

REF Testovací proužek NeuMoDx™ SARS-CoV-2 Test Strip 300800

R only

UPOZORNĚNÍ: Pouze pro export do USA

IVD Pro diagnostiku *in vitro* se soustavami NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System

Chcete-li vložit aktualizace, přejděte na internetové stránky: www.qiagen.com/neumodx-ifu
Podrobné pokyny naleznete v návodu k obsluze soustavy NeuMoDx 288 Molecular System, výr. č. 40600108.
Podrobné pokyny naleznete v návodu k obsluze soustavy NeuMoDx 96 Molecular System, výr. č. 40600317.
Podrobné pokyny najdete v návodu k použití soupravy pro odběr slin NeuMoDx Saliva Collection Kit; výr. č. 40600441

ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

Analýza NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, prováděná na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System (molekulární soustava/soustava NeuMoDx Molecular System), je diagnostický test RT-PCR v reálném čase určený ke kvalitativní detekci RNA koronaviru SARS-CoV-2 v nosních, nosohltanových a orofaryngeálních stěrech v přepravním médiu a ve vzorcích bronchoalveolární laváže (BAL), který provádí poskytovatel zdravotní péče u osob s podezřením na onemocnění COVID-19.

Tento test je také určen k použití se vzorky slin, které jsou odebrány ve zdravotnickém zařízení od jednotlivců pomocí soupravy pro odběr slin NeuMoDx Saliva Collection Kit, pokud to poskytovatel zdravotní péče určí jako vhodné.

Výsledky jsou určeny pro identifikaci RNA SARS-CoV-2. RNA SARS-CoV-2 lze obecně detekovat ve vzorcích dýchacích cest během akutní fáze infekce. Pozitivní výsledky svědčí o přítomnosti RNA SARS-CoV-2. Ke stanovení stavu infekce pacienta je nutná klinická korelace s anamnézou pacienta a dalšími diagnostickými informacemi. Pozitivní výsledky nevylučují bakteriální infekci ani souběžnou infekci jinými viry. Laboratoře ve Spojených státech amerických a na jejich územích jsou povinny hlásit všechny pozitivní výsledky příslušným orgánům ochrany veřejného zdraví.

Negativní výsledky infekci SARS-CoV-2 nevylučují a neměly by být použity jako jediný podklad pro rozhodnutí týkající se léčby pacientů. Negativní výsledky musejí být kombinovány s klinickým pozorováním, anamnézou pacienta a epidemiologickými informacemi. Negativní výsledky na RNA SARS-CoV-2 ze slin by měly být potvrzeny testováním alternativního typu vzorku, pokud je to klinicky indikováno.

Analýza NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay je určena k použití vyškoleným personálem klinické laboratoře, který je speciálně poučen a vyškolen v technikách PCR v reálném čase a diagnostických postupech *in vitro*.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Vzorky z nazofaryngeálních, orofaryngeálních nebo nazálních stěrů jsou odebírány do systému přepravního média Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) System nebo BD™ Universal Viral Transport System (UVT). Pro přípravu k testování jsou primární odběrová zkumavka (s vyjmutým tamponem a sejmutým víčkem), čistý alikvotní podíl vzorku média nebo alikvotní podíl přepravního média upraveného pufrem NeuMoDx Viral Lysis Buffer v sekundární zkumavce se vzorkem označeny čárovým kódem a vloženy do soustavy NeuMoDx System pomocí určeného stojanu na zkumavky se vzorkem, po čemž automaticky začne zpracování. U každého vzorku nasaje soustava NeuMoDx System alikvotní podíl 400 µl a smíchá jej s pufrem NeuMoDx Lysis Buffer 3 (přímé vzorky) nebo NeuMoDx Lysis Buffer 2 (předběžně ošetřené vzorky).

Vzorky slin se odebírají do soupravy pro odběr slin NeuMoDx Saliva Collection Kit podle návodