

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

**R only**

PRZESTROGA: Wyłącznie do eksportu poza Stany Zjednoczone

**IVD** Do diagnostyki *in vitro* z wykorzystaniem systemów NeuMoDx 288 Molecular System i NeuMoDx 96 Molecular System



Elektroniczna wersja dokumentu jest dostępna pod adresem: [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)

Szczegółowe instrukcje można znaleźć w podręczniku użytkownika systemu NeuMoDx 288 Molecular System (nr części: 40600108)

Szczegółowe instrukcje można znaleźć w podręczniku użytkownika systemu NeuMoDx 96 Molecular System (nr części: 40600317)

**PRZEZNACZENIE**

Oznaczenie NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay to test diagnostyczny *in vitro* oparty na multipleksowej reakcji RT-PCR w czasie rzeczywistym przeznaczony do równoczesnego jakościowego wykrywania i różnicowania RNA wirusa grypy A, wirusa grypy B, syncyjalnego wirusa oddechowego (Respiratory Syncytial Virus, RSV) i wirusa SARS-CoV-2 w próbkach wymazów z nosogardzieli (Nasopharyngeal, NP) pobranych do podłoża transportowego od pacjentów z przedmiotowymi i podmiotowymi objawami choroby grypopodobnej (Influenza Like Illness, ILI).

W przypadku wykonywania oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay w systemie NeuMoDx 288 Molecular System lub w systemie NeuMoDx 96 Molecular System izolacja docelowego kwasu nukleinowego (RNA) z próbki oraz reakcja RT-PCR w czasie rzeczywistym, ukierunkowana na jeden konserwatywny region w genomie wirusa grypy A i genomie wirusa RSV oraz dwa konserwatywne regiony w genomie wirusa SARS-CoV-2 i genomie wirusa grypy B, zachodzą w sposób zautomatyzowany.

Wyniki uzyskane za pomocą tego testu nie mogą być traktowane jako wyłączna podstawa do postawienia diagnozy, wyboru leczenia ani podejmowania innych decyzji dotyczących terapii pacjenta. Wyniki pozytywne wskazują na obecność RNA wirusa SARS-CoV-2 i/lub grypy A i/lub grypy B i/lub RSV, lecz nie można na ich podstawie wykluczyć zakażenia bakteryjnego lub koinfekcji innymi wirusami. W celu ustalenia statusu zakażenia u pacjenta wymagane jest kliniczne skorelowanie otrzymanego wyniku z historią choroby i innymi informacjami diagnostycznymi.

Wyniki negatywne nie wykluczają zakażenia wirusem grypy A, grypy B, RSV lub SARS-CoV-2 i nie mogą być traktowane jako wyłączna podstawa do postawienia diagnozy, wyboru leczenia ani podejmowania innych decyzji dotyczących terapii pacjenta. Wyniki negatywne należy analizować w kontekście obserwacji klinicznych, historii choroby pacjenta i/lub danych epidemiologicznych.

Oznaczenie NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay jest przeznaczone do użytku przez wykwalifikowany personel laboratoryjny poinstruowany i przeszkolony w zakresie technik przeprowadzania reakcji RT-PCR w czasie rzeczywistym oraz procedur diagnostyki *in vitro* i/lub obsługi systemów NeuMoDx Molecular System. Oznaczenie NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay nie jest przeznaczone do samodzielnego wykonywania testów przez pacjenta ani do stosowania w miejscu opieki nad pacjentem.

**PODSUMOWANIE I OBJAŚNIENIE**

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay to oznaczenie jakościowe przeznaczone do użycia w systemach NeuMoDx 96 oraz NeuMoDx 288 w celu detekcji RNA wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy A, wirusa grypy B i/lub wirusa RSV w próbkach wymazów z nosogardzieli. Oznaczenie nie umożliwia rozróżnienia RNA wirusa RSV A i RSV B. Próbkę wymazów z nosogardzieli są pobierane do uniwersalnego podłoża transportowego (Universal Transport Medium, UTM-RT®) firmy Copan (Copan UTM-RT, Copan, CA, USA) lub systemu zawierającego uniwersalne podłoże do transportu wirusów (Universal Viral Transport System, UVT) firmy BD™ (BD™ UVT, BD, NJ, USA). W teście wykorzystywana jest wewnętrzna kontrola przetwarzania próbki (Sample Process Control, SPC2) w formie RNA, która jest włączana do analizy na etapie przygotowania próbki i służy do pełnego monitorowania procesów przygotowywania próbki, odwrotnej transkrypcji oraz amplifikacji podczas reakcji PCR. Oznaczenie NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay umożliwia przetwarzanie próbek z wykorzystaniem dwóch procedur — procedury bezpośredniej i procedury z obróbką wstępną — odpowiednio do potrzeb danego laboratorium. System NeuMoDx Molecular System automatycznie wykonuje wszystkie kroki wymagane do izolacji docelowego kwasu nukleinowego, przygotowuje wyizolowany RNA do łańcuchowej reakcji polimerazy z odwrotną transkryptazą (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) w czasie rzeczywistym oraz przeprowadza odwrotną transkrypcję, amplifikację i detekcję produktów amplifikacji, jeśli są obecne. Oznaczenie NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay jest ukierunkowane na konserwatywne regiony genu kodującego białko Nsp2 i genu kodującego metylotransferazę O-rybozy wirusa SARS-CoV-2, regiony kodujące białko macierzy wirusa grypy A i syncyjalnego wirusa oddechowego oraz gen kodujący białko macierzy i gen kodujący białko niestrukturalne NS1 wirusa grypy B.

**ZASADY PROCEDURY**

Obecnie jako najnowocześniejszą technologię w zakresie wykrywania ostrych zakażeń wirusem grypy A, grypy B, RSV lub SARS-CoV-2 uważa się amplifikację kwasów nukleinowych konserwatywnych regionów w obrębie genomów patogenów docelowych. Tego typu praktyka jest zgodna z reakcją PCR w czasie rzeczywistym z odwrotną transkrypcją wykorzystywaną w oznaczeniu NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay wykonywanym przy użyciu systemów NeuMoDx 288 Molecular System i NeuMoDx 96 Molecular System.

Oznaczenie NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay łączy zautomatyzowaną izolację RNA i amplifikację/detekcję RNA wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy A, wirusa grypy B i/lub wirusa RSV w reakcji RT-PCR w czasie rzeczywistym. Próbkę wymazów z nosogardzieli są pobierane przy użyciu systemu UTM-RT firmy Copan lub systemu BD™ UVT. Procedura bezpośrednia umożliwia oznaczenie kodem kreskowym i załadowanie pierwotnej próbki do pobierania wymazu lub porcji podłoża transportowego w probówce wtórnej do systemu NeuMoDx System w celu analizy. Alternatywnie próbkę wymazu w podłożu transportowym można najpierw poddać działaniu takiej samej objętości buforu NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB), a dopiero potem załadować do systemu w celu analizy bez konieczności dalszej interwencji użytkownika. System NeuMoDx System automatycznie zasysa porcję próbki w celu wymieszania jej z buforem NeuMoDx Lysis Buffer 3 w przypadku procedury bezpośredniej lub porcję próbki poddanej wstępnej obróbce w celu wymieszania jej z buforem Lysis Buffer 2. W obu przypadkach porcja próbki mieszana jest także z odczynnikami zawartymi na płytce NeuMoDx Extraction Plate w celu rozpoczęcia analizy. Podczas wykonywania procedury bezpośredniej pierwotna próbka do pobierania próbki (bez wymazówki i zatyczki) lub porcja podłoża z próbką w probówce wtórnej jest oznaczana kodem kreskowym i ładowana do systemu NeuMoDx System przy użyciu dedykowanego nośnika próbek. W procedurze z obróbką wstępną próbka w

podłożu transportowym przed załadowaniem do systemu jest poddawana działaniu takiej samej objętości buforu NeuMoDx VVLB. W procedurze bezpośredniej porcja próbki o objętości 400 µl jest zasysana przez system NeuMoDx System i mieszana z równą objętością buforu NeuMoDx Lysis Buffer 3, natomiast w procedurze z obróbką wstępną porcja próbki poddanej wstępnej obróbce o objętości 550 µl jest mieszana z równą objętością buforu Lysis Buffer 2. System NeuMoDx System umożliwia automatyzację i integrację izolacji i załączania RNA, przygotowania odczynników i amplifikacji/detekcji docelowych sekwencji przy użyciu reakcji RT-PCR w czasie rzeczywistym. Kontrola przetwarzania próbki (Sample Process Control, SPC2) ułatwia monitorowanie pod kątem obecności inhibitorów oraz wykrycie nieprawidłowości związanych z systemem, procesem lub odczynnikami. Po załadowaniu próbki do systemu NeuMoDx System operator nie musi wykonywać żadnych działań.

W celu przeprowadzenia lizy, izolacji RNA oraz usunięcia inhibitorów w zautomatyzowany sposób w systemie NeuMoDx System stosowane są wysoka temperatura, enzym lityczny i odczynniki do izolacji. Uwolnione kwasy nukleinowe są wychwytywane przez cząstki paramagnetyczne. Cząstki te, wraz ze związanymi kwasami nukleinowymi, są następnie ładowane do kasety NeuMoDx Cartridge, w której niezwiązane składniki są wymywane przy użyciu odczynnika NeuMoDx Wash Reagent. Związane RNA jest eluowane przy użyciu odczynnika NeuMoDx Release Reagent. System NeuMoDx System wykorzystuje eluowany RNA do uwodnienia zastrzeżonych odczynników do amplifikacji NeuDry™, które zawierają wszystkie składniki wymagane do amplifikacji sekwencji docelowych wirusa grypy A, wirusa grypy B, wirusa RSV, wirusa SARS-CoV-2 i kontroli SPC2. To umożliwia równoczesną amplifikację i detekcję RNA wszystkich sekwencji docelowych i sekwencji kontroli przetwarzania próbki. Po rekonstytucji suchych odczynników do reakcji RT-PCR system NeuMoDx System dozjuje przygotowaną mieszaninę gotową do użycia w reakcji RT-PCR do jednej komory do reakcji PCR (na każdą próbkę) w kasecie NeuMoDx Cartridge. W komorze do reakcji PCR zachodzi odwrotna transkrypcja, amplifikacja i detekcja sekwencji docelowych (jeśli są obecne) i kontroli. Kasetę NeuMoDx Cartridge zaprojektowano w taki sposób, aby po reakcji RT-PCR przechowywane w niej były wygenerowane amplikony, co praktycznie eliminuje ryzyko zanieczyszczenia po amplifikacji.

Detekcja zamplifikowanych sekwencji docelowych przebiega w czasie rzeczywistym przy użyciu sond hydrolitycznych (nazywanych zbiorczo odczynnikami TaqMan®), cząsteczek oligonukleotydowych sond fluorogenicznych swoistych względem amplikonów odpowiednich sekwencji docelowych. Sondy TaqMan składają się z fluoroforu kowalencyjnie związanego z końcem 5' sondy oligonukleotydowej oraz wygaszacza związanego z końcem 3'. Jeśli sonda jest nienaruszona, bliskość fluoroforu i wygaszacza powoduje, że wygaszcz tłumi emitowaną przez fluorofor fluorescencję poprzez Försterowskie rezonansowe przeniesienie energii (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Sondy TaqMan zostały opracowane tak, aby hybrydowały do regionu cDNA amplifikowanego przez swoisty zestaw starterów. Podczas gdy polimeraza DNA Taq wydłuża starter i syntezuje nić potomną, aktywność egzonukleazy 5'–3' polimerazy DNA Taq powoduje rozkład sondy zhybrydowanej z matrycą. Rozkład sondy prowadzi do uwolnienia fluoroforu i oddalenia go od wygaszacza, znosząc tym samym efekt wytłumienia spowodowany przez FRET i umożliwiając detekcję fluoroforu. Siła otrzymanego w ten sposób sygnału fluorescencyjnego wykrywanego w termocyklerze systemu NeuMoDx System podczas reakcji RT-PCR jest wprost proporcjonalna do ilości uwolnionego fluoroforu i można ją skorelować z ilością obecnej sekwencji docelowej.

Fluorescencyjne kanały detekcji dla poszczególnych sekwencji docelowych oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay przedstawiono w tabeli poniżej. Oprogramowanie systemu NeuMoDx System monitoruje sygnał fluorescencyjny emitowany przez sondy TaqMan pod koniec każdego cyklu amplifikacji. Po ukończeniu cyklu termicznego oprogramowanie systemu NeuMoDx System analizuje dane i zgłasza wynik (POSITIVE (Pozytywny)/NEGATIVE (Negatywny)/INDETERMINATE (Nieokreślony)/NO RESULT (Brak wyniku)/UNRESOLVED (Nierozstrzygnięty)).

**Tabela 1. Kanały detekcji**

Cząsteczka docelowa	Region docelowy	Fluorofor sondy	Wzbudzenie/emisja	Kanał detekcji
Wirus grypy A	Gen białka macierzy	FAM	530/555 nm	Zielony
Wirus grypy B	Gen białka macierzy	HEX	470/510 nm	Żółty
	Gen niestrukturalnego białka NS1			
Wirus SARS-CoV-2	Gen Nsp2	Texas Red	585/610 nm	Pomarańczowy
	Gen metylotransferazy O-rybozy			
Syncytialny wirus oddechowy	Gen białka macierzy	Q705	680/715 nm	Czerwień daleka
SPC2	Gen białka składowania (MS2)	Q670	625/660 nm	Czerwony

### ODCZYNNIKI / MATERIAŁY EKSPLOATACYJNE

#### Dostarczony materiał

NR REF.	Zawartość	Liczba opakowań jednostkowych na opakowanie zbiorcze	Liczba testów na opakowanie jednostkowe	Liczba testów na opakowanie zbiorcze
300901	<b>NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip</b> <i>Suche odczynniki do reakcji RT-PCR zawierające sondy TaqMan i startery swoiste dla wirusów grypy A/grypy B/RSV/SARS-CoV-2 oraz sondę TaqMan i startery swoiste dla kontroli SPC2.</i> <i>Zawiera Tris-HCl w stężeniu 21,1%, deoksynukleotydy (dNTP) w stężeniu 8,4% i inne składniki nieaktywne</i>	6	16	96

**Materiały wymagane, ale niedostarczone (oferowane oddzielnie przez firmę NeuMoDx)**

NR REF.	Zawartość
901200	<b>NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls</b> Zestawy kontroli pozytywnych i negatywnych względem wirusa grypy A/grypy B/RSV/SARS-CoV-2 przeznaczone do codziennej walidacji działania oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay (po 1 fiole z każdą kontrolą = 1 zestaw); do jednorazowego użytku
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> Suche cząstki paramagnetyczne, enzym lityczny i kontrole przetwarzania próbek
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>Końcówki Hamilton® CO-RE / CO-RE II (300 µl) z filtrami</b>
235905	<b>Końcówki Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µl) z filtrami</b>

\* Odczynnik wymagany jedynie do przetwarzania próbek przy użyciu procedury bezpośredniej (z pominięciem kroku obróbki wstępnej). Patrz część „Instrukcja użycia” poniżej.

\*\* Odczynnik wymagany jedynie do przetwarzania próbek przy użyciu procedury z obróbką wstępną (z uwzględnieniem kroku obróbki wstępnej). Patrz część „Instrukcja użycia” poniżej.

**Wymazówki i podłoża transportowe (niedostarczane)**

Typ próbki	Zalecany wyrób do pobierania próbek	Zalecana wymazówka
<b>Wymaz z nosogardzieli</b>	3 ml uniwersalnego podłoża transportowego (Copan UTM-RT, Copan, CA, USA, 305C) <b>lub</b> 3 ml uniwersalnego podłoża do transportu wirusów (BD UVT, BD, NJ, USA, BD 220531)	Flexible Minitip Nylon® Flocked Swab (Copan, CA, USA) <b>lub</b> Flexible Minitip Flocked Swab (BD, NJ, USA)

**Wymagany sprzęt**

System NeuMoDx 288 Molecular System (NR REF. 500100) lub system NeuMoDx 96 Molecular System (NR REF. 500200)  
Oprogramowanie systemu NeuMoDx w wersji 1.9.2.6 lub wyższej



**OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI**

- Oznaczenie NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay jest przeznaczone wyłącznie do diagnostyki *in vitro* z wykorzystaniem systemów NeuMoDx System.
- Nie używać odczynników ani materiałów eksploatacyjnych po upływie wskazanej daty ważności.
- Nie używać żadnych odczynników, jeśli plomba zabezpieczająca jest naruszona lub dostarczone opakowanie jest uszkodzone.
- Nie używać materiałów eksploatacyjnych ani odczynników, jeśli dostarczona torebka ochronna jest otwarta lub uszkodzona.
- Minimalna objętość próbki dla porcji wtórnych zależy od rozmiaru probówki/nośnika probówek, zgodnie z poniższym opisem. Objętość próbki mniejsza niż określona objętość minimalna może doprowadzić do wygenerowania błędów „Quantity Not Sufficient” (Niewystarczająca objętość).
- Użycie próbek przechowywanych w nieodpowiedniej temperaturze lub po upływie określonego okresu przechowywania może doprowadzić do otrzymania nieważnych lub błędnych wyników.
- Należy unikać zanieczyszczenia odczynników i materiałów eksploatacyjnych drobnoustrojami i rybonukleazą (RNaza). W przypadku używania probówek wtórnych zalecane jest stosowanie sterylnych, jednorazowych pipet transferowych wolnych od RNazy. Dla każdej próbki należy używać nowej pipety.
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, po amplifikacji nie należy przenosić kaset NeuMoDx Cartridge ani rozkładać ich na części. Pod żadnym pozorem nie należy wyjmować kaset NeuMoDx Cartridge z pojemnika na odpady stwarzające zagrożenie biologiczne (NeuMoDx 288 Molecular System) ani z kosza na odpady stwarzające zagrożenie biologiczne (NeuMoDx 96 Molecular System). Konstrukcja kasyety NeuMoDx Cartridge minimalizuje ryzyko zanieczyszczenia.
- Jeśli w laboratorium wykonywane są również testy PCR w otwartych probówkach, należy zachować ostrożność, aby nie dopuścić do zanieczyszczenia paska testowego NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip, dodatkowych materiałów eksploatacyjnych i odczynników wymaganych do przeprowadzenia testu, środków ochrony indywidualnej, takich jak rękawiczki i fartuchy laboratoryjne, oraz systemu NeuMoDx System.
- Podczas pracy z odczynnikami i materiałami eksploatacyjnymi NeuMoDx należy nosić czyste, bezpydrowe rękawiczki nitrylowe. Należy zachować ostrożność, aby nie dotykać górnej powierzchni kasyety NeuMoDx Cartridge, powierzchni paska testowego NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip i płytki NeuMoDx Extraction Plate pokrytych folią uszczelniającą oraz górnej powierzchni pojemnika z buforem NeuMoDx Lysis Buffer; podczas pracy należy dotykać wyłącznie bocznych powierzchni materiałów eksploatacyjnych oraz pojemników z odczynnikami.

- Kontrole zewnętrzne NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls [NR REF. 901200] należy przetwarzać co 24 godziny podczas wykonywania testów przy użyciu oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.
- Dla każdego odczynnika (w stosownych przypadkach) dostępne są odpowiednie Karty charakterystyki (Safety Data Sheet, SDS) pod adresem [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu).
- Po wykonaniu testu dokładnie umyć ręce.
- Nie pipetować ustami. Nie palić i nie spożywać pokarmów ani płynów w miejscach przeznaczonych do pracy z próbkami lub odczynnikami.
- Z próbkami należy zawsze postępować w taki sposób, jak z materiałami potencjalnie zakaźnymi, zgodnie z procedurami bezpieczeństwa laboratoryjnego, które opisano w publikacjach takich jak *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Bezpieczeństwo w laboratoriach mikrobiologicznych i biomedycznych)*<sup>1</sup> i w dokumencie M29-A4 instytutu CLSI<sup>2</sup>.
- Podczas pracy z substancjami chemicznymi należy zawsze nosić odpowiedni fartuch laboratoryjny, jednorazowe rękawiczki i okulary ochronne. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z odpowiednią kartą charakterystyki (safety data sheet, SDS).
- Usuwać nieużyte odczynniki i odpady zgodnie z przepisami federalnymi i stanowymi lub krajowymi, wojewódzkimi i lokalnymi.

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



Zawiera: boric acid (kwas borowy), ethoxylated nonylphenol (etoksylogowany nonylofenol). Niebezpieczeństwo! Działa drażniąco na skórę. Powoduje poważne podrażnienie oczu. Może działać szkodliwie na płodność lub na dziecko w łonie matki. Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi instrukcjami. Nie używać przed zapoznaniem się i zrozumieniem wszystkich środków bezpieczeństwa. Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. W PRZYPADKU narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. Przechowywać pod zamknięciem. Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierzonego zakładu utylizacji odpadów.

#### Informacje alarmowe

CHEMTREC

Poza USA i Kanadą: +1 703-527-3887

#### Postępowanie z odpadami

Produkt zawiera ethoxylated nonylphenol (etoksylogowany nonylofenol), substancję zaburzającą funkcjonowanie układu hormonalnego, która może mieć niekorzystny wpływ na środowisko.

Produkt należy usuwać jako odpad niebezpieczny, w sposób zgodny z lokalnymi i krajowymi przepisami. Wytyczne te mają zastosowanie również w przypadku produktów nieużywanych.

Odpadów płynnych nie należy wylewać do kanalizacji.

Należy postępować zgodnie z zaleceniami zawartymi w karcie charakterystyki (Safety Data Sheet, SDS).



#### PRZECHOWYWANIE, STABILNOŚĆ I SPOSÓB POSTĘPOWANIA Z PRODUKTEM

- Paski testowe NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip przechowywane w oryginalnym opakowaniu w temperaturze od 15°C do 28°C zachowują stabilność do daty ważności podanej na etykiecie produktu.
- Nie ładować ponownie żadnych produktów przeznaczonych do wykonywania testu, które załadowano uprzednio do innego systemu NeuMoDx System.
- Pasek testowy NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip załadowany do systemu NeuMoDx System może być w nim przechowywany przez maksymalnie 14 dni. Pozostały okres magazynowania załadowanych pasków testowych jest śledzony przez oprogramowanie i zgłaszany użytkownikowi w czasie rzeczywistym. Po upływie dopuszczalnego okresu magazynowania paska testowego system NeuMoDx System wyświetli monit o jego wyjęciu.

#### POBIERANIE, TRANSPORT I PRZECHOWYWANIE PRÓBEK

*Z próbkami należy postępować tak, jak z materiałami potencjalnie zakaźnymi.*

1. Próbkę należy pobierać przy użyciu systemu UTM-RT<sup>®</sup> firmy Copan lub systemu BD<sup>™</sup> UVT przy użyciu zwalidowanych wymazówek z flokowanego nylonu (patrz Wymazówki i podłoża transportowe). Dodatkowo dopuszczalne jest stosowanie wymazówek flokowanych, wymazówek z poliestru i nylonu. Postępować zgodnie z instrukcjami producenta dotyczącymi pobierania, transportu i przechowywania próbek.
2. Próbkę można testować w zgodnych pierwotnych probówkach do pobierania próbek lub probówkach wtórnych.
3. Próbkę można przechowywać w systemie NeuMoDx System przez maksymalnie 8 godzin przed ich analizą. Jeśli konieczne jest przechowywanie próbek przez dłuższy czas, zalecane jest rozdzielanie próbek na porcje wtórne i przeniesienie ich do chłodziarki lub zamrażarki.
4. Przygotowane próbki przechowywać w temperaturze od 2 do 8°C przez maksymalnie 7 dni przed wykonaniem testu.
5. Jeśli próbki są przesyłane, należy je zapakować i oznaczyć zgodnie z obowiązującymi przepisami krajowymi i/lub międzynarodowymi.
6. Przejdź do części *Przygotowanie do wykonania testu*.

## PRZYGOTOWANIE DO WYKONANIA TESTU

Oznaczenie NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay można wykonać przy użyciu dwóch różnych procedur, w zależności od preferencji użytkownika/laboratorium:

Procedura 1: **BEZPOŚREDNIA** — próbka wymazu w podłożu transportowym jest bezpośrednio ładowana do systemu NeuMoDx System w pierwotnej probówce do pobierania próbki lub probówce wtórnej

-lub-

Procedura 2: **Z OBRÓBKĄ WSTĘPNĄ** — próbka wymazu w podłożu transportowym jest poddawana wstępnej obróbce buforem NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer przed załadowaniem jej do systemu NeuMoDx System w pierwotnej probówce do pobierania próbki lub probówce wtórnej

### Przygotowanie do wykonania testu — procedura BEZPOŚREDNIA — próbki wymazów niepoddane wstępnej obróbce

1. Nakleić etykietę z kodem kreskowym próbki na probówkę zgodną z systemem NeuMoDx System, wykonując opisany poniżej krok 3.
2. W przypadku testowania próbki w pierwotnej probówce do pobierania próbki przed załadowaniem próbki do systemu NeuMoDx System należy włożyć probówkę oznaczoną kodem kreskowym do nośnika probówek i upewnić się, że zdjęto zatyczkę i wyjęto wymazówkę z próbki.
3. Alternatywnie, porcję podłoża transportowego można przenieść do próbki wtórnej oznaczonej kodem kreskowym i umieścić ją w nośniku probówek. W przypadku korzystania z próbki wtórnej przenieść porcję podłoża transportowego do próbki oznaczonej kodem kreskowym zgodnej z systemem NeuMoDx System, uwzględniając poniższe wytyczne dotyczące objętości:
  - Nośnik probówek (na 32 probówki): średnica 11–14 mm; wysokość 60–120 mm; minimalna objętość napełnienia  $\geq 600 \mu\text{l}$
  - Nośnik probówek (na 24 probówki): średnica 14,5–18 mm; wysokość 60–120 mm; minimalna objętość napełnienia  $\geq 1000 \mu\text{l}$
  - Nośnik na próbki z próbkami o małej objętości (na 32 probówki): stożkowa probówka mikrowirówkowa o pojemności 1,5 ml; minimalna objętość napełnienia  $\geq 500 \mu\text{l}$

### Przygotowanie do wykonania testu — procedura Z OBRÓBKĄ WSTĘPNĄ — próbki wymazów poddane wstępnej obróbce

*Uwaga: Przed użyciem buforu Vantage Viral Lysis Buffer należy doprowadzić go do temperatury pokojowej (15–30°C).*

*OSTRZEŻENIE: Wstępna obróbka próbek wymazów przy użyciu buforu NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer nie gwarantuje inaktywacji wirusów potencjalnie obecnych w próbce. Ze wszystkimi próbkami należy postępować tak, jak z materiałami potencjalnie zakaźnymi.*

1. Podłoże transportowe z próbką poddać wstępnej obróbce, dodając do niego bufor NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer w takiej objętości, aby otrzymać stosunek 1:1. Jeśli znana jest objętość podłoża transportowego obecnego w probówce, krok ten można wykonać w pierwotnej probówce do pobierania wymazu. Alternatywnie, krok wstępnej obróbki można wykonać w probówce wtórnej, łącząc porcję podłoża transportowego z równą objętością buforu NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. Otrzymana mieszanina powinna spełniać wymagania dotyczące minimalnej objętości określone poniżej w kroku 4.
2. Delikatnie wymieszać zawartość próbki pipetą, aby równomiernie rozprowadzić bufor NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer.
3. W przypadku testowania próbki poddanej wstępnej obróbce w pierwotnej probówce do pobierania próbki przed załadowaniem próbki do systemu NeuMoDx System należy włożyć probówkę oznaczoną kodem kreskowym do nośnika probówek i upewnić się, że zdjęto zatyczkę i wyjęto wymazówkę z próbki.
4. W przypadku korzystania z próbki wtórnej przenieść porcję próbki poddanej obróbce wstępnej do próbki oznaczonej kodem kreskowym zgodnej z systemem NeuMoDx System i umieścić ją w nośniku probówek; należy uwzględnić poniższe wytyczne dotyczące objętości:
  - Nośnik probówek (na 32 probówki): średnica 11–14 mm; wysokość 60–120 mm; minimalna objętość napełnienia  $\geq 750 \mu\text{l}$
  - Nośnik probówek (na 24 probówki): średnica 14,5–18 mm; wysokość 60–120 mm; minimalna objętość napełnienia  $\geq 1100 \mu\text{l}$
  - Nośnik na próbki z próbkami o małej objętości (na 32 probówki): stożkowa probówka mikrowirówkowa o pojemności 1,5 ml; minimalna objętość napełnienia  $\geq 650 \mu\text{l}$

### Obsługa systemu NeuMoDx System

*Szczegółowe instrukcje przedstawiono w podręcznikach użytkownika systemów NeuMoDx 288 Molecular System i NeuMoDx 96 Molecular System (nr części: 40600108 i 40600317)*

1. Załadować zlecenie testu do systemu NeuMoDx System zgodnie ze stosowaną procedurą przygotowania do wykonania testu:
  - Niepoddane obróbce próbki wymazów bez dodatków przygotowane w procedurze BEZPOŚREDNIEJ są poddawane testom poprzez zdefiniowanie próbki jako „**Transport Medium**” (Podłoże transportowe)
  - Probki wymazów poddane wstępnej obróbce buforem NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer przygotowane w procedurze Z OBRÓBKĄ WSTĘPNĄ są poddawane testom poprzez zdefiniowanie próbki jako „**UserSpecified1**” (Określona przez użytkownika 1)

Jeśli użytkownik nie zdefiniuje tych ustawień w zleceniu testu, domyślnie używane będą ustawienia dla próbki **Secondary Tube** (Probówka wtórna) i typu próbki Transport Medium (Podłoże transportowe) (procedura bezpośrednia).
2. Włożyć paski testowe NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip do jednego lub większej liczby nośników pasków testowych NeuMoDx Test Strip Carrier, a następnie załadować nośniki pasków testowych do systemu NeuMoDx System, korzystając z ekranu dotykowego.
3. W przypadku wyświetlenia monitu przez oprogramowanie systemu NeuMoDx System włożyć wymagane materiały eksploatacyjne do nośników materiałów eksploatacyjnych systemu NeuMoDx System, a następnie załadować nośniki do systemu NeuMoDx System, korzystając z ekranu dotykowego.



4. W przypadku wyświetlenia monitu przez oprogramowanie systemu NeuMoDx System wymienić odczynnik NeuMoDx Wash Reagent i/lub odczynnik NeuMoDx Release Reagent, opróżnić butelkę na odpady płynne, pojemnik na odpady stwarzające zagrożenie biologiczne (wyłącznie system NeuMoDx 288 Molecular System), kosz na zużyte końcówki (wyłącznie system NeuMoDx 96 Molecular System) i/lub kosz na odpady stwarzające zagrożenie biologiczne (wyłącznie system NeuMoDx 96 Molecular System), odpowiednio do potrzeb.
5. Załadować próbki do nośnika próbek i upewnić się, że zdjęto zatyczki i wyjęto wymazówki ze wszystkich próbek.
6. Umieścić nośniki próbek w szufladzie podajnika automatycznego, a następnie załadować je do systemu NeuMoDx System, korzystając z ekranu dotykowego. Spowoduje to rozpoczęcie analizy załadowanych próbek w celu wykonania określonych testów, pod warunkiem że w systemie dostępne jest ważne zlecenie testu.

## OGRANICZENIA

1. Pasek testowy NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip może być używany wyłącznie w systemach NeuMoDx System.
2. Skuteczność pasków testowych NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip ustalono dla próbek wymazów z nosogardzieli pobranych przez pracownika opieki zdrowotnej do podłoża transportowego. Nie przeprowadzono oceny działania pasków testowych NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip z próbkami innego typu oraz innymi podłożami do pobierania próbek, dlatego nie są znane parametry skuteczności dla innych typów próbek i innych podłoży.
3. Z uwagi na to, że detekcja docelowych cząstek wirusowych zależy na ogół od ilości cząstek wirusowych obecnych w próbce, wiarygodność wyników jest uzależniona od prawidłowego pobrania próbki, postępowania z próbką i przechowywania próbki.
4. Nieprawidłowe pobranie próbki, postępowanie z próbką lub przechowywanie próbki, błąd techniczny albo pomylenie próbek może spowodować otrzymanie błędnych wyników. Jeśli ilość cząstek wirusowych w próbce jest niższa niż granica wykrywalności oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, może dojść do wygenerowania fałszywie negatywnych wyników.
5. System NeuMoDx System może być obsługiwany wyłącznie przez personel przeszkolony z obsługi systemu NeuMoDx System.
6. Jeśli sekwencje docelowe wirusa grypy A, wirusa grypy B, wirusa RSV, wirusa SARS-CoV-2 oraz sekwencja docelowa kontroli SPC2 nie zostaną zamplifikowane, zostanie zgłoszony wynik nieważny (Indeterminate (Nieokreślony) lub Unresolved (Nierozstrzygnięty)) i konieczne będzie powtórzenie testu.
7. Jeśli przed zakończeniem analizy próbek w systemie wystąpi błąd, zostanie zgłoszony wynik „No Result” (Brak wyniku) i konieczne będzie powtórzenie testu.
8. Wynik pozytywny nie musi oznaczać obecności żywego wirusa grypy A, wirusa grypy B, wirusa SARS-CoV-2 i/lub wirusa RSV. Wynik pozytywny wskazuje jednak, że w próbce przypuszczalnie obecny jest RNA wirusa grypy A, wirusa grypy B, wirusa SARS-CoV-2 i/lub wirusa RSV.
9. Delecje lub mutacje w regionach konserwatywnych, na które ukierunkowane jest oznaczenie NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, mogą zakłócić detekcję i doprowadzić do uzyskania błędnego wyniku.
10. Wyniki otrzymane przy użyciu oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay należy traktować jako dane uzupełniające obserwacje kliniczne oraz inne informacje, do których ma dostęp lekarz.
11. Aby uniknąć zanieczyszczenia, należy przestrzegać zasad dobrej praktyki laboratoryjnej, w tym zmieniać rękawiczki między próbkami pacjentów.

## WYNIKI

Dostępne wyniki można przeglądać i drukować z karty „Results” (Wyniki) w oknie Results (Wyniki) na ekranie dotykowym systemu NeuMoDx System. Oprogramowanie systemu NeuMoDx System automatycznie generuje wyniki oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, korzystając z algorytmu decyzyjnego oraz parametrów analizy wyników określonych w pliku definicji oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay Definition File (plik FluA-B-RSV-CoV-2 ADF w wersji 4.0.0 lub wyższej). Oprogramowanie może zgłosić następujące wyniki oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay: Negative (Negatywny), Positive (Pozytywny), Indeterminate (Nieokreślony), No Result (Brak wyniku) lub Unresolved (Nierozstrzygnięty); są one ustalane na podstawie statusu amplifikacji sekwencji docelowych i sekwencji kontroli SPC2. Wyniki są zgłaszane na podstawie algorytmu decyzyjnego analizy wyników ADF, który omówiono poniżej w Tabeli 2.

**Tabela 2.** Interpretacja wyników oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay

OGÓŁEM WYNIK	TARGET 1 (Patogen docelowy 1) (wirus grypy A)  FAM	TARGET 2 (Patogen docelowy 2) (wirus grypy B)  HEX	TARGET 3 (Patogen docelowy 3) (SARS-CoV-2)  TX RED	TARGET 4 (Patogen docelowy 4) (RSV)  Far Red	PROCESS CONTROL (Kontrola przetwarzania, SPC2)  Red	INTERPRETACJA
<b>POSITIVE (Pozytywny) (wykryto docelowy RNA)</b>	<b>AMPLIFIED (Amplifikacja)</b>  (5 ≤ Ct < 25 AND (ORAZ) EPR > 2,0 AND (ORAZ) EP ≥ 750) <b>OR (LUB)</b> (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (ORAZ) EP ≥ 750)	Nd.	Nd.	Nd.	Nd.	Wykryto RNA wirusa grypy A
	Nd.	<b>AMPLIFIED (Amplifikacja)</b>  (5 ≤ Ct < 28 AND (ORAZ) EPR > 1,5 AND (ORAZ) EP ≥ 600) <b>OR (LUB)</b> (28 ≤ Ct ≤ 37 AND (ORAZ) EP ≥ 600)	Nd.	Nd.	Nd.	Wykryto RNA wirusa grypy B
	Nd.	Nd.	<b>AMPLIFIED (Amplifikacja)</b>  (5 ≤ Ct < 25 AND (ORAZ) EPR > 1,5 AND (ORAZ) EP ≥ 1200) <b>OR (LUB)</b> (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (ORAZ) EP ≥ 1200)	Nd.	Nd.	Wykryto RNA wirusa SARS-CoV-2
	Nd.	Nd.	Nd.	<b>AMPLIFIED (Amplifikacja)</b>  (5 ≤ Ct < 30 AND (ORAZ) EPR > 1,15 AND (ORAZ) EP ≥ 1200) <b>OR (LUB)</b> (30 ≤ Ct ≤ 37 AND (ORAZ) EP ≥ 1200)	Nd.	Wykryto RNA wirusa RSV

OGÓŁEM WYNIK	TARGET 1 (Patogen docelowy 1) (wirus grypy A) FAM	TARGET 2 (Patogen docelowy 2) (wirus grypy B) HEX	TARGET 3 (Patogen docelowy 3) (SARS-CoV-2) TX RED	TARGET 4 (Patogen docelowy 4) (RSV) Far Red	PROCESS CONTROL (Kontrola przetwarzania, SPC2) Red	INTERPRETACJA
<b>NEGATIVE</b> (Negatywny) (nie wykryto docelowego RNA)	<b>NOT AMPLIFIED</b> (Brak amplifikacji)  Nd. <b>OR (LUB)</b> (5 ≤ Ct < 25 AND (ORAZ) EPR ≤ 2,0) <b>OR (LUB)</b> (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (ORAZ) EP < 750) <b>OR (LUB)</b> (Ct > 37)	<b>NOT AMPLIFIED</b> (Brak amplifikacji)  Nd. <b>OR (LUB)</b> (5 ≤ Ct < 28 AND (ORAZ) EPR ≤ 1,5) <b>OR (LUB)</b> (28 ≤ Ct ≤ 37 AND (ORAZ) EP < 600) <b>OR (LUB)</b> (Ct > 37)	<b>NOT AMPLIFIED</b> (Brak amplifikacji)  Nd. <b>OR (LUB)</b> (5 ≤ Ct < 25 AND (ORAZ) EPR ≤ 1,5) <b>OR (LUB)</b> (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (ORAZ) EP < 1200) <b>OR (LUB)</b> (Ct > 37)	<b>NOT AMPLIFIED</b> (Brak amplifikacji)  Nd. <b>OR (LUB)</b> (5 ≤ Ct < 30 AND (ORAZ) EPR ≤ 1,15) <b>OR (LUB)</b> (30 ≤ Ct ≤ 37 AND (ORAZ) EP < 1200) <b>OR (LUB)</b> (Ct > 37)	<b>AMPLIFIED</b> (Amplifikacja)  (24 ≤ Ct ≤ 31 AND (ORAZ) EP ≥ 1800)	Nie wykryto RNA wirusa grypy A, grypy B, RSV i SARS-CoV-2
<b>NR*</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Brak amplifikacji, wykryto błąd systemu, przerwano przetwarzanie próbki)					Analiza próbki została przerwana; ponownie przetestować próbkę
<b>IND*</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Brak amplifikacji, wykryto błąd systemu, ukończono przetwarzanie próbki)					Wszystkie wyniki dla sekwencji docelowych były nieważne; ponownie przetestować próbkę
<b>UNR*</b>	Not Amplified, No System Error Detected (Brak amplifikacji, nie wykryto błędu systemu)					Wszystkie wyniki dla sekwencji docelowych były nieważne; ponownie przetestować próbkę

\* W przypadku zgłoszenia nieważnego wyniku w systemie dostępna jest opcja Rerun/Repeat (Ponów test/powtórz), umożliwiająca automatyczne ponowne przeanalizowanie próbki z tym wynikiem w celu zminimalizowania opóźnień w raportowaniu wyników.

#### Wyniki nieważne

Jeśli w oznaczeniu NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay wykonywanym w systemie NeuMoDx System nie zostanie uzyskany ważny wynik, wynik ten zostanie zgłoszony jako Indeterminate (Nieokreślony), No Result (Brak wyniku) lub Unresolved (Nierozstrzygnięty), odpowiednio do typu napotkanego błędu. W celu uzyskania ważnego wyniku konieczne będzie powtórzenie testu.

Wynik Indeterminate (Nieokreślony) zostanie zgłoszony, jeśli podczas analizy próbki zostanie wykryty błąd systemu NeuMoDx System. W przypadku zgłoszenia wyniku Indeterminate (Nieokreślony) zalecane jest powtórzenie testu.

Wynik No Result (Brak wyniku) zostanie zgłoszony, jeśli zostanie wykryty błąd systemu NeuMoDx System, a analiza próbki zostanie przerwana. W przypadku zgłoszenia wyniku No Result (Brak wyniku) zalecane jest powtórzenie testu.

Wynik Unresolved (Nierozstrzygnięty) zostanie zgłoszony, jeśli nie zostanie wykryta żadna sekwencja docelowa i nie dojdzie do amplifikacji kontroli przetwarzania próbki, co wskazuje na prawdopodobne nieprawidłowe działanie odczynników lub obecność inhibitorów. W przypadku zgłoszenia wyniku Unresolved (Nierozstrzygnięty) jako pierwszy krok zalecane jest powtórzenie testu. W przypadku niepowodzenia powtórzenia testu można użyć rozcieńczonej próbki w celu złagodzenia wpływu potencjalnych inhibitorów.

Lista kodów błędów, które mogą być powiązane ze zgłaszanymi wynikami Invalid Results (Wyniki nieważne), znajduje się w podręczniku użytkownika systemu NeuMoDx 288 Molecular System (nr części: 40600108) lub podręczniku użytkownika systemu NeuMoDx 96 Molecular System (nr części: 40600317).

System NeuMoDx System wyposażono w automatyczną funkcję Rerun/Repeat (Ponów test/powtórz), którą użytkownik końcowy może wybrać, aby zapewnić automatyczną ponowną analizę próbek z wynikami INVALID (Nieważny) w celu zminimalizowania opóźnień w raportowaniu wyników.

#### Kontrola jakości

Lokalne przepisy zazwyczaj określają, że laboratorium jest odpowiedzialne za realizowanie procedur kontrolnych przeznaczonych do monitorowania dokładności i precyzji całego procesu analitycznego oraz ustalenie liczby, rodzaju i częstotliwości badań materiałów kontrolnych na podstawie zweryfikowanych specyfikacji dotyczących skuteczności dla niezmodyfikowanego, zatwierzonego systemu do wykonywania testów.



**Kontrole zewnętrzne**

- 1) Wymagane jest, aby raz na 24 godziny i przed przystąpieniem do analizy próbek pacjentów analizować jeden zestaw kontroli NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control (NR REF. 901200). Jeśli nie jest dostępny zestaw ważnych wyników kontroli zewnętrznych, system NeuMoDx System wyświetli monit o przeanalizowanie kontroli, zanim będzie możliwe zgłaszanie wyników dla próbek.
- 2) Jeśli wymagane są kontrole zewnętrzne, należy przeanalizować kontrole (1 kontrola pozytywna i 1 kontrola negatywna):

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	Kolor etykiety
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control(s)	Czerwony
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Negative Control(s)	Czarny

- 3) W przypadku analizowania kontroli zewnętrznych należy umieścić kontrole w nośniku probówek w szufladzie podajnika automatycznego, a następnie załadować nośnik do systemu NeuMoDx System, korzystając z ekranu dotykowego. System NeuMoDx System rozpozna kody kreskowe i rozpocznie analizę kontroli, o ile dostępne będą odczynniki i materiały eksploatacyjne niezbędne do wykonania testów.
- 4) System NeuMoDx System ocenia ważność kontroli zewnętrznych na podstawie oczekiwanych wyników.

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	Wynik oznaczenia wirusa grypy A/grypy B/RSV/SARS-CoV-2	Wynik dla kontroli SPC2
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control(s)	FluA, FluB, RSV, SARS-CoV-2 RNA Detected (Wykryto RNA wirusa grypy A, wirusa grypy B, wirusa RSV, wirusa SARS-CoV-2)	Nd.
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Negative Control(s)	FluA, FluB, RSV, SARS-CoV-2 RNA Not Detected (Nie wykryto RNA wirusa grypy A, wirusa grypy B, wirusa RSV, wirusa SARS-CoV-2)	SPC2 Positive (Wynik pozytywny względem kontroli SPC2)

- 5) W przypadku uzyskania rozbieżnych wyników dla kontroli zewnętrznych należy postępować w następujący sposób:
  - a) Wynik Positive (Pozytywny) zgłoszony dla negatywnej próbki kontrolnej może wskazywać na problem związany z zanieczyszczeniem. W takim przypadku konieczne jest przeanalizowanie laboratoryjnych procedur kontroli jakości w celu zidentyfikowania pierwotnej przyczyny problemu. Należy wyznaczyć odrębne obszary przeznaczone na przygotowywanie próbek, czynności związane z kontrolami oraz przygotowywanie reakcji RT-PCR. Dodatkowe wskazówki dotyczące rozwiązywania problemów przedstawiono w *podręcznikach użytkownika systemów NeuMoDx 288 Molecular System i NeuMoDx 96 Molecular System*.
  - b) Wynik Negative (Negatywny) zgłoszony dla pozytywnej próbki kontrolnej może wskazywać na problem związany z odczynnikiem lub systemem NeuMoDx System. Wskazówki dotyczące rozwiązywania problemów przedstawiono w *podręcznikach użytkownika systemów NeuMoDx 288 Molecular System i NeuMoDx 96 Molecular System*.
  - c) W każdym z powyższych przypadków lub w przypadku otrzymania wyniku No Result (Brak wyniku, NR), Unresolved (Nierozstrzygnięty, UNR) lub Indeterminate (Nieokreślony, IND) należy ponownie przeanalizować kontrole, dla których uzyskano nieprawidłowe wyniki, używając świeżo rozmrożonych fiolek z kontrolami, które nie przeszły testu ważności.
  - d) Jeśli dla kontroli pozytywnej nadal zgłaszany jest wynik Negative (Negatywny), należy skontaktować się z działem wsparcia technicznego firmy QIAGEN.
  - e) Jeśli dla negatywnej kontroli nadal zgłaszany jest wynik Positive (Pozytywny), należy przed kontaktem z działem wsparcia technicznego firmy QIAGEN spróbować wyeliminować wszystkie źródła potencjalnego zanieczyszczenia, w tym wymienić wszystkie odczynniki, i powtórzyć analizę.
  - f) W razie nieuzyskania oczekiwanych wyników dla kontroli zewnętrznych wymagane jest powtórne przeanalizowanie zestawu kontroli pozytywnych i negatywnych. Jeśli dla kontroli nie uda się uzyskać oczekiwanych wyników, wyniki pacjentów nie zostaną zgłoszone przez system.

**Kontrole przetwarzania próbki (kontrole wewnętrzne)**

Egzogenna kontrola przetwarzania próbki (Sample Process Control, SPC2), zawarta na płytce NeuMoDx Extraction Plate, przechodzi cały proces izolacji kwasów nukleinowych i ich amplifikacji w reakcji RT-PCR w czasie rzeczywistym z każdą próbką. Startery i sondy swoiste dla kontroli SPC2 są również zawarte w każdym dołku paska testowego NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip, co umożliwia detekcję kontroli SPC2 wraz z docelowym RNA wirusa (jeśli jest obecny) w multiplexowej reakcji PCR. Detekcja amplifikacji kontroli SPC2 umożliwia monitorowanie wydajności procesów izolacji RNA i amplifikacji w reakcji RT-PCR przez oprogramowanie systemu NeuMoDx System.

Przed rozpoczęciem reakcji RT-PCR system NeuMoDx System automatycznie przeprowadza kontrolę „FILL CHECK” (Kontrola napełnienia), aby upewnić się, że komora do reakcji PCR została napełniona roztworem i zawiera odpowiednią ilość sond fluorescencyjnych.

Oprogramowanie systemu NeuMoDx System w sposób ciągły monitoruje pracę sensorów i elementów wykonawczych, aby zapewnić bezpieczną i skuteczną pracę systemu.

W systemie wdrożono wiele trybów przywracania prawidłowego stanu po błędzie związanym z płynami poprzez aktywne monitorowanie zasysania i dozowania płynów. Dzięki temu system może ukończyć analizę wszystkich próbek w bezpieczny i skuteczny sposób lub wygenerować odpowiedni kod błędu.

**PARAMETRY SKUTECZNOŚCI**

**Czułość analityczna**

Czułość analityczną oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay w systemach NeuMoDx Molecular System zbadano w dwóch etapach. Granica wykrywalności (Limit of Detection, LoD) została określona przy użyciu pul próbek pozbawionych danych identyfikacyjnych z pozostałości klinicznych negatywnych próbek wymazów z nosogardzieli pobranych do macierzy UVT oraz szczepów modelowych odpowiadających każdemu patogenowi docelowemu. Szczepy modelowe używane dla każdego patogenu docelowego wyszczególniono w Tabeli 3. W pierwszym etapie w procedurze bezpośredniej oraz procedurze z obróbką wstępną przygotowano serie rozcieńczeń, używając modelowych szczepów każdego patogenu docelowego w podłożu UVT, a następnie otrzymane próbki poddano analizie w systemie NeuMoDx System w celu określenia wartości wstępnej granicy wykrywalności (Limit of Detection, LoD). W drugim etapie testów wartości wstępnej granicy LoD zostały potwierdzone dla obu procedur przy użyciu badania określającego odsetek udanych odczytów w systemach NeuMoDx 288 Molecular System i NeuMoDx 96 Molecular System. Wstępna granica LoD była przyjmowana, jeśli w badaniu określającym odsetek udanych odczytów odsetek wyników pozytywnych dla obu procedur wykonywanych w obu systemach wyniósł 95%. Poziomy detekcji określone w celu wyznaczenia wstępnej granicy LoD przedstawiono w Tabeli 4. Tabela 5 zawiera opis danych uzyskanych w badaniu potwierdzającym wstępną granicę LoD poprzez określenie odsetka udanych odczytów w systemie N288, a Tabela 6 zawiera opis danych uzyskanych w badaniu potwierdzającym wstępną granicę LoD poprzez określenie odsetka udanych odczytów w systemie N96. Ostateczne potwierdzone wartości granicy LoD w Tabeli 4 zostały zaznaczone **pogrubioną** czcionką.

**Tabela 3.** Szczepy używane dla poszczególnych patogenów docelowych

<b>Patogen docelowy/szczep</b>	<b>Źródło</b>	<b>Nr kat.</b>	<b>Nr serii</b>	<b>Rodzaj materiału</b>
Wirus grypy A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1688	70031602	Supernatant sklarowany znad zakażonych komórek
Wirus grypy A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1690	70032253	Supernatant sklarowany znad zakażonych komórek
Wirus grypy A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	Virapur	Nd.	B1904J	Żywy nieprzetworzony wirus
Wirus grypy A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	Virapur	Nd.	C2030D	Żywy nieprzetworzony wirus
Wirus grypy B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	IRR	FR-1619	70015942	Supernatant sklarowany znad zakażonych komórek
Wirus grypy B, Colorado/6/2017 (Victoria)	IRR	FR-1592	70013310	Supernatant sklarowany znad zakażonych komórek
Wirus grypy B, Florida/78/2015 (Victoria)	ATCC	VR-1931	70020870	Sklarowany płyn z hodowli oraz lizat komórkowy
Wirus grypy B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	Virapur	Nd.	B1904N	Żywy nieprzetworzony wirus
Wirus RSV A2	ATCC	VR-1540	60430286	Płyn z hodowli oraz lizat komórkowy
Wirus RSV B (WV/14617/85)	ATCC	VR-1400	70013461	Płyn z hodowli oraz lizat komórkowy
Wirus SARS-CoV-2, 1. międzynarodowy wzorzec WHO	NIBSC	20/146	Nd.	Liofilizowany wirus inaktywowany termicznie oraz kwasowo
Wirus SARS-CoV-2, izolat USA-WA1/2020	BEI	NR-52285	70037779	Wirus inaktywowany termicznie

**Tabela 4.** Poziomy detekcji wyników pozytywnych określone w celu wyznaczenia granicy LoD oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay — (a) procedura z obróbką wstępną; (b) procedura bezpośrednia

**(a) Procedura z obróbką wstępną**

Patogen docelowy/szczep	Stężenie	Jednostka	L. ważnych wyników (n/N)	L. wyników pozytywnych	% poz	Śr. war. Ct	SD Ct
Wirus grypy 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
Wirus grypy 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
Wirus grypy 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
Wirus grypy 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
Wirus grypy 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
Wirus grypy B, 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
Wirus grypy 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
Wirus grypy 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
Wirus 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
Wirus 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
Wirus SARS-CoV-2, 1. międzynarodowy wzorzec WHO	50	IU/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
Wirus SARS-CoV-2, izolat USA-WA1/2020	50	kopii/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) Procedura bezpośrednia

Patogen docelowy/szczep	Stężenie	Jednostka	L. ważnych wyników (n/N)	L. wyników pozytywnych	% poz	Śr. war. Ct	SD Ct
Wirus grypy 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
Wirus grypy 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
Wirus grypy 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
Wirus grypy 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
Wirus grypy 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
Wirus grypy B, 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
Wirus grypy 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
Wirus grypy 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
Wirus 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
Wirus 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
Wirus SARS-CoV-2, 1. międzynarodowy wzorzec WHO	50	IU/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
Wirus SARS-CoV-2, izolat USA-WA1/2020	66,7	kopii/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

**Tabela 5.** Poziomy detekcji wyników pozytywnych określone w celu potwierdzenia granicy LoD oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay — system N288; (a) procedura z obróbką wstępną; (b) procedura bezpośrednia

**(a) Procedura z obróbką wstępną**

Patogen docelowy/szczep	Stężenie	Jednostka	L. ważnych wyników (n/N)	L. wyników pozytywnych	% Detekcji	Śr. war. Ct	SD Ct
Wirus grypy A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	33,89	0,57
Wirus grypy A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	29	96,7%	33,81	0,44
Wirus grypy A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	33,17	0,47
Wirus grypy A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	29	96,7%	33,77	0,52
Wirus grypy B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID <sub>50</sub> /ml	29/30	29	100%	32,32	1,09
Wirus grypy B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	29	96,7%	34,50	0,68
Wirus grypy B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	33,83	0,44
Wirus grypy B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	1	TCID <sub>50</sub> /ml	29/30	29	100%	33,04	0,69
Wirus RSV A2	0,5	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	29	96,7%	32,17	1,23
Wirus RSV B (WV/14617/85)	0,05	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	32,39	0,41
Wirus SARS-CoV-2, 1. międzynarodowy wzorzec WHO	150	IU/ml	30/30	30	100%	33,63	0,61
Wirus SARS-CoV-2, izolat USA-WA1/2020	150	kopii/ml	29/30	28	96,6%	33,59	1,01

**(b) Procedura bezpośrednia**

Patogen docelowy/szczep	Stężenie	Jednostka	L. ważnych wyników (n/N)	L. wyników pozytywnych	% Detekcji	Śr. war. Ct	SD Ct
Wirus grypy A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	33,92	0,69
Wirus grypy A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	33,75	0,57
Wirus grypy A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	32,96	0,48
Wirus grypy A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	33,67	0,48
Wirus grypy B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID <sub>50</sub> /ml	29/30	28	96,6%	31,74	1,19
Wirus grypy B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,0033	TCID <sub>50</sub> /ml	10/10	8	80%	34,88	0,95
	0,01	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	34,22	0,51
Wirus grypy B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	33,55	0,38
Wirus grypy B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	0,75	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	33,33	0,74
Wirus RSV A2	1,25	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	29	96,7%	31,87	0,95
Wirus RSV B (WV/14617/85)	0,05	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	29	96,7%	32,46	0,72
Wirus SARS-CoV-2, 1. międzynarodowy wzorzec WHO	150	IU/ml	30/30	29	96,7%	33,78	0,77
Wirus SARS-CoV-2, izolat USA-WA1/2020	200	kopii/ml	30/30	30	100%	34,18	0,83

**Tabela 6.** Poziomy detekcji wyników pozytywnych wyznaczone w badaniu określającym odsetek udanych odczytów potwierdzającym granicę LoD oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay — system N96; (a) procedura z obróbką wstępną; (b) procedura bezpośrednia

**(a) Procedura z obróbką wstępną**

Patogen docelowy/szczep	Stężenie	Jednostka	L. ważnych wyników (n/N)	L. wyników pozytywnych	% Detekcji	Śr. war. Ct	SD Ct
Wirus grypy A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	33,05	0,81
Wirus grypy A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	29	96,7%	33,53	0,75
Wirus grypy A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	29	96,7%	32,33	1,11
Wirus grypy A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	32,98	0,96
Wirus grypy B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	29	96,7%	32,75	0,69
Wirus grypy B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,0033	TCID <sub>50</sub> /ml	10/10	4	40%	34,75	0,58
	0,01	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	33,91	0,75
Wirus grypy B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	29	96,7%	33,25	0,97
Wirus grypy B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	1	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	29	96,7%	33,21	0,96
Wirus RSV A2	0,5	TCID <sub>50</sub> /ml	29/30	28	96,6%	32,39	1,10
Wirus RSV B (WV/14617/85)	0,05	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	32,06	0,76
Wirus SARS-CoV-2, 1. międzynarodowy wzorzec WHO	150	IU/ml	30/30	29	96,7%	33,79	0,67
Wirus SARS-CoV-2, izolat USA-WA1/2020	150	kopii/ml	30/30	29	96,7%	33,59	1,05

**(b) Procedura bezpośrednia**

Patogen docelowy/szczep	Stężenie	Jednostka	L. ważnych wyników (n/N)	L. wyników pozytywnych	% Detekcji	Śr. war. Ct	SD Ct
Wirus grypy A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	<b>0,06</b>	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	33,42	0,54
Wirus grypy A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	33,35	1,10
Wirus grypy A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	32,17	1,24
Wirus grypy A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	33,22	0,50
Wirus grypy B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	<b>0,03</b>	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	32,78	0,56
Wirus grypy B, Colorado/6/2017 (Victoria)	<b>0,01</b>	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	34,21	0,50
Wirus grypy B, Florida/78/2015 (Victoria)	<b>0,25</b>	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	33,41	0,65
Wirus grypy B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	<b>0,75</b>	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	29	96,7%	33,36	1,04
Wirus RSV A2	<b>1,25</b>	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	29	96,7%	32,29	0,99
Wirus RSV B (WV/14617/85)	<b>0,05</b>	TCID <sub>50</sub> /ml	30/30	30	100%	32,17	0,75
Wirus SARS-CoV-2, 1. międzynarodowy wzorec WHO	<b>150</b>	IU/ml	30/30	29	96,7%	33,50	0,78
Wirus SARS-CoV-2, izolat USA-WA1/2020	<b>200</b>	kopii/ml	29/30	29	100%	34,45	0,39

Poziomy uznane za wartości LoD dla oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay wykonywanego w systemach NeuMoDx System podsumowano w Tabeli 7.

**Tabela 7. Podsumowanie badania granicy wykrywalności**

Cząsteczka docelowa	Szczep	Granica wykrywalności		
		Procedura z obróbką wstępną	Procedura bezpośrednia	Jednostka
Wirus grypy 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	
Wirus grypy A — H3N2	Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	0,5	
	Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	0,5	
Wirus grypy B — linia Victoria	Hong Kong/286/2017	0,03	0,03	
	Colorado/6/2017	0,01	0,01	
	Florida/78/2015	0,25	0,25	
Wirus grypy B — linia Yamagata	Phuket/3073/2013	1	0,75	
Wirus RSV A	A2	0,5	1,25	
Wirus RSV B	(WV/14617/85)	0,05	0,05	
Wirus SARS-CoV-2	1. międzynarodowy wzorec WHO	150	150	IU/ml
	Izolat USA-WA1/2020	150	200	kopii/ml

**Zakłócenia wywołane kompetycją między sekwencjami patogenów docelowych: wirus grypy A, wirus grypy B, wirus RSV i wirus SARS-CoV-2**  
Zakłócenia detekcji przy użyciu oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay wywołane kompetycją między sekwencjami patogenów docelowych oceniono z użyciem paneli docelowych cząstek wirusowych dodanych do negatywnych, klinicznych próbek wymazów z nosogardzieli zebranych do podłoża UVT. Dziesięć paneli zawierało po jednym lub po dwa patogeny docelowe w stężeniu zbliżonym do granicy detekcji (3–10X LoD) oraz jeden patogen docelowy w stężeniu  $\geq 1E5$  kopii/ml, reprezentujący wirusa koinfekcyjnego. Jedenasty panel zawierał każdy z czterech patogenów docelowych w stężeniu 2X LoD. Wyniki uzyskane dla próbek zawierających od dwóch do trzech wirusów w różnych stężeniach oraz dotyczące wpływu obecności od dwóch do trzech wirusów w jednej próbce na czułość analityczną przedstawiono w Tabeli 8.

W przypadku próbek, dla których uzyskano pozytywny wynik pod kątem wirusa SARS-CoV-2, wyniki negatywne pod kątem wirusa grypy A i wirusa RSV A należy uznać za przypuszczalnie pozytywne. W przypadku próbek, dla których uzyskano pozytywny wynik pod kątem wirusa grypy A, wyniki negatywne pod kątem wirusa RSV należy uznać za przypuszczalnie pozytywne. Wyniki badań pod kątem zakłóceń wywołanych kompetycją między sekwencjami patogenów docelowych wskazują, że obecność wirusa SARS-CoV-2 w stężeniu co najmniej 1E5 kopii/ml może prowadzić do inhibicji detekcji i amplifikacji RNA wirusa grypy A i wirusa RSV A, jeśli stężenia tych wirusów nie przekraczają odpowiednio 1,5 TCID<sub>50</sub>/ml lub 6,25 TCID<sub>50</sub>/ml; może to spowodować uzyskanie fałszywie negatywnych wyników dla tych wirusów. Obecność wirusa grypy A w stężeniu co najmniej 1E5 kopii/ml może prowadzić do inhibicji detekcji i amplifikacji RNA wirusa RSV A, jeśli stężenie tego wirusa nie przekracza 3,75 TCID<sub>50</sub>/ml; może to spowodować uzyskanie fałszywie negatywnego wyniku dla wirusa RSV. W przypadku podejrzenia koinfekcji wirusem grypy A lub wirusem RSV w próbkach, dla których uzyskano pozytywny wynik pod kątem wirusa SARS-CoV-2, lub w przypadku podejrzenia koinfekcji wirusem RSV w próbkach, dla których uzyskano pozytywny wynik pod kątem wirusa grypy A, próbki należy ponownie przetestować z użyciem innego testu pod kątem wirusa grypy lub wirusa RSV zatwierzonego lub dopuszczonego do obrotu przez agencję FDA lub testu, dla którego agencja FDA wydała pozwolenie na stosowanie, jeśli wykrycie wirusa grypy lub wirusa RSV wiązałoby się ze zmianą postępowania klinicznego.



**Tabela 8.** Podsumowanie badania pod kątem zakłóceń wywołanych kompetycją między sekwencjami patogenów docelowych

Panel	Cząsteczka docelowa	Stężenie w panelu	Stęż. cząstek docelowych	L. ważnych wyników	L. wyników pozytywnych	% Detekcji
1	Wirus grypy A	3X	1,5 TCID <sub>50</sub> /ml	24	24	100%
	Wirus RSV A	3X	3,75 TCID <sub>50</sub> /ml	24	23	96%
	Wirus grypy B	Wysokie	1E5 kopii/ml	24	24	100%
2 (analiza 1)	Wirus grypy A	3X	1,5 TCID <sub>50</sub> /ml	24	19	79%
	Wirus RSV A	3X	3,75 TCID <sub>50</sub> /ml	24	8	33%
	Wirus SARS-CoV-2	Wysokie	1E5 kopii/ml	24	24	100%
2 (analiza 2)	Wirus grypy A	5X	2,5 TCID <sub>50</sub> /ml	24	24	100%
	Wirus RSV A	5X	6,25 TCID <sub>50</sub> /ml	24	16	67%
	Wirus SARS-CoV-2	Wysokie	1E5 kopii/ml	24	24	100%
2 (analiza 3)	Wirus grypy A	5X	2,5 TCID <sub>50</sub> /ml	24	24	100%
	Wirus RSV A	10X	12,5 TCID <sub>50</sub> /ml	24	24	100%
	Wirus SARS-CoV-2	Wysokie	1E5 kopii/ml	24	24	100%
3	Wirus grypy A	3X	1,5 TCID <sub>50</sub> /ml	24	24	100%
	Wirus SARS-CoV-2	3X	450 IU/ml	24	24	100%
	Wirus RSV B	Wysokie	1E5 kopii/ml	24	24	100%
4	Wirus grypy B	3X	0,75 TCID <sub>50</sub> /ml	24	24	100%
	Wirus RSV B	3X	0,15 TCID <sub>50</sub> /ml	24	24	100%
	Wirus grypy A	Wysokie	1E5 kopii/ml	24	24	100%
5	Wirus grypy B	3X	0,75 TCID <sub>50</sub> /ml	24	24	100%
	Wirus RSV B	3X	0,15 TCID <sub>50</sub> /ml	24	24	100%
	Wirus SARS-CoV-2	Wysokie	1E5 kopii/ml	24	24	100%
6	Wirus grypy B	3X	0,75 TCID <sub>50</sub> /ml	24	24	100%
	Wirus RSV B	Wysokie	1E5 kopii/ml	24	24	100%
7	Wirus SARS-CoV-2	3X	450 IU/ml	24	24	100%
	Wirus grypy A	Wysokie	1E5 kopii/ml	24	24	100%
8	Wirus SARS-CoV-2	3X	450 IU/ml	24	24	100%
	Wirus grypy B	Wysokie	1E5 kopii/ml	24	24	100%
9 (analiza 1)	Wirus RSV A	3X	3,75 TCID <sub>50</sub> /ml	24	20	83%
	Wirus grypy A	Wysokie	1E5 kopii/ml	24	24	100%
9 (analiza 2)	Wirus RSV A	5X	6,25 TCID <sub>50</sub> /ml	24	23	96%
	Wirus grypy A	Wysokie	1E5 kopii/ml	24	24	100%
10	Wirus RSV B	3X	0,15 TCID <sub>50</sub> /ml	24	23	96%
	Wirus grypy B	Wysokie	1E5 kopii/ml	24	24	100%
11	Wirus grypy A	2X	1 TCID <sub>50</sub> /ml	24	24	100%
	Wirus grypy B	2X	0,5 TCID <sub>50</sub> /ml	24	24	100%
	Wirus RSV B	2X	0,1 TCID <sub>50</sub> /ml	24	24	100%
	Wirus SARS-CoV-2	2X	300 IU/ml	24	24	100%

**Reaktywność analityczna i zdolność do wykrywania różnych szczepów wirusów**

Oceniono reaktywność analityczną oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay względem wielu szczepów/izolatów wirusa grypy A, wirusa grypy B, wirusa RSV i wirusa SARS-CoV-2. Reaktywność względem każdego szczepu/izolatu została określona w dwóch etapach. Wstępną ocenę poziomów reaktywności dla każdego patogenu docelowego przeprowadzono z użyciem każdego szczepu patogenu docelowego testowanego w 3 stężeniach w przygotowanej sztucznie macierzy wymazów z nosogardzieli (3000 ludzkich komórek nabłonkowych na ml podłoża UVT); *Tabela 9.* W ramach drugiego etapu oceny najniższy poziom, dla którego w ramach pierwszego etapu oceny uzyskano poziom detekcji wyników pozytywnych równy 100%, potwierdzano jako poziom reaktywności, wykonując testy na co najmniej 20 powtórzeniach (*Tabela 10*). Łącznie przetestowano 14 szczepów wirusa grypy A, 6 szczepów wirusa grypy B, 1 izolat wirusa RSV A, 1 izolat wirusa RSV B i 6 izolatów wirusa SARS-CoV-2.

**Tabela 9. Szczepy wirusów grypy A, grypy B, RSV A, RSV B i SARS-CoV-2 – wstępna analiza poziomu reaktywności**

Wstępna analiza						
Cząsteczka docelowa	Szczep		Badane stężenia	L. ważnych wyników	% poz	
Wirus grypy 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/Duck/Pennsylvania/10218/84 (H5N2)	8 pg/ml <sup>1</sup>	8	100%	
			25 pg/ml <sup>1</sup>	8	100%	
	H7N9	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	75 pg/ml <sup>1</sup>	7	100%	
			1:3E5 <sup>1</sup>	8	50%	
1:1E5 <sup>1</sup>			7	87,5%		
H10N7	A/Chick/Germany/N/49 (H10N7)	1:3.3E4 <sup>1</sup>	8	100%		
		22,67 pg/ml <sup>1</sup>	8	100%		
		68 pg/ml <sup>1</sup>	8	100%		
Wirus grypy B	Linia Victoria	Malaysia/2506/2004 (Victoria)	204 pg/ml <sup>1</sup>	8	100%	
			1 TCID <sub>50</sub> /ml	8	100%	
			3 TCID <sub>50</sub> /ml	8	100%	
		Washington/02/2019 (Victoria)	9 TCID <sub>50</sub> /ml	8	100%	
			2,5 CEID <sub>50</sub> /ml	8	25,0%	
			5 CEID <sub>50</sub> /ml	8	87,5%	
	B/Maryland/15/2016 (Victoria)	15 CEID <sub>50</sub> /ml	8	100%		
		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%		

Wstępna analiza						
Cząsteczka docelowa	Szczep		Badane stężenia	L. ważnych wyników	% poz	
Wirus grypy B (ciąg dalszy)	Linia 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 (linia 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	25,0%
		1 TCID <sub>50</sub> /ml		8	87,5%	
		3 TCID <sub>50</sub> /ml		8	100%	
Wirus RSV	RSVA	A (long)	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%	
Wirus SARS-CoV-2	USA/CA-Stanford-15_S02/2021 (Kappa, B.1.617.1)		0,06 TCID <sub>50</sub> /ml	8	0%	
			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%	
			USA/CA_CDC_5574/2020 (Alpha, B.1.1.7)	0,006 TCID <sub>50</sub> /ml	8	62,5%
				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%
			Japan/TY7-503/2021 (Gamma, Brazil P.1)	0,002 TCID <sub>50</sub> /ml	8	62,5%
				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%		
	USA/PHC658/2021 (Delta, B.1.617.2)	0,001 TCID <sub>50</sub> /ml	8	37,5%		
		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%		
	Italy-INMI1	0,33 TCID <sub>50</sub> /ml	4	100%		
		7,44 kopii/ml <sup>1</sup>	8	37,5%		
		22,33 kopii/ml <sup>1</sup>	8	87,5%		
		67 kopii/ml <sup>1</sup>	8	100%		
200 kopii/ml <sup>1</sup>		8	100%			
Izolat Hong Kong/VM20001061/2020	600 kopii/ml <sup>1</sup>	8	100%			
	7,44 kopii/ml <sup>1</sup>	8	25,0%			
	22,33 kopii/ml <sup>1</sup>	8	87,5%			
	67 kopii/ml <sup>1</sup>	7	100%			
	200 kopii/ml <sup>1</sup>	7	100%			
	600 kopii/ml <sup>1</sup>	7	100%			

<sup>1</sup>Te warianty dostarczono wyłącznie z oznaczeniem ilościowym „całkowitego RNA”, obejmującym wirusowy RNA i RNA komórek gospodarza.

**Tabela 10.** Szczepy wirusów grypy A, grypy B, RSV A, RSV B i SARS-CoV-2 — potwierdzenie poziomu reaktywności

Potwierdzenie						
Cząsteczka docelowa	Szczep		Stężenie	L. ważnych wyników	% poz	
Wirus grypy 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%		
		10 CEID <sub>50</sub> /ml	24	100%		
	H3N2	Switzerland/9715293/2013 (H3N2)	0,25 TCID <sub>50</sub> /ml	24	87,0%	
			0,5 TCID <sub>50</sub> /ml	24	100%	
		Hong Kong/4801/2014 (H3N2)	0,5 TCID <sub>50</sub> /ml	23	91,3%	
			1,0 TCID <sub>50</sub> /ml	23	95,7%	
		Kansas/14/2017 (H3N2)	12 TCID <sub>50</sub> /ml	23	100%	
		A/Wisconsin/04/2018 (H3N2)	5 CEID <sub>50</sub> /ml	23	91,3%	
	10 CEID <sub>50</sub> /ml		23	100%		
	A/California/02/2014 (H3N2)	0,01 TCID <sub>50</sub> /ml	24	91,7%		
0,03 TCID <sub>50</sub> /ml		24	100%			
H2N2	A2/Japan/305/57 (H2N2)	10,87 pg/ml <sup>1</sup>	24	100%		
H5N2	A/Duck/Pennsylvania/10218/84 (H5N2)	2 pg/ml <sup>1</sup>	24	83,3%		
		4 pg/ml <sup>1</sup>	23	100%		
		8 pg/ml <sup>1</sup>	23	100%		
H7N9	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	1:3.3E4 <sup>1</sup>	24	95,7%		
H10N7	A/Chick/Germany/N/49 (H10N7)	7,6 pg/ml <sup>1</sup>	23	73,9%		
		22,67 pg/ml <sup>1</sup>	23	100%		
Wirus grypy B	Linia 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%	
		B/Maryland/15/2016 (Victoria)	0,01 TCID <sub>50</sub> /ml	23	83,3%	
	Linia Yamagata	Wisconsin/1/2010 (Yamagata)	0,03 TCID <sub>50</sub> /ml	24	100%	
		Utah/09/2014 (linia Yamagata)	0,05 CEID <sub>50</sub> /ml	24	100%	
			0,56 TCID <sub>50</sub> /ml	24	87,0%	
		B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N) (Yamagata)	1,5 TCID <sub>50</sub> /ml	24	100%	
			0,75 TCID <sub>50</sub> /ml	24	87,5%	
3,0 TCID <sub>50</sub> /ml	24	100%				
Wirus 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%	
Wirus 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%		
		USA/CA_CDC_5574/2020 (Alpha, B.1.1.7)	0,02 TCID <sub>50</sub> /ml	24	95,8%	
		0,06 TCID <sub>50</sub> /ml	24	100%		
		Japan/TY7-503/2021 (Gamma, Brazil P.1)	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 kopii/ml <sup>1</sup>	24	95,8%		
		67 kopii/ml <sup>1</sup>	24	100%		
Izolot Hong Kong/VM20001061/2020	22 kopii/ml <sup>1</sup>	24	57,1%			
	67 kopii/ml <sup>1</sup>	24	100%			

<sup>1</sup>Te warianty dostarczono wyłącznie z oznaczeniem ilościowym „całkowitego RNA”, obejmującym wirusowy RNA i RNA komórek gospodarza.

Wykazano reaktywność oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay podczas detekcji różnych klinicznych izolatów wirusa SARS-CoV-2, przeprowadzając analizę *in silico* działania starterów i sond oznaczenia ze wszystkimi sekwencjami dostępnymi w bazie GenBank (stan na listopad 2021 r.), używając w tym celu narzędzia internetowego BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) udostępnionego przez centrum NCBI. Uzyskane wyniki wykazały 100-procentową homologię starterów i sondy swoistych dla wirusa SARS-CoV-2 względem 98% sekwencji. Łącznie startery i sonda wykazały homologię względem wszystkich analizowanych sekwencji na poziomie >95%.

**Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna**

Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjną oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay oceniono na podstawie testów dziesięciu paneli, do których dodano (osobno) wirusa grypy A, wirusa grypy B, wirusa RSV A, wirusa RSV B lub wirusa SARS-CoV-2 w celu uzyskania dwóch poziomów (umiarkowanie pozytywny (5x LoD) i słabo pozytywny (2x LoD)), oraz jednego panelu negatywnego. Panele zostały przetestowane przy użyciu trzech serii pasków testowych NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test strip, wyprodukowanych zgodnie z DPP (Dobrá Praktyką Produkcyjną) i dwóch systemów NeuMoDx System w ciągu sześciu nienastępujących bezpośrednio po sobie dni. Członków panelu przygotowano w otrzymanych sztucznie próbkach wymazów z nosogardzieli (3000 ludzkich komórek nabłonkowych na ml uniwersalnego podłoża do transportu wirusów (UVT)) i dodano do nich reprezentatywny szczep wirusa grypy A, wirusa grypy B, wirusa RSV A, wirusa RSV B lub wirusa SARS-CoV-2. Paski testowe NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip i bufor NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) zostały zidentyfikowane jako kluczowe odczynniki specyficzne dla testu, które mogą mieć wpływ na skuteczność oznaczenia. Z tego względu, w celu uwzględnienia buforu VVLB podczas badania, próbki analizowano z użyciem procedury z obróbką wstępną. Odchylenie standardowe dla wartości Ct w ramach serii i pomiędzy trzema seriami pasków testowych oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay i z użyciem dwóch systemów NeuMoDx Molecular System wyniosło  $\leq 1,2$  ze współczynnikiem zmienności (Coefficient of Variation, CV) wynoszącym  $\leq 4,0\%$  dla wszystkich sekwencji docelowych, wykazując w ten sposób znakomitą odtwarzalność wyników; *Tabela 11, 12 i 13.*

**Tabela 11.** Odtwarzalność wyników uzyskiwanych przy użyciu pasków testowych NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip dla wszystkich systemów/serii/dni

Cząsteczka docelowa	Stężenie cząstek docelowych	N ważnych wyników	Odsetek wyników pozytywnych (%)	Śr. war. Ct	SD	%CV
Wirus grypy A	Umiarkowanie pozytywny	72	100%	31,21	0,59	1,9%
	Nisko pozytywny	72	100%	32,01	0,58	1,8%
Wirus grypy B	Umiarkowanie pozytywny	72	100%	31,02	0,39	1,3%
	Nisko pozytywny	72	100%	31,88	0,56	1,7%
Wirus RSV A	Umiarkowanie pozytywny	72	100%	29,71	0,95	3,2%
	Nisko pozytywny	72	100%	30,75	1,18	3,8%
Wirus RSV B	Umiarkowanie pozytywny	72	100%	28,43	0,53	1,9%
	Nisko pozytywny	72	100%	29,45	0,56	1,9%
Wirus SARS-CoV-2	Umiarkowanie pozytywny	72	100%	32,70	0,51	1,5%
	Nisko pozytywny	72	100%	33,68	0,56	1,7%
Prawdziwie negatywny		72	0%	Nd.	Nd.	Nd.

**Tabela 12.** Odtwarzalność wyników uzyskiwanych przy użyciu pasków testowych NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip dla poszczególnych systemów

Panel		N000096					N000012				
Cząsteczka docelowa	Stężenie cząstek docelowych	N ważnych wyników	Odsetek wyników pozytywnych (%)	Śr. war. Ct	SD	%CV	N ważnych wyników	Odsetek wyników pozytywnych (%)	Śr. war. Ct	SD	%CV
Wirus grypy A	Umiarkowanie pozytywny	36	100%	31,37	0,66	2,1%	36	100%	31,05	0,46	1,5%
	Nisko pozytywny	36	100%	32,07	0,65	2,0%	36	100%	31,95	0,51	1,6%
Wirus grypy B	Umiarkowanie pozytywny	36	100%	31,10	0,40	1,3%	36	100%	30,94	0,37	1,2%
	Nisko pozytywny	36	100%	31,84	0,57	1,8%	36	100%	31,91	0,55	1,7%
Wirus RSV A	Umiarkowanie pozytywny	36	100%	29,94	0,97	3,2%	36	100%	29,49	0,89	3,0%
	Nisko pozytywny	36	100%	30,93	1,19	3,8%	36	100%	30,57	1,16	3,8%
Wirus RSV B	Umiarkowanie pozytywny	36	100%	28,60	0,58	2,0%	36	100%	28,26	0,42	1,5%
	Nisko pozytywny	36	100%	29,60	0,53	1,8%	36	100%	29,29	0,56	1,9%
Wirus SARS-CoV-2	Umiarkowanie pozytywny	36	100%	32,80	0,56	1,7%	36	100%	32,61	0,43	1,3%
	Nisko pozytywny	36	100%	33,83	0,64	1,9%	36	100%	33,52	0,42	1,2%
Prawdziwie negatywny		36	0%	Nd.	Nd.	Nd.	36	0%	Nd.	Nd.	Nd.

**Tabela 13.** Odtwarzalność wyników uzyskiwanych przy użyciu pasków testowych NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 dla poszczególnych serii odczynników

Panel		Seria 1				Seria 2				Seria 3			
Cząsteczka docelowa	Stężenie cząstek docelowych	N ważnych wyników	Śr. war. Ct	SD	%CV	N ważnych wyników	Śr. war. Ct	SD	%CV	N ważnych wyników	Śr. war. Ct	SD	%CV
Wirus grypy A	Umiarkowanie pozytywny	24	31,06	0,38	1,2%	24	31,49	0,62	2,0%	24	31,08	0,65	2,1%
	Nisko pozytywny	24	32,02	0,59	1,8%	24	32,18	0,50	1,6%	24	31,82	0,61	1,9%
Wirus grypy B	Umiarkowanie pozytywny	24	31,05	0,39	1,2%	24	31,08	0,47	1,5%	24	30,94	0,29	0,9%
	Nisko pozytywny	24	31,93	0,36	1,1%	24	32,01	0,77	2,4%	24	31,69	0,42	1,3%
Wirus RSV A	Umiarkowanie pozytywny	24	29,04	0,71	2,4%	24	30,40	0,66	2,2%	24	29,69	0,94	3,2%
	Nisko pozytywny	24	31,53	0,50	1,6%	24	29,45	0,79	2,7%	24	31,25	0,87	2,8%
Wirus RSV B	Umiarkowanie pozytywny	24	28,65	0,54	1,9%	24	28,29	0,52	1,8%	24	28,35	0,47	1,7%
	Nisko pozytywny	24	29,31	0,48	1,6%	24	29,46	0,64	2,2%	24	29,57	0,55	1,8%
Wirus SARS-CoV-2	Umiarkowanie pozytywny	24	32,82	0,43	1,3%	24	32,70	0,56	1,7%	24	32,59	0,50	1,5%
	Nisko pozytywny	24	33,42	0,58	1,7%	24	33,80	0,57	1,7%	24	33,81	0,47	1,4%
Prawdziwie negatywny		24	Nd.	Nd.	Nd.	24	Nd.	Nd.	Nd.	24	Nd.	Nd.	Nd.

**Skuteczność kliniczna**

Parametry skuteczności klinicznej oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay zostały wyznaczone w wewnętrznym, retrospektywnym badaniu porównania metod z użyciem pozostałości próbek wymazów z nosogardzieli (Nasopharyngeal, NP) uzyskanych z 4 laboratoriów klinicznych zlokalizowanych w różnych regionach geograficznych. W badaniu uwzględniono również rozcieńczenia próbek klinicznych pozytywnych względem wirusa SARS-CoV-2 w celu wykazania czułości klinicznej oznaczenia na poziomie zbliżonym do wartości granicy LoD.



W laboratorium, z którego otrzymano próbki, usunięto dane identyfikacyjne pozostałości próbek wymazów NP pobranych od pacjentów objawowych, a próbkom nadano unikalne numery identyfikacyjne, tworząc jednocześnie poufną listę umożliwiającą połączenie identyfikatora pacjenta z pozbawionymi danymi identyfikacyjnymi próbkami testowanymi w badaniu. Na potrzeby badania uzyskano łącznie 747 próbek wymazów z NP pobranych od pojedynczych pacjentów. Wszystkie próbki zostały przetworzone zarówno w ramach procedury bezpośredniej, jak i procedury z obróbką wstępną. Ostatecznie w procedurze bezpośredniej uzyskano 739 ważnych i 8 nieważnych wyników, natomiast w procedurze z obróbką wstępną uzyskano 736 ważnych i 11 nieważnych wyników. Spośród próbek, dla których uzyskano ważny wynik, 121 było przeznaczonych wyłącznie do oceny pod kątem sekwencji docelowych wirusów grypy A, grypy B oraz RSV. Wyniki analizy próbek były następujące: 54 próbki pozytywne względem wirusa grypy A, 34 próbki pozytywne względem wirusa grypy B i 33 próbki pozytywne względem wirusa RSV. W ramach tej kohorty 121 próbek wyniki dla wszystkich 3 docelowych patogenów zostały udostępnione przez laboratoria kliniczne, z których otrzymano próbki. W ten sposób na podstawie wyników niniejszej kohorty próbek pozytywnych uzyskano również 67 wyników negatywnych względem wirusa grypy A, 87 wyników negatywnych względem wirusa grypy B oraz 88 wyników negatywnych względem wirusa RSV. Wyniki negatywne zostały następnie uzupełnione o 59 próbek klinicznych, w przypadku których na podstawie wyników oznaczenia porównawczego potwierdzono negatywne wyniki względem wszystkich 4 patogenów docelowych. Łącznie 106 próbek zostało zidentyfikowanych jako pozytywne względem wirusa SARS-CoV-2 z zastosowaniem obu procedur. W przypadku próbek klinicznych negatywnych względem wirusa SARS-CoV-2 z potwierdzonym, ważnym wynikiem oznaczenia NeuMoDx uzyskano 512 próbek w procedurze bezpośredniej oraz 509 próbek w procedurze z obróbką wstępną.

Wyniki otrzymane dla tych próbek zostały utajnione przed operatorem, aby przeprowadzić „pojedynczo zaslepienie badanie”. Do analizy porównawczej metod wykorzystano wyniki uzyskane przy użyciu dostępnych na rynku wyrobów do badań molekularnych dopuszczonych przez agencję FDA i posiadających oznakowanie CE, wykorzystywanych przez laboratoria do testów zgodnych ze standardem opieki.

Na podstawie wyników oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay uzyskanych dla sekwencji docelowych wirusa grypy A wykazano, że czułość kliniczna w przypadku obu procedur wyniosła 98,1%, a swoistość kliniczna wyniosła 100% i 99,2% odpowiednio w przypadku procedury bezpośredniej oraz procedury z obróbką wstępną (Tabela 14A). Na podstawie wyników uzyskanych dla sekwencji docelowych wirusa grypy B wykazano, że czułość kliniczna i swoistość kliniczna w przypadku obu procedur wyniosła odpowiednio 97,1% i 100% (Tabela 14B). Na podstawie wyników uzyskanych dla sekwencji docelowych wirusa RSV (bez różnicowania) wykazano, że czułość kliniczna w przypadku obu procedur wyniosła 97%, a swoistość kliniczna wyniosła 99,3% i 98,6% odpowiednio w przypadku procedury bezpośredniej oraz procedury z obróbką wstępną (Tabela 14C). Na podstawie wyników uzyskanych dla sekwencji docelowych wirusa SARS-CoV-2 wykazano, że czułość kliniczna w przypadku obu procedur wyniosła 97,2%, a swoistość kliniczna wyniosła 98,4% i 98,2% odpowiednio w przypadku procedury bezpośredniej oraz procedury z obróbką wstępną (Tabela 14D). Dolne i górne granice 95-procentowych przedziałów ufności przedstawiono poniżej w Tabelach 14A, 14B, 14C i 14D. Przedziały zostały obliczone przy użyciu metody Wilsona z korekcją ciągłości.

**Tabela 14A.** Podsumowanie skuteczności klinicznej — paski testowe NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: detekcja wirusa grypy A (a) procedura bezpośrednia i (b) procedura z obróbką wstępną

**(a) Procedura bezpośrednia**

Wirus grypy A		Wynik testu referencyjnego (dopuszczonego przez FDA / z oznakowaniem CE)		
		POZ	NEG	Łącznie
Wynik testu NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	53	0	53
	NEG	1	126	127
	Łącznie	54	126	180
<b>Czułość kliniczna (wirus grypy A) = 98,1% (88,8%–99,9%)</b>				
<b>Swoistość kliniczna (wirus grypy A) = 100% (96,3%–100%)</b>				

**(b) Procedura z obróbką wstępną**

Wirus grypy A		Wynik testu referencyjnego (dopuszczonego przez FDA / z oznakowaniem CE)		
		POZ	NEG	Łącznie
Wynik testu NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	53	1	54
	NEG	1	125	126
	Łącznie	54	126	180
<b>Czułość kliniczna (wirus grypy A) = 98,1% (88,8%–99,9%)</b>				
<b>Swoistość kliniczna (wirus grypy A) = 99,2% (95,0%–100%)</b>				

**Tabela 14B.** Podsumowanie skuteczności klinicznej — paski testowe NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: detekcja wirusa grypy B (a) procedura bezpośrednia i (b) procedura z obróbką wstępną

**(a) Procedura bezpośrednia**

Wirus grypy B		Wynik testu referencyjnego (dopuszczonego przez FDA / z oznakowaniem CE)		
		POZ	NEG	łącznie
Wynik testu NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	33	0	33
	NEG	1	146	147
	łącznie	34	146	180
Czułość kliniczna (wirus grypy B) = 97,1% (82,9%–99,8%)				
Swoistość kliniczna (wirus grypy B) = 100% (96,8%–100%)				

**(b) Procedura z obróbką wstępną**

Wirus grypy B		Wynik testu referencyjnego (dopuszczonego przez FDA / z oznakowaniem CE)		
		POZ	NEG	łącznie
Wynik testu NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	33	0	33
	NEG	1	146	147
	łącznie	34	146	180
Czułość kliniczna (wirus grypy B) = 97,1% (82,9%–99,8%)				
Swoistość kliniczna (wirus grypy B) = 100% (96,8%–100%)				

**Tabela 14C.** Podsumowanie skuteczności klinicznej — paski testowe NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: detekcja wirusa RSV (a) procedura bezpośrednia i (b) procedura z obróbką wstępną

**(a) Procedura bezpośrednia**

Wirus RSV		Wynik testu referencyjnego (dopuszczonego przez FDA / z oznakowaniem CE)		
		POZ	NEG	łącznie
Wynik testu NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	32	1	33
	NEG	1	146	147
	łącznie	33	147	180
Czułość kliniczna (wirus RSV) = 97,0% (82,5%–99,8%)				
Swoistość kliniczna (wirus RSV) = 99,3% (95,7%–100%)				

**(b) Procedura z obróbką wstępną**

Wirus RSV		Wynik testu referencyjnego (dopuszczonego przez FDA / z oznakowaniem CE)		
		POZ	NEG	łącznie
Wynik testu NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	32	2	34
	NEG	1	145	146
	łącznie	33	147	180
Czułość kliniczna (wirus RSV) = 97,0% (82,5%–99,8%)				
Swoistość kliniczna (wirus RSV) = 98,6% (94,7%–99,8%)				

**Tabela 14D.** Podsumowanie skuteczności klinicznej — paski testowe NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: detekcja wirusa SARS-CoV-2 (a) procedura bezpośrednia i (b) procedura z obróbką wstępną

**(a) Procedura bezpośrednia**

Wirus SARS-CoV-2		Wynik testu referencyjnego (dopuszczonego przez FDA / z oznakowaniem CE)		
		POZ	NEG	łącznie
Wynik testu NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	103	8	111
	NEG	3	504	507
	łącznie	106	512	618
<b>Czułość kliniczna (wirus SARS-CoV-2) = 97,2% (91,3%–99,3%)</b>				
<b>Swoistość kliniczna (wirus SARS-CoV-2) = 98,4% (96,8%–99,3%)</b>				

**(b) Procedura z obróbką wstępną**

Wirus SARS-CoV-2		Wynik testu referencyjnego (dopuszczonego przez FDA / z oznakowaniem CE)		
		POZ	NEG	łącznie
Wynik testu NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POZ	103	9	112
	NEG	3	500	503
	łącznie	106	509	615
<b>Czułość kliniczna (wirus SARS-CoV-2) = 97,2% (91,3%–99,3%)</b>				
<b>Swoistość kliniczna (wirus SARS-CoV-2) = 98,2% (96,5%–99,1%)</b>				

**Swoistość analityczna i reaktywność krzyżowa**

Swoistość analityczną oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay oceniono, testując panel składający się z 47 mikroorganizmów/wirusów — 22 szczepów wirusów, 24 szczepów bakterii i 1 szczepu drożdży — reprezentujących typowe patogeny (flora) powszechnie występujące w drogach oddechowych. Bakterie i drożdże testowano w stężeniach ~ $10^6$  CFU/ml lub IFU/ml, o ile nie wskazano inaczej. Wirusy testowano w stężeniach od  $10^5$  do  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml lub kopii/ml, o ile nie wskazano inaczej. Aby określić potencjalną reaktywność krzyżową między wirusem SARS-CoV-2 a innym wirusami z rodziny koronawirusów (229E, OC43, NL63, MERS i SARS-1) oraz bakterią *Legionella pneumophila* w badaniu uwzględniono dodatkowe powtórzenia (>20) w celu spełnienia wymogów MDCG dotyczących wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro wirusa SARS-CoV-2. Swoistość analityczna oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay względem wirusa grypy A, wirusa grypy B, wirusa RSV A, wirusa RSV B i wirusa SARS-CoV-2 wyniosła 100%.

Do testów włączono również wirusa HKU1, kolejnego członka rodziny koronawirusów, jednak ze względu na niedostępność wirusowego oraz genomowego RNA przetestowano 4 powtórzenia materiały syntetycznego. W celu zbadania potencjalnej reaktywności krzyżowej przeprowadzono również analizę *in silico* między materiałem starterów i sond oznaczenia NeuMoDx SARS-CoV-2 a genomami koronawirusa HKU1 opublikowanymi w bazie danych GenBank. łącznie z bazy danych NCBI Virus agencji NIH uzyskano 57 sekwencji genomów wirusa HKU1. W przypadku wszystkich sekwencji wirusa HKU1 wykazano co najmniej 3 niedopasowania względem poszczególnych starterów i sond oznaczenia NeuMoDx SARS-CoV-2. Nie wykryto bliskiej homologii. Z tego względu nie oczekuje się wystąpienia reaktywności krzyżowej między koronawirusem HKU1 a oznaczeniem NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.

Tabela 15. Wyniki badania swoistości analitycznej

Mikroorganizm/wirus	Stężenie	Wirus grypy A	Wirus grypy B	Wirus RSV	Wirus SARS-CoV-2
Adenowirus typu 1	1E6 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	-
Adenowirus typu 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 kopii/ml	-	-	-	-
HHV 7	1E6 kopii/ml	-	-	-	-
HHV 8	1E6 kopii/ml	-	-	-	-
HSV 1	1E6 kopii/ml	-	-	-	-
HSV 2	1E6 kopii/ml	-	-	-	-
Ludzki koronawirus 229E	1E5 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	-
Ludzki koronawirus HKU1	1E6 kopii/ml	-	-	-	-
Ludzki koronawirus NL63	1E4 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	-
Ludzki koronawirus OC43	1E5 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	-
Ludzki enterowirus typu 68	1E5 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	-
Ludzki metapneumowirus	1E4 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	-
Ludzki wirus paragrypy typu 1	5E5 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	-
Ludzki wirus paragrypy typu 2	5E5 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	-
Ludzki wirus paragrypy typu 3	1E6 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	-
Ludzki rinowirus typu 1A	5E3 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus brevis</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus jensoni</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus lactis</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
Wirus odry	1E4 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	-
Koronawirus MERS EMC/2012	1E4 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
Wirus świnki	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	-	-	-	-
Koronawirus SARS	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	-	-	-	-
Wirus grypy A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016	3x LoD	+	-	-	-
Wirus grypy B, Florida/78/2015 (Victoria)	3x LoD	-	+	-	-
Wirus RSV A2	3x LoD	-	-	+	-
Wirus RSV B (WV/14617/85)	3x LoD	-	-	+	-
Wirus SARS-CoV-2, 1. międzynarodowy wzorzec WHO	3x LoD	-	-	-	+
Kontrola negatywna (bez patogenów)	Nd.	-	-	-	-

**Tabela 16.** Swoistość analityczna — wirusy z rodziny koronawirusów oraz bakteria *Legionella pneumophila* (>20 przetestowanych powtórzeń)

Mikroorganizm/wirus	Stężenie	Wirus SARS-CoV-2
Ludzki koronawirus NL63	1,00E+04 TCID <sub>50</sub> /ml	-
Koronawirus SARS 1	1,00E+06 pfu/ml	-
Koronawirus MERS EMC/2012	1,00E+04 TCID <sub>50</sub> /ml	-
Ludzki koronawirus 229E	1,00E+05 TCID <sub>50</sub> /ml	-
Ludzki koronawirus OC43	1,00E+05 TCID <sub>50</sub> /ml	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6,00E+06 CFU/ml	-
Kontrola pozytywna: Wirus SARS-CoV-2, pierwszy wzorzec WHO	3x LoD	+
Kontrola negatywna (bez patogenów)	Nd.	-

**Substancje zakłócające — komensale**

Oznaczenie NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay przetestowano pod kątem zakłóceń spowodowanych obecnością mikroorganizmów/wirusów innych niż patogen docelowy (potencjalnie obecnych w górnych drogach oddechowych) poprzez ocenę skuteczności oznaczenia przy niskich stężeniach (~3X LoD) wirusa grypy A, grypy B, RSV A, RSV B i SARS-CoV-2 w obecności wymienionych w powyższej Tabeli 15 mikroorganizmów/wirusów w wysokich stężeniach. Dodatkowo, aby określić potencjalne zakłócenia między wirusem SARS-CoV-2 a innym wirusami z rodziny koronawirusów (229E, OC43, NL63, MERS i SARS-1) oraz bakterią *Legionella pneumophila* (Tabela 16) w badaniu uwzględniono dodatkowe powtórzenia (>20) w celu spełnienia wymogów MDCG dotyczących wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro wirusa SARS-CoV-2. Na potrzeby badania dotyczącego zakłóceń spowodowanych innymi mikroorganizmami/wirusami do tych próbek dodano materiał wirusa SARS-CoV-2 wyłącznie w stężeniu ~3X LoD. W przypadku wszystkich sekwencji docelowych odnotowano poziom detekcji wynoszący 100%. Dlatego nie odnotowano żadnych zakłóceń w detekcji jakiegokolwiek sekwencji docelowej w obecności dowolnego komensala.

**Substancje zakłócające — endogenne/egzogenne**

Oznaczenie NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay oceniono pod kątem wrażliwości na zakłócenia wywołane obecnością substancji, które potencjalnie mogą dostać się do próbek wymazów z nosogardzieli podczas ich pobierania. Do poszczególnych pozostałości klinicznych, negatywnych próbek wymazów z nosogardzieli pojedynczo dodano materiał wirusa grypy A, grypy B, RSV A, RSV B lub SARS-CoV-2 w stężeniu 3X LoD i przeanalizowano je w obecności i przy braku czynników wymienionych w Tabeli 17. Żadna z testowanych substancji nie wpływała negatywnie na skuteczność oznaczenia któregokolwiek patogenu docelowego.

Tabela 17. Substancje testowane pod kątem zakłóceń

	Substancja	Opis/składnik aktywny	Stężenie*
Czynnik egzogenny	Neo-Synephrine	Fenylefryna	15% o/o
	Żel do nosa — Ayr Saline Nasal Gel	Chlorek sodu z konserwantami	15% o/o
	Homeopatyczny środek na alergię — Similasan	Cardiospermum, Sabadilla, Luffa operculata, Galphimia glauca	15% o/o
	Nature's Bounty Zinc	Glukonian cynku	0,1 mg/ml
	Znieczulenie doustne / doustny środek przeciwbólowy — Oragel	Benzokaina, chlorek benzalkoniowy	1% o/o
	Aerozol do nosa — Afrin	Oksymetazolina	15% w/o
	Aerozol do nosa — Zicam	Luffa operculata, Galphimia glauca, Histaminum hydrochloricum, siarka	15% o/o
	Kortykosteroid podawany donosowo — Flonase	Flutykazon	5% o/o
	Kortykosteroid podawany donosowo — Rhinocort	Budezonid	5% o/o
	Kortykosteroid podawany donosowo — Nasacort	Triamcynolon	5% o/o
	Kortykosteroid podawany donosowo — Dexamethasone	Deksametazon	10 mg/ml
	Kortykosteroid podawany donosowo — Mometasone	Mometazon	10 mg/ml
	Kortykosteroid podawany donosowo — Beclomethasone	Beklometazon	10 mg/ml
	Pastyłka do ssania na ból gardła Chloraseptic Throat Lozenge	Benzokaina, mentol	2 mg/ml
	Antybiotyk, maść do nosa	Mupirocyna	10 mg/ml
	Lek przeciwwirusowy Relenza	Zanamiwir	7,5 mg/ml
	Lek przeciwwirusowy Tamiflu	Osetamiwir	25 mg/ml
Antybiotyk o działaniu ogólnoustrojowym	Tobramycyna	15 mg/ml	
Czynnik endogenny	Mucyna	Oczyszczone białko mucyny	2,5% w/o
	Ludzka krew	Krew	2% o/o

\*Uwaga: Przedstawione stężenia to stężenia użyte do nasycenia wymazówek przed dodaniem substancji zakłócającej do otrzymanych sztucznie klinicznych próbek pozytywnych. Są one zatem reprezentatywne dla tolerowanych stężeń substancji w miejscu, z którego pobierany jest wymaz.

#### Zanieczyszczenie krzyżowe

Częstość występowania zanieczyszczeń krzyżowych w systemach NeuMoDx Molecular 288 i 96 podczas używania oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay zbadano, przetwarzając wysoko pozytywne i negatywne próbki ułożone naprzemiennie. Wszystkie próbki składały się z przygotowanego sztucznie materiału wymazu z NP, gdzie w przypadku próbek dodatnich dodawano do niego materiał wirusowy w stężeniu  $\geq 10^5$  TCID<sub>50</sub>/ml (lub  $\geq 10\ 000X$  LoD). Wykonano pięć serii testów z próbkami o różnych stężeniach ułożonymi naprzemiennie, łącznie uzyskując 60 powtórzeń negatywnych oraz 60 powtórzeń pozytywnych dla obu systemów NeuMoDx 288 i 96 Molecular System. W przypadku obu typów systemów dla wszystkich 120 powtórzeń próbek negatywnych prawidłowo zgłoszono wynik negatywny, co wskazuje, że nie doszło do zanieczyszczenia krzyżowego podczas analizy próbek w systemach NeuMoDx System.

#### Czas oczekiwania na wynik badania (TAT)

Czas oczekiwania na wynik badania (TAT) w przypadku przetwarzania 8 próbek przy użyciu oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay wynosi  $\sim 85$  minut w przypadku systemu N288 i  $\sim 78$  minut w przypadku systemu NeuMoDx 96 dla 4 próbek.

#### Wskaźnik niepowodzenia działania całego systemu

Wskaźnik niepowodzenia działania całego systemu dla oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay wyznaczono, testując 1 poziom sekwencji docelowej wirusa SARS-CoV-2 w stężeniu  $\sim 3X$  LoD. Próbkę przygotowano poprzez dodanie do klinicznych negatywnych próbek wymazów z nosogardzieli materiału 1. międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa SARS-CoV-2. Łącznie 200 powtórzeń próbek zostało przetworzonych przy użyciu procedury bezpośredniej w obu systemach NeuMoDx 96 i 288 Molecular System (100 powtórzeń na system). Wskaźnik niepowodzenia obliczono jako odsetek wyników fałszywych negatywnych ze wszystkich uzyskanych ważnych wyników. Wykazano, że poziom detekcji sekwencji docelowej wirusa SARS-CoV-2 przy użyciu oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay wynosił 100% w przypadku obu systemów NeuMoDx 96 i 288 Molecular System, przy wskaźniku niepowodzenia wynoszącym 0% dla obu systemów.



### Stabilność oznaczenia — inhibicja

Wskaźnik inhibicji został określony poprzez obliczenie odsetka wyników Unresolved (Nierozstrzygnięty) (nie doszło do amplifikacji kontroli przetwarzania próbki przy braku błędów systemowych) wśród wszystkich próbek negatywnych przetwarzanych podczas badań weryfikacyjnych i walidacyjnych. Łącznie dla 1221 przetworzonych próbek negatywnych uzyskano 11 wyników Unresolved (Nierozstrzygnięty), wykazując, że wskaźnik inhibicji oznaczenia NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay wynosi 0,9%.

### LITERATURA

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

### ZNAKI TOWAROWE

BD™ jest znakiem towarowym firmy Becton, Dickinson and Company

Hamilton® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Hamilton Company

Minitip Nylon® Flocked Swab jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Copan Diagnostics, Inc.

NeuMoDx™ i NeuDry™ są znakami towarowymi firmy NeuMoDx Molecular, Inc.


TaqMan® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Roche Molecular Systems, Inc.

UTM-RT® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Copan Diagnostics, Inc.

Wszystkie pozostałe nazwy produktów, znaki towarowe i zastrzeżone znaki towarowe, które mogą pojawiać się w tym dokumencie, są własnością ich odpowiednich właścicieli.

### LEGENDA SYMBOLI

 <b>Rx only</b>	Wyłącznie na receptę		Nie używać ponownie
	Producent		Zawiera odczynniki wystarczające do przeprowadzenia <n> testów
	Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>		Zapoznać się z instrukcją użycia
	Upoważniony przedstawiciel na terytorium Wspólnoty Europejskiej		Przeostroga
	Numer katalogowy		Oznaczenie CE
	Kod partii		Zawiera
	Data ważności		Zawiera materiał biologiczny pochodzenia zwierzęcego
	Zakres temperatur		

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

Wsparcie techniczne/zgłaszanie danych dotyczących nadzoru nad produktem (vigilance): [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

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

**EC REP**

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

**CE**