

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

VOORZICHTIG: Voor VS: uitsluitend bestemd voor export

IVD Voor *in-vitro*diagnostisch gebruik met het NeuMoDx 288 System en NeuMoDx 96 Molecular Systems*Ga voor updates van bijsluiters naar: www.qiagen.com/neumodx-ifu**Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van NeuMoDx 288 Molecular System voor gedetailleerde instructies; O/N 40600108**Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van NeuMoDx 96 Molecular System voor gedetailleerde instructies; O/N 40600317**Raadpleeg de gebruikshandleiding van de NeuMoDx Saliva Collection Kit voor details; O/N 40600441***BEOOGD GEBRUIK**

De NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay uitgevoerd op het NeuMoDx 288 Molecular System en NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx Molecular System(s)) is een real-time RT-PCR diagnosestest bestemd voor de kwalitatieve detectie van SARS-CoV-2 coronavirus-RNA in nasale, nasofaryngeale en orofaryngeale uitstrijkjes in transportmedium, en specimens van bronchoalveolaire lavages (BAL) van personen van wie vermoed wordt dat ze COVID-19 hebben door hun zorgverlener.

Deze test is ook bestemd voor gebruik met speeksel-specimens die worden verzameld in een zorginstelling bij personen die de NeuMoDx Saliva Collection Kit gebruiken, wanneer de zorgverlener dit geschikt acht.

De resultaten zijn bedoeld voor de identificatie van RNA van SARS-CoV-2. SARS-CoV-2-RNA kan doorgaans worden gedetecteerd in respiratoire specimens tijdens de acute fase van infectie. Positieve resultaten wijzen op de aanwezigheid van SARS-CoV-2-RNA. Klinische correlatie met de voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische informatie is nodig om de infectiestatus van de patiënt te bepalen. Positieve resultaten sluiten geen bacteriële infectie of gelijktijdige infectie met andere virussen uit. Laboratoria in de Verenigde Staten en haar grondgebieden zijn verplicht alle positieve resultaten te melden bij de bevoegde volksgezondheidsinstanties.

Negatieve resultaten sluiten SARS-CoV-2-infectie niet uit en mogen niet worden gebruikt als enige onderbouwing voor behandeling van de patiënt. Negatieve resultaten moeten worden gecombineerd met klinische observaties, voorgeschiedenis van de patiënt en epidemiologische informatie. Negatieve resultaten voor SARS-CoV-2-RNA uit speeksel moeten worden bevestigd door een alternatief specimentype te testen, indien klinisch aangewezen.

De NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay is bedoeld voor gebruik door getraind klinisch laboratoriumpersoneel dat specifiek geïnstrueerd en getraind is in de technieken van realtime PCR en *in-vitro*diagnostische procedures.

SAMENVATTING EN UITLEG

Nasofaryngeale, orofaryngeale en nasale uitstrijkjes worden afgenomen in het Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) System of BD™ Universal Viral Transport System (UVT). Ter voorbereiding op het testen wordt het primaire afnamebuisje (met wattenstaafje en dopje verwijderd), een puur aliquot van het monstermedium, of een aliquot van het monstermedium voorbehandeld met NeuMoDx Viral Lysis Buffer in een secundaire specimenbuisje voorzien van een barcode, met behulp van een daarvoor bestemde specimenbuisjesdrager op het NeuMoDx System geladen, waarna de verwerking automatisch begint. Voor elk specimen wordt een aliquot van 400 µl door het NeuMoDx System geaspireerd en gemengd met NeuMoDx Lysis Buffer 3 (directe monsters) of NeuMoDx Lysis Buffer 2 (voorbehandelde monsters).

Speeksel-specimens worden verzameld in de NeuMoDx Saliva Collection Kit volgens de gebruiksaanwijzing (O/N 40600441). Om het testen voor te bereiden, wordt het verzamelde speeksel overgebracht van de NeuMoDx Saliva Collection Vial naar de NeuMoDx Specimen Stabilization Tube met de pipet om een verhouding van 1:1,67 speeksel/SSB (v/v) te krijgen. Het speeksel en de stabilisatiebuffer worden grondig gemengd door de flacon 5-8 maal om te keren. Het gestabiliseerde speeksel kan rechtstreeks op het NeuMoDx System worden getest of worden opgeslagen om later te testen.

Het NeuMoDx System voert automatisch alle stappen uit die nodig zijn voor het extraheren van het nucleïnezuur doelmateriaal, het voorbereiden van het geïsoleerde RNA voor realtime reverse transcriptie polymerasekettingreactie (RT-PCR) en, indien aanwezig, het amplificeren en detecteren van de amplificatieproducten: het niet-structurele eiwit 2 (Nsp2)-gen en het N-gen van het SARS-CoV-2 genoom. De NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay omvat een RNA-monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC2) als hulpmiddel voor het opsporen van mogelijke remmers en fouten van het NeuMoDx System of van reagentia die tijdens het extractie- en het amplificatieproces kunnen optreden.

UITGANGSPUNT VAN DE PROCEDURE

De NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay combineert geautomatiseerde extractie, amplificatie/detectie van RNA door realtime RT-PCR. Nasofaryngeale, orofaryngeale en nasale uitstrijkjes worden afgenomen in het Copan UTM-RT System of BD UVT System. Speeksel-specimens worden verzameld in de NeuMoDx Saliva Collection Kit. Voor monstervoorbereiding van de uitstrijkjes met de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay zijn twee workflows beschikbaar. Dankzij de directe workflow kan het afnamebuisje of een aliquot van het transportmedium in een secundair buisje op het NeuMoDx System worden geladen voor verwerking, zonder dat nadere werkzaamheden nodig zijn. Het is ook mogelijk om het monstermedium voor te behandelen met NeuMoDx Viral Lysis Buffer voordat het voor verwerking op het NeuMoDx System wordt geplaatst. Voor het speeksel-specimen laadt de gebruiker de eerste stabilisatiebuis met gestabiliseerd speeksel rechtstreeks in het NeuMoDx System. Het NeuMoDx System begint automatisch met de verwerking door een aliquot van de matrix van uitstrijkjes of het gestabiliseerde speeksel te aspireren en te mengen met NeuMoDx Lysis Buffer en de reagentia in de NeuMoDx Extraction Plate. Het NeuMoDx System automatiseert en integreert extractie en concentratie van RNA, bereiding van PCR-reagentia, nucleïnezuuramplificatie/detectie van de beoogde sequentie met behulp van realtime RT-PCR. De geïntegreerde monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC2) dient als hulpmiddel voor het opsporen van remmers en fouten van het systeem, het proces of de reagentia. Zodra het specimen in het NeuMoDx System is geplaatst, zijn er geen handelingen meer nodig door een laborant.

Het NeuMoDx System gebruikt een combinatie van hitte, lytisch enzym en extractiereagentia om automatisch lysis en RNA-extractie uit te voeren en remmende stoffen te verwijderen met behulp van de afzonderlijk te verkrijgen NeuMoDx-reagentia. De vrijgekomen nucleïnezuuren worden opgevangen door paramagnetische deeltjes. De deeltjes, met gebonden nucleïnezuur, worden geladen in de NeuMoDx Cartridge waar de ongebonden elementen worden weggespoeld met NeuMoDx Wash Reagent. Het gebonden RNA wordt vervolgens geëluëerd met behulp van NeuMoDx Release Reagent. Het NeuMoDx System doordrenkt de bedrijfseigen NeuDry™-amplificatiemix van RT-PCR met het geëluëerde RNA. Deze reagentia bevatten alle elementen die nodig zijn voor de amplificatie van het SARS-CoV-2-doelmateriaal en SPC2-doelmateriaal. Dit maakt de gelijktijdige amplificatie en detectie van doelmateriaal en SPC2 in één reactie mogelijk. Na reconstitutie van de gedroogde RT-PCR-reagentia brengt het NeuMoDx System het bereide RT-PCR-mengsel over naar één PCR-kamer (per specimen) van de NeuMoDx Cartridge. Reverse transcriptie, amplificatie en detectie van de controle- en doel-sequenties (indien aanwezig) vinden plaats in de PCR-kamer. De NeuMoDx Cartridge is ontworpen om het amplificaat na RT-PCR te bevatten, waardoor het risico op besmetting na amplificatie vrijwel volledig wordt weggenomen.

De geamplificeerde doelen worden realtime gedetecteerd met behulp van hydrolyseprobeverbindingen (meestal aangeduid met TaqMan®-verbindingen) die gebruikmaken van fluorogene, amplificatiespecifieke oligonucleotideprobleemoleculen van hun respectievelijke doelen. TaqMan-probes bestaan uit een fluorofoor die covalent is bevestigd aan het 5'-uiteinde van de oligonucleotideprobe en een quencher die is bevestigd aan het 3'-uiteinde. De fluorofoor en de quencher bevinden zich vlak bij elkaar op de intacte probe, waardoor het quenchermolecuul het fluorescente dat wordt uitgestraald door de fluorofoor kan onderdrukken door middel van Förster-resonantie-energieoverdracht (Förster Resonance Energy Transfer; FRET).

TaqMan-probes zijn zo ontworpen dat ze hybridiseren binnen een DNA-gebied dat is geamplificeerd door een specifieke set primers. Terwijl de Taq-DNA-polymerase de primer verlengt en de nieuwe streng synthetiseert, degradeert de activiteit van de 5'- tot 3'-exonuclease van de Taq-DNA-polymerase de probe die aan de template is gehybridiseerd. Door de degradatie geeft de probe de fluorofoor vrij en wordt de nabijheid met de quencher verbroken, waardoor het dovende effect door middel van FRET wordt doorbroken en detectie van de fluorofoor mogelijk wordt. Het resulterende fluorescente signaal dat wordt gedetecteerd in de kwantitatieve RT-PCR-thermocycler van het NeuMoDx System is recht evenredig aan de vrijgekomen fluorofoor en kan worden gecorreleerd met de hoeveelheid doelmateriaal dat aanwezig is. Een met een FAM-fluorofoor (470/510 nm) gemerkte TaqMan-probe wordt gebruikt voor de detectie van het Nsp2-gebied van het SARS-CoV-2-genoom, en een met een HEX-fluorofoor (530/555 nm) gemerkte TaqMan-probe wordt gebruikt voor detectie van het N-gen van het SARS-CoV-2-genoom. Voor de detectie van SPC2 is de TaqMan-probe gemerkt met een Far-Red-fluorofoor (680/715 nm). De software van het NeuMoDx System meet het fluorescentiesignaal dat aan het einde van elke amplificatiecyclus wordt uitgezonden door de TaqMan-probes. Wanneer de amplificatie is voltooid, analyseert de software van het NeuMoDx System de gegevens en geeft het systeem de uitslag POSITIVE (Positief), NEGATIVE (Negatief), INDETERMINATE (Onbepaald), NO RESULTS (Geen resultaten) of UNRESOLVED (Onbekend).

REAGENTIA/VERBRUIKSARTIKELEN

Meegeleverde materialen

REF	Inhoud	Tests per eenheid	Tests per verpakking
300800	NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip <i>Gedroogde RT-PCR-reagentia die SARS-CoV-2-specifieke TaqMan-probes en -primers en SPC2-specifieke TaqMan-probe en -primers bevatten</i>	16	96

Aanvullende materialen die benodigd zijn, maar niet worden meegeleverd (afzonderlijk verkrijgbaar via NeuMoDx)

REF	Inhoud
100100	NeuMoDx Cartridge
100200	NeuMoDx Extraction Plate
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
400500 (Optioneel*)	NeuMoDx Lysis Buffer 2
400600**	NeuMoDx Lysis Buffer 3
401600(Optioneel*)	NeuMoDx Viral Lysis Buffer
235903	Hamilton CO-RE/CO-RE II Tips (300 µl) met filters
235905	Hamilton CO-RE/CO-RE II Tips (1000 µl) met filters

*Alleen nodig als een voorbehandelingsstap gewenst is voor niet-geautomatiseerde lysis voorafgaand aan het laden van de monsters. Zie het deel 'Gebruikshandleiding'.

**Alleen benodigd voor directe verwerking van pure monsters. Zie het deel 'Gebruikshandleiding' hieronder.

Wattenstaafjes en transportmedia (niet meegeleverd)

Monstertype	Afnamehulpmiddelen	Aanbevolen afnamehulpmiddel	Aanbevolen wattenstaafje
Nasofaryngeaal wattenstaafje	Plastic applicator met wattenstaafje van steriel gesponnen rayon en polyester en wattenstaafjes van nylon verzameld in UTM®: Universal Transport Medium (Copan Diagnostic Inc, CA) of UVT BD Universal Viral Transport System (UVT) (BD, NJ)	3 ml/1 ml Universal Transport Medium (Copan UTM-RT) of Universal Viral Transport System (BD UVT)	Flexible Minitip Size Nylon® Flocked Swab (Copan) of Flexible minitip flocked swab (BD)
Orofaryngeaal wattenstaafje			
Nasaal wattenstaafje			

Saliva Collection Material (afzonderlijk te verkrijgen van NeuMoDx)

REF	Inhoud
100500	NeuMoDx Saliva Collection Kit Bevat (1) NeuMoDx Saliva Collection Vial, (1) NeuMoDx Specimen Stabilization Tube met 1 ml NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer en (1) wegwerp-pipet (voldoende voor het verzamelen van één monster per kit; raadpleeg de gebruikshandleiding voor details; O/N 40600441)

Benodigde instrumenten

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


WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

- De NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay is uitsluitend geschikt voor *in-vitro* diagnostisch gebruik op de NeuMoDx Systems.
- Gebruik uitsluitend op voorschrift.
- Niet hergebruiken.
- Specimens moeten altijd worden behandeld alsof ze infectieus zijn en volgens procedures voor veilig werken in het laboratorium, zoals beschreven in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories¹ en in CLSI-document M29-A4.²
- De NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay mag uitsluitend worden uitgevoerd door personeel dat getraind is in het gebruik van het NeuMoDx System en de verwerking van infectieus materiaal.
- Voor het testen van speeksel-specimens mag de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay enkel worden gebruikt samen met de NeuMoDx Saliva Collection Kit.

- Gebruik de reagentia en de verbruiksartikelen niet na de vermelde houdbaarheidsdatum.
- Gebruik de reagentia niet als de verzegeling is verbroken of als de verpakking bij aankomst is beschadigd.
- Gebruik de verbruiksartikelen of reagentia niet als de beschermhoes bij levering is geopend of beschadigd.
- Het minimale specimenvolume van secundaire aliquots is afhankelijk van de grootte van het buisje of de specimenbuisjesdrager volgens de onderstaande specificaties. Een volume onder het opgegeven minimum kan leiden tot de fout 'Quantity Not Sufficient' (Te weinig volume).
- Het gebruik van specimens die bij ongeschikte temperaturen of langer dan de gespecificeerde opslagtijd zijn bewaard, kan leiden tot ongeldige of foutieve resultaten.
- Voorkom besmetting van reagentia en verbruiksartikelen met microben en ribonuclease (RNase). Bij het gebruik van secundaire buisjes wordt aanbevolen steriele RNasevrije wegwerppipetten met aerosolbarrières te gebruiken. Gebruik voor elk specimen een nieuwe pipet.
- Hanteer of demonteer na het amplificatieproces geen NeuMoDx Cartridges om besmetting te voorkomen. Haal onder geen enkele omstandigheid NeuMoDx Cartridges uit de container voor biologisch gevaarlijk afval (NeuMoDx 288 Molecular System) of de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval (NeuMoDx 96 Molecular System). De NeuMoDx Cartridge is ontworpen om besmetting te voorkomen.
- Let goed op dat de NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip, de aanvullende benodigde verbruiksartikelen en reagentia voor de test, de persoonlijke beschermingsuitrusting zoals handschoenen en een laboratoriumjas, en het NeuMoDx System niet worden verontreinigd wanneer er in het laboratorium ook PCR-tests met open buisjes worden uitgevoerd.
- Draag schone, poedervrije handschoenen van nitril bij het hanteren van NeuMoDx-reagentia en -verbruiksartikelen. Let goed op dat u de bovenkant van de NeuMoDx Cartridge, de folielaag van de NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip of de NeuMoDx Extraction Plate, of de bovenkant van de buisjes met NeuMoDx Lysis Buffer niet aanraakt; pak de verbruiksartikelen en reagentia alleen bij de zijkanten vast.
- Veiligheidsinformatiebladen (Safety Data Sheets; SDS) zijn beschikbaar op www.qiagen.com/neumodx-ifu
- Was uw handen grondig na het uitvoeren van de test.
- Pipetteer niet met de mond. Rook, drink of eet niet in ruimten waarin specimens of reagentia worden verwerkt.
- Voer ongebruikte reagentia en afval af in overeenstemming met nationale, federale, provinciale en lokale regelgeving.
- De instrumenten en assayprocedures verminderen het risico op besmetting met het amplificatieproduct. Besmetting met nucleïnezuur uit de positieve controles of specimens moet worden gecontroleerd door goede laboratoriumpraktijken.
- Gebruik de goede laboratoriumpraktijken, zoals het aantrekken van nieuwe handschoenen bij het hanteren van specimens van verschillende patiënten, om besmetting te voorkomen.



OPSLAG, HANTERING EN STABILITEIT VAN HET PRODUCT

- De NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strips blijven in de primaire verpakking tot en met de vermelde uiterste gebruiksdatum op het productetiket stabiel bij 4 tot 28 °C.
- Gebruik verbruiksartikelen en reagentia niet als de uiterste gebruiksdatum is verstreken.
- Gebruik testproducten niet als de binnen- of buitenverpakking zichtbaar is beschadigd.
- Laad testproducten die eerder op een ander NeuMoDx System zijn geladen niet nogmaals.
- Wanneer de NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip geladen is, kan de strip maximaal 7 dagen op het NeuMoDx System blijven. De resterende houdbaarheid van geladen teststrips wordt door de software bijgehouden en direct aan de gebruiker gemeld. Het systeem vraagt de gebruiker om teststrips die na de toegestane periode worden gebruikt te verwijderen.

AFNAME, TRANSPORT EN OPSLAG VAN SPECIMENS

Hanteer alle specimens alsof ze infectieuze agentia zouden kunnen overdragen.

Nasofaryngeale en nasale specimens

Specimens moeten worden verzameld met het Copan UTM-RT System of BD UVT System met behulp van de gevalideerde wattenstaafjes van nylon (zie Niet-meegeleverde materialen). Ook gevlokte, rayon en polyester wattenstaafjes worden geaccepteerd. Volg de aanwijzingen van de fabrikant voor verzameling, transport en opslag in de gebruikshandleiding van het Copan UTM-RT System/BD UVT System:

- Na afname moet het specimen worden bewaard bij 2-25 °C en binnen 48 uur worden verwerkt.
- Als de levering en verwerking langer duren dan 48 uur, moeten de specimens worden vervoerd in droogijs en na aankomst in het laboratorium worden ingevroren op een temperatuur van -70 °C of kouder.

