

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

CUIDADO: Apenas para distribuição fora dos EUA

IVD Para uso em diagnóstico *in vitro* com os NeuMoDx 288 e NeuMoDx 96 Molecular Systems*Para obter atualizações de folhetos informativos, visite: www.qiagen.com/neumodx-ifu**Para obter instruções detalhadas, consulte o Manual do operador do NeuMoDx 288 Molecular System; nº de ref. 40600108 [REF 500100]**Para obter instruções detalhadas, consulte o Manual do operador do NeuMoDx 96 Molecular System; nº de ref. 40600317 [REF 500200] ou nº de ref. 40600655 [REF 500201]**Para obter instruções detalhadas, consulte as Instruções de uso do NeuMoDx Saliva Collection Kit; nº de ref. 40600441*

USO PREVISTO

O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, realizado no NeuMoDx 288 Molecular System e no NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx Molecular System[s]), é um teste de diagnóstico de real-time RT-PCR destinado à detecção qualitativa de RNA do coronavírus SARS-CoV-2 em swabs nasais, nasofaríngeos e orofaríngeos em meio para transporte e espécimes de lavado broncoalveolar (LBA) de indivíduos com suspeita de COVID-19 pelo seu profissional de saúde.

Este teste também pode ser usado com espécimes de saliva coletados em ambiente de cuidados de saúde por indivíduos usando o NeuMoDx Saliva Collection Kit quando um profissional de saúde determina que é apropriado.

Os resultados são para a identificação de RNA do SARS-CoV-2. O RNA de SARS-CoV-2 é geralmente detectável em espécimes das vias respiratórias durante a fase aguda da infecção. Resultados positivos são indicativos da presença de RNA do SARS-CoV-2. A correlação clínica com o histórico do paciente e outras informações de diagnóstico é necessária para determinar o estado de infecção do paciente. Resultados positivos não descartam uma infecção bacteriana ou coinfeção com outros vírus. Os laboratórios nos Estados Unidos e seus territórios são obrigados a relatar todos os resultados positivos às autoridades de saúde pública apropriadas.

Resultados negativos não excluem infecção por SARS-CoV-2 e não devem ser usados como o único fundamento para as decisões de acompanhamento do paciente. Os resultados negativos devem ser combinados com observações clínicas, histórico do paciente e informações epidemiológicas. Os resultados negativos para RNA do SARS-CoV-2 na saliva devem ser confirmados pela testagem de um tipo de espécime alternativo se clinicamente indicado.

O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay destina-se a ser usado por pessoal de laboratório clínico qualificado, especificamente instruído e treinado nas técnicas de real-time PCR e procedimentos de diagnóstico *in vitro*.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

Os swabs nasofaríngeos, orofaríngeos ou nasais são coletados em Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) System ou BD™ Universal Viral Transport System (UVT). Na preparação para os testes, o tubo de coleta primário (com o swab e a tampa removidos), uma alíquota pura do meio de amostra ou uma alíquota do meio para transporte pré-tratado com NeuMoDx Viral Lysis Buffer em um tubo de amostra secundário, é identificado com código de barras e carregado no NeuMoDx System usando um transportador de tubos de espécime designado, após o qual o processamento começa automaticamente. Para cada espécime, uma alíquota de 400 µL é aspirada pelo NeuMoDx System e misturada com NeuMoDx Lysis Buffer 3 (amostras diretas) ou NeuMoDx Lysis Buffer 2 (amostras pré-tratadas).

Os espécimes de saliva são coletados no NeuMoDx Saliva Collection Kit de acordo com as Instruções de uso (nº de ref. 40600441). Na preparação para os testes, a saliva coletada é transferida do NeuMoDx Saliva Collection Vial para o NeuMoDx Specimen Stabilization Tube usando a pipeta de transferência para estabelecer uma proporção de 1:1,67 de saliva/SSB (v/v). A saliva e o tampão de estabilização são misturados minuciosamente invertendo o frasco 5–8 vezes. A saliva estabilizada pode ser testada diretamente no NeuMoDx System ou armazenada para testes posteriores.

O NeuMoDx System executa automaticamente todas as etapas necessárias para extrair o ácido nucleico-alvo, preparar o RNA isolado para a transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) em tempo real e, se presentes, amplificar e detectar os produtos de amplificação: o gene da proteína não estrutural 2 (Nsp2) e o gene N do genoma do SARS-CoV-2. O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay inclui um controle de processo de amostras (Sample Process Control 2, SPC2) de RNA para ajudar a monitorar a presença de potenciais substâncias inibidoras e de falhas do NeuMoDx System ou de reagentes que podem ocorrer durante o processo de extração e amplificação.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay combina extração de RNA automatizada com amplificação e detecção por real-time RT-PCR. As amostras nasofaríngeas, orofaríngeas ou nasais são coletadas no Copan UTM-RT System ou no BD UVT System. Os espécimes de saliva são coletados no NeuMoDx Saliva Collection Kit. Existem dois fluxos de trabalho disponíveis para a preparação de espécimes de swab com o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. O fluxo de trabalho Direct (Direto) permite que o tubo de coleta de swab ou uma alíquota do meio para transporte em um tubo secundário seja carregado no NeuMoDx System para processamento sem mais intervenção. Alternativamente, o meio de amostra de swab é pré-tratado com o NeuMoDx Viral Lysis Buffer antes de ser colocado no NeuMoDx System para processamento. Para o espécime de saliva, o operador carrega o tubo de estabilização de espécime primário contendo saliva estabilizada diretamente no NeuMoDx System. O NeuMoDx System inicia automaticamente o processamento aspirando uma alíquota da matriz de amostras de swab ou da saliva estabilizada e misturando-a com NeuMoDx Lysis Buffer e os reagentes contidos na NeuMoDx Extraction Plate. O NeuMoDx System automatiza e integra extração e concentração de RNA, preparação de reagentes para PCR e amplificação/detecção de ácido nucleico das sequências-alvo usando real-time RT-PCR. O controle de processo de amostras (Sample Process Control 2, SPC2) incluído ajuda a monitorar a presença de substâncias inibidoras e falhas de sistema, processos ou reagentes. Não é necessária qualquer intervenção do operador uma vez que o espécime estiver carregado no NeuMoDx System.

O NeuMoDx System usa uma combinação de calor, enzima lítica e reagentes de extração para efetuar automaticamente a lise, a extração de RNA e a remoção de inibidores usando os reagentes NeuMoDx disponíveis separadamente. Os ácidos nucleicos liberados são capturados por partículas paramagnéticas. As partículas, com ácido nucleico ligado, são carregadas no NeuMoDx Cartridge, onde os elementos não ligados são retirados por lavagem usando NeuMoDx Wash Reagent. O RNA ligado é, em seguida, eluído usando o NeuMoDx Release Reagent. O NeuMoDx System usa o RNA eluído para reidratar a mistura de RT-PCR de amplificação NeuDry™ patenteada contendo todos os elementos necessários para a amplificação dos alvos específicos de SARS-CoV-2 e SPC2. Isso permite a amplificação e a detecção simultâneas dos alvos e do SPC2 em uma reação. Após a reconstituição dos reagentes de RT-PCR secos, o NeuMoDx System dispensa a mistura preparada pronta para RT-PCR em uma câmara de PCR (por espécime) do NeuMoDx Cartridge. A transcrição reversa, a amplificação e a detecção das sequências do controle e do alvo (se presentes) ocorrem na área da câmara de PCR. O NeuMoDx Cartridge foi projetado para conter o amplicon decorrente da RT-PCR, eliminando praticamente o risco de contaminação pós-amplificação.

Os alvos amplificados são detectados em tempo real usando química de sondas de hidrólise (comumente chamada de química TaqMan®) usando moléculas de sonda fluorogênica de oligonucleotídeos específicas dos amplicons dos respectivos alvos. As sondas TaqMan consistem em um fluoróforo covalentemente ligado à extremidade 5' da sonda de oligonucleotídeos e um supressor na extremidade 3'. Enquanto a sonda estiver intacta, o fluoróforo e o supressor estão próximos, permitindo que a molécula supressora suprima a fluorescência emitida pelo fluoróforo via transferência de energia por ressonância de Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

As sondas TaqMan foram projetadas para anelarem-se dentro de uma região do DNA amplificada por um conjunto específico de primers. À medida que a Taq DNA polimerase expande o primer e sintetiza a nova cadeia, a atividade exonuclease de 5' a 3' da Taq DNA polimerase degrada a sonda que se anelou ao modelo. A degradação da sonda libera o fluoróforo e quebra a sua proximidade com o supressor, superando assim o efeito de supressão devido à FRET e permitindo a detecção do fluoróforo. O sinal fluorescente resultante detectado no termociclador de RT-PCR quantitativa do NeuMoDx System é diretamente proporcional ao fluoróforo liberado e pode ser correlacionado à quantidade de alvo presente. Uma sonda TaqMan marcada com um fluoróforo FAM (470/510 nm) é usada para detectar a região Nsp2 do genoma do SARS-CoV-2 e uma sonda TaqMan marcada com um fluoróforo HEX (530/555 nm) é usada para detectar o gene N do genoma do SARS-CoV-2. Para a detecção do SPC2, a sonda TaqMan é marcada com um fluoróforo Far-Red (680/715 nm). O software do NeuMoDx System monitora o sinal fluorescente emitido pelas sondas TaqMan no final de cada ciclo de amplificação. Quando a amplificação é concluída, o software do NeuMoDx System analisa os dados e relata um resultado (POSITIVE [POSITIVO]/NEGATIVE [NEGATIVO]/INDETERMINATE [INDETERMINADO]/NO RESULT [SEM RESULTADO]/UNRESOLVED [NÃO RESOLVIDO]).

REAGENTES/CONSUMÍVEIS

Material fornecido

REF.	Conteúdo	Testes por unidade	Testes por embalagem
300800	NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip <i>Reagentes de RT-PCR secos contendo sondas e primers TaqMan específicos para SARS-CoV-2 e sondas e primers TaqMan específicos para SPC2</i>	16	96

Materiais adicionais necessários, mas não fornecidos (disponibilizados separadamente pela NeuMoDx)

REF.	Conteúdo
100100	NeuMoDx Cartridge
100200	NeuMoDx Extraction Plate
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
400500 (Opcional*)	NeuMoDx Lysis Buffer 2
400600**	NeuMoDx Lysis Buffer 3
401600 (Opcional*)	NeuMoDx Viral Lysis Buffer
235903	Ponteiras Hamilton CO-RE/CO-RE II (300 µL) com filtros
235905	Ponteiras Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µL) com filtros

*Só é necessário se for desejada uma etapa de pré-tratamento para a lise externa antes do carregamento das amostras. Consulte a seção "Instruções de uso".

**Só é necessário para o processamento direto de amostras puras. Consulte a seção "Instruções de uso" abaixo.

Swab e meio de transporte (não fornecidos)

Tipo de amostra	Dispositivos de coleta	Dispositivo de coleta recomendado	Swab recomendado
Swab nasofaríngeo	Aplicador de plástico com swabs estéreis de rayon e poliéster fiados e swabs flocados de nylon coletados em UTM®: Universal Transport Medium (Copan Diagnostic Inc, CA) ou UVT BD Universal Viral Transport System (UVT) (BD, NJ)	3 mL/1 mL de Universal Transport Medium (Copan UTM-RT) ou Universal Viral Transport System (BD UVT)	Flexible Minitip Size Nylon® Flocked Swab (Copan) ou Flexible Minitip Flocked Swab (BD)
Swab orofaríngeo			
Swab nasal			

Material de coleta de saliva (disponibilizado separadamente pela NeuMoDx)

REF.	Conteúdo
100500	NeuMoDx Saliva Collection Kit Contém (1) NeuMoDx Saliva Collection Vial, (1) NeuMoDx Specimen Stabilization Tube com 1 mL de NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer e (1) pipeta de transferência descartável (suficiente para a coleta de uma amostra por kit; consulte as instruções de uso para obter detalhes; nº de ref. 40600441)

Instrumentos necessários

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] ou NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200 ou 500201].



AVISOS E PRECAUÇÕES

- O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay é destinado para uso em diagnóstico *in vitro* exclusivamente com os NeuMoDx Systems.
- Sujeito a prescrição médica.
- Não reutilizar.
- Os espécimes devem ser sempre manuseados como se fossem infecciosos e de acordo com procedimentos laboratoriais de segurança como os descritos na publicação Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories¹ e no documento M29-A4 do CLSI.²
- A utilização do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay está limitada a pessoal treinado no uso do NeuMoDx System e no manuseio de materiais infecciosos.
- Para testar espécimes de saliva, o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay deve ser usado exclusivamente com o NeuMoDx Saliva Collection Kit.
- Não use os reagentes ou consumíveis após a data de validade indicada.
- Não use um reagente se o respectivo selo de segurança estiver rompido ou se a embalagem estiver danificada no momento da entrega.
- Não use consumíveis ou reagentes se a respectiva bolsa protetora estiver aberta ou quebrada no momento da entrega.

- O volume mínimo de espécime de alíquotas secundárias depende do tamanho do tubo/transportador de tubos de espécime, conforme definido abaixo. Volumes inferiores ao mínimo especificado poderão resultar em um erro "Quantity Not Sufficient" (Quantidade insuficiente).
- O uso de espécimes armazenados a temperaturas inadequadas ou além dos prazos de armazenamento especificados poderá produzir resultados inválidos ou errôneos.
- Evite a contaminação microbiana e por ribonuclease (RNase) de todos os reagentes e consumíveis. É recomendado o uso de pipetas de transferência descartáveis estéreis e livres de RNase com barreiras de aerossol ao usar tubos secundários. Use uma pipeta nova para cada espécime.
- Para evitar contaminação, não manuseie ou destrua qualquer NeuMoDx Cartridge pós-amplificação. Sob nenhuma circunstância recolha os NeuMoDx Cartridges do recipiente de resíduos de risco biológico (NeuMoDx 288 Molecular System) ou da lixeira de resíduos de risco biológico (NeuMoDx 96 Molecular System). O NeuMoDx Cartridge foi projetado para evitar contaminação.
- Caso o laboratório também realize testes de PCR em tubo aberto, é necessário ter cuidado para garantir que a NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip, os outros consumíveis e reagentes necessários para os testes, o equipamento de proteção individual, como luvas e jalecos, e o NeuMoDx System não sejam contaminados.
- É necessário usar luvas nitrílicas sem talco e limpas ao manusear reagentes e consumíveis NeuMoDx. É necessário ter cuidado para não tocar na superfície superior do NeuMoDx Cartridge, na superfície da película de alumínio da NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip e da NeuMoDx Extraction Plate ou na superfície superior dos recipientes de NeuMoDx Lysis Buffer; os consumíveis e reagentes devem ser manuseados tocando somente nas superfícies laterais.
- As folhas de dados de segurança (FDS) estão disponíveis em www.qiagen.com/safety
- Lave muito bem as mãos após realizar o teste.
- Não pipete com a boca. Não fume, beba ou coma em áreas onde estão sendo manuseados espécimes ou reagentes.
- Descarte os reagentes não usados e resíduos de acordo com os regulamentos nacionais, federais, regionais, estaduais e locais.
- Os instrumentos e procedimentos de ensaio reduzem o risco de contaminação pelo produto da amplificação. No entanto, a contaminação por ácido nucleico dos controles ou espécimes positivos deve ser controlada por boas práticas de laboratório.
- É recomendável aplicar boas práticas de laboratório, incluindo a troca de luvas entre o manuseio de espécimes de pacientes para evitar contaminação.
- Ao trabalhar com produtos químicos, sempre use um jaleco adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as folhas de dados de segurança (FDS) apropriadas. Elas estão disponíveis online em formato PDF compacto e conveniente em www.qiagen.com/safety, onde é possível encontrar, visualizar e imprimir a FDS de cada kit e componente do kit NeuMoDx.

Precauções

NeuMoDx SARS-CoV-2-Assay	
PERIGO 	<p>Contém: ácido bórico.</p> <p>Pode prejudicar a fertilidade ou o feto.</p> <p>Obtenha instruções especiais antes de usar. Não manuseie antes de ler e compreender todas as precauções de segurança. Use luvas de proteção/roupas de proteção/proteção ocular/proteção facial. EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: Consulte um médico. Armazene trancado. Descarte o conteúdo/recipiente em uma instalação aprovada de acordo com os regulamentos locais, regionais, nacionais e internacionais.</p>

Informações de emergência

CHEMTREC

Fora dos EUA e Canadá +1 703-527-3887

Descarte

Descarte como resíduo nocivo de acordo com os regulamentos locais e nacionais. Isso também se aplica a produtos não usados.

Siga as recomendações da Folha de dados de segurança (FDS).



ARMAZENAMENTO, MANUSEIO E ESTABILIDADE DO PRODUTO

- As NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strips permanecem estáveis em sua embalagem primária até a data de validade indicada no rótulo do produto quando armazenadas entre 4 e 28 °C.
- Não use consumíveis ou reagentes após a data de validade indicada.
- Não use qualquer produto de teste se a embalagem primária ou secundária apresentar danos visíveis.
- Não carregue novamente nenhum produto de teste que tenha sido carregado anteriormente em outro NeuMoDx System.

- Uma vez carregada, a NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip pode permanecer dentro do NeuMoDx System por 7 dias. A vida útil restante das tiras de teste carregadas é controlada pelo software e informada ao usuário em tempo real. O sistema solicitará a remoção das tiras de teste que tiverem sido usadas além do prazo permitido.

COLETA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIMES

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

Espécimes nasofaríngeos e nasais

Os espécimes devem ser coletados usando o Copan UTM-RT System ou BD UVT System com os swabs flocados de nylon validados (consulte os materiais não fornecidos). Além disso, swabs flocados, de poliéster e de rayon são tipos de swab aceitáveis. Siga as instruções do fabricante para a coleta, o transporte e o armazenamento fornecidas nas instruções de uso do Copan UTM-RT System/BD UVT System:

- Após a coleta, o espécime deve ser armazenado entre 2–25 °C e processada no prazo de 48 horas.
- Se a entrega e o processamento excederem 48 horas, os espécimes deverão ser transportados em gelo seco e, uma vez no laboratório, congelados a -70 °C ou mais frio.

Espécimes de saliva

Para obter instruções detalhadas, consulte NeuMoDx Saliva Collection Kit; nº de ref. 40600441

Os espécimes de saliva devem ser coletados usando o NeuMoDx Saliva Collection Kit. A saliva coletada é transferida do NeuMoDx Saliva Collection Vial para o NeuMoDx Specimen Stabilization Tube usando a pipeta de transferência para estabelecer uma proporção de 1:1,67 de saliva/SSB (v/v). A saliva e o tampão de estabilização são misturados minuciosamente invertendo o frasco 5–8 vezes. A saliva estabilizada pode ser testada diretamente no NeuMoDx System ou armazenada para testes posteriores.

- Os espécimes de saliva podem ser armazenados por até 2 horas em condições ambientais antes de serem misturadas com o NeuMoDx Stabilization Buffer (SSB).
- Após misturar a saliva com o tampão de estabilização, verifique o volume no tubo de estabilização de espécime. Se o volume total estiver abaixo da linha de enchimento, adicione água de grau molecular para levar o volume total até a linha de enchimento.
- A saliva estabilizada pode ser armazenada por até 24 horas em condições ambientais e por até 7 dias a 2–8 °C. O espécime deve atingir a temperatura ambiente antes do teste.
- A saliva estabilizada pode ser armazenada por 12 horas dentro dos NeuMoDx Molecular Systems.
- A saliva estabilizada deve ser transportada em bolsas de gelo e, em seguida, refrigerada a 2–8 °C se o tempo entre a coleta e o processamento exceder 48 horas.

INSTRUÇÕES DE USO

O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay acomoda dois fluxos de trabalho diferentes, dependendo da preferência do usuário/laboratório:

Fluxo de trabalho 1: DIRECT (Direto) – o espécime de swab em meio para transporte e a saliva em tampão de estabilização são carregados diretamente no NeuMoDx System em um tubo de coleta primário ou em tubos de espécime secundários

-ou-

Fluxo de trabalho 2: PRETREATED (Pré-tratado) – o espécime de swab em meio para transporte é pré-tratado com NeuMoDx Viral Lysis Buffer antes de ser carregado no NeuMoDx System em um tubo de coleta primário ou em tubos de espécime secundários

Preparação para teste – Fluxo de trabalho DIRECT (Direto) para amostras de swab e saliva diretas

Nota: Permita que todas as amostras alcancem a temperatura ambiente (15 a 30 °C) antes do processamento.

1. Aplique uma etiqueta de código de barras de espécime em um tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System, conforme descrito nas etapas 4 e 5 abaixo.
2. Se estiver testando o espécime no tubo de coleta primário (espécimes de swab) ou no tubo de estabilização de espécime (espécimes de saliva), coloque o tubo com código de barras em um transportador de tubos de espécime e certifique-se de remover a tampa e/ou swab antes de carregar no NeuMoDx System.
3. Alternativamente, uma alíquota do meio para transporte ou da saliva estabilizada pode ser transferida para um tubo secundário com código de barras e colocada em um transportador de tubos de espécime de 32 tubos. Se estiver usando um tubo secundário, transfira uma alíquota do meio para transporte ou da saliva estabilizada para o tubo de espécime com código de barras compatível com o NeuMoDx System de acordo com os volumes definidos abaixo:
4. *Para espécimes de swab:*
 - Transportador de tubos de espécime (32 tubos): 11–14 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura; volume de enchimento mínimo $\geq 550 \mu\text{L}$
 - Transportador de tubos de espécime (24 tubos): 14,5–18 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura; volume de enchimento mínimo $\geq 1000 \mu\text{L}$
 - Transportador de tubos de espécime de baixo volume (32 tubos): tubo para microcentrífuga de fundo cônico de 1,5 mL; volume de enchimento mínimo $\geq 500 \mu\text{L}$

5. *Para espécimes de saliva estabilizada:*

- Transportador de tubos de espécime (32 tubos): 11–14 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura; volume de enchimento mínimo $\geq 800 \mu\text{L}$
- Transportador de tubos de espécime de baixo volume (32 tubos): tubo para microcentrifuga de fundo cônico de 1,5 mL; volume de enchimento mínimo $\geq 700 \mu\text{L}$

Preparação para teste – Fluxo de trabalho PRETREATED (Pré-tratado) para amostras de swab pré-tratadas

Nota: Permita que todas as amostras alcancem a temperatura ambiente (15 a 30 °C) antes do processamento.

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

1. Trate previamente o meio para transporte da amostra com um volume de 1:1 de NeuMoDx Viral Lysis Buffer. Isso pode ser feito no tubo de coleta de swab primário se o volume de meio para transporte for conhecido. Alternativamente, o pré-tratamento pode ser feito em um tubo secundário combinando uma alíquota do meio para transporte com um volume igual de NeuMoDx Viral Lysis Buffer. A mistura resultante deve atender aos requisitos de volume mínimo especificados abaixo.
2. Misture suavemente com a pipeta para garantir uma distribuição uniforme do NeuMoDx Viral Lysis Buffer.
3. Se estiver testando o espécime no tubo de coleta primário, coloque o tubo com código de barras em um transportador de tubos de espécime e certifique-se de remover a tampa e o swab antes de carregar no NeuMoDx System.
4. Se estiver usando um tubo secundário, transfira uma alíquota do lisado de meio para transporte para o tubo de espécime com código de barras compatível com o NeuMoDx System de acordo com os volumes definidos abaixo:
 - Transportador de tubos de espécime (32 tubos): 11–14 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura; volume de enchimento mínimo $\geq 550 \mu\text{L}$
 - Transportador de tubos de espécime (24 tubos): 14,5–18 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura; volume de enchimento mínimo $\geq 1000 \mu\text{L}$
 - Transportador de tubos de espécime de baixo volume (32 tubos): tubo para microcentrifuga de fundo cônico de 1,5 mL; volume de enchimento mínimo $\geq 500 \mu\text{L}$

Operação do NeuMoDx System

Para obter instruções detalhadas, consulte os Manuais do operador dos NeuMoDx 288 e 96 Molecular Systems (nº de ref. 40600108 e 40600317/40600655)

1. Carregue o pedido de teste no NeuMoDx System de acordo com fluxo de trabalho usado na preparação para teste:
 - As amostras de swab puras e não tratadas, preparadas usando o fluxo de trabalho DIRECT (Direto), são testadas definindo a amostra como "Transport Medium" (Meio para transporte)
 - As amostras de swab pré-tratadas, usando o fluxo de trabalho PRETREATED (Pré-tratado), são testadas definindo o espécime como "UserSpecified1" (Especificado pelo usuário 1)
 - A saliva estabilizada, usando o fluxo de trabalho DIRECT (Direto), é testada definindo o espécime como "UserSpecified2" (Especificado pelo usuário 2)
2. Preencha um ou mais transportadores de tiras de teste com NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip(s) e use a tela sensível ao toque para carregar o(s) transportador(es) de tiras de teste no NeuMoDx System.
3. Se solicitado pelo software do NeuMoDx System, adicione os consumíveis necessários do instrumento (NeuMoDx Cartridges, NeuMoDx Extraction Plates, NeuMoDx Lysis Buffer 2, NeuMoDx Lysis Buffer 3, ponteiras CO-RE) nos transportadores de consumíveis do NeuMoDx System e use a tela sensível ao toque para carregar o(s) transportador(es) no NeuMoDx System, conforme apropriado.
4. Se solicitado pelo software do NeuMoDx System, reponha NeuMoDx Wash Reagent e/ou NeuMoDx Release Reagent conforme apropriado.
5. Se solicitado pelo software do NeuMoDx System, esvazie os resíduos de preparação, o recipiente de resíduos de risco biológico (somente NeuMoDx 288 Molecular System), a lixeira de resíduos de ponteiras (somente NeuMoDx 96 Molecular System) ou a lixeira de resíduos de risco biológico (somente NeuMoDx 96 Molecular System), conforme apropriado.
6. Carregue o(s) espécime(s) em um transportador de tubos de espécime e certifique-se de remover as tampas de todos os tubos.
7. Coloque o(s) transportador(es) de tubos de espécime na prateleira de autocarregamento e use a tela sensível ao toque para carregar o(s) transportador(es) no NeuMoDx System. Isso iniciará o processamento dos espécimes carregados para os testes identificados, desde que haja um pedido de teste válido no sistema.

LIMITAÇÕES

- O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay só foi avaliado para uso em NeuMoDx Molecular Systems.
- O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay foi concebido para a detecção de RNA do SARS-CoV-2 em amostras de swab nasofaríngeo, orofaríngeo e nasal coletadas com o Copan UTM-RT System (UTM-RT) ou BD Universal Viral Transport System (UVT) ou amostras de saliva coletadas usando o NeuMoDx Saliva Collection Kit. O uso do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay com outros tipos de amostra não foi avaliado e as características de desempenho são desconhecidas.
- A confiabilidade dos resultados depende da coleta, do manuseio e do armazenamento adequados do espécime.
- Os swabs nasais e de corneto nasal médio e os espécimes de lavado broncoalveolar são considerados tipos de espécimes aceitáveis para uso com o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, mas o desempenho com esses tipos de espécimes não foi estabelecido. Os testes de swabs nasais e de corneto nasal médio (autocoletados sob supervisão ou coletados por um profissional de saúde) são limitados a pacientes com sintomas de COVID-19.
- Para testar espécimes de saliva, o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay deve ser usado exclusivamente com o NeuMoDx Saliva Collection Kit.
- Podem ocorrer resultados errôneos devido a problemas de coleta, manuseio, armazenamento, erro técnico ou confusão entre tubos de espécime. Um volume incorreto de saliva no tubo de estabilização de espécime pode reduzir a sensibilidade do teste. Além disso, podem ocorrer resultados falso-negativos devido a uma quantidade de partículas virais na amostra inferior ao limite de detecção do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay.
- Se ambos os alvos de SARS-CoV-2 e de SPC2 não forem amplificados, é relatado um resultado inválido (Indeterminate [Indeterminado], No Result [Sem resultado] ou Unresolved [Não resolvido]) e o teste deverá ser repetido.
- Exclusões ou mutações nas regiões que são alvo do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay podem afetar a detecção ou levar a um resultado errôneo.
- A presença da pasta de dentes Crest® Pro-Health Advanced Gum Protection em espécimes de saliva pode potencialmente interferir na detecção do RNA de SARS-CoV-2 e pode gerar um resultado errôneo.
- Um resultado positivo é indicativo da presença de RNA do SARS-CoV-2, mas não indica necessariamente a presença de SARS-CoV-2 infeccioso.
- Resultados negativos não excluem infecção pelo vírus do SARS-CoV-2 e não devem ser o único fundamento para uma decisão de tratamento/gestão do paciente ou de saúde pública.
- Os resultados do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay devem ser usados como um complemento às observações clínicas e outras informações à disposição do médico.
- É recomendável aplicar boas práticas de laboratório, incluindo a troca de luvas entre o manuseio de espécimes de pacientes para evitar contaminação.

RESULTADOS

Os resultados de teste disponíveis podem ser visualizados ou impressos na guia "Results" (Resultados), da janela "Results" (Resultados), na tela sensível ao toque do NeuMoDx System. O resultado de um teste é declarado como Positive (Positivo, POS), Negative (Negativo, NEG), Indeterminate (Indeterminado, IND), No Result (Sem resultado, NR) ou Unresolved (Não resolvido, UNR) com base no estado de amplificação do alvo e do controle de processo de amostras (Sample Process Control 2, SPC2).

Os critérios para uma determinação positiva ou negativa estão especificados no arquivo de definições de ensaio (Assay Definition File, ADF) de SARS-CoV-2 da NeuMoDx instalado no NeuMoDx System. Os resultados para espécimes de swab e saliva são relatados com base no algoritmo de decisão do ADF, resumido nas *Tabelas 1 e 2*, respectivamente, abaixo.

Todos os controles de teste devem ser examinados antes da interpretação dos resultados dos pacientes. Se os controles não forem válidos, os resultados dos pacientes não poderão ser interpretados.

Tabela 1. Interpretação dos resultados do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

RESULTADO GLOBAL	ALVO 1 (gene Nsp2), FAM	ALVO 2 (gene N), HEX	CONTROLE DE PROCESSO (SPC2), Far Red	Interpretação
POSITIVE (POSITIVO)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) [5 ≤ Ct < 20 E EPR ≥ 1,2 E EP ≥ 700] OU (20 ≤ Ct ≤ 40 E EP ≥ 700)	N/A	N/A	RNA do SARS-CoV-2 detectado**
	N/A	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) (5 ≤ Ct < 20 E EPR ≥ 1,5) E EP ≥ 1000] OU (20 ≤ Ct ≤ 40 E EP > 1000)		
NEGATIVE (NEGATIVO)	NOT AMPLIFIED (NÃO AMPLIFICADO) N/A OU (5 ≤ Ct < 20 E EPR < 1,2) OU (20 ≤ Ct ≤ 40 E EP < 700) OU (Ct > 40)	NOT AMPLIFIED (NÃO AMPLIFICADO) N/A OU (5 ≤ Ct < 20 E EPR < 1,5) OU (20 ≤ Ct ≤ 40 E EP < 1000) OU (Ct > 40)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) (24 ≤ Ct ≤ 33 E EP ≥ 1000)	RNA do SARS-CoV-2 não detectado
IND*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Completed (Não amplificado/erros de sistema detectados, processamento da amostra concluído)			Todos os resultados do alvo foram inválidos; testar novamente a amostra
NR*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Aborted (Não amplificado/erros de sistema detectados, processamento da amostra cancelado)			O processamento da amostra foi cancelado; testar novamente a amostra
UNR*	NOT AMPLIFIED, No System Errors Noted (Não amplificado/nenhum erro de sistema detectado)			Todos os resultados do alvo foram inválidos; testar novamente a amostra

*O sistema está equipado com capacidade de reexecução/repetição automática que o usuário final pode escolher usar para garantir que um resultado IND/NR/UNR (Indeterminado/Sem resultado/Não resolvido) seja reprocessado automaticamente para minimizar atrasos no relato de resultados.

**Um novo teste pode ser realizado, se desejado, caso apenas um dos dois alvos do SARS-CoV-2 seja amplificado.

Tabela 2. Interpretação dos resultados do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay – Espécimes de saliva

RESULTADO GLOBAL	ALVO 1 (gene Nsp2), FAM	ALVO 2 (gene N), HEX	CONTROLE DE PROCESSO (SPC2), Far Red	Interpretação
POSITIVE (POSITIVO)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) [5 ≤ Ct < 28 E EP ≥ 600 E EPR > 1,2] OU [28 ≤ Ct ≤ 40 E EP ≥ 600]	N/A	N/A	RNA do SARS-CoV-2 detectado**
	N/A	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) [5 ≤ Ct < 28 E EP ≥ 675 E EPR > 1,2] OU [28 ≤ Ct ≤ 40 E EP ≥ 675]		
NEGATIVE (NEGATIVO)	NOT AMPLIFIED (NÃO AMPLIFICADO) N/A OU [5 ≤ Ct < 28 E EPR ≤ 1,2] OU [28 ≤ Ct ≤ 42 E EP < 600] OU [Ct > 40]	NOT AMPLIFIED (NÃO AMPLIFICADO) N/A OU [5 ≤ Ct < 28 E EPR ≤ 1,2] OU [28 ≤ Ct ≤ 42 E EP < 675] OU [Ct > 40]	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) (24 ≤ Ct ≤ 33 E EP ≥ 1000)	RNA do SARS-CoV-2 não detectado
IND*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Completed (Não amplificado/erros de sistema detectados, processamento da amostra concluído)			Todos os resultados do alvo foram inválidos; testar novamente a amostra
NR*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Aborted (Não amplificado/erros de sistema detectados, processamento da amostra cancelado)			O processamento da amostra foi cancelado; testar novamente a amostra
UNR*	NOT AMPLIFIED, No System Errors Noted (Não amplificado/nenhum erro de sistema detectado)			Todos os resultados do alvo foram inválidos; testar novamente a amostra

*O sistema está equipado com capacidade de reexecução/repetição automática que o usuário final pode escolher usar para garantir que um resultado IND/NR/UNR (Indeterminado/Sem resultado/Não resolvido) seja reprocessado automaticamente para minimizar atrasos no relato de resultados.

**Um novo teste pode ser realizado, se desejado, caso apenas um dos dois alvos do SARS-CoV-2 seja amplificado.

Um resultado positivo pode ser relatado para amostras que geram um status de amplificação diferencial, de modo que apenas um dos alvos, Alvo 1 (gene Nsp2) ou Alvo 2 (gene N), amplifica. Isso pode ocorrer devido a 1) uma amostra a concentrações próximas ou abaixo do limite de detecção do teste, 2) uma mutação em uma das regiões-alvo ou 3) outros fatores. No caso de um teste positivo em que só um dos alvos amplifica, a repetição do teste poderá ser considerada se o controle SPC2 for negativo. Se o resultado da repetição permanecer o mesmo, deverá ser realizado um teste de confirmação adicional, se clinicamente indicado.

Resultados inválidos

Se um NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay realizado no NeuMoDx System não gerar um resultado válido, ele será relatado como Indeterminate (Indeterminado), No Result (Sem resultado) ou Unresolved (Não resolvido) com base no tipo de erro ocorrido e o teste deverá ser repetido a fim de obter um resultado válido.

Um resultado Indeterminate (Indeterminado) será relatado se um erro do NeuMoDx System for detectado durante o processamento da amostra. No caso de um resultado Indeterminate (Indeterminado), é recomendável repetir o teste.

Um resultado No Result (Sem resultado) será relatado se um erro do NeuMoDx System for detectado e o processamento da amostra for cancelado. No caso de um resultado No Result (Sem resultado), é recomendável repetir o teste.

Um resultado Unresolved (Não resolvido) será relatado se nenhum alvo for detectado e não houver amplificação do controle de processo de amostras, o que indica uma possível falha dos reagentes ou a presença de inibidores. No caso de um resultado Unresolved (Não resolvido), um primeiro passo recomendável é repetir o teste. Se a repetição do teste falhar, é possível utilizar um espécime diluído para mitigar os efeitos de uma possível inibição.

Controle de qualidade

Os laboratórios são responsáveis pelos procedimentos de controle que monitoram a exatidão e a precisão de todo o processo analítico, devendo estabelecer o número, o tipo e a frequência dos materiais de controle da testagem.

1. Não são fornecidos materiais de controle com o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. No entanto, o material de controle a seguir foi validado pela NeuMoDx e é recomendado. Os controles devem atender às mesmas especificações de volume mínimo das amostras clínicas especificadas acima com base no tamanho do transportador de tubos de espécime.

Para espécimes de swab, os seguintes controles são recomendados

- Controle positivo:
 - Purified SARS-CoV-2 genomic RNA (Nº de cat. VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, EUA) a uma concentração final de 5E3 cp/mL
 - Heat-inactivated SARS-CoV-2 (Nº de cat. VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, EUA) a uma concentração final de 5E3 cp/mL
 - 5 mL de NATrol™ SARS-CoV-2 (recombinant) Stock (contém apenas o gene N, nº de cat. 0831042, ZeptoMetrix, Buffalo, NY, EUA) em 1 mL de meio BD UVT.
- Controle negativo: Meio Copan/BD UVT ou equivalente.

Para espécimes de saliva, os seguintes controles são recomendados

Controle positivo: Dilua qualquer um dos seguintes materiais em uma mistura de água de grau molecular e SSB na proporção de 1:1,67 de água/SSB (v/v):

- Purified SARS-CoV-2 genomic RNA (Nº de cat. VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, EUA) a uma concentração final de 5E3 cp/mL
- Heat-inactivated SARS-CoV-2 (Nº de cat. VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, EUA) a uma concentração final de 5E3 cp/mL
- NATrol™ SARS-CoV-2 (Recombinant) Stock (contém apenas o gene N, nº de cat. 0831042, Zeptomatrix, Buffalo, NY, EUA) a uma diluição de 1:20.

Controle negativo: 0,6 mL de água de grau molecular adicionado a 1 mL de tampão de estabilização de saliva (Saliva Stabilization Buffer, SSB) ou na proporção de 1:1,67 de água/SSB (v/v).

2. Recomenda-se que os usuários processem um conjunto de controles positivos e negativos a cada 24 horas e antes de processar amostras de pacientes.
3. Ao processar controles, coloque os controles etiquetados em um transportador de tubos de espécime e use a tela sensível ao toque para carregar o transportador no NeuMoDx System a partir da prateleira de autocarregamento. Uma vez definido, o NeuMoDx System reconhecerá os códigos de barras e iniciará o processamento dos controles.
4. Os primers e a sonda específicos para o controle de processo de amostras (Sample Process Control 2, SPC2) estão incluídos em cada NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip. O controle de processo de amostras permite que o NeuMoDx System monitore a eficácia dos processos de extração de RNA e amplificação por RT-PCR.
5. Antes da RT-PCR, o NeuMoDx System executa automaticamente uma "FILL CHECK" (Verificação de enchimento) para garantir que a câmara de PCR esteja cheia com solução e contenha uma quantidade adequada de sonda fluorescente.
6. O software do NeuMoDx System monitora continuamente os sensores e atuadores integrados para garantir uma operação segura e eficaz do sistema.
7. São implementados vários modos de recuperação de erros de fluidos pelo monitoramento ativo das operações de aspiração e dispensação para garantir que o sistema possa concluir o processamento de todas as amostras de maneira segura e eficaz ou fornecer um código de erro apropriado.
8. O NeuMoDx System está equipado com a capacidade automática de reexecução/repetição que o usuário final pode optar por usar para garantir que um resultado INVALID (Inválido) seja reprocessado automaticamente para minimizar atrasos no relato de resultados.
9. Um resultado de teste Positive (Positivo) para uma amostra de controle negativo poderá indicar um problema de contaminação do espécime. Consulte o *Manual do operador do NeuMoDx 288 ou 96 Molecular System* para obter dicas de solução de problemas.
10. Um resultado Negative (Negativo) relatado para uma amostra de controle positivo pode indicar um problema relacionado com reagentes ou o NeuMoDx System. Consulte o *Manual do operador do NeuMoDx 288 ou 96 Molecular System* para obter dicas de solução de problemas.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade analítica – Amostras de swab nasofaríngeo

O limite de detecção (LdD) do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay foi determinado testando uma série de diluições de amostras clínicas negativas de swab nasofaríngeo agrupadas em pools (swab flocado de nylon coletado em UTM [Copan Diagnostic Inc, CA] ou UVT [BD, NJ]) misturadas com RNA genômico do SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) e processadas usando os fluxos de trabalho DIRECT (Direto) e PRETREATED (Pré-tratado). Para cada fluxo de trabalho, foram avaliadas pelo menos vinte réplicas de cada diluição em ambos os NeuMoDx Systems. Determinou-se que o LdD é de **150 cópias/mL**.

Tabela 3. Taxa de detecção e limite de detecção do SARS-CoV-2 no NeuMoDx 96 Molecular System: Fluxo de trabalho Pretreated (Pré-tratado)

LdD de SARS-CoV-2: N96, fluxo de trabalho Pretreated (Pré-tratado)								
Nível de alvo	Resultados válidos	Positivo para gene Nsp2		Taxa de detecção do gene Nsp2	Positivo para gene N		Taxa de detecção do gene N	Taxa de amplificação de ambos os alvos
		n	Ct médio		n	Ct médio		
250 cp/mL	22	22	31,7	100%	22	30,9	100%	100%
150 cp/mL	20	20	31,5	100%	20	31,0	100%	100%
50 cp/mL	24	0	n/a	0%	22	31,8	91,7%	0%
Negative (Negativo)	30	n/a		0%	0	n/a	0%	0%

LdD N96: 150 cp/mL [nível de alvo mais baixo demonstrando uma taxa de detecção > 95% de ambos os alvos]

Tabela 4. Taxa de detecção e limite de detecção do SARS-CoV-2 no NeuMoDx 288 Molecular System: Fluxo de trabalho Pretreated (Pré-tratado)

LdD de SARS-CoV-2: N288, fluxo de trabalho Pretreated (Pré-tratado)								
Nível de alvo	Resultados válidos	Positivo para gene Nsp2		Taxa de detecção do gene Nsp2	Positivo para gene N		Taxa de detecção do gene N	Taxa de amplificação de ambos os alvos
		n	Ct médio		n	Ct médio		
250 cp/mL	21	21	32,1	100%	21	31,4	100%	100%
150 cp/mL	26	26	31,7	100%	26	31,2	100%	100%
50 cp/mL	21	11	32,2	52,4%	20	32,2	95,2%	52,4%
Negative (Negativo)	20	0	n/a	0%	0	n/a	0%	0%

LdD N288: 150 cp/mL [nível de alvo mais baixo demonstrando uma taxa de detecção > 95% de ambos os alvos]

Tabela 5. Taxa de detecção e limite de detecção do SARS-CoV-2 no NeuMoDx 96 Molecular System: Fluxo de trabalho Direct (Direto)

LdD de SARS-CoV-2: N96, fluxo de trabalho Direct (Direto)								
Nível de alvo	Resultados válidos	Positivo para gene Nsp2		Taxa de detecção do gene Nsp2	Positivo para gene N		Taxa de detecção do gene N	Taxa de amplificação de ambos os alvos
		n	Ct médio		n	Ct médio		
400 cp/mL	24	23*	32,4	95,8%	24	31,1	100,0%	95,8%
250 cp/mL	24	24	33,0	100,0%	24	31,7	100,0%	100,0%
150 cp/mL	24	24	33,4	100,0%	24	32,4	100,0%	100,0%
50 cp/mL	24	12	32,6	50,0%	18	32,8	75,0%	41,7%**
Negative (Negativo)	22	0		0%	0		0%	0%

LdD N96: 150 cp/mL [nível de alvo mais baixo demonstrando uma taxa de detecção > 95% de ambos os alvos]

*Esta amostra mostrava adicionalmente uma fraca amplificação do SPC2 e considerou-se que a falta de amplificação era um artefato de processamento do sistema. Isso é respaldado por uma taxa de detecção de 100% na mesma concentração-alvo em RPT-8505B (avaliação clínica). Além disso, para este estudo, foi alcançada uma taxa de detecção de 100% nas concentrações mais baixas de 250 cp/mL e 150 cp/mL.

**Dez das 24 amostras tiveram ambos os alvos detectados a 50 cp/mL, o que supõe uma taxa global de positividade de 41,7%.

Tabela 6. Taxa de detecção e limite de detecção do SARS-CoV-2 no NeuMoDx 288 Molecular System: Fluxo de trabalho Direct (Direto)

LdD de SARS-CoV-2: N288, fluxo de trabalho Direct (Direto)								
Nível de alvo	Resultados válidos	Positivo para gene Nsp2		Taxa de detecção do gene Nsp2	Positivo para gene N		Taxa de detecção do gene N	Taxa de amplificação de ambos os alvos
		n	Ct médio		n	Ct médio		
400 cp/mL	24	24	32,8	100,0%	24	31,7	100,0%	100,0%
250 cp/mL	24	24	33,0	100,0%	24	32,0	100,0%	100,0%
150 cp/mL	22	21	33,5	95,5%	22	32,4	100,0%	95,5%
50 cp/mL	24	20	34,3	83,3%	24	33,4	100,0%	83,3%
Negative (Negativo)	24	0		0,0%	0		0,0%	0,0%

LdD N288: 150 cp/mL [nível de alvo mais baixo demonstrando uma taxa de detecção > 95% de ambos os alvos]

Sensibilidade analítica – Amostras de saliva

O limite de detecção (LdD) do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay usando amostras de saliva foi avaliado testando uma série de diluições de amostras de saliva negativas agrupadas em pools (misturadas com NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer na proporção de 1:1,67 de saliva para tampão) misturadas com vírus SARS-CoV-2 submetido a radiação γ (BEI Resources NR-52287) ou RNA genômico do SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) e processadas usando o fluxo de trabalho Direct (Direto). Foram avaliadas pelo menos cinco réplicas em cada diluição em torno do LdD esperado, seguido pelo processamento confirmatório de pelo menos vinte réplicas nos níveis mais baixos que apresentaram todos resultados positivos. Determinou-se que o LdD de RNA genômico e de vírus submetido a radiação γ é de, respectivamente, **50 cópias/mL** e **0,0075 TCID50/mL**.

Tabela 7. Taxas de detecção e limite de detecção preliminar com SARS-CoV-2 submetido a radiação γ

LdD do SARS-CoV-2; Vírus SARS-CoV-2 submetido a radiação γ								
Nível de alvo	Resultados válidos	Positivo para gene Nsp2		Taxa de detecção do gene Nsp2	Positivo para gene N		Taxa de detecção do gene N	Taxa de amplificação de ambos os alvos
		N	Ct médio		n	Ct médio		
0,01 TCID50/mL	5	5	32,8	100%	5	32,6	100%	100%
0,005 TCID50/mL	5	5	34,0	100%	5	33,1	100%	100%
0,0025 TCID50/mL	10	4	33,5	40%	5	32,7	50%	30%*

LdD preliminar – Vírus submetido a radiação γ : 0,005 TCID50/mL [nível de alvo mais baixo demonstrando uma taxa de detecção > 95% de ambos os alvos]

*Três de dez (3/10) amostras tiveram ambos os alvos detectados a 0,0025 TCID50/mL, o que supõe uma taxa global de positividade de 30%

Tabela 8. Taxas de detecção e limite de detecção preliminar com gRNA do SARS-CoV-2

LdD do SARS-CoV-2; RNA genômico do SARS-CoV-2								
Nível de alvo	Resultados válidos	Positivo para gene Nsp2		Taxa de detecção do gene Nsp2	Positivo para gene N		Taxa de detecção do gene N	Taxa de amplificação de ambos os alvos
		N	Ct médio		n	Ct médio		
100 cp/mL	5	5	32,7	100%	5	31,8	100%	100%
50 cp/mL	5	5	33,3	100%	5	32,5	100%	100%
40 cp/mL	10	6	34,4	60%	9	33,1	90%	60%*
25 cp/mL	10	4	34,1	40%	9	33,0	90%	40%**

LdD preliminar – gRNA: 50 cp/mL [nível de alvo mais baixo demonstrando uma taxa de detecção > 95% de ambos os alvos]

*Seis de dez (6/10) amostras tiveram ambos os alvos detectados a 40 cp/mL, o que supõe uma taxa global de positividade de 60%

**Quatro de dez (4/10) amostras tiveram ambos os alvos detectados a 25 cp/mL, o que supõe uma taxa global de positividade de 40%

Tabela 9. Taxas de detecção e confirmação do limite de detecção com SARS-CoV-2 submetido a radiação γ

LdD do SARS-CoV-2; Vírus SARS-CoV-2 submetido a radiação γ									
Sistema	Nível de alvo	Resultados válidos	Positivo para gene Nsp2		Taxa de detecção do gene Nsp2	Positivo para gene N		Taxa de detecção do gene N	Taxa de amplificação de ambos os alvos
			N	Ct médio		n	Ct médio		
N288	0,0075 TCID50/mL	20	20	33,7	100%	20	33,0	100%	100%
N96	0,0075 TCID50/mL	20	20	34,2	100%	20	33,8	100%	100%
N288	0,005 TCID50/mL	20	18	33,4	90%	18	33,3	90%	85%*
N96	0,005 TCID50/mL	20	15	33,4	80%	16	33,3	80%	65%**
LdD N288: 0,0075 TCID50/mL [nível de alvo mais baixo demonstrando uma taxa de detecção > 95% de ambos os alvos] LdD N96: 0,0075 TCID50/mL [nível de alvo mais baixo demonstrando uma taxa de detecção > 95% de ambos os alvos]									
*Dezessete (17) de vinte (20) amostras tiveram ambos os alvos detectados no N288, o que supõe uma taxa global de positividade de 85% **Treze (13) de vinte (20) amostras tiveram ambos os alvos detectados no N96, o que supõe uma taxa global de positividade de 65%									

Tabela 10. Taxas de detecção e confirmação do limite de detecção com gRNA do SARS-CoV-2

LdD do SARS-CoV-2; RNA genômico do SARS-CoV-2									
Sistema	Nível de alvo	Resultados válidos	Positivo para gene Nsp2		Taxa de detecção do gene Nsp2	Positivo para gene N		Taxa de detecção do gene N	Taxa de amplificação de ambos os alvos
			N	Ct médio		n	Ct médio		
N288	50 cp/mL	20	20	34,4	100%	20	33,9	100%	100%
N96	50 cp/mL	20	19	33,9	95%	19	33,8	95%	95%*
LdD N288: 50 cp/mL [nível de alvo mais baixo demonstrando uma taxa de detecção > 95% de ambos os alvos] LdD N96: 50 cp/mL [nível de alvo mais baixo demonstrando uma taxa de detecção > 95% de ambos os alvos]									
*Dezenove (19) de vinte (20) amostras tiveram ambos os alvos detectados no N96, o que supõe uma taxa global de positividade de 95%									

Inclusividade

A inclusividade do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay foi avaliada através de uma análise *in silico* mapeando os primers e sondas do ensaio para todas as sequências do SARS-CoV-2 disponíveis (n = 96) no banco de dados do NCBI em 14 de março de 2020. As regiões dos primers e sondas do teste foram comparadas por meio de uma análise *in silico* para verificar a homologia de sequências com cepas do SARS-CoV-2 em circulação. O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay apresentou 100% de homologia com todas as sequências, exceto uma, a do gene Nsp2 (Alvo 1). Verificou-se que esta sequência tinha um único nucleotídeo incompatível no primer direto, sem impacto previsto no desempenho do ensaio. Verificou-se que a homologia entre primers e sonda do gene N (Alvo 2) é de 100% para todas as sequências disponíveis.

Reatividade cruzada/Interferência microbiana

O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay foi avaliado *in silico* quanto a possíveis reações cruzadas com os microrganismos mostrados na Tabela 11 mapeando individualmente os primers e sondas do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay para sequências no banco de dados do NCBI. Nenhuma das sequências analisadas apresentou homologia para os primers ou a sonda do gene Nsp2 (Alvo 1). *Haemophilus influenzae* (CP000672.1) mostrou homologia com o primer direto do gene N (Alvo 2), mas não apresentou homologia significativa com o primer reverso e a sonda. Da mesma forma, o coronavírus SARS (AY345986.1) mostrou homologia com o primer direto e a sonda do gene N, mas nenhuma homologia significativa com o primer reverso. *Pseudomonas aeruginosa* (CP000438.1) mostrou homologia com o primer do SPC2 direto, mas não para nenhum dos alvos de SARS-CoV-2. Portanto, a análise *in silico* não mostrou uma provável reatividade cruzada com nenhuma das sequências avaliadas. Foram realizados outros testes úmidos para confirmar que *H. influenzae* e *P. aeruginosa* não apresentavam risco de reatividade cruzada ou interferência microbiana, cujos resultados são apresentados nas Tabelas 12 e 13.

Tabela 11. Análise *in silico* para organismos com reatividade cruzada

Organismo	Número(s) de registro no GenBank do NCBI	Organismo	Número(s) de registro no GenBank do NCBI
Coronavírus humano 229E	KF514433.1	Influenza B	MK969560.1
	KF514432.1	Enterovírus	JF896312.1
Coronavírus humano OC43	KX344031.1	Vírus sincicial respiratório	JN032120.1
	KF530099.1	Rinovírus	NC_001490.1
Coronavírus humano HKU1	KF430201.1	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	NZ_LN847241.1
	MH940245.1	<i>Haemophilus influenzae</i>	CP000672.1
Coronavírus humano NL63	KF530114.1	<i>Legionella pneumophila</i>	CP015928.1
	KF530113.1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	AP018036.1
Coronavírus SARS	AY686863.1	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	CP027540.1
		<i>Streptococcus pyogenes</i>	AE009949.1
Coronavírus MERS	MH013216.1	<i>Bordetella pertussis</i>	CP011448.1
Adenovírus	AC_000017.1	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	CP039772.1
Metapneumovírus humano (hMPV)	KJ627437.1	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	MH010446.1
Vírus parainfluenza 1	KX639498.1	<i>Candida albicans</i>	NC_018046.1
Vírus parainfluenza 2	KM190939.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CP000438.1
Vírus parainfluenza 3	KF530243.1	<i>Staphylococcus epidermis</i>	KY750253.1
Vírus parainfluenza 4	KF483663.1	<i>Streptococcus salivarius</i>	CP020451.2
Influenza A	MH798556.1		

Tabela 12. Teste de reatividade cruzada e interferência para *H. Influenzae*

AMOSTRA		Resultados válidos	Nº de positivos, gene N	% de positivos, gene N (Yellow)	Méd. de Ct, gene N	Nº de positivos, gene Nsp2	% de positivos, gene Nsp2 (Green)	Méd. de Ct, gene Nsp2	Méd. de Ct, SPC2
Reatividade cruzada	UVT puro (Negativo para controle)	3	0	0%	N/A	0	0%	N/A	27,7
	UVT+ <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 CFU/mL)	3	0	0%	N/A	0	0%	N/A	28,3
Interferência	UVT puro + RNA do SARS-CoV-2 (750 cópias/mL) (Positivo para controle)	3	3	100%	32,03	3	100%	34,05	27,8
	UVT+ <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 CFU/mL) + RNA do SARS-CoV-2 (750 cópias/mL)	3	3	100%	32,45	3	100%	33,98	27,7

Tabela 13. Teste de reatividade cruzada e interferência para *P. aeruginosa*

AMOSTRA		Resultados válidos	Gene N (HEX)			Gene Nsp2 (FAM)			SPC2 (Far Red)
			Pos.	% pos.	Ct méd.	Pos.	% pos.	Ct méd.	Ct méd.
Reatividade cruzada	UVT+ <i>P. aeruginosa</i> (1 ^É 6 CFU/mL)	3	0	0%	N/A	0	0%	N/A	27,5
Interferência	Controle UVT puro	3	3	100%	30,3	3	100%	32,0	26,9
	Positive (Positivo)								
	UVT + <i>P. aeruginosa</i> (1 ^É 6 CFU/mL) + RNA do SARS-CoV-2 (450 cópias/mL)	3	3	100%	30,4	3	100%	32,0	27,0

Substâncias interferentes – Amostras de swab nasofaríngeo

O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay foi avaliado quanto a suscetibilidade à interferência causada por substâncias potencialmente associadas à coleta de espécimes de swab nasofaríngeo. Espécimes residuais de swab nasofaríngeo clínicos negativos foram misturados com RNA genômico do SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) a 5X o LdD e processados na presença e ausência dos agentes mostrados abaixo na *Tabela 14*. Nenhuma substância incluída nos testes teve um efeito adverso no desempenho do ensaio.

Tabela 14. Substâncias testadas quanto a interferência

		Substância	Concentração*
Endógenos		Mucina	0,5% (p/v)
		Sangue	2% (v/v)
Exógenas		Afrin® Original (oximetazolina)	15% (v/v)
		Spray nasal Zicam® Cold Remedy	5% (v/v)
		Flonase® Allergy Relief (fluticasona)	5% (v/v)
		Beclometasona	10 mg/mL
		Mupirocina	11,4 mg/mL
		Relenza® (zanamivir)	5,25 mg/mL
		Tamiflu® (oseltamivir)	7,5 mg/mL
	Tobramicina	1,8 mg/mL	

*Nota: As concentrações mostradas são as usadas para saturar os swabs antes de dosar amostras clínicas positivas artificiais com a substância interferente. Portanto, elas são representativas do nível que pode ser tolerado no local de coleta do swab.

Substâncias interferentes – Amostras de saliva

O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay foi avaliado quanto a suscetibilidade à interferência causada por substâncias potencialmente associadas à coleta de espécimes de saliva. Saliva negativa agrupada em pools foi misturada com vírus SARS-CoV-2 submetido a irradiação γ (BEI Resources NR-52287) a 10X o LdD, preparada com o NeuMoDx Saliva Collection Kit e processada na presença e ausência dos agentes mostrados abaixo na *Tabela 15*. Nenhuma substância incluída nos testes teve um efeito adverso no desempenho do ensaio nas concentrações indicadas.

Tabela 15. Substâncias testadas quanto a interferência – Amostras de saliva

	Substância	Concentração
Endógenos	Sangue total	1% v/v
Exógenas	Altoids™ (Hortelã)	2% p/v
	Aspirina™	1% p/v
	Enxaguante antisséptico bucal LISTERINE® Ultra Clean	1% v/v
	Pastilha para tosse Halls™ (Menta e eucalipto)	1% p/v
	Creme dental para proteção da gengiva Crest Pro-Health Advanced	0,001% p/v*
	Xarope para tosse Wal-Tussin® DM Max	1% v/v

*A concentração desta substância é relatada como resultado de um estudo de resposta a dose de 0,1%, no qual se mostrou que era inibidora.

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade intralaboratorial do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay foi verificada por meio de uma análise retrospectiva do desempenho usando amostras clínicas de swab nasofaríngeo positivas e negativas. Os dados resumidos nas Tabelas 16a–c representam testes realizados por vários operadores em dois instrumentos ao longo de um período de três dias. São representados os resultados de amostras preparadas com os fluxos de trabalho DIRECT (Direto) e PRETREATED (Pré-tratado).

Tabela 16a. Reprodutibilidade global e precisão do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Nível de SARS-CoV-2 (cp/mL)	N	Alvo N			Alvo Nsp2			SPC2		
		% de positivos	Méd. de Ct	% de CV do Ct	% de positivos	Méd. de Ct	% de CV do Ct	% de positivos	Méd. de Ct	% de CV do Ct
2000	16	100%	29,3	2,1%	100%	30,7	2,4%	100%	27,1	2,1%
1000	14	100%	29,9	2,1%	100%	31,2	2,6%	100%	27,1	2,3%
500	28	100%	30,9	2,2%	100%	32,0	2,8%	100%	27,3	1,6%
400	77	100%	31,2	2,1%	99%	32,4	2,2%	100%	27,2	1,7%
250	91	100%	31,5	2,1%	100%	32,4	2,6%	100%	27,4	1,6%
150	46	100%	31,1	1,8%	100%	31,6	1,7%	100%	27,1	2,0%
0	178	0%	N/A	N/A	0%	N/A	N/A	100%	27,5	2,6%

Tabela 16b. Reprodutibilidade e precisão do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Alvo	Nível (cp/mL)	NeuMoDx 288 Molecular System				NeuMoDx 96 Molecular System			
		N	% de positivos	Méd. de Ct	% de CV do Ct	N	% de positivos	Méd. de Ct	% de CV do Ct
Alvo N	2000	12	100%	29,3	2,3%	4	100%	29,3	1,4%
	1000	11	100%	30,0	2,0%	3	100%	29,5	1,6%
	500	21	100%	30,8	2,2%	7	100%	31,1	1,7%
	400	46	100%	31,2	2,3%	31	100%	31,1	1,9%
	250	45	100%	31,7	2,0%	46	100%	31,3	2,0%
	150	26	100%	31,2	1,6%	20	100%	31,0	1,9%
Alvo Nsp2	2000	12	100%	30,7	2,3%	4	100%	30,8	2,6%
	1000	11	100%	31,3	2,5%	3	100%	26,8	0,4%
	500	21	100%	31,9	2,9%	7	100%	32,1	2,0%
	400	46	100%	32,4	2,4%	31	97%	32,3	2,0%
	250	45	100%	32,6	2,3%	46	100%	32,3	2,8%
	150	26	100%	31,7	1,8%	20	100%	31,5	1,6%

Tabela 16c. Reprodutibilidade global e precisão do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Alvo	Nível (cp/mL)	Fluxo de trabalho DIRECT (DIRETO)				Fluxo de trabalho PRETREATED (Pré-tratado)			
		N	% de positivos	Méd. de Ct	% de CV do Ct	N	% de positivos	Méd. de Ct	% de CV do Ct
Alvo N	2000	8	100%	29,7	0,8%	8	100%	28,8	1,9%
	1000	7	100%	30,5	0,7%	7	100%	29,4	1,2%
	500	15	100%	31,3	1,3%	13	100%	30,3	1,4%
	400	63	100%	31,4	1,8%	14	100%	30,3	1,0%
	250	48	100%	31,9	1,5%	43	100%	31,1	2,0%
Alvo Nsp2	2000	8	100%	31,2	1,3%	8	100%	30,1	1,9%
	1000	7	100%	31,9	0,6%	7	100%	30,4	1,5%
	500	15	100%	32,6	1,6%	13	100%	31,3	2,2%
	400	63	98%	32,6	1,6%	14	100%	31,4	2,0%
	250	48	100%	33,0	1,8%	43	100%	31,9	2,2%

Desempenho clínico

a. Testes de espécimes artificiais – Amostras de swab nasofaríngeo

O desempenho do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay com amostras clínicas residuais de swab nasofaríngeo (swab flocado de nylon coletado em UTM [Copan Diagnostic Inc, CA] ou UVT [BD, NJ]) foi avaliado usando um painel de 82 amostras clínicas negativas e 87 amostras clínicas positivas artificiais previamente submetidas a testes de influenza e/ou vírus sincicial respiratório de pacientes com sinais e sintomas de infecção no trato respiratório superior. Amostras artificiais positivas foram preparadas misturando RNA genômico do SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) em amostras clínicas negativas. Das 87 amostras positivas artificiais, 57 estavam a concentrações de 1–2X o LdD e 30 estavam a concentrações de 4–8X o LdD. O processamento das amostras foi realizado usando os fluxos de trabalho DIRECT (Direto) e PRETREATED (Pré-tratado) em ambos os NeuMoDx Systems.

Todas as amostras positivas foram relatadas como positivas e todas as amostras negativas foram relatadas como negativas, conforme detalhado nas Tabelas 17–20.

Tabela 17. Espécimes de swab de fluxo de trabalho Pretreated (Pré-tratado) apenas no NeuMoDx 288 Molecular System

Fluxo de trabalho Pretreated (Pré-tratado): NeuMoDx 288 Molecular System					
Concentração da amostra	n	Alvo 1 (gene Nsp2)		Alvo 2 (gene N)	
		% de positivos (IC de 95% bilateral)	Ct médio	% de positivos (IC de 95% bilateral)	Ct médio
225 cp/mL ~1,5X LdD	12	100 (75,6–99,9)	32,5	100 (75,6–99,9)	32,2
400 cp/mL ~2,7X LdD	11	100 (74,0–99,9)	31,4	100 (74,0–99,9)	30,2
500 cp/mL ~3,3X LdD	10	100 (72,1–99,9)	31,2	100 (72,1–99,9)	30,2
1000 cp/mL	5	100 (56,4–99,9)	30,5	100 (56,4–99,9)	29,4
2000 cp/mL	6	100 (60,8–99,9)	30,2	100 (60,8–99,9)	28,8
Negative (Negativo)	29	0 (n/a)	n/a	0 (n/a)	n/a
O desempenho em relação aos resultados esperados é: Percentagem de concordância positiva 44/44 = 100% (IC de 95%: 91,9%–100%) Percentagem de concordância negativa 29/29 = 100% (IC de 95%: 88,2%–100%)					

Tabela 18. Espécimes de swab de fluxo de trabalho Pretreated (Pré-tratado) apenas no NeuMoDx 96 Molecular System

Fluxo de trabalho Pretreated (Pré-tratado): NeuMoDx 96 Molecular System					
Concentração da amostra	n	Alvo 1 (gene Nsp2)		Alvo 2 (gene N)	
		% de positivos (IC de 95% bilateral)	Ct médio	% de positivos (IC de 95% bilateral)	Ct médio
225 cp/mL ~1,5X LdD	12	100 (75,6–99,9)	32,0	100 (75,6–99,9)	31,5
400 cp/mL ~2,7X LdD	3	100 (43,7–99,8)	31,2	100 (43,7–99,8)	30,4
500 cp/mL ~3,3X LdD	3	100 (43,7–99,8)	31,5	100 (43,7–99,8)	30,6
1000 cp/mL	2	100 (34,2–99,8)	30,2	100 (34,2–99,8)	29,2
2000 cp/mL	2	100 (34,2–99,8)	30,1	100 (34,2–99,8)	28,9
Negative (Negativo)	20	0 (n/a)	n/a	0 (n/a)	n/a
O desempenho em relação aos resultados esperados é: Percentagem de concordância positiva 22/22 = 100% (IC de 95%: 85,0%–100%) Percentagem de concordância negativa 20/20 = 100% (IC de 95%: 83,8%–100%)					

Tabela 19. Espécimes de swab de fluxo de trabalho Direct (Direto) apenas no NeuMoDx 288 Molecular System

Fluxo de trabalho Direct (Direto): NeuMoDx 288 Molecular System					
Concentração da amostra	n	Alvo 1 (gene Nsp2)		Alvo 2 (gene N)	
		% de positivos (IC de 95% bilateral)	Ct médio	% de positivos (IC de 95% bilateral)	Ct médio
225 cp/mL ~1,5X LdD	12	100 (75,6–99,9)	33,8	100 (75,6–99,9)	32,7
400 cp/mL ~2,7X LdD	11	100 (74,0–99,9)	32,4	100 (74,0–99,9)	31,1
500 cp/mL ~3,3X LdD	11	100 (74,0–99,9)	32,5	100 (72,1–99,9)	31,3
1000 cp/mL	6	100 (60,8–99,9)	31,9	100 (56,4–99,9)	30,5
2000 cp/mL	6	100 (60,8–99,9)	31,1	100 (60,8–99,9)	29,7
Negative (Negativo)	33	0 (n/a)	n/a	0 (n/a)	n/a
O desempenho em relação aos resultados esperados é: Porcentagem de concordância positiva 46/46 = 100% (IC de 95%: 92,2%–100%) Porcentagem de concordância negativa 33/33 = 100% (IC de 95%: 89,5%–100%)					

Tabela 20. Espécimes de swab de fluxo de trabalho Direct (Direto) apenas no NeuMoDx 96 Molecular System

Fluxo de trabalho Direct (Direto): NeuMoDx 96 Molecular System					
Concentração da amostra	n	Alvo 1 (gene Nsp2)		Alvo 2 (gene N)	
		% de positivos (IC de 95% bilateral)	Ct médio	% de positivos (IC de 95% bilateral)	Ct médio
225 cp/mL ~1,5X LdD	12	100 (75,6–99,9)	33,4	100 (75,6–99,9)	32,3
400 cp/mL ~2,7X LdD	4	100 (50,9–99,9)	32,7	100 (50,9–99,9)	31,7
500 cp/mL ~3,3X LdD	4	100 (50,9–99,9)	32,6	100 (50,9–99,9)	31,5
1000 cp/mL	1	100 (20,7–99,8)	31,9	100 (20,7–99,8)	30,2
2000 cp/mL	2	100 (34,2–99,8)	31,5	100 (34,2–99,8)	29,7
Negative (Negativo)	0	0 (n/a)	N/A	0 (n/a)	N/A
O desempenho em relação aos resultados esperados é: Porcentagem de concordância positiva 23/23 = 100% (IC de 95%: 85,6%–100%) Porcentagem de concordância negativa N/A					

b. Testes de espécimes artificiais – Amostras de saliva

O desempenho do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay com amostras de saliva (preparadas usando o NeuMoDx Saliva Collection Kit) foi avaliado usando um painel de 36 amostras negativas de doadores. Cada amostra de doador saudável foi usada para preparar uma amostra negativa e uma amostra positiva artificial misturando vírus SARS-CoV-2 submetido a irradiação γ (BEI Resources NR-52287), resultando em um total de 72 amostras para teste. Das 36 amostras positivas artificiais, 28 estavam a concentrações de 1,5–2X o LdD, 4 estavam a 10X o LdD e 4 estavam a 20X. O processamento das amostras foi realizado usando o fluxo de trabalho UserSpecified2 (Especificado pelo usuário 2).

Todas as amostras positivas foram relatadas como positivas e todas as amostras negativas foram relatadas como negativas, conforme detalhado na Tabela 21.

Tabela 21. Amostras de saliva no NeuMoDx 288 Molecular System

Concentração da amostra	n	Alvo 1 (gene Nsp2)		Alvo 2 (gene N)	
		% de positivos (IC de 95% bilateral)	Ct médio	% de positivos (IC de 95% bilateral)	Ct médio
0,01125–0,015 TCID ₅₀ /mL (1,5–2X LdD)	27	96 (81,7–99,3)	33,2	100 (87,6–100)	33,1
0,075 TCID ₅₀ /mL (10X LdD)	4	100 (51,0–100)	32,7	100 (51,0–100)	32,3
0,15 TCID ₅₀ /mL (20X LdD)	4	100 (51,0–100)	31,0	100 51,0–100	30,9
Negative (Negativo)	35	0 (n/a)	n/a	0 (n/a)	n/a
O desempenho em relação aos resultados esperados é: Porcentagem de concordância positiva, gene Nsp2 34/35 = 97,1% (IC de 95%: 85,5%–99,5%) Porcentagem de concordância negativa, gene Nsp2 35/35 = 100% (IC de 95%: 90,1%–100%) Porcentagem de concordância positiva, gene N 35/35 = 100% (IC de 95%: 90,1%–100%) Porcentagem de concordância negativa, gene N 35/35 = 100% (IC de 95%: 90,1%–100%) Porcentagem de concordância positiva global 35/35 = 100% (IC de 95%: 90,1%–100%) Porcentagem de concordância negativa global 35/35 = 100% (IC de 95%: 90,1%–100%)					

c. Testes de espécimes clínicos – Espécimes de swab nasofaríngeo

O desempenho do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay também foi avaliado usando espécimes clínicos. Espécimes clínicos de swab nasofaríngeo (NF) desidentificados restantes de pacientes sintomáticos foram coletados com swabs flocados de ponta pequena em 3 mL de BD Universal Viral Transport Medium (BD UVT). Os espécimes foram submetidos a testes de SARS-CoV-2 em dois locais de teste externos que realizaram os testes de comparação desses espécimes com testes previamente autorizados pela FDA dos EUA para uso de emergência. Os testes com o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay foram realizados em um local de teste interno e um externo. Foi processado um total de 40 amostras usando o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. Algumas amostras foram testadas em ambos os sistemas, N288 e N96 NeuMoDx Systems, e usando tanto o fluxo de trabalho PRETREATED (Pré-tratado) quanto o DIRECT (Direto). Os resultados do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay estavam em total concordância com os resultados do ensaio comparativo para todas as amostras clínicas testadas neste estudo de comparação de métodos (Tabelas 22 e 23).

Tabela 22. Resultados da comparação de métodos qualitativos do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay no NeuMoDx Molecular Systems vs. testes de referência – Fluxo de trabalho PRETREATED (Pré-tratado)

Pretreated (Pré-tratado) no N96 e N288		Ensaio(s) comparativo(s)		
		Pos.	Neg.	Total
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Pos.	25	0	25
	Neg.	0	15	15
	Total	25	15	40
Sensibilidade clínica de 100% (IC de 95% de 86,6–100%)				
Especificidade clínica de 100% (IC de 95% de 79,5–99,9%)				

Tabela 23. Resultados da comparação de métodos qualitativos do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay vs. testes de referência – Fluxo de trabalho DIRECT (Direto) **(a)** no NeuMoDx 288 Molecular System (N288) e **(b)** no NeuMoDx 96 Molecular System (N96)

Direct (Direto) no N288		Ensaio(s) comparativo(s)		
		Pos.	Neg.	Total
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Pos.	10	0	10
	Neg.	0	9	9
	Total	10	9	19
Sensibilidade clínica de 100% (IC de 95% de 72,1–99,9%)				
Especificidade clínica de 100% (IC de 95% de 69,9–99,9%)				

Direct (Direto) no N96		Ensaio(s) comparativo(s)		
		Pos.	Neg.	Total
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Pos.	5	0	5
	Neg.	0	6	6
	Total	5	6	11
Sensibilidade clínica de 100% (IC de 95% de 56,4–99,9%)				
Especificidade clínica de 100% (IC de 95% de 60,8–99,9%)				

d. Testes de espécimes clínicos – Espécimes de saliva

O desempenho do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay com amostras de saliva (preparadas usando o NeuMoDx Saliva Collection Kit) foi avaliado usando 112 pares de espécimes de saliva e de swab nasofaríngeo (NF) desidentificados, coletados consecutivamente de forma prospectiva ou residuais (também coletados consecutivamente), do mesmo indivíduo. Foram usados NeuMoDx Saliva Collection Kits para a coleta de espécime de saliva prospectivos, enquanto as amostras de saliva residuais foram coletadas em um frasco de amostra sem conservantes e armazenadas congeladas a -80 °C até o teste com NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer. Os espécimes de swab NF foram coletados com swabs flocados de ponta pequena em 3 mL de BD Universal Viral Transport Medium (BD UVT). Todos os espécimes de saliva e a maioria dos espécimes de swab nasofaríngeo (NP) foram testados usando o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay e uma combinação de N288 e N96 NeuMoDx Systems. O restante dos espécimes NF foi processado usando outros testes comparativos autorizados nos EUA. Os testes foram realizados em um local de teste interno e dois externos. No geral, foi demonstrada uma concordância positiva e negativa > 95% com os resultados dos testes de referência em espécimes de swab NF para o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay usando espécimes de saliva, conforme detalhado na *Tabela 24*.

Tabela 24. Resultados da comparação de métodos qualitativos do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay com espécimes de saliva vs. espécimes de swab NF

Concordância qualitativa		Espécimes de swab NF		
		Pos.	Neg.	Total
Espécimes de saliva	Pos.	41	2	43
	Neg.	2	67	69
	Total	43	69	112
Sensibilidade clínica de 95,4% (84,5%–98,7%)				
Especificidade clínica de 97,1% (90,0%–99,2%)				

REFERÊNCIAS

1. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 6th edition. HHS Publication HHS Publication No. (CDC) 300859, Revised June 2020
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

MARCAS

NeuMoDx[™] e NeuDry[™] são marcas da NeuMoDx Molecular, Inc.
Afrin[®] é uma marca registrada da Bayer AG
Altoids[™] é uma marca da Callard and Bowser Limited
Aspirina[™] é uma marca registrada da Bayer AG
BD[™] é uma marca da Becton, Dickinson and Company
Crest[®] Pro-Health é uma marca registrada da Procter and Gamble Company
Flonase[®] é uma marca registrada da GlaxoSmithKline plc
Halls[™] é uma marca do Mondelēz International Group
Hamilton[®] é uma marca registrada da Hamilton Company
Listerine[®] é uma marca registrada da Johnson & Johnson
Relenza[®] é uma marca registrada da GlaxoSmithKline plc
Tamiflu[®] é uma marca registrada da Genentech USA, Inc.
TaqMan[®] é uma marca registrada da Roche Molecular Systems, Inc.
UTM-RT[®] é uma marca registrada da Copan Diagnostics, Inc.
Wal-Tussin[®] é uma marca registrada da Walgreens Company
Zicam[®] é uma marca registrada da Matrixx Initiatives, Inc.

Todos os outros nomes de produtos, marcas e marcas registradas que possam aparecer neste documento são propriedade de seus respectivos proprietários.

LEGENDA DE SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos podem aparecer nas instruções de uso ou na embalagem e no rótulo:

R only	Sujeito a prescrição médica		Limite de temperatura
	Fabricante		Não reutilizar
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Contém o suficiente para <n> testes
	Representante autorizado na Comunidade Europeia		Consultar as instruções de uso
	Número de referência		Cuidado
	Código de lote		Riscos biológicos
	Prazo de validade		Marca CE
	Perigo para a saúde		Perigo
	Limite de umidade		



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



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



Suporte técnico/Informação de vigilância: support.qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents