diametru cuprins între 11 și 14 mm și înălțime cuprinsă între 60 și 120 mm; volumul minim de umplere ≥ 550 μl
 - Suport de eprubete pentru eșantioane (24 de eprubete): diametru cuprins între 14,5 și 18 mm și înălțime cuprinsă între 60 și 120 mm; volumul minim de umplere ≥ 1000 μl
 - Suport de eprubete cu volum redus pentru eșantioane (32 de eprubete): eprubetă de 1,5 ml cu fundul conic, pentru microcentrifugă; volumul minim de umplere ≥ 500 μl
5. *Pentru eșantioanele de salivă stabilizată:*
 - Suport de eprubete pentru eșantioane (32 de eprubete): diametru cuprins între 11 și 14 mm și înălțime cuprinsă între 60 și 120 mm; volumul minim de umplere ≥ 800 μl
 - Suport de eprubete cu volum redus pentru eșantioane (32 de eprubete): eprubetă de 1,5 ml cu fundul conic, pentru microcentrifugă; volumul minim de umplere ≥ 700 μl

Pregătirea testului - Flux de lucru PRETRATAT pentru probele pe tampon pretratate

Notă: Aduceți toate probele la temperatura camerei (15 până la 30 °C) înainte de procesare.

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

1. Pretratați mediul de transport al probei cu un volum 1:1 de NeuMoDx Viral Lysis Buffer. Acest lucru se poate efectua în eprubeta principală de recoltare pe tampon, dacă se cunoaște volumul de mediu de transport. Alternativ, pretratarea se poate efectua într-o eprubetă secundară, prin combinarea unei părți alicote din mediul de transport cu un volum egal de NeuMoDx Viral Lysis Buffer. Amestecul rezultat trebuie să îndeplinească cerințele de volum minim specificate mai jos.
2. Se amestecă ușor cu pipeta pentru a asigura distribuția uniformă a NeuMoDx Viral Lysis Buffer.
3. Dacă efectuați testarea eșantionului în eprubeta principală de recoltare, amplasați eprubeta cu cod de bare într-un suport de eprubete pentru eșantioane și asigurați-vă că ați scos capacul și tamponul înainte de încărcarea pe NeuMoDx System.

4. Dacă utilizați o eprubetă secundară, transferați o parte alicotă de lizat de mediu de transport în eprubeta pentru eșantioane marcată cu cod de bare compatibilă cu NeuMoDx System, în funcție de volumele definite mai jos:
 - Suport de eprubete pentru eșantioane (32 de eprubete): diametru cuprins între 11 și 14 mm și înălțime cuprinsă între 60 și 120 mm; volumul minim de umplere ≥ 550 μl
 - Suport de eprubete pentru eșantioane (24 de eprubete): diametru cuprins între 14,5 și 18 mm și înălțime cuprinsă între 60 și 120 mm; volumul minim de umplere ≥ 1000 μl
 - Suport de eprubete cu volum redus pentru eșantioane (32 de eprubete): eprubetă de 1,5 ml cu fundul conic, pentru microcentrifugă; volumul minim de umplere ≥ 500 μl

Utilizarea NeuMoDx System

Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx 288 și 96 Molecular System.

1. Încărcați comanda de testare pe NeuMoDx System în conformitate cu fluxul de lucru utilizat pentru pregătirea testării:
 - Probele pe tampon netratate și pure, preparate folosind fluxul de lucru DIRECT, sunt testate prin definirea probei ca „**Transport Medium**” (Mediu de transport)
 - Probele pe tampon pretratate folosind fluxul de lucru PRETRATAT sunt testate prin definirea eșantionului ca „**UserSpecified1**” (Specificat de utilizator 1)
 - Saliva stabilizată folosind fluxul de lucru DIRECT sunt testate prin definirea eșantionului ca „**UserSpecified2**” (Specificat de utilizator 2)
2. Populați unul sau mai multe suporturi Test Strip Carrier cu bandelele NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suporturilor Test Strip Carrier în NeuMoDx System.
3. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx System, adăugați consumabilele necesare pe instrument (cartușele NeuMoDx Cartridge, plăcile NeuMoDx Extraction Plate, NeuMoDx Lysis Buffer 2, NeuMoDx Lysis Buffer 3, vârfulurile CO-RE) pe suporturile de consumabile ale NeuMoDx System și utilizați ecranul tactil pentru a încărca suportul (suporturile) în NeuMoDx System, după caz.
4. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx System, înlocuiți NeuMoDx Wash Reagent și/sau NeuMoDx Release Reagent, după caz.
5. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx System, goliți deșeurile de amorsare, recipientul pentru deșeuri biopericuloase (doar pentru NeuMoDx 288 Molecular System), coșul de gunoi pentru aruncarea vârfulurilor (doar pentru NeuMoDx 96 Molecular System) sau coșul de gunoi pentru deșeuri biopericuloase (doar pentru NeuMoDx 96 Molecular System), după caz.
6. Încărcați eșantionul (eșantioanele) într-un suport de eprubete pentru eșantioane și asigurați-vă că ați scos capacele din toate eprubetele.
7. Amplasați suportul (suporturile) de eprubete pentru eșantioane pe raftul încărcătorului automat și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suportului (suporturilor) în NeuMoDx System. Această acțiune va iniția procesarea eșantioanelor încărcate pentru testările identificate, cu condiția ca în sistem să existe o comandă de testare validă.

LIMITĂRI

- NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a fost evaluat doar pentru utilizarea pe sisteme NeuMoDx Molecular System.
- NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a fost conceput pentru detectarea ARN-ului SARS-CoV-2 în probele pe tampon nazofaringiene, orofaringiene și nazale, recoltate cu Copan UTM-RT System (UTM-RT) sau BD Universal Viral Transport System (UVT) sau în probele de salivă recoltate utilizând NeuMoDx Saliva Collection Kit. Utilizarea NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay cu alte tipuri de probe nu a fost evaluată, iar caracteristicile de performanță nu sunt cunoscute.
- Rezultatele fiabile depind de recoltarea, manipularea și depozitarea corespunzătoare a eșantioanelor.
- Tamponurile nazale și tamponurile nazale din cornetul nazal mijlociu și eșantioanele de lavaj bronho-alveolar sunt considerate tipuri acceptabile de eșantioane pentru utilizarea cu NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, dar performanța cu aceste tipuri de eșantioane nu a fost stabilită. Testarea tamponurilor nazale și a tamponurilor nazale din cornetul nazal mijlociu (auto-recoltate sub supraveghere sau recoltate de un furnizor de servicii medicale) este limitată la pacienții cu simptome de COVID-19.
- Pentru testarea eșantioanelor de salivă, NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay este destinat utilizării numai cu NeuMoDx Saliva Collection kit.
- Rezultatele eronate pot apărea din recoltarea, manipularea și depozitarea inadecvate ale eșantioanelor, din erori tehnice sau din încurcarea eprubetelor pentru eșantioane. Volumul incorect de salivă în eprubeta de stabilizare a eșantionului poate reduce sensibilitatea testului. În plus, pot apărea rezultate fals negative din cauză că numărul de particule virale din probă este sub limita de detecție a NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay.
- Dacă țintele SARS-CoV-2 și ținta SPC2 nu se amplifică, va fi raportat un rezultat nevalid (Indeterminate (Neconcludent), No Results (Niciun rezultat) sau Unresolved (Nerezolvat)), iar testarea trebuie repetată.
- Delețiile sau mutațiile din regiunile vizate de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay pot afecta detecția și pot duce la un rezultat eronat.
- Prezența pastei de dinți Crest® Pro-Health Advanced Gum Protection în eșantioanele de salivă poate interfera cu detectarea ARN-ului de SARS-CoV-2 și ar putea genera un rezultat eronat.
- Un rezultat pozitiv indică prezența ARN-ului de SARS-CoV-2, dar nu indică neapărat prezența formei infecțioase a SARS-CoV-2.
- Rezultatele negative nu exclud infecția cu virusul SARS-CoV-2 și nu trebuie să fie utilizate ca unică bază pentru tratarea/gestionarea pacienților sau pentru luarea unei decizii privind sănătatea publică.

- Rezultatele obținute din NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay trebuie utilizate ca anexe la observațiile clinice și la alte informații disponibile medicului.
- Bunele practici de laborator, inclusiv schimbarea mănușilor între manipulările eșantioanelor pacienților, se recomandă pentru evitarea contaminării.

REZULTATE

Rezultatele disponibile ale testării pot fi vizualizate sau tipărite din fila „Results” (Rezultate) în fereastra Results (Rezultate) pe ecranul tactil al NeuMoDx System. Un rezultat al testării este numit Positive (Pozitiv) (POS), Negative (Negativ) (NEG), Indeterminate (Neconcludent) (IND), No Results (Niciun rezultat) (NR) sau Unresolved (Nerezolvat) (UNR) în funcție de stadiul de amplificare al țintei și al substanței de control pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC2).

Criteriile pentru un rezultat pozitiv sau negativ sunt specificate în fișierul de definiție a testului (Assay Definition File, ADF) NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, așa cum este acesta instalat în NeuMoDx System. Rezultatele pentru eșantioanele pe tampon și eșantioanele de salivă sunt raportate pe baza algoritmului de decizie ADF, sintetizate în *Tabelele 1 și, respectiv, 2* de mai jos.

Toate substanțele de control de testare trebuie examinate înainte de interpretarea rezultatelor pacientului. Dacă substanțele de control nu sunt valide, rezultatele pacientului nu pot fi interpretate.

Tabelul 1. Interpretarea rezultatelor NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

REZULTAT GLOBAL	ȚINTA 1 (gena Nsp2) FAM	ȚINTA 2 (gena N) HEX	SUBSTANȚĂ DE CONTROL PENTRU PROCESARE (SAMPLE PROCESS CONTROL, SPC2) lumină roșie îndepărtată	Interpretare
POSITIVE (POZITIV)	AMPLIFIED (AMPLIFICAT) [5 ≤ Ct < 20 AND (ȘI) EPR ≥ 1.2 AND (ȘI) EP ≥ 700] OR (SAU) (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (ȘI) EP ≥ 700)	Nu se aplică	Nu se aplică	ARN SARS-CoV-2 detectat**
	Nu se aplică	AMPLIFIED (AMPLIFICAT) (5 ≤ Ct < 20 AND (ȘI) EPR ≥ 1.5) AND (ȘI) EP ≥ 1000] OR (SAU) (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (ȘI) EP > 1000)		
NEGATIVE (NEGATIV)	NOT AMPLIFIED (NEAMPLIFICAT) Nu se aplică OR (SAU) (5 ≤ Ct < 20 AND (ȘI) EPR < 1.2) OR (SAU) (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (ȘI) EP < 700) OR (SAU) (Ct > 40)	NOT AMPLIFIED (NEAMPLIFICAT) Nu se aplică OR (SAU) (5 ≤ Ct < 20 AND (ȘI) EPR < 1.5) OR (SAU) (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (ȘI) EP < 1000) OR (SAU) (Ct > 40)	AMPLIFIED (AMPLIFICAT) (24 ≤ Ct ≤ 33 AND (ȘI) EP ≥ 1000)	ARN SARS-CoV-2 nedetectat
IND*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Completed (NEAMPLIFICAT/Erori de sistem detectate, Procesarea probelor finalizată)			Toate rezultatele țintei au fost nevalide; retestați proba
NR*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Aborted (NEAMPLIFICAT/Erori de sistem detectate, Procesarea probelor abandonată)			Procesarea probei a fost abandonată; retestați proba
UNR*	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (NEAMPLIFICAT/Nu s-au observat erori de sistem)			Toate rezultatele țintei au fost nevalide; retestați proba

*Sistemul este echipat cu funcția automată Rerun/Repeat (Repetarea execuției/Repetare) pe care utilizatorul final poate alege să o utilizeze pentru a se asigura că un rezultat IND/NR/UNR (NECONCLUDENT/NICIUN REZULTAT/NEREZOLVAT) este reprocesat automat pentru a reduce la minimum întârzierile în raportarea rezultatelor.

**Testarea poate fi repetată, dacă se dorește, în cazul în care doar una dintre cele două ținte SARS-CoV-2 este amplificată.

Tabelul 2. Interpretarea rezultatelor NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay – eșantioane de salivă

REZULTAT GLOBAL	ȚINTA 1 (gena Nsp2) FAM	ȚINTA 2 (gena N) HEX	SUBSTANȚĂ DE CONTROL PENTRU PROCESARE (SAMPLE PROCESS CONTROL, SPC2) lumină roșie îndepărtată	Interpretare
POSITIVE (POZITIV)	AMPLIFIED (AMPLIFICAT) [5 ≤ Ct < 28 AND (ȘI) EP ≥ 600 AND (ȘI) EPR > 1.2] OR (SAU) [28 ≤ Ct ≤ 40 AND (ȘI) EP ≥ 600]	Nu se aplică	Nu se aplică	ARN SARS-CoV-2 detectat**
	Nu se aplică	AMPLIFIED (AMPLIFICAT) [5 ≤ Ct < 28 AND (ȘI) EP ≥ 675 AND (ȘI) EPR > 1.2] OR (SAU) [28 ≤ Ct ≤ 40 AND (ȘI) EP ≥ 675]		
NEGATIVE (NEGATIV)	NOT AMPLIFIED (NEAMPLIFICAT) Nu se aplică OR (SAU) [5 ≤ Ct < 28 AND (ȘI) EPR ≤ 1.2] OR (SAU) [28 ≤ Ct ≤ 42 AND (ȘI) EP < 600] OR (SAU) [Ct > 40]	NOT AMPLIFIED (NEAMPLIFICAT) Nu se aplică OR (SAU) [5 ≤ Ct < 28 AND (ȘI) EPR ≤ 1.2] OR (SAU) [28 ≤ Ct ≤ 42 AND (ȘI) EP < 675] OR (SAU) [Ct > 40]	AMPLIFIED (AMPLIFICAT) (24 ≤ Ct ≤ 33 AND (ȘI) EP ≥ 1000)	ARN SARS-CoV-2 nedetectat
IND*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Completed (NEAMPLIFICAT/Erori de sistem detectate, Procesarea probelor finalizată)			Toate rezultatele țintei au fost nevalide; retestați proba
NR*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Aborted (NEAMPLIFICAT/Erori de sistem detectate, Procesarea probelor abandonată)			Procesarea probei a fost abandonată; retestați proba
UNR*	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (NEAMPLIFICAT/Nu s-au observat erori de sistem)			Toate rezultatele țintei au fost nevalide; retestați proba

*Sistemul este echipat cu funcția automată Rerun/Repeat (Repetarea execuției/Repetare) pe care utilizatorul final poate alege să o utilizeze pentru a se asigura că un rezultat IND/NR/UNR (NECONCLUDENT/NICIUN REZULTAT/NEREZOLVAT) este reprocesat automat pentru a reduce la minimum întârzierile în raportarea rezultatelor.

**Testarea poate fi repetată, dacă se dorește, în cazul în care doar una dintre cele două ținte SARS-CoV-2 este amplificată.

Un rezultat pozitiv poate fi raportat pentru probele care obțin o stare de amplificare diferențială, astfel încât doar una dintre ținte – ținta 1 (gena Nsp2) sau ținta 2 (gena N) – se amplifică. Acest lucru poate apărea din cauza 1) unei probe la concentrații aproape de sau sub limita de detecție a testării, 2) unei mutații în una din regiunile țintă sau 3) altor factori. În cazul unei testări pozitive, în care se amplifică doar una dintre ținte, poate fi luată în considerare repetarea testării, dacă substanța de control SPC2 este negativă. Dacă rezultatul repetat rămâne același, trebuie efectuată o testare de confirmare suplimentară, dacă acest lucru este indicat din punct de vedere clinic.

Rezultate nevalide

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

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

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

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

Controlul calității

Laboratoarele sunt responsabile pentru instituirea procedurilor de control care monitorizează acuratețea și precizia procesului analitic complet și trebuie să stabilească numărul, tipul și frecvența testării materialelor de control.

1. Materialele de control nu sunt furnizate împreună cu NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. Cu toate acestea, următoarele materiale de control au fost validate de NeuMoDx și sunt recomandate. Substanțele de control trebuie să îndeplinească aceleași specificații de volum minim ca probele clinice specificate mai sus, pe baza dimensiunii suportului de eprubete pentru eșantioane.

Pentru eșantioanele pe tampon sunt recomandate următoarele substanțe de control

- Substanță de control pozitivă:
 - ARN genomic SARS-CoV-2 purificat (nr. cat. VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, USA) la concentrația finală de 5E3 cp/ml
 - SARS-CoV-2 inactivat termic (nr. cat VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, USA) la concentrația finală de 5E3 cp/ml
 - 5 ml de NATtrol™ SARS-CoV-2 (recombinant) Stock (conține numai gena N, nr. catalog 0831042, ZeptoMetrix, Buffalo, NY, USA) în 1 ml de mediu BD UVT.
- Substanță de control negativă: Medii Copan/BD UVT sau echivalente.

Pentru eșantioanele de salivă sunt recomandate următoarele substanțe de control

Substanță de control pozitivă: Diluați oricare dintre următoarele materiale într-un amestec de apă ultrapură și SSB la un raport de 1:1,67 apă/SSB (v/v):

- ARN genomic SARS-CoV-2 purificat (nr. cat. VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, USA) la concentrația finală de 5E3 cp/ml
- SARS-CoV-2 inactivat termic (nr. cat VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, USA) la concentrația finală de 5E3 cp/ml
- NATtrol™ SARS-CoV-2 (Recombinant) Stock (conține doar gena N, nr. cat. 0831042, Zeptomatrix, Buffalo, NY, SUA) la o diluție 1:20.

Substanță de control negativă: 0,6 ml de apă ultrapură adăugați în 1 ml de soluție tampon de stabilizare a salivei (saliva stabilization buffer, SSB) sau la un raport de 1:1,67 apă/SSB (v/v).

2. Se recomandă ca utilizatorii să proceseze un set de substanțe de control pozitive și negative la fiecare 24 de ore și înainte de procesarea probelor de la pacienți.
3. La procesarea substanțelor de control, amplasați substanțele de control etichetate într-un suport de eprubete pentru eșantioane și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suportului în NeuMoDx System din raftul încărcătorului automat. Odată definite, NeuMoDx System va recunoaște codurile de bare și va începe procesarea substanțelor de control.
4. Soluțiile de amorsare și sonda specifice pentru substanța de control pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC2) sunt incluse în fiecare bandetă NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip. Această substanță de control pentru procesarea probei îi permite NeuMoDx System să monitorizeze eficacitatea proceselor de extracție ARN și amplificare RT-PCR.
5. Înainte de RT-PCR, NeuMoDx System efectuează automat „FILL CHECK” (VERIFICAREA UMPLERII) pentru a se asigura că camera PCR este umplută cu soluție și conține o cantitate adecvată de sondă fluorescentă.
6. Software-ul NeuMoDx System monitorizează continuu senzorii și mecanismele de acționare de pe instrument pentru a asigura o funcționare sigură și eficientă a sistemului.

7. Modulurile de recuperare a erorilor fluidice multiple sunt implementate prin monitorizarea activă a operațiunilor de aspirare și de distribuire pentru a se asigura faptul că sistemul poate procesa complet toate probele într-un mod sigur și eficient, sau poate furniza un cod de eroare adecvat.
8. NeuMoDx System este echipat cu funcția automată Rerun/Repeat (Repetarea execuției/Repetare) pe care utilizatorul final poate alege să o utilizeze pentru a se asigura că un rezultat INVALID (NEVALID) este reprocesat automat pentru a reduce la minimum întârzierile în raportarea rezultatelor.
9. Un rezultat pozitiv al testării raportat pentru o probă cu substanță de control negativă poate indica o problemă de contaminare a eșantionului. Consultați Manualul de operare NeuMoDx 288 sau 96 Molecular System pentru sfaturi privind remediarea problemelor.
10. Un rezultat negativ raportat pentru o probă cu substanță de control pozitivă poate indica faptul că există o problemă legată de reactiv sau de NeuMoDx System. Consultați Manualul de operare NeuMoDx 288 sau 96 Molecular System pentru sfaturi privind remediarea problemelor.

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ

Sensibilitate analitică – probe de tampon nazofaringian

Limita de detecție (Limit of Detection, LoD) a NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a fost determinată prin testarea unei serii de diluții a probelor clinice negative pe tampon nazofaringian comasate (tampon poros Nylon recoltat în UTM [Copan Diagnostic Inc, CA] sau UVT [BD, NJ]) îmbogățite cu ARN genomic SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) și procesate cu ajutorul fluxului de lucru DIRECT și al fluxului de lucru PRETRATAT. Cel puțin douăzeci de replicare din fiecare diluție au fost evaluate pe ambele sisteme NeuMoDx System, pentru fiecare flux de lucru. LoD a fost determinată a fi **150 copii/ml**.

Tabelul 3. Rata de detecție și limita de detecție pentru SARS-CoV-2 pe NeuMoDx 96 Molecular System: Flux de lucru Pretrat

LoD SARS-CoV-2: N96, Flux de lucru pretrat								
Nivel țintă	Rezultate valide	Pozitiv la gena Nsp2		Rată de detecție gena Nsp2	Genă N Positive (Pozitiv)		Rată de detecție gena N	Rată de amplificare a ambelor ținte
		n	Ct mediu		n	Ct mediu		
250 cp/ml	22	22	31,7	100%	22	30,9	100%	100%
150 cp/ml	20	20	31,5	100%	20	31,0	100%	100%
50 cp/ml	24	0	nu se aplică	0%	22	31,8	91,7%	0%
Negative (Negativ)	30	nu se aplică		0%	0	nu se aplică	0%	0%

N96 LoD: 150 cp/ml [cel mai mic nivel al țintei, care demonstrează o rată de detecție > 95% a ambelor ținte]

Tabelul 4. Rata de detecție și limita de detecție pentru SARS-CoV-2 pe NeuMoDx 288 Molecular System: Flux de lucru Pretrat

LoD SARS-CoV-2: N288, Flux de lucru pretrat								
Nivel țintă	Rezultate valide	Gena Nsp2 Positive (Pozitiv)		Rată de detecție gena Nsp2	Genă N Positive (Pozitiv)		Rată de detecție gena N	Rată de amplificare a ambelor ținte
		n	Ct mediu		n	Ct mediu		
250 cp/ml	21	21	32,1	100%	21	31,4	100%	100%
150 cp/ml	26	26	31,7	100%	26	31,2	100%	100%
50 cp/ml	21	11	32,2	52,4%	20	32,2	95,2%	52,4%
Negative (Negativ)	20	0	nu se aplică	0%	0	nu se aplică	0%	0%

N288 LoD: 150 cp/ml [cel mai mic nivel al țintei, care demonstrează o rată de detecție > 95% a ambelor ținte]

Tabelul 5. Rata de detecție și limita de detecție pentru SARS-CoV-2 pe NeuMoDx 96 Molecular System: Flux de lucru Direct

LoD SARS-CoV-2: N96, Flux de lucru direct								
Nivel țintă	Rezultate valide	Gena Nsp2 Positive (Pozitiv)		Rată de detecție gena Nsp2	Genă N Positive (Pozitiv)		Rată de detecție gena N	Rată de amplificare a ambelor ținte
		n	Ct mediu		n	Ct mediu		
400 cp/ml	24	23*	32,4	95,8%	24	31,1	100,0%	95,8%
250 cp/ml	24	24	33,0	100,0%	24	31,7	100,0%	100,0%
150 cp/ml	24	24	33,4	100,0%	24	32,4	100,0%	100,0%
50 cp/ml	24	12	32,6	50,0%	18	32,8	75,0%	41,7%**
Negative (Negativ)	22	0		0%	0		0%	0%

N96 LoD: 150 cp/ml [cel mai mic nivel al țintei, care demonstrează o rată de detecție > 95% a ambelor ținte]

*Această probă a prezentat, în plus, o amplificare SPC2 slabă, și s-a crezut că lipsa amplificării este un artefact al procesării de către sistem. Această presupunere este susținută de o rată de detecție de 100% la aceeași concentrație a țintei în RPT-8505B (Evaluare clinică). În plus, pentru acest studiu, s-a obținut o rată de detecție de 100% la concentrațiile mai mici, de 250 cp/ml și 150 cp/ml.

**Pentru zece din 24 de probe s-au detectat ambele ținte la 50 cp/ml, pentru o rată generală a pozitivității de 41,7%.

Tabelul 6. Rata de detecție și limita de detecție pentru SARS-CoV-2 pe NeuMoDx 288 Molecular System: Flux de lucru Direct

LoD SARS-CoV-2: N288, Flux de lucru direct								
Nivel țintă	Rezultate valide	Gena Nsp2 Positive (Pozitiv)		Rată de detecție gena Nsp2	Genă N Positive (Pozitiv)		Rată de detecție gena N	Rată de amplificare a ambelor ținte
		n	Ct mediu		n	Ct mediu		
400 cp/ml	24	24	32,8	100,0%	24	31,7	100,0%	100,0%
250 cp/ml	24	24	33,0	100,0%	24	32,0	100,0%	100,0%
150 cp/ml	22	21	33,5	95,5%	22	32,4	100,0%	95,5%
50 cp/ml	24	20	34,3	83,3%	24	33,4	100,0%	83,3%
Negative (Negativ)	24	0		0,0%	0		0,0%	0,0%

N288 LoD: 150 cp/ml [cel mai mic nivel al țintei, care demonstrează o rată de detecție > 95% a ambelor ținte]

Sensibilitate analitică – probe de salivă

Limita de detecție (Limit of Detection, LoD) a NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay utilizând probe de salivă a fost evaluată prin testarea unei serii de diluții ale probelor de salivă negative comasate (amestecate cu NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer la raportul 1:1,67 salivă-soluție tampon) îmbogățite cu virusul SARS-CoV-2 iradiat γ (BEI Resources NR-52287) sau cu ARN genomic SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) și procesate folosind fluxul de lucru Direct. Cel puțin cinci replicare la fiecare diluție au fost evaluate în jurul valorii LoD preconizate, acțiune urmată de procesarea pentru confirma a cel puțin douăzeci de replicare la nivelurile cele mai scăzute care au generat numai rezultate pozitive. LoD pentru ARN-ul genomic și virusul iradiat γ au fost determinate a fi de **50 copii/ml** și, respectiv, **0,0075 TCID₅₀/ml**.

Tabelul 7. Rate de detecție și limita de detecție preliminară la SARS-CoV-2 iradiat γ

LoD SARS-CoV-2; Virusul SARS-CoV-2 iradiat γ								
Nivel țintă	Rezultate valide	Gena Nsp2 Positive (Pozitiv)		Rată de detecție gena Nsp2	Genă N Positive (Pozitiv)		Rată de detecție gena N	Rată de amplificare a ambelor ținte
		N	Ct mediu		n	Ct mediu		
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%*
LoD preliminară – virusul iradiat γ: 0.005 TCID50/ml [cel mai mic nivel al țintei, care demonstrează o rată de detecție > 95% a ambelor ținte]								
*Pentru trei din zece (3/10) probe s-au detectat ambele ținte la 0,0025 TCID50/ml, pentru o rată generală a pozitivității de 30%								

Tabelul 8. Rate de detecție și limita de detecție preliminară la ARNg de SARS-CoV-2

LoD SARS-CoV-2; ARN genomic SARS-CoV-2								
Nivel țintă	Rezultate valide	Gena Nsp2 Positive (Pozitiv)		Rată de detecție gena Nsp2	Genă N Positive (Pozitiv)		Rată de detecție gena N	Rată de amplificare a ambelor ținte
		N	Ct mediu		n	Ct mediu		
100 cp/ml	5	5	32,7	100%	5	31,8	100%	100%
50 cp/ml	5	5	33,3	100%	5	32,5	100%	100%
40 cp/ml	10	6	34,4	60%	9	33,1	90%	60%*
25 cp/ml	10	4	34,1	40%	9	33,0	90%	40%**
LoD preliminară – ARNg: 50 cp/ml [cel mai mic nivel al țintei, care demonstrează o rată de detecție > 95% a ambelor ținte]								
*Pentru șase din zece (6/10) probe s-au detectat ambele ținte la 40 cp/ml, pentru o rată generală a pozitivității de 60%								
**Pentru patru din zece (4/10) probe s-au detectat ambele ținte la 25 cp/ml, pentru o rată generală a pozitivității de 40%								

Tabelul 9. Rate de detecție și confirmarea limitei de detecție la SARS-CoV-2 iradiat γ

LoD SARS-CoV-2; Virusul SARS-CoV-2 iradiat γ									
Sistem	Nivel țintă	Rezultate valide	Gena Nsp2 Positive (Pozitiv)		Rată de detecție gena Nsp2	Genă N Positive (Pozitiv)		Rată de detecție gena N	Rată de amplificare a ambelor ținte
			N	Ct mediu		n	Ct mediu		
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%**
N288 LoD: 0.0075 TCID50/ml [cel mai mic nivel al țintei, care demonstrează o rată de detecție > 95% a ambelor ținte]									
N96 LoD: 0.0075 TCID50/ml [cel mai mic nivel al țintei, care demonstrează o rată de detecție > 95% a ambelor ținte]									
*Pentru șaptesprezece (17) din douăzeci (20) de probe s-au detectat ambele ținte la N288, pentru o rată generală a pozitivității de 85%									
**Pentru treisprezece (13) din douăzeci (20) de probe s-au detectat ambele ținte la N96, pentru o rată generală a pozitivității de 65%									

Tabelul 10. Rate de detecție și confirmarea limitei de detecție la ARNg SARS-CoV-2

LoD SARS-CoV-2; ARN genomic SARS-CoV-2									
Sistem	Nivel țintă	Rezultate valide	Gena Nsp2 Positive (Pozitiv)		Rată de detecție gena Nsp2	Genă N Positive (Pozitiv)		Rată de detecție gena N	Rată de amplificare a ambelor ținte
			N	Ct mediu		n	Ct mediu		
N288	50 cp/ml	20	20	34,4	100%	20	33,9	100%	100%
N96	50 cp/ml	20	19	33,9	95%	19	33,8	95%	95%*
N288 LoD: 50 cp/ml [cel mai mic nivel al țintei, care demonstrează o rată de detecție > 95% a ambelor ținte] N96 LoD: 50 cp/ml [cel mai mic nivel al țintei, care demonstrează o rată de detecție > 95% a ambelor ținte]									
*Pentru nouăsprezece (19) din douăzeci (20) de probe s-au detectat ambele ținte la N96, pentru o rată generală a pozitivității de 95%									

Inclusivitate

Inclusivitatea NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a fost evaluată prin analiză *in silico*, prin maparea soluțiilor de amorsare și sondelor testului la toate secvențele SARS-CoV-2 disponibile (n = 96) în baza de date NCBI începând cu 14 martie 2020. Regiunile din soluțiile de amorsare și sondele testării au fost comparate prin analiză *in silico* pentru a verifica omologia secvențelor cu tulpinile de SARS-CoV-2 în circulație. NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a avut omologie de 100% la toate secvențele, cu excepția uneia, pentru gena Nsp2 (ținta 1). S-a descoperit că o secvență are o singură nepotrivire a nucleotidelor în soluția de amorsare directă, fără niciun impact preconizat asupra performanței analizei. S-a constatat că omologia dintre soluțiile de amorsare ale genei N (Ținta 2) și sondă a fost de 100% pentru toate secvențele disponibile.

Reactivitate încrucișată/Interferență microbiană

NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a fost evaluat *in silico* pentru posibile reacții încrucișate cu microorganismele prezentate în Tabelul 11 prin maparea individuală a soluțiilor de amorsare și a sondelor NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay la secvențele din baza de date NCBI. Niciuna dintre secvențele analizate nu a prezentat omologie pentru soluțiile de amorsare sau sonda genei Nsp2 (Ținta 1). *Haemophilus influenzae* (CP000672.1) a prezentat omologie cu soluția de amorsare directă a genei N (Ținta 2), dar nu a avut omologie semnificativă cu soluția de amorsare și sonda inversă. În mod similar, coronavirusul SARS (AY345986.1) a prezentat omologie pentru soluția de amorsare directă și sonda genei N, dar nu a existat o omologie semnificativă pentru soluția de amorsare inversă. *Pseudomonas aeruginosa* (CP000438.1) a prezentat omologia pentru soluția de amorsare SPC2 directă, dar nu și pentru vreuna dintre țintele SARS-CoV-2. Prin urmare, analiza *in silico* nu a prezentat nicio reactivitate încrucișată probabilă față de niciuna dintre secvențele evaluate. S-a efectuat testarea ulterioară în mediu lichid, pentru a confirma faptul că *H. influenzae* și *P. aeruginosa* nu prezintă niciun risc de reactivitate încrucișată sau de interferență microbiană; rezultatele acestora sunt prezentate în Tabelele 12 și 13.

Tabelul 11. Analiză *In Silico* pentru organisme cu reactivitate încrucișată

Organism	Număr (numere) de accesare NCBI GenBank	Organism	Număr (numere) de accesare NCBI GenBank
Coronavirus uman 229E	KF514433.1	Gripă de tip B	MK969560.1
	KF514432.1	Enterovirus	JF896312.1
Coronavirus uman OC43	KX344031.1	Virus sincițial respirator	JN032120.1
	KF530099.1	Rinovirus	NC_001490.1
Coronavirus uman HKU1	KF430201.1	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	NZ_LN847241.1
	MH940245.1	<i>Haemophilus influenzae</i>	CP000672.1
Coronavirus uman NL63	KF530114.1	<i>Legionella pneumophila</i>	CP015928.1
	KF530113.1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	AP018036.1
Coronavirus SARS	AY686863.1	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	CP027540.1
		<i>Streptococcus pyogenes</i>	AE009949.1
Coronavirus MERS	MH013216.1	<i>Bordetella pertussis</i>	CP011448.1
Adenovirus	AC_000017.1	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	CP039772.1
Metapneumovirus uman (hMPV)	KJ627437.1	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	MH010446.1
Virus paragripal 1	KX639498.1	<i>Candida albicans</i>	NC_018046.1
Virus paragripal 2	KM190939.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CP000438.1
Virus paragripal 3	KF530243.1	<i>Staphylococcus epidermis</i>	KY750253.1
Virus paragripal 4	KF483663.1	<i>Streptococcus salivarius</i>	CP020451.2
Gripă de tip A	MH798556.1		

Tabelul 12. Testarea pentru reactivitate încrucișată și interferență pentru *H. Influenzae*

PROBĂ		Rezultate valide	Nr. Pozitiv Genă N	% pozitive la gena N (galben)	Ct mediu gena N	Nr. pozitive la gena Nsp2	% pozitive la gena Nsp2 (verde)	Ct mediu gena Nsp2	SPC2 Ct mediu
Reactivitate încrucișată	UVT pur (substanță de control negativă)	3	0	0%	Nu se aplică	0	0%	Nu se aplică	27,7
	UVT+ <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 UFC/ml)	3	0	0%	Nu se aplică	0	0%	Nu se aplică	28,3
Interferență	UVT pur + ARN-ul virusului SARS-CoV-2 (750 copii/ml) (Substanță de control pozitivă)	3	3	100%	32,03	3	100%	34,05	27,8
	UVT+ <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 UFC/ml) + ARN-ul virusului SARS-CoV-2 (750 copii/ml)	3	3	100%	32,45	3	100%	33,98	27,7

Tabelul 13. Testarea pentru reactivitate încrucișată și interferență pentru *P. aeruginosa*

PROBĂ		Rezultate valide	Genă N (HEX)			Genă Nsp2 (FAM)			SPC2 (Lumină roșie îndepărtată)
			Poz	% poz	Ct mediu	Poz	% poz	Ct mediu	Ct mediu
Reactivitate încrucișată	UVT+ <i>P. aeruginosa</i> (1 ⁶ UFC/ml)	3	0	0%	Nu se aplică	0	0%	Nu se aplică	27,5
Interferență	Substanță de control UVT pur	3	3	100%	30,3	3	100%	32,0	26,9
	Positive (Pozitiv)								
	UVT + <i>P. aeruginosa</i> (1 ⁶ UFC/ml) + ARN SARS-CoV-2 (450 copii/ml)	3	3	100%	30,4	3	100%	32,0	27,0

Substanțe de interferență – probe pe tampon nazofaringian

NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a fost evaluat pentru susceptibilitate la interferențe cauzate de substanțe potențial asociate cu recoltarea de eșantioane pe tampon nazofaringian. Eșantioanele clinice negative reziduale pe tampon nazofaringian au fost îmbogățite cu ARN genomic SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) la 5X LoD și procesate în prezența și absența agenților prezentați mai jos, în *Tabelul 14*. Nicio substanță inclusă în testare nu a avut un efect negativ asupra performanței analizei.

Tabelul 14. Substanțe testate pentru interferență

	Substanță	Concentrație*
Endogenă	Mucină	0,5% (m/v)
	Sânge	2% (v/v)
Exogenă	Afrin® Original (oximetazolină)	15% (v/v)
	Zicam® Cold Remedy Nasal Spray	5% (v/v)
	Flonase® Allergy Relief (fluticazonă)	5% (v/v)
	Beclometazonă	10 mg/ml
	Mupirocin	11,4 mg/ml
	Relenza® (zanamivir)	5,25 mg/ml
	Tamiflu® (oseltamivir)	7,5 mg/ml
Tobramycin	1,8 mg/ml	

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

Substanțe de interferență – probe de salivă

NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a fost evaluat pentru susceptibilitate la interferențe cauzate de substanțe potențial asociate cu recoltarea de eșantioane de salivă. Saliva comasată negativă a fost îmbogățită cu virusul SARS-CoV-2 iradiat γ (BEI Resources NR-52287) la 10X LoD, pregătită cu NeuMoDx Saliva Collection Kit și procesată în prezența și în absența agenților indicați mai jos în *Tabelul 15*. Nicio substanță inclusă în testare nu a avut un efect negativ asupra performanței analizei la concentrațiile date.

Tabelul 15. Substanțe testate pentru interferență – probe de salivă

	Substanță	Concentrație
Endogenă	Sânge integral	1% v/v
	Altoids™ (mentă)	2% m/v
Exogenă	Aspirin™	1% m/v
	Apă de gură antiseptică LISTERINE® Ultra-clean	1% v/v
	Bomboane de tuse Halls™ (mentă-eucalipt)	1% m/v
	Crest Pro-Health Advanced Gum Protection	0,001% m/v*
	Siroop de tuse Wal-Tussin® DM Max	1% v/v

*Concentrația acestei substanțe este raportată ca rezultat al unui studiu de răspuns la doză de la 0,1%, unde s-a demonstrat a fi inhibitoare.

Reproductibilitate

Reproductibilitatea în laborator a NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a fost verificată prin analiza retrospectivă a performanței utilizând probe clinice negative și probe clinice pozitive recoltate pe tampon nazofaringian. Datele sintetizate în *Tabelele 16a-c* reprezintă testarea efectuată de mai mulți operatori pe două instrumente pe parcursul unei perioade de trei zile. Sunt reprezentate rezultatele probelor preparate atât cu fluxul de lucru DIRECT, cât și cu fluxul de lucru PRETRATAT.

Tabelul 16a. Reproductibilitate globală și precizia NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Nivel SARS-CoV-2 (cp/ml)	N	Țintă N			Țintă Nsp2			SPC2		
		% Pozitiv	Ct mediu	Ct %CV	% Pozitiv	Ct mediu	Ct %CV	% Pozitiv	Ct mediu	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%	Nu se aplică	Nu se aplică	0%	Nu se aplică	Nu se aplică	100%	27,5	2,6%

Tabelul 16b. Reproductibilitatea și precizia NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Țintă	Nivel (cp/ml)	NeuMoDx 288 Molecular System				NeuMoDx 96 Molecular System			
		N	% Pozitiv	Ct mediu	Ct %CV	N	% Pozitiv	Ct mediu	Ct %CV
Țintă 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%
Țintă 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%

Tabelul 16c. Reproducibilitate globală și precizia NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Țintă	Nivel (cp/ml)	Flux de lucru DIRECT				Flux de lucru PRETRATAT			
		N	% Pozitiv	Ct mediu	Ct %CV	N	% Pozitiv	Ct mediu	Ct %CV
Țintă 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%
Țintă 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%

Performanța clinică
a. Testarea eșantioanelor recoltate – probe pe tampon nazofaringian

Performanța NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay cu probe clinice reziduale pe tampon nazofaringian (tampon poros Nylon recoltat în UTM [Copan Diagnostic Inc, CA] sau UVT [BD, NJ]) a fost evaluată folosind un grup de 82 de probe clinice negative și 87 de probe clinice pozitive recoltate, transmise anterior pentru testarea pentru virusul gripal și/sau virusul sincițial respirator la pacienți cu semne și simptome de infecție a tractului respirator superior. Probele pozitive recoltate au fost preparate prin îmbogățirea ARN-ului genomic SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) în probe clinice negative. Dintre cele 87 de probe pozitive recoltate, 57 au fost la concentrații de 1-2X LoD, iar 30 la concentrații de 4-8X LoD. Procesarea probelor s-a efectuat folosind fluxul de lucru DIRECT și fluxul de lucru PRETRATAT pe ambele sisteme NeuMoDx System.

Toate probele pozitive au fost raportate pozitive și toate probele negative au fost raportate negative, așa cum este detaliat în *Tabelele 17–20*.

Tabelul 17. Doar eșantioane pe tampon pretratate pe NeuMoDx 288 Molecular System

Flux de lucru pretrat: NeuMoDx 288 Molecular System					
Concentrația probei	n	Ținta 1 (Gena Nsp2)		Ținta 2 (gena N)	
		% pozitiv (ambele ținte, IÎ 95%)	Ct mediu	% pozitiv (ambele ținte, IÎ 95%)	Ct mediu
225 cp/ml ~1,5X LoD	12	100 (75,6-99,9)	32,5	100 (75,6-99,9)	32,2
400 cp/ml ~2.7X LoD	11	100 (74,0-99,9)	31,4	100 (74,0-99,9)	30,2
500 cp/ml ~3.3X LoD	10	100 (72,1-99,9)	31,2	100 (72,1-99,9)	30,2
1000 cp/ml	5	100 (56,4-99,9)	30,5	100 (56,4-99,9)	29,4
2000 cp/ml	6	100 (60,8-99,9)	30,2	100 (60,8-99,9)	28,8
Negative (Negativ)	29	0 (nu se aplică)	nu se aplică	0 (nu se aplică)	nu se aplică
Performanța în raport cu rezultatele preconizate este: Acordul procentual pozitiv 44/44 = 100% (IÎ 95%: 91,9-100%) Acordul procentual negativ 29/29 = 100% (IÎ 95%: 88,2-100%)					

Tabelul 18. Doar eșantioane pe tampon pretratate pe NeuMoDx 96 Molecular System

Flux de lucru pretrat: NeuMoDx 96 Molecular System					
Concentrația probei	n	Ținta 1 (Gena Nsp2)		Ținta 2 (gena N)	
		% pozitiv (ambele ținte, IÎ 95%)	Ct mediu	% pozitiv (ambele ținte, IÎ 95%)	Ct mediu
225 cp/ml ~1,5X LoD	12	100 (75,6-99,9)	32,0	100 (75,6-99,9)	31,5
400 cp/ml ~2.7X LoD	3	100 (43,7-99,8)	31,2	100 (43,7-99,8)	30,4
500 cp/ml ~3.3X LoD	3	100 (43,7-99,8)	31,5	100 (43,7-99,8)	30,6
1000 cp/ml	2	100 (34,2-99,8)	30,2	100 (34,2-99,8)	29,2
2000 cp/ml	2	100 (34,2-99,8)	30,1	100 (34,2-99,8)	28,9
Negative (Negativ)	20	0 (nu se aplică)	nu se aplică	0 (nu se aplică)	nu se aplică
Performanța în raport cu rezultatele preconizate este: Acordul procentual pozitiv 22/22 = 100% (IÎ 95%: 85,0-100%) Acordul procentual negativ 20/20 = 100% (IÎ 95%: 83,8-100%)					

Tabelul 19. Doar eșantioane pe tampon din fluxul de lucru Direct pe NeuMoDx 288 Molecular System

Flux de lucru direct: NeuMoDx 288 Molecular System					
Concentrația probei	n	Ținta 1 (Gena Nsp2)		Ținta 2 (gena N)	
		% pozitiv (ambele ținte, Î 95%)	Ct mediu	% pozitiv (ambele ținte, Î 95%)	Ct mediu
225 cp/ml ~1,5X LoD	12	100 (75,6-99,9)	33,8	100 (75,6-99,9)	32,7
400 cp/ml ~2.7X LoD	11	100 (74,0-99,9)	32,4	100 (74,0-99,9)	31,1
500 cp/ml ~3.3X LoD	11	100 (74,0-99,9)	32,5	100 (72,1-99,9)	31,3
1000 cp/ml	6	100 (60,8-99,9)	31,9	100 (56,4-99,9)	30,5
2000 cp/ml	6	100 (60,8-99,9)	31,1	100 (60,8-99,9)	29,7
Negative (Negativ)	33	0 (nu se aplică)	nu se aplică	0 (nu se aplică)	nu se aplică
Performanța în raport cu rezultatele preconizate este: Acordul procentual pozitiv 46/46 = 100% (Î 95%: 92,2-100%) Acordul procentual negativ 33/33 = 100% (Î 95%: 89,5-100%)					

Tabelul 20. Doar eșantioane pe tampon din fluxul de lucru Direct pe NeuMoDx 96 Molecular System

Flux de lucru direct: NeuMoDx 96 Molecular System					
Concentrația probei	n	Ținta 1 (Gena Nsp2)		Ținta 2 (gena N)	
		% pozitiv (ambele ținte, Î 95%)	Ct mediu	% pozitiv (ambele ținte, Î 95%)	Ct mediu
225 cp/ml ~1,5X LoD	12	100 (75,6-99,9)	33,4	100 (75,6-99,9)	32,3
400 cp/ml ~2.7X LoD	4	100 (50,9-99,9)	32,7	100 (50,9-99,9)	31,7
500 cp/ml ~3.3X LoD	4	100 (50,9-99,9)	32,6	100 (50,9-99,9)	31,5
1000 cp/ml	1	100 (20,7-99,8)	31,9	100 (20,7-99,8)	30,2
2000 cp/ml	2	100 (34,2-99,8)	31,5	100 (34,2-99,8)	29,7
Negative (Negativ)	0	0 (nu se aplică)	Nu se aplică	0 (nu se aplică)	Nu se aplică
Performanța în raport cu rezultatele preconizate este: Acordul procentual pozitiv 23/23 = 100% (Î 95%: 85,6-100%) Acordul procentual negativ Nu se aplică					

b. Testarea eșantioanelor recoltate – probe de salivă

Performanța NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay cu probe de salivă (preparate utilizând NeuMoDx Saliva Collection Kit) a fost evaluată folosind un grup de 36 de probe negative de la donatori. Fiecare probă de la donatori sănătoși a fost utilizată pentru a prepara o probă negativă și o probă pozitivă recoltată, prin îmbogățirea virusului SARS-CoV-2 iradiat γ (BEI Resources NR-52287), obținând un total de 72 de probe pentru testare. Dintre cele 36 de probe pozitive recoltate, 28 au fost la concentrații de 1,5-2X LoD, 4 au fost la 10X LoD și 4 au fost la 20X LoD. Procesarea probelor s-a efectuat folosind fluxul de lucru UserSpecified2 (Specificat de utilizator 2).

Toate probele pozitive au fost raportate pozitive și toate probele negative au fost raportate negative, așa cum este detaliat în *Tabelul 21*.

Tabelul 21. Probe de salivă pe NeuMoDx 288 Molecular System

Concentrația probei	n	Ținta 1 (Gena Nsp2)		Ținta 2 (gena N)	
		% pozitiv (ambele ținte, ÎI 95%)	Ct mediu	% pozitiv (ambele ținte, ÎI 95%)	Ct mediu
0,01125-0,015 TCID50/ml (1,5-2X LoD)	27	96 (81,7-99,3)	33,2	100 (87,6-100)	33,1
0,075 TCID50/ml (10X LoD)	4	100 (51,0-100)	32,7	100 (51,0-100)	32,3
0,15 TCID50/ml (20X LoD)	4	100 (51,0-100)	31,0	100 51,0-100	30,9
Negative (Negativ)	35	0 (nu se aplică)	nu se aplică	0 (nu se aplică)	nu se aplică
Performanța în raport cu rezultatele preconizate este: Gena Nsp2 Acordul procentual pozitiv 34/35 = 97,1% (ÎI 95%: 85,5%-99,5%) Gena Nsp2 Acordul procentual negativ 35/35 = 100% (ÎI 95%: 90,1%-100%) Gena N Acordul procentual pozitiv 35/35 = 100% (ÎI 95%: 90,1%-100%) Gena N Acordul procentual negativ 35/35 = 100% (ÎI 95%: 90,1%-100%) Acordul procentual pozitiv global 35/35 = 100% (ÎI 95%: 90,1%-100%) Acordul procentual negativ global 35/35 = 100% (ÎI 95%: 90,1%-100%)					

c. Testarea eșantioanelor clinice – eșantioane pe tampon nazofaringian

Performanța NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a fost, de asemenea, evaluată folosind eșantioane clinice. Resturile de eșantioane clinice pe tampon nazofaringian (nasopharyngeal, NP) cu elementele de identificare anulate, de la pacienți simptomatici, au fost recoltate cu tamponare poroase cu minivârf în 3 ml de BD Universal Viral Transport Medium (BD UVT). Eșantioanele au fost trimise pentru testare SARS-CoV-2 către două centre de testare externe care au efectuat testarea comparativă a acestor eșantioane cu testări autorizate anterior de FDA din S.U.A. pentru a fi utilizate de urgență. Testarea cu NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a fost efectuată la un centru de testare intern și unul extern. Un total de 40 de probe a fost procesat utilizând NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. Unele probe au fost testate pe ambele sisteme, N288 și N96 NeuMoDx System, folosind atât fluxul de lucru PRETRATAT, cât și fluxul de lucru DIRECT. Rezultatele NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay au fost în acord deplin cu rezultatele analizelor comparative pentru toate probele clinice testate în acest studiu de comparare a metodelor (Tabelele 22 și 23).

Tabelul 22. Rezultatele comparației calitative a metodelor pentru NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay pe sistemele NeuMoDx Molecular System în comparație cu testările de referință – flux de lucru PRETRATAT

N96 și N288 Pretratată		Analiză comparativă (Analize comparative)		
		Poz	Neg	Total
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Poz	25	0	25
	Neg	0	15	15
	Total	25	15	40
Sensibilitate clinică 100% (ÎI 95% 86,6-100%)				
Specificitate clinică 100% (ÎI 95% 79,5-99,9%)				

Tabelul 23. Rezultatele comparației calitative a metodelor pentru NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay în comparație cu testările de referință – flux de lucru DIRECT

(a) pe NeuMoDx 288 Molecular System (N288) și (b) pe NeuMoDx 96 Molecular System (N96)

(a)

(b)

N288 Direct		Analiză comparativă (Analize comparative)		
		Poz	Neg	Total
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Poz	10	0	10
	Neg	0	9	9
	Total	10	9	19
Sensibilitate clinică 100% (ÎI 95% 72,1-99,9%)				
Specificitate clinică 100% (ÎI 95% 69,9-99,9%)				

N96 Direct		Analiză comparativă (Analize comparative)		
		Poz	Neg	Total
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Poz	5	0	5
	Neg	0	6	6
	Total	5	6	11
Sensibilitate clinică 100% (ÎI 95% 56,4-99,9%)				
Specificitate clinică 100% (ÎI 95% 60,8-99,9%)				

d. Testarea eșantioanelor clinice – eșantioane de salivă

Performanța NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay cu probe de salivă (preparate folosind NeuMoDx Saliva Collection Kit) a fost evaluată folosind 112 eșantioane de salivă și pe tampon nazofaringian (nasopharyngeal, NP) asociate, cu elementele de identificare anulate, recoltate prospectiv consecutiv sau reziduale (de asemenea recoltate consecutiv) de la același individ. Kiturile NeuMoDx Saliva Collection Kit au fost utilizate pentru recoltarea prospectivă a eșantioanelor de salivă, în timp ce probele de salivă reziduale au fost recoltate într-un flacon pentru probe, fără conservanți, apoi depozitate în stare congelată la -80 °C până la testarea cu NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer. Eșantioanele pe tampon NP au fost recoltate cu tamponare poroase cu minivârf în 3 ml de BD Universal Viral Transport Medium (BD UVT). Toate eșantioanele de salivă și cele mai multe eșantioane pe tampon nazofaringian (nasopharyngeal, NP) au fost testate folosind NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay și o combinație a sistemelor N288 și N96 NeuMoDx System. Restul de eșantioane NP a fost procesat folosind alte testări comparative cu autorizație de urgență pentru utilizare (Emergency Use Authorization, EUA). Testarea a fost efectuată la un centru de testare intern și două centre de testare externe. În general, concordanța > 95% pozitivă și negativă cu rezultatele testărilor de referință pentru eșantioanele pe tampon NP a fost demonstrată pentru NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay folosind eșantioane de salivă, așa cum este detaliat în Tabelul 24.

Tabelul 24. Rezultatele comparației calitative a metodelor pentru NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay cu eșantioanele de salivă în comparație cu eșantioanele pe tampon NP

Acord calitativ		Eșantioane pe tampoane NP		
		Poz	Neg	Total
Eșantioane de salivă	Poz	41	2	43
	Neg	2	67	69
	Total	43	69	112
Sensibilitate clinică 95,4% (84,5%-98,7%)				
Specificitate clinică 97,1% (90,0%-99,2%)				

REFERINȚE









- 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.

MĂRCI COMERCIALE

NeuMoDx™ și NeuDry™ sunt mărci comerciale ale NeuMoDx Molecular, Inc.
 Afrin® este marcă comercială înregistrată a Bayer AG
 Altoids™ este marcă comercială a Callard and Bowser Limited
 Aspirin™ este marcă comercială înregistrată a Bayer AG
 BD™ este marcă comercială a Becton, Dickinson and Company
 Crest® Pro-Health este marcă comercială înregistrată a the Procter and Gamble Company
 Flonase® este marcă comercială înregistrată a GlaxoSmithKline plc
 Halls™ este marcă comercială a Mondelēz International Group
 Hamilton® este marcă comercială înregistrată a Hamilton Company
 Listerine® este marcă comercială înregistrată a Johnson & Johnson
 Relenza® este marcă comercială înregistrată a GlaxoSmithKline plc
 Tamiflu® este marcă comercială înregistrată a Genentech USA, Inc.
 TaqMan® este marcă comercială înregistrată a Roche Molecular Systems, Inc.
 UTM-RT® este marcă comercială înregistrată a Copan Diagnostics, Inc.
 Wal-Tussin® este marcă comercială înregistrată a Walgreens Company
 Zicam® este marcă comercială înregistrată a Matrixx Initiatives, Inc.

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

LEGENDĂ

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



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

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



Asistență tehnică/Raportarea vigilenței: support@qiagen.com

Brevet: www.neumodx.com/patents