

Vantage Test Strip
INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO**REF 300900 NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip****R only**

CUIDADO: Apenas para exportação dos EUA

IVD Para utilização em diagnóstico *in vitro* com os NeuMoDx™ 288 e NeuMoDx™ 96 Molecular Systems

Para obter mais informações sobre atualizações do folheto informativo, aceder a: www.giaqen.com/neumodx-ifu
Para obter instruções detalhadas, consultar o Manual do operador do NeuMoDx™ 288 Molecular System; P/N 40600108
Para obter instruções detalhadas, consultar o Manual do operador do NeuMoDx™ 96 Molecular System; P/N 40600317

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay realizado no NeuMoDx™ 288 Molecular System e no NeuMoDx™ 96 Molecular System (NeuMoDx Molecular System[s]) é um teste de diagnóstico de RT-PCR em tempo real *in vitro* qualitativo, automatizado, rápido e multiplex que se destina à deteção direta simultânea e à diferenciação dos vírus influenza A, influenza B, vírus sincicial respiratório (RSV) e ARN de SARS-CoV-2 de esfregaços nasofaríngeos (Nasopharyngeal, NP) em meio de transporte de indivíduos com sinais e sintomas de infeção do trato respiratório, em conjunto com fatores de risco clínico e epidemiológico.

Os resultados negativos não devem ser utilizados como base única de diagnóstico, tratamento ou outras decisões de gestão do paciente.

Os resultados positivos são indicativos de uma infeção ativa. Os resultados negativos não excluem a infeção pelos vírus influenza, RSV ou SARS-CoV-2 e não devem ser utilizados como base única de tratamento ou outras decisões de gestão do paciente.

Foram estabelecidas características de desempenho para a deteção do vírus influenza A e B com espécimes clínicos colhidos durante a época de influenza de 2019/2020. Com a emergência de outros vírus de influenza A e B, as características de desempenho podem variar.

O NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay destina-se à utilização por pessoal de laboratórios clínicos qualificado especificamente formado e treinado nas técnicas de procedimentos de diagnóstico de PCR em tempo real e *in vitro* e/ou em NeuMoDx Molecular Systems.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

Os espécimes de esfregaço nasofaríngeo são colhidos no Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) System, BD™ Universal Viral Transport System (UVT) ou Biologos Bio-VTM™ Viral Transport Media (VTM). O NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay permite até dois fluxos de trabalho com base na necessidade do laboratório. Para efetuar a preparação para testes utilizando o fluxo de trabalho direto, o tubo de colheita primário (sem esfregaço e sem tampa) ou uma alíquota do meio de amostra num tubo secundário é etiquetado com um código de barras e carregado no NeuMoDx System, utilizando um transportador de tubos de espécime designado. Para o fluxo de trabalho pré-tratado, o espécime em meio de transporte é, em primeiro lugar, tratado com um volume idêntico de NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) antes de ser carregado no sistema. No fluxo de trabalho direto, é aspirada uma alíquota de 400 µL da amostra pelo NeuMoDx System e misturada com um volume idêntico de NeuMoDx Lysis Buffer 3; para o fluxo de trabalho pré-tratado, são combinados 550 µL da amostra pré-tratada com um volume idêntico de Lysis Buffer 2. O NeuMoDx Molecular System realiza automaticamente todos os passos necessários para extrair os ácidos nucleicos-alvo, preparar o ARN isolado para a reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa (RT-PCR) e, se presentes, amplificar e detetar os produtos de amplificação. O NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay tem como alvo a região conservada do gene Nsp2 do SARS-CoV-2 e as regiões nos genes M da influenza A, influenza B e dos genomas A e B do vírus sincicial respiratório. O NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay inclui um controlo de processo de amostra (Sample Process Control, SPC2) de ARN para ajudar a monitorizar a presença de possíveis substâncias inibidoras e falhas do reagente ou do NeuMoDx System que podem acontecer durante o processo de extração e amplificação.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay combina a extração automatizada de ARN e a amplificação/deteção através de RT-PCR em tempo real. As amostras de esfregaço nasofaríngeo são colhidas no Copan UTM-RT® System, BD™ UVT System, ou no Biologos Bio-VTM™ Viral Transport Media (VTM). O fluxo de trabalho direto permite etiquetar com um código de barras e carregar o tubo de colheita de esfregaço primário, ou uma alíquota do meio de transporte num tubo secundário, no NeuMoDx System para processamento. Em alternativa, é possível tratar em primeiro lugar um espécime de esfregaço nasofaríngeo em meio de transporte com um volume idêntico de NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) antes de ser carregado no sistema sem intervenção adicional por parte do utilizador. O NeuMoDx System aspira automaticamente uma alíquota de espécimes para misturar com o NeuMoDx Lysis Buffer 3 para um fluxo de trabalho direto ou uma alíquota de espécime pré-tratado para misturar com o Lysis Buffer 2 e os reagentes contidos na NeuMoDx™ Extraction Plate para iniciar o processamento. O NeuMoDx System automatiza e integra extração e concentração de ARN, preparação de reagentes e amplificação/deteção de ácidos nucleicos das sequências-alvo utilizando RT-PCR em tempo real. O controlo de processo de amostra (Sample Process Control 2, SPC2) incluído ajuda a monitorizar a presença de substâncias inibidoras e falhas de sistema, processo ou reagentes. Não é necessária qualquer intervenção do operador depois de o espécime ser carregado no NeuMoDx System.

Vantage Test Strip

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

O NeuMoDx System utiliza uma combinação de calor, enzimas líticas e reagentes de extração para desempenhar automaticamente a lise, a extração de ARN e a remoção de inibidores. Os ácidos nucleicos libertados são capturados por partículas paramagnéticas. As partículas, com os ácidos nucleicos ligados, são carregadas no NeuMoDx™ Cartridge, onde os elementos não ligados são retirados por lavagem utilizando NeuMoDx™ Wash Reagent. O ARN ligado é, em seguida, eluído utilizando NeuMoDx™ Release Reagent. O NeuMoDx System utiliza o ARN eluído para reidratar reagentes de amplificação NeuDry™ patenteados que contêm todos os elementos necessários para a amplificação dos alvos de Flu A, Flu B, RSV, SARS-CoV-2 e SPC2. Isto permite a amplificação e detecção simultâneas de todos os alvos e sequências de ARN do controlo de processo de amostra. Depois da reconstituição dos reagentes de RT-PCR secos, o NeuMoDx System dispensa a mistura preparada e pronta para RT-PCR numa câmara de PCR (por espécime) do NeuMoDx Cartridge. A transcrição reversa, a amplificação e a detecção das sequências de controlo e alvo (se presentes) ocorrem na câmara de PCR. O NeuMoDx Cartridge foi concebido para conter o amplicão gerado decorrente de RT-PCR, eliminando essencialmente o risco de contaminação após a amplificação.

Os alvos amplificados são detetados em tempo real utilizando química de sondas de hidrólise (habitualmente referida como química TaqMan®), utilizando moléculas de sondas fluorogénicas de oligonucleotídeos específicas dos amplicões dos seus respetivos alvos. As sondas TaqMan consistem num fluoróforo covalentemente ligado à extremidade de 5' da sonda de oligonucleotídeos e num supressor na extremidade de 3'. Enquanto a sonda está intacta, o fluoróforo e o supressor estão próximos, permitindo que a molécula supressora extinga a fluorescência emitida pelo fluoróforo via Transferência ressonante de energia por fluorescência (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

As sondas TaqMan® foram concebidas para hibridizar dentro de uma região de ADN amplificada por um conjunto específico de iniciadores. À medida que a Polimerase Taq de ADN expande o iniciador e sintetiza a nova cadeia, a atividade exonuclease de 5' a 3' da Polimerase Taq de ADN degrada a sonda que foi hibridizada com o modelo. A degradação da sonda liberta o fluoróforo e quebra a sua proximidade com o supressor, ultrapassando assim o efeito de supressão devido à FRET e permitindo a deteção do fluoróforo. O sinal de fluorescência resultante, detetado no termociclador de RT-PCR quantitativa do NeuMoDx System é diretamente proporcional ao fluoróforo libertado e pode ser correlacionado com a quantidade de alvo presente.

As sondas TaqMan®, utilizadas para detetar alvos virais, são marcadas com fluoróforos na extremidade de 5' e um supressor de fluorescência na extremidade de 3'. O canal de deteção de fluorescência para cada alvo do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay é apresentado na *Tabela 1*. O software do NeuMoDx System monitoriza o sinal fluorescente emitido pelas sondas TaqMan no final de cada ciclo de amplificação. Quando a termociclagem estiver concluída, o software do NeuMoDx System analisa os dados e comunica um resultado (POSITIVE [POSITIVO]/NEGATIVE [NEGATIVO]/INDETERMINATE [INDETERMINADO]/NO RESULT [SEM RESULTADO]/UNRESOLVED [NÃO RESOLVIDO]).

Tabela 1. Canal de deteção

Organismo	Região-alvo	Fluoróforo da sonda	Excitação/emissão	Canal de deteção
Influenza A	Gene M	HEX	530/555 nm	Amarelo
Influenza B	Gene M	FAM	470/510 nm	Verde
SARS-CoV-2	Gene Nsp2	Texas Red	585/610 nm	Laranja
Vírus sincicial respiratório	Gene M	Q705	680/715 nm	Vermelho distante
SPC2	Proteína de montagem (MS2)	Q670	625/660 nm	Vermelho

REAGENTES/CONSUMÍVEIS

Material fornecido

REF	Conteúdo	Unidades por embalagem	Testes por unidade	Testes por embalagem
300900	NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip Reagentes de RT-PCR secos contendo sondas e iniciadores TaqMan® específicos para Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 e sonda e iniciadores TaqMan® específicos para SPC2. <i>Contém 21,1% de Tris-HCl, 8,4% de dNTP e outros ingredientes inativos</i>	6	16	96

Vantage Test Strip

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Materiais necessários, mas não fornecidos (disponibilizados em separado pela NeuMoDx)

REF	Conteúdo
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate Partículas paramagnéticas, enzimas líticas e controlos de processo de amostra secos
400500**	NeuMoDx™ Lysis Buffer 2
400600*	NeuMoDx™ Lysis Buffer 3
401500**	NeuMoDx™ Vantage Viral Lysis Buffer
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Hamilton® CO-RE Tips (300 µL) com filtros
235905	Hamilton® CO-RE Tips (1000 µL) com filtros

* *Necessário apenas para o processamento direto de amostras, sem passo de pré-tratamento. Consultar a secção "Instruções de utilização" abaixo.*

** *Necessário apenas se for pretendido um pré-tratamento antes de carregar as amostras. Consultar a secção "Instruções de utilização" abaixo.*

Esfregaços e meios de transporte (não fornecidos)

Tipo de amostra	Dispositivo de colheita recomendado	Esfregaço recomendado
Zaragatoa nasofaríngea	3 mL de Universal Transport Medium (Copan UTM-RT®, Copan, CA, EUA) ou 3 mL de Universal Viral Transport System (BD™ UVT, BD, NJ, EUA) ou 3 mL de Bio-VTM™ Viral Transport Medium (Bio-VTM™, Biologos LLC, IL, EUA)	Flexible Minitip Nylon® Flocked Swab (Copan, CA, EUA) ou Flexible Minitip Flocked Swab (BD, NJ, EUA)

Instrumentos necessários

NeuMoDx™ 288 Molecular System [REF 500100] ou **NeuMoDx™ 96 Molecular System** [REF 500200]



AVISOS E PRECAUÇÕES

- A NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip destina-se a ser utilizada apenas com NeuMoDx™ Systems em diagnóstico *in vitro*.
- Não utilizar os reagentes ou consumíveis depois da data de validade indicada.
- Não utilizar quaisquer reagentes que tenham o selo de segurança aberto ou cuja embalagem tenha sido danificada ao chegar ao destino.
- Não utilizar consumíveis ou reagentes cuja bolsa protetora tenha sido aberta ou danificada ao chegar ao destino.
- O volume mínimo de espécime de alíquotas secundárias depende do tamanho do tubo/transportador de tubos de espécime, tal como definido abaixo. Volumes inferiores ao mínimo especificado poderão resultar num erro "Quantity Not Sufficient" (Quantidade insuficiente).
- A utilização de espécimes armazenados a temperaturas inadequadas ou para além dos períodos de armazenamento especificados poderá produzir resultados inválidos ou erróneos.
- Evitar a contaminação microbiana e por ribonuclease (RNase) de todos os reagentes e consumíveis. É recomendada a utilização de pipetas de transferência descartáveis, estéreis e isentas de DNase ao utilizar tubos secundários. Utilizar uma nova pipeta para cada espécime.
- Para evitar a contaminação, não manusear nem destruir um NeuMoDx Cartridge após a amplificação. Não recuperar NeuMoDx Cartridges do contentor de resíduos de risco biológico (NeuMoDx 288 Molecular System) ou do recipiente de resíduos de risco biológico (NeuMoDx 96 Molecular System) em quaisquer circunstâncias. O NeuMoDx Cartridge foi concebido para prevenir a contaminação.
- Nos casos em que são também realizados em laboratório testes de PCR em tubo aberto, é necessário ter atenção para assegurar que a NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip, os consumíveis e reagentes adicionais necessários para testes, o equipamento de proteção individual, tal como luvas e batas de laboratório, e o NeuMoDx System não são contaminados.

Vantage Test Strip
INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

- Devem ser utilizadas luvas de nitrilo limpas sem pó durante o manuseamento de reagentes e consumíveis NeuMoDx. É necessário ter especial cuidado para não tocar na parte superior da superfície do NeuMoDx Cartridge, na superfície da película de alumínio da NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip e na NeuMoDx Extraction Plate ou na parte superior da superfície do recipiente de NeuMoDx Lysis Buffer; o manuseamento dos consumíveis e reagentes deve ser realizado tocando apenas nas superfícies laterais.
- Existem fichas de dados de segurança (FDS) disponíveis para cada reagente (conforme aplicável) em www.qiagen.com/safety.
- Lavar muito bem as mãos depois de realizar o teste.
- Não pipetar com a boca. Não fumar, beber ou comer em áreas onde estiverem a ser manuseados espécimes ou reagentes.
- Manusear sempre os espécimes como se fossem infecciosos e de acordo com procedimentos laboratoriais seguros, tal como os descritos na publicação *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹ e no documento M29-A4 do CLSI.²
- Descartar reagentes não utilizados e resíduos em conformidade com os regulamentos nacionais, federais, regionais, estaduais e locais.
- Não reutilizar.

**ARMAZENAMENTO, MANUSEAMENTO E ESTABILIDADE DO PRODUTO**

- As NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strips permanecem estáveis dentro da embalagem primária até à data de validade indicada na etiqueta do produto quando armazenadas a temperaturas entre 4 °C e 28 °C.
- Não utilizar consumíveis ou reagentes após a data de validade indicada.
- Não utilizar qualquer produto de teste se a embalagem primária ou secundária tiver danos visíveis.
- Não carregue novamente qualquer produto de teste que tenha sido previamente carregado noutra NeuMoDx System.
- Uma vez carregada, a NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip pode permanecer a bordo do NeuMoDx System durante 7 dias. O prazo de validade restante de tiras de teste carregadas é controlado pelo software e comunicado ao utilizador em tempo real. O sistema irá solicitar a remoção das tiras de teste que tenham sido utilizadas para além do período permitido.

COLHEITA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIMES

Manuseie todos os espécimes como se fossem passíveis de transmitir agentes infecciosos.

1. Os espécimes devem ser colhidos utilizando o Copan UTM-RT® System, BD™ UVT System ou Bio-VTM™, utilizando os esfregaços flocados de nylon validados (consultar Esfregaços e meios de transporte). Adicionalmente, são aceites esfregaços flocados, de poliéster e de raio. Siga as instruções do fabricante para a colheita, o transporte e o armazenamento de espécimes.
2. Os espécimes podem ser testados em tubos de colheita primários ou em tubos de espécime secundários.
3. Os tubos de espécime podem ser armazenados no NeuMoDx System até 8 horas antes do processamento. Se for necessário tempo adicional de armazenamento, é recomendado que os espécimes sejam refrigerados ou congelados como alíquotas secundárias.
4. Os espécimes preparados devem ser armazenados a temperaturas entre 2 e 8 °C até 7 dias antes do teste.
5. Se os espécimes forem expedidos, estes devem ser embalados e rotulados em conformidade com os regulamentos nacionais e/ou internacionais aplicáveis.
6. Avançar para a secção *Preparação para teste*.

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

O NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay abrange dois fluxos de trabalho diferentes, dependendo das preferências do utilizador/laboratório:

Fluxo de trabalho 1: **DIRETO** – o espécime de esfregaço em meio de transporte é carregado diretamente no NeuMoDx System num tubo de colheita primário ou em tubos de espécime secundários

-ou-

Fluxo de trabalho 2: **PRÉ-TRATADO** – o espécime de esfregaço em meio de transporte é pré-tratado com NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer antes de ser carregado no NeuMoDx System num tubo de colheita primário ou em tubos de espécime secundários

Preparação para teste – Fluxo de trabalho DIRETO para amostras de esfregaço diretas

1. Aplicar a etiqueta de código de barras de espécime a um tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System, conforme descrito no passo 4 abaixo.
2. Se estiver a testar o espécime no tubo de colheita primário, colocar o tubo etiquetado com código de barras num transportador de tubos de espécime e garantir que a tampa e o esfregaço são removidos antes de o carregar no NeuMoDx System.

Vantage Test Strip
INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

3. Em alternativa, pode ser transferida uma alíquota do meio de transporte para um tubo secundário etiquetado com um código de barras e colocado num transportador de tubos de espécime. Caso esteja a utilizar um tubo secundário, transferir uma alíquota do meio de transporte para um tubo de espécime com código de barras compatível com o NeuMoDx System conforme os volumes definidos abaixo:
4. *Para espécimes de esfregaço:*
 - Transportador de tubos de espécime (32 tubos): 11–14 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura, volume mínimo de enchimento $\geq 550 \mu\text{L}$
 - Transportador de tubos de espécime (24 tubos): 14,5–18 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura, volume mínimo de enchimento $\geq 1000 \mu\text{L}$
 - Transportador de tubos de espécime de baixo volume (32 tubos): Tubo de microcentrifugação com base cónica de 1,5 mL, volume mínimo de enchimento $\geq 500 \mu\text{L}$

Preparação do teste – Fluxo de trabalho PRÉ-TRATADO para amostras pré-tratadas de esfregaço

Nota: Permitir que o Vantage Viral Lysis Buffer atinja a temperatura ambiente (15 a 30 °C) antes de utilizar.

AVISO: O pré-tratamento de amostras de esfregaço com NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer não garante a inativação de qualquer vírus presente. Todas as amostras devem ser manuseadas como se fossem passíveis de transmitir agentes infecciosos.

1. Pré-tratar o meio de transporte da amostra com um volume 1:1 de NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. Tal pode ser efetuado no tubo de colheita de esfregaço primário, se o volume do meio de transporte for conhecido. Em alternativa, o pré-tratamento pode ser efetuado num tubo secundário combinando uma alíquota do meio de transporte com um volume idêntico de NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. A mistura resultante deve respeitar os requisitos de volume mínimo especificados abaixo.
2. Misturar cuidadosamente com uma pipeta para assegurar a distribuição uniforme do NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer.
3. Se estiver a testar o espécime pré-tratado no tubo de colheita primário, colocar o tubo etiquetado com código de barras num transportador de tubos de espécime e garantir que a tampa e o esfregaço são removidos antes de o carregar no NeuMoDx System.
4. Caso esteja a utilizar um tubo secundário, transferir uma alíquota da amostra pré-tratada para um tubo de espécime com código de barras compatível com o NeuMoDx System e colocar num transportador de tubos de espécime conforme os volumes definidos abaixo:
 - Transportador de tubos de espécime (32 tubos): 11–14 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura, volume mínimo de enchimento $\geq 700 \mu\text{L}$
 - Transportador de tubos de espécime (24 tubos): 14,5–18 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura, volume mínimo de enchimento $\geq 1100 \mu\text{L}$
 - Transportador de tubos de espécime de baixo volume (32 tubos): Tubo de microcentrifugação com base cónica de 1,5 mL, volume mínimo de enchimento $\geq 650 \mu\text{L}$

Operação do NeuMoDx System

Para obter instruções detalhadas, consultar os Manuais do Operador do NeuMoDx™ 288 e do 96 Molecular System (P/N 40600108 e 40600317).

1. Carregar o pedido de teste no NeuMoDx System de acordo com o fluxo de trabalho utilizado na preparação para teste:
 - As amostras puras de esfregaço não tratadas, preparadas utilizando o fluxo de trabalho DIRETO, são testadas ao definir a amostra como "**Transport Medium**" (Meio de transporte)
 - As amostras de esfregaço pré-tratadas com VVLB utilizando o fluxo de trabalho PRÉ-TRATADO são testadas definindo o espécime como "**UserSpecified1**" (Especificado pelo utilizador 1)
2. Preencher um ou mais NeuMoDx™ System Test Strip Carrier(s) com a(s) NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip(s) e utilizar o ecrã tátil para carregar o(s) transportador(es) de tiras de teste no NeuMoDx System.
3. Se solicitado pelo software do NeuMoDx™ System, adicionar os consumíveis necessários aos transportadores de consumíveis do NeuMoDx System e utilizar o ecrã tátil para carregar o(s) transportador(es) no NeuMoDx System.
4. Se solicitado pelo software do NeuMoDx System, repor NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, esvaziar os resíduos de iniciação, o contentor de resíduos de risco biológico (apenas NeuMoDx 288 Molecular System), o recipiente de resíduos de pontas (apenas NeuMoDx 96 Molecular System) ou o recipiente de resíduos de risco biológico (apenas NeuMoDx 96 Molecular System), conforme apropriado.
5. Carregar o(s) tubo(s) de espécime num transportador de tubos de espécime e garantir que as tampas foram removidas de todos os tubos.
6. Colocar os transportadores de tubos de espécime na prateleira do carregador automático e utilizar o ecrã tátil para carregar os transportadores no NeuMoDx System. Tal irá iniciar o processamento dos espécimes carregados para os testes identificados, desde que esteja presente no sistema um pedido de teste válido.

LIMITAÇÕES

1. A NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip apenas pode ser utilizada em NeuMoDx Systems.

2. O desempenho da NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip foi estabelecido para amostras de esfregaço nasofaríngeo em meio de transporte colhidas por um médico. A utilização da NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip com outras fontes não foi avaliada e as características de desempenho são desconhecidas com outros tipos de espécimes.
3. Uma vez que a detecção de alvos virais está, geralmente, dependente do número de partículas virais presentes na amostra, a obtenção de resultados fiáveis depende da colheita, do manuseamento e do armazenamento adequados do espécime.
4. Podem ocorrer resultados erróneos devido à colheita, ao manuseamento ou ao armazenamento inadequados de espécimes, a erros técnicos ou à mistura de tubos de espécime. Para além disso, podem ocorrer resultados falso-negativos porque o número de partículas virais presente na amostra está abaixo do limite de detecção do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay.
5. A operação do NeuMoDx System apenas pode ser realizada por pessoal com formação para utilizar o NeuMoDx System.
6. Se os alvos de Flu A, B, RSV e SARS-CoV-2 e o alvo de SPC2 não forem amplificados, é comunicado um resultado inválido (Indeterminate [Indeterminado] ou Unresolved [Não resolvido]) e o teste deverá ser repetido.
7. Se ocorrer um erro do sistema antes da conclusão do processamento de amostras, será comunicado "No Result" (Sem resultado) e o teste deverá ser repetido.
8. Um resultado positivo não indica necessariamente a presença de influenza A, influenza B, SARS-CoV-2 e/ou do vírus sincicial respiratório viável. No entanto, um resultado positivo pressupõe a presença de ARN de influenza A, influenza B, SARS-CoV-2 e/ou do vírus sincicial respiratório (A ou B).
9. A NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV2 Vantage Test Strip pode conter ingredientes inativos que podem influenciar a medição.
10. Eliminações ou mutações nas regiões conservadas visadas pelo NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay podem afetar a detecção e originar um resultado incorreto.
11. Os resultados do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay devem ser utilizados como complemento às observações clínicas e a outras informações à disposição do médico.
12. São recomendadas boas práticas de laboratório, incluindo a troca de luvas entre espécimes de pacientes, de forma a evitar a contaminação.

Vantage Test Strip

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

RESULTADOS

Os resultados disponíveis podem ser visualizados ou impressos a partir do separador "Results" (Resultados) na janela Results (Resultados) do ecrã tátil do NeuMoDx System. Os resultados do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay são gerados automaticamente pelo software do NeuMoDx System, utilizando o algoritmo de decisão e os parâmetros de processamento de resultados especificados no ficheiro de definição do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay (versão Flu A-B-RSV SARS-CoV-2 ADF 4.0.0 ou superior). Um resultado do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay pode ser comunicado como Negative (Negativo), Positive (Positivo), Indeterminate (Indeterminado) ou Unresolved (Não resolvido) com base no estado de amplificação do alvo e do controlo de processo de amostra. Os resultados são comunicados com base no algoritmo de decisão de processamento de resultados do ADF, resumido abaixo na *Tabela 2*.

Tabela 2. Interpretação de resultados do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay

RESULTADO	Flu A Alvo	Flu B Alvo	RSV Alvo	Alvo de SARS-CoV-2	CONTROLO DE PROCESSO (SPC2)	Interpretação
POSITIVE (POSITIVO)	Amplified (Amplificado)	N/D	N/D	N/D	N/D	ARN de Flu A detetado
	N/D	Amplified (Amplificado)	N/D	N/D	N/D	ARN de Flu B detetado
	N/D	N/D	Amplified (Amplificado)	N/D	N/D	ARN de RSV detetado
	N/D	N/D	N/D	Amplified (Amplificado)	N/D	ARN de SARS-CoV-2 detetado
NEGATIVE (NEGATIVO)	Not Amplified (Não amplificado)	Not Amplified (Não amplificado)	Not Amplified (Não amplificado)	Not Amplified (Não amplificado)	Amplified (Amplificado)	ARN de Flu A, Flu B, RSV e SARS-CoV-2 não detetado
NO RESULT (SEM RESULTADO)*	Not Amplified (Não amplificado), System Error Detected (Erro do sistema detetado), Sample Processing Aborted (Processamento de amostras interrompido)					Todos os resultados de alvo foram inválidos; testar novamente a amostra
IND (INDETERMINADO)*	Not Amplified (Não amplificado), System Error Detected (Erro do sistema detetado), Sample Processing Completed (Processamento de amostras completo)					O processamento de amostras foi interrompido; testar novamente a amostra
UNR (NÃO RESOLVIDO)*	Not Amplified (Não amplificado), No System Error Detected (Nenhum erro do sistema detetado)					Todos os resultados de alvo foram inválidos; testar novamente a amostra

* O System possui a capacidade adicional de Rerun/Repeat (Reexecutar/repetir) que permite o reprocessamento automático em caso de ocorrência de um resultado inválido para minimizar atrasos na comunicação de resultados.

Resultados inválidos

Se um NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay realizado no NeuMoDx System não produzir um resultado válido, será comunicado como Indeterminate (Indeterminado), No Result (Sem resultado) ou Unresolved (Não resolvido) com base no tipo de erro ocorrido, devendo o teste ser repetido para obtenção de um resultado válido.

Caso seja detetado um erro do NeuMoDx System durante o processamento da amostra, será comunicado um resultado Indeterminate (Indeterminado). É recomendada a realização de um novo teste no caso de ser comunicado um resultado Indeterminate (Indeterminado).

Caso seja detetado um erro do NeuMoDx System, será comunicado um resultado No Result (Sem resultado) e o processamento da amostra será interrompido. Recomenda-se repetir o teste caso seja comunicado um resultado No Result (Sem resultado).

Caso não seja detetado um alvo e não haja amplificação do controlo de processo de amostra, o que indica uma possível falha do reagente ou a presença de inibidores, será comunicado um resultado Unresolved (Não resolvido). É recomendada a realização de um novo teste em primeira instância no caso de ser comunicado um resultado Unresolved (Não resolvido). Se o novo teste falhar, pode ser utilizado um espécime diluído para mitigar os efeitos de uma possível inibição.

Consultar o Manual do operador do NeuMoDx 288 Molecular System (P/N: 40600108) ou o Manual do utilizador do operador do NeuMoDx 96 Molecular System (P/N: 40600317) para obter uma lista dos códigos de erro que podem ser associados a resultados inválidos.

Vantage Test Strip

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Controlo de qualidade

Os regulamentos locais geralmente especificam que o laboratório é responsável pelos procedimentos de controlo que monitorizam a exatidão e a precisão de todo o processo analítico e que deve estabelecer o número, tipo e frequência dos materiais de controlo de teste.

Não serão fornecidos materiais de controlo pela NeuMoDx Molecular, Inc. Os controlos apropriados devem ser escolhidos e validados pelo laboratório. Tenha em atenção que os controlos devem cumprir as mesmas especificações de volume mínimo que as amostras clínicas especificadas acima com base no tamanho do transportador de tubos de espécime. Os seguintes materiais são recomendados como material de controlo:

- Controlo positivo (1 mL por controlo):
 - 5 µL de RSV Rapid Control Pack (ZeptoMetrix, n.º de cat.: KZMC034)
 - 5 µL de NATrol Influenza A/B Positive Control (ZeptoMetrix, n.º de cat.: MDZ046)
 - Vírus SARS-CoV-2 inativado pelo calor (ATCC, VR-1986HK) na concentração final de 1000 cp/mL
 - BD™ Universal Viral Transport Medium (UVT) ou equivalente com volume final de 1 mL
- Controlo negativo: BD™ Universal Viral Transport Medium (UVT, BD, NJ) ou equivalente

Se estiver a processar controlos definidos pelo utilizador, colocar os controlos etiquetados num transportador de tubos de espécime e utilizar o ecrã tátil para carregar o transportador no NeuMoDx System a partir da prateleira do carregador automático. Assim que estiver definido (consultar o Manual do operador do NeuMoDx 288 Molecular System [P/N: 40600108] ou o Manual do utilizador do operador do NeuMoDx 96 Molecular System [P/N: 40600317]), o NeuMoDx System irá reconhecer os códigos de barras associados e iniciar automaticamente o processamento dos mesmos como controlos.

Recomenda-se que os utilizadores processem um conjunto de controlos positivos e negativos antes de processar amostras de pacientes, uma vez a cada 24 horas da operação do sistema.

Controlos (internos) do processo de amostra

Está integrado um controlo de processo de amostra (Sample Process Control, SPC2) exógeno na NeuMoDx Extraction Plate e passa por todo o processo de extração do ácido nucleico e de amplificação RT-PCR em tempo real com cada amostra. Estão também incluídos os iniciadores e a sonda específicos para o SPC2 em cada um dos poços da NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip, permitindo a deteção do SPC2 em conjunto com o ARN alvo (se presente) via RT-PCR em multiplex. A deteção da amplificação do SPC2 permite que o software do NeuMoDx System monitorize a eficácia dos processos de extração de ARN e de amplificação de PCR.

Antes da RT-PCR, o NeuMoDx System efetua automaticamente uma "FILL CHECK" (Verificação de enchimento) para assegurar que a câmara de PCR está cheia de solução e contém uma quantidade adequada de sonda fluorescente.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay no NeuMoDx Molecular System foi caracterizada em duas partes. Primeiro, foi preparada uma série de diluições utilizando estirpes-modelo de cada alvo em UVT com o fluxo de trabalho pré-tratado e, em seguida, processada pelo NeuMoDx System para determinar um valor preliminar de limite de deteção (LdD). Na segunda parte do teste, esse valor preliminar de LdD foi confirmado utilizando um estudo da taxa de identificação no NeuMoDx 288 e no NeuMoDx 96 Molecular Systems para ambos os fluxos de trabalho. O LdD preliminar é aceite se o teste da taxa de identificação obtiver uma taxa de positividade de 95% para ambos os fluxos de trabalho em ambos os sistemas. As taxas de deteção para o LdD preliminar estão descritas na *Tabela 3*; a *Tabela 4* oferece detalhes sobre a confirmação da taxa de identificação do N288 System e a *Tabela 5* oferece detalhes sobre a confirmação da taxa de identificação do N96 System.

Tabela 3. Taxas de deteção positivas para a determinação preliminar do LdD do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay

Alvo/Estirpe	Nível	Unidade	N.º de resultados válidos	N.º de positivos	% de deteção
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /mL	10	10	100%
	0,25		10	9	90,0%
Flu A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5		10	10	100%
	0,25		10	8	80,0%
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,25		10	10	100%
	0,05		10	10	100%
	0,01		8	8	100%
Flu B, Florida/78/2015 (Yamagata)	0,25		10	10	100%
	0,1		10	9	90,0%
RSV A2	0,5		9	9	100%
	0,25		9	8	88,9%
RSV B (WV/14617/85)	0,25		10	10	100%
	0,05		9	9	100%
SARS-CoV-2, Isolate USA-WA1/2020	300		cópias/mL	10	10
	200	10		10	100%
	150	10		10	100%
	100	10		7	70,0%

Vantage Test Strip
INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO
Tabela 4. Taxas de detecção positivas para a confirmação da taxa de identificação do LdD para o NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay – N288, (a) Fluxo de trabalho pré-tratado; (b) Fluxo de trabalho direto

(a) Fluxo de trabalho pré-tratado

Alvo/Estirpe	Nível	N.º de resultados válidos	N.º de positivos	% de detecção
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
Flu A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5 TCID ₅₀ /mL	23	23	100%
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
Flu B, Florida/78/2015 (Yamagata)	0,25 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
RSV A2	0,5 TCID ₅₀ /mL	21	20	95,2%
RSV B (WV/14617/85)	0,25 TCID ₅₀ /mL	22	22	100%
SARS-CoV-2, Isolate USA-WA1/2020	150 cópias/mL	23	23	100%
SARS-CoV-2, Isolate Italy-INMI1	150 cópias/mL	23	23	100%

(b) Fluxo de trabalho direto

Alvo/Estirpe	Nível	N.º de resultados válidos	N.º de positivos	% de detecção
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
Flu A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01 TCID ₅₀ /mL	24	23	95,8%
Flu B, Florida/78/2015 (Yamagata)	0,25 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
RSV A2	1 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
RSV B (WV/14617/85)	0,05 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
SARS-CoV-2, Isolate USA-WA1/2020	250 cópias/mL	23	22	95,7%
SARS-CoV-2, Isolate Italy-INMI1	250 cópias/mL	23	23	100%

Tabela 5. Taxas de detecção positivas para a confirmação da taxa de identificação do LdD para o NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay – N96, (a) Fluxo de trabalho pré-tratado; (b) Fluxo de trabalho direto

(a) Fluxo de trabalho pré-tratado

Alvo/Estirpe	Nível	N.º de resultados válidos	N.º de positivos	% de detecção
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /mL	24	23	95,8%
Flu A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5 TCID ₅₀ /mL	22	21	95,5%
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01 TCID ₅₀ /mL	24	23	95,8%
Flu B, Florida/78/2015 (Yamagata)	0,25 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
RSV A2	0,5 TCID ₅₀ /mL	22	22	100%
RSV B (WV/14617/85)	0,25 TCID ₅₀ /mL	23	23	100%
SARS-CoV-2, Isolate USA-WA1/2020	150 cópias/mL	23	22	95,7%
SARS-CoV-2, Isolate Italy-INMI1	150 cópias/mL	22	21	95,5%

(b) Fluxo de trabalho direto

Alvo/Estirpe	Nível	N.º de resultados válidos	N.º DE POS	% de detecção
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /mL	24	23	95,8%
Flu A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5 TCID ₅₀ /mL	23	23	100%
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
Flu B, Florida/78/2015 (Yamagata)	0,25 TCID ₅₀ /mL	24	23	95,8%
RSV A2	1 TCID ₅₀ /mL	22	22	100%
RSV B (WV/14617/85)	0,05 TCID ₅₀ /mL	23	23	100%
SARS-CoV-2, Isolate USA-WA1/2020	250 cópias/mL	23	22	95,7%
SARS-CoV-2, Isolate Italy-INMI1	250 cópias/mL	23	22	95,7%

Os níveis aceites como os valores de LdD para o NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay nos NeuMoDx Systems encontram-se resumidos na *Tabela 6*. O limite de detecção do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay é indicado como sendo 0,5 TCID₅₀/mL para Flu A, 0,25 TCID₅₀/mL para Flu B, 1,0 TCID₅₀/mL para RSV A, 0,05 TCID₅₀/mL para RSV B e 250 cópias/mL para SARS-CoV-2.

Vantage Test Strip
INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO
Tabela 6. Resumo do estudo do limite de detecção

Alvo	Estirpe	Limite de detecção		
		Fluxo de trabalho pré-tratado	Fluxo de trabalho direto	Unidade
Influenza A (Flu A) – H3N2	Singapore/INIFMIH-16-0019/2016	0,5	0,5	TCID ₅₀ /mL
Influenza A (Flu A) – H1N1	Michigan/272/2017 pdm09	0,5	0,5	
Influenza B (Flu B) – Victoria lineage	Colorado/6/2017	0,01	0,01	
Influenza B (Flu B) – Yamagata lineage	Florida/78/2015	0,25	0,25	
RSV A	A2	0,25	1	
RSV B	(WV/14617/85)	0,05	0,05	
SARS-CoV-2	Isolate USA-WA1/2020	150	250	cópias/mL

Interferência competitiva na detecção de SARS-CoV-2

A sensibilidade analítica do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay foi avaliada no contexto de uma coinfeção artificial de SARS-CoV-2 com os outros três alvos: Flu A, Flu B ou RSV. Este cenário foi avaliado com amostras preparadas diluindo SARS-CoV-2 inativado por calor com matriz de esfregaço negativa previamente analisada a 1x o LdD na presença dos alvos de Flu A, Flu B e/ou de RSV em concentrações $\geq 3 \text{ Log}_{10}$ TCID₅₀/mL dos respectivos níveis de LdD. A taxa de detecção de SARS-CoV-2 a nível do LdD não foi inversamente impactada pela presença de titulações virais elevadas de Flu A, Flu B, RSV A ou RSV B, *Tabela 7*.

Tabela 7. Resumo do estudo de interferência competitiva

Amostra	n	SARS-CoV-2			Flu A, Flu B, RSV A ou RSV B		
		% de positivos	Ct médio	DP	% de positivos	Ct médio	DP
SARS-CoV-2/Flu A	24	96%	33,53	0,42	100%	25,22	0,53
SARS-CoV-2/Flu B	24	96%	34,01	0,72	100%	24,43	0,46
SARS-CoV-2/RSV A	24	100%	33,76	0,44	100%	19,47	0,69
SARS-CoV-2/RSV B	24	100%	33,84	0,43	100%	20,55	0,62

Reatividade analítica e inclusividade

A reatividade do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay foi avaliada em comparação com várias estirpes/isolados de influenza A, Influenza B, vírus sincicial respiratório e SARS-CoV-2. As estirpes/isolados virais foram analisadas num mínimo de 20 réplicas. Foi analisado um total de 24 estirpes de Flu A, 6 estirpes de Flu B, 3 isolados de RSV A, 2 isolados de RSV B e 4 isolados de SARS-CoV-2; *Tabela 8*.

Tabela 8. Estirpes de Flu A, Flu B, RSV A, RSV B e SARS-CoV-2 testadas

Alvo	Estirpe	Concentração	% de pos.	
Flu A	Brisbane/02/2018	1 TCID ₅₀ /mL	95,5%	
	California/07/2009	1 TCID ₅₀ /mL	100%	
	California/07/2009 NYMC X-179A (H1N1) pdm09	18 TCID ₅₀ /mL	95,5%	
	Louisiana/08/2013 pdm 09, estirpe de referência AVR, M2: S31N, NA: H275Y	8 TCID ₅₀ /mL	100%	
	New York/18/2009 (H1N1) pdm09	6 TCID ₅₀ /mL	100%	
	Guangdong-Moanan/SWL 1536/2019	1 TCID ₅₀ /mL	100%	
	A2/Japan/305/57	32,6 pg/mL	100%	
	Korea/426/68 (HA, NA) x A/PR/8/34	6,25 pg/mL	100%	
	H3N2	Hong Kong/4801/2014	0,5 TCID ₅₀ /mL	100%
	Hong Kong/2671/2019	0,5 TCID ₅₀ /mL	100%	
	Switzerland/9715293/2013	0,5 TCID ₅₀ /mL	100%	
	Kansas/14/2017 (H3N2)	8 TCID ₅₀ /mL	100%	

Vantage Test Strip

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Alvo	Estirpe	Concentração	% de pos.	
H5N1 – H5N3	Texas/50/2012 (H3N2)	4 TCID ₅₀ /mL	100%	
	Wisconsin/15/2009 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /mL	95,5%	
	chicken/Vietnam/NCVD-016/2008(H5N1)-PR8-IDCDC-RG12	1:50 000*	100%	
	Egypt/N03072/2010(H5N1)-PR8-IDCDC-RG29	1:100 000*	100%	
	Hubei/1/2010(H5N1)-PR8-IDCDC-RG30	1:10 000*	100%	
	Duck/Pennsylvania/10218/84 (H5N2)	2,55 pg/mL	100%	
	pheasant/New Jersey/1355/1998(H5N2)-PR8-IBCDC-4	1:50 000*	100%	
	Duck/Singapore/645/97 (H5N3) V-331-0E5-271	24,8 pg/mL	100%	
	H7N2, H7N7, H7N9	A/turkey/Virginia/4529/2002 (H7N2) x PR8-IBCDC-5	1:100 000*	95,5%
		A/mallard/Netherlands/12/2000(H7N7)/PR8-IBCDC-1, ARN genômico	1:100 000*	100%
		A/Anhui/1/2013 (H7N9)	1:100 000*	100%
H10N7		A/Chick/Germany/N/49 (H10N7)	68 pg/mL	100%
Flu B	Victoria	Brisbane/60/2008	1 TCID ₅₀ /mL	100%
	Victoria	Malaysia/2506/2004	3 TCID ₅₀ /mL	100%
	Yamagata	Phuket/3703/2013	0,5 TCID ₅₀ /mL	95,2%
	N/D	Virginia/ATCC5/2012	0,02 pfu/mL	100%
	Victoria	Washington/02/2019	5 TCID ₅₀ /mL	100,0%
	Yamagata	Wisconsin/1/2010	0,05 CEID ₅₀ /mL	95,5%
RSV	RSV A	A (estirpe longa)	2 pfu/mL	95,5%
		A2001/3-12	8 TCID ₅₀ /mL	95,5%
		A2001/2-20	8 TCID ₅₀ /mL	100%
	RSV B	B, 9320	0,1 pfu/mL	100%
		B1	4 TCID ₅₀ /mL	100%
SARS-CoV-2	USA-IL1/2020	250 cp/mL	95,5%	
	USA-AZ1/2020	250 cp/mL	100%	
	USA-CA3/2020	250 cp/mL	100%	
	Hong Kong/VM20001061/2020	250 cp/mL	100%	

A reatividade do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay na detecção de diferentes isolados clínicos de SARS-CoV-2 foi demonstrada realizando uma análise *in silico* com os iniciadores e sondas do ensaio em comparação com todas as sequências disponíveis no GenBank (à data de 12 de agosto de 2020), utilizando a Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) baseada na Web e disponibilizada pelo NCBI. Os resultados demonstram que os iniciadores e sondas para SARS-CoV-2 apresentam uma homologia de 100% para mais de 98% das sequências. De forma geral, os iniciadores e sondas apresentam uma homologia >95% para todas as sequências analisadas.

Reprodutibilidade de lote para lote

A reprodutibilidade de lote para lote do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay foi verificada por análise retrospectiva dos dados gerados a partir de testes de qualificação realizados por três operadores em três NeuMoDx Systems em três dias não consecutivos para três lotes das NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test strips fabricadas de acordo com as boas-práticas médicas. O Universal Viral Transport Medium (UVT) foi enriquecido com 2,0 TCID₅₀/mL de uma estirpe representativa da Flu A e da Flu B, e RSV além de ARN genômico de SARS-CoV-2 enriquecido a 500 cópias/mL. O desvio-padrão dos valores de Ct dos três lotes e entre os mesmos das tiras de teste do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay foi ≤1,1 com coeficientes de variação (CV) ≤3,5% para todos os alvos, o que demonstra uma excelente reprodutibilidade, Tabela 9.

Vantage Test Strip

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Tabela 9. Reprodutibilidade dos três lotes das NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strips

N.º de lote	Flu A 2,0 TCID ₅₀ /mL			Flu B 2,0 TCID ₅₀ /mL			SARS-CoV-2 (500 cópias/mL)			RSV 2,0 TCID ₅₀ /mL			Controlo de processo de amostra 2 (SPC2)		
	C _t méd.	DP de C _t	% de CV	C _t méd.	DP de C _t	% de CV	C _t méd.	DP de C _t	% de CV	C _t méd.	DP de C _t	% de CV	C _t méd.	DP de C _t	% de CV
10499X	32,74	0,56	1,7%	32,46	1,10	3,4%	32,35	1,02	3,2%	30,95	0,92	3,0%	26,21	0,43	1,6%
10508X	31,73	0,57	1,8%	32,11	0,56	1,8%	32,70	0,48	1,5%	31,02	0,37	1,2%	25,88	0,73	2,8%
10519X	32,61	0,41	1,3%	32,38	0,27	0,8%	32,71	0,73	2,2%	31,03	0,23	0,7%	26,27	0,29	1,1%
Entre os três lotes	32,35	0,69	2,1%	32,31	0,74	2,3%	32,59	0,78	2,4%	31,00	0,58	1,9%	26,12	0,54	2,1%

Desempenho clínico

As características de desempenho clínico do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay foram determinadas utilizando um estudo retrospectivo interno de comparação de métodos, utilizando espécimes residuais de esfregaço nasofaríngeo (nasopharyngeal, NP) obtidos a partir de duas localizações laboratoriais geograficamente distintas.

Os espécimes residuais de esfregaço nasofaríngeo de pacientes sintomáticos foram anonimizados e foi-lhes atribuído um número de ID exclusivo pelos laboratórios clínicos, estabelecendo uma lista confidencial que associa a ID do paciente aos espécimes anonimizados para efeitos de estudo. Dos 215 espécimes individuais de esfregaço nasofaríngeo testados com os fluxos de trabalho direto e pré-tratado (tendo sido gerado um total de 439 resultados válidos), 30 espécimes foram identificados como positivos para Flu A, 30 foram identificados como positivos para Flu B, 30 foram identificados como positivos para RSV A/B (indiferenciado) e 30 espécimes foram identificados como positivos para SARS-CoV-2 pelos laboratórios clínicos. Adicionalmente, 50 espécimes individuais foram identificados como negativos para alvos de Flu A, Flu B e RSV e outros 50 espécimes individuais foram identificados como negativos para SARS-CoV-2 pelos laboratórios clínicos. O estado de teste destas amostras foi ocultado do operador de forma a implementar um "estudo cego único". Cada espécime foi analisado para cada alvo e para cada fluxo de trabalho utilizado para a testagem de espécimes. Os resultados comunicados pelos laboratórios através dos dispositivos moleculares específicos legalmente comercializados e aprovados pela FDA e CE para o teste de padrão de cuidados foram utilizados para realizar a análise de comparação de métodos.

Os resultados do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay forneceram uma sensibilidade clínica e especificidade clínica de 100% para ambos os fluxos de trabalho para o alvo de Flu A (*Tabela 10A*). Os resultados para o alvo de Flu B forneceram uma sensibilidade clínica e especificidade clínica de 96,7% e 98%, respetivamente, para ambos os fluxos de trabalho (*Tabela 10B*). Os resultados para o alvo de RSV (indiferenciado) forneceram uma sensibilidade clínica de 100% para ambos os fluxos de trabalho, enquanto a especificidade clínica para o fluxo de trabalho direto foi estabelecida como 98% e como 100% para o fluxo de trabalho pré-tratado (*Tabela 10C*). Os resultados para o alvo de SARS-CoV-2 forneceram uma sensibilidade clínica de 100% e especificidade clínica de 98% para ambos os fluxos de trabalho (*Tabela 10D*). Os limites inferior e superior dos intervalos de confiança de 95% são apresentados nas *Tabelas 10A, 10B, 10C e 10D* abaixo e foram calculados utilizando o método de Wilson com correção de continuidade.

Tabela 10A. Resumo do desempenho clínico – NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip: Detecção de Flu A

(a) Fluxo de trabalho direto e (b) Fluxo de trabalho pré-tratado

(a) Fluxo de trabalho direto

Flu A		Resultado de teste de referência aprovado pela FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	29	0	29
	NEG	0	50	50
	Total	29	50	79
Sensibilidade clínica (Flu A) = 100% (85,4%–100%)				
Especificidade clínica (Flu A) = 100% (91,1%–100%)				

(b) Fluxo de trabalho pré-tratado

Flu A		Resultado de teste de referência aprovado pela FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	0	30
	NEG	0	50	50
	Total	30	50	80
Sensibilidade clínica (Flu A) = 100% (85,9%–100%)				
Especificidade clínica (Flu A) = 100% (91,1%–100%)				

Tabela 10B. Resumo do desempenho clínico – NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip: Detecção de Flu B

(a) Fluxo de trabalho direto e (b) Fluxo de trabalho pré-tratado

(a) Fluxo de trabalho direto

Flu B		Resultado de teste de referência aprovado pela FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	29	1	30
	NEG	1	49	50
	Total	30	50	80
Sensibilidade clínica (Flu B) = 96,7% (80,9%–99,8%)				
Especificidade clínica (Flu B) = 98,0% (88,0%–99,9%)				

(b) Fluxo de trabalho pré-tratado

Flu B		Resultado de teste de referência aprovado pela FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	29	1	30
	NEG	1	49	50
	Total	30	50	80
Sensibilidade clínica (Flu B) = 96,7% (80,9%–99,8%)				
Especificidade clínica (Flu B) = 98,0% (88,0%–99,9%)				

Tabela 10C. Resumo do desempenho clínico – NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip: Detecção de RSV A/B por

(a) Fluxo de trabalho direto e (b) Fluxo de trabalho pré-tratado

(a) Fluxo de trabalho direto

RSV A/B		Resultado de teste de referência aprovado pela FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	1	31
	NEG	0	49	49
	Total	30	50	80
Sensibilidade clínica (RSV A/B) = 100% (85,9%–100%)				
Especificidade clínica (RSV A/B) = 98,0% (87,9%–99,9%)				

(b) Fluxo de trabalho pré-tratado

RSV A/B		Resultado de teste de referência aprovado pela FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	0	30
	NEG	0	50	50
	Total	30	50	80
Sensibilidade clínica (RSV A/B) = 100% (85,9%–100%)				
Especificidade clínica (RSV A/B) = 100% (91,1%–100%)				

Tabela 10D. Resumo do desempenho clínico – NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip: Detecção de SARS-CoV-2 por

(a) Fluxo de trabalho direto e (b) Fluxo de trabalho pré-tratado

(a) Fluxo de trabalho direto

SARS-CoV-2		Resultado de teste de referência aprovado pela FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	1	31
	NEG	0	49	49
	Total	30	50	80
Sensibilidade clínica (SARS-CoV-2) = 100% (85,9%–100%)				
Especificidade clínica (SARS-CoV-2) = 98,0% (87,9%–99,9%)				

(b) Fluxo de trabalho pré-tratado

SARS-CoV-2		Resultado de teste de referência aprovado pela FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	1	31
	NEG	0	49	49
	Total	30	50	80
Sensibilidade clínica (SARS-CoV-2) = 100% (85,9%–100%)				
Especificidade clínica (SARS-CoV-2) = 98,0% (87,9%–99,9%)				

Vantage Test Strip

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Especificidade analítica e reatividade cruzada

A especificidade analítica do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay foi avaliada testando um painel de 47 organismos constituído por 22 estirpes virais, 24 estirpes bacterianas e 1 estirpe de levedura, representando agentes patogénicos respiratórios comuns ou flora frequentemente presente no trato respiratório. As bactérias e leveduras foram testadas em concentrações de ~6E6 CFU/mL ou IFU/mL, exceto indicação contrária. Os vírus foram testados em concentrações de 1E5 a 1E6 TCID₅₀/mL ou cópia/mL, exceto indicação contrária. A especificidade analítica do NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay foi de 100% para Flu A, Flu B, RSV A, RSV B e SARS-CoV-2.

Tabela 11. Resultados da especificidade analítica

Organismo	Concentração	Flu A	Flu B	RSV A	RSV B	SARS-CoV-2
Adenovírus tipo 1	1E6 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-	-
Adenovírus tipo 7	1E6 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-	-
Bordetella pertussis I176	10 ng/mL	-	-	-	-	-
Candida albicans	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Chlamydia pneumoniae	6E6 IFU/mL	-	-	-	-	-
Corynebacterium xerosis	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
EBV	1E6 cp/mL	-	-	-	-	-
Escherichia coli	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Hemophilus influenzae	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
HHV 6A	1E6 cp/mL	-	-	-	-	-
HHV 7	1E6 cp/mL	-	-	-	-	-
HHV8	1E6 cp/mL	-	-	-	-	-
HSV 1	1E6 cp/mL	-	-	-	-	-
HSV2	1E6 cp/mL	-	-	-	-	-
Coronavírus humano 229E	1E5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-	-
Coronavírus humano HKU1	1E6 cp/mL	-	-	-	-	-
Coronavírus humano NL63	1E5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-	-
Coronavírus humano OC43	5E3 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-	-
Enterovírus humano 68	1E6 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-	-
Metapneumovírus humano	1E6 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-	-
Parainfluenza humana tipo 1	1E5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-	-
Parainfluenza humana tipo 2	1E5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-	-
Parainfluenza humana tipo 3	1E6 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-	-
Rinovírus humano tipo 1A	1E5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-	-
Lactobacillus acidophilus	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Lactobacillus brevis	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Lactobacillus jensonii	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Lactobacillus lactis	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Legionella pneumophila	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Sarampo	1E5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-	-
Coronavírus MERS EMC/2012	0,5 ng/mL	-	-	-	-	-
Moraxella catarrhalis	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Vírus da papeira	1E5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-	-
Mycobacterium tuberculosis	10 ng/mL	-	-	-	-	-
Mycoplasma pneumoniae	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Neisseria gonorrhoeae	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Neisseria meningitidis Serogrupo A	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Neisseria meningitidis Serogrupo B	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Neisseria meningitidis Serogrupo C	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Neisseria meningitidis Serogrupo D	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Coronavírus SARS	1E6 pfu/mL	-	-	-	-	-
Staphylococcus aureus	1E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Staphylococcus epidermidis	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Streptococcus pneumoniae	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Streptococcus pyogenes	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Streptococcus salivarius	6E6 CFU/mL	-	-	-	-	-
Flu A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	3x o LdD	+	-	-	-	-
Flu B, Florida/78/2015 (Yamagata)	3x o LdD	-	+	-	-	-
RSV A, A2	3x o LdD	-	-	+	-	-
RSV B (WV/14617/85)	3x o LdD	-	-	-	+	-
SARS-CoV-2, USA-WA1/2020	3x o LdD	-	-	-	-	+
Controlo negativo (sem agentes patogénicos)	N/D	-	-	-	-	-

Vantage Test Strip

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Substâncias interferentes – Organismos comensais

O NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay foi testado quanto à interferência na presença de organismos não alvo (potencialmente presentes no trato respiratório superior) avaliando o desempenho do ensaio com níveis reduzidos (~3x o LdD) de Flu A, Flu B, RSV A, RSV B e SARS-CoV-2 na presença de concentrações elevadas dos organismos listados na *Tabela 11*, acima. Não foi observada uma interferência na detecção de qualquer alvo com qualquer um dos organismos comensais.

Substâncias interferentes – Endógenas/exógenas

O NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay foi avaliado quanto à suscetibilidade a interferências causadas por substâncias potencialmente associadas à colheita de espécimes de esfregaço nasofaríngeo. Os espécimes clínicos residuais negativos de esfregaço nasofaríngeo foram individualmente enriquecidos com Flu A, Flu B, RSV A, RSV B ou SARS-CoV-2 a 3x o LdD e processados na presença e ausência dos agentes apresentados abaixo na *Tabela 12*. Nenhuma das substâncias incluídas na testagem teve um efeito adverso no desempenho do ensaio para qualquer um dos alvos.

Tabela 12. Substâncias testadas quanto a interferência

	Substância	Descrição/ingrediente ativo	Concentração*
Exógenas	Neo-Sinefrina	Fenilefrina	15% v/v
	Afrin Nasal Spray	Oximetazolina	15% p/v
	Spray nasal de solução salina	Cloreto de sódio com conservantes	15% v/v
	Zicam Nasal Spray	Luffa operculata, Galphimia glauca, hidrocloreto de histamina, enxofre	15% v/v
	Corticosteroide nasal – Flonase	Fluticasona	5% v/v
	Corticosteroide nasal – Rhinocort	Budesonida	5% v/v
	Corticosteroide nasal – Nasacort	Triamcinolona	5% v/v
	Corticosteroide nasal – Dexametasona	Dexametasona	10 mg/mL
	Corticosteroide nasal – Mometasona	Mometasona	10 mg/mL
	Corticosteroide nasal – Beclometasona	Beclometasona	10 mg/mL
	Chloraseptic Throat Lozenge	Benzocaína, mentol	2 mg/mL
	Antibiótico, pomada nasal	Mupirocina	10 mg/mL
	Relenza Antiviral Drug	Zanamivir	7,5 mg/mL
	Tamiflu Antiviral Drug	Osetamivir	25 mg/mL
	Antibiótico, sistêmico	Tobramicina	1,5 mg/mL
Endógenas	Mucina	Proteína mucina purificada	2,5% p/v
	Sangue humano	Sangue	2% v/v

*Nota: As concentrações apresentadas são as utilizadas para saturar esfregaços antes de dosear amostras clínicas positivas artificiais com substâncias interferentes. Desse modo, são representativas do nível, na área de colheita do esfregaço, que pode ser tolerado.

REFERÊNCIAS

- 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.

MARCAS COMERCIAIS

BD™ é uma marca comercial da Becton, Dickinson and Company

Bio VTM™ é uma marca comercial da Biologos LLC.

Hamilton® é uma marca comercial registada da Hamilton Company

Minitip Nylon® Flocked Swab é uma marca comercial registada da Copan Diagnostics, Inc.


NeuMoDx™ e NeuDry™ são marcas comerciais da NeuMoDx Molecular, Inc. TaqMan® é uma marca comercial registada da Roche Molecular Systems, Inc.

UTM-RT® é uma marca comercial registada da Copan Diagnostics, Inc.

Todos os outros nomes de produto, marcas comerciais e marcas comerciais registadas que possam ser referidos neste documento pertencem aos respetivos proprietários.

SÍMBOLOS

R only Sujeito a receita médica


 Fabricante


IVD Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*


EC REP Representante autorizado na Comunidade Europeia


REF Número de catálogo


LOT Código de lote

 Data de validade

 Limite de temperatura

 Não reutilizar

 Contém o suficiente para <n> testes

 Consultar as instruções de utilização

 Cuidado

 Riscos biológicos

CE Marcação CE



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

+1 888 301 NMDX (6639)

support@qiagen.com

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



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands



Relatórios de vigilância: support@qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents