

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

**R only**

POZOR: Samo za izvoz v ZDA

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



Elektronska različica je na voljo na strani [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)

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

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

### NAMEN UPORABE

Test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay je multipleksiran *in vitro* diagnostični test RT-PCR v realnem času, namenjen hkratnemu kvalitativnemu zaznavanju in razlikovanju virusa influence A (Flu A), virusa influence B (Flu B), respiratornega sincicijskega virusa (Respiratory Syncytial Virus, RSV) in RNA SARS-CoV-2 iz primerkov brisa iz nosnega dela žrela (nasopharyngeal, NP), zbranih v transportnem mediju pri posameznikih z znaki in simptomi influenci podobne bolezni (Influenza like illness, ILI).

Test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, izveden na sistemu NeuMoDx 288 Molecular System in sistemu NeuMoDx 96 Molecular System, vključuje avtomatizirano ekstrakcijo RNA za izolacijo ciljnih nukleinskih kislin iz primerka in RT-PCR v realnem času, ki cilja na eno ohranjeno regijo za Flu A in RSV ter na dve ohranjeni regiji za SARS-CoV-2 in Flu B.

Rezultati tega testa ne smejo biti edina osnova za diagnozo, zdravljenje ali druge odločitve pri obravnavanju pacienta. Rezultati Positive (Pozitivno) kažejo na prisotnost SARS-CoV-2 in/ali Flu A in/ali Flu B in/ali RSV RNA, vendar ne izključujejo bakterijske okužbe ali sočasne okužbe z drugimi virusi. Za določanje stanja okužbe pri pacientu so potrebne klinična korelacija z anamnezo pacienta in druge diagnostične informacije.

Rezultati Negative (Negativno) ne izključujejo okužbe z Flu A, Flu B, RSV ali SARS-CoV-2 in se ne smejo uporabljati kot edina podlaga za diagnozo, zdravljenje ali druge odločitve o zdravljenju pacientov. Rezultate Negative (Negativno) je treba kombinirati s kliničnimi opažanji, anamnezo pacienta in/ali epidemiološkimi informacijami.

Test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay je namenjen usposobljenemu osebju kliničnih laboratorijev, ki so posebej izučeni in usposobljeni za tehnike RT-PCR v realnem času ter diagnostičnih postopkih *in vitro* in/ali sistemih NeuMoDx Molecular System. Test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay ni namenjen za samotestiranje ali za uporabo na kraju oskrbe.

### POVZETEK IN RAZLAGA

Test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay je kvalitativni test za uporabo na sistemih instrumentov NeuMoDx 96 in NeuMoDx 288 za zaznavanje SARS-CoV-2, Flu A, Flu B in/ali RNA RSV v vzorcih brisov iz nosnega dela žrela. Test ne razlikuje med RNA RSV A in RSV B. Primerki brisov iz nosnega dela žrela se zbirajo v univerzalnem transportnem mediju Copan (UTM-RT®) (Copan UTM-RT, Copan, CA, ZDA) ali univerzalnem sistemu za transport virusov BD™ (UVT) (BD™ UVT, BD, NJ, ZDA). Test uporablja notranjo kontrolo obdelave vzorca RNA (Sample Process Control, SPC2), ki je vključen med pripravo vzorca in služi za spremljanje celotne priprave vzorca, reverzne transkripcije in amplifikacije PCR. Test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay omogoča do dva poteka dela obdelave primerkov glede na potrebe laboratorija: neposredni potek dela in predhodno obdelan potek dela. Sistem NeuMoDx Molecular System samodejno izvede vse korake, potrebne za ekstrakcijo ciljnih nukleinskih kislin; pripravi izolirano RNA za reverzno transkriptazo verižne reakcije polimeraze v realnem času (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction, RT-PCR); in, če je prisoten, izvaja reverzno transkriptazo, amplifikira in zazna produkte amplifikacije. Test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay cilja na ohranjene regije genov SARS-CoV-2 Nsp2 in O-riboza metiltransferaze, regije v beljakovini matrice virusa influence A in respiratornega sincicijskega virusa ter gene beljakovine matrice in nestrukturne beljakovine NS1 virusa influence B.

### NAČELA POSTOPKA

Trenutno stanje tehnike za zaznavanje akutne okužbe FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 je amplificiranje nukleinske kisline ohranjenih regij znotraj ciljnega genoma, ki je v skladu z reverzno transkripcijo s PCR v realnem času, ki ga uporablja test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay izveden na sistemih NeuMoDx 288 Molecular System in NeuMoDx 96 Molecular System.

Test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay združuje avtomatizirano ekstrakcijo RNA in amplifikacijo/zaznavanje RNA SARS-CoV-2, Flu A, Flu B in/ali RSV z RT-PCR v realnem času. Vzorci brisov nosnega dela žrela se zbirajo v sistemu Copan UTM-RT sistemu BD™ UVT. Neposreden potek dela omogoča, da je primarna epruveta za zbiranje brisov ali alikvot transportnega medija v sekundarni epruveti označena s črtno kodo in naložena v sistem NeuMoDx System za obdelavo. Namesto tega lahko primerek brisa v transportnem mediju najprej obdelamo z enakim volumnom NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB), preden ga naložimo v sistem brez nadaljnega posredovanja uporabnika. Sistem NeuMoDx System samodejno aspirira alikvot ali primerka, da ga zmeša z NeuMoDx Lysis Buffer 3 za neposredni potek dela ali alikvot predhodno obdelanega primerka, da ga zmeša z Lysis Buffer 2 in reagenti, ki jih za začetek obdelave vsebuje ekstrakcijska plošča NeuMoDx Extraction Plate. Zlasti z uporabo neposrednega poteka dela je primarna epruveta za zbiranje (z odstranjenima brisom in pokrovčkom) ali alikvot medija vzorca v sekundarni epruveti označena s črtno kodo in naložena v sistem NeuMoDx System s temu namenjenim prenosnikom za epruvete s primerkom. Za predhodno obdelan potek dela se primerek v transportnem mediju najprej obdela z enakim volumnom NeuMoDx VVLB preden se naloži v sistem. Za neposredni potek dela sistem NeuMoDx System aspirira 400 µL alikvota vzorca in ga zmeša z enakim volumnom NeuMoDx Lysis Buffer 3, medtem ko za predhodno obdelan potek dela 550 µL predhodno obdelanega vzorca kombinira z enakim volumnom Lysis Buffer 2. Sistem NeuMoDx System avtomatizira in integrira ekstrakcijo ter koncentracijo RNA, pripravo reagenta ter amplifikacijo/zaznavanjem nukleinske kisline v ciljni sekvenci z uporabo RT-PCR v realnem času. Kontrola obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC2) pomaga nadzirati prisotnost inhibitornih snovi ter napak sistema, postopka ali reagenta. Ko je primerek enkrat naložen v NeuMoDx System, upravljavcu ni več treba posredovati.

NeuMoDx System uporablja kombinacijo toplote, litične encime in ekstrakcijske reagente, da samodejno izvede lizo, ekstrakcijo RNA in odstranjanje inhibitorjev. Sproščene nukleinske kisline ujamejo paramagnetni delci. Delci z vezano nukleinsko kislino se naložijo v NeuMoDx Cartridge, kjer se nevezani elementi izperejo s pralnim reagentom NeuMoDx Wash Reagent. Vezana RNA se nato izluži s pralnim reagentom NeuMoDx Release Reagent. Pri sistemu NeuMoDx System je uporabljena izlužena RNA za rehidracijo amplifikacijskih lastniških reagentov NeuDry™, ki vsebujejo vse potrebne elemente za amplifikacijo ciljev, specifičnih za Flu A, Flu B, RSV SARS-CoV-2 in SPC2. To omogoči hkratno amplifikacijo in zaznavanje tako vseh ciljev kot kontrolnih sekvenc vzorčnih procesov RNA. Po rekonstituciji posušenih reagentov RT-PCR NeuMoDx System sprosti pripravljeno mešanico za RT-PCR v eno od komor PCR (na vsak primerek) kartuše NeuMoDx Cartridge. V komori PCR pride do reverzne transkripcije, amplifikacije ter zaznavanja kontrolnih in ciljnih (če so prisotne) sekvenc. Kartuša NeuMoDx Cartridge je zasnovana tako, da vsebuje ustvarjene amplicon po RT-PCR, tako da praktično odpravlja tveganje onesaženja za naknadno amplifikacijo.

Amplificirane tarče so s kemijo v šobi za hidrolizo (splošno imenovano kemija TaqMan®) z uporabo fluorogenih oligonukleotidnih molekul šobe, specifičnih za amplicone za svoje določene cilje, zaznani v realnem času. Šobe TaqMan so sestavljene iz fluorofora, ki je kovalentno vezan na 5'-del šobe oligonukleotida in dušilca na 3'-delu. Medtem ko je šoba nedotaknjena, sta fluorofor in dušilec blizu, zaradi česar lahko molekula dušilca zaduši fluorescenco, ki jo fluorofor oddaja prek Försterjevega resonančnega prenosa energije (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Šobe TaqMan so zasnovane tako, da se združijo znotraj regije cDNA, ki jo amplificira specifični komplet primerjev. Ko polimeraza DNA Taq razširi primer in sintetizira nov trak, dejavnost eksonukleaze 5' do 3' polimeraze DNA Taq degradira šobo, ki se je vžarila v vzorec. Degradacija šobe sprosti fluorofor in zlomi bližino dušilca ter tako premaga učinek dušenja zaradi FRET ter omogoči zaznavanje fluorofora. Posledični fluorescenčni signal, zaznan v RT-PCR termopomnoževalniku sistema NeuMoDx System je neposredno sorazmeren s sproščenim fluoroforom, možno je vzpostaviti korelacijo s količino prisotnega cilja.

Kanal fluorescenčnega zaznavanja za vsak cilj testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay je na voljo v preglednici spodaj. Programska oprema sistema NeuMoDx System nadzoruje fluorescentni signal, ki ga oddajajo šobe TaqMan na koncu vsakega amplifikacijskega cikla. Ko je termično cikliranje končano, programska oprema NeuMoDx System analizira podatke in sporoči rezultat (POSITIVE (POZITIVEN)/NEGATIVE (NEGATIVEN)/INDETERMINATE (NEDOLOČEN)/NO RESULT (NI REZULTATA)/UNRESOLVED (NEREŠENO)).

**Preglednica 1. Kanali zaznavanja**

Cilj	Ciljna regija	Fluorofor šobe	Vzbujanje/emisija	Kanal zaznavanja
Influenca A	Beljakovina matrice	FAM	530/555 nm	Zelena
Influenca B	Beljakovina matrice	HEX	470/510 nm	Rumen
	Nestrukturna beljakovina NS1			
SARS-CoV-2	Gen Nsp2	Teksaško rdeč	585/610 nm	Oranžen
	O-riboza metiltransferaza			
Respiratorni sincicijski virus	Beljakovina matrice	Q705	680/715 nm	Dolgovalovno rdeč
SPC2	Sestavljena beljakovina (MS2)	Q670	625/660 nm	Rdeča



## REAGENTI/POTROŠNI MATERIAL

### Potrebni material

REF.	Vsebina	Enote na paket	Testi na enoto	Testi na paket
300901	<b>NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip</b> <i>Posušeni reagenti RT-PCR, ki vsebujejo šobe in primerje TaqMan, specifične za FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2, ter šobe in primerje TaqMan, specifične za SPC2. Vsebuje 21,1 % Tris-HCl, 8,4 % dNTP in druge neaktivne sestavine</i>	6	16	96

### Potrebni materiali, ki niso priloženi (na voljo ločeno pri družbi NeuMoDx)

REF.	Vsebina
901200	<b>Zunanje kontrole NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls</b> <i>Kompleti pozitivnih kontrol in negativnih kontrol za enkratno uporabo FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 za določanje dnevne veljavnosti kvant. testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay(1 viala vsake kontrole = 1 komplet)</i>
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Posušeni paramagnetni delci, litični encim in kontrole obdelave vzorca</i>
400500**	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 2</b>
400600*	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 3</b>
401500**	<b>NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer</b>
400100	<b>NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Hamilton® CO-RE / CO-RE II Konice (300 µL) s filtri</b>
235905	<b>Hamilton CO-RE / CO-RE II Konice (300 µL) s filtri</b>

\* Zahtevano samo za obdelavo vzorcev z neposrednim potekom dela, brez koraka predhodne obdelave. Glejte spodnji razdelek »Navodila za uporabo«.

\*\* Zahtevano samo pri obdelavi vzorcev s predhodno obdelanim potekom dela s korakom predhodne obdelave. Glejte spodnji razdelek »Navodila za uporabo«.

**Bris in transportni medij (ni priloženo)**

Vrsta vzorca	Priporočena naprava za zbiranje	Priporočeni bris
<b>Bris iz nosnega dela žrela</b>	3-mL Universal Transport Medium (Copan UTM-RT, Copan, CA, USA, 305C) ali 3-mL Universal Viral Transport System (BD UVT, BD, NJ, USA, BD 220531)	Flexible Minitip Nylon® Flocked Swab (Copan, CA, ZDA) ali Flexible Minitip Flocked Swab (BD, NJ, ZDA)

**Potrebni instrumenti**

**NeuMoDx 288 Molecular System** [REF. 500100] ali **NeuMoDx 96 Molecular System** [REF. 500200]  
**NeuMoDx System Software** različice 1.9.2.6 ali novejšje



**OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI**

- Test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay je namenjen samo za diagnostično uporabo *in vitro* s sistemi NeuMoDx System.
- Ne uporabljajte reagentov ali potrošnega materiala po navedenem roku uporabe.
- Ne uporabljajte reagentov, če je varnostni pečat prelomljen oziroma če je embalaža ob prejemu poškodovana.
- Ne uporabljajte potrošnega materiala ali reagentov, če je zaščitna vrečka ob prejemu odprta ali poškodovana.
- Minimalni volumen primerka sekundarnih alikvotov je odvisen od velikosti epruvete/prenosnika za epruvete s primerki, kot je določeno spodaj. Če je volumen primerka pod navedenim minimumom, se lahko pojavi napaka »Quantity Not Sufficient« (Količina ni zadostna).
- Če so primerki shranjeni pri nepravilnih temperaturah ali dlje od navedenega obdobja shranjevanja, so rezultati lahko neveljavni ali napačni.
- Izogibajte se onesaženju z mikrobi in ribonukleazo (RNaza) vseh reagentov in vsega potrošnega materiala. Priporočena je uporaba sterilnih pipet za prenos brez Rnaze pri uporabi sekundarnih epruвет. Za vsak primerek uporabite novo pipeto.
- Da se izognete onesaženju, kartuše NeuMoDx Cartridge po amplifikaciji ne uporabljajte in ne ločujte. Kartuš NeuMoDx Cartridge v nobenem primeru ne odstranjujte iz zabožnikov za biološke odpadke (NeuMoDx 288 Molecular System) oziroma koša za biološke odpadke (NeuMoDx 96 Molecular System). Kartuša NeuMoDx Cartridge je zasnovana tako, da preprečuje kontaminacijo.
- Če teste PCR z odprtimi epruветami izvaja tudi laboratorij, je treba poskrbeti, da testni trak NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip, dodatni potrošni material in reagenti, potrebni za testiranje, osebna zaščitna oprema, kot so rokavice in laboratorijski plašči, ter sistem NeuMoDx System ne bodo kontaminirani.
- Pri ravnanju z reagenti in potrošnim materialom NeuMoDx uporabljajte čiste nitrilne rokavice brez pudra. Bodite previdni, da se ne dotaknete zgornje površine kartuše NeuMoDx Cartridge, tesnilne folije površine traku NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip in ekstrakcijske plošče NeuMoDx Extraction Plate oziroma zgornje površine vsebnika puфра NeuMoDx Lysis Buffer; s potrošnim materialom in reagenti ravnajte tako, da se dotikate samo stranskih površin.
- Zunanje kontrole NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls [REF. 901200] je treba obdelati vsakih 24 ur pri testiranju s testom NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.
- Varnostni listi (Safety Data Sheets, SDS) za vsak reagent (kot je primerno) so na voljo na spletni strani [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu).
- Po izvedbi testa si temeljito umijte roke.
- Pipete ne uporabljajte z usti. Ne kadite, pijte ali jejte v območjih, kjer ravnate s primerki ali reagenti.
- S primerki vedno ravnajte, kot da so kužni, in v skladu z varnimi postopki v laboratorijih, kot so tisti, opisani v *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>1</sup> in dokumentu CLSI M29-A4.<sup>2</sup>
- Pri delu s kemikalijami vedno nosite ustrezno laboratorijsko haljo, rokavice za enkratno uporabo in zaščitna očala. Več informacij poiščite v ustreznih varnostnih listih (Safety Data Sheets, SDS).
- Neuporabljene reagente in odpadke zavrzite v skladu z državnimi, zveznimi, okrajnimi in lokalnimi predpisi.

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



Vsebuje: borovo kislino; etoksilirani nonilfenol. Nevarnost! Povzroča draženje kože. Povzroča hudo draženje oči. Lahko škoduje plodnosti ali nerojenemu otroku. Škodljivo za vodne organizme z dolgotrajnimi učinki. Pred uporabo pridobiti posebna navodila. Ne uporabljajte, dokler se ne seznanite z vsemi varnostnimi ukrepi. Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za oči/zaščito za obraz. Pri izpostavljenosti ali sumu izpostavljenosti: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo. Hraniti zaklenjeno. Odstraniti vsebino/posodo v odobreni center za odstranjevanje odpadkov.

### Informacije za nujne primere

CHEMTREC

Izven ZDA in Kanade +1 703-527-3887

### Odstranjevanje

Izdelek vsebuje etoksilirani nonilfenol, endokrini motilec, ki lahko škodljivo vpliva na okolje. Odstranite kot nevarne odpadke v skladu z lokalnimi in državnimi predpisi. To velja tudi za nerabljene izdelke. Tekočih odpadkov ne odlagajte v kanalizacijo. Upošteвайте priporočila v varnostnem listu (Safety Data Sheet, SDS).



### SHRANJEVANJE, RAVNANJE IN STABILNOST IZDELKA

- Testni trakovi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip so v primarni embalaži stabilni do roka uporabe, navedenega na oznaki izdelka na stični ovojnini, če je ta shranjen pri temperaturi od 15 °C do 28 °C.
- Ne uporabljajte nobenih testnih izdelkov, ki so bili predhodno naloženi na drug sistem NeuMoDx System.
- Ko je naložen, lahko testni trak NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip ostane v sistemu NeuMoDx System 14 dni. Programska oprema sledi preostalemu roku uporabnosti naloženih testnih trakov in ga sporoča uporabniku v realnem času. Sistem NeuMoDx System bo pozval k odstranitvi testnega traku, ki je v uporabi dlje, kot je dovoljeno.

### ZBIRANJE/TRANSPORT IN SHRANJEVANJE PRIMERKOV

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

1. Primerke je treba zbirati s sistemom Copan UTM-RT System ali BD™ UVT s potrjenimi krtačastimi (»flocked«) brisi iz najlona (glejte razdelek Brisi in transportni mediji). Poleg tega so sprejemljive vrste brisov krtačasti (»flocked«) brisi ter brisi iz poliestra in najlona. Pri zbiranju, transportu in shranjevanju primerkov upoštevajte navodila proizvajalca.
2. Primerke je možno testirati v kompatibilnih prvotnih epruvetah za zbiranje ali sekundarnih epruvetah s primerkom.
3. Primerki se lahko shranjujejo v sistemu NeuMoDx System do 8 ur pred pričetkom obdelave. Če je potreben dodaten čas shranjevanja, priporočamo, da se primerki shranijo v hladilniku ali zamrznejo kot sekundarni alikvoti.
4. Pripravljeni primerki naj bodo shranjeni pri temperaturi od 2 do 8 °C in ne več kot 7 dni pred testiranjem.
5. Če bodo primerki poslani, jih je treba zapakirati in označiti v skladu z veljavnimi državnimi in/ali mednarodnimi predpisi.
6. Nadaljujte na razdelek *Priprava testa*.

### PRIPRAVA TESTA

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

Potek dela 1: **NEPOSREDEN** – primerek brisa v transportnem mediju se naloži neposredno v sistem NeuMoDx System v primarni zbiralni epruveti ali sekundarni epruveti s primerkom

– ali –

Potek dela 2: **PREDHODNO OBDELAN** – primerek brisa v transportnem mediju predhodno obdelamo z NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer, preden ga naložimo v sistem NeuMoDx System v primarni zbiralni epruveti ali sekundarni epruveti s primerkom

#### Priprava testa – NEPOSREDEN potek dela za neposredne primerke brisov

1. Oznako s črtno kodo primerka nalepite na epruveto s primerkom, ki je združljiva s sistemom NeuMoDx System, kot je opisano v 3. koraku spodaj.
2. Če testiranje predhodno obdelanega primerka izvajate v primarni epruveti za zbiranje, postavite epruveto, označeno s črtno kodo, v prenosnik za epruvete s primerki in poskrbite, da bosta pred nalaganjem v sistem NeuMoDx System odstranjena pokrovček in bris.
3. Druga možnost je, da se alikvot transportnega medija prenese v sekundarno epruveto s črtno kodo in postavi v prenosnik za epruvete s primerki. Pri uporabi sekundarne epruvete alikvot transportnega Srednji prenesite v primerek v epruveti s črtno kodo, ki je združljiva s sistemom NeuMoDx System, v skladu s spodaj določenimi volumni:
  - Prenosnik za epruvete s primerki (za 32 epruvet): 11–14 mm premera ter 60–120 mm višine; minimalni volumen polnjenja ≥ 600 µL
  - Prenosnik za epruvete s primerki (za 24 epruvet): 14,5–18 mm premera ter 60–120 mm višine; minimalni volumen polnjenja ≥ 1000 µL
  - Prenosnik za epruvete s primerki z majhnim volumnom (za 32 epruvet): 1,5-mL epruveta za mikrocentrifugiranje s stožčastim dnom; minimalni volumen polnjenja ≥ 500 µL

#### Priprava testa – PREDHODNO OBDELAN potek dela za predhodno obdelane primerke brisov

Opomba: Pred uporabo naj bo Vantage Viral Lysis Buffer na sobni temperaturi (15 do 30 °C).

OPOZORILO: Predhodna obdelava vzorcev brisov z NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer ne zagotavlja inaktivacije prisotnega virusa. Z vsemi vzorci je treba ravnati, kot da lahko prenašajo nalezljive agente.

1. Transportni medij za primerek predhodno obdelamo z volumnom 1:1 NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. Če je volumen transportnega medija znan, to lahko naredite v primarni epruveti za odvzem brisa. Druga možnost je, da predhodno obdelavo opravimo v sekundarni epruveti, tako da kombiniramo alikvot transportnega medija z enakim volumnom NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. Zmes, ki jo boste dobili, bi morala izpolnjevati zahteve za minimalni volumen, ki so navedene v 4. koraku spodaj.
2. Nežno zmešajte s pipeto, da zagotovite enakomerno porazdelitev NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer.
3. Če se testiranje predhodno obdelanega primerka izvaja v primarni epruveti za zbiranje, postavite epruveto, označeno s črtno kodo, v prenosnik za epruvete s primerki in poskrbite, da bosta pred nalaganjem v NeuMoDx System odstranjena pokrov in bris.
4. Če uporabljate sekundarno epruveto, prenesite alikvot predhodno obdelanega vzorca v primerek v epruveti s črtno kodo, združljiv s sistemom NeuMoDx System, in ga položite v nosilec epruvete s primerkom v skladu z volumni, določenimi spodaj:
  - Prenosnik za epruvete s primerki (za 32 epruvet): 11–14 mm premera ter 60–120 mm višine; minimalni volumen polnjenja  $\geq 750 \mu\text{L}$
  - Prenosnik za epruvete s primerki (za 24 epruvet): 14,5–18 mm premera ter 60–120 mm višine; minimalni volumen polnjenja  $\geq 1100 \mu\text{L}$
  - Prenosnik za epruvete s primerki z majhnim volumnom (za 32 epruvet): 1,5-mL epruveta za mikrocentrifugiranje s stožčastim dnom; minimalni volumen polnjenja  $\geq 650 \mu\text{L}$

#### Delovanje sistema NeuMoDx System

Za podrobna navodila glejte Priročnik za uporabo sistemov NeuMoDx 288 in 96 Molecular System (št. dela 40600108 in 40600317)

1. Naložite naročilo testa v sistem NeuMoDx System v skladu s potekom dela, ki se uporablja za pripravo testa:
  - Neobdelani, čisti primerki brisov, ki so pripravljene z NEPOSREDNIM potekom dela, so testirani tako, da je primerek opredeljen kot »**Transport Medium**« (Transportni medij).
  - Primerki brisov, predhodno obdelani z NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer z uporabo PREDHODNO OBDELANEGA poteka dela, se preskusijo tako, da se primerek opredeli kot »**UserSpecified1**« (UporabniškoDoločen1)Če to v naročilu testa ni opredeljeno, bo kot privzeto uporabljen tip primerka transportnega medija (neposredni potek dela) v **Secondary Tube** (Sekundarna epruveta).
2. Enega ali več prenosnikov testnih trakov za NeuMoDx System napolnite s testnimi trakovi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip in uporabite zaslon na dotik, da naložite prenosnik(-e) testnih trakov v sistem NeuMoDx System.
3. Če to zahteva programska oprema NeuMoDx System, dodajte potrebno količino potrošnega materiala v vsebnike potrošnega materiala NeuMoDx System in uporabite zaslon na dotik, da naložite prenosnik(-e) v NeuMoDx System.
4. Če to zahteva programska oprema NeuMoDx System, zamenjajte NeuMoDx Wash Reagent in/ali NeuMoDx Release Reagent in spraznite odpadke pri polnjenju, zabojnik za biološke odpadke (samo pri sistemu NeuMoDx 288 Molecular System), koš za odpadke konic (samo sistem NeuMoDx 96 Molecular System) in/ali koš za biološke odpadke (samo sistem NeuMoDx 96 Molecular System), kot je to potrebno.
5. Epruveto(-e) s primerki naložite v prenosnike za epruvete s primerki ter poskrbite, da bodo pokrovčki in morebitne paličice za bris odstranjeni iz vseh epruvet.
6. Prenosnik(-e) za epruvete s primerki postavite na katerikoli odprt položaj na polici samodejnega nalagalnika in uporabite zaslon na dotik, da jih naložite v NeuMoDx System. To bo sprožilo obdelavo naloženih primerkov za opredeljen test, če je veljaven vrstni red testa prednastavljen v sistemu.

#### OMEJITVE

1. Testni trak NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip se lahko uporablja samo na sistemih NeuMoDx System.
2. Delovanje testnega traku NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip je bilo dokazano za primerke brisov nosnega dela žrela v transportnem mediju, ki so jih zbrali zdravniki. Uporaba testnega traku NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip z drugimi tipi primerkov in mediji za zbiranje ni ocenjena in karakteristike delovanja niso znane.
3. Ker je zaznavanje virusnih tarč v splošnem odvisno od števila prisotnih viralnih delcev v vzorcu, so zanesljivi rezultati odvisni od ustreznega zbiranja, ravnanja in shranjevanja primerkov.
4. Do napačnih rezultatov lahko pride zaradi nepravilnega odvzema, obravnave ali shranjevanja primerkov, tehnične napake ali zamenjave epruvet s primerki. Poleg tega se lahko pojavijo - lažni negativni rezultati, če je število virusnih delcev v vzorcu pod mejo zaznave testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.
5. Sistem NeuMoDx System lahko uporablja izključno osebje, ki je bilo usposobljeno za uporabo sistema NeuMoDx System.
6. Če se ne amplificirajo cilji Flu A, Flu B, RSV in SARS-CoV-2 in cilj SPC2, bo javljen neveljaven rezultat (Indeterminate (Nedoločen) ali Unresolved (Nerešeno)), test pa bo potrebno ponoviti.
7. Če pred dokončanjem obdelave vzorca pride do napake sistema, se bo prikazalo »No Result« (Ni rezultata) in test je treba ponoviti.
8. Rezultat Positive (Pozitivno) ne kaže vedno prisotnosti influence A, influence B, SARS-CoV-2 in/ali RSV. Vendar pozitiven rezultat pomeni verjetnost, da so prisotni influenza A, influenza B, SARS-CoV-2 in/ali RNA RSV.

9. Brisanje ali mutacije v shranjenih regijah, ki so cilj testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, lahko vplivajo na zaznavo ali lahko privedejo do napačnih rezultatov.
10. Rezultati testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay se lahko uporabljajo kot dodatek h kliničnim ugotovitvam in drugim razpoložljivim podatkom, ki jih ima na voljo zdravnik.
11. Priporočene so dobre laboratorijske prakse, vključno z menjavo rokavic med ravnanjem s primerki pacientov, da preprečite kontaminacijo.

## REZULTATI

Razpoložljive rezultate si je mogoče ogledati oziroma natisniti na zavihku »Results« (Rezultati) v oknu Results (Rezultati) na zaslonu na dotik sistema NeuMoDx System. Rezultate testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay samodejno ustvari programska oprema NeuMoDx System z uporabo algoritma za odločanje in parametrov za obdelavo rezultatov, navedenih v definicijski datoteki testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 (različice FluA-B-RSV-CoV-2 ADF 4.0.0 ali novejša). Na podlagi statusa amplifikacije ciljev in SPC2 je lahko sporočeno, da je rezultat testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay Negative (Negativen), Positive (Pozitiven), Indeterminate (Nedoločen), No Result (Ni rezultata) ali Unresolved (Nerešeno). Rezultati so sporočeni na podlagi algoritma odločanja o obdelavi rezultatov ADF in povzeti spodaj v *preglednici 2*.

**Preglednica 2.** Interpretacija rezultatov testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay

SPLOŠNO REZULTAT	CILJ 1 (Flu A) FAM	CILJ 2 (Flu B) HEX	CILJ 3 (SARS-CoV-2) TX RED	CILJ 4 (RSV) Dolgovalovno rdeč	KONTROLA PROCESA (Sample Process Control, SPC2) Rdeča	INTERPRETACIJA
<b>POZITIVNO</b> (zaznana ciljna RNA)	<b>AMPLIFICIRANO</b>  [5 ≤ Ct < 25 AND EPR > 2,0 IN EP ≥ 750] <b>ALI</b> (25 ≤ Ct ≤ 37 IN EP ≥ 750)	Ni na voljo	Ni na voljo	Ni na voljo	Ni na voljo	Zaznana RNA Flu A
	Ni na voljo	<b>AMPLIFICIRANO</b>  [5 ≤ Ct < 28 AND EPR > 1,5 IN EP ≥ 600] <b>ALI</b> [28 ≤ Ct ≤ 37 IN EP ≥ 600]	Ni na voljo	Ni na voljo	Ni na voljo	Zaznana RNA Flu B
	Ni na voljo	Ni na voljo	<b>AMPLIFICIRANO</b>  [5 ≤ Ct < 25 AND EPR > 1,5 IN EP ≥ 1200] <b>ALI</b> [25 ≤ Ct ≤ 37 IN EP ≥ 1200]	Ni na voljo	Ni na voljo	Zaznana RNA SARS-CoV-2
	Ni na voljo	Ni na voljo	Ni na voljo	<b>AMPLIFICIRANO</b>  [5 ≤ Ct < 30 AND EPR > 1,15 IN EP ≥ 1200] <b>ALI</b> [30 ≤ Ct ≤ 37 IN EP ≥ 1200]	Ni na voljo	Zaznana RNA RSV



SPLOŠNO REZULTAT	CILJ 1 (Flu A) FAM	CILJ 2 (Flu B) HEX	CILJ 3 (SARS-CoV-2) TX RED	CILJ 4 (RSV) Dolgovalovno rdeč	KONTROLA PROCESA (Sample Process Control, SPC2) Rdeča	INTERPRETACIJA
<b>NEGATIVNO (Ciljna RNA ni zaznana)</b>	<b>NOT AMPLIFIED (NI AMPLIFICIRANO)</b>  Ni na voljo <b>ALI</b> (5 ≤ Ct < 25 IN EPR ≤ 2,0) <b>ALI</b> (25 ≤ Ct ≤ 37 IN EP < 750) <b>ALI</b> (Ct > 37)	<b>NOT AMPLIFIED (NI AMPLIFICIRANO)</b>  Ni na voljo <b>ALI</b> (5 ≤ Ct < 28 IN EPR ≤ 1,5) <b>ALI</b> (28 ≤ Ct ≤ 37 IN EP < 600) <b>ALI</b> (Ct > 37)	<b>NOT AMPLIFIED (NI AMPLIFICIRANO)</b>  Ni na voljo <b>ALI</b> (5 ≤ Ct < 25 IN EPR ≤ 1,5) <b>ALI</b> (25 ≤ Ct ≤ 37 IN EP < 1200) <b>ALI</b> (Ct > 37)	<b>NOT AMPLIFIED (NI AMPLIFICIRANO)</b>  Ni na voljo <b>ALI</b> (5 ≤ Ct < 30 IN EPR ≤ 1,15) <b>ALI</b> (30 ≤ Ct ≤ 37 IN EP < 1200) <b>ALI</b> (Ct > 37)	<b>AMPLIFICIRANO</b>  (24 ≤ Ct ≤ 31 IN EP ≥ 1800)	RNA Flu A, Flu B, RSV in SARS-CoV-2 ni zaznana
<b>NR*</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Ni amplificirano, zaznana napaka sistema, obdelava vzorca prekinjena)					Obdelava vzorca je bila prekinjena; ponovno preskusite vzorec.
<b>IND*</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Ni amplificirano, zaznana napaka sistema, obdelava vzorca končana)					Vsi ciljni rezultati so bili neveljavni; ponovno preskusite vzorec
<b>UNR*</b>	Not Amplified, No System Error Detected (Ni amplificirano, ni zaznane napake sistema)					Vsi ciljni rezultati so bili neveljavni; ponovno preskusite vzorec

\*Sistem omogoča izbirno možnost Rerun (Ponovno zaženi)/Repeat (Ponovi) za samodejno ponovno obdelavo v primeru neveljavnega rezultata, kar minimizira zamude pri sporočanju rezultata.

#### Neveljavni rezultati

Če test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, izveden na sistemu NeuMoDx System, ne proizvede veljavnega rezultata, bo poročilo na podlagi tipa napake, ki se je pojavila, navajalo rezultat, ki je Indeterminate (Nedoločen), No Result (Ni rezultata) ali Unresolved (Nerešeno), test pa bo za pridobivanje veljavnega rezultata treba ponoviti.

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

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

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

Glejte priročnik za uporabo sistema NeuMoDx 288 Molecular System (št. dela: 40600108) ali priročnik za uporabo sistema NeuMoDx 96 Molecular System (št. dela: 40600317) za seznam kod napak, ki so lahko povezane z neveljavnimi rezultati.

Sistem NeuMoDx System je opremljen s samodejno funkcijo Rerun (Ponovni zagon)/Repeat (Ponoviti), ki jo lahko končni uporabnik izbere za zagotovitev, da se INVALID (Neveljaven) rezultat samodejno ponovno obdelava, da se zmanjšajo zamude pri poročanju o rezultatih.

#### Nadzor kakovosti

Lokalni predpisi običajno določajo, da je laboratorij odgovoren za nadzorne postopke, ki spremljajo natančnost in preciznost celotnega analitičnega postopka, in mora določiti število, vrsto in pogostost preskušanja kontrolnih materialov z uporabo preverjenih specifikacij učinkovitosti za nespremenjen, odoben testni sistem.

**Zunanje kontrole**

- 1) Uporabniki morajo vsakih 24 ur in pred obdelavo vzorcev pacientov obdelati en niz zunanjih kontrol NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls [REF. 901200]. Če komplet veljavnih zunanjih kontrol ne obstaja, bo NeuMoDx System od uporabnika zahteval, da kontrole obdelata, preden bo lahko pripravil rezultate vzorca.
- 2) Če so zunanje kontrole potrebne, obdelajte kontrole (1 pozitivni krmilnik in 1 negativno kontrolo):

Zunanja kontrola NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	Barvna shema oznak
Pozitivni krmilnik(-i) NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control	Rdeča
Negativna(-e) kontrola(-e) NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/ SARS-CoV-2 Negative Control	Črna

- 3) Pri obdelavi zunanjih kontrol namestite kontrole na prenosnik za epruvete s primerki in uporabite zaslon na dotik, da naložite prenosnik v NeuMoDx System s police samodejnega nalagalnika. NeuMoDx System bo prepoznal črtne kode in začel z obdelavo kontrol, razen če reagenti ali potrošni material, potrebni za testiranje, niso na voljo.
- 4) Veljavnost teh zunanjih kontrol bo sistem NeuMoDx System ocenil na podlagi pričakovanih rezultatov.

Zunanja kontrola NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	Rezultat FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	Rezultat SPC2
Pozitivni krmilnik(-i) NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control	FluA, FluB, RSV, RNA SARS-CoV-2 je zaznana	Ni na voljo
Negativna(-e) kontrola(-e) NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/ SARS-CoV-2 Negative Control	FluA, FluB, RSV, RNA SARS-CoV-2 ni zaznana	SPC2 pozitiven

- 5) Odstopajoče rezultate glede zunanjih kontrol je treba obravnavati na naslednji način:
  - a) Rezultat testa Positive (Pozitivno) pri vzorcu negativne kontrole lahko kaže na kontaminacijo; za odkritje temeljnega vzroka je treba preveriti postopke za nadzor kakovosti v laboratoriju. Zagotovite uporabo ločenih območij za pripravo vzorca, ravnanje s kontrolo in namestitvev RT-PCR. Za dodatne napotke za odpravljanje težav glejte *Priročnik za uporabo sistema NeuMoDx 288 ali 96 Molecular System*.
  - b) Rezultat testa Negative (Negativno) pri vzorcu pozitivnega krmilnika lahko nakazuje, da obstaja težava z reagentom ali s NeuMoDx System. Za nasvet za odpravljanje težav glejte *priročnik za uporabo sistema NeuMoDx 288 ali 96 Molecular System*.
  - c) V kateremkoli od zgornjih primerov ali v primerih No Result (Brez rezultata) (NR), Unresolved (Nerešeno) (UNR) ali Indeterminate (Nedoločeno) (IND) ponovite neuspešno kontrolo s sveže odtajanimi vialami kontrol, ki niso opravile testa veljavnosti.
  - d) Če pozitivni krmilnik še naprej javlja test rezultat Negative (Negativno), se obrnite na tehnično službo družbe QIAGEN.
  - e) Če negativna kontrola še dalje javlja test rezultat Positive (Pozitivno), poskusite odstraniti vse vire morebitne kontaminacije, vključno z zamenjavo vseh reagentov, ter ponovite izvedbo, preden se obrnete na tehnično podporo družbe QIAGEN.
  - f) Če zunanje kontrole ne dajejo pričakovanih rezultatov, morate ponoviti niz pozitivnih in negativnih kontrol. Rezultati za pacient ne bodo prikazani, če kontrole ne dajejo pričakovanih rezultatov.

**(Interne) kontrole obdelave vzorca**

Eksogena kontrola obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC2) je vključena v ekstrakcijsko ploščo NeuMoDx Extraction Plate in je del celotnega postopka ekstrakcije nukleinske kisline ter amplifikacije RT-PCR v realnem času z vsakim vzorcem. Primerji in šobe, specifični za SPC2, so tudi vključeni v vsako vdolbino testnega traku NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip, kar omogoča zaznavanje SPC2 s ciljno RNA (če je prisotna) prek hkratne PCR. Zaznava amplifikacije SPC2 omogoča programski opremi sistema NeuMoDx System, da nadzira učinkovitost ekstrakcije RNA in postopka amplifikacije RT-PCR.

Pred RT-PCR sistem NeuMoDx System samodejno izvede »FILL CHECK« (Preverjanje polnjenja), da se zagotovi, da je komora PCR napolnjena z raztopino in vsebuje ustrezno količino fluorescentne šobe.

Programska oprema sistema NeuMoDx System nenehno nadzoruje vgrajene senzorje in aktuatorje, s čimer zagotavlja varno in učinkovito delovanje sistema.

Več načinov odpravljanja tekočih napak se izvaja z aktivnim nadzorom operacij aspiracije in razpršitve, da se zagotovi, da lahko sistem bodisi izvede varno in učinkovito obdelavo vseh vzorcev, bodisi zagotovi ustrezno kodo napake.



## KARAKTERISTIKE DELOVANJA

### Analitična občutljivost

Analitična občutljivost testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay na sistemih NeuMoDx Molecular System je bila razvrščena v dveh delih. Meja zaznave (Limit of Detection, LoD) je bila označena z uporabo združenih ostankov deidentificiranih klinično negativnih primerkov brisov iz nosnega žrela, zbranih v UVT matriki in modelnih sevih vsakega cilja. Modelni sevi, uporabljeni za vsak cilj, so predstavljeni v *preglednici 3*. Najprej je bila serija razredčitev z uporabo modelnih sevov vsakega cilja v UVT pripravljena z neposrednimi in predhodno obdelanimi poteki dela in nato obdelana s sistemom NeuMoDx System za določitev predhodne vrednosti meje zaznavanja (Limit of Detection, LoD). V drugem delu testiranja so bile te predhodne vrednosti LoD potrjene s pomočjo študije stopnje uspešnosti na sistemih NeuMoDx 288 in NeuMoDx 96 Molecular System za oba poteka dela. Predhodni LoD je bil sprejet, če je testiranje stopnje uspešnosti doseglo 95-odstotno stopnjo pozitivnosti za oba poteka dela v obeh sistemih. Stopnje zaznavanja za predhodni LoD so prikazane v *preglednici 4* medtem, ko *preglednica 5* podrobno prikazuje potrditev stopnje zadetkov za sistem N288 System *preglednica 6* pa potrditev stopnje zadetkov za sistem N96 System. Končni zahtevki LoD v *preglednici 4* so označeni s **krepko** pisavo.

**Preglednica 3.** Sev, uporabljen za vsak cilj

Cilj/sev	Vir	Kat. št.	Št. serije	Vrsta materiala
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1688	70031602	Očiščen supernatant iz okuženih celic
Flu A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1690	70032253	Očiščen supernatant iz okuženih celic
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	Virapur	Ni na voljo	B1904J	Live Crude
Flu A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	Virapur	Ni na voljo	C2030D	Live Crude
Flu B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	IRR	FR-1619	70015942	Očiščen supernatant iz okuženih celic
Flu A, Colorado/6/2017 (Victoria)	IRR	FR-1592	70013310	Očiščen supernatant iz okuženih celic
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	ATCC	VR-1931	70020870	Očiščena kulturna tekočina in celični lizat
Flu B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	Virapur	Ni na voljo	B1904N	Live Crude
RSV A2	ATCC	VR-1540	60430286	Kulturna tekočina in celični lizat
RSV B (WV/14617/85)	ATCC	VR-1400	70013461	Kulturna tekočina in celični lizat
SARS-CoV-2, 1. mednarodni standard WHO	NIBSC	20/146	Ni na voljo	Liofilizirana kislina in toplotno inaktiviran virus
SARS-CoV-2, izolat USA-WA1/2020	BEI	NR-52285	70037779	Toplotno inaktiviran virus

**Preglednica 4.** Pozitivne stopnje zaznavanja za določanje predhodnega LoD testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay –  
(a) Predhodno obdelan potek dela; (b) Neposreden potek dela

**(a) Predhodno obdelan potek dela**

Cilj/sev	Raven	Enota	Št. veljavnih rezultatov (n/N)	Št. poz.	% poz.	Povpr. Ct	Ct SD
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,02	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	7	70 %	33,97	0,90
	<b>0,06</b>		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 <sub>50</sub> /mL	10/10	8	80 %	33,72	1,00
	<b>0,5</b>		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 <sub>50</sub> /mL	10/10	8	80 %	32,81	0,38
	<b>0,5</b>		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 <sub>50</sub> /mL	20/20	15	75 %	32,15	1,70
	<b>0,5</b>		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 <sub>50</sub> /mL	10/10	8	80 %	32,90	1,27
	<b>0,03</b>		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 A, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,003	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	10	100 %	33,97	0,58
	<b>0,01</b>		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 <sub>50</sub> /mL	20/20	18	90 %	34,39	0,84
	<b>0,25</b>		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 <sub>50</sub> /mL	20/20	15	75 %	33,58	1,50
	<b>1</b>		10/10	10	100 %	34,03	0,69
	3		10/10	10	100 %	32,30	0,66
RSV A2	0,17	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	5	50 %	32,68	0,43
	<b>0,5</b>		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 <sub>50</sub> /mL	10/10	5	50 %	32,20	1,10
	<b>0,05</b>		10/10	10	100 %	31,50	0,49
	0,15		10/10	10	100 %	29,94	0,93
SARS-CoV-2, 1. mednarodni standard WHO	50	IE/ml	10/10	6	60 %	34,36	0,64
	<b>150</b>		10/10	10	100 %	34,20	0,31
	450		10/10	10	100 %	33,04	0,63
SARS-CoV-2, izolat USA-WA1/2020	50	kopij/mL	10/10	6	60 %	34,20	1,19
	<b>150</b>		10/10	10	100 %	33,46	0,58
	450		10/10	10	100 %	32,62	1,06

(b) Neposreden potek dela

Cilj/sev	Raven	Enota	Št. veljavnih rezultatov (n/N)	Št. poz.	% poz.	Povpr. Ct	Ct SD
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,02	TCID <sub>50</sub> /mL	20/20	17	85 %	33,11	1,30
	<b>0,06</b>		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 <sub>50</sub> /mL	20/20	18	90 %	33,41	1,10
	<b>0,5</b>		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 <sub>50</sub> /mL	10/10	7	70 %	33,39	0,16
	<b>0,5</b>		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 <sub>50</sub> /mL	10/10	8	80 %	34,11	0,69
	<b>0,5</b>		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 <sub>50</sub> /mL	20/20	18	90 %	33,31	0,95
	<b>0,03</b>		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 A, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,003	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	9	90 %	34,82	0,39
	<b>0,01</b>		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 <sub>50</sub> /mL	20/20	18	90 %	33,78	1,11
	<b>0,25</b>		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 <sub>50</sub> /mL	10/10	8	80 %	33,23	1,17
	<b>0,75</b>		20/20	19	95 %	32,63	1,22
	2,25		10/10	10	100 %	31,24	1,58
RSV A2	0,42	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	7	70 %	32,61	0,70
	<b>1,25</b>		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 <sub>50</sub> /mL	10/10	6	60 %	33,63	1,49
	<b>0,05</b>		10/10	10	100 %	32,42	1,12
	0,15		10/10	10	100 %	31,81	0,81
SARS-CoV-2, 1. mednarodni standard WHO	50	IE/ml	10/10	7	70 %	34,80	0,56
	<b>150</b>		20/20	19	95 %	32,88	1,22
	450		10/10	10	100 %	33,38	0,46
SARS-CoV-2, izolat USA-WA1/2020	66,7	kopij/mL	10/10	7	70 %	33,53	0,58
	<b>200</b>		10/10	10	100 %	32,63	1,25
	600		10/10	10	100 %	32,69	0,86

**Preglednica 5. Pozitivne stopnje zaznavanja za potrditveno določanje LoD za test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay – N288, (a) Predhodno obdelan potek dela; (b) Neposreden potek dela**

**(a) Predhodno obdelan potek dela**

Cilj/sev	Raven	Enota	Št. veljavnih rezultatov (n/N)	Št. poz.	% zaznavanja	Povpr. Ct	Ct SD
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	<b>0,06</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,89	0,57
Flu A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7 %	33,81	0,44
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,17	0,47
Flu A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7 %	33,77	0,52
Flu B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	<b>0,03</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	29/30	29	100 %	32,32	1,09
Flu A, Colorado/6/2017 (Victoria)	<b>0,01</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7 %	34,50	0,68
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	<b>0,25</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,83	0,44
Flu B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	<b>1</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	29/30	29	100 %	33,04	0,69
RSV A2	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7 %	32,17	1,23
RSV B (WV/14617/85)	<b>0,05</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	32,39	0,41
SARS-CoV-2, 1. mednarodni standard WHO	<b>150</b>	IE/ml	30/30	30	100 %	33,63	0,61
SARS-CoV-2, izolat USA-WA1/2020	<b>150</b>	kopij/mL	29/30	28	96,6 %	33,59	1,01

**(b) Neposreden potek dela**

Cilj/sev	Raven	Enota	Št. veljavnih rezultatov (n/N)	Št. poz.	% zaznavanja	Povpr. Ct	Ct SD
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	<b>0,06</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,92	0,69
Flu A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,75	0,57
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	32,96	0,48
Flu A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,67	0,48
Flu B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	<b>0,03</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	29/30	28	96,6 %	31,74	1,19
Flu A, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,0033	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	8	80 %	34,88	0,95
	<b>0,01</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	34,22	0,51
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	<b>0,25</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,55	0,38
Flu B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	<b>0,75</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,33	0,74
RSV A2	<b>1,25</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7 %	31,87	0,95
RSV B (WV/14617/85)	<b>0,05</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7 %	32,46	0,72
SARS-CoV-2, 1. mednarodni standard WHO	<b>150</b>	IE/ml	30/30	29	96,7 %	33,78	0,77
SARS-CoV-2, izolat USA-WA1/2020	<b>200</b>	kopij/mL	30/30	30	100 %	34,18	0,83

**Preglednica 6. Pozitivne stopnje zaznavanja za potrditve stopnje zadetkov LoD za test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay – N96, (a) Predhodno obdelan potek dela; (b) Neposreden potek dela**

**(a) Predhodno obdelan potek dela**

Cilj/sev	Raven	Enota	Št. veljavnih rezultatov (n/N)	Št. poz.	% zaznavanja	Povpr. Ct	Ct SD
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	<b>0,06</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,05	0,81
Flu A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7 %	33,53	0,75
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7 %	32,33	1,11
Flu A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	32,98	0,96
Flu B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	<b>0,03</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7 %	32,75	0,69
Flu A, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,0033	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	4	40 %	34,75	0,58
	<b>0,01</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,91	0,75
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	<b>0,25</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7 %	33,25	0,97
Flu B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	<b>1</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7 %	33,21	0,96
RSV A2	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	29/30	28	96,6 %	32,39	1,10
RSV B (WV/14617/85)	<b>0,05</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	32,06	0,76
SARS-CoV-2, 1. mednarodni standard WHO	<b>150</b>	IE/ml	30/30	29	96,7 %	33,79	0,67
SARS-CoV-2, izolat USA-WA1/2020	<b>150</b>	kopij/mL	30/30	29	96,7 %	33,59	1,05

**(b) Neposreden potek dela**

Cilj/sev	Raven	Enota	Št. veljavnih rezultatov (n/N)	Št. poz.	% zaznavanja	Povpr. Ct	Ct SD
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	<b>0,06</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,42	0,54
Flu A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,35	1,10
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	32,17	1,24
Flu A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,22	0,50
Flu B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	<b>0,03</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	32,78	0,56
Flu A, Colorado/6/2017 (Victoria)	<b>0,01</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	34,21	0,50
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	<b>0,25</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,41	0,65
Flu B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	<b>0,75</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7 %	33,36	1,04
RSV A2	<b>1,25</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7 %	32,29	0,99
RSV B (WV/14617/85)	<b>0,05</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	32,17	0,75
SARS-CoV-2, 1. mednarodni standard WHO	<b>150</b>	IE/ml	30/30	29	96,7 %	33,50	0,78
SARS-CoV-2, izolat USA-WA1/2020	<b>200</b>	kopij/mL	29/30	29	100 %	34,45	0,39

Te vrednosti so sprejete kot vrednosti LoD pri testu NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay na sistemih NeuMoDx System, kot je povzeto v preglednici 7.

**Preglednica 7. Povzetek študije meje zaznavanja**

Cilj	Sev	Meja zaznave		
		Predhodno obdelan potek dela	Neposreden potek dela	Enota
Influenca A (Flu A) – H1N1	Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	0,06	TCID <sub>50</sub> /mL
	Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	0,5	
Influenca A (Flu A) – H3N2	Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	0,5	
	Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	0,5	
Influenca B (Flu B) – rod Victoria	Hong Kong/286/2017	0,03	0,03	
	Colorado/6/2017	0,01	0,01	
	Florida/78/2015	0,25	0,25	
Influenca B (Flu B) – rod 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. mednarodni standard SZO	150	150	IE/ml
	Izolat USA-WA1/2020	150	200	kopij/mL

**Konkurenčna interferenca ciljnih organizmov: Flu A, Flu B, RSV in SARS-CoV-2**

Konkurenčna interferenca testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay je bila ovrednotena z uporabo plošč virusnih tarč, dodanih klinično negativnimi primerki brisov iz nosnega dela žrela, zbranih pri UVT. Deset plošč je vsebovalo eno ali dva cilja blizu njihove meje zaznave (3-10X LoD) in en sam cilj pri  $\geq 1E5$  kopij/mL, kar je predstavljalo sočasno okužen cilj. Enajsta plošča je vsebovala enega od vsakega od štirih ciljev pri 2X LoD. Prisotnost dveh do treh virusov v različnih koncentracijah v enem primerku in njihovi učinki na analitično občutljivost so prikazani v preglednici 8.

Negativne rezultate na influenco A in RSV A je treba šteti za domnevne pri vzorcih s pozitivnim rezultatom na SARS-CoV-2, negativne rezultate na RSV pa je treba šteti za domnevne pri vzorcih s pozitivnim rezultatom na influenco A. Študije konkurenčnih motenj so pokazale, da lahko virus SARS-CoV-2, kadar je prisoten v koncentracijah  $1E5$  kopij/mL ali več, inhibira zaznavanje in amplifikacijo RNA virusa influence A in RSV A, če je prisoten pod  $1,5$  TCID<sub>50</sub>/mL ali  $6,25$  TCID<sub>50</sub>/mL, in lahko povzroči lažno negativne rezultate. Poleg tega lahko virus influence A, če je prisoten v koncentracijah  $1E5$  cp/mL ali več, inhibira zaznavanje in amplifikacijo RNA virusa RSV A, če je prisoten pri  $3,75$  TCID<sub>50</sub>/mL ali pod njim, in lahko povzroči lažno negativne rezultate za RSV. Če obstaja sum na sočasno okužbo z virusom influence A ali RSV pri vzorcih s pozitivnim rezultatom SARS-CoV-2 ali sum na sočasno okužbo z virusom RSV pri vzorcih s pozitivnim rezultatom influence A, je treba vzorec ponovno testirati z drugim testom za influenco ali RSV, ki ga je potrdila, odobrila ali avtorizirala FDA, če bi zaznavanje virusa influence A ali RSV spremenilo klinično zdravljenje.

**Preglednica 8. Povzetek študije konkurenčnih interferenc**

Plošča	Cilj	Raven plošče	Ciljna konc.	Veljavni rezultati	Št. poz.	% zaznavanja
1	Flu A	3X	1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	RSV A	3X	3,75 TCID <sub>50</sub> /mL	24	23	96 %
	Flu B	Visoka	1E5 kop./mL	24	24	100 %
2 (postopek 1)	Flu A	3X	1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	19	79 %
	RSV A	3X	3,75 TCID <sub>50</sub> /mL	24	8	33 %
	SARS-CoV-2	Visoka	1E5 kop./mL	24	24	100 %
2 (postopek 2)	Flu A	5X	2,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	RSV A	5X	6,25 TCID <sub>50</sub> /mL	24	16	67 %
	SARS-CoV-2	Visoka	1E5 kop./mL	24	24	100 %
2 (postopek 3)	Flu A	5X	2,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	RSV A	10X	12,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	SARS-CoV-2	Visoka	1E5 kop./mL	24	24	100 %
3	Flu A	3X	1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	SARS-CoV-2	3X	450 IE/mL	24	24	100 %
	RSV B	Visoka	1E5 kop./mL	24	24	100 %
4	Flu B	3X	0,75 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	RSV B	3X	0,15 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	Flu A	Visoka	1E5 kop./mL	24	24	100 %
5	Flu B	3X	0,75 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	RSV B	3X	0,15 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	SARS-CoV-2	Visoka	1E5 kop./mL	24	24	100 %
6	Flu B	3X	0,75 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	RSV B	Visoka	1E5 kop./mL	24	24	100 %
7	SARS-CoV-2	3X	450 IE/mL	24	24	100 %
	Flu A	Visoka	1E5 kop./mL	24	24	100 %
8	SARS-CoV-2	3X	450 IE/mL	24	24	100 %
	Flu B	Visoka	1E5 kop./mL	24	24	100 %
9 (postopek 1)	RSV A	3X	3,75 TCID <sub>50</sub> /mL	24	20	83 %
	Flu A	Visoka	1E5 kop./mL	24	24	100 %
9 (postopek 2)	RSV A	5X	6,25 TCID <sub>50</sub> /mL	24	23	96 %
	Flu A	Visoka	1E5 kop./mL	24	24	100 %
10	RSV B	3X	0,15 TCID <sub>50</sub> /mL	24	23	96 %
	Flu B	Visoka	1E5 kop./mL	24	24	100 %
11	Flu A	2X	1 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	Flu B	2X	0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	RSV B	2X	0,1 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	SARS-CoV-2	2X	300 IE/mL	24	24	100 %

**Analična reaktivnost in vključenost**

Analično reaktivnost testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay so ocenili glede na več sevov/izolatov influence A, influence B, RSV, in SARS-CoV-2. Reaktivnost vsakega seva/izolata smo karakterizirali v dveh delih. Začetna ocena ravni reaktivnosti za vsak cilj je bila izvedena z vsakim posameznim ciljnim sevom, testiranim pri 3 koncentracijah v simulirani matrici brisa iz nosnega dela žreła (pripravljen s 3000 človeškimi epitelnimi celicami na mL UVT), *preglednica 9*. V drugem delu je bila najnižja raven, ki je v fazi 1 dosegla 100 % pozitivno stopnjo, potrjena kot raven reaktivnosti s testiranjem najmanj 20 ponovitev, *preglednica 10*. Skupno je bilo testiranih 14 sevov Flu A, 6 sevov Flu B, 1 izolat RSV A, 1 izolat RSV B in 6 izolatov SARS-CoV-2.



**Preglednica 9.** Sevi Flu A, Flu B, RSV A, RSV B in SARS-CoV-2 – predhodna analiza stopnje reaktivnosti

Predhodna analiza						
Cilj	Sev		Testirane stopnje	Št. veljavnih rezultatov	% poz.	
Flu A	H1N1	Brisbane/02/2018	0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	75,0 %	
			1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
			4,5 TCID <sub>50</sub> /mL	7	100 %	
		Guangdong-Moanan/SWL 1536/2019	0,33 TCID <sub>50</sub> /mL	8	87,5 %	
			1 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
			3 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
		Michigan/272/2017 (H1N1)pdm09	0,17 TCID <sub>50</sub> /mL	6	50 %	
			0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	6	100 %	
			1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	6	100 %	
		A/Iowa/53/2015 (H1N1)pdm09	0,33 TCID <sub>50</sub> /mL	8	87,5 %	
			1 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
			3 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
		A/Bangladesh/3002/2015 (H1N1)pdm09	3,3 CEID <sub>50</sub> /mL	8	62,5 %	
			10 CEID <sub>50</sub> /mL	8	87,5 %	
			30 CEID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
		H3N2	Switzerland/9715293/2013 (H3N2)	0,17 TCID <sub>50</sub> /mL	8	87,5 %
				0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
				1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
	Hong Kong/4801/2014 (H3N2)		0,15 TCID <sub>50</sub> /mL	7	28,6 %	
			0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
			1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
	Kansas/14/2017 (H3N2)		2,67 TCID <sub>50</sub> /mL	8	50 %	
			8 TCID <sub>50</sub> /mL	8	87,5 %	
			24 TCID <sub>50</sub> /mL	7	100 %	
	A/Wisconsin/04/2018 (H3N2)		3,3 CEID <sub>50</sub> /mL	6	83,3 %	
			10 CEID <sub>50</sub> /mL	6	100 %	
			30 CEID <sub>50</sub> /mL	6	100 %	
	A/California/02/2014 (H3N2)		0,01 TCID <sub>50</sub> /mL	8	85,7 %	
			0,03 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
			0,1 TCID <sub>50</sub> /mL	7	100 %	
			0,33 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
			1 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
			3 TCID <sub>50</sub> /mL	7	100 %	
	H2N2	A2/Japan/305/57 (H2N2)	10,87 pg/ml <sup>1</sup>	8	100 %	
			32,6 pg/ml <sup>1</sup>	8	87,5 %	
			97,8 pg/ml <sup>1</sup>	7	100 %	
H5N2	A/raca/Pennsylvania/10218/84 (H5N2)	8 pg/ml <sup>1</sup>	8	100 %		
		25 pg/ml <sup>1</sup>	8	100 %		
		75 pg/ml <sup>1</sup>	7	100 %		
H7N9	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	1:3E5 <sup>1</sup>	8	50 %		
		1:1E5 <sup>1</sup>	7	87,5 %		
		1:3.3E4 <sup>1</sup>	8	100 %		
H10N7	A/kokoš/Germany/N/49 (H10N7)	22,67 pg/ml <sup>1</sup>	8	100 %		
		68 pg/ml <sup>1</sup>	8	100 %		
		204 pg/ml <sup>1</sup>	8	100 %		
Flu B	Rod Victoria	Malaysia/2506/2004 (Victoria)	1 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
			3 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
			9 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
		Washington/02/2019 (Victoria)	2,5 CEID <sub>50</sub> /mL	8	25,0 %	
			5 CEID <sub>50</sub> /mL	8	87,5 %	
			15 CEID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
		B/Maryland/15/2016 (Victoria)	0,01 TCID <sub>50</sub> /mL	12	91,7 %	
			0,03 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
			0,1 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
0,33 TCID <sub>50</sub> /mL	16	100 %				
1 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %				

Predhodna analiza					
Cilj	Sev		Testirane stopnje	Št. veljavnih rezultatov	% poz.
Flu B (nadaljevano)	Rod Yamagata	Wisconsin/1/2010 (Yamagata)	3 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
			0,17 CEID <sub>50</sub> /mL	8	75,0 %
			0,5 CEID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
			1,5 CEID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
		B/Utah/09/2014 (rod Yamagata)	0,06 CEID <sub>50</sub> /mL	8	25,0 %
			0,19 CEID <sub>50</sub> /mL	8	87,5 %
			0,56 CEID <sub>50</sub> /mL	7	85,7 %
			1,7 CEID <sub>50</sub> /mL	6	100 %
			5 CEID <sub>50</sub> /mL	6	100 %
			15 CEID <sub>50</sub> /mL	6	100 %
			B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N) (Yamagata)	0,33 TCID <sub>50</sub> /mL	8
		1 TCID <sub>50</sub> /mL		8	87,5 %
		3 TCID <sub>50</sub> /mL		8	100 %
0,67 pfu/mL	8	37,5 %			
RSV	RSVA	A (long)	2 pfu/mL	8	100 %
			6 pfu/mL	7	100 %
			0,03 pfu/mL	8	12,5 %
	RSVB	B (9320)	0,1 pfu/mL	8	87,5 %
			0,3 pfu/mL	8	100 %
			0,06 TCID <sub>50</sub> /mL	8	0 %
SARS-CoV-2	USA/CA-Stanford-15_S02/2021 (Kappa, B.1.617.1)	0,17 TCID <sub>50</sub> /mL	8	12,5 %	
		0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	37,5 %	
		1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	87,5 %	
		4,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
		13,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
		0,006 TCID <sub>50</sub> /mL	8	62,5 %	
	USA/CA_CDC_5574/2020 (Alpha, B.1.1.7)	0,02 TCID <sub>50</sub> /mL	8	87,5 %	
		0,06 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
		0,17 TCID <sub>50</sub> /mL	7	100 %	
		0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	7	100 %	
		1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	7	100 %	
		0,002 TCID <sub>50</sub> /mL	8	62,5 %	
	Japan/TY7-503/2021 (Gamma, Brazil P.1)	0,006 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
		0,02 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
		0,06 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
		0,17 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
		0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
		0,001 TCID <sub>50</sub> /mL	8	37,5 %	
	USA/PHC658/2021 (Delta, B.1.617.2)	0,004 TCID <sub>50</sub> /mL	8	87,5 %	
		0,013 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
		0,04 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
		0,11 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
		0,33 TCID <sub>50</sub> /mL	4	100 %	
		7,44 cp/ml <sup>1</sup>	8	37,5 %	
	Italy-INMI1	22,33 cp/ml <sup>1</sup>	8	87,5 %	
		67 cp/ml <sup>1</sup>	8	100 %	
		200 cp/ml <sup>1</sup>	8	100 %	
		600 cp/ml <sup>1</sup>	8	100 %	
		7,44 cp/ml <sup>1</sup>	8	25,0 %	
	Izolat Hong Kong/VM20001061/2020	22,33 cp/ml <sup>1</sup>	8	87,5 %	
67 cp/ml <sup>1</sup>		7	100 %		
200 cp/ml <sup>1</sup>		7	100 %		
600 cp/ml <sup>1</sup>		7	100 %		

<sup>1</sup>Te različice so bile dobavljene samo s kvantifikacijo »celotne RNA«, ki vključuje virusno RNA in RNA gostiteljske celice.

**Preglednica 10.** Testirani sevi Flu A, Flu B, RSV A, RSV B in SARS-CoV-2 – Potrditev stopnje reaktivnosti

Potrditev					
Cilj	Sev		Raven	Št. veljavnih rezultatov	% poz.
Flu A	H1N1	Brisbane/02/2018	1,0 TCID <sub>50</sub> /mL	23	91,3 %
			1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	23	100 %
		Guangdong-Moanan/SWL 1536/2019	0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	23	82,6 %
			1,0 TCID <sub>50</sub> /mL	24	100 %
		Michigan/272/2017 (H1N1)pdm09	0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	100 %
		A/Iowa/53/2015 (H1N1)pdm09	0,33 TCID <sub>50</sub> /mL	24	85,7 %
	A/Bangladesh/3002/2015 (H1N1)pdm09	0,67 TCID <sub>50</sub> /mL	24	95,2 %	
	H3N2	Switzerland/9715293/2013 (H3N2)	10 CEID <sub>50</sub> /mL	24	100 %
			0,25 TCID <sub>50</sub> /mL	24	87,0 %
		Hong Kong/4801/2014 (H3N2)	0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	100 %
			1,0 TCID <sub>50</sub> /mL	23	91,3 %
		Kansas/14/2017 (H3N2)	12 TCID <sub>50</sub> /mL	23	95,7 %
		A/Wisconsin/04/2018 (H3N2)	5 CEID <sub>50</sub> /mL	23	100 %
	A/California/02/2014 (H3N2)	10 CEID <sub>50</sub> /mL	23	100 %	
	H2N2	A2/Japan/305/57 (H2N2)	0,01 TCID <sub>50</sub> /mL	24	91,7 %
			0,03 TCID <sub>50</sub> /mL	24	100 %
	H5N2	A/raca/Pennsylvania/10218/84 (H5N2)	10,87 pg/ml <sup>1</sup>	24	100 %
			2 pg/ml <sup>1</sup>	24	83,3 %
H7N9	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	4 pg/ml <sup>1</sup>	23	100 %	
		8 pg/ml <sup>1</sup>	23	100 %	
H10N7	A/kokoš/Germany/N/49 (H10N7)	1:3.3E4 <sup>1</sup>	24	95,7 %	
		7,6 pg/ml <sup>1</sup>	23	73,9 %	
		22,67 pg/ml <sup>1</sup>	23	100 %	
Flu B	Rod Victoria	Malaysia/2506/2004 (Victoria)	1 TCID <sub>50</sub> /mL	23	95,7 %
		Washington/02/2019 (Victoria)	5 CEID <sub>50</sub> /mL	24	95,8 %
		10 CEID <sub>50</sub> /mL	24	100 %	
	Rod Yamagata	B/Maryland/15/2016 (Victoria)	0,01 TCID <sub>50</sub> /mL	23	83,3 %
		Wisconsin/1/2010 (Yamagata)	0,03 TCID <sub>50</sub> /mL	24	100 %
		B/Utah/09/2014 (rod Yamagata)	0,05 CEID <sub>50</sub> /mL	24	100 %
		B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N) (Yamagata)	0,56 TCID <sub>50</sub> /mL	24	87,0 %
			1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	100 %
		0,75 TCID <sub>50</sub> /mL	24	87,5 %	
		1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	20	95,0 %	
		3,0 TCID <sub>50</sub> /mL	24	100 %	
RSV	RSVA	A (long)	2 pfu/mL	24	91,7 %
			4 pfu/mL	24	95,8 %
	RSVB	B (9320)	0,15 pfu/mL	24	100 %
			0,3 pfu/mL	21	100 %
SARS-CoV-2	USA/CA-Stanford-15_S02/2021 (Kappa, B.1.617.1)	1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	100 %	
		3 TCID <sub>50</sub> /mL	24	100 %	
		4,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	100 %	
		0,02 TCID <sub>50</sub> /mL	24	95,8 %	
		0,06 TCID <sub>50</sub> /mL	24	100 %	
		0,006 TCID <sub>50</sub> /mL	24	95,8 %	
	USA/PHC658/2021 (Delta, B.1.617.2)	0,006 TCID <sub>50</sub> /mL	24	87,5 %	
		0,013 TCID <sub>50</sub> /mL	24	100 %	
Italy-INMI1	22 cp/ml <sup>1</sup>	24	95,8 %		
	67 cp/ml <sup>1</sup>	24	100 %		
SARS-CoV-2 (nadaljevano)	Izolot Hong Kong/VM20001061/2020	22 cp/ml <sup>1</sup>	24	57,1 %	
		67 cp/ml <sup>1</sup>	24	100 %	

<sup>1</sup>Te različice so bile dobavljene samo s kvantifikacijo »celotne RNA«, ki vključuje virusno RNA in RNA gostiteljske celice.

Reaktivnost testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay pri zaznavanju različnih kliničnih izolatov SARS-CoV-2 je bila dokazana z analizo *in silico* s primerji in šobami testa proti vsem razpoložljivim zaporedjem v banki GenBank (od novembra 2021) z uporabo spletnega orodja NCBI Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Rezultati kažejo, da imajo primerji in šoba za SARS-CoV-2 100-odstotno homologijo z več kot 98 % sekvenc. Na splošno imajo primerji in šoba > 95 % homologije za vsa analizirana zaporedja.

**Ponovljivost med laboratoriji**

Ponovljivost med laboratoriji za test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay je bila označena s testiranjem desetih plošč Flu A, Flu B, RSV A, RSV B ali SARS-CoV-2, dodanih posamezno na 2 ravneh [zmerno pozitivno (5x LoD) in nizko pozitivno (2x LoD)] in eno negativno ploščo. Plošče so bile testirane na treh serijah testnih trakov NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test strip, izdelanih v skladu z GMP, na dveh sistemih NeuMoDx System in v šestih nezaporednih dneh. Člani plošče so bili pripravljene v simuliranih primerkov brisov iz nosnega dela žrela, pripravljenih s 3000 človeškimi epitelnimi celicami na mL univerzalnega virusnega transportnega medija (UVT) in dodanih reprezentativnih sevov Flu A, Flu B, RSV A, RSV B in SARS-CoV-2. Testni trakovi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip in NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) so bili opredeljeni kot ključni specifični reagenti za testiranje, ki lahko vplivajo na učinkovitost testa, zato je bil potek dela s predhodno obdelavo uporabili za vključitev VVLB v študijo. Standardno odstopanje za vrednosti Ct znotraj in med tremi serijami testnih trakov testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, dveh sistemov NeuMoDx Molecular System je bilo ≤ 1,2 s koeficienti variacije (Coefficients of Variation, CV) ≤ 4,0 % za vse cilje, ki kažejo odlično ponovljivost, *preglednica 11, 12 in 13*.

**Preglednica 11.** Ponovljivost testnih trakov NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip v vseh sistemih/serijah/dnevih

Cilj	Raven cilja	Veljavno N	% pozitivnih	Povpr. Ct	SD	% CV
Flu A	Sred. poz.	72	100 %	31,21	0,59	1,9 %
	Niz. poz.	72	100 %	32,01	0,58	1,8 %
Flu B	Sred. poz.	72	100 %	31,02	0,39	1,3 %
	Niz. poz.	72	100 %	31,88	0,56	1,7 %
RSV A	Sred. poz.	72	100 %	29,71	0,95	3,2 %
	Niz. poz.	72	100 %	30,75	1,18	3,8 %
RSV B	Sred. poz.	72	100 %	28,43	0,53	1,9 %
	Niz. poz.	72	100 %	29,45	0,56	1,9 %
SARS-CoV-2	Sred. poz.	72	100 %	32,70	0,51	1,5 %
	Niz. poz.	72	100 %	33,68	0,56	1,7 %
Pravi negativen		72	0 %	Ni na voljo	Ni na voljo	Ni na voljo

**Preglednica 12.** Ponovljivost testnih trakov NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip za vsak sistem

Plošča		N0000096					N000012				
Cilj	Raven cilja	Veljavno N	% pozitivnih	Povpr. Ct	SD	% CV	Veljavno N	% pozitivnih	Povpr. Ct	SD	% CV
Flu A	Sred. poz.	36	100 %	31,37	0,66	2,1 %	36	100 %	31,05	0,46	1,5 %
	Niz. poz.	36	100 %	32,07	0,65	2,0 %	36	100 %	31,95	0,51	1,6 %
Flu B	Sred. poz.	36	100 %	31,10	0,40	1,3 %	36	100 %	30,94	0,37	1,2 %
	Niz. poz.	36	100 %	31,84	0,57	1,8 %	36	100 %	31,91	0,55	1,7 %
RSV A	Sred. poz.	36	100 %	29,94	0,97	3,2 %	36	100 %	29,49	0,89	3,0 %
	Niz. poz.	36	100 %	30,93	1,19	3,8 %	36	100 %	30,57	1,16	3,8 %
RSV B	Sred. poz.	36	100 %	28,60	0,58	2,0 %	36	100 %	28,26	0,42	1,5 %
	Niz. poz.	36	100 %	29,60	0,53	1,8 %	36	100 %	29,29	0,56	1,9 %
SARS-CoV-2	Sred. poz.	36	100 %	32,80	0,56	1,7 %	36	100 %	32,61	0,43	1,3 %
	Niz. poz.	36	100 %	33,83	0,64	1,9 %	36	100 %	33,52	0,42	1,2 %
Pravi negativen		36	0 %	Ni na voljo	Ni na voljo	Ni na voljo	36	0 %	Ni na voljo	Ni na voljo	Ni na voljo

**Preglednica 13.** Ponovljivost testnih trakov NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip po vsaki seriji reagenta

Plošča		Serija 1				Serija 2				Serija 3			
Cilj	Raven cilja	Veljavno N	Povpr. Ct	SD	% CV	Veljavno N	Povpr. Ct	SD	% CV	Veljavno N	Povpr. Ct	SD	% CV
Flu A	Sred. poz.	24	31,06	0,38	1,2 %	24	31,49	0,62	2,0 %	24	31,08	0,65	2,1 %
	Niz. poz.	24	32,02	0,59	1,8 %	24	32,18	0,50	1,6 %	24	31,82	0,61	1,9 %
Flu B	Sred. poz.	24	31,05	0,39	1,2 %	24	31,08	0,47	1,5 %	24	30,94	0,29	0,9 %
	Niz. poz.	24	31,93	0,36	1,1 %	24	32,01	0,77	2,4 %	24	31,69	0,42	1,3 %
RSV A	Sred. poz.	24	29,04	0,71	2,4 %	24	30,40	0,66	2,2 %	24	29,69	0,94	3,2 %
	Niz. poz.	24	31,53	0,50	1,6 %	24	29,45	0,79	2,7 %	24	31,25	0,87	2,8 %
RSV B	Sred. poz.	24	28,65	0,54	1,9 %	24	28,29	0,52	1,8 %	24	28,35	0,47	1,7 %
	Niz. poz.	24	29,31	0,48	1,6 %	24	29,46	0,64	2,2 %	24	29,57	0,55	1,8 %
SARS-CoV-2	Sred. poz.	24	32,82	0,43	1,3 %	24	32,70	0,56	1,7 %	24	32,59	0,50	1,5 %
	Niz. poz.	24	33,42	0,58	1,7 %	24	33,80	0,57	1,7 %	24	33,81	0,47	1,4 %
Pravi negativen		24	Ni na voljo	Ni na voljo	Ni na voljo	24	Ni na voljo	Ni na voljo	Ni na voljo	24	Ni na voljo	Ni na voljo	Ni na voljo

**Klinična učinkovitost**

Klinične karakteristike delovanja testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay so bile določene z notranjo retrospektivno študijo primerjav metod z uporabo preostalih primerkov brisov nosnega dela žrela (nasopharyngeal, NP), ki so bili odvzeti na 4 geografsko različnih lokacijah laboratorijev. V to študijo so bile vključene tudi razredčitve kliničnih vzorcev, pozitivnih na SARS-CoV-2, da bi dokazali klinično občutljivost blizu LoD.

Preostalim primerkom brisov iz nosnega dela žrela simptomatskih pacientov je bila odstranjena identifikacija in dobavni laboratoriji so jim dodelili enolično številko ID; tako je bil vzpostavljen zaupni seznam, ki je številko ID pacienta povezal s primerki brez identifikacije, ki so bili testirani za namene študije. Za to študijo je bilo zbranih skupaj 747 posameznih primerkov brisov iz nosnega dela žrela. Vsi primerki so bili obdelani v neposrednem in predhodno obdelanem poteku dela, kar je na koncu dalo 739 veljavnih in 8 neveljavnih rezultatov v neposrednem poteku dela ter 736 veljavnih in 11 neveljavnih rezultatov v predhodno obdelanem poteku dela. Od teh veljavnih vzorcev jih je bilo 121 namenjenih izključno oceni cilja Flu A, Flu B in RSV. Pozitivni vzorci za Flu A predstavljajo 54 od teh primerkov, od tega 34 pozitivnih vzorcev za Flu B, 33 pa RSV pozitivnih vzorcev. Znotraj te skupine 121 vzorcev so klinični laboratoriji dobavitelji dali na voljo rezultate za vse 3 cilje zanimanja. Kot taka je ta kohorta pozitivnih vzorcev zagotovila tudi 67 negativnih rezultatov Flu A, 87 negativnih rezultatov Flu B in 88 RSV-negativnih rezultatov. Zgoraj omenjene negativne rezultate je dodatno dopolnilo 59 kliničnih primerkov, pri katerih je primerjalni test potrdil negativne rezultate za vse 4 cilje. Na splošno je bilo v obeh potekih dela 106 vzorcev identificiranih kot pozitivnih na SARS-CoV-2. Klinični negativni rezultati SARS-CoV-2 so bili potrjeni z veljavnim rezultatom NeuMoDx v 512 vzorcih neposrednega poteka dela in 509 vzorcih predhodno obdelanega poteka dela.

Status testa teh vzorcev je bil zaradi izvedbe »enojne slepe študije« upravljavcu. Za izvajanje metode primerjalne analize so bili uporabljeni rezultati specifičnih legalno trženih molekularnih naprav, ki jih laboratoriji uporabljajo za standardne teste in so odobreni s strani FDA in CE.

Rezultati testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay so zagotovili klinično občutljivost 98,1 % v obeh potekih dela za cilj Flu A in klinično specifičnost 100 % oziroma 99,2 % za neposredne in predhodno obdelane poteke dela (*preglednica 14A*). Rezultati za cilj Flu B so zagotovili klinično občutljivost in klinično specifičnost 97,1 % oziroma 100 % za oba poteka dela (*preglednica 14B*). Rezultati za cilj RSV (nediferencirano) so zagotovili 97 % klinično občutljivost za oba poteka dela in klinično specifičnost 99,3 % oziroma 98,6 % pri neposrednem in predhodno obdelanem poteku dela. (*preglednica 14C*). Rezultati za cilj SARS-CoV-2 so zagotovili klinično občutljivost 97,2 % za oba poteka dela in klinično specifičnost 98,4 % pri neposrednem poteku dela in 98,2 % pri predhodno obdelanemu poteku dela (*preglednica 14D*). Spodnja in zgornja meja intervala zaupanja 95 % sta predstavljeni v *preglednicah 14A, 14B, 14C, in 14D* spodaj, ter sta bili izračunani z Wilsonovim postopkom s popravkom kontinuitete.

**Preglednica 14A.** Povzetek klinične učinkovitosti – testni trak NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Zaznavanje Flu A

(a) Neposreden potek dela, (b) Predhodno obdelan potek dela

**(a) Neposreden potek dela**

Flu A		S strani FDA/CE odobren rezultat referenčnega testa		
		POZ	NEG	Skupaj
Rezultat testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	53	0	53
	NEG	1	126	127
	Skupaj	54	126	180
<b>Klinična občutljivost (Flu A) = 98,1 % (88,8 % – 99,9 %)</b>				
<b>Klinična specifičnost (Flu A) = 100 % (96,3 %–100 %)</b>				

(b) Predhodno obdelan potek dela

Flu A		S strani FDA/CE odobren rezultat referenčnega testa		
		POZ	NEG	Skupaj
Rezultat testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	53	1	54
	NEG	1	125	126
	Skupaj	54	126	180
Klinična občutljivost (Flu A) = 98,1 % (88,8 % – 99,9 %)				
Klinična specifičnost (Flu A) = 99,2 % (95,0 %–100 %)				

Preglednica 14B. Povzetek klinične učinkovitosti – testni trak NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Zaznavanje Flu B

(a) Neposreden potek dela, (b) Predhodno obdelan potek dela

(a) Neposreden potek dela

Flu B		S strani FDA/CE odobren rezultat referenčnega testa		
		POZ	NEG	Skupaj
Rezultat testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	33	0	33
	NEG	1	146	147
	Skupaj	34	146	180
Klinična občutljivost (Flu B) = 97,1 % (82,9 % – 99,8 %)				
Klinična specifičnost (Flu B) = 100 % (96,8 %–100 %)				

(b) Predhodno obdelan potek dela

Flu B		S strani FDA/CE odobren rezultat referenčnega testa		
		POZ	NEG	Skupaj
Rezultat testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	33	0	33
	NEG	1	146	147
	Skupaj	34	146	180
Klinična občutljivost (Flu B) = 97,1 % (82,9 % – 99,8 %)				
Klinična specifičnost (Flu B) = 100 % (96,8 %–100 %)				

Preglednica 14C. Povzetek klinične učinkovitosti – testni trak NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Zaznavanje RSV z

(a) neposrednim potekom dela in (b) predhodno obdelanim potek dela

(a) Neposreden potek dela

RSV		S strani FDA/CE odobren rezultat referenčnega testa		
		POZ	NEG	Skupaj
Rezultat testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	32	1	33
	NEG	1	146	147
	Skupaj	33	147	180
Klinična občutljivost (RSV) = 97,0 % (82,5 % – 99,8 %)				
Klinična specifičnost (RSV) = 99,3 % (95,7 %–100 %)				

(b) Predhodno obdelan potek dela

RSV		S strani FDA/CE odobren rezultat referenčnega testa		
		POZ	NEG	Skupaj
Rezultat testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	32	2	34
	NEG	1	145	146
	Skupaj	33	147	180
Klinična občutljivost (RSV) = 97,0 % (82,5 % – 99,8 %)				
Klinična specifičnost (RSV) = 98,6 % (94,7 %–99,8 %)				



**Preglednica 14D.** Povzetek klinične učinkovitosti – testni trak NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Zaznavanje SARS-CoV-2 z (a) neposrednim potekom dela in (b) predhodno obdelanim potek dela

**(a) Neposreden potek dela**

SARS-CoV-2		S strani FDA/CE odobren rezultat referenčnega testa		
		POZ	NEG	Skupaj
Rezultat testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	103	8	111
	NEG	3	504	507
	Skupaj	106	512	618
Klinična občutljivost (SARS-CoV-2) = 97,2 % (91,3 %–99,3 %)				
Klinična specifičnost (SARS-CoV-2) = 98,4 % (96,8 % – 99,3 %)				

**(b) Predhodno obdelan potek dela**

SARS-CoV-2		S strani FDA/CE odobren rezultat referenčnega testa		
		POZ	NEG	Skupaj
Rezultat testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	103	9	112
	NEG	3	500	503
	Skupaj	106	509	615
Klinična občutljivost (SARS-CoV-2) = 97,2 % (91,3 %–99,3 %)				
Klinična specifičnost (SARS-CoV-2) = 98,2 % (96,5 % – 99,1 %)				

**Analična specifičnost in navzkrižna reaktivnost**

Analična specifičnost testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay je bila ovrednotena s testiranjem panela s 47 organizmi, sestavljenega iz 22 virusnih sevov, 24 bakterijskih sevov in 1 seva kvasovk, ki predstavljajo pogoste respiratorne patogene ali floro, ki je pogosto prisotna v dihalih. Bakterije in kvasovke so bile testirane v koncentracijah ~6E6 CFU/mL ali IFU/mL, razen kjer je navedeno drugače. Viruse so bili testirani v koncentracijah od 1E5 do 1E6 Organizacija TCID<sub>50</sub>/mL ali kopijah/mL, razen kjer je navedeno drugače. Za potrditev morebitne navzkrižne reaktivnosti med SARS-CoV-2 in družino koronavirusov (229E, OC43, NL63, MERS in SARS-1) skupaj z *Legionella pneumophila*, so bile vključene dodatne ponovitve (> 20), da bi izpolnili zahtevo MDCG za SARS-CoV-2 diagnostične medicinske pripomočke in vitro. Analična specifičnost testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay je bila 100 % za Flu A, Flu B, RSV A, RSV B in SARS-CoV-2.

HKU1 je bil še en član družine koronavirusov, ki je bil testiran, vendar so bili zaradi nedostopnosti virusa in genomske RNA testirani 4 ponovitve sintetičnega materiala. Za raziskavo morebitne navzkrižne reaktivnosti je bila opravljena tudi analiza *in-silico* med primerji in šobami NeuMoDx SARS-CoV-2 ter genomi koronavirusa HKU1, objavljenimi v GenBank. Skupno 57 zaporedij genomov HKU1 je bilo pridobljenih iz baze podatkov o virusih NIH NCBI. Vsa zaporedja HKU1 so imela 3 ali več neujemanja z vsakim primerjem in šobo NeuMoDx SARS-CoV-2. Tesne homologije niso odkrili. Zato ni pričakovati navzkrižne reaktivnosti med testom Coronavirus HKU1 in testom NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.

Preglednica 15. Rezultati analitične specifičnosti

Organizem	Koncentracija	Flu A	Flu B	RSV	SARS-CoV-2
Adenovirus tipa 1	1E6 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
Adenovirus tipa 7	5E5 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
<i>Bordetella pertussis</i> 1176	10 ng/mL	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	10 ng/mL	-	-	-	-
<i>Corynebacterium xerosis</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
EBV	1E6 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Hemophilus influenzae</i>	6E6 CFU/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	-	-	-	-
Humani koronavirus 229E	1E5 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
Humani koronavirus HKU1	1E6 kop./mL	-	-	-	-
Humani koronavirus NL63	1E4 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
Humani koronavirus OC43	1E5 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
Humani enterovirus 68	1E5 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
Humani metapneumovirus	1E4 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
Humana parainfluenca tip 1	5E5 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
Humana parainfluenca tip 2	5E5 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
Humana parainfluenca tip 3	1E6 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
Humani rinovirus tip 1A	5E3 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Lactobacillus brevis</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Lactobacillus jensonii</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Lactobacillus lactis</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
Virus ošpic	1E4 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
MERS-koronavirus EMC/2012	1E4 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
Virus mumpsa	5E5 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero A	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero B	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero C	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero D	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
SARS-koronavirus	1E6 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016	3x LoD	+	-	-	-
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	3x LoD	-	+	-	-
RSV A2	3x LoD	-	-	+	-
RSV B (WV/14617/85)	3x LoD	-	-	+	-
SARS-CoV-2, 1. mednarodni standard WHO	3x LoD	-	-	-	+
Negativna kontrola (brez patogenov)	Ni na voljo	-	-	-	-

**Preglednica 16.** Analitična specifičnost - družina koronavirusov skupaj z *Legionella pneumophila* (testiranih > 20 ponovitev)

Organizem	Koncentracija	SARS-CoV-2
Humani koronavirus NL63	1.00E+04 TCID <sub>50</sub> /mL	-
SARS-koronavirus-1	1.00E+06 pfu/mL	-
MERS-koronavirus EMC/2012	1.00E+04 TCID <sub>50</sub> /mL	-
Humani koronavirus 229E	1.00E+05 TCID <sub>50</sub> /mL	-
Humani koronavirus OC43	1.00E+05 TCID <sub>50</sub> /mL	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6.00E+06 CFU/mL	-
Pozitivni krmilnik: SARS-CoV-2; prvi standard WHO	3x LoD	+
Negativna kontrola (brez patogenov)	Ni na voljo	-

**Moteče snovi – komezalni organizmi**

Test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay je bil testiran na interference v prisotnosti neciljnih organizmov (potencialno prisotnih v zgornjih dihalnih poteh) z oceno uspešnosti testa pri nizkih ravneh (~3X LoD) Flu A, Flu B, RSV A, RSV B in SARS-CoV-2 v prisotnosti visokih koncentracij organizmov, naštetih v preglednici 15 zgoraj. Za potrditev morebitne navskrižne reaktivnosti med SARS-CoV-2 in družino koronavirusov (229E, OC43, NL63, MERS in SARS-1) skupaj z *Legionella pneumophila* v preglednici 16, so bile vključene dodatne ponovitve (> 20) za izpolnitev zahtev MDCG za in diagnostične medicinske pripomočke in vitro SARS-CoV-2. Ti vzorci so bili obogateni s SARS-CoV-2 samo pri ~3X LoD za interferenčni del študije. Za vse cilje je bila opažena 100 % stopnja zaznavanja. Zato niso opazili nobenih motenj pri zaznavanju katerega koli cilja s katerim od komezalnih organizmov.

**Moteče snovi – endogene/eksogene**

Test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay je bil ocenjen glede dojemljivosti za motnje, katerih vzrok so snovi, ki so lahko povezane z zbiranjem primerkov brisov nosnega dela žrela. Preostali klinično negativni primerki brisov iz nosnega dela žrela so bili obogateni s cilji Flu A, Flu B, RSV A, RSV B, ali SARS-CoV-2 pri 3X LoD ter obdelani v prisotnosti in odsotnosti agentov, ki so prikazani v preglednici 17. Nobena od snovi, ki so bile vključene v testiranje, niso negativno vplivale na delovanje testa za kateri koli cilj.

**Preglednica 17.** Snovi, testirane na motnje

	Snov	Opis/aktivna sestavina	Koncentracija*
Eksogena	Neo-sinefrin	Fenilefrin	15 % v/v
	Nosni gel - Ayr fiziološki gel za nos	Natrijev klorid s konzervansi	15 % v/v
	Homeopatsko lajšanje alergij - Similasan	Cardiospermum, Sabadilla, Luffa operculata, Galphimia glauca	15 % v/v
	Cink Nature's Bounty	Cinkov glukonat	0,1 mg/mL
	Oralni anestetik/analgetik - Oragel	Benzokain, benzalkonijev klorid	1 % v/v
	Pršilo za nos - Afrin	Oksimetazolin	15 % w/v
	Pršilo za nos - Zicam	<i>Luffa operculata</i> , <i>Galphimia glauca</i> , Histaminum hydrochloricum, žveplo	15 % v/v
	Nazalni kortikosteroid - Flonase	Flutikazon	5 % v/v
	Nazalni kortikosteroid - Rhinocort	Budezonid	5 % v/v
	Nazalni kortikosteroid - Nasacort	Triamcinolon	5 % v/v
	Nazalni kortikosteroid - Deksametazon	Deksametazon	10 mg/mL
	Nazalni kortikosteroid - Mometazon	Mometazon	10 mg/mL
	Nazalni kortikosteroid - Beklometazon	Beklometazon	10 mg/mL
	Kloraseptična pastila za grlo	Benzokain, mentol	2 mg/mL
	Antibiotik, mazilo za nos	Mupirocin	10 mg/mL
	Protivirusno zdravilo Relenza	Zanamivir	7,5 mg/mL
Protivirusno zdravilo Tamiflu	Osetlamivir	25 mg/mL	
Antibiotik, sistemski	Tobramicin	15 mg/mL	
Endogene	Mucin	Očiščena beljakovina mucin	2,5 % w/v
	Človeška kri	Kri	2 % v/v

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

#### Navzkrižna kontaminacija

Stopnja navzkrižne kontaminacije za test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay na sistemih NeuMoDx Molecular 288 in 96 System je bila določena z obdelavo visoko pozitivnih in negativnih vzorcev v izmeničnem vzorcu »šahovnice«. Vsi vzorci so bili sestavljeni iz simuliranega materiala za bris iz nosnega žrela, s pozitivnimi vzorci, obogatenimi na  $\geq 10^5$  TCID<sub>50</sub>/mL (ali  $\geq 10,000X$  LoD). Izvedenih je bilo pet nizov testiranj s šahovnico, ki so na koncu proizvedli skupno 60 negativnih ponovitev in 60 pozitivnih ponovitev na obeh sistemih NeuMoDx 288 in 96 Molecular System. Pri obeh tipih sistemov je bilo vseh 120 ponovitev negativnih vzorcev natančno prijavljenih kot negativnih, kar dokazuje odsotnost navzkrižne kontaminacije med obdelavo vzorcev na sistemih NeuMoDx System.

#### Čas obdelave

Čas obdelave za obdelavo 8 vzorcev z uporabo testa NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay je določen na ~85 minut pri sistemu N288 System in ~78 minut pri sistemu NeuMoDx 96 System za obdelavo 4 vzorcev.

#### Stopnja odpovedi celotnega sistema

Stopnja odpovedi celotnega sistema za test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay je bila ovrednotena s testiranjem 1 ravni cilja SARS-CoV-2 pri koncentraciji ~3X LoD, ki je bila pripravljena z dodajanjem klinično negativnih primerkov brisov iz nosnega dela žrela z 1<sup>st</sup> WHO International Standard for SARS-CoV-2. Skupaj 200 ponovitev je bilo obdelanih z neposrednim potekom dela na obeh sistemih NeuMoDx 96 in 288 Molecular System (100 ponovitev na sistem). Stopnja neuspeha je bila izračunana kot odstotek lažno negativnih rezultatov od skupnega števila pridobljenih veljavnih rezultatov. Ugotovljeno je bilo, da je stopnja zaznavanja za cilj SARS-CoV-2 v testu NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 100 % za sistema NeuMoDx 96 in 288 Molecular System, kar kaže 0 % stopnjo napak v obeh sistemih.

#### Robustnost sistema – inhibicija

Stopnja inhibicije je bila določena z izračunom stopnje Unresolved (Nerešeno) (kontrola obdelave vzorca ni amplificirana v odsotnosti sistemske napake) v vseh negativnih vzorcih, izvedenih med študijami preverjanja in potrjevanja. Dobljenih je bilo skupno 11 rezultatov Unresolved (Nerešeno) od skupno 1221 obdelanih negativnih vzorcev, kar kaže na 0,9 % stopnjo inhibicije za test NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.

#### REFERENCE

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.

#### BLAGOVNE ZNAMKE

BD™ je blagovna znamka družbe Becton, Dickinson and Company.

Hamilton® je registrirana blagovna znamka družbe Hamilton Company.

Minitip Nylon® Flocked Swab je registrirana blagovna znamka družbe Copan Diagnostics, Inc.

NeuMoDx™ in NeuDry™ so blagovne znamke podjetja NeuMoDx Molecular, Inc.


TaqMan® je registrirana blagovna znamka družbe Roche Molecular Systems, Inc.

UTM-RT® je registrirana blagovna znamka družbe Copan Diagnostics, Inc.

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

**POMEN SIMBOLOV**

 Samo na recept	 Ni za ponovno uporabo
 Proizvajalec	 Vsebuje zadostno količino za <n> testov
 Diagnostični medicinski pripomoček <i>in vitro</i>	 Glejte navodila za uporabo
 Pooblaščen predstavnik v Evropski skupnosti	 Pozor
 Kataloška številka	 Oznaka CE
 Koda serije	 Vsebuje
 Rok uporabnosti	 Vsebuje biološki material živalskega izvora
 Temperaturna meja	

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

**EC REP**

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

Tehnična podpora/poročanje v okviru vigilance: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

Patent: [www.neumodx.com/patents](http://www.neumodx.com/patents)