Speekselspecimens

Raadpleeg de NeuMoDx Saliva Collection Kit, O/N 40600441, voor gedetailleerde instructies

Specimens moeten worden verzameld met de NeuMoDx Saliva Collection Kit. Het verzamelde speeksel wordt overgebracht van de NeuMoDx Saliva Collection Vial naar de NeuMoDx Specimen Stabilization Tube met de pipet om een verhouding van 1:1,67 speeksel/SSB (v/v) te krijgen. Het speeksel en de stabilisatiebuffer worden grondig gemengd door de flacon 5-8 maal om te keren. Het gestabiliseerde speeksel kan rechtstreeks op het NeuMoDx System worden getest of worden opgeslagen om later te testen.

- Speekselspecimens kunnen tot 2 uur worden opgeslagen bij omgevingscondities voordat ze worden gemengd met NeuMoDx Stabilization Buffer (SSB).
- Nadat het speeksel is gemengd met de stabilisatiebuffer, controleert u het volume in de Specimen Stabilization Tube. Indien het totale volume onder de vullijn ligt, voegt u water van moleculaire kwaliteit toe tot aan de lijn.

- Gestabiliseerd speeksel kan tot 24 uur worden opgeslagen bij omgevingscondities en tot 7 dagen bij 2-8 °C. Het specimen moet op kamertemperatuur komen voordat het wordt getest.
- Gestabiliseerd speeksel kan tot 12 uur worden opgeslagen in de NeuMoDx Molecular Systems.
- Gestabiliseerd speeksel moet worden vervoerd met pakijns en vervolgens worden gekoeld op 2-8 °C indien de tijd tussen het verzamelen en verwerken groter is dan 48 uur.

GEBRUIKSHANDLEIDING

De NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay omvat twee verschillende workflows die afhankelijk van de voorkeur van de gebruiker/het laboratorium gevolgd kunnen worden:

Workflow 1: DIRECT – uitstrijkjes in transportmedium en speeksel in stabilisatiebuffer worden rechtstreeks op het NeuMoDx System geladen in primaire afnamebuisje of secundaire specimenbuisjes

-of-

Workflow 2: VOORBEHANDELD – uitstrijkjes in transportmedium worden voorbehandeld met NeuMoDx Viral Lysis Buffer voordat ze in primaire afnamebuisjes of secundaire specimenbuisjes op het NeuMoDx System worden geladen

Testvoorbereiding – DIRECT workflow voor directe uitstrijkjes en speekselmonsters

Opmerking: Breng alle monsters vóór verwerking op kamertemperatuur (15-30 °C).

1. Breng het barcodelabel voor het specimen aan op een specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx System volgens de beschrijving in punten 4 en 5 hieronder.
2. Als u het specimen in het primaire afnamebuisje (uitstrijkjes) of de Specimen Stabilization Tube (speekselmonsters) test, plaatst u het buisje met barcode in een specimenbuisjesdrager. Zorg er daarbij voor dat de dop en/of het wattenstaafje zijn verwijderd alvorens het buisje op het NeuMoDx System te laden.
3. Ook kan een aliquot van het transportmedium of gestabiliseerde speeksel worden overgebracht op secundaire buisje met barcode dat geplaatst wordt in een specimenbuisjesdrager voor 32 buisjes. Als u een secundair buisje gebruikt, brengt u een aliquot van het transportmedium of gestabiliseerde speeksel over naar een specimenbuisje dat voorzien is van een barcode en dat compatibel is met het NeuMoDx System (zie hieronder voor het juiste volume):
4. *Voor uitstrijkjes:*
 - Specimenbuisjesdrager (32 buisjes): 11-14 mm diameter en 60-120 mm hoogte; minimaal vulvolume ≥ 550 µl
 - Specimenbuisjesdrager (24 buisjes): 14,5-18 mm diameter en 60-120 mm hoogte; minimaal vulvolume ≥ 1000 µl
 - Specimenbuisjesdrager met laag volume (32 buisjes): 1,5 ml microcentrifugebuisje met conische bodem; minimaal vulvolume ≥ 500 µl
5. *Voor gestabiliseerde speekselmonsters:*
 - Specimenbuisjesdrager (32 buisjes): 11-14 mm diameter en 60-120 mm hoogte; minimaal vulvolume ≥ 800 µl
 - Specimenbuisjesdrager met laag volume (32 buisjes): 1,5 ml microcentrifugebuisje met conische bodem; minimaal vulvolume ≥ 700 µl

Testvoorbereiding – VOORBEHANDELING workflow voor voorbehandelde uitstrijkjes

Opmerking: Breng alle monsters vóór verwerking op kamertemperatuur (15-30 °C).

WAARSCHUWING: Voorbehandeling van uitstrijkjes met NeuMoDx Viral Lysis Buffer garandeert niet dat eventueel aanwezig virus geïnactiveerd wordt. Alle monsters moeten worden behandeld alsof ze infectieuze agentia zouden kunnen overdragen.

1. Behandel het monstertransportmedium voor met een 1:1-volume NeuMoDx Viral Lysis Buffer. Als het transportmedium bekend is, kan dit worden gedaan in het primaire buisje voor afname van het uitstrijkje. Het is ook mogelijk om de voorbehandeling uit te voeren in een secundair buisje door een aliquot van het transportmedium te mengen met een gelijk volume NeuMoDx Viral Lysis Buffer. Het resulterende mengsel moet voldoen aan de hieronder vermelde minimumvolume-eisen.
2. Meng voorzichtig met een pipet om een uniforme verdeling van NeuMoDx Viral Lysis Buffer te garanderen.
3. Als u het specimen in het primaire afnamebuisje test, plaatst u het buisje met barcode in een specimenbuisjesdrager. Zorg er daarbij voor dat de dop en het wattenstaafje zijn verwijderd alvorens het buisje op het NeuMoDx System te laden.
4. Als u een secundair buisje gebruikt, brengt u een aliquot van het transportmedium-lysaat over naar een specimenbuisje dat voorzien is van een barcode en dat compatibel is met het NeuMoDx System (zie hieronder voor het juiste volume):
 - Specimenbuisjesdrager (32 buisjes): 11-14 mm diameter en 60-120 mm hoogte; minimaal vulvolume ≥ 550 µl
 - Specimenbuisjesdrager (24 buisjes): 14,5-18 mm diameter en 60-120 mm hoogte; minimaal vulvolume ≥ 1000 µl
 - Specimenbuisjesdrager met laag volume (32 buisjes): 1,5 ml microcentrifugebuisje met conische bodem; minimaal vulvolume ≥ 500 µl

Bediening van het NeuMoDx System

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van NeuMoDx 288 en 96 Molecular Systems voor gedetailleerde instructies.

- Laad de testopdracht op het NeuMoDx System volgens de workflow die is gebruikt voor de testvoorbereiding:
 - Onbehandelde, pure uitstrijkjes die voorbereid zijn volgens de DIRECT workflow worden getest door het monster te definiëren als 'Transport Medium' (Transportmedium)
 - Uitstrijkjes die voorbehandeld zijn volgens de VOORBEHANDELING workflow, worden getest door het specimen te definiëren als 'UserSpecified1' (Gebruiker-bepaald 1)
 - Gestabiliseerd speeksel dat voorbehandeld is volgens de DIRECT workflow, wordt getest door het specimen te definiëren als 'UserSpecified2' (Gebruiker-bepaald 2)
- Plaats een of meer NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip(s) in een of meer teststripdragers en plaats de teststripdrager(s) met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System.
- Wanneer de NeuMoDx System software hierom vraagt, voegt u de benodigde verbruiksartikelen voor het systeem (NeuMoDx Cartridges, NeuMoDx Extraction Plates, NeuMoDx Lysis Buffer 2, NeuMoDx Lysis Buffer 3, CO-RE-tips) toe aan de dragers voor verbruiksartikelen van het NeuMoDx System en laadt u de drager(s) met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System.
- Vervang het NeuMoDx Wash Reagent en het NeuMoDx Release Reagent als u de instructie hiervoor krijgt op het scherm van het NeuMoDx System.
- Indien hierom wordt gevraagd door het NeuMoDx System: verwijder het primerafval, leeg de container voor biologisch gevaarlijk afval (alleen NeuMoDx 288 Molecular System), afvalbak voor gevaarlijk tipafval (alleen NeuMoDx 96 Molecular System), of de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval (alleen NeuMoDx 96 Molecular System), zoals van toepassing.
- Laad het/de specimen(s) in een specimenbuisjesdrager en controleer of alle dopjes van de buisjes zijn verwijderd.
- Plaats de specimenbuisjesdrager(s) in het autoladerrek en plaats de drager(s) met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System. Omdat er een geldige testopdracht in het systeem aanwezig is, wordt hierdoor de verwerking van de geladen specimens voor de aangegeven tests gestart.

BEPERKINGEN

- De NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay is alleen geëvalueerd voor gebruik op NeuMoDx Molecular Systems.
- De NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay is ontwikkeld voor detectie van SARS-CoV-2-RNA in nasofaryngeale, orofaryngeale en nasale uitstrijkjes afgenomen met het Copan UTM-RT System (UTM-RT) of het BD Universal Viral Transport System (UVT), of speekselmonsters verzameld met de NeuMoDx Saliva Collection Kit. Het gebruik van de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay met andere monstertypen is niet beoordeeld en de prestatiekenmerken hiervan zijn onbekend.
- Betrouwbare resultaten zijn afhankelijk van goede afname, hantering en opslag van specimens.
- Uitstrijkjes van de neus en middelste neusschelp, en specimens van bronchoalveolaire lavages worden beschouwd als acceptabele specimentypen voor gebruik met de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, maar de prestaties met deze typen zijn nog niet vastgesteld. Het testen van uitstrijkjes van de neus en middelste neusschelp (door de patiënt zelf verzameld onder toezicht van, of verzameld door de zorgverlener) is beperkt tot patiënten met symptomen van COVID-19.
- Voor het testen van speekselmonsters mag de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay enkel worden gebruikt samen met de NeuMoDx Saliva Collection Kit.
- Foutieve resultaten kunnen worden veroorzaakt door onjuiste afname, hantering of opslag van specimens, door technische fouten of door het door elkaar halen van specimenbuisjes. Een verkeerd speekselvolume in de Specimen Stabilization Tube kan de gevoeligheid van de test verminderen. Bovendien kunnen zich vals-negatieve resultaten voordoen wanneer het aantal virusdeeltjes in het monster lager is dan de detectielimiet van de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay.
- Als zowel de SARS-CoV-2-doelwitten als het SPC2-doelwit niet amplificeert, wordt er een ongeldig resultaat (Indeterminate (Onbepaald), No Results (Geen resultaten) of Unresolved (Onbekend)) gerapporteerd en moet de test worden herhaald.
- Verwijderingen of mutaties in de gebieden waarop de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay is gericht kunnen de detectie beïnvloeden en kunnen leiden tot een foutief resultaat.
- De aanwezigheid van Crest® Pro-Health Advanced Gum Protection Toothpaste in speekselmonsters kan de detectie van SARS-CoV-2-RNA beïnvloeden en leiden tot een verkeerd resultaat.
- Een positief resultaat wijst op de aanwezigheid van SARS-CoV-2-RNA, maar niet noodzakelijk op de aanwezigheid van besmettelijk SARS-CoV-2.
- Negatieve resultaten sluiten besmetting met het SARS-CoV-2-virus niet uit en mogen niet het enige criterium zijn voor de behandeling van de patiënt of besluitvorming inzake de volksgezondheid.
- De resultaten van de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay moeten door de arts worden beschouwd als aanvulling op klinische observaties en overige beschikbare informatie.
- Gebruik de goede laboratoriumpraktijken, zoals het aantrekken van nieuwe handschoenen bij het hanteren van specimens van verschillende patiënten, om besmetting te voorkomen.

RESULTATEN

Beschikbare testresultaten kunnen worden bekeken of afgedrukt vanuit het tabblad 'Results' (Resultaten) in het venster Results (Resultaten) op het aanraakscherm van het NeuMoDx System. Een testresultaat kan Positive (Positief; POS), Negative (Negatief; NEG), Indeterminate (Onbepaald; IND), No Results (Geen resultaten, NR) of Unresolved (Onbekend; UNR) zijn op basis van de amplificatiestatus van het doel en de monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC2).

De criteria voor een positieve of negatieve uitslag zijn in het NeuMoDx SARS-CoV-2 Assaydefinitiebestand (Assay Definition File; ADF) gespecificeerd. Dit bestand is op het NeuMoDx System geïnstalleerd. Resultaten voor uitstrijkjes en speekselspecimen worden gerapporteerd op basis van het ADF-beslissingsalgoritme, zoals samengevat in onderstaande *Tabellen 1 en 2* respectievelijk.

Alle testcontroles moeten worden onderzocht voordat patiëntresultaten worden geïnterpreteerd. Indien de controles niet geldig zijn, is interpretatie van de patiëntresultaten niet mogelijk.

Tabel 1. Interpretatie resultaten NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

ALGEMEEN RESULTAAT	DOELWIT 1 (Nsp2-gen) FAM	DOELWIT 2 (N-gen) HEX	PROCESCONTROLE (SPC2) Dieprood	Interpretatie
POSITIVE (POSITIEF)	AMPLIFIED (GEAMPLIFICEERD) ($5 \leq Ct < 20$ AND (EN) $EPR \geq 1,2$ AND (EN) $EP \geq 700$) OR (OF) ($20 \leq Ct \leq 40$ AND (EN) $EP \geq 700$)	N.v.t.	N.v.t.	SARS-CoV-2-RNA gedetecteerd**
	N.v.t.	AMPLIFIED (GEAMPLIFICEERD) ($5 \leq Ct < 20$ AND (EN) $EPR \geq 1,5$ AND (EN) $EP \geq 1000$) OR (OF) ($20 \leq Ct \leq 40$ AND (EN) $EP > 1000$)		
NEGATIVE (NEGATIEF)	NOT AMPLIFIED (NIET GEAMPLIFICEERD) N.v.t. OR (OF) ($5 \leq Ct < 20$ AND (EN) $EPR < 1,2$) OR (OF) ($20 \leq Ct \leq 40$ AND (EN) $EP < 700$) OR (OF) ($Ct > 40$)	NOT AMPLIFIED (NIET GEAMPLIFICEERD) N.v.t. OR (OF) ($5 \leq Ct < 20$ AND (EN) $EPR < 1,5$) OR (OF) ($20 \leq Ct \leq 40$ AND (EN) $EP < 1000$) OR (OF) ($Ct > 40$)	AMPLIFIED (GEAMPLIFICEERD) ($24 \leq Ct \leq 33$ AND (EN) $EP \geq 1000$)	SARS-CoV-2-RNA niet gedetecteerd
IND*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Completed (Niet geamplificeerd/Systeemfouten gedetecteerd, Monsterverwerking voltooid)			Alle doelresultaten waren ongeldig; test het monster opnieuw
NR*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Aborted (Niet geamplificeerd/Systeemfouten gedetecteerd, Monsterverwerking afgebroken)			Verwerking van het monster werd afgebroken; test het monster opnieuw
UNR*	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (NIET GEAMPLIFICEERD/Geen systeemfouten gedetecteerd)			Alle doelresultaten waren ongeldig; test het monster opnieuw

*Het systeem is uitgerust met een functie voor automatische Rerun (Opnieuw uitvoeren)/Repeat (Herhalen) die de eindgebruiker kan gebruiken om ervoor te zorgen dat een IND (Onbepaald)/NR (Geen resultaten)/UNR (Onbekend) resultaat automatisch opnieuw wordt verwerkt om vertragingen in de resultaatrapportage zoveel mogelijk te beperken.

**De test moet mogelijk opnieuw worden uitgevoerd indien slechts een van de twee SARS-CoV-2-doelwitten is geamplificeerd.

Tabel 2. Interpretatie van resultaten NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay – Speekselspecimens

ALGEMEEN RESULTAAT	DOELWIT 1 (Nsp2-gen) FAM	DOELWIT 2 (N-gen) HEX	PROCESCONTROLE (SPC2) Dieprood	Interpretatie
POSITIVE (POSITIEF)	AMPLIFIED (GEAMPLIFICEERD) [5 ≤ Ct < 28 AND (EN) EP ≥ 600 AND (EN) EPR > 1,2] OR (OF) [28 ≤ Ct ≤ 40 AND (EN) EP ≥ 600]	N.v.t.	N.v.t.	SARS-CoV-2-RNA gedetecteerd**
	N.v.t.	AMPLIFIED (GEAMPLIFICEERD) [5 ≤ Ct < 28 AND (EN) EP ≥ 675 AND (EN) EPR > 1,2] OR (OF) [28 ≤ Ct ≤ 40 AND (EN) EP ≥ 675]		
NEGATIVE (NEGATIEF)	NOT AMPLIFIED (NIET GEAMPLIFICEERD) N.v.t. OR (OF) [5 ≤ Ct < 28 AND (EN) EPR ≤ 1,2] OR (OF) [28 ≤ Ct ≤ 42 AND (EN) EP < 600] OR (OF) [Ct > 40]	NOT AMPLIFIED (NIET GEAMPLIFICEERD) N.v.t. OR (OF) [5 ≤ Ct < 28 AND (EN) EPR ≤ 1,2] OR (OF) [28 ≤ Ct ≤ 42 AND (EN) EP < 675] OR (OF) [Ct > 40]	AMPLIFIED (GEAMPLIFICEERD) (24 ≤ Ct ≤ 33 AND (EN) EP ≥ 1000)	SARS-CoV-2-RNA niet gedetecteerd
IND*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Completed (Niet geamplificeerd/Systeemfouten gedetecteerd, Monsterverwerking voltooid)			Alle doelresultaten waren ongeldig; test het monster opnieuw
NR*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Aborted (Niet geamplificeerd/Systeemfouten gedetecteerd, Monsterverwerking afgebroken)			Verwerking van het monster werd afgebroken; test het monster opnieuw
UNR*	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (NIET GEAMPLIFICEERD/Geen systeemfouten gedetecteerd)			Alle doelresultaten waren ongeldig; test het monster opnieuw

*Het systeem is uitgerust met een functie voor automatische Rerun (Opnieuw uitvoeren)/Repeat (Herhalen) die de eindgebruiker kan gebruiken om ervoor te zorgen dat een IND (Onbepaald)/NR (Geen resultaten)/UNR (Onbekend) resultaat automatisch opnieuw wordt verwerkt om vertragingen in de resultaatrapportage zoveel mogelijk te beperken.

**De test moet mogelijk opnieuw worden uitgevoerd indien slechts een van de twee SARS-CoV-2-doelwitten is geamplificeerd.

Voor monsters met een differentiële amplificatiestatus kan een positief resultaat worden gerapporteerd, zodat slechts één van de doelen, Doel 1 (Nsp2-gen) of Doel 2 (N-gen), amplificeert. Dit kan het gevolg zijn van 1) een monster op een concentratie nabij of onder de detectielimiet van de test, 2) een mutatie in een van de doelgebieden of 3) andere factoren. In het geval van een positieve test waarbij slechts een van de doelwitten amplificeert, kan een herhaling van de test worden overwogen indien de SPC2-controle negatief is. Als het herhaalde resultaat hetzelfde blijft, moeten, indien dit klinisch geïndiceerd is, aanvullende bevestigingstests worden uitgevoerd.

Ongeldige resultaten

Als een NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay die met het NeuMoDx System geen geldig resultaat oplevert, wordt dit gerapporteerd als Indeterminate (Onbepaald), No Results (Geen resultaten) of Unresolved (Onbekend), afhankelijk van de fout die is opgetreden. In dat geval moet de test worden herhaald om een geldig resultaat te verkrijgen.

Een resultaat wordt gerapporteerd als Indeterminate (Onbepaald) als er een fout wordt gedetecteerd bij het NeuMoDx System tijdens de verwerking van het monster. In het geval van een Indeterminate (Onbepaald) resultaat wordt aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren.

Een resultaat wordt gerapporteerd als No Result (Geen resultaat) als er een fout wordt gedetecteerd bij het NeuMoDx System en de verwerking van het monster wordt afgebroken. In het geval van No Result (Geen resultaat) wordt aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren.

Een resultaat wordt gerapporteerd als Unresolved (Onbekend) als er geen doel is gedetecteerd en er geen amplificatie van de monsterverwerkingscontrole heeft plaatsgevonden. Dit wijst mogelijk op een reagensdefect of de aanwezigheid van remmers. In het geval van een Unresolved (Onbepaald) resultaat wordt in eerste instantie aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren. Als deze test ook een ongeldig resultaat oplevert, kan een verdund specimen worden gebruikt om het effect van mogelijke remming te verminderen.

Kwaliteitscontrole

Laboratoria zijn verantwoordelijk voor het invoeren van controleprocedures om de nauwkeurigheid en precisie van het gehele analyseproces te bewaken. Ook moet het laboratorium het aantal, type en de frequentie van testcontrolemiddelen vaststellen.

1. Controlematerialen worden niet meegeleverd met de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. De volgende controlematerialen werden echter wel gevalideerd door NeuMoDx en worden ook aanbevolen. Controles voor de test moeten geschikt zijn voor hetzelfde minimumvolume als dat van klinische monsters op basis van de grootte van de specimenbuiszender zoals hierboven vermeld.

Voor uitstrijkjes worden de volgende controles aanbevolen

- Positieve controle:
 - Gezuiverd SARS-CoV-2 genomisch RNA (Cat.nr. VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, VS) met een eindconcentratie van 5E3 cp/ml
 - Door warmte geïnactiveerd SARS-CoV-2 (Cat.nr. VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, VS) met een eindconcentratie van 5E3 cp/ml
 - 5 ml NATtrol™ SARS-CoV-2 (recombinant) Stock (bevat alleen N-gen, cat.nr. 0831042, ZeptoMetrix, Buffalo, NY, VS) in 1 ml BD UVT-medium.
- Negatieve controle: Copan/BD UVT-medium of gelijkwaardig.

Voor speeksel-specimens worden de volgende controles aanbevolen

Positieve controle: Verdun één van de volgende materialen in een mengsel van water van moleculaire kwaliteit en SSB volgens een verhouding van 1:1,67 water/SSB (v/v):

- Gezuiverd SARS-CoV-2 genomisch RNA (Cat.nr. VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, VS) met een eindconcentratie van 5E3 cp/ml
- Door warmte geïnactiveerd SARS-CoV-2 (Cat.nr. VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, VS) met een eindconcentratie van 5E3 cp/ml
- NATtrol™ SARS-CoV-2 (Recombinant) Stock (bevat alleen N-gen, cat.nr. 0831042, ZeptoMetrix, Buffalo, NY, VS) met een verdunding van 1:20.

Negatieve controle: 0,6 ml water van moleculaire kwaliteit toegevoegd aan 1 ml speekselstabilisatiebuffer (SSB), of met een verhouding van 1:1,67 water/SSB (v/v).

2. Het wordt aanbevolen dat gebruikers elke 24 uur en voorafgaand aan het verwerken van patiëntmonsters één set positieve en negatieve controles verwerken.
3. Bij het verwerken van controles, plaatst u de gelabelde controles in een specimenbuisjesdrager en plaatst u de drager vanuit het autoladerrek in het NeuMoDx System met behulp van het aanraakscherm. Het NeuMoDx System herkent de barcodes na definiëring en begint met het verwerken van controles.
4. Elke NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip bevat primers en een probe die specifiek zijn voor monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC2). Dankzij deze monsterverwerkingscontrole kan het NeuMoDx System de effectiviteit van de RNA-extractie en het RT-PCR-amplificatieproces controleren.
5. Voorafgaand aan RT-PCR voert het NeuMoDx System automatisch een 'FILL CHECK' (Vulcontrole) uit om er zeker van te zijn dat de PCR kamer gevuld is met oplossing en een voldoende hoeveelheid fluorescente probe bevat.
6. De software van het NeuMoDx System bewaakt continu de ingebouwde sensoren en actuatoren om een veilige en effectieve werking van het systeem te garanderen.
7. Door actieve bewaking van aspiratie- en doseerbewerkingen worden verschillende fluidische foutherstelmodi geïmplementeerd om ervoor te zorgen dat het systeem de verwerking van alle monsters op een veilige en effectieve manier kan voltooien of een passende foutcode weergeeft.
8. Het NeuMoDx System is uitgerust met een functie voor automatische Rerun (Opnieuw uitvoeren)/Repeat (Herhalen) die de eindgebruiker kan gebruiken om ervoor te zorgen dat een INVALID (Ongeldig) resultaat automatisch opnieuw wordt verwerkt om vertragingen in de resultaatrapportage zoveel mogelijk te beperken.
9. Een positief testresultaat dat wordt gerapporteerd voor een negatieve-controlemonster duidt op besmetting van het specimen. Raadpleeg de *Gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 288/96 Molecular System* voor advies over probleemoplossing.
10. Een negatief resultaat dat wordt gerapporteerd voor een positieve-controlemonster kan op een probleem met reagentia of het NeuMoDx System wijzen. Raadpleeg de *Gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 288/96 Molecular System* voor advies over probleemoplossing.

PRESTATIEKENMERKEN

Analytische gevoeligheid – Nasofaryngeale uitstrijkjes

De detectielimiet (Limit of Detection, LoD) voor de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay werd bepaald door het testen van een verdunningsreeks van gegroepede, negatieve klinische nasofaryngeale uitstrijkjes (Nylon Flocked Swab afgenomen in UTM [Copan Diagnostic Inc, CA] of UVT [BD, NJ]) verrijkt met SARS-CoV-2 genomisch RNA (BEI Resources NR-52285) en verwerkt met behulp van zowel DIRECT als VOORBEHANDELING workflows. Ten minste twintig replica 's van elke verdunning werden geëvalueerd voor beide NeuMoDx Systems en voor elke workflow. De LoD werd vastgesteld op **150 kopieën/ml**.

Tabel 3. Detectiepercentage en detectielimiet voor SARS-CoV-2 op het NeuMoDx 96 Molecular System: Voorbehandeling workflow

SARS-CoV-2 LoD: N96, Voorbehandeling workflow								
Doelniveau	Geldige resultaten	Positief Nsp2-gen		Detectiepercenten tage Nsp2-gen	N-gen Positive (Positief)		Detectiepercenten tage N-gen	Beide doelwitten percentage geamplificeerd
		n	Gemiddelde Ct		n	Gemiddelde Ct		
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	N.v.t.	0%	22	31,8	91,7%	0%
Negatief	30	N.v.t.		0%	0	N.v.t.	0%	0%

N96 LoD: 150 cp/mL [laagste doelniveau toont een detectiepercentage van > 95% aan voor beide doelwitten]

Tabel 4. Detectiepercentage en detectielimiet voor SARS-CoV-2 op het NeuMoDx 288 Molecular System: Voorbehandeling workflow

SARS-CoV-2 LoD: N288, Voorbehandeling workflow								
Doelniveau	Geldige resultaten	Nsp2-gen Positive (Positief)		Detectiepercenten tage Nsp2-gen	N-gen Positive (Positief)		Detectiepercenten tage N-gen	Beide doelwitten percentage geamplificeerd
		n	Gemiddelde Ct		n	Gemiddelde Ct		
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%
Negatief	20	0	N.v.t.	0%	0	N.v.t.	0%	0%

N288 LoD: 150 cp/mL [laagste doelniveau toont een detectiepercentage van > 95% aan voor beide doelwitten]

Tabel 5. Detectiepercentage en detectielimiet voor SARS-CoV-2 op het NeuMoDx 96 Molecular System: Direct workflow

SARS-CoV-2 LoD: N96, Direct workflow								
Doelniveau	Geldige resultaten	Nsp2-gen Positive (Positief)		Detectiepercenten tage Nsp2-gen	N-gen Positive (Positief)		Detectiepercenten tage N-gen	Beide doelwitten percentage geamplificeerd
		n	Gemiddelde Ct		n	Gemiddelde Ct		
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%**
Negatief	22	0		0%	0		0%	0%

N96 LoD: 150 cp/mL [laagste doelniveau toont een detectiepercentage van > 95% aan voor beide doelwitten]

*Het monster toonde bovendien een zwakke SPC2-amplificatie aan, en het gebrek aan amplificatie leek een artefact te zijn van de systeemverwerking. Dit wordt ondersteund door een detectiepercentage van 100% van dezelfde doelconcentratie in RPT-8505B (klinische evaluatie). Voor dit onderzoek werd bovendien een detectiepercentage van 100% bereikt bij de verlaagde concentraties van 250 cp/ml en 150 cp/ml.

**Bij tien van de 24 monsters werden beide doelwitten gedetecteerd bij 50 cp/ml, voor een algemeen positiviteitspercentage van 41,7%.

Tabel 6. Detectiepercentage en detectielimiet voor SARS-CoV-2 op het NeuMoDx 288 Molecular System: Direct workflow

SARS-CoV-2 LoD: N288, Direct workflow								
Doelniveau	Geldige resultaten	Nsp2-gen Positive (Positief)		Detectiepercentage Nsp2-gen	N-gen Positive (Positief)		Detectiepercentage N-gen	Beide doelwitten percentage geamplificeerd
		n	Gemiddelde Ct		n	Gemiddelde Ct		
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%
Negatief	24	0		0,0%	0		0,0%	0,0%

N288 LoD: 150 cp/mL [laagste doelniveau toont een detectiepercentage van > 95% aan voor beide doelwitten]

Analytische gevoeligheid – Speekselmonsters

De detectielimiet (Limit of Detection, LoD) voor de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay met behulp van speekselmonsters werd geëvalueerd door het testen van een verdunningsreeks van gegroepede, negatieve speekselmonsters (gemengd met NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer met een verhouding speeksel-buffer van 1:1,67) verrijkt met γ -bestraald SARS-CoV-2-virus (BEI Resources NR-52287) of SARS-CoV-2 genomisch RNA (BEI Resources NR-52285) en verwerkt met de Direct workflow. Minstens vijf replica's van elke verdunning werden geëvalueerd op de verwachte LoD, gevolgd door de verwerking ter bevestiging van minstens twintig replica's op de laagste niveaus die volledig positieve resultaten opleverden. De LoD voor genomisch RNA en γ -bestraald virus bedroeg respectievelijk **50 kopieën/ml** en **0,0075 TCID₅₀/ml**.

Tabel 7. Detectiepercentages en voorlopige detectielimiet met γ -bestraald SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 LoD; γ -bestraald SARS-CoV-2-virus								
Doelniveau	Geldige resultaten	Nsp2-gen Positive (Positief)		Detectiepercentage Nsp2-gen	N-gen Positive (Positief)		Detectiepercentage N-gen	Beide doelwitten percentage geamplificeerd
		N	Gemiddelde Ct		n	Gemiddelde Ct		
0,01 TCID ₅₀ /ml	5	5	32,8	100%	5	32,6	100%	100%
0,005 TCID ₅₀ /ml	5	5	34,0	100%	5	33,1	100%	100%
0,0025 TCID ₅₀ /ml	10	4	33,5	40%	5	32,7	50%	30%*

Voorlopige LoD – γ -bestraald virus: 0,005 TCID₅₀/ml [laagste doelniveau toont een detectiepercentage van > 95% aan voor beide doelwitten]

*Bij drie van de tien (3/10) monsters werden beide doelwitten gedetecteerd bij 0,0025 TCID₅₀/ml, voor een algemeen positiviteitspercentage van 30%

Tabel 8. Detectiepercentages en voorlopige detectielimiet met SARS-CoV-2 grNA

SARS-CoV-2 LoD; SARS-CoV-2 genomisch RNA								
Doelniveau	Geldige resultaten	Nsp2-gen Positive (Positief)		Detectiepercentage Nsp2-gen	N-gen Positive (Positief)		Detectiepercentage N-gen	Beide doelwitten percentage geamplificeerd
		N	Gemiddelde Ct		n	Gemiddelde Ct		
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%**

Voorlopige LoD – grNA: 50 cp/ml [laagste doelniveau toont een detectiepercentage van > 95% aan voor beide doelwitten]

*Bij zes van de tien (6/10) monsters werden beide doelwitten gedetecteerd bij 40 cp/ml, voor een algemeen positiviteitspercentage van 60%

**Bij vier van de tien (4/10) monsters werden beide doelwitten gedetecteerd bij 25 cp/ml, voor een algemeen positiviteitspercentage van 40%

Tabel 9. Detectiepercentages en bevestigde detectielimiet met γ -bestraald SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 LoD; γ -bestraald SARS-CoV-2-virus									
Systeem	Doelniveau	Geldige resultaten	Nsp2-gen Positive (Positief)		Detectiepercentage Nsp2-gen	N-gen Positive (Positief)		Detectiepercentage N-gen	Beide doelwitten percentage geamplificeerd
			N	Gemiddelde Ct		n	Gemiddelde 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%**
N288 LoD: 0,0075 TCID50/ml [laagste doelniveau toont een detectiepercentage van > 95% aan voor beide doelwitten] N96 LoD: 0,0075 TCID50/ml [laagste doelniveau toont een detectiepercentage van > 95% aan voor beide doelwitten]									
*Bij zeventien (17) van de twintig (20) monsters werden beide doelwitten gedetecteerd op N288, voor een algemeen positiviteitspercentage van 85% **Bij dertien (13) van de twintig (20) monsters werden beide doelwitten gedetecteerd op N96, voor een algemeen positiviteitspercentage van 65%									

Tabel 10. Detectiepercentages en bevestigde detectielimiet met SARS-CoV-2 gRNA

SARS-CoV-2 LoD; SARS-CoV-2 genomisch RNA									
Systeem	Doelniveau	Geldige resultaten	Nsp2-gen Positive (Positief)		Detectiepercentage Nsp2-gen	N-gen Positive (Positief)		Detectiepercentage N-gen	Beide doelwitten percentage geamplificeerd
			N	Gemiddelde Ct		n	Gemiddelde Ct		
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 [laagste doelniveau toont een detectiepercentage van > 95% aan voor beide doelwitten] N96 LoD: 50 cp/ml [laagste doelniveau toont een detectiepercentage van > 95% aan voor beide doelwitten]									
*Bij negentien (19) van de twintig (20) monsters werden beide doelwitten gedetecteerd op N96, voor een algemeen positiviteitspercentage van 95%									

Inclusiviteit

De inclusiviteit van de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay werd geëvalueerd met *in silico*-analyse door middel waarvan de primers en probes van de assay werden toegekend aan alle SARS-CoV-2-sequenties (n = 96) in de NCBI-database vanaf 14 maart 2020. De regio's van de primers en probes van de test werden vergeleken door middel van *in silico*-analyse om de sequentiehomologie te verifiëren met circulerende SARS-CoV-2-stammen. De NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay vertoonde 100% homologie op alle sequenties behalve één sequentie voor het Nsp2-gen (Doelwit 1). Deze ene sequentie bleek een enkele nucleotide mismatch te hebben in de forward primer, waarbij geen invloed op de prestaties van de assay werd voorzien. De homologie tussen de N-gen (Doelwit 2)-primers en probe bleek voor alle beschikbare sequenties 100% te zijn.

Kruisreactiviteit/microbiële interferentie

De NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay werd *in silico* geëvalueerd op mogelijke kruisreacties met de micro-organismen die opgenomen zijn in *tabel 11* door het afzonderlijk toekennen van de primers en probes van de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay aan sequenties in de NCBI-database. Geen van de geanalyseerde sequenties vertoonde homologie voor de primers of probe van het Nsp2-gen (Doelwit 1). *Haemophilus influenzae* (CP000672.1) vertoonde homologie met de forward primer van het N-gen (Doelwit 2), maar vertoonde geen significante homologie met de reverse primer en probe. Ook SARS-coronavirus (AY345986.1) vertoonde homologie voor de forward primer en probe van het N-gen, maar geen significante homologie voor de reverse primer. *Pseudomonas aeruginosa* (CP000438.1) toonde homologie aan voor de forward SPC2-primer maar voor geen enkele van de SARS-CoV-2-doelwitten. De *in silico*-analyse toonde daarom geen waarschijnlijke kruisreactiviteit op een van de geëvalueerde sequenties. Er werden verdere testen uitgevoerd om te bevestigen dat *H. influenzae* en *P. aeruginosa* geen risico vertoonden op kruisreactiviteit of microbiële interferentie. De resultaten hiervan staan vermeld in *tabel 12* en *13*.

Tabel 11. *In silico*-analyse voor kruisreactieve organismen

Organisme	NCBI GenBank-registratienummer(s)	Organisme	NCBI GenBank-registratienummer(s)
Humaan coronavirus 229E	KF514433.1	Influenza B	MK969560.1
	KF514432.1	Enterovirussen	JF896312.1
Humaan coronavirus OC43	KX344031.1	Respiratoir-syncytiumvormend virus	JN032120.1
	KF530099.1	Rhinovirus	NC_001490.1
Humaan coronavirus HKU1	KF430201.1	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	NZ_LN847241.1
	MH940245.1	<i>Haemophilus influenzae</i>	CP000672.1
Humaan coronavirus NL63	KF530114.1	<i>Legionella pneumophila</i>	CP015928.1
	KF530113.1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	AP018036.1
SARS-coronavirus	AY686863.1	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	CP027540.1
		<i>Streptococcus pyogenes</i>	AE009949.1
MERS-coronavirus	MH013216.1	<i>Bordetella pertussis</i>	CP011448.1
Adenovirus	AC_000017.1	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	CP039772.1
Humaan Metapneumovirus (hMPV)	KJ627437.1	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	MH010446.1
Parainfluenza virus 1	KX639498.1	<i>Candida albicans</i>	NC_018046.1
Parainfluenza virus 2	KM190939.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CP000438.1
Parainfluenza virus 3	KF530243.1	<i>Staphylococcus epidermis</i>	KY750253.1
Parainfluenza virus 4	KF483663.1	<i>Streptococcus salivarius</i>	CP020451.2
Influenza A	MH798556.1		

Tabel 12. Testen op kruisreactiviteit en interferentie voor *H. Influenzae*

MONSTER		Geldige resultaten	# Positief N-gen	% positieve N-genen (Geel)	Ct-gemiddeld N-gen	Aantal positieve Nsp2-genen	% positieve Nsp2-genen (Groen)	Ct-gemiddeld Nsp2-gen	SPC2 Ct-gemiddeld
Kruisreactiviteit	Onverdunde UVT (controle-negatief)	3	0	0%	N.v.t.	0	0%	N.v.t.	27,7
	UVT + <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 CFU/ml)	3	0	0%	N.v.t.	0	0%	N.v.t.	28,3
Verstoring	Onverdunde UVT + SARS-CoV-2 RNA (750 kopieën/ml) (controle-positief)	3	3	100%	32,03	3	100%	34,05	27,8
	UVT + <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 CFU/ml) + SARS-CoV-2 RNA (750 kopieën/ml)	3	3	100%	32,45	3	100%	33,98	27,7

Tabel 13. Testen op kruisreactiviteit en interferentie voor *P. aeruginosa*

MONSTER		Geldige resultaten	N-gen (HEX)			Nsp2-gen (FAM)			SPC2 (Dieprood)
			Pos	% Pos	Gem. Ct	Pos	% Pos	Gem. Ct	Gem. Ct
Kruisreactiviteit	UVT + <i>P. aeruginosa</i> (1 ⁶ CFU/ml)	3	0	0%	N.v.t.	0	0%	N.v.t.	27,5
Verstoring	Onverdunde UVT-controle	3	3	100%	30,3	3	100%	32,0	26,9
	Positive (Positief)								
	UVT + <i>P. aeruginosa</i> (1 ⁶ CFU/ml) + SARS-CoV-2 RNA (450 kopieën/ml)	3	3	100%	30,4	3	100%	32,0	27,0

Interfererende stoffen – Nasofaryngeale uitstrijkjes

De NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay werd geëvalueerd op gevoeligheid voor interferentie veroorzaakt door stoffen die mogelijk geassocieerd zijn met de afname van nasofaryngeale uitstrijkjes. Resterende klinische negatieve nasofaryngeale uitstrijkjes werden verrijkt met SARS-CoV-2 genomisch RNA (BEI Resources NR-52285) op 5X LoD en verwerkt in de aanwezigheid en afwezigheid van de middelen die zijn vermeld in onderstaande tabel 14. Geen van de in de test opgenomen stoffen had een nadelig effect op de testprestaties.

Tabel 14. Stoffen die zijn getest op interferentie

		Stof	Concentratie*
Endogeen		Mucine	0,5% (w/v)
		Bloed	2% (v/v)
Exogeen		Afrin® Original (oxymetazoline)	15% (v/v)
		Zicam® Cold Remedy Nasal Spray	5% (v/v)
		Flonase® Allergy Relief (fluticasone)	5% (v/v)
		Beclomethason	10 mg/ml
		Mupirocine	11,4 mg/ml
		Relenza® (zanamivir)	5,25 mg/ml
		Tamiflu® (oseltamivir)	7,5 mg/ml
	Tobramycine	1,8 mg/ml	

*Opmerking: De getoonde concentraties zijn degene die worden gebruikt om uitstrijkjes te verzaadigen vóór het doseren van een interfererende stof aan kunstmatige positieve klinische monsters. Ze zijn daarom representatief voor het niveau op de locatie van de afname van het uitstrijkje dat getolereerd kan worden.

Interfererende stoffen – Speekselmonsters

De NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay werd geëvalueerd op gevoeligheid voor interferentie veroorzaakt door stoffen die mogelijk geassocieerd zijn met de afname van speekselmonsters. Gegroeped negatief speeksel werd verrijkt met γ -bestraald SARS-CoV-2-virus (BEI Resources NR-52287) op 10X LoD, voorbereid met de NeuMoDx Saliva Collection Kit, en verwerkt in aan- en afwezigheid van de middelen getoond in onderstaande tabel 15. Geen van de in de test opgenomen stoffen had een nadelig effect op de testprestaties bij de gegeven concentraties.

Tabel 15. Stoffen getest op interferentie – Speekselmonsters

	Stof	Concentratie
Endogeen	Volbloed	1% v/v
	Altoids™ (Spearmint)	2% w/v
Exogeen	Aspirin™	1% w/v
	LISTERINE® Ultra-clean Antiseptic Mouthwash	1% v/v
	Halls™ Cough Drop (Mentho-Lyptus)	1% w/v
	Crest Pro-Health Advanced Gum Protection	0,001% w/v*
	Wal-Tussin® DM Max Cough Syrup	1% v/v

*De concentratie van deze stof werd gerapporteerd als het resultaat van een dosisresponsstudie van 0,1%, waaruit bleek dat hij remmend was.

Reproduceerbaarheid

De intralaboratorium-reproduceerbaarheid van de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay werd geverifieerd door retrospectieve analyse van de prestaties met behulp van negatieve en kunstmatige positieve klinische nasofaryngeale uitstrijkjes. De gegevens die zijn opgenomen in tabel 16a-c geven de tests weer die door meerdere gebruikers in een periode van drie dagen op twee instrumenten zijn uitgevoerd. Zowel de resultaten van monsters bereid met de DIRECT als de VOORBEHANDELING workflow worden weergegeven.

Tabel 16a. Totale reproduceerbaarheid en precisie van NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

SARS-CoV-2-concentratie (cp/ml)	N	N-doel			Nsp2-doel			SPC2		
		% Positief	Ct Gem	Ct %CV	% Positief	Ct Gem	Ct %CV	% Positief	Ct Gem	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%	N.v.t.	N.v.t.	0%	N.v.t.	N.v.t.	100%	27,5	2,6%

Tabel 16b. Reproduceerbaarheid en precisie van NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Doelwit	Concentratie (cp/ml)	NeuMoDx 288 Molecular System				NeuMoDx 96 Molecular System			
		N	% Positief	Ct Gem	Ct %CV	N	% Positief	Ct Gem	Ct %CV
N-doel	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%
Nsp2-doel	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%

Tabel 16c. Totale reproduceerbaarheid en precisie van NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Doelwit	Concentratie (cp/ml)	DIRECT workflow				VOORBEHANDELING workflow			
		N	% Positief	Ct Gem	Ct %CV	N	% Positief	Ct Gem	Ct %CV
N-doel	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%
Nsp2-doel	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%

Klinische prestaties

a. Testen van kunstmatige specimens – Nasofaryngeale uitstrijkjes

De prestatie van de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay met residuele klinische nasofaryngeale uitstrijkjes (Nylon Flocked Swab afgenomen in UTM [Copan Diagnostic Inc, CA] of UVT [BD, NJ]) werd geëvalueerd met een panel van 82 negatieve klinische monsters en 87 kunstmatige positieve klinische monsters die eerder werden ingediend voor het testen op influenza- en/of respiratoir syncytieel virus bij patiënten met tekenen en symptomen van bovenste luchtweginfectie. Positieve kunstmatige monsters werden voorbereid door verrijking van SARS-CoV-2 genomisch RNA (BEI Resources NR-52285) in negatieve klinische monsters. Van de 87 kunstmatige positieve monsters waren er 57 in concentraties 1-2X LoD en 30 in concentraties 4-8X LoD. De verwerking van monsters werd uitgevoerd met behulp van zowel DIRECT als VOORBEHANDELING workflows op beide NeuMoDx Systems.

Alle positieve monsters werden positief gerapporteerd en alle negatieve monsters werden negatief gerapporteerd, zoals weergegeven in tabellen 17-20.

Tabel 17. Voorbehandelde uitstrijkjes uitsluitend op NeuMoDx 288 Molecular System

Voorbehandeling workflow: NeuMoDx 288 Molecular System					
Monsterconcentratie	n	Doelwit 1 (Nsp2-gen)		Doelwit 2 (N-gen)	
		% positief (tweezijdig 95% BI)	Gemiddeld e Ct	% positief (tweezijdig 95% BI)	Gemiddeld e Ct
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
Negatief	29	0 (N.v.t.)	N.v.t.	0 (N.v.t.)	N.v.t.
Prestatie ten opzichte van de verwachte resultaten is: Percentage positieve overeenstemming 44/44 = 100% (95% BI: 91,9%-100%) Percentage negatieve overeenstemming 29/29 = 100% (95% BI: 88,2%-100%)					

Tabel 18. Voorbehandelde uitstrijkjes uitsluitend op NeuMoDx 96 Molecular System

Voorbehandeling workflow: NeuMoDx 96 Molecular System					
Monsterconcentratie	n	Doelwit 1 (Nsp2-gen)		Doelwit 2 (N-gen)	
		% positief (tweezijdig 95% BI)	Gemiddeld e Ct	% positief (tweezijdig 95% BI)	Gemiddeld e Ct
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
Negatief	20	0 (N.v.t.)	N.v.t.	0 (N.v.t.)	N.v.t.
Prestatie ten opzichte van de verwachte resultaten is: Percentage positieve overeenstemming 22/22 = 100% (95% BI: 85,0%-100%) Percentage negatieve overeenstemming 20/20 = 100% (95% BI: 83,8%-100%)					

Tabel 19. Uitstrijkjes uit Direct workflow uitsluitend op NeuMoDx 288 Molecular System

Direct workflow: NeuMoDx 288 Molecular System					
Monsterconcentratie	n	Doelwit 1 (Nsp2-gen)		Doelwit 2 (N-gen)	
		% positief (tweezijdig 95% BI)	Gemiddeld e Ct	% positief (tweezijdig 95% BI)	Gemiddeld e Ct
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
Negatief	33	0 (N.v.t.)	N.v.t.	0 (N.v.t.)	N.v.t.
Prestatie ten opzichte van de verwachte resultaten is: Percentage positieve overeenstemming 46/46 = 100% (95% BI: 92,2%-100%) Percentage negatieve overeenstemming 33/33 = 100% (95% BI: 89,5%-100%)					

Tabel 20. Uitstrijkjes uit Direct workflow uitsluitend op NeuMoDx 96 Molecular System

Direct workflow: NeuMoDx 96 Molecular System					
Monsterconcentratie	n	Doelwit 1 (Nsp2-gen)		Doelwit 2 (N-gen)	
		% positief (tweezijdig 95% BI)	Gemiddeld e Ct	% positief (tweezijdig 95% BI)	Gemiddeld e Ct
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
Negatief	0	0 (N.v.t.)	N.v.t.	0 (N.v.t.)	N.v.t.
Prestatie ten opzichte van de verwachte resultaten is: Percentage positieve overeenstemming 23/23 = 100% (95% BI: 85,6%-100%) Percentage negatieve overeenstemming N.v.t.					

b. Testen van kunstmatige specimens – Speekselmonsters

De prestatie van de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay met speekselmonsters (voorbereid met de NeuMoDx Saliva Collection Kit) werd geëvalueerd met een panel van 36 negatieve donormonsters. Elk monster van een gezonde donor werd gebruikt om een negatief en kunstmatig positief monster te bereiden door γ -bestraald SARS-CoV-2-virus (BEI Resources NR-52287) te verrijken, wat een totaal van 72 monsters voor de tests opleverde. Van de 36 kunstmatige positieve monsters waren er 28 in concentraties 1,5-2X LoD, 4 in concentraties 10X LoD en 4 in concentraties 20X LoD. De monsters werden verwerkt volgens de workflow UserSpecified-2 (Gebruikergespecificeerd-2). Alle positieve monsters werden positief gerapporteerd en alle negatieve monsters werden negatief gerapporteerd, zoals weergegeven in *tabel 21*.

Tabel 21. Speekselmonsters op NeuMoDx 288 Molecular System

Monsterconcentratie	n	Doelwit 1 (Nsp2-gen)		Doelwit 2 (N-gen)	
		% positief (tweezijdig 95% BI)	Gemiddelde Ct	% positief (tweezijdig 95% BI)	Gemiddelde Ct
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
Negatief	35	0 (N.v.t.)	N.v.t.	0 (N.v.t.)	N.v.t.
Prestatie ten opzichte van de verwachte resultaten is: Nsp2-gen percentage positieve overeenstemming 34/35 = 97,1% (95% BI: 85,5%-99,5%) Nsp2-gen percentage negatieve overeenstemming 35/35 = 100% (95% BI: 90,1%-100%) N-gen percentage positieve overeenstemming 35/35 = 100% (95% BI: 90,1%-100%) N-gen percentage negatieve overeenstemming 35/35 = 100% (95% BI: 90,1%-100%) Totaal percentage positieve overeenstemming 35/35 = 100% (95% BI: 90,1%-100%) Totaal percentage negatieve overeenstemming 35/35 = 100% (95% BI: 90,1%-100%)					

c. Testen van klinische specimens – Nasofaryngeale uitstrijkjes

De prestatie van de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay werd ook geëvalueerd met klinische specimens. Overblijvende geanonimiseerde klinische nasofaryngeale uitstrijkjes (NP) van symptomatische patiënten werden afgenomen met gevlokte minitip-wattenstaafjes in 3 ml BD Universal Viral Transport Medium (BD UVT). De specimens werden voor de SARS-CoV-2-evaluatie naar twee externe testlocaties gestuurd, die deze specimens vergeleken met tests die eerder waren geautoriseerd door de Amerikaanse FDA voor noodgevallen. Het testen met de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay vond plaats op één interne en één externe testlocatie. In totaal werden 40 monsters verwerkt met de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. Een aantal monsters werd verwerkt op zowel de N288 als de N96 NeuMoDx Systems, met toepassing van beide workflows VOORBEHANDELING en DIRECT. De resultaten van de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay kwamen volledig overeen met de vergelijkbare assayresultaten voor alle klinische monsters die waren getest in dit methodevergelijkend onderzoek (tabellen 22 en 23).

Tabel 22. Resultaten van kwalitatieve methodevergelijking voor de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay op NeuMoDx Molecular Systems t.o.v. referentietests – VOORBEHANDELING workflow

N96 en N288 Voorbehandeling		Vergelijkbare assay(s)		
		Pos	Neg	Totaal
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Pos	25	0	25
	Neg	0	15	15
	Totaal	25	15	40
Klinische gevoeligheid 100% (95% BI 86,6-100%)				
Klinische specificiteit 100% (95% BI 79,5-99,9%)				

Tabel 23. Kwalitatieve methode-vergelijkingsresultaten voor de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay t.o.v. referentietesten – DIRECT workflow

(a) op het NeuMoDx 288 Molecular System (N288) en (b) op het NeuMoDx 96 Molecular System (N96)

(a)

(b)

N288 Direct		Vergelijkbare assay(s)		
		Pos	Neg	Totaal
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Pos	10	0	10
	Neg	0	9	9
	Totaal	10	9	19
Klinische gevoeligheid 100% (95% BI 72,1-99,9%)				
Klinische specificiteit 100% (95% BI 69,9-99,9%)				

N96 Direct		Vergelijkbare assay(s)		
		Pos	Neg	Totaal
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Pos	5	0	5
	Neg	0	6	6
	Totaal	5	6	11
Klinische gevoeligheid 100% (95% BI 56,4-99,9%)				
Klinische specificiteit 100% (95% BI 60,8-99,9%)				

d. Testen van klinische specimens – Speekselmonsters

De prestatie van de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay met speekselmonsters (voorbereid met de NeuMoDx Saliva Collection Kit) werd geëvalueerd met 112 geanonimiseerde gekoppelde speekselmonsters en nasofaryngeale uitstrijkjes (NP), die achtereenvolgens prospectief werden afgenomen of residueel (ook achtereenvolgens afgenomen) van dezelfde persoon. NeuMoDx Saliva Collection Kits werden gebruikt voor de prospectieve afname van speekselmonsters, terwijl de residuele speekselmonsters werden afgenomen in flacons zonder conserveringsmiddelen die werden opgeslagen op vriestemperaturen van -80 °C tot het testen met NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer. De NP-uitstrijkjes werden afgenomen met gevlokte minitip-wattenstaafjes in 3 ml BD Universal Viral Transport Medium (BD UVT). Alle speekselmonsters en de meeste nasofaryngeale uitstrijkjes (NP) werden getest met de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay en een combinatie van N288 en N96 NeuMoDx Systems. De restanten van NP-specimens werden verwerkt met andere door EUA goedgekeurde vergelijkende tests. Het testen vond plaats op één interne en twee externe testlocaties. In totaal werd een positieve en negatieve overeenstemming met de referentietestresultaten > 95% aangetoond voor NP-uitstrijkjes voor de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay met speekselmonsters, zoals weergegeven in tabel 24.

Tabel 24. Resultaten van kwalitatieve methodevergelijking voor de NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay met speekselspecimens t.o.v. NP-uitstrijkjes

Kwalitatieve overeenstemming		NP-uitstrijkjes		
		Pos	Neg	Totaal
Speekselspecimens	Pos	41	2	43
	Neg	2	67	69
	Totaal	43	69	112
Klinische gevoeligheid 95,4% (84,5%-98,7%)				
Klinische specificiteit 97,1% (90,0%-99,2%)				

LITERATUUR









- 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.

HANDELSMERKEN

NeuMoDx™ en NeuDry™ zijn handelsmerken van NeuMoDx Molecular, Inc.
 Afrin® is een gedeponeerd handelsmerk van Bayer AG
 Altoids™ is een handelsmerk van Callard and Bowser Limited
 Aspirin™ is een gedeponeerd handelsmerk van Bayer AG
 BD™ is een handelsmerk van Becton, Dickinson and Company
 Crest® Pro-Health is een gedeponeerd handelsmerk van Procter and Gamble Company
 Flonase® is een gedeponeerd handelsmerk van GlaxoSmithKline plc
 Halls™ is een handelsmerk van de Mondelēz International Group
 Hamilton® is een gedeponeerd handelsmerk van Hamilton Company
 Listerine® is een gedeponeerd handelsmerk van Johnson & Johnson
 Relenza® is een gedeponeerd handelsmerk van GlaxoSmithKline plc
 Tamiflu® is een gedeponeerd handelsmerk van Genentech USA, Inc.
 TaqMan® is een gedeponeerd handelsmerk van Roche Molecular Systems, Inc.
 UTM-RT® is een gedeponeerd handelsmerk van Copan Diagnostics, Inc.
 Wal-Tussin® is een gedeponeerd handelsmerk van Walgreens Company
 Zicam® is een gedeponeerd handelsmerk van Matrixx Initiatives, Inc.

Alle andere productnamen, handelsmerken en gedeponeerde handelsmerken die in dit document kunnen voorkomen, zijn eigendom van hun respectieve eigenaars.

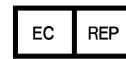
LIJST MET SYMBOLEN

R only	Gebruik uitsluitend op voorschrift		Temperatuurbeppering
	Fabrikant		Niet hergebruiken
IVD	<i>In-vitro</i> diagnostisch medisch hulpmiddel		Inhoud voldoende voor <n> tests
EC REP	Geautoriseerde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap		Raadpleeg de gebruikshandleiding
REF	Catalogusnummer		Voorzichtig
LOT	Batchcode		Biologische risico's
	Uiterste gebruiksdatum	CE	CE-markering



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

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



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
Nederland



Technische ondersteuning/alersheidsmeldingen: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents