

REF 300800 NeuMoDx™ SARS-CoV-2 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.qiagen.com/neumodx-ifu**Para obter instruções detalhadas, consultar o Manual do operador do NeuMoDx 288 Molecular System; P/N 40600108 [REF 500100]**Para obter instruções detalhadas, consultar o Manual do Operador NeuMoDx 96 Molecular System; P/N 40600317 [REF 500200] ou P/N 40600655 [REF 500201]**Para obter instruções detalhadas, consultar as Instruções de utilização do NeuMoDx Saliva Collection Kit; P/N 40600441*

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay realizado no NeuMoDx 288 Molecular System e NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx Molecular System[s]) é um teste de diagnóstico de RT-PCR em tempo real para a deteção qualitativa de ARN do coronavírus SARS-CoV-2 em esfregaços nasais, nasofaríngeos e orofaríngeos em meio de transporte e espécimes de lavagem broncoalveolar (LBA) de indivíduos suspeitos de infeção por COVID-19 pelo seu prestador de cuidados de saúde.

Este teste pode ainda ser utilizado com espécimes de saliva colhidos de indivíduos em ambiente de serviços médicos utilizando o NeuMoDx Saliva Collection Kit desde que um prestador de cuidados de saúde o considere adequado.

Os resultados destinam-se à identificação de ARN de SARS-CoV-2. O ARN de SARS-CoV-2 é geralmente detetável em espécimes respiratórios durante a fase aguda de infeção. Resultados positivos são indicativos da presença de ARN de SARS-CoV-2. A correlação clínica com o histórico do paciente e com outras informações de diagnóstico é necessária para determinar o estado de infeção do paciente. Resultados positivos não excluem a infeção bacteriana ou coinfeção por outros vírus. Os laboratórios nos EUA e nos seus territórios devem comunicar todos os resultados positivos às autoridades de saúde pública adequadas.

Resultados negativos não excluem a presença de infeção por SARS-CoV-2 e não devem ser utilizados como a única base para decisões de gestão do paciente. Os resultados negativos devem ser combinados com observações clínicas, o histórico do paciente e informações epidemiológicas. Os resultados negativos de ARN de SARS-CoV-2 na saliva devem ser confirmados testando um tipo de espécime alternativo caso exista indicação clínica.

O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay destina-se a ser utilizado por pessoal de laboratórios clínicos qualificado especificamente formado e treinado nas técnicas de procedimentos de diagnóstico *in vitro* e real-time PCR.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

Os esfregaços nasofaríngeos, orofaríngeos ou nasais são colhidos em Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) System ou BD™ Universal Viral Transport System (UVT). Para efetuar a preparação para testes, o tubo de colheita primário (sem zaragatoa nem tampa), uma alíquota pura do meio de amostra ou uma alíquota do meio de transporte pré-tratada com NeuMoDx Viral Lysis Buffer num tubo de espécime secundário é etiquetado com um código de barras e carregado no NeuMoDx System utilizando um transportador de tubos de espécime, em seguida o processamento é iniciado 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 colhidos no NeuMoDx Saliva Collection Kit de acordo com as Instruções de utilização (P/N 40600441). Para preparar a testagem, a saliva colhida é transferida do NeuMoDx Saliva Collection Vial para o NeuMoDx Specimen Stabilization Tube utilizando a pipeta de transferência para estabelecer um rácio de saliva/SSB (v/v) de 1:1,67. A saliva e o tampão de estabilização são misturados cuidadosamente invertendo o frasco 5 a 8 vezes. A saliva estabilizada pode ser testada diretamente no NeuMoDx System ou armazenada para testagem posterior.

O NeuMoDx System realiza automaticamente todos os passos necessários para extrair o ácido nucleico alvo, preparar o isolado de ARN para a reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) em tempo real e, se presente, amplificar e detetar os produtos de amplificação: o gene da proteína não estrutural 2 (Nsp2) e o gene N do genoma de SARS-CoV-2. O NeuMoDx SARS-CoV-2 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 SARS-CoV-2 Assay combina a extração automatizada de ARN e a amplificação/deteção RT-PCR em tempo real. As amostras de esfregaço nasofaríngeo, orofaríngeo ou nasal são colhidas no Copan UTM-RT System ou no BD UVT System. Os espécimes de saliva são colhidos para o NeuMoDx Saliva Collection Kit. Estão disponíveis dois fluxos de trabalho para a preparação de espécimes de esfregaço com o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. O fluxo de trabalho direto permite carregar o tubo de colheita de exsudado, ou uma alíquota do meio de transporte num tubo secundário, no NeuMoDx System para processamento sem intervenção adicional. Em alternativa, o meio de amostra do exsudado é pré-tratado com 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 do espécime primário com saliva estabilizada diretamente no NeuMoDx System. O NeuMoDx System inicia automaticamente o processamento aspirando uma alíquota da matriz de amostras de esfregaço ou a saliva estabilizada e misturando-a com o NeuMoDx Lysis Buffer e os reagentes contidos na NeuMoDx Extraction Plate. O NeuMoDx System automatiza e integra extração e concentração de ARN, preparação de reagentes de PCR 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.

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 utilizando os reagentes NeuMoDx disponíveis em separado. 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 removidos por lavagem com NeuMoDx Wash Reagent. O ARN ligado é então eluído utilizando NeuMoDx Release Reagent. O NeuMoDx System utiliza o ARN eluído para reidratar a mistura de RT-PCR de amplificação NeuDry™ patenteada que contém todos os elementos necessários para a amplificação dos alvos de SARS-CoV-2 e SPC2. Isto permite a amplificação e a deteção simultâneas de ambos os alvos e do SPC2 numa reação. 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 deteção das sequências de controlo e alvo (se presentes) ocorrem na câmara de PCR. O NeuMoDx Cartridge foi concebido para conter o amplificação 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 estiver intacta, o fluoróforo e o supressor estão próximos, permitindo que a molécula supressora extinga a fluorescência emitida pelo fluoróforo via Transferência de energia por ressonância de Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

As sondas TaqMan foram concebidas de forma a hibridizar dentro de uma região de ADN amplificada por um conjunto específico de primers. À medida que a Polimerase Taq de ADN expande o primer e sintetiza a nova cadeia, a atividade exonuclease 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. É utilizada uma sonda TaqMan marcada com fluoróforo FAM (470/510 nm) para detetar a região Nsp2 do genoma de SARS-CoV-2 e é utilizada uma sonda TaqMan marcada com fluoróforo HEX (530/555 nm) para detetar o gene N do genoma de SARS-CoV-2. Para deteção do SPC2, a sonda TaqMan é marcada com um fluoróforo Far-Red (680/715 nm). O software do NeuMoDx System monitoriza o sinal fluorescente emitido pelas sondas TaqMan no final de cada ciclo de amplificação. Quando a amplificação estiver concluída, o software do NeuMoDx System analisa os dados e comunica um resultado: POSITIVE (POSITIVO)/NEGATIVE (NEGATIVO)/INDETERMINATE (INDETERMINADO)/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, sonda e primers TaqMan específicos para SPC2</i>	16	96

Materiais adicionais necessários, mas não fornecidos (disponibilizados em separado 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	Pontas Hamilton CO-RE/CO-RE II (300 µL) com filtros
235905	Pontas Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µL) com filtros

*Necessário apenas se for pretendido um passo de pré-tratamento para a lise fora do sistema antes do carregamento das amostras. Consultar a secção "Instruções de utilização".

**Necessário apenas para o processamento direto de amostras puras. Consultar a secção "Instruções de utilização" abaixo.

Esfregaço e meios de transporte (não fornecidos)

Tipo de amostra	Dispositivos de colheita	Dispositivo de colheita recomendado	Esfregaço recomendado
Esfregaço nasofaríngeo	Aplicador plástico com zaragatoas de poliéster e tecido em raio estéreis e zaragatoas floculadas de nylon estéreis colhidas 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)
Esfregaço orofaríngeo			
Esfregaço nasal			

Materiais para colheita de saliva (disponibilizados em separado 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 colheita de uma amostra por kit; consultar as instruções de utilização para obter mais detalhes; P/N 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 destina-se apenas para utilização em diagnóstico *in vitro* nos NeuMoDx Systems.
- Sujeito a receita médica.
- Não reutilizar.
- Os espécimes devem ser sempre manuseados como se fossem infecciosos e de acordo com os procedimentos laboratoriais de segurança, tal 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 qualificado na utilização do NeuMoDx System e no manuseamento de materiais infecciosos.
- Para testar espécimes de saliva, o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay deve ser utilizado apenas com o NeuMoDx Saliva Collection Kit.
- 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 RNase com barreiras contra aerossóis 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 especial cuidado para assegurar que a NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip, os consumíveis e reagentes adicionais necessários para o teste, o equipamento de proteção individual como luvas e batas de laboratório e o NeuMoDx System não sejam contaminados.
- 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 SARS-CoV-2 Test Strip ou da NeuMoDx Extraction Plate ou na parte superior da superfície dos recipientes do NeuMoDx Lysis Buffer; o manuseamento dos consumíveis e dos reagentes deve ser efetuado tocando apenas nas superfícies laterais.
- Estão disponíveis Fichas de dados de segurança (FDS) 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.
- Eliminar os reagentes não utilizados e os resíduos de acordo com os regulamentos federais, nacionais, regionais e locais.
- Os instrumentos e procedimentos de ensaio reduzem o risco de contaminação por produto de amplificação. Contudo, a contaminação por ácido nucleico dos controlos positivos ou espécimes deve ser controlada mediante boas práticas de laboratório.
- São recomendadas boas práticas de laboratório, incluindo a troca de luvas entre o manuseamento de espécimes de pacientes para evitar a contaminação.
- Utilizar sempre uma bata de laboratório adequada, luvas descartáveis e óculos de proteção quando estiver a trabalhar com produtos químicos. Para mais informações, consultar as fichas de dados de segurança (FDS) relevantes. Estão disponíveis online em formato PDF prático e compacto em www.qiagen.com/safety, onde pode encontrar, visualizar e imprimir as FDS de cada kit NeuMoDx e componente do kit.

Precauções

NeuMoDx SARS-CoV-2-Assay	
<p>PERIGO</p> 	<p>Contém: ácido bórico.</p> <p>Pode prejudicar a fertilidade ou o nascituro.</p> <p>Obter instruções especiais antes da utilização. Não manusear até ter lido e compreendido todas as precauções de segurança. Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: Procurar assistência/aconselhamento médico. Armazenar num local totalmente seguro. Eliminar o conteúdo/recipiente num local aprovado, de acordo com os regulamentos locais, regionais, nacionais e internacionais.</p>

Informações de emergência

CHEMTREC

Fora dos EUA e Canadá +1 703-527-3887

Eliminação

Eliminar como resíduos perigosos, em conformidade com os regulamentos locais e nacionais. Isto aplica-se ainda a produtos não utilizados. Seguir as recomendações da Ficha de dados de segurança (FDS).



ARMAZENAMENTO, TRATAMENTO E ESTABILIDADE DO PRODUTO

- As NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strips permanecem estáveis dentro da embalagem primária até à data de validade indicada na etiqueta do produto quando armazenadas a temperaturas entre 4–28 °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 SARS-CoV-2 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.

Espécimes nasofaríngeos e nasais

Os espécimes devem ser colhidos utilizando o Copan UTM-RT System ou o BD UVT System com as zaragatoas floculadas de nylon validadas (ver materiais não fornecidos). Além dessas, também são aceitáveis zaragatoas floculadas de poliéster e raio. Siga as indicações do fabricante em termos de colheita, transporte e armazenamento fornecidas nas instruções de utilização do Copan UTM-RT System/BD UVT System:

- Após a colheita, o espécime deve ser armazenado a temperaturas entre 2–25 °C e processado num período de 48 horas.
- Se a entrega e o processamento excederem as 48 horas, os espécimes devem ser transportados em gelo seco e, uma vez no laboratório, congelados a uma temperatura de -70 °C ou inferior.

Espécimes de saliva

Para obter instruções detalhadas, consultar o NeuMoDx Saliva Collection Kit; P/N 40600441

Os espécimes devem ser colhidos utilizando o NeuMoDx Saliva Collection Kit. A saliva colhida é transferida do NeuMoDx Saliva Collection Vial para o NeuMoDx Specimen Stabilization Tube utilizando a pipeta de transferência para estabelecer um rácio de saliva/SSB (v/v) de 1:1,67. A saliva e o tampão de estabilização são misturados cuidadosamente invertendo o frasco 5 a 8 vezes. A saliva estabilizada pode ser testada diretamente no NeuMoDx System ou armazenada para testagem posterior.

- Os espécimes de saliva podem ser armazenados até 2 horas em condições ambientes antes de serem misturados com NeuMoDx Stabilization Buffer (Saliva Stabilization Buffer, SSB).
- Após misturar a saliva com o tampão de estabilização, verifique o volume no tubo de estabilização do espécime. Se o volume total estiver abaixo da linha de enchimento, adicione água de grau molecular para elevar o volume total até à linha de enchimento.
- A saliva estabilizada pode ser armazenada durante até 24 horas em condições ambientes e durante até 7 dias a 2–8 °C. O espécime deverá estar à temperatura ambiente antes de ser submetido à testagem.
- A saliva estabilizada pode ser armazenada durante 12 horas nos NeuMoDx Molecular Systems.
- A saliva estabilizada deve ser transportada em sacos de gelo e depois refrigerada a 2–8 °C se o período entre a colheita e o processamento for superior a 48 horas.

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

O NeuMoDx SARS-CoV-2 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 e a saliva em tampão de estabilização são carregados 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 Viral Lysis Buffer antes de ser carregado no NeuMoDx System num tubo de colheita primário ou em tubos de espécime secundários

Preparação do teste – Fluxo de trabalho DIRETO para amostras diretas de exsudado e saliva

Nota: Permitir que todas as amostras atinjam a temperatura ambiente (15 a 30 °C) antes de efetuar o processamento.

1. Aplique uma etiqueta de código de barras de espécime a um tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System, conforme descrito nos pontos 4 e 5 abaixo.
2. Se estiver a testar o espécime no tubo de colheita primário (espécimes de exsudado) ou num tubo de estabilização do espécime (espécimes de saliva), colocar o tubo com código de barras num transportador de tubos de espécime e garantir que a tampa e/ou a zaragatoa são removidas antes de o carregar no NeuMoDx System.
3. Em alternativa, é possível transferir uma alíquota do meio de transporte ou da saliva estabilizada para um tubo secundário etiquetado com um código de barras e colocá-lo num transportador de tubos de espécime de 32 tubos. Caso esteja a utilizar um tubo secundário, transfira uma alíquota do meio de 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 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 $\geq 500 \mu\text{L}$

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 mínimo de enchimento $\geq 800 \mu\text{L}$
- Transportador de tubos de espécime de baixo volume (32 tubos): Tubo de microcentrifugação com base cônica de 1,5 mL, volume mínimo de enchimento $\geq 700 \mu\text{L}$

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

Nota: Permitir que todas as amostras atinjam a temperatura ambiente (15 a 30 °C) antes de efetuar o processamento.

AVISO: O pré-tratamento de amostras de esfregaço com NeuMoDx 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 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 Viral Lysis Buffer. A mistura resultante deve respeitar os requisitos de volume mínimo especificados abaixo.
2. Misturar cuidadosamente com a pipeta para assegurar a distribuição uniforme do NeuMoDx Viral Lysis Buffer.
3. 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.
4. Caso esteja a utilizar um tubo secundário, transferir uma alíquota do lisado de meio de 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 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 cônica de 1,5 mL, volume mínimo de enchimento $\geq 500 \mu\text{L}$

Operação do NeuMoDx System

Para obter instruções detalhadas, consultar os Manuais do Operador do NeuMoDx 288 Molecular System e do NeuMoDx 96 Molecular System P/N (40600108 e 40600317/40600655)

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 exsudado pré-tratadas, utilizando o fluxo de trabalho PRÉ-TRATADO, são testadas ao definir o espécime como "**UserSpecified1**" (Especificado pelo utilizador 1)
 - As amostras de saliva estabilizada, utilizando o fluxo de trabalho DIRETO são testadas ao definir o espécime como "**UserSpecified2**" (Especificado pelo utilizador 2)
2. Preencher um ou mais transportadores de tiras de teste com NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip(s) e utilizar o ecrã tátil para carregar os transportadores de tiras de teste no NeuMoDx System.
3. Se solicitado pelo software do NeuMoDx System, adicionar os consumíveis a bordo necessários (NeuMoDx Cartridges, NeuMoDx Extraction Plates, NeuMoDx Lysis Buffer 2, NeuMoDx Lysis Buffer 3, CO-RE Tips) aos transportadores de consumíveis do NeuMoDx System e utilizar o ecrã tátil para carregar os transportadores no NeuMoDx System, conforme apropriado.
4. Se solicitado pelo software do NeuMoDx System, substituir o NeuMoDx Wash Reagent e/ou o NeuMoDx Release Reagent, conforme apropriado.
5. Se solicitado pelo software do NeuMoDx System, 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.
6. Carregar os espécimes no transportador de tubos de espécime e certificar-se de que as tampas foram removidas de todos os tubos.
7. 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

- O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay apenas foi avaliado para utilização em NeuMoDx Molecular Systems.
- O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay foi concebido para a deteção de ARN de SARS-CoV-2 em amostras de esfregaço nasofaríngeo, orofaríngeo ou nasal colhidas com o Copan UTM-RT System (UTM-RT) ou BD Universal Viral Transport System (UVT) ou amostras de saliva colhidas utilizando o NeuMoDx Saliva Collection Kit. A utilização do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay com outros tipos de amostra não foi avaliada e as características de desempenho são desconhecidas.
- Resultados fiáveis dependem da colheita, do manuseamento e do armazenamento adequados do espécime.
- Exsudados nasais e nasais do corneto médio e espécimes de lavagem broncoalveolar são considerados tipos de espécimes aceitáveis para utilizar com o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, embora o desempenho com estes tipos de espécimes não tenha sido avaliado. A testagem de exsudados nasais e nasais do corneto médio (colhidos pelo próprio paciente sob supervisão de um prestador de cuidados de saúde) está limitado a pacientes com sintomas de COVID-19.
- Para testar espécimes de saliva, o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay deve ser utilizado apenas com o NeuMoDx Saliva Collection Kit.
- 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. Um volume incorreto de saliva no tubo de estabilização do espécime pode reduzir a sensibilidade do teste. Além disso, podem ocorrer resultados falsos negativos devido ao facto de o número de partículas virais presente na amostra estar abaixo do limite de deteção do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay.
- Se ambos os alvos SARS-CoV-2 e o alvo SPC2 não forem amplificados, é comunicado um resultado inválido (Indeterminate [Indeterminado], No Results [Sem resultados] ou Unresolved [Não resolvido]) e o teste deverá ser repetido.
- Eliminações ou mutações nas regiões visadas pelo NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay podem afetar a deteção ou originar um resultado erróneo.
- A presença de dentífrico Crest® Pro-Health Advanced Gum Protection em espécimes de saliva poderá interferir com a deteção de ARN de SARS-CoV-2 e originar um resultado erróneo.
- Um resultado positivo indica a presença de ARN de SARS-CoV-2, não indicando necessariamente a presença de SARS-CoV-2 infeccioso.
- Resultados negativos não excluem a presença de infeção pelo vírus SARS-CoV-2 e não devem ser utilizados como a única base para decisões de tratamento/gestão do paciente ou de saúde pública.
- Os resultados do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay devem ser utilizados como complemento às observações clínicas e a outras informações à disposição do médico.
- São recomendadas boas práticas de laboratório, incluindo a troca de luvas entre o manuseamento de espécimes de pacientes para evitar a contaminação.

RESULTADOS

Os resultados de teste disponíveis podem ser visualizados ou impressos a partir do separador "Results" (Resultados) na janela "Results" (Resultados) do ecrã tátil do NeuMoDx System. Um resultado de teste é declarado como Positive (Positivo) (POS), Negative (Negativo) (NEG), Indeterminate (Indeterminado) (IND), No Results (Sem resultados) (NR) ou Unresolved (Não resolvido) (UNR) com base no estado de amplificação do alvo e do controlo de processo de amostra (Sample Process Control, SPC2).

Os critérios para uma indicação positiva ou negativa estão especificados no ficheiro de definição de ensaio (Assay Definition File, ADF) do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay instalado no NeuMoDx System. Os resultados de espécimes de exsudado e saliva são comunicados com base no algoritmo de decisão do ADF, resumidos nas *Tabelas 1 e 2*, respetivamente, abaixo.

Todos os controlos de teste devem ser examinados antes de interpretar resultados de pacientes. Se os controlos não forem válidos, não será possível interpretar os resultados de pacientes.

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

RESULTADO GERAL	ALVO 1 (gene Nsp2) FAM	ALVO 2 (gene N) HEX	CONTROLO DE PROCESSO (SPC2) Far Red	Interpretação
POSITIVE (POSITIVO)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) [5 ≤ Ct < 20 AND (E) EPR ≥ 1,2 AND (E) EP ≥ 700] OR (ou) (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (E) EP ≥ 700)	N/A (N/D)	N/A (N/D)	ARN de SARS-CoV-2 detetado**
	N/A (N/D)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) (5 ≤ Ct < 20 AND (E) EPR ≥ 1,5 AND (E) EP ≥ 1000) OR (ou) (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (E) EP > 1000)		
NEGATIVE (NEGATIVO)	NOT AMPLIFIED (NÃO AMPLIFICADO) N/A (N/D) OU (5 ≤ Ct < 20 AND (E) EPR < 1,2) OU (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (E) EP < 700) OU (Ct > 40)	NOT AMPLIFIED (NÃO AMPLIFICADO) N/A (N/D) OU (5 ≤ Ct < 20 AND (E) EPR < 1,5) OU (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (E) EP < 1000) OU (Ct > 40)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) (24 ≤ Ct ≤ 33 AND (E) EP ≥ 1000)	Não foi detetado ARN de SARS-CoV-2
IND (INDETERMINADO)*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted (NÃO AMPLIFICADO/Erros do sistema observados), Sample Processing Completed (Processamento de amostras concluído)			Todos os resultados de alvo foram inválidos; testar novamente a amostra
NR*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted (NÃO AMPLIFICADO/Erros do sistema observados), Sample Processing Aborted (Processamento de amostras interrompido)			O processamento de amostras foi interrompido; testar novamente a amostra
UNR (NÃO RESOLVIDO)*	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (NÃO AMPLIFICADO/Nenhum erro de sistema observado)			Todos os resultados de alvo foram inválidos; testar novamente a amostra

*O sistema possui capacidade de Rerun/Repeat (Reexecução/Repetição) automática que pode ser utilizada pelo utilizador final para assegurar que um resultado IND (Indeterminado)/NR (Sem resultados)/UNR (Não resolvido) é reprocessado automaticamente para minimizar atrasos na comunicação de resultados.

**É possível realizar uma repetição do teste, se desejado, caso apenas um dos dois alvos da SARS-CoV-2 seja amplificado.

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

RESULTADO GERAL	ALVO 1 (gene Nsp2) FAM	ALVO 2 (gene N) HEX	CONTROLO DE PROCESSO (SPC2) Far Red	Interpretação
POSITIVE (POSITIVO)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) [5 ≤ Ct < 28 AND (E) EP ≥ 600 AND (E) EPR > 1,2] OU [28 ≤ Ct ≤ 40 AND (E) EP ≥ 600]	N/A (N/D)	N/A (N/D)	ARN de SARS-CoV-2 detetado**
	N/A (N/D)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) [5 ≤ Ct < 28 AND (E) EP ≥ 675 AND (E) EPR > 1,2] OR (ou) [28 ≤ Ct ≤ 40 AND (E) EP ≥ 675]		
NEGATIVE (NEGATIVO)	NOT AMPLIFIED (NÃO AMPLIFICADO) N/A (N/D) OU [5 ≤ Ct < 28 AND (E) EPR ≤ 1,2] OU [28 ≤ Ct ≤ 42 AND (E) EP < 600] OU [Ct > 40]	NOT AMPLIFIED (NÃO AMPLIFICADO) N/A (N/D) OU [5 ≤ Ct < 28 AND (E) EPR ≤ 1,2] OU [28 ≤ Ct ≤ 42 AND (E) EP < 675] OU [Ct > 40]	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) (24 ≤ Ct ≤ 33 AND (E) EP ≥ 1000)	Não foi detetado ARN de SARS-CoV-2
IND (INDETERMINADO)*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted (NÃO AMPLIFICADO/Erros do sistema observados), Sample Processing Completed (Processamento de amostras concluído)			Todos os resultados de alvo foram inválidos; testar novamente a amostra
NR*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted (NÃO AMPLIFICADO/Erros do sistema observados), Sample Processing Aborted (Processamento de amostras interrompido)			O processamento de amostras foi interrompido; testar novamente a amostra
UNR (NÃO RESOLVIDO)*	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (NÃO AMPLIFICADO/Nenhum erro de sistema observado)			Todos os resultados de alvo foram inválidos; testar novamente a amostra

*O sistema possui capacidade de Rerun/Repeat (Reexecução/Repetição) automática que pode ser utilizada pelo utilizador final para assegurar que um resultado IND (Indeterminado)/NR (Sem resultados)/UNR (Não resolvido) é reprocessado automaticamente para minimizar atrasos na comunicação de resultados.

**É possível realizar uma repetição do teste, se desejado, caso apenas um dos dois alvos da SARS-CoV-2 seja amplificado.

É possível que seja comunicado um resultado positivo para amostras que produzam um estado de amplificação diferencial, pelo que apenas um dos alvos, Alvo 1 (gene Nsp2) ou Alvo 2 (gene N), é amplificado. Isto pode ocorrer devido a 1) uma amostra a concentrações próximas ou abaixo do limite de deteção do teste ou 2) uma mutação numa das regiões alvo ou 3) outros fatores. Em caso de um resultado positivo onde apenas um dos alvos é amplificado, pode ser realizada a repetição do teste se o controlo SPC2 for negativo. Se o resultado da repetição do teste for o mesmo, devem ser realizados testes adicionais de confirmação se existir indicação clínica.

Resultados inválidos

Se um NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay processado no NeuMoDx System não produzir um resultado válido, será comunicado como Indeterminate (Indeterminado), No Results (Sem resultados) ou Unresolved (Não resolvido) com base no tipo de erro que ocorreu, e o teste deve ser repetido para se obter 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.

Controlo de qualidade

Os laboratórios são responsáveis por ter procedimentos de controlo que monitorizem a exatidão e a precisão de todo o processo analítico e devem estabelecer o número, tipo e frequência dos materiais de controlo de teste.

1. Não são fornecidos materiais de controlo com o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. Contudo, os seguintes materiais de controlo foram validados e são recomendados pela NeuMoDx. Os controlos devem cumprir as mesmas especificações de volume mínimo das amostras clínicas especificadas acima com base no tamanho do transportador de tubos de espécime.

Para espécimes de exsudado, recomenda-se os seguintes controlos

- Controlo positivo:
 - ARN genómico de SARS-CoV-2 purificado (N.º de catálogo VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, USA) a uma concentração final de 5E3 cópias/mL
 - SARS-CoV-2 inativado por calor (N.º de catálogo VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, USA) a uma concentração final de 5E3 cópias/mL
 - 5 mL de NATrol™ SARS-CoV-2 (Recombinant) Stock (contém apenas gene N, N.º de catálogo 0831042, ZeptoMetrix, Buffalo, NY, EUA) em 1 mL de meio BD UVT.
- Controlo negativo: meio Copan/BD UVT ou equivalente.

Para espécimes de saliva, recomenda-se os seguintes controlos

Controlo positivo: diluir qualquer um dos seguintes materiais numa mistura de água de grau molecular e SSB a um rácio de água/SSB (v/v) de 1:1,67:

- ARN genómico de SARS-CoV-2 purificado (N.º de catálogo VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, USA) a uma concentração final de 5E3 cópias/mL
- SARS-CoV-2 inativado por calor (N.º de catálogo VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, USA) a uma concentração final de 5E3 cópias/mL
- NATrol™ SARS-CoV-2 (Recombinant) Stock (contém apenas gene N, N.º de catálogo 0831042, ZeptoMetrix, Buffalo, NY, USA) a uma diluição de 1:20.

Controlo negativo: 0,6 mL de água de grau molecular adicionados a 1 mL de tampão de estabilização de saliva (saliva stabilization buffer, SSB) ou a um rácio de água/SSB (v/v) de 1:1,67.

2. É recomendado que os utilizadores processem um conjunto de controlos positivos e negativos a cada 24 horas e antes de processar amostras de pacientes.
3. Ao processar controlos, 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. Uma vez definido, o NeuMoDx System reconhece os códigos de barras e inicia o processamento de controlos.
4. Os primers e a sonda específicos para o controlo de processo de amostra (Sample Process Control 2, SPC2) são incluídos em cada NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip. Este controlo de processo de amostra permite que o NeuMoDx System monitorize a eficácia dos processos de extração de ARN e de amplificação RT-PCR.
5. 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.
6. O software do NeuMoDx System monitoriza continuamente os sensores e atuadores a bordo para garantir a operação segura e eficaz do sistema.
7. São implementados vários modos de recuperação de erro de fluido através da monitorização ativa das operações de aspiração e dispensa para assegurar que o sistema pode concluir o processamento de todas as amostras de forma segura e eficaz ou fornecer um código de erro adequado.
8. O NeuMoDx System está equipado com a capacidade de Rerun/Repeat (Reexecutar/repetir) automática que o utilizador final pode optar por utilizar, de forma a assegurar que um resultado INVALID (Inválido) é reprocessado automaticamente para minimizar atrasos na comunicação de resultados.
9. A comunicação de um resultado de teste positivo para uma amostra de controlo negativo pode indicar um problema de contaminação de espécimes. *Consultar o Manual do Operador do NeuMoDx 288 Molecular System ou do NeuMoDx 96 Molecular System para obter sugestões de resolução de problemas.*
10. A comunicação de um resultado negativo para uma amostra de controlo positivo pode indicar um problema relacionado com reagentes ou com o NeuMoDx System. *Consultar o Manual do Operador do NeuMoDx 288 Molecular System ou do NeuMoDx 96 Molecular System para obter sugestões de resolução de problemas.*

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade analítica – Amostras de esfregaço nasofaríngeo

O limite de detecção (LdD) do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay foi determinado testando uma série de diluições de amostras clínicas negativas de esfregaço nasofaríngeo em pools (zaragatoa floculada de nylon colhida em UTM [Copan Diagnostic Inc, CA] ou UVT [BD, NJ]) enriquecidas com ARN genómico de SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) e processadas utilizando ambos os fluxos de trabalho DIRETO e PRÉ-TRATADO. Foram avaliadas pelo menos vinte réplicas de cada diluição em ambos os NeuMoDx Systems para cada fluxo de trabalho. O LdD foi determinado como sendo **150 cópias/mL**.

Tabela 3. Taxa de detecção e Limite de detecção para SARS-CoV-2 no NeuMoDx 96 Molecular System: Fluxo de trabalho pré-tratado

LdD da SARS-CoV-2: N96, Fluxo de trabalho Pré-tratado								
Nível de alvo	Resultados válidos	Gene Nsp2 positivo		Taxa de detecção do gene Nsp2	Gene N positivo		Taxa de detecção do gene N	Taxa amplificada de ambos os alvos
		n	Ct média		n	Ct média		
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/d	0%	22	31,8	91,7%	0%
Negative (Negativo)	30	n/d		0%	0	n/d	0%	0%

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

Tabela 4. Taxa de detecção e Limite de detecção para SARS-CoV-2 no NeuMoDx 288 Molecular System: Fluxo de trabalho pré-tratado

LdD da SARS-CoV-2: N288, Fluxo de trabalho Pré-tratado								
Nível de alvo	Resultados válidos	Gene Nsp2 positivo		Taxa de detecção do gene Nsp2	Gene N positivo		Taxa de detecção do gene N	Taxa amplificada de ambos os alvos
		n	Ct média		n	Ct média		
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/d	0%	0	n/d	0%	0%

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

Tabela 5. Taxa de detecção e Limite de detecção para SARS-CoV-2 no NeuMoDx 96 Molecular System: Fluxo de trabalho direto

LdD da SARS-CoV-2: N96, Fluxo de trabalho Direto								
Nível de alvo	Resultados válidos	Gene Nsp2 positivo		Taxa de detecção do gene Nsp2	Gene N positivo		Taxa de detecção do gene N	Taxa amplificada de ambos os alvos
		n	Ct média		n	Ct média		
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 do N96: 150 cp/mL [nível de alvo mais baixo demonstrando taxa de detecção de ambos os alvos >95%]

*Esta amostra mostrou adicionalmente uma amplificação fraca do SPC2, e acreditou-se que a falta de amplificação era um artefacto do processamento do sistema. Isto é apoiado por uma taxa de detecção de 100% à mesma concentração-alvo no RPT-8505B (Avaliação clínica). Adicionalmente, para este estudo foi alcançada uma taxa de detecção de 100% nas concentrações inferiores a 250 cópias/mL e 150 cópias/mL.

** Dez das 24 amostras apresentaram ambos os alvos detetados a 50 cópias/mL, para uma taxa de positividade global de 41,7%.

Tabela 6. Taxa de detecção e Limite de detecção para SARS-CoV-2 no NeuMoDx 288 Molecular System: Fluxo de trabalho direto

LdD da SARS-CoV-2: N288, Fluxo de trabalho Direto								
Nível de alvo	Resultados válidos	Gene Nsp2 positivo		Taxa de detecção do gene Nsp2	Gene N positivo		Taxa de detecção do gene N	Taxa amplificada de ambos os alvos
		n	Ct média		n	Ct média		
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 do N288: 150 cp/mL [nível de alvo mais baixo demonstrando taxa de detecção de ambos os alvos >95%]

Sensibilidade analítica – Amostras de saliva

O limite de detecção (LdD) do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay utilizando amostras de saliva foi determinado testando uma série de diluições de amostras de saliva negativas em pools (misturadas com NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer a um rácio de saliva/tampão de 1:1,67) enriquecidas com vírus SARS-CoV-2 irradiado por raios gama (BEI Resources NR-52287) ou ARN genómico de SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) e processadas utilizando o fluxo de trabalho Direto. Foram avaliadas pelo menos três réplicas para cada diluição em torno do LdD esperado, seguido pelo processamento de confirmação de pelo menos vinte réplicas nos níveis mais baixos que deram todos resultados positivos. O LdD de ARN genómico e vírus irradiado por raios gama foi determinado como sendo de **50 cópias/mL** e **0,0075 TCID50/mL**, respetivamente.

Tabela 7. Taxas de detecção e limite de detecção preliminar com SARS-CoV-2 irradiado por raios gama

LdD de SARS-CoV-2; Vírus SARS-CoV-2 irradiado por raios gama								
Nível de alvo	Resultados válidos	Gene Nsp2 positivo		Taxa de detecção do gene Nsp2	Gene N positivo		Taxa de detecção do gene N	Taxa amplificada de ambos os alvos
		N	Ct média		n	Ct média		
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 irradiado por raios gama: 0,005 TCID50/mL [nível de alvo mais baixo demonstrando taxa de detecção de ambos os alvos >95%]

*Três em dez (3/10) amostras apresentaram ambos os alvos detetados a 0,0025 TCID50/mL, para uma taxa de positividade global de 30%

Tabela 8. Taxas de detecção e limite de detecção preliminar com ARN genómico de SARS-CoV-2

LdD de SARS-CoV-2; ARN genómico de SARS-CoV-2								
Nível de alvo	Resultados válidos	Gene Nsp2 positivo		Taxa de detecção do gene Nsp2	Gene N positivo		Taxa de detecção do gene N	Taxa amplificada de ambos os alvos
		N	Ct média		n	Ct média		
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 – ARN genómico: 50 cp/mL [nível de alvo mais baixo demonstrando taxa de detecção de ambos os alvos >95%]

*Seis em dez (6/10) amostras apresentaram ambos os alvos detetados a 40 cópias/mL, para uma taxa de positividade global de 60%

**Quatro em dez (4/10) amostras apresentaram ambos os alvos detetados a 25 cópias/mL, para uma taxa de positividade global de 40%

Tabela 9. Taxas de detecção e confirmação de limite de detecção com SARS-CoV-2 irradiado por raios gama

LdD de SARS-CoV-2; Vírus SARS-CoV-2 irradiado por raios gama									
Sistema	Nível de alvo	Resultados válidos	Gene Nsp2 positivo		Taxa de detecção do gene Nsp2	Gene N positivo		Taxa de detecção do gene N	Taxa amplificada de ambos os alvos
			N	Ct média		n	Ct média		
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 do N288: 0,0075 TCID50/mL [nível de alvo mais baixo demonstrando taxa de detecção de ambos os alvos >95%] LdD do N96: 0,0075 TCID50/mL [nível de alvo mais baixo demonstrando taxa de detecção de ambos os alvos >95%]									
*Dezassete (17) em vinte (20) amostras apresentaram ambos os alvos detetados no N288, para uma taxa de positividade global de 85% **Treze (13) em vinte (20) amostras apresentaram ambos os alvos detetados no N96, para uma taxa de positividade global de 65%									

Tabela 10. Taxas de detecção e confirmação de limite de detecção com ARN genômico de SARS-CoV-2

LdD de SARS-CoV-2; ARN genômico de SARS-CoV-2									
Sistema	Nível de alvo	Resultados válidos	Gene Nsp2 positivo		Taxa de detecção do gene Nsp2	Gene N positivo		Taxa de detecção do gene N	Taxa amplificada de ambos os alvos
			N	Ct média		n	Ct média		
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 do N288: 50 cp/mL [nível de alvo mais baixo demonstrando taxa de detecção de ambos os alvos >95%] LdD do N96: 50 cp/mL [nível de alvo mais baixo demonstrando taxa de detecção de ambos os alvos >95%]									
*Dezanove (19) em vinte (20) amostras apresentaram ambos os alvos detetados no N96, para uma taxa de positividade global de 95%									

Inclusividade

A inclusividade do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay foi avaliada por análise *in silico*, mapeando os primers e as sondas do ensaio a todas as sequências disponíveis de SARS-CoV-2 (n = 96) na base de dados do NCBI desde 14 de março de 2020. As regiões dos primers e sondas do teste foram comparadas em análise *in silico* para verificar a homologia da sequência com estirpes SARS-CoV-2 em circulação. O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay apresentou 100% de homologia para todas as sequências, exceto uma, para o gene Nsp2 (Alvo 1). Essa sequência possuía um único par de nucleótidos desemparelhados no primer direto sem impacto previsto no desempenho do ensaio. A homologia entre os primers e a sonda do gene N (Alvo 2) foi 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 apresentados na Tabela 11 mapeando individualmente os primers e as sondas do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a sequências na base 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) apresentou homologia para o primer direto do gene N (Alvo 2), mas não apresentou homologia significativa nem para o primer inverso nem para a sonda. Da mesma forma, o coronavírus SARS (AY345986.1) apresentou homologia para o primer direto e para a sonda do gene N, mas não apresentou homologia significativa para o primer inverso. *Pseudomonas aeruginosa* (CP000438.1) apresentou homologia para o primer de SPC2 direto, mas não para nenhum alvo da SARS-CoV-2. A análise *in silico* não mostrou, portanto, qualquer reatividade cruzada provável para qualquer uma das sequências avaliadas. Foram efetuados mais testes por via húmida para confirmar que a *H. influenzae* e *P. aeruginosa* não apresentavam risco de reatividade cruzada ou de 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 adesão do GenBank do NCBI	Organismo	Número(s) de adesão do 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. Reatividade cruzada e Teste de interferência para a *H. Influenzae*

AMOSTRA		Resultados válidos	N.º do gene N positivo	% de gene N positivo (Amarelo)	Ct méd. do gene N	N.º do gene Nsp2 positivo	% de gene Nsp2 positivo (Verde)	Ct méd. do gene Nsp2	Ct méd. da SPC2
Reatividade cruzada	UVT puro (Controlo negativo)	3	0	0%	N/A (N/D)	0	0%	N/A (N/D)	27,7
	UVT+ <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 UFC/mL)	3	0	0%	N/A (N/D)	0	0%	N/A (N/D)	28,3
Interferência	UVT puro + ARN de SARS-CoV-2 (750 cópias/mL) (Controlo positivo)	3	3	100%	32,03	3	100%	34,05	27,8
	UVT+ <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 CFU/mL) + ARN de SARS-CoV-2 (750 cópias/mL)	3	3	100%	32,45	3	100%	33,98	27,7

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

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

Substâncias interferentes – Amostras de esfregaço nasofaríngeo

O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay foi avaliado quanto à suscetibilidade a interferências causadas por substâncias potencialmente associadas à colheita de espécimes de esfregaço nasofaríngeo. Espécimes clínicos residuais negativos de esfregaço nasofaríngeo foram enriquecidos com ARN genómico de SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) a 5X o LdD e processados na presença e ausência dos agentes apresentados abaixo na *Tabela 14*. Nenhuma das substâncias incluídas no teste teve um efeito adverso no desempenho do ensaio.

Tabela 14. Substâncias testadas quanto a interferência

		Substância	Concentração*
Endógenas		Mucina	0,5% (w/v)
		Sangue	2% (v/v)
Exógenas		Afrin® Original (oximetazolina)	15% (v/v)
		Zicam® Cold Remedy solução nasal	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 apresentadas são as utilizadas para saturar esfregaços antes de dosear amostras clínicas positivas artificiais com substâncias interferentes. Deste modo, são representativas do nível, na área de colheita do esfregaço, que pode ser tolerado.

Substâncias interferentes – Amostras de saliva

O NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay foi avaliado quanto à suscetibilidade a interferências causadas por substâncias potencialmente associadas à colheita de espécimes de saliva. Amostras negativas de saliva em pools foram enriquecidas com vírus SARS-CoV-2 irradiado por raios gama (BEI Resources NR-52287) a 10X o LdD, preparadas com o NeuMoDx Saliva Collection Kit e processadas na presença e ausência dos agentes indicados abaixo na *Tabela 15*. Nenhuma das substâncias incluídas na testagem teve um efeito adverso no desempenho do ensaio às concentrações indicadas.

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

	Substância	Concentração
Endógenas	Sangue total	1% v/v
Exógenas	Altoids™ (hortelã)	2% w/v
	Aspirina™	1% w/v
	LISTERINE® Ultra-clean elixir oral antisséptico	1% v/v
	Halls™ pastilhas para a garganta (mentol e eucalipto)	1% w/v
	Crest Pro-Health Advanced Gum Protection	0,001% w/v*
	Wal-Tussin® DM Max xarope para a tosse	1% v/v

*A concentração desta substância é comunicada como resultado de um estudo de resposta a dose de 0,1%, tendo sido demonstrada a sua inibição.

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade intralaboratorial do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay foi verificada por análise retrospectiva do desempenho utilizando amostras clínicas negativas e positivas artificiais de esfregaço nasofaríngeo. Os dados resumidos nas *Tabelas 16a–c* representam testes realizados por vários operadores em dois instrumentos ao longo de um período de três dias. Os resultados das amostras preparadas com os fluxos de trabalho DIRETO e PRÉ-TRATADO são representados.

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

Nível de SARS-CoV-2 (cp/mL)	N	Alvo N			Alvo Nsp2			SPC2		
		% de positivos	Ct méd.	% de CV de Ct	% de positivos	Ct méd.	% de CV de Ct	% de positivos	Ct méd.	% de CV de 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/D)	N/A (N/D)	0%	N/A (N/D)	N/A (N/D)	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	Ct méd.	% de CV de Ct	N	% de positivos	Ct méd.	% de CV de 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 e precisão gerais do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Alvo	Nível (cp/mL)	Fluxo de trabalho DIRETO				Fluxo de trabalho PRÉ-TRATADO			
		N	% de positivos	Ct méd.	% de CV de Ct	N	% de positivos	Ct méd.	% de CV de 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. Testagem de espécimes artificiais – Amostras de esfregaço nasofaríngeo

O desempenho do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay com amostras clínicas residuais de esfregaço nasofaríngeo (zaragatoa floculada de nylon colhida em UTM [Copan Diagnostic Inc, CA] ou UVT [BD, NJ]) foi avaliado utilizando um painel de 82 amostras clínicas negativas e 87 amostras clínicas positivas artificiais previamente submetidas a testagem de influenza e/ou vírus sincicial respiratório de pacientes com sinais e sintomas de infecção do trato respiratório superior. Amostras positivas artificiais foram preparadas enriquecendo amostras clínicas negativas com ARN genômico de SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285). Das 87 amostras positivas artificiais, 57 estavam em concentrações 1-2X o LdD e 30 estavam em concentrações 4-8X o LdD. O processamento de amostras foi efetuado utilizando os fluxos de trabalho DIRETO e PRÉ-TRATADO em ambos os NeuMoDx Systems.

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

Tabela 17. Espécimes de esfregaço pré-tratados apenas no NeuMoDx 288 Molecular System

Fluxo de trabalho Pré-tratado: NeuMoDx 288 Molecular System					
Concentração da amostra	n	Alvo 1 (gene Nsp2)		Alvo 2 (gene N)	
		% de positivos (IC bicaudal de 95%)	Ct média	% de positivos (IC bicaudal de 95%)	Ct média
225 cp/mL ~1,5X o LdD	12	100 (75,6–99,9)	32,5	100 (75,6–99,9)	32,2
400 cp/mL ~2,7X o LdD	11	100 (74,0–99,9)	31,4	100 (74,0–99,9)	30,2
500 cp/mL ~3,3X o 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/d)	n/d	0 (n/d)	n/d
O desempenho em relação aos resultados esperados é: Concordância da percentagem positiva 44/44 = 100% (IC de 95%: 91,9%–100%) Concordância da percentagem negativa 29/29 = 100% (IC de 95%: 88,2%–100%)					

Tabela 18. Espécimes de esfregaço pré-tratados apenas no NeuMoDx 96 Molecular System

Fluxo de trabalho Pré-tratado: NeuMoDx 96 Molecular System					
Concentração da amostra	n	Alvo 1 (gene Nsp2)		Alvo 2 (gene N)	
		% de positivos (IC bicaudal de 95%)	Ct média	% de positivos (IC bicaudal de 95%)	Ct média
225 cp/mL ~1,5X o LdD	12	100 (75,6–99,9)	32,0	100 (75,6–99,9)	31,5
400 cp/mL ~2,7X o LdD	3	100 (43,7–99,8)	31,2	100 (43,7–99,8)	30,4
500 cp/mL ~3,3X o 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/d)	n/d	0 (n/d)	n/d
O desempenho em relação aos resultados esperados é: Concordância da percentagem positiva 22/22 = 100% (IC de 95%: 85,0%–100%) Concordância da percentagem negativa 20/20 = 100% (IC de 95%: 83,8%–100%)					

Tabela 19. Espécimes de fluxo de trabalho de esfregaço diretos apenas no NeuMoDx 288 Molecular System

Fluxo de trabalho Direto: NeuMoDx 288 Molecular System					
Concentração da amostra	n	Alvo 1 (gene Nsp2)		Alvo 2 (gene N)	
		% de positivos (IC bicaudal de 95%)	Ct média	% de positivos (IC bicaudal de 95%)	Ct média
225 cp/mL ~1,5X o LdD	12	100 (75,6–99,9)	33,8	100 (75,6–99,9)	32,7
400 cp/mL ~2,7X o LdD	11	100 (74,0–99,9)	32,4	100 (74,0–99,9)	31,1
500 cp/mL ~3,3X o 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/d)	n/d	0 (n/d)	n/d
O desempenho em relação aos resultados esperados é: Concordância da percentagem positiva 46/46 = 100% (IC de 95%: 92,2%–100%) Concordância da percentagem negativa 33/33 = 100% (IC de 95%: 89,5%–100%)					

Tabela 20. Espécimes de fluxo de trabalho de esfregaço diretos apenas no NeuMoDx 96 Molecular System

Fluxo de trabalho Direto: NeuMoDx 96 Molecular System					
Concentração da amostra	n	Alvo 1 (gene Nsp2)		Alvo 2 (gene N)	
		% de positivos (IC bicaudal de 95%)	Ct média	% de positivos (IC bicaudal de 95%)	Ct média
225 cp/mL ~1,5X o LdD	12	100 (75,6–99,9)	33,4	100 (75,6–99,9)	32,3
400 cp/mL ~2,7X o LdD	4	100 (50,9–99,9)	32,7	100 (50,9–99,9)	31,7
500 cp/mL ~3,3X o 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/d)	N/A (N/D)	0 (n/d)	N/A (N/D)
O desempenho em relação aos resultados esperados é: Concordância da percentagem positiva 23/23 = 100% (IC de 95%: 85,6%–100%) Concordância da percentagem negativa N/D					

b. Testagem de espécimes artificiais – Amostras de saliva

O desempenho do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay com amostras de saliva (preparadas utilizando o NeuMoDx Saliva Collection Kit) foi avaliado utilizando um painel de 36 amostras negativas colhidas de doadores. Cada amostra de dador saudável foi utilizada para preparar uma amostra negativa e uma positiva artificial enriquecendo-as com vírus SARS-CoV-2 irradiado por raios gama (BEI Resources NR-52287), num total de 72 amostras para testagem. Das 36 amostras positivas artificiais, 28 apresentaram concentrações de 1,5–2X o LdD, 4 a 10X o LdD e 4 a 20X o LdD. As amostras foram processadas utilizando o fluxo de trabalho UserSpecified2 (Especificado pelo utilizador 2).

Todas as amostras positivas foram comunicadas como positivas e todas as amostras negativas foram comunicadas 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 bicaudal de 95%)	Ct média	% de positivos (IC bicaudal de 95%)	Ct média												
0,01125–0,015 TCID50/mL (1,5–2X o LdD)	27	96 (81,7–99,3)	33,2	100 (87,6–100)	33,1												
0,075 TCID50/mL (10X o LdD)	4	100 (51,0–100)	32,7	100 (51,0–100)	32,3												
0,15 TCID50/mL (20X o LdD)	4	100 (51,0–100)	31,0	100 51,0–100	30,9												
Negative (Negativo)	35	0 (n/d)	n/d	0 (n/d)	n/d												
<p>O desempenho em relação aos resultados esperados é:</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%;">Concordância de percentagem positiva do gene Nsp2</td> <td>34/35 = 97,1% (IC a 95%: 85,5%–99,5%)</td> </tr> <tr> <td>Concordância de percentagem negativa do gene Nsp2</td> <td>35/35 = 100% (IC a 95%: 90,1%–100%)</td> </tr> <tr> <td>Concordância de percentagem positiva do gene N</td> <td>35/35 = 100% (IC a 95%: 90,1%–100%)</td> </tr> <tr> <td>Concordância de percentagem negativa do gene N</td> <td>35/35 = 100% (IC a 95%: 90,1%–100%)</td> </tr> <tr> <td>Concordância de percentagem positiva geral</td> <td>35/35 = 100% (IC a 95%: 90,1%–100%)</td> </tr> <tr> <td>Concordância de percentagem negativa geral</td> <td>35/35 = 100% (IC a 95%: 90,1%–100%)</td> </tr> </table>						Concordância de percentagem positiva do gene Nsp2	34/35 = 97,1% (IC a 95%: 85,5%–99,5%)	Concordância de percentagem negativa do gene Nsp2	35/35 = 100% (IC a 95%: 90,1%–100%)	Concordância de percentagem positiva do gene N	35/35 = 100% (IC a 95%: 90,1%–100%)	Concordância de percentagem negativa do gene N	35/35 = 100% (IC a 95%: 90,1%–100%)	Concordância de percentagem positiva geral	35/35 = 100% (IC a 95%: 90,1%–100%)	Concordância de percentagem negativa geral	35/35 = 100% (IC a 95%: 90,1%–100%)
Concordância de percentagem positiva do gene Nsp2	34/35 = 97,1% (IC a 95%: 85,5%–99,5%)																
Concordância de percentagem negativa do gene Nsp2	35/35 = 100% (IC a 95%: 90,1%–100%)																
Concordância de percentagem positiva do gene N	35/35 = 100% (IC a 95%: 90,1%–100%)																
Concordância de percentagem negativa do gene N	35/35 = 100% (IC a 95%: 90,1%–100%)																
Concordância de percentagem positiva geral	35/35 = 100% (IC a 95%: 90,1%–100%)																
Concordância de percentagem negativa geral	35/35 = 100% (IC a 95%: 90,1%–100%)																

c. Testagem de espécimes clínicos – Espécimes de esfregaço nasofaríngeo

O desempenho do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay foi ainda avaliado utilizando espécimes clínicos. Espécimes clínicos de esfregaço nasofaríngeo (NF) não identificados que restaram de pacientes sintomáticos foram colhidos com zaragatoas floculadas minitip em 3 mL de BD Universal Viral Transport Medium (BD UVT). Os espécimes foram submetidos a testagem quanto a SARS-CoV-2 em dois locais de testagem externos que efetuaram a testagem comparativa desses espécimes com testes previamente autorizados pela FDA dos EUA para utilização em caso de emergência. A testagem com o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay foi realizado num local de testagem interno e outro externo. Foi processado um total de 40 amostras utilizando o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. Algumas amostras foram testadas em ambos os NeuMoDx Systems N288 e N96 aplicando os fluxos de trabalho PRÉ-TRATADO e DIRETO. Os resultados do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay apresentaram total concordância com os resultados do ensaio comparativo para todas as amostras clínicas testadas no estudo de comparação de métodos (*Tabelas 22 e 23*).

Tabela 22. Resultados de comparação de métodos qualitativos para o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay em NeuMoDx Molecular Systems vs. Testes de referência – Fluxo de trabalho PRÉ-TRATADO

N96 e N288 Pré-tratado		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 100% (IC de 95% 86,6–100%)				
Especificidade clínica 100% (IC de 95% 79,5–99,9%)				

Tabela 23. Resultados de comparação de métodos qualitativos para o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay vs. Testes de referência – Fluxo de trabalho DIRETO (a) no NeuMoDx 288 Molecular System (N288) e (b) no NeuMoDx 96 Molecular System (N96)

(a)

N288 Direto		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 100% (IC de 95% 72,1–99,9%)				
Especificidade clínica 100% (IC de 95% 69,9–99,9%)				

(b)

N96 Direto		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 100% (IC de 95% 56,4–99,9%)				
Especificidade clínica 100% (IC de 95% 60,8–99,9%)				

d. Testagem de espécimes clínicos – Espécimes de saliva

O desempenho do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay com amostras de saliva (preparadas utilizando o NeuMoDx Saliva Collection Kit) foi avaliado utilizando 112 espécimes emparelhados de esfregaço nasofaríngeo (NF) e saliva não identificados colhidos consecutivamente de forma prospetiva ou residual (também colhidos consecutivamente) do mesmo indivíduo. Foram utilizados NeuMoDx Saliva Collection Kits para a colheita prospetiva de espécime de saliva, ao passo que as amostras de saliva residuais foram colhidas em frascos de amostra sem conservantes e armazenados congelados a -80 °C até à testagem com NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer. Os espécimes de exsudado NF foram colhidos com zaragatoas floculadas minitip em 3 mL de BD Universal Viral Transport Medium (BD UVT). Todos os espécimes de saliva e a maioria dos espécimes de esfregaço nasofaríngeo (NF) foram testados utilizando o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay e uma combinação de NeuMoDx Systems N288 e N96. Os restantes espécimes de exsudado NF foram processados utilizando outros testes comparativos aprovados para utilização em caso de emergência. A testagem foi realizada num local de testagem interno e em dois locais de testagem externos. No geral, foi demonstrada uma concordância positiva e negativa >95% do NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay com os resultados dos testes de referência para espécimes de exsudado NF utilizando espécimes de saliva, conforme detalhado na *Tabela 24*.

Tabela 24. Resultados de comparação de métodos qualitativos para o NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay com espécimes de saliva vs. espécimes de exsudado NF

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

REFERÊNCIAS

- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 6th edition. HHS Publication HHS Publication No. (CDC) 300859, Revised June 2020
- 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

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

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

SÍMBOLOS

Os símbolos a seguir podem aparecer nas instruções de utilização ou na embalagem e etiquetagem:

 R only	Sujeito a receita 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 utilização
	Número de catálogo		Cuidado
	Código de lote		Riscos biológicos
	Data de validade		Marcação CE
	Perigo para a saúde		Perigo
	Limitação de humidade		



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



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



Assistência técnica/relatórios de vigilância: support.qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents