

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

R only

VORSICHT: Nur für den US-Export

IVD Nur zur Verwendung mit dem NeuMoDx 288 Molecular System und dem NeuMoDx 96 Molecular System in der *In-vitro*-Diagnostik vorgesehen



Elektronische Version verfügbar unter www.qiaagen.com/neumodx-ifu.

Detaillierte Anleitungen sind dem Benutzerhandbuch für das NeuMoDx 288 Molecular System, Teile-Nr. 40600108, zu entnehmen.
Detaillierte Anleitungen sind dem Benutzerhandbuch für das NeuMoDx 96 Molecular System, Teile-Nr. 40600317, zu entnehmen.

VERWENDUNGSZWECK

Der NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay ist ein multiplexierter, *in-vitro*-diagnostischer Echtzeit-RT-PCR-Test für den gleichzeitigen qualitativen Nachweis und die Differenzierung der RNA von Influenza-A-Virus (Flu A), Influenza-B-Virus (Flu B), respiratorischem Synzytial-Virus (RSV) und SARS-CoV-2 aus in Transportmedium entnommenen nasopharyngealen (NP) Abstrichproben von Personen mit Anzeichen und Symptomen einer influenzaartigen Erkrankung.

Der auf dem NeuMoDx 288 Molecular System und dem NeuMoDx 96 Molecular System durchgeführte NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay umfasst die automatische RNA-Extraktion zur Isolierung der Zielnukleinsäuren aus der Probe sowie die Echtzeit-RT-PCR, die im Fall von Flu A und RSV auf jeweils eine einzelne konservierte Region und im Fall von SARS-CoV-2 und Flu B auf zwei konservierte Regionen abzielt.

Die Ergebnisse dieses Tests sollten nicht als alleinige Grundlage für eine Diagnose, eine Behandlung oder andere das Patientenmanagement betreffende Entscheidungen herangezogen werden. Positive Ergebnisse deuten auf das Vorhandensein von SARS-CoV-2- und/oder Flu-A- und/oder Flu-B- und/oder RSV-RNA hin, schließen aber eine bakterielle Infektion oder eine Koinfektion mit anderen Viren nicht aus. Zur Bestimmung des Infektionsstatus eines Patienten ist eine klinische Korrelation mit der Krankengeschichte und weiteren Diagnoseinformationen erforderlich.

Negative Ergebnisse schließen eine Infektion mit Flu A, Flu B, RSV oder SARS-CoV-2 nicht aus und sollten nicht als alleinige Grundlage für eine Diagnose, eine Behandlung oder andere das Patientenmanagement betreffende Entscheidungen herangezogen werden. Negative Ergebnisse müssen im Zusammenhang mit klinischen Beobachtungen, der Krankengeschichte des Patienten und/oder epidemiologischen Informationen interpretiert werden.

Der NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay ist für die Verwendung durch ausgebildetes Kliniklaborpersonal vorgesehen, das speziell in den Techniken der Echtzeit-RT-PCR und für *in-vitro*-diagnostische Methoden und/oder die NeuMoDx Molecular Systeme geschult wurde. Der NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay ist nicht für Selbsttests oder die Verwendung am Point of Care vorgesehen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Der NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay ist ein qualitativer Assay für den Einsatz auf den Gerätesystemen NeuMoDx 96 und NeuMoDx 288 zum Nachweis von SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B und/oder RSV-RNA in nasopharyngealen Abstrichen. Der Assay differenziert nicht zwischen RSV-A- und RSV-B-RNA. Nasopharyngeale Abstrichproben werden in Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) (Copan UTM-RT, Copan, CA, USA) oder mit dem BD™ Universal Viral Transport System (UVT) (BD™ UVT, BD, NJ, USA) entnommen. Der Test arbeitet mit einer internen RNA-Probenprozesskontrolle (SPC2), die während der Probenvorbereitung zugesetzt wird und der Überwachung des gesamten Prozesses aus Probenvorbereitung, reverser Transkription und PCR-Amplifikation dient. Der NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay kann je nach den Anforderungen des Labors mit bis zu zwei verschiedenen Workflows zur Probenvorbereitung durchgeführt werden, einem direkten Workflow und einem Workflow mit Vorbehandlung. Das NeuMoDx Molecular System führt automatisch alle Schritte durch, die erforderlich sind, um die Zielnukleinsäuren zu extrahieren, die isolierte RNA für die Echtzeit-Reverse-Transkriptase-Polymerasekettenreaktion (RT-PCR) vorzubereiten und, falls die entsprechende RNA vorhanden ist, diese revers zu transkribieren, zu amplifizieren und die Amplifikationsprodukte nachzuweisen. Der NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay zielt auf die konservierten Regionen des Nsp2- und des O-Ribose-Methyltransferase-Gens von SARS-CoV-2, Regionen des Matrixprotein-Gens im Genom des Influenza-A-Virus und des respiratorischen Synzytial-Virus sowie Regionen des Matrixprotein-Gens und des Gens für das Nichtstrukturprotein NS1 im Genom des Influenza-B-Virus ab.

PRINZIPIEN DES VERFAHRENS

Der derzeitige Stand der Technik für den Nachweis einer akuten Infektion mit FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 ist die Nukleinsäure-Amplifikation konservierter Regionen im Genom des Zielorganismus, die mit der vom NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay verwendeten Echtzeit-Reverse-Transkriptase-PCR übereinstimmt, wie sie auf dem NeuMoDx 288 Molecular System und NeuMoDx 96 Molecular System durchgeführt wird.

Der NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay kombiniert die automatisierte RNA-Extraktion und die Amplifikation/den Nachweis von SARS-CoV-2-, Flu-A-, Flu-B- und/oder RSV-RNA mittels Echtzeit-RT-PCR. Nasopharyngeale Abstrichproben werden mit dem Copan UTM-RT System oder dem BD™ UVT System entnommen. Beim Workflow „Direct“ (Direkt) kann das primäre Abstrichnahmeröhrchen oder ein Aliquot des Transportmediums in einem sekundären Röhrchen direkt mit Barcode versehen und für die Verarbeitung in das NeuMoDx System geladen werden. Alternativ kann die Abstrichprobe in Transportmedium zunächst mit einem identischen Volumen NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) behandelt werden, bevor sie ohne weitere Schritte auf das System geladen wird. Das NeuMoDx System aspiriert automatisch entweder ein Aliquot der Probe und mischt dieses mit NeuMoDx Lysis Buffer 3 (Workflow „Direct“ (Direkt)) oder ein Aliquot der vorbehandelten Probe und mischt dieses mit Lysis Buffer 2 und den in der NeuMoDx Extraction Plate enthaltenen Reagenzien und startet anschließend die Verarbeitung. Beim Workflow „Direct“ (Direkt) wird das primäre Entnahmeröhrchen (ohne Wattestäbchen und Deckel) oder ein Aliquot des Probenmediums in einem Sekundäröhrchen mit Barcode versehen und unter Verwendung eines speziellen Probenöhrchenträgers in das NeuMoDx System geladen. Beim Workflow „Pretreated“ (Vorbehandelt) wird die Probe in Transportmedium zunächst mit einem identischen Volumen an NeuMoDx VVLB behandelt, bevor sie auf das System geladen wird. Beim Workflow „Direct“ (Direkt) wird ein 400-µl-Aliquot der Probe durch das NeuMoDx System aspiriert und mit einem identischen Volumen an NeuMoDx Lysis Buffer 3 gemischt, während beim Workflow „Pretreated“ (Vorbehandelt) 550 µl der vorbehandelten Probe mit einem identischen Volumen an Lysis Buffer 2 kombiniert werden. Das NeuMoDx System automatisiert und integriert

die RNA-Extraktion und -Konzentration, die Reagenz Vorbereitung und die Nukleinsäureamplifikation/den Nachweis der Zielsequenzen mittels Echtzeit-RT-PCR. Die Probenprozesskontrolle (Sample Process Control, SPC2) unterstützt die Überwachung auf das Vorhandensein von inhibitorischen Substanzen und von System-, Prozess- oder Reagenzfehlern. Es ist kein Bedieneingriff erforderlich, sobald die Probe in das NeuMoDx System geladen wurde.

Das NeuMoDx System verwendet eine Kombination aus Wärme, lytischem Enzym und Extraktionsreagenzien, um automatisch Lyse, RNA-Extraktion und die Entfernung von Inhibitoren durchzuführen. Die freigesetzten Nukleinsäuren werden von paramagnetischen Partikeln erfasst. Die Partikel werden zusammen mit den gebundenen Nukleinsäuren in die NeuMoDx Cartridge geladen, wo die ungebundenen Elemente mit NeuMoDx Wash Reagent ausgewaschen werden. Die gebundene RNA wird dann mit NeuMoDx Release Reagent eluiert. Das NeuMoDx System verwendet die eluierte RNA zur Rehydrierung proprietärer NeuDry™ Amplifikationsreagenzien, die alle für die Amplifikation der Flu-A-, Flu-B-, RSV-, SARS-CoV-2- und SPC2-Zielsequenzen erforderlichen Elemente enthalten. Auf diese Weise können Amplifikation und Nachweis aller Ziel- und Probenprozesskontroll-RNA-Sequenzen gleichzeitig erfolgen. Nach der Rekonstitution der RT-PCR-Trockenreagenzien dispensiert das NeuMoDx System die vorbereitete RT-PCR-fertige Mischung in eine PCR-Kammer (pro Probe) der NeuMoDx Cartridge. Reverse Transkription, Amplifikation und Nachweis der Kontroll- und Zielsequenzen (falls vorhanden) erfolgen in der PCR-Kammer. Die NeuMoDx Cartridge ist dafür konzipiert, das generierte Amplifikat nach der RT-PCR zu enthalten, wodurch das Kontaminationsrisiko nach Amplifikation nahezu eliminiert wird.

Die amplifizierten Ziele werden in Echtzeit anhand von Hydrolyse-Sonden-Chemie (allgemein als TaqMan® Chemie bezeichnet) nachgewiesen, wobei fluorogene Oligonukleotidsondenmoleküle angewendet werden, die spezifisch für die Amplifikate ihrer jeweiligen Ziele sind. TaqMan Sonden bestehen aus einem Fluorophor, das kovalent am 5'-Ende der Oligonukleotidsonde gebunden ist, und einem Quencher am 3'-Ende. Bei intakter Sonde führt die Nähe des Fluorophors zum Quencher dazu, dass das Quencher-Molekül die Fluoreszenz des Fluorophors durch Förster-Resonanzenergietransfer (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) unterdrückt.

TaqMan Sonden sind so konzipiert, dass sie sich an einen cDNA-Bereich, der durch einen spezifischen Satz von Primern amplifiziert wurde, anlagern. Während die Taq-DNA-Polymerase den Primer verlängert und den neuen Strang synthetisiert, sorgt die 5'-3'-Exonuklease-Aktivität der Taq-DNA-Polymerase für den Abbau der Sonde, die sich an das Template angelagert hat. Der Abbau der Sonde setzt das Fluorophor frei und der Abstand zum Quencher wird größer. Dadurch wird der Löscheffekt durch FRET aufgehoben und das Fluorophor kann nachgewiesen werden. Die Intensität des resultierenden Fluoreszenzsignals, das im RT-PCR-Thermocycler des NeuMoDx Systems detektiert wird, ist direkt proportional zum freigesetzten Fluorophor und kann zur Menge der vorhandenen Zielsequenz in Beziehung gesetzt werden.

Die Fluoreszenzdetektionskanäle für die einzelnen NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assayziele sind in der nachstehenden Tabelle aufgeführt. Die NeuMoDx System Software überwacht das von den TaqMan Sonden am Ende jedes Amplifikationszyklus abgegebene Fluoreszenzsignal. Nach Abschluss des Thermocycling analysiert die NeuMoDx System Software die Daten und gibt ein Ergebnis aus (POSITIVE (Positiv)/NEGATIVE (Negativ)/INDETERMINATE (Unbestimmt)/NO RESULT (Kein Ergebnis)/UNRESOLVED (Offen)).

Tabelle 1. Detektionskanäle

Ziel	Zielregion	Sondenfluorophor	Anregung/Emission	Detektionskanal
Influenza A	Matrixprotein	FAM	530/555 nm	Green (Grün)
Influenza B	Matrixprotein	HEX	470/510 nm	Yellow (Gelb)
	Nichtstrukturprotein NS1			
SARS-CoV-2	Nsp2-Gen	Texas Red	585/610 nm	Orange
	O-Ribose-Methyltransferase			
Respiratorisches Synzytial-Virus	Matrixprotein	Q705	680/715 nm	Far Red (Dunkelrot)
SPC2	Assemblierungsprotein (MS2)	Q670	625/660 nm	Red (Rot)

REAGENZIEN/VERBRAUCHSMATERIALIEN

Bereitgestelltes Material

REF	Inhalt	Einheiten pro Packung	Tests pro Einheit	Tests pro Packung
300901	NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip <i>RT-PCR-Trockenreagenzien, die Flu-A-/Flu-B-/RSV-/SARS-CoV-2-spezifische TaqMan Sonden und Primer sowie SPC2-spezifische TaqMan Sonden und Primer enthalten. Enthält 21,1 % Tris-HCl, 8,4 % dNTP und andere inaktive Inhaltsstoffe</i>	6	16	96

Benötigte, aber nicht bereitgestellte Materialien (separat bei NeuMoDx erhältlich)

REF	Inhalt
901200	NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls Satz aus Flu-A-/Flu-B-/RSV-/SARS-CoV-2-Positiv- und Negativkontrollen zum Einmalgebrauch, zum täglichen Nachweis der Gültigkeit des NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assays (1 Fläschchen pro Kontrolle = 1 Satz)
100200	NeuMoDx Extraction Plate Getrocknete paramagnetische Partikel und Probenprozesskontrollen sowie getrocknetes lytisches Enzym
400500**	NeuMoDx Lysis Buffer 2
400600*	NeuMoDx Lysis Buffer 3
401500**	NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton® CO-RE/CO-RE II Spitzen (300 µl) mit Filtern
235905	Hamilton CO-RE/CO-RE II Spitzen (1000 µl) mit Filtern

* Nur erforderlich bei Verarbeitung der Proben mit dem Workflow „Direct“ (Direkt) ohne Vorbehandlungsschritt. Siehe Abschnitt „Gebrauchsanweisung“ unten.

** Nur erforderlich bei Verarbeitung der Proben mit dem Workflow „Pretreated“ (Vorbehandelt) mit einem Vorbehandlungsschritt. Siehe Abschnitt „Gebrauchsanweisung“ unten.

Wattestäbchen und Transportmedien (nicht bereitgestellt)

Probentyp	Empfohlene Entnahmevorrichtung	Empfohlenes Wattestäbchen
Nasopharyngealer Abstrich	3 ml Universal Transport Medium (Copan UTM-RT, Copan, CA, USA, 305C) oder 3 ml Universal Viral Transport System (BD UVT, BD, NJ, USA, BD 220531)	Flexible Minitip Nylon® Flocked Swab (Copan, CA, USA) oder Flexible Minitip Flocked Swab (BD, NJ, USA)

Benötigte Instrumente

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] oder **NeuMoDx 96 Molecular System** [REF 500200]
NeuMoDx System Software Version 1.9.2.6 oder höher



WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Der NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay ist nur zur Verwendung in der *In-vitro*-Diagnostik mit NeuMoDx Systemen bestimmt.
- Die Reagenzien oder Verbrauchsmaterialien nach Ablauf des angegebenen Ablaufdatums nicht mehr verwenden.
- Reagenzien nicht verwenden, wenn das Sicherheitssiegel aufgebrochen oder die Verpackung bei Ankunft beschädigt ist.
- Verbrauchsmaterialien oder Reagenzien nicht verwenden, wenn der Schutzbeutel bei der Ankunft geöffnet oder beschädigt ist.
- Das Mindestprobenvolumen von Sekundäraliquoten ist abhängig von der Röhrchengröße bzw. dem Probenröhrchenträger gemäß der unten stehenden Definition. Ein Probenvolumen unter dem angegebenen Mindestvolumen kann zu dem Fehler „Quantity Not Sufficient“ (Menge nicht ausreichend) führen.
- Die Verwendung von Proben, die bei nicht geeigneten Temperaturen oder über die angegebenen Lagerzeiten hinaus aufbewahrt wurden, kann zu ungültigen oder fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Eine Kontamination von Reagenzien und Verbrauchsmaterialien mit Mikroben und Ribonuklease (RNase) ist zu vermeiden. Bei Verwendung von Sekundärröhrchen wird die Verwendung steriler, RNase-freier Einwegtransferpipetten empfohlen. Für jede Probe eine neue Pipette verwenden.
- Zur Vermeidung von Kontamination NeuMoDx Cartridge nach der Amplifikation weder handhaben noch beschädigen. NeuMoDx Cartridges unter keinen Umständen aus dem Behälter für biogefährlichen Abfall (NeuMoDx 288 Molecular System) oder dem Eimer für biogefährlichen Abfall (NeuMoDx 96 Molecular System) entnehmen. Die NeuMoDx Cartridge ist dafür konzipiert, Kontamination zu verhindern.
- Wenn das Labor auch PCR-Tests mit offenen Röhrchen ausführt, muss unbedingt gewährleistet werden, dass der NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip, die für die Tests zusätzlich benötigten Verbrauchsmaterialien und Reagenzien, persönliche Schutzausrüstung wie Handschuhe und Laborkittel sowie das NeuMoDx System nicht kontaminiert werden.
- Bei der Handhabung von NeuMoDx Reagenzien und Verbrauchsmaterialien sollten puderfreie Nitrilhandschuhe getragen werden. Es ist darauf zu achten, dass die Oberseite der NeuMoDx Cartridge, die Oberfläche der Versiegelungsfolie eines NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip und der NeuMoDx Extraction Plate oder die Oberseite des Behälters mit NeuMoDx Lysis Buffer nicht berührt werden; die Verbrauchsmaterialien und Reagenzien dürfen ausschließlich an den Seitenflächen angefasst werden.

- NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls [REF 901200] müssen alle 24 Stunden verarbeitet werden, wenn Tests mit dem NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay durchgeführt werden.
- Für jedes Reagenz werden, sofern erforderlich, Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS) bereitgestellt unter www.giagen.com/neumodx-ifu.
- Nach der Durchführung des Tests Hände gründlich waschen.
- Nicht mit dem Mund pipettieren. In Bereichen, in denen Proben oder Reagenzien verarbeitet werden, nicht rauchen, trinken oder essen.
- Proben sind immer wie infektiöses Material und entsprechend den sicheren Laborverfahren (beschrieben in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹ und im CLSI-Dokument M29-A4) zu behandeln.²
- Beim Umgang mit Chemikalien stets einen geeigneten Laborkittel, Einweghandschuhe und eine Schutzbrille tragen. Für weitergehende Informationen beachten Sie bitte die entsprechenden Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS).
- Nicht verwendete Reagenzien und Abfall entsprechend den nationalen, bundesstaatlichen, regionalen, kommunalen und lokalen Vorschriften entsorgen.

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



Enthält: Borsäure; ethoxyliertes Nonylphenol. Gefahr! Verursacht Hautreizungen. Verursacht schwere Augenreizung. Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen. Langzeitschädlich für Wasserorganismen. Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen. Vor Gebrauch alle Vorsichtsmaßnahmen lesen und verstehen. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Bei Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Im verschlossenen Behälter lagern. Inhalt/Behälter bei einem zugelassenen Abfallentsorgungsdienst entsorgen.

Informationen für Notfälle

CHEMTREC

Außerhalb den USA und Kanada +1-703-527-3887

Entsorgung

Das Produkt enthält ethoxyliertes Nonylphenol, eine endokrin wirksame Substanz, die sich nachteilig auf die Umwelt auswirken kann.

Unter Beachtung der örtlichen und nationalen Vorschriften als Gefahrstoff entsorgen. Dies gilt auch für unbenutzte Produkte.

Flüssigkeitsabfälle nicht in die Kanalisation entsorgen.

Die Empfehlungen im Sicherheitsdatenblatt (Safety Data Sheets, SDS) beachten.



LAGERUNG, HANDHABUNG UND STABILITÄT VON PRODUKTEN

- Die NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips sind in der Primärverpackung bei Lagerung bei 15–28 °C bis zum angegebenen Ablaufdatum stabil.
- Testprodukte, die bereits auf ein anderes NeuMoDx System geladen wurden, nicht erneut laden.
- Nach dem Laden kann ein NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip für bis zu 14 Tage im NeuMoDx System verbleiben. Die verbleibende Haltbarkeitsdauer der im Gerät befindlichen Teststreifen wird durch die Software verfolgt und dem Benutzer in Echtzeit mitgeteilt. Das NeuMoDx System fordert zur Entfernung von Teststreifen auf, die schon über den zulässigen Zeitraum hinaus in Verwendung sind.

PROBENNAHME, TRANSPORT UND LAGERUNG

Alle Proben so handhaben, als seien sie in der Lage, Infektionserreger zu übertragen.

1. Die Proben sind mit dem Copan UTM-RT® System oder dem BD™ UVT System unter Verwendung validierter beflockter Nylon-Wattestäbchen zu entnehmen (siehe Wattestäbchen und Transportmedien). Beflockte Wattestäbchen, Polyester- und Nylon-Wattestäbchen sind weitere akzeptable Wattestäbchentypen. Die Herstelleranweisungen für Probenahme, Transport und Lagerung befolgen.
2. Die Proben können entweder in kompatiblen primären Entnahmeröhrchen oder in sekundären Probenröhrchen getestet werden.
3. Die Proben können vor Beginn der Verarbeitung bis zu 8 Stunden im NeuMoDx System aufbewahrt werden. Falls zusätzliche Lagerungszeit benötigt wird, empfiehlt es sich, die Proben in Form von Sekundäraliquoten entweder gekühlt zu lagern oder einzufrieren.
4. Die vorbereiteten Proben sollten vor den Tests bei 2 bis 8 °C nicht länger als 7 Tage gelagert werden.
5. Wenn die Proben verschickt werden, sind sie in Übereinstimmung mit den geltenden Vorschriften auf Landes- und/oder internationaler Ebene zu verpacken und zu beschriften.
6. Mit dem Abschnitt *Testvorbereitung* fortfahren.

TESTVORBEREITUNG

Für den NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay sind je nach Präferenz des Benutzers/Labors zwei verschiedene Workflows möglich:

Workflow 1: **DIRECT (DIREKT)** – Abstrichprobe in Transportmedium wird direkt in einem primären Entnahmeröhrchen oder in einem sekundären Probenröhrchen in das NeuMoDx System geladen

-oder-

Workflow 2: **PRETREATED (VORBEHANDELT)** – Abstrichprobe in Transportmedium wird mit NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer vorbehandelt und anschließend in einem primären Entnahmeröhrchen oder in einem sekundären Probenröhrchen in das NeuMoDx System geladen

Testvorbereitung – Workflow „DIRECT“ (DIREKT) für direkte Abstrichproben

1. Auf einem mit dem NeuMoDx System kompatiblen Probenröhrchen gemäß Schritt 3 der nachstehenden Beschreibung ein Proben-Barcodeetikett anbringen.
2. Wenn die Probe im primären Entnahmeröhrchen getestet wird, das mit Barcode versehene Röhrchen in einen Probenröhrchenträger stellen und vor dem Einsetzen in das NeuMoDx System sicherstellen, dass Deckel und Wattestäbchen entfernt wurden.
3. Alternativ kann ein Aliquot des Transportmediums in ein mit Barcode versehenes Sekundärröhrchen überführt und dieses in einen Probenröhrchenträger gestellt werden. Wenn ein Sekundärröhrchen verwendet wird, ein Aliquot des Transportmediums in ein mit dem NeuMoDx System kompatibles, mit Barcode versehenes Probenröhrchen überführen. Dabei die nachstehenden Volumen beachten:
 - Probenröhrchenträger (32 Röhrchen): 11–14 mm Durchmesser und 60–120 mm Höhe; Mindestfüllvolumen $\geq 600 \mu\text{l}$
 - Probenröhrchenträger (24 Röhrchen): 14,5–18 mm Durchmesser und 60–120 mm Höhe; Mindestfüllvolumen $\geq 1000 \mu\text{l}$
 - Probenröhrchenträger für geringes Volumen (32 Röhrchen): 1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen mit Konusboden; Mindestfüllvolumen $\geq 500 \mu\text{l}$

Testvorbereitung – Workflow „PRETREATED“ (VORBEHANDELT) für vorbehandelte Abstrichproben

Hinweis: Den Vantage Viral Lysis Buffer vor der Verwendung auf Raumtemperatur (15 bis 30 °C) bringen.

WARNHINWEIS: Die Vorbehandlung von Abstrichproben mit NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer garantiert nicht die Inaktivierung ggf. vorhandener Viren. Alle Proben sind so zu handhaben, als seien sie in der Lage, Infektionserreger zu übertragen.

1. Das Proben-Transportmedium 1:1 mit NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer vorbehandeln. Dies kann im primären Abstrichnahmeröhrchen erfolgen, sofern das Volumen des Transportmediums bekannt ist. Alternativ kann die Vorbehandlung in einem Sekundärröhrchen erfolgen, indem ein Aliquot des Transportmediums mit einem identischen Volumen NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer kombiniert wird. Das fertige Gemisch muss die nachstehend unter Schritt 4 aufgeführten Mindestvolumenanforderungen erfüllen.
2. Vorsichtig mit einer Pipette mischen, um eine gleichmäßige Verteilung des NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer zu gewährleisten.
3. Wenn die vorbehandelte Probe im primären Entnahmeröhrchen getestet wird, das mit Barcode versehene Röhrchen in einen Probenröhrchenträger stellen und vor dem Einsetzen in das NeuMoDx System sicherstellen, dass Deckel und Wattestäbchen entfernt wurden.
4. Bei Verwendung eines Sekundärröhrchens ein Aliquot der vorbehandelten Probe in ein mit dem NeuMoDx System kompatibles, mit Barcode versehenes Probenröhrchen überführen und in einen Probenröhrchenträger stellen. Dabei die unten angegebenen Volumen beachten:
 - Probenröhrchenträger (32 Röhrchen): 11–14 mm Durchmesser und 60–120 mm Höhe; Mindestfüllvolumen $\geq 750 \mu\text{l}$
 - Probenröhrchenträger (24 Röhrchen): 14,5–18 mm Durchmesser und 60–120 mm Höhe; Mindestfüllvolumen $\geq 1100 \mu\text{l}$
 - Probenröhrchenträger für geringes Volumen (32 Röhrchen): 1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen mit Konusboden; Mindestfüllvolumen $\geq 650 \mu\text{l}$

Betrieb des NeuMoDx Systems

Detaillierte Anleitungen sind den Benutzerhandbüchern für das NeuMoDx 288 Molecular System und das 96 Molecular System (Teile-Nr. 40600108 und 40600317) zu entnehmen.

1. Den Testauftrag entsprechend dem für die Testvorbereitung gewählten Workflow in das NeuMoDx System laden:
 - Unbehandelte, reine Abstrichproben, die nach dem Workflow „DIRECT“ (DIREKT) behandelt wurden, werden für den Test als „**Transport Medium**“ (Transportmedium) definiert.
 - Nach dem Workflow „PRETREATED“ (VORBEHANDELT) mit NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer vorbehandelte Abstrichproben werden für den Test als „**UserSpecified1**“ (Benutzerdefiniert 1) definiert.Wenn im Testauftrag keine Definition vorliegt, wird standardmäßig der Probentyp „Transport Medium“ (Transportmedium) (direkter Workflow) in einem **Secondary Tube** (Sekundärröhrchen) verwendet.
2. Einen oder mehrere NeuMoDx System Teststreifenträger mit NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip(s) befüllen und den/die Teststreifenträger über den Touchscreen in das NeuMoDx System laden.
3. Bei Aufforderung durch die NeuMoDx System Software die erforderlichen Verbrauchsmaterialien in die Verbrauchsmaterialträger des NeuMoDx System geben und den/die Träger über den Touchscreen in das NeuMoDx System laden.

- Bei entsprechender Aufforderung durch die NeuMoDx System Software das NeuMoDx Wash Reagent und/oder NeuMoDx Release Reagent ersetzen und den Priming-Abfall, den Behälter für biogefährlichen Abfall (nur NeuMoDx 288 Molecular System), den Spitzenabfallbehälter (nur NeuMoDx 96 Molecular System) und/oder den Eimer für biogefährlichen Abfall (nur NeuMoDx 96 Molecular System) leeren.
- Das/die Probenröhrchen in einen Probenröhrchenträger laden und darauf achten, dass die Deckel und etwaige Wattestäbchen von allen Röhrchen entfernt wurden.
- Den/die Probenröhrchenträger auf das Autolader-Regal setzen und über den Touchscreen in das NeuMoDx System laden. Dadurch wird die Verarbeitung der für die identifizierten Tests geladenen Proben eingeleitet, sofern im System ein gültiger Testauftrag vorliegt.

ANWENDUNGSEINSCHRÄNKUNGEN

- Der NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip kann nur auf NeuMoDx Systems verwendet werden.
- Die Leistung des NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip wurde für von Ärzten entnommene nasopharyngeale Abstrichproben in Transportmedium ermittelt. Die Verwendung des NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip mit anderen Probentypen und Entnahmemedien wurde nicht bewertet und die entsprechenden Leistungsmerkmale sind unbekannt.
- Da der Nachweis viraler Ziele generell von der Anzahl der in der Probe vorhandenen Viruspartikel abhängig ist, sind ordnungsgemäße Probennahme, Handhabung und Lagerung für zuverlässige Ergebnisse erforderlich.
- Eine unsachgemäße Probennahme, Handhabung, Lagerung, technische Fehler oder eine Verwechslung von Probenröhrchen können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Zusätzlich können negative Ergebnisse erhalten werden, wenn die Anzahl von Viruspartikeln in der Probe unterhalb der Nachweisgrenze des NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assays liegt.
- Das NeuMoDx System darf ausschließlich von Personal bedient werden, das in der Anwendung des NeuMoDx Systems geschult ist.
- Wenn weder die Flu-A-, Flu-B-, RSV- und SARS-CoV-2-Zielsequenzen noch das SPC2-Ziel amplifiziert werden, wird ein ungültiges Ergebnis („Indeterminate“ (Unbestimmt) oder „Unresolved“ (Offen)) ausgegeben und der Test sollte wiederholt werden.
- Wenn vor Abschluss der Probenverarbeitung ein Systemfehler auftritt, wird „No Result“ (Kein Ergebnis) ausgegeben und der Test sollte wiederholt werden.
- Ein positives Ergebnis zeigt nicht unbedingt das Vorhandensein von lebensfähigem Influenza-A-Virus, Influenza-B-Virus, SARS-CoV-2 und/oder RSV an. Allerdings deutet ein positives Ergebnis auf das Vorhandensein von Influenza-A-, Influenza-B-, SARS-CoV-2- und/oder RSV-RNA hin.
- Deletionen oder Mutationen in den konservierten Zielregionen des NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assays können den Nachweis beeinträchtigen und zu einem fehlerhaften Ergebnis führen.
- Ergebnisse des NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay sollten zusätzlich zu klinischen Beobachtungen und sonstigen Informationen, die dem Arzt zur Verfügung stehen, herangezogen werden.
- Um Kontaminationen zu vermeiden, wird eine gute Laborpraxis wie etwa das Wechseln der Handschuhe beim Umgang mit Proben verschiedener Patienten empfohlen.

ERGEBNISSE

Die verfügbaren Ergebnisse können in der Registerkarte Results (Ergebnisse) im Fenster Results (Ergebnisse) auf dem Touchscreen des NeuMoDx Systems angezeigt oder ausgedruckt werden. Die Ergebnisse des NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assays werden unter Anwendung des Entscheidungsalgorithmus und der Ergebnisverarbeitungsparameter, die in der NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay-Definitionsdatei (Flu A-B-RSV-CoV-2 ADF Version 4.0.0 oder höher) spezifiziert sind, automatisch durch die NeuMoDx System Software generiert. Das Ergebnis eines NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assays kann basierend auf dem Amplifikationsstatus der Zielsequenz(en) und von SPC2 als Negative (Negativ), Positive (Positiv), Indeterminate (Unbestimmt), No Result (Kein Ergebnis) oder Unresolved (Offen) gemeldet werden. Die Ergebnisse werden auf Grundlage des ADF-Entscheidungsalgorithmus zur Ergebnisverarbeitung angegeben, wie nachstehend in *Tabelle 2* zusammengefasst.

Tabelle 2. Ergebnisinterpretation für den NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay

GESAMT-ERGEBNIS	ZIEL 1 (Flu A) FAM	ZIEL 2 (Flu B) HEX	ZIEL 3 (SARS-CoV-2) TX RED	ZIEL 4 (RSV) Dunkelrot	PROZESSKONTROLLE (SPC2) Rot	INTERPRETATION
POSITIVE (POSITIV) (Ziel-RNA nachgewiesen)	AMPLIFIED (AMPLIFIZIERT) [5 ≤ Ct < 25 AND (UND) EPR > 2,0 AND (UND) EP ≥ 750] OR (ODER) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (UND) EP ≥ 750)	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	Flu-A-RNA nachgewiesen
	k. A.	AMPLIFIED (AMPLIFIZIERT) [5 ≤ Ct < 28 AND (UND) EPR > 1,5 AND (UND) EP ≥ 600] OR (ODER) [28 ≤ Ct ≤ 37 AND (UND) EP ≥ 600]	k. A.	k. A.	k. A.	Flu-B-RNA nachgewiesen
	k. A.	k. A.	AMPLIFIED (AMPLIFIZIERT) [5 ≤ Ct < 25 AND (UND) EPR > 1,5 AND (UND) EP ≥ 1200] OR (ODER) [25 ≤ Ct ≤ 37 AND (UND) EP ≥ 1200]	k. A.	k. A.	SARS-CoV-2-RNA nachgewiesen
	k. A.	k. A.	k. A.	AMPLIFIED (AMPLIFIZIERT) [5 ≤ Ct < 30 AND (UND) EPR > 1,15 AND (UND) EP ≥ 1200] OR (ODER) [30 ≤ Ct ≤ 37 AND (UND) EP ≥ 1200]	k. A.	RSV-RNA nachgewiesen
NEGATIVE (NEGATIV) (Ziel-RNA nicht nachgewiesen)	NOT AMPLIFIED (NICHT AMPLIFIZIERT) k. A. OR (ODER) (5 ≤ Ct < 25 AND (UND) EPR ≤ 2,0) OR (ODER) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (UND) EP < 750) OR (ODER) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (NICHT AMPLIFIZIERT) k. A. OR (ODER) (5 ≤ Ct < 28 AND (UND) EPR ≤ 1,5) OR (ODER) (28 ≤ Ct ≤ 37 AND (UND) EP < 600) OR (ODER) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (NICHT AMPLIFIZIERT) k. A. OR (ODER) (5 ≤ Ct < 25 AND (UND) EPR ≤ 1,5) OR (ODER) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (UND) EP < 1200) OR (ODER) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (NICHT AMPLIFIZIERT) k. A. OR (ODER) (5 ≤ Ct < 30 AND (UND) EPR ≤ 1,15) OR (ODER) (30 ≤ Ct ≤ 37 AND (UND) EP < 1200) OR (ODER) (Ct > 37)	AMPLIFIED (AMPLIFIZIERT) (24 ≤ Ct ≤ 31 AND (UND) EP ≥ 1800)	Flu-A-, Flu-B-, RSV- und SARS-CoV-2- RNA nicht nachgewiesen

GESAMT- ERGEBNIS	ZIEL 1 (Flu A) FAM	ZIEL 2 (Flu B) HEX	ZIEL 3 (SARS-CoV-2) TX RED	ZIEL 4 (RSV) Dunkelrot	PROZESSKONTROLLE (SPC2) Rot	INTERPRETATION
NR*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Nicht amplifiziert, Systemfehler festgestellt, Probenverarbeitung abgebrochen)					Probenverarbeitung wurde abgebrochen; Probe erneut testen
IND*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Nicht amplifiziert, Systemfehler festgestellt, Probenverarbeitung abgeschlossen)					Die Ergebnisse für alle Ziele waren ungültig; Probe erneut testen
UNR*	Not Amplified, No System Error Detected (Nicht amplifiziert, kein Systemfehler festgestellt)					Die Ergebnisse für alle Ziele waren ungültig; Probe erneut testen

* Das System erlaubt eine optionale (Lauf-)Wiederholung, um die automatische erneute Verarbeitung im Falle eines ungültigen Ergebnisses zu ermöglichen und so Verzögerungen bei der Ergebnismeldung möglichst zu minimieren.

Ungültige Ergebnisse

Wenn ein im NeuMoDx System durchgeführter NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay kein gültiges Ergebnis erzeugt, wird dies auf Grundlage der Art des aufgetretenen Fehlers entweder als „Indeterminate“ (Unbestimmt), „No Result“ (Kein Ergebnis) oder als „Unresolved“ (Offen) gemeldet, und der Test sollte wiederholt werden, um ein gültiges Ergebnis zu erzielen.

Das Ergebnis „Indeterminate“ (Unbestimmt) wird gemeldet, wenn während der Probenverarbeitung ein Fehler im NeuMoDx System erkannt wird. Falls das Ergebnis „Indeterminate“ (Unbestimmt) gemeldet wird, wird ein erneuter Test empfohlen.

Das Ergebnis „No Result“ (Kein Ergebnis) wird gemeldet, wenn ein Fehler im NeuMoDx System erkannt und die Probenverarbeitung abgebrochen wird. Falls das Ergebnis „No Result“ (Kein Ergebnis) gemeldet wird, wird ein erneuter Test empfohlen.

Das Ergebnis „Unresolved“ (Offen) wird gemeldet, wenn kein Ziel nachgewiesen wird und keine Amplifikation der Probenprozesskontrolle erfolgt, was auf einen möglichen Reagenzfehler oder das Vorhandensein von Inhibitoren hinweist. Falls das Ergebnis „Unresolved“ (Offen) gemeldet wird, wird als erster Schritt ein erneuter Test empfohlen. Wenn der Wiederholungstest fehlschlägt, kann eine verdünnte Probe verwendet werden, um den Effekt einer etwaigen Inhibition abzumildern.

Eine Liste der Fehlercodes, die mit ungültigen Ergebnissen verbunden sein können, siehe das Benutzerhandbuch zum NeuMoDx 288 Molecular System (Teile-Nr.: 40600108) bzw. das Benutzerhandbuch zum NeuMoDx 96 Molecular System (Teile-Nr.: 40600317).

Das NeuMoDx System ist mit einer automatischen Funktion für Rerun/Repeat (Wiederholungsläufe) ausgestattet, die der Benutzer aktivieren kann, damit als INVALID (Ungültig) gemeldete Proben automatisch erneut verarbeitet und Verzögerungen bei der Ergebnismeldung vermieden werden.

Qualitätskontrolle

Die lokalen Vorschriften legen in der Regel fest, dass das Labor für die Kontrollverfahren verantwortlich ist, die die Richtigkeit und Präzision des kompletten Analyseprozesses überwachen, und unter Verwendung bestätigter Leistungsspezifikationen für ein unverändertes, zugelassenes Testsystem Anzahl, Typ und Häufigkeit der Testkontrollmaterialien feststellen muss.

Externe Kontrollen

- 1) Benutzer müssen alle 24 Stunden vor der Verarbeitung von Patientenproben je einen Satz NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls [REF 901200] verarbeiten. Wenn kein Satz gültiger externer Kontrollergebnisse vorhanden ist, fordert das NeuMoDx System den Benutzer dazu auf, Kontrollen zu verarbeiten, bevor Probenergebnisse ausgegeben werden können.
- 2) Wenn externe Kontrollen benötigt werden, die Kontrollen (1 Positivkontrolle und 1 Negativkontrolle) verarbeiten:

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	Etiketten-Farbschema
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control(s)	Rot
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Negative Control(s)	Schwarz

- 3) Bei der Verarbeitung von externen Kontrollen diese in einen Probenröhrchenträger setzen und den Träger über den Touchscreen aus dem Autoloader-Regal in das NeuMoDx System laden. Das NeuMoDx System erkennt die Barcodes und startet die Verarbeitung der Kontrollen, sofern die für die Tests erforderlichen Reagenzien oder Verbrauchsmaterialien verfügbar sind.

4) Die Gültigkeit dieser externen Kontrollen wird vom NeuMoDx System auf Grundlage der erwarteten Ergebnisse bewertet.

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	Flu-A-/Flu-B-/RSV-/SARS-CoV-2-Ergebnis	SPC2-Ergebnis
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control(s)	Flu-A-, Flu-B-, RSV-, SARS-CoV-2-RNA nachgewiesen	k. A.
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Negative Control(s)	Flu-A-, Flu-B-, RSV-, SARS-CoV-2-RNA nicht nachgewiesen	SPC2-positiv

5) Diskrepante Ergebnisse für die externen Kontrollen sind wie folgt zu behandeln:

- a) Ein für eine Negativkontrolle gemeldetes Testergebnis Positive (Positiv) kann auf eine Kontamination hindeuten. In diesem Fall müssen die Qualitätskontrollverfahren des Labors untersucht werden, um die zugrunde liegende Ursache zu ermitteln. Es ist dafür zu sorgen, dass für die Probenvorbereitung, den Umgang mit den Kontrollen und die Einrichtung der RT-PCR separate Bereiche verwendet werden. Zusätzliche Tipps zur Fehlerbehebung siehe *Benutzerhandbuch zum NeuMoDx 288 bzw. 96 Molecular System*.
- b) Ein für eine Positivkontrolle gemeldetes Testergebnis Negative (Negativ) kann darauf hinweisen, dass ein Problem mit dem Reagenz oder dem NeuMoDx System besteht. Tipps zur Fehlerbehebung siehe *Benutzerhandbuch zum NeuMoDx 288 bzw. 96 Molecular System*.
- c) In jedem der oben beschriebenen Fälle oder falls das Ergebnis No Result (NR) (Kein Ergebnis), Unresolved (UNR) (Offen) oder Indeterminate (IND) (Unbestimmt) erhalten wird, die fehlgeschlagene Kontrolle mit frisch aufgetauten Fläschchen derjenigen Kontrolle(n) wiederholen, die die Gültigkeitsprüfung nicht bestanden hat/haben.
- d) Wenn die Positivkontrolle weiterhin das Testergebnis Negative (Negativ) ergibt, den technischen Support von QIAGEN kontaktieren.
- e) Wenn die Negativkontrolle weiterhin das Testergebnis Positive (Positiv) ergibt, vor dem Kontaktieren des technischen Supports von QIAGEN möglichst alle in Frage kommenden Kontaminationsquellen eliminieren, was den Austausch aller Reagenzien und die Wiederholung des Laufs einschließt.
- f) Wenn die externen Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse liefern, muss erneut ein Satz Positiv- und Negativkontrollen verarbeitet werden. Es werden keine Patientenergebnisse gemeldet, solange die Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse liefern.

(Interne) Probenprozesskontrollen

In der NeuMoDx Extraction Plate ist eine exogene Probenprozesskontrolle (Sample Process Control, SPC2) enthalten, die mit jeder Probe dem vollständigen Prozess der Nukleinsäure-Extraktion und Echtzeit-RT-PCR-Amplifikation unterzogen wird. Zudem enthält jedes Well des NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip SPC2-spezifische Primer und Sonden, was den Nachweis von SPC2 zusammen mit der Ziel-RNA (falls vorhanden) in der Multiplex-PCR ermöglicht. Der Nachweis der SPC2-Amplifikation erlaubt der NeuMoDx System Software die Überwachung der Effizienz der RNA-Extraktion und der RT-PCR-Amplifikation.

Vor der RT-PCR führt das NeuMoDx System automatisch einen „FILL CHECK“ (Füllstandsprüfung) durch, um sicherzustellen, dass die PCR-Kammer mit Lösung gefüllt ist und eine ausreichende Menge an fluoreszierender Sonde enthält.

Die NeuMoDx System Software überwacht kontinuierlich Sensoren und Stellteile im Gerät, um einen sicheren und effektiven Betrieb des Systems zu gewährleisten.

Verschiedene fluidische Fehlerbehebungsmodi sind durch die aktive Überwachung von Aspirations- und Dispensierungsvorgängen implementiert, um sicherzustellen, dass das System entweder die Verarbeitung aller Proben sicher und effektiv abschließen oder einen angemessenen Fehlercode angeben kann.

LEISTUNGSMERKMALE

Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität des NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assays auf den NeuMoDx Molecular Systems wurde in zwei Teilen charakterisiert. Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) wurde anhand von übrig gebliebenen, anonymisierten, klinischen, negativen nasopharyngealen Abstrichproben in UVT-Matrix und Modellstämmen für jedes Ziel charakterisiert. Die für die einzelnen Ziele verwendeten Modellstämme sind in *Tabelle 3* aufgeführt. Zunächst wurde eine Verdünnungsreihe mit den Modellstämmen der einzelnen Ziele in UVT anhand des Workflows „Direct“ (Direkt) und des Workflows „Pretreated“ (Vorbehandelt) angesetzt und mit dem NeuMoDx System verarbeitet, um einen vorläufigen Wert für die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) zu ermitteln. Im zweiten Teil des Tests wurden diese vorläufigen LoD-Werte im Rahmen einer Trefferquotenanalyse auf sowohl dem NeuMoDx 288 als auch dem NeuMoDx 96 Molecular System für beide Workflows bestätigt. Die vorläufige LoD wurde angenommen, wenn die Trefferquotentests für beide Workflows auf beiden Systemen eine Positivitätsrate von 95 % erreichten. Die Nachweisraten für die vorläufige LoD sind in *Tabelle 4* aufgeführt, während *Tabelle 5* die Trefferquotenbestätigung für das N288 System und *Tabelle 6* die Trefferquotenbestätigung für das N96 System enthält. Die endgültigen Angaben zur LoD in *Tabelle 4* sind **fett** hervorgehoben.

Tabelle 3. Für die einzelnen Ziele verwendete Stämme

Ziel/Stamm	Herkunft	Kat.-Nr.	Chargen-Nr.	Materialart
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1688	70031602	Geklärter Überstand infizierter Zellen
Flu A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1690	70032253	Geklärter Überstand infizierter Zellen
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	Virapur	k. A.	B1904J	Lebend, unbehandelt
Flu A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	Virapur	k. A.	C2030D	Lebend, unbehandelt
Flu B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	IRR	FR-1619	70015942	Geklärter Überstand infizierter Zellen
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	IRR	FR-1592	70013310	Geklärter Überstand infizierter Zellen
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	ATCC	VR-1931	70020870	Geklärte Kulturflüssigkeit und Zelllysat
Flu B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	Virapur	k. A.	B1904N	Lebend, unbehandelt
RSV A2	ATCC	VR-1540	60430286	Kulturflüssigkeit und Zelllysat
RSV B (WV/14617/85)	ATCC	VR-1400	70013461	Kulturflüssigkeit und Zelllysat
SARS-CoV-2, 1. Internationaler Standard der WHO	NIBSC	20/146	k. A.	Lyophilisiertes säure- und hitzeinaktiviertes Virus
SARS-CoV-2, Isolat USA-WA1/2020	BEI	NR-52285	70037779	Hitzeinaktiviertes Virus

Tabelle 4. Positive Nachweisraten für die vorläufige LoD-Bestimmung für den NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay –
(a) Workflow „Pretreated“ (Vorbehandelt); (b) Workflow „Direct“ (Direkt)

(a) Workflow „Pretreated“ (Vorbehandelt)

Ziel/Stamm	Konzentration	Einheit	Anz. gültiger Ergebnisse (n/N)	Anzahl Pos.	% Pos.	Ct Durchschnitt	Ct SD
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,02	TCID ₅₀ /ml	10/10	7	70 %	33,97	0,90
	0,06		10/10	10	100 %	33,36	0,96
	0,17		10/10	10	100 %	32,17	0,45
	0,5		10/10	10	100 %	31,05	0,42
	1,5		10/10	10	100 %	31,01	0,45
Flu A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,17	TCID ₅₀ /ml	10/10	8	80 %	33,72	1,00
	0,5		10/10	10	100 %	32,97	0,51
	1,5		10/10	10	100 %	32,28	0,60
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,17	TCID ₅₀ /ml	10/10	8	80 %	32,81	0,38
	0,5		10/10	10	100 %	31,68	0,84
	1,5		10/10	10	100 %	31,69	0,65
Flu A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,17	TCID ₅₀ /ml	20/20	15	75 %	32,15	1,70
	0,5		10/10	9	90 %	32,37	0,50
	1,5		10/10	10	100 %	32,63	1,35
Flu B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,01	TCID ₅₀ /ml	10/10	8	80 %	32,90	1,27
	0,03		10/10	10	100 %	32,26	0,48
	0,08		10/10	10	100 %	31,48	0,78
	0,25		10/10	10	100 %	30,59	0,40
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,003	TCID ₅₀ /ml	10/10	10	100 %	33,97	0,58
	0,01		10/10	10	100 %	33,90	0,39
	0,03		10/10	10	100 %	33,85	0,56
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,083	TCID ₅₀ /ml	20/20	18	90 %	34,39	0,84
	0,25		10/10	10	100 %	32,53	0,21
	0,75		10/10	10	100 %	32,57	0,40
Flu B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	0,33	TCID ₅₀ /ml	20/20	15	75 %	33,58	1,50
	1		10/10	10	100 %	34,03	0,69
	3		10/10	10	100 %	32,30	0,66
RSV A2	0,17	TCID ₅₀ /ml	10/10	5	50 %	32,68	0,43
	0,5		10/10	10	100 %	31,72	0,85
	1,5		10/10	10	100 %	31,71	1,35
RSV B (WV/14617/85)	0,017	TCID ₅₀ /ml	10/10	5	50 %	32,20	1,10
	0,05		10/10	10	100 %	31,50	0,49
	0,15		10/10	10	100 %	29,94	0,93
SARS-CoV-2, 1. Internationaler Standard der WHO	50	IU/ml	10/10	6	60 %	34,36	0,64
	150		10/10	10	100 %	34,20	0,31
	450		10/10	10	100 %	33,04	0,63
SARS-CoV-2, Isolat USA-WA1/2020	50	Kopien/ml	10/10	6	60 %	34,20	1,19
	150		10/10	10	100 %	33,46	0,58
	450		10/10	10	100 %	32,62	1,06

(b) Workflow „Direct“ (Direkt)

Ziel/Stamm	Konzentration	Einheit	Anz. gültiger Ergebnisse (n/N)	Anzahl Pos.	% Pos.	Ct Durchschnitt	Ct SD
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,02	TCID ₅₀ /ml	20/20	17	85 %	33,11	1,30
	0,06		10/10	10	100 %	33,18	0,86
	0,17		10/10	10	100 %	32,63	1,14
	0,5		10/10	10	100 %	31,33	0,74
	1,5		10/10	10	100 %	30,79	0,31
Flu A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,17	TCID ₅₀ /ml	20/20	18	90 %	33,41	1,10
	0,5		10/10	9	90 %	32,54	1,03
	1,5		10/10	10	100 %	32,05	0,26
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,17	TCID ₅₀ /ml	10/10	7	70 %	33,39	0,16
	0,5		10/10	10	100 %	32,70	1,01
	1,5		10/10	10	100 %	31,12	1,07
Flu A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,17	TCID ₅₀ /ml	10/10	8	80 %	34,11	0,69
	0,5		10/10	10	100 %	33,68	0,50
	1,5		10/10	10	100 %	32,27	1,29
Flu B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,01	TCID ₅₀ /ml	20/20	18	90 %	33,31	0,95
	0,03		10/10	10	100 %	31,51	0,94
	0,08		10/10	10	100 %	31,76	0,46
	0,25		10/10	10	100 %	30,11	0,45
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,003	TCID ₅₀ /ml	10/10	9	90 %	34,82	0,39
	0,01		10/10	10	100 %	34,37	0,55
	0,03		10/10	10	100 %	33,64	0,34
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,083	TCID ₅₀ /ml	20/20	18	90 %	33,78	1,11
	0,25		10/10	10	100 %	33,89	0,69
	0,75		10/10	10	100 %	32,38	0,47
Flu B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	0,25	TCID ₅₀ /ml	10/10	8	80 %	33,23	1,17
	0,75		20/20	19	95 %	32,63	1,22
	2,25		10/10	10	100 %	31,24	1,58
RSV A2	0,42	TCID ₅₀ /ml	10/10	7	70 %	32,61	0,70
	1,25		10/10	10	100 %	30,99	1,55
	3,75		10/10	10	100 %	31,49	1,04
RSV B (WV/14617/85)	0,017	TCID ₅₀ /ml	10/10	6	60 %	33,63	1,49
	0,05		10/10	10	100 %	32,42	1,12
	0,15		10/10	10	100 %	31,81	0,81
SARS-CoV-2, 1. Internationaler Standard der WHO	50	IU/ml	10/10	7	70 %	34,80	0,56
	150		20/20	19	95 %	32,88	1,22
	450		10/10	10	100 %	33,38	0,46
SARS-CoV-2, Isolat USA-WA1/2020	66,7	Kopien/ml	10/10	7	70 %	33,53	0,58
	200		10/10	10	100 %	32,63	1,25
	600		10/10	10	100 %	32,69	0,86

Tabelle 5. Positive Nachweisraten für die bestätigende LoD-Bestimmung für den NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay – N288, (a) Workflow „Pretreated“ (Vorbehandelt); (b) Workflow „Direct“ (Direkt)

(a) Workflow „Pretreated“ (Vorbehandelt)

Ziel/Stamm	Konzentration	Einheit	Anz. gültiger Ergebnisse (n/N)	Anzahl Pos.	% Nachweis	Ct Durchschnitt	Ct SD
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,89	0,57
Flu A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	33,81	0,44
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,17	0,47
Flu A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	33,77	0,52
Flu B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	29/30	29	100 %	32,32	1,09
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	34,50	0,68
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,83	0,44
Flu B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	1	TCID ₅₀ /ml	29/30	29	100 %	33,04	0,69
RSV A2	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	32,17	1,23
RSV B (WV/14617/85)	0,05	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	32,39	0,41
SARS-CoV-2, 1. Internationaler Standard der WHO	150	IU/ml	30/30	30	100 %	33,63	0,61
SARS-CoV-2, Isolat USA-WA1/2020	150	Kopien/ml	29/30	28	96,6 %	33,59	1,01

(b) Workflow „Direct“ (Direkt)

Ziel/Stamm	Konzentration	Einheit	Anz. gültiger Ergebnisse (n/N)	Anzahl Pos.	% Nachweis	Ct Durchschnitt	Ct SD
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,92	0,69
Flu A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,75	0,57
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	32,96	0,48
Flu A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,67	0,48
Flu B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	29/30	28	96,6 %	31,74	1,19
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,0033	TCID ₅₀ /ml	10/10	8	80 %	34,88	0,95
	0,01	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	34,22	0,51
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,55	0,38
Flu B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	0,75	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,33	0,74
RSV A2	1,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	31,87	0,95
RSV B (WV/14617/85)	0,05	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	32,46	0,72
SARS-CoV-2, 1. Internationaler Standard der WHO	150	IU/ml	30/30	29	96,7 %	33,78	0,77
SARS-CoV-2, Isolat USA-WA1/2020	200	Kopien/ml	30/30	30	100 %	34,18	0,83

Tabelle 6. Positiv-Nachweisraten für die Trefferquotenbestätigung der LoD für den NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay – N96, (a) Workflow „Pretreated“ (Vorbehandelt); (b) Workflow „Direct“ (Direkt)

(a) Workflow „Pretreated“ (Vorbehandelt)

Ziel/Stamm	Konzentration	Einheit	Anz. gültiger Ergebnisse (n/N)	Anzahl Pos.	% Nachweis	Ct Durchschnitt	Ct SD
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,05	0,81
Flu A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	33,53	0,75
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	32,33	1,11
Flu A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	32,98	0,96
Flu B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	32,75	0,69
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,0033	TCID ₅₀ /ml	10/10	4	40 %	34,75	0,58
	0,01	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,91	0,75
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	33,25	0,97
Flu B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	1	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	33,21	0,96
RSV A2	0,5	TCID ₅₀ /ml	29/30	28	96,6 %	32,39	1,10
RSV B (WV/14617/85)	0,05	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	32,06	0,76
SARS-CoV-2, 1. Internationaler Standard der WHO	150	IU/ml	30/30	29	96,7 %	33,79	0,67
SARS-CoV-2, Isolat USA-WA1/2020	150	Kopien/ml	30/30	29	96,7 %	33,59	1,05

(b) Workflow „Direct“ (Direkt)

Ziel/Stamm	Konzentration	Einheit	Anz. gültiger Ergebnisse (n/N)	Anzahl Pos.	% Nachweis	Ct Durchschnitt	Ct SD
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,42	0,54
Flu A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,35	1,10
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	32,17	1,24
Flu A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,22	0,50
Flu B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	32,78	0,56
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	34,21	0,50
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,41	0,65
Flu B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	0,75	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	33,36	1,04
RSV A2	1,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	32,29	0,99
RSV B (WV/14617/85)	0,05	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	32,17	0,75
SARS-CoV-2, 1. Internationaler Standard der WHO	150	IU/ml	30/30	29	96,7 %	33,50	0,78
SARS-CoV-2, Isolat USA-WA1/2020	200	Kopien/ml	29/30	29	100 %	34,45	0,39

Die als LoD-Werte für den NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay auf den NeuMoDx Systemen angenommenen Konzentrationen sind in *Tabelle 7* aufgeführt.

Tabelle 7. Zusammenfassung der Studie zur Nachweisgrenze

Ziel	Stamm	Nachweisgrenze		Einheit
		Workflow „Pretreated“ (Vorbehandelt)	Workflow „Direct“ (Direkt)	
Influenza A (Flu A) – H1N1	Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	0,06	TCID ₅₀ /ml
	Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	0,5	
Influenza A (Flu A) – H3N2	Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	0,5	
	Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	0,5	
Influenza B (Flu B) – Stammlinie Victoria	Hong Kong/286/2017	0,03	0,03	
	Colorado/6/2017	0,01	0,01	
	Florida/78/2015	0,25	0,25	
Influenza B (Flu B) – Stammlinie Yamagata	Phuket/3073/2013	1	0,75	
RSV A	A2	0,5	1,25	
RSV B	(WV/14617/85)	0,05	0,05	
SARS-CoV-2	1. Internationaler Standard der WHO	150	150	IU/ml
	Isolat USA-WA1/2020	150	200	Kopien/ml

Kompetitive Interferenz für Zielorganismen: Flu A, Flu B, RSV und SARS-CoV-2

Die kompetitive Interferenz des NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assays wurde anhand von Panels viraler Ziele, die in UVT entnommenen klinischen negativen nasopharyngealen Abstrichproben versetzt worden waren, bewertet. Zehn Panels enthielten ein oder zwei Ziele nahe der jeweiligen Nachweisgrenze (3–10 x LoD) und ein einzelnes Ziel bei $\geq 1E5$ Kopien/ml, repräsentativ für das koinfizierte Ziel. Ein elftes Panel enthielt jedes der vier Ziele in einer Konzentration von 2 x LoD. Das Vorliegen von zwei bis drei Viren in verschiedenen Konzentrationen in einer einzigen Probe und deren Auswirkungen auf die analytische Sensitivität sind in *Tabelle 8* aufgeführt.

In Proben mit positivem SARS-CoV-2-Ergebnis sind Influenza-A- und RSV-A-negative Ergebnisse als mutmaßlich zu betrachten, und in Proben mit positivem Influenza-A-Ergebnis sind RSV-negative Ergebnisse als mutmaßlich zu betrachten. Studien zur kompetitiven Interferenz haben gezeigt, dass SARS-CoV-2 in Konzentrationen von $1E5$ Kopien/ml oder höher den Nachweis und die Amplifikation von Influenza-A- und RSV-A-RNA inhibieren kann, wenn diese in Konzentrationen von 1,5 TCID₅₀/ml bzw. 6,25 TCID₅₀/ml oder darunter vorliegen, wodurch es zu falsch negativen Ergebnissen kommen kann. Zudem kann das Influenza-A-Virus in Konzentrationen von $1E5$ Kop./ml oder höher den Nachweis und die Amplifikation von RSV-A-RNA inhibieren, wenn diese in Konzentrationen von 3,75 TCID₅₀/ml oder darunter vorliegt, wodurch es zu falsch negativen Ergebnissen für RSV kommen kann. Wenn bei Proben mit positivem SARS-CoV-2-Ergebnis eine Koinfektion mit Influenza A oder RSV vermutet wird oder bei Proben mit positivem Influenza-A-Ergebnis eine Koinfektion mit RSV vermutet wird, sollte die Probe mit einem alternativen, von der FDA zugelassenen oder autorisierten Influenza- oder RSV-Test erneut getestet werden, sofern der Nachweis von Influenza-Virus oder RSV klinische Entscheidungen beeinflussen würde.

Tabelle 8. Zusammenfassung der Studie zur kompetitiven Interferenz

Panel	Ziel	Panel-Konz.	Zielkonz.	Gültige Ergebnisse	Anzahl Pos.	% Nachweis
1	Flu A	3x	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	RSV A	3x	3,75 TCID ₅₀ /ml	24	23	96 %
	Flu B	Hoch	1E5 Kop./ml	24	24	100 %
2 (Lauf 1)	Flu A	3x	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	19	79 %
	RSV A	3x	3,75 TCID ₅₀ /ml	24	8	33 %
	SARS-CoV-2	Hoch	1E5 Kop./ml	24	24	100 %
2 (Lauf 2)	Flu A	5x	2,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	RSV A	5x	6,25 TCID ₅₀ /ml	24	16	67 %
	SARS-CoV-2	Hoch	1E5 Kop./ml	24	24	100 %
2 (Lauf 3)	Flu A	5x	2,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	RSV A	10x	12,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	SARS-CoV-2	Hoch	1E5 Kop./ml	24	24	100 %
3	Flu A	3x	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	SARS-CoV-2	3x	450 IU/ml	24	24	100 %
	RSV B	Hoch	1E5 Kop./ml	24	24	100 %
4	Flu B	3x	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	RSV B	3x	0,15 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	Flu A	Hoch	1E5 Kop./ml	24	24	100 %
5	Flu B	3x	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	RSV B	3x	0,15 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	SARS-CoV-2	Hoch	1E5 Kop./ml	24	24	100 %
6	Flu B	3x	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	RSV B	Hoch	1E5 Kop./ml	24	24	100 %
7	SARS-CoV-2	3x	450 IU/ml	24	24	100 %
	Flu A	Hoch	1E5 Kop./ml	24	24	100 %
8	SARS-CoV-2	3x	450 IU/ml	24	24	100 %
	Flu B	Hoch	1E5 Kop./ml	24	24	100 %
9 (Lauf 1)	RSV A	3x	3,75 TCID ₅₀ /ml	24	20	83 %
	Flu A	Hoch	1E5 Kop./ml	24	24	100 %
9 (Lauf 2)	RSV A	5x	6,25 TCID ₅₀ /ml	24	23	96 %
	Flu A	Hoch	1E5 Kop./ml	24	24	100 %
10	RSV B	3x	0,15 TCID ₅₀ /ml	24	23	96 %
	Flu B	Hoch	1E5 Kop./ml	24	24	100 %
11	Flu A	2x	1 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	Flu B	2x	0,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	RSV B	2x	0,1 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	SARS-CoV-2	2x	300 IU/ml	24	24	100 %

Analytische Reaktivität und Inklusivität

Die analytische Reaktivität des NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assays wurde anhand mehrerer Stämme/Isolate von Influenza A, Influenza B, RSV und SARS-CoV-2 bewertet. Die Reaktivität der einzelnen Stämme/Isolate wurde in zwei Teilen charakterisiert. Die anfängliche Bewertung der Reaktivitätskonzentrationen für die einzelnen Ziele wurde durch Tests der jeweiligen Zielstämme in 3 Konzentrationen in einer simulierten nasopharyngealen Abstrichproben-Matrix (hergestellt aus 3000 humanen Epithelzellen je ml UVT) durchgeführt; siehe *Tabelle 9*. Im zweiten Teil wurde die niedrigste Konzentration, die in Phase 1 eine 100%ige Positivitätsrate ergeben hatte, durch Testen von mindestens 20 Replikaten als die Reaktivitätskonzentration bestätigt; siehe *Tabelle 10*. Insgesamt wurden 14 Flu-A-Stämme, 6 Flu-B-Stämme, 1 RSV-A-Isolat, 1 RSV-B-Isolat und 6 Isolate von SARS-CoV-2 getestet.

Tabelle 9. Flu-A-, Flu-B-, RSV-A-, RSV-B- und SARS-CoV-2-Stämme – Vorläufige Analyse der Reaktivitätskonzentration

Vorläufige Analyse					
Ziel	Stamm		Getestete Höhe	Anz. gültiger Ergebnisse	% Pos.
Flu A	H1N1	Brisbane/02/2018	0,5 TCID ₅₀ /ml	8	75,0 %
			1,5 TCID ₅₀ /ml	8	100 %
			4,5 TCID ₅₀ /ml	7	100 %
		Guangdong-Moanan/SWL 1536/2019	0,33 TCID ₅₀ /ml	8	87,5 %
			1 TCID ₅₀ /ml	8	100 %
			3 TCID ₅₀ /ml	8	100 %
		Michigan/272/2017 (H1N1)pdm09	0,17 TCID ₅₀ /ml	6	50 %
			0,5 TCID ₅₀ /ml	6	100 %
			1,5 TCID ₅₀ /ml	6	100 %
		A/Iowa/53/2015 (H1N1)pdm09	0,33 TCID ₅₀ /ml	8	87,5 %
			1 TCID ₅₀ /ml	8	100 %
			3 TCID ₅₀ /ml	8	100 %
		A/Bangladesh/3002/2015 (H1N1)pdm09	3,3 CEID ₅₀ /ml	8	62,5%
			10 CEID ₅₀ /ml	8	87,5%
			30 CEID ₅₀ /ml	8	100 %
	H3N2	Switzerland/9715293/2013 (H3N2)	0,17 TCID ₅₀ /ml	8	87,5 %
			0,5 TCID ₅₀ /ml	8	100 %
			1,5 TCID ₅₀ /ml	8	100 %
		Hong Kong/4801/2014 (H3N2)	0,15 TCID ₅₀ /ml	7	28,6 %
			0,5 TCID ₅₀ /ml	8	100 %
			1,5 TCID ₅₀ /ml	8	100 %
		Kansas/14/2017 (H3N2)	2,67 TCID ₅₀ /ml	8	50 %
			8 TCID ₅₀ /ml	8	87,5 %
			24 TCID ₅₀ /ml	7	100 %
		A/Wisconsin/04/2018 (H3N2)	3,3 CEID ₅₀ /ml	6	83,3%
			10 CEID ₅₀ /ml	6	100%
			30 CEID ₅₀ /ml	6	100%
		A/California/02/2014 (H3N2)	0,01 TCID ₅₀ /ml	8	85,7%
			0,03 TCID ₅₀ /ml	8	100 %
			0,1 TCID ₅₀ /ml	7	100 %
	0,33 TCID ₅₀ /ml		8	100%	
	1 TCID ₅₀ /ml		8	100 %	
	H2N2	A2/Japan/305/57 (H2N2)	3 TCID ₅₀ /ml	7	100 %
10,87 pg/ml ¹			8	100 %	
32,6 pg/ml ¹			8	87,5 %	
H5N2	A/Duck/Pennsylvania/10218/84 (H5N2)	97,8 pg/ml ¹	7	100 %	
		8 pg/ml ¹	8	100 %	
		25 pg/ml ¹	8	100 %	
H7N9	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	75 pg/ml ¹	7	100 %	
		1:3E5 ¹	8	50 %	
		1:1E5 ¹	7	87,5 %	
H10N7	A/Chick/Germany/N/49 (H10N7)	1:3.3E4 ¹	8	100 %	
		22,67 pg/ml ¹	8	100 %	
		68 pg/ml ¹	8	100 %	
Flu B	Stammlinie Victoria	Malaysia/2506/2004 (Victoria)	204 pg/ml ¹	8	100 %
			1 TCID ₅₀ /ml	8	100 %
			3 TCID ₅₀ /ml	8	100 %
		Washington/02/2019 (Victoria)	9 TCID ₅₀ /ml	8	100%
			2,5 CEID ₅₀ /ml	8	25,0%
			5 CEID ₅₀ /ml	8	87,5%
		B/Maryland/15/2016 (Victoria)	15 CEID ₅₀ /ml	8	100%
			0,01 TCID ₅₀ /ml	12	91,7%
			0,03 TCID ₅₀ /ml	8	100 %
			0,1 TCID ₅₀ /ml	8	100 %
		0,33 TCID ₅₀ /ml	16	100%	
		1 TCID ₅₀ /ml	8	100 %	

Vorläufige Analyse					
Ziel	Stamm		Getestete Höhe	Anz. gültiger Ergebnisse	% Pos.
Flu B (Fortsetzung)	Stammlinie Yamagata	Wisconsin/1/2010 (Yamagata)	3 TCID ₅₀ /ml	8	100 %
			0,17 CEID ₅₀ /ml	8	75,0 %
			0,5 CEID ₅₀ /ml	8	100%
			1,5 CEID ₅₀ /ml	8	100%
		B/Utah/09/2014 (Stammlinie Yamagata)	0,06 CEID ₅₀ /ml	8	25,0%
			0,19 CEID ₅₀ /ml	8	87,5%
			0,56 CEID ₅₀ /ml	7	85,7%
			1,7 CEID ₅₀ /ml	6	100%
			5 CEID ₅₀ /ml	6	100%
			15 CEID ₅₀ /ml	6	100%
		B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N) (Yamagata)	0,33 TCID ₅₀ /ml	8	25,0%
			1 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%
			3 TCID ₅₀ /ml	8	100 %
RSV	RSVA	A (lang)	0,67 PFU/ml	8	37,5 %
			2 PFU/ml	8	100 %
			6 PFU/ml	7	100 %
	RSVB	B (9320)	0,03 PFU/ml	8	12,5 %
			0,1 PFU/ml	8	87,5 %
			0,3 PFU/ml	8	100 %
SARS-CoV-2	USA/CA-Stanford-15_S02/2021 (Kappa, B.1.617.1)	0,06 TCID ₅₀ /ml	8	0 %	
		0,17 TCID ₅₀ /ml	8	12,5 %	
		0,5 TCID ₅₀ /ml	8	37,5%	
		1,5 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%	
		4,5 TCID ₅₀ /ml	8	100 %	
		13,5 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
		USA/CA_CDC_5574/2020 (Alpha, B.1.1.7)	0,006 TCID ₅₀ /ml	8	62,5%
			0,02 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%
			0,06 TCID ₅₀ /ml	8	100%
			0,17 TCID ₅₀ /ml	7	100%
	0,5 TCID ₅₀ /ml		7	100 %	
	1,5 TCID ₅₀ /ml		7	100 %	
	Japan/TY7-503/2021 (Gamma, Brazil P.1)	0,002 TCID ₅₀ /ml	8	62,5%	
		0,006 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
		0,02 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
		0,06 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
		0,17 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
		0,5 TCID ₅₀ /ml	8	100 %	
	USA/PHC658/2021 (Delta, B.1.617.2)	0,001 TCID ₅₀ /ml	8	37,5%	
		0,004 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%	
		0,013 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
		0,04 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
		0,11 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
		0,33 TCID ₅₀ /ml	4	100 %	
	Italy-INMI1	7,44 Kop./ml ¹	8	37,5 %	
		22,33 Kop./ml ¹	8	87,5 %	
		67 Kop./ml ¹	8	100 %	
200 Kop./ml ¹		8	100 %		
600 Kop./ml ¹		8	100 %		
7,44 Kop./ml ¹		8	25,0 %		
Isolat Hong Kong/VM20001061/2020	22,33 Kop./ml ¹	8	87,5 %		
	67 Kop./ml ¹	7	100 %		
	200 Kop./ml ¹	7	100 %		
	600 Kop./ml ¹	7	100 %		

¹Diese Varianten wurden lediglich mit einer „Gesamt-RNA“-Bestimmung bereitgestellt, welche sowohl virale RNA als auch Wirtszellen-RNA umfasst.

Tabelle 10. Flu-A-, Flu-B-, RSV-A-, RSV-B- und SARS-CoV-2-Stämme – Bestätigung der Reaktivitätskonzentration

Bestätigung					
Ziel	Stamm		Konzentration	Anz. gültiger Ergebnisse	% Pos.
Flu A	H1N1	Brisbane/02/2018	1,0 TCID ₅₀ /ml	23	91,3%
			1,5 TCID ₅₀ /ml	23	100 %
		Guangdong-Moanan/SWL 1536/2019	0,5 TCID ₅₀ /ml	23	82,6 %
			1,0 TCID ₅₀ /ml	24	100 %
		Michigan/272/2017 (H1N1)pdm09	0,5 TCID ₅₀ /ml	24	100 %
		A/Iowa/53/2015 (H1N1)pdm09	0,33 TCID ₅₀ /ml	24	85,7%
	A/Bangladesh/3002/2015 (H1N1)pdm09	0,67 TCID ₅₀ /ml	24	95,2 %	
	H3N2	Switzerland/9715293/2013 (H3N2)	10 CEID ₅₀ /ml	24	100%
			0,25 TCID ₅₀ /ml	24	87,0 %
		Hong Kong/4801/2014 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /ml	24	100 %
			1,0 TCID ₅₀ /ml	23	91,3 %
		Kansas/14/2017 (H3N2)	12 TCID ₅₀ /ml	23	95,7 %
		A/Wisconsin/04/2018 (H3N2)	5 CEID ₅₀ /ml	23	100 %
	A/California/02/2014 (H3N2)	10 CEID ₅₀ /ml	23	100%	
	H2N2	A2/Japan/305/57 (H2N2)	0,01 TCID ₅₀ /ml	24	91,7%
			0,03 TCID ₅₀ /ml	24	100 %
	H5N2	A/Duck/Pennsylvania/10218/84 (H5N2)	0,03 TCID ₅₀ /ml	24	100 %
			10,87 pg/ml ¹	24	100 %
H7N9	A/Duck/Pennsylvania/10218/84 (H5N2)	2 pg/ml ¹	24	83,3 %	
		4 pg/ml ¹	23	100 %	
H10N7	A/Chick/Germany/N/49 (H10N7)	8 pg/ml ¹	23	100 %	
		1:3.3E4 ¹	24	95,7 %	
Flu B	Stammlinie Victoria	Malaysia/2506/2004 (Victoria)	7,6 pg/ml ¹	23	73,9 %
			22,67 pg/ml ¹	23	100 %
		Washington/02/2019 (Victoria)	1 TCID ₅₀ /ml	23	95,7%
			5 CEID ₅₀ /ml	24	95,8%
	Stammlinie Yamagata	B/Maryland/15/2016 (Victoria)	10 CEID ₅₀ /ml	24	100%
			0,01 TCID ₅₀ /ml	23	83,3 %
		Wisconsin/1/2010 (Yamagata)	0,03 TCID ₅₀ /ml	24	100 %
			0,05 CEID ₅₀ /ml	24	100%
		B/Utah/09/2014 (Stammlinie Yamagata)	0,56 TCID ₅₀ /ml	24	87,0 %
			1,5 TCID ₅₀ /ml	24	100 %
B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N) (Yamagata)	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	87,5%		
	1,5 TCID ₅₀ /ml	20	95,0 %		
RSV	RSVA	A (lang)	3,0 TCID ₅₀ /ml	24	100 %
			2 PFU/ml	24	91,7 %
	RSVB	B (9320)	4 PFU/ml	24	95,8 %
			0,15 PFU/ml	24	100 %
SARS-CoV-2	USA/CA-Stanford-15_S02/2021 (Kappa, B.1.617.1)	USA/CA-Stanford-15_S02/2021 (Kappa, B.1.617.1)	0,3 PFU/ml	21	100 %
			1,5 TCID ₅₀ /ml	24	100%
		USA/CA_CDC_5574/2020 (Alpha, B.1.1.7)	3 TCID ₅₀ /ml	24	100%
			4,5 TCID ₅₀ /ml	24	100%
		Japan/TY7-503/2021 (Gamma, Brazil P.1)	0,02 TCID ₅₀ /ml	24	95,8%
			0,06 TCID ₅₀ /ml	24	100%
	USA/PHC658/2021 (Delta, B.1.617.2)	0,006 TCID ₅₀ /ml	24	95,8%	
		0,006 TCID ₅₀ /ml	24	87,5%	
	Italy-INMI1	Italy-INMI1	0,013 TCID ₅₀ /ml	24	100 %
			22 Kop./ml ¹	24	95,8 %
	Isolat Hong Kong/VM20001061/2020	Isolat Hong Kong/VM20001061/2020	67 Kop./ml ¹	24	100 %
			22 Kop./ml ¹	24	57,1 %
			67 Kop./ml ¹	24	100 %

¹Diese Varianten wurden lediglich mit einer „Gesamt-RNA“-Bestimmung bereitgestellt, welche sowohl virale RNA als auch Wirtszellen-RNA umfasst.

Die Reaktivität des NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assays beim Nachweis verschiedener klinischer Isolate von SARS-CoV-2 wurde im Rahmen einer *In-silico*-Analyse der Primer und Sonden des Assays gegenüber allen in GenBank verfügbaren Sequenzen (Stand November 2021), ermittelt mithilfe des webbasierten NCBI Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), demonstriert. Die Ergebnisse zeigen, dass die Primer und Sonden für SARS-CoV-2 mit mehr als 98 % der Sequenzen eine Homologie von 100 % aufweisen. Insgesamt haben die Primer und Sonden eine Homologie von > 95 % mit allen analysierten Sequenzen.

Laborinterne Reproduzierbarkeit

Die laborinterne Reproduzierbarkeit des NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assays wurde durch das Testen von zehn Panels von einzeln mit Flu A, Flu B, RSV A, RSV B oder SARS-CoV-2 in zwei Konzentrationen versetzten Proben [moderat positiv (5x LoD) und schwach positiv (2x LoD)] und einem negativen Panel charakterisiert. Die Panels wurden mit drei Chargen der unter GMP hergestellten NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips auf zwei NeuMoDx Systemen an sechs nicht aufeinanderfolgenden Tagen getestet. Die Panelmitglieder wurden in simulierten nasopharyngealen Abstrichproben angesetzt. Diese wurden aus 3000 humanen Epithelzellen je ml Universal Viral Transport (UVT) Medium hergestellt und mit je einem repräsentativen Stamm von Flu A, Flu B, RSV A, RSV B und SARS-CoV-2 versetzt. Die NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips und der NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) wurden als die wesentlichen testspezifischen Reagenzien identifiziert, die in der Lage sind, die Leistung des Assays zu beeinflussen. Aus diesem Grund wurde der Workflow mit Vorbehandlung angewendet, um VVLB in die Studie aufzunehmen. Die Standardabweichung der Ct-Werte innerhalb der einzelnen Chargen und über drei Chargen der NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay Teststreifen bei Verwendung von zwei NeuMoDx Molecular Systemen betrug für alle Ziele $\leq 1,2$ mit Variationskoeffizienten (VK) $\leq 4,0$ %, was eine ausgezeichnete Reproduzierbarkeit belegt; siehe *Tabelle 11, 12 und 13*.

Tabelle 11. Reproduzierbarkeit der NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips über alle Systeme/Chargen/Tage hinweg

Ziel	Zielkonzentration	Gültig (N)	% Positiv	Durchschn. Ct	SD	% VK
Flu A	Moderat positiv	72	100 %	31,21	0,59	1,9 %
	Schwach positiv	72	100 %	32,01	0,58	1,8 %
Flu B	Moderat positiv	72	100 %	31,02	0,39	1,3 %
	Schwach positiv	72	100 %	31,88	0,56	1,7 %
RSV A	Moderat positiv	72	100 %	29,71	0,95	3,2 %
	Schwach positiv	72	100 %	30,75	1,18	3,8 %
RSV B	Moderat positiv	72	100 %	28,43	0,53	1,9 %
	Schwach positiv	72	100 %	29,45	0,56	1,9 %
SARS-CoV-2	Moderat positiv	72	100 %	32,70	0,51	1,5 %
	Schwach positiv	72	100 %	33,68	0,56	1,7 %
Tatsächlich negativ		72	0 %	k. A.	k. A.	k. A.

Tabelle 12. Reproduzierbarkeit der NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips nach System

Panel		N0000096					N000012				
Ziel	Zielkonzentration	Gültig (N)	% Positiv	Durchschn. Ct	SD	% VK	Gültig (N)	% Positiv	Durchschn. Ct	SD	% VK
Flu A	Moderat positiv	36	100 %	31,37	0,66	2,1 %	36	100 %	31,05	0,46	1,5 %
	Schwach positiv	36	100 %	32,07	0,65	2,0 %	36	100 %	31,95	0,51	1,6 %
Flu B	Moderat positiv	36	100 %	31,10	0,40	1,3 %	36	100 %	30,94	0,37	1,2 %
	Schwach positiv	36	100 %	31,84	0,57	1,8 %	36	100 %	31,91	0,55	1,7 %
RSV A	Moderat positiv	36	100 %	29,94	0,97	3,2 %	36	100 %	29,49	0,89	3,0 %
	Schwach positiv	36	100 %	30,93	1,19	3,8 %	36	100 %	30,57	1,16	3,8 %
RSV B	Moderat positiv	36	100 %	28,60	0,58	2,0 %	36	100 %	28,26	0,42	1,5 %
	Schwach positiv	36	100 %	29,60	0,53	1,8 %	36	100 %	29,29	0,56	1,9 %
SARS-CoV-2	Moderat positiv	36	100 %	32,80	0,56	1,7 %	36	100 %	32,61	0,43	1,3 %
	Schwach positiv	36	100 %	33,83	0,64	1,9 %	36	100 %	33,52	0,42	1,2 %
Tatsächlich negativ		36	0 %	k. A.	k. A.	k. A.	36	0 %	k. A.	k. A.	k. A.

Tabelle 13. Reproduzierbarkeit der NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips nach Reagenzcharge

Panel		Charge 1				Charge 2				Charge 3			
Ziel	Zielkonzentration	Gültig (N)	Durchschn. Ct	SD	% VK	Gültig (N)	Durchschn. Ct	SD	% VK	Gültig (N)	Durchschn. Ct	SD	% VK
Flu A	Moderat positiv	24	31,06	0,38	1,2 %	24	31,49	0,62	2,0 %	24	31,08	0,65	2,1 %
	Schwach positiv	24	32,02	0,59	1,8 %	24	32,18	0,50	1,6 %	24	31,82	0,61	1,9 %
Flu B	Moderat positiv	24	31,05	0,39	1,2 %	24	31,08	0,47	1,5 %	24	30,94	0,29	0,9 %
	Schwach positiv	24	31,93	0,36	1,1 %	24	32,01	0,77	2,4 %	24	31,69	0,42	1,3 %
RSV A	Moderat positiv	24	29,04	0,71	2,4 %	24	30,40	0,66	2,2 %	24	29,69	0,94	3,2 %
	Schwach positiv	24	31,53	0,50	1,6 %	24	29,45	0,79	2,7 %	24	31,25	0,87	2,8 %
RSV B	Moderat positiv	24	28,65	0,54	1,9 %	24	28,29	0,52	1,8 %	24	28,35	0,47	1,7 %
	Schwach positiv	24	29,31	0,48	1,6 %	24	29,46	0,64	2,2 %	24	29,57	0,55	1,8 %
SARS-CoV-2	Moderat positiv	24	32,82	0,43	1,3 %	24	32,70	0,56	1,7 %	24	32,59	0,50	1,5 %
	Schwach positiv	24	33,42	0,58	1,7 %	24	33,80	0,57	1,7 %	24	33,81	0,47	1,4 %
Tatsächlich negativ		24	k. A.	k. A.	k. A.	24	k. A.	k. A.	k. A.	24	k. A.	k. A.	k. A.

Klinische Leistung

Die klinischen Leistungsmerkmale des NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay wurden in einer internen retrospektiven Methodenvergleichsstudie mit von 4 geografisch unterschiedlichen Kliniklaborstandorten bezogenen nasopharyngealen (NP) Abstrichproben bestimmt. In diese Studie gingen auch Verdünnungen von klinischen SARS-CoV-2-positiven Proben ein, um die klinische Sensitivität in der Nähe der LoD nachzuweisen.

Übrig gebliebene NP Abstrichproben von symptomatischen Patienten wurden von den bereitstellenden Labors anonymisiert und erhielten eine eindeutige ID-Nummer. So wurde eine vertrauliche Liste erstellt, die die Patienten-ID mit den zu Studienzwecken getesteten anonymisierten Proben verknüpfte. Für diese Studie wurden insgesamt 747 einzelne NP-Abstrichproben entnommen. Alle Proben durchliefen sowohl den direkten als auch den vorbehandelten Arbeitsablauf und ergaben schließlich 739 gültige und 8 ungültige Ergebnisse im direkten Arbeitsablauf sowie 736 gültige und 11 ungültige Ergebnisse im vorbehandelten Arbeitsablauf. Von diesen gültigen Proben wurden 121 ausschließlich für die Bewertung von Grippe-A-, Grippe-B- und RSV-Zielen verwendet. Grippe-A-Positive Proben machen 54 dieser Proben aus, während Grippe-B-positive Proben 34 und RSV-positive Proben 33 ausmachen. Innerhalb dieser Kohorte von 121 Proben wurden die Ergebnisse für alle 3 Ziele von Interesse von den bereitstellenden Kliniklabors zur Verfügung gestellt. So lieferte diese Kohorte positiver Proben auch 67 negative Grippe-A-Ergebnisse, 87 negative Grippe-B-Ergebnisse und 88 RSV-negative Ergebnisse. Die erwähnten negativen Ergebnisse wurden durch 59 klinische Proben ergänzt, bei denen die Ergebnisse der Vergleichstests für alle 4 Ziele negativ waren. Insgesamt wurden in beiden Arbeitsabläufen 106 Proben als SARS-CoV-2-positiv identifiziert. Klinische SARS-CoV-2-negative Proben wurden mit einem gültigen NeuMoDx-Ergebnis in 512 Proben mit Arbeitsablauf „Direkt“ und 509 Proben mit Arbeitsablauf „Vorbehandelt“ bestätigt.

Der Teststatus dieser Proben wurde dem Bediener vorenthalten, um eine „einfach verblindete Studie“ zu implementieren. Für die Methodenvergleichsanalyse wurden die Ergebnisse der jeweiligen FDA- und CE-geprüften, legal vermarkteten und von den Labors für Tests im Rahmen der standardmäßigen Versorgung verwendeten molekularbiologischen Geräte herangezogen.

Die Ergebnisse des NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay ergaben eine klinische Sensitivität von 98,1 % für beide Arbeitsabläufe für das Ziel Flu A und eine klinische Spezifität von 100 % und 99,2 % für die Arbeitsabläufe „Direkt“ bzw. „Vorbehandelt“ (Tabelle 14A). Die Ergebnisse für das Flu-B-Ziel zeigten für beide Workflows eine klinische Sensitivität von 97,1% und eine klinische Spezifität von 100% (Tabelle 14B). Die Ergebnisse für das RSV-Ziel (undifferenziert) zeigten für beide Workflows eine klinische Sensitivität von 97 %, während die klinische Spezifität für den Workflow „Direkt“ als 99,3 % und für den Workflow „Vorbehandelt“ als 98,6 % bestimmt wurde (Tabelle 14C). Die Ergebnisse für das SARS-CoV-2-Ziel ergaben eine klinische Sensitivität von 97,2 % für beide Arbeitsabläufe und eine klinische Spezifität von 98,4 % und 98,2 % für den Arbeitsablauf „Direkt“ bzw. „Vorbehandelt“ (Tabelle 14D). Die in den nachstehenden Tabellen 14A, 14B, 14C und 14D aufgeführten Unter- und Obergrenzen für das 95%-Konfidenzintervall wurden nach dem Wilson-Verfahren mit Kontinuitätskorrektur berechnet.

Tabelle 14A. Zusammenfassung der klinischen Leistungsmerkmale – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Nachweis von Flu A (a) Workflow „Direkt“ und (b) Workflow „Vorbehandelt“

(a) Workflow „Direkt“

Flu A		FDA-/CE-zugelassenes Referenztestergebnis		
		POS	NEG	Gesamt
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Testergebnis	POS	53	0	53
	NEG	1	126	127
	Gesamt	54	126	180
Klinische Sensitivität (Flu A) = 98,1 % (88,8–99,9 %)				
Klinische Spezifität (Flu A) = 100 % (96,3–100 %)				

(b) Workflow „Vorbehandelt“

Flu A		FDA-/CE-zugelassenes Referenztestergebnis		
		POS	NEG	Gesamt
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Testergebnis	POS	53	1	54
	NEG	1	125	126
	Gesamt	54	126	180
Klinische Sensitivität (Flu A) = 98,1 % (88,8–99,9 %)				
Klinische Spezifität (Flu A) = 99,2 % (95,0–100 %)				

Tabelle 14B. Zusammenfassung der klinischen Leistungsmerkmale – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Nachweis von Flu B (a) Workflow „Direct“ (Direkt) und (b) Workflow „Pretreated“ (Vorbehandelt)

(a) Workflow „Direkt“

Flu B		FDA-/CE-zugelassenes Referenztestergebnis		
		POS	NEG	Gesamt
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Testergebnis	POS	33	0	33
	NEG	1	146	147
	Gesamt	34	146	180
Klinische Sensitivität (Flu B) = 97,1 % (82,9–99,8 %)				
Klinische Spezifität (Flu B) = 100 % (96,8–100 %)				

(b) Workflow „Vorbehandelt“

Flu B		FDA-/CE-zugelassenes Referenztestergebnis		
		POS	NEG	Gesamt
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Testergebnis	POS	33	0	33
	NEG	1	146	147
	Gesamt	34	146	180
Klinische Sensitivität (Flu B) = 97,1 % (82,9–99,8 %)				
Klinische Spezifität (Flu B) = 100 % (96,8–100 %)				

Tabelle 14C. Zusammenfassung der klinischen Leistungsmerkmale – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Nachweis von RSV mit (a) Workflow „Direct“ (Direkt) und (b) Workflow „Vorbehandelt“

(a) Workflow „Direct“ (Direkt)

RSV		FDA-/CE-zugelassenes Referenztestergebnis		
		POS	NEG	Gesamt
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Testergebnis	POS	32	1	33
	NEG	1	146	147
	Gesamt	33	147	180
Klinische Sensitivität (RSV) = 97,0 % (82,5–99,8 %)				
Klinische Spezifität (RSV) = 99,3 % (95,7–100 %)				

(b) Workflow „Vorbehandelt“

RSV		FDA-/CE-zugelassenes Referenztestergebnis		
		POS	NEG	Gesamt
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Testergebnis	POS	32	2	34
	NEG	1	145	146
	Gesamt	33	147	180
Klinische Sensitivität (RSV) = 97,0 % (82,5–99,8 %)				
Klinische Sensitivität (RSV) = 98,6 % (94,7–99,8 %)				

Tabelle 14D. Zusammenfassung der klinischen Leistungsmerkmale – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Nachweis von SARS-CoV-2 mit (a) Workflow „Direct“ (Direkt) und (b) Workflow „Pretreated“ (Vorbehandelt)

(a) Workflow „Direct“ (Direkt)

SARS-CoV-2		FDA-/CE-zugelassenes Referenztestergebnis		
		POS	NEG	Gesamt
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Testergebnis	POS	103	8	111
	NEG	3	504	507
	Gesamt	106	512	618
Klinische Sensitivität (SARS-CoV-2) = 97,2 % (91,3–99,3 %)				
Klinische Sensitivität (SARS-CoV-2) = 98,4 % (96,8–99,3 %)				

(b) Workflow „Vorbehandelt“

SARS-CoV-2		FDA-/CE-zugelassenes Referenztestergebnis		
		POS	NEG	Gesamt
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Testergebnis	POS	103	9	112
	NEG	3	500	503
	Gesamt	106	509	615
Klinische Sensitivität (SARS-CoV-2) = 97,2 % (91,3–99,3 %)				
Klinische Sensitivität (SARS-CoV-2) = 98,2 % (96,5–99,1 %)				

Analytische Spezifität und Kreuzreaktivität

Die analytische Spezifität des NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assays wurde durch Testen eines Panels von 47 Organismen bestehend aus 22 Virus- und 24 Bakterienstämmen sowie 1 Hefestamm, die repräsentativ für häufige respiratorische Pathogene oder die häufig in den Atemwegen anzutreffende Flora waren, bewertet. Bakterien und Hefe wurden, sofern nicht anders angegeben, in Konzentrationen von ~6E6 KBE/ml oder IFU/ml getestet. Viren wurden, sofern nicht anders angegeben, in Konzentrationen von 1E5 bis 1E6 TCID₅₀/ml oder Kopien/ml getestet. Um die potenzielle Kreuzreaktivität zwischen SARS-CoV-2 und der Coronavirus-Familie (229E, OC43, NL63, MERS und SARS-1) sowie *Legionella pneumophila* zu bestätigen, wurden zusätzliche Replikate (>20) aufgenommen, um die MDCG-Anforderungen für SARS-CoV-2-In-vitro-Diagnostika zu erfüllen. Die analytische Spezifität des NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assays betrug 100 % für Flu A, Flu B, RSV A, RSV B und SARS-CoV-2.

HKU1 war ein weiteres Mitglied der Coronavirus-Familie, das getestet werden sollte. Da das Virus und die genomische RNA jedoch nicht vorlagen, wurden 4 Replikate eines synthetischen Materials getestet. Eine *In-silico*-Analyse zwischen den NeuMoDx-SARS-CoV-2-Primern und -Sonden und den in GenBank veröffentlichten Genomen des HKU1-Coronavirus wurde ebenfalls durchgeführt, um die mögliche Kreuzreaktivität zu untersuchen. Aus der NCBI-Virusdatenbank des NIH wurden insgesamt 57 Sequenzen von HKU1-Genomen entnommen. Alle HKU1-Sequenzen wiesen 3 oder mehr Fehlpaarungen mit jedem der NeuMoDx SARS-CoV-2-Primer und -Sonden auf. Es wurde keine enge Homologie festgestellt. Daher ist keine Kreuzreaktivität zwischen dem Coronavirus HKU1 und dem NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay zu erwarten.

Tabelle 15. Ergebnisse für die analytische Spezifität

Organismus	Konzentration	Flu A	Flu B	RSV	SARS-CoV-2
Adenovirus Typ 1	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Adenovirus Typ 7	5E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Bordetella pertussis</i> I176	10 ng/ml	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	10 ng/ml	-	-	-	-
<i>Corynebacterium xerosis</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
EBV	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
<i>Hemophilus influenzae</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
HHV 6A	1E6 Kop./ml	-	-	-	-
HHV 7	1E6 Kop./ml	-	-	-	-
HHV 8	1E6 Kop./ml	-	-	-	-
HSV 1	1E6 Kop./ml	-	-	-	-
HSV 2	1E6 Kop./ml	-	-	-	-
Humanes Coronavirus 229E	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humanes Coronavirus HKU1	1E6 Kop./ml	-	-	-	-
Humanes Coronavirus NL63	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humanes Coronavirus OC43	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humanes Enterovirus 68	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humanes Metapneumovirus	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humanes Parainfluenzavirus Typ 1	5E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humanes Parainfluenzavirus Typ 2	5E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humanes Parainfluenzavirus Typ 3	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humanes Rhinovirus Typ 1A	5E3 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus brevis</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus jensonii</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus lactis</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
Masernvirus	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
MERS-Coronavirus EMC/2012	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Maraxella catarrhalis</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
Mumpsvirus	5E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero A	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero B	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero C	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero D	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
SARS-Coronavirus	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	6E6 Kbe/ml	-	-	-	-
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016	3 x LoD	+	-	-	-
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	3 x LoD	-	+	-	-
RSV A2	3 x LoD	-	-	+	-
RSV B (WV/14617/85)	3 x LoD	-	-	+	-
SARS-CoV-2, 1. Internationaler Standard der WHO	3 x LoD	-	-	-	+
Negativkontrolle (keine Pathogene)	k. A.	-	-	-	-

Tabelle 16. Analytische Spezifität – Coronavirus-Familie zusammen mit *Legionella pneumophila* (>20 Replikate getestet)

Organismus	Konzentration	SARS-CoV-2
Humanes Coronavirus NL63	1,00E+04 TCID ₅₀ /ml	-
SARS-Coronavirus-1	1,00E+06 PFU/ml	-
MERS-Coronavirus EMC/2012	1,00E+04 TCID ₅₀ /ml	-
Humanes Coronavirus 229E	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml	-
Humanes Coronavirus OC43	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6,00E+06 KbE/ml	-
Positive control (Positivkontrolle): Erster SARS-CoV-2-WHO Standard	3 x LoD	+
Negativkontrolle (keine Pathogene)	k. A.	-

Störsubstanzen – kommensale Organismen

Der NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay wurde auf Störungen in der Gegenwart von Nicht-Zielorganismen (potenziell in den oberen Atemwegen vorhanden) getestet. Dazu wurde die Assayleistung bei niedrigen Konzentrationen (~3 x LoD) an Flu A, Flu B, RSV A, RSV B und SARS-CoV-2 in der Gegenwart hoher Konzentrationen der in der obigen *Tabelle 15* aufgeführten Organismen bewertet. Zur Bestätigung der potenziellen Interferenz zwischen SARS-CoV-2 und der Coronavirus-Familie (229E, OC43, NL63, MERS und SARS-1) sowie *Legionella pneumophila* (*Tabelle 16*) wurden außerdem zusätzliche Replikate (>20) einbezogen, um die MDCG-Anforderungen für SARS-CoV-2-In-vitro-Diagnostika zu erfüllen. Diese Proben wurden für den Teil zur Untersuchung von Störungen mit SARS-CoV-2 mit einer ungefähr 3 x LoD versetzt. Die Nachweisrate lag bei allen Zielen bei 100 %. Daher wurde keine Beeinträchtigung des Nachweises eines Ziels durch einen der kommensalen Organismen beobachtet.

Störsubstanzen – endogen/exogen

Der NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay wurde auf seine Anfälligkeit für Störungen durch Substanzen, die möglicherweise bei der Entnahme nasopharyngealer Abstrichproben vorhanden sein können, untersucht. Übriggebliebene klinische negative nasopharyngeale Abstrichproben wurden einzeln mit Flu A, Flu B, RSV A, RSV B oder SARS-CoV-2 bei 3 x LoD versetzt und in Anwesenheit und Abwesenheit der in *Tabelle 17* aufgeführten Agzien verarbeitet. Keine der getesteten Substanzen hatte einen nachteiligen Effekt auf die Leistung des Assays für eines der Ziele.

Tabelle 17. Auf Störung getestete Substanzen

	Substanz	Beschreibung/Wirkstoff	Konzentration*
Exogen	Neosynephrin	Phenylephrin	15 % v/v
	Nasengel – Ayr Saline Nasal Gel	Natriumchlorid mit Konservierungsmitteln	15 % v/v
	Homöopathisches Antiallergikum – Similasan	<i>Cardiospermum, Sabadilla, Luffa operculata, Galphimia glauca</i>	15 % v/v
	Nature's Bounty Zinc	Zinkgluconat	0,1 mg/ml
	Orales Betäubungsmittel/Analgetikum – Oragel	Benzocain, Benzalkoniumchlorid	1 % v/v
	Nasenspray – Afrin	Oxymetazolin	15 % w/v
	Nasenspray – Zicam	<i>Luffa operculata, Galphimia glauca, Histaminum hydrochloricum, Sulfur</i>	15 % v/v
	Nasales Corticosteroid – Flonase	Fluticason	5 % v/v
	Nasales Corticosteroid – Rhinocort	Budesonid	5 % v/v
	Nasales Corticosteroid – Nasacort	Triamcinolon	5 % v/v
	Nasales Corticosteroid – Dexamethason	Dexamethason	10 mg/ml
	Nasales Corticosteroid – Mometason	Mometason	10 mg/ml
	Nasales Corticosteroid – Beclometason	Beclometason	10 mg/ml
	Chloraseptic Lutschtabletten	Benzocain, Menthol	2 mg/ml
	Antibiotikum, Nasensalbe	Mupirocin	10 mg/ml
	Relenza Antiviral Drug	Zanamivir	7,5 mg/ml
Tamiflu Virostatikum	Osetamivir	25 mg/ml	
Antibiotikum, systemisch	Tobramycin	15 mg/ml	
Endogen	Mucin	Aufgereinigtes Mucin-Protein	2,5 % w/v
	Humanblut	Blut	2 % v/v

*Hinweis: Die angegebenen Konzentrationen sind die, mit denen die Wattestäbchen getränkt wurden, bevor künstliche positive klinische Proben mit der Störsubstanz versetzt wurden. Sie repräsentieren daher die Menge an Störsubstanz, die im Bereich der Abstrichnahme tolerabel ist.

Kreuzkontamination

Die Kreuzkontaminationsrate für den NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay auf den NeuMoDx 288 und 96 Molecular Systems wurde durch die Bearbeitung hochpositiver und negativer Proben in einem abwechselnden „Schachbrettmuster“ bestimmt. Alle Proben bestanden aus simuliertem NP-Abstrichmaterial, wobei positive Proben mit $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml (oder $\geq 10.000 \times$ LoD) versetzt waren. Es wurden fünf Sätze von Schachbrett-Tests durchgeführt, die insgesamt 60 negative Replikate und 60 positive Replikate auf den NeuMoDx 288 und 96 Molecular Systems ergaben. Bei beiden Systemtypen wurden alle 120 Replikate negativer Proben korrekt als negativ gemeldet, was zeigt, dass während der Probenverarbeitung mit den NeuMoDx Systemen keine Kreuzkontamination auftrat.

Bearbeitungszeit

Die Bearbeitungszeit zur Verarbeitung von 8 Proben mit dem NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay beträgt ~ 85 Minuten auf dem N288 System und ~ 78 Minuten für die Verarbeitung von 4 Proben auf dem NeuMoDx 96 System.

Gesamtausfallrate des Systems

Die Gesamtausfallrate des NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay wurde durch Testen einer Stufe des Ziels SARS-CoV-2 bei einer Konzentration von ~3X LoD ermittelt, die durch Anreicherung von klinisch negativen Nasopharyngealabstrichen mit dem ersten internationalen WHO-Standard für SARS-CoV-2 angesetzt wurde. Insgesamt wurden 200 Replikate mit dem Arbeitsablauf „Direkt“ auf den NeuMoDx 96 und 288 Molecular Systems verarbeitet (100 Replikate je System). Die Fehlerquote wurde als prozentualer Anteil der falsch-negativen Ergebnisse an der Gesamtzahl gültiger Ergebnisse berechnet. Die Nachweisrate für das SARS-CoV-2-Ziel im NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay lag bei 100 % für die NeuMoDx 96 und 288 Molecular Systems, was einer Ausfallrate von 0 % für beide Systeme entspricht.

Systemrobustheit – Hemmung

Die Hemmungsrate wurde durch Berechnung der Rate offener Proben (Probenprozesskontrolle, die bei fehlendem Systemfehlern nicht amplifiziert wurde) für alle negativen Proben bestimmt, die während der Verifizierungs- und Validierungsstudien getestet wurden. Von insgesamt 1221 verarbeiteten negativen Proben waren insgesamt 11 offen, was eine Hemmungsrate von 0,9 % für den NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay bedeutet.

LITERATUR

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

MARKENNAMEN

BD™ ist eine Marke von Becton, Dickinson and Company

Hamilton® ist eine eingetragene Marke der Hamilton Company

Minitip Nylon® Flocked Swab ist eine eingetragene Marke von Copan Diagnostics, Inc.

NeuMoDx™ und NeuDry™ sind Marken von NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® ist eine eingetragene Marke von Roche Molecular Systems, Inc.

UTM-RT® ist eine eingetragene Marke von Copan Diagnostics, Inc.

Alle anderen Produktbezeichnungen, Marken und eingetragenen Marken, die in diesem Dokument ggf. auftreten, sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.

SYMBOLSCHLÜSSEL

R only Nur zur Anwendung durch Fachpersonal



Nicht zur Wiederverwendung



Hersteller



Inhalt ausreichend für <n> Tests



In-vitro-Diagnostikum



Gebrauchsanweisung beachten



Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft



Vorsicht



Katalognummer



CE-Kennzeichnung



Chargencode



Enthält



Verfallsdatum



Enthält biologisches Material tierischen Ursprungs



Zulässiger Temperaturbereich



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



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

Technischer Support/Vigilanzberichterstattung: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents

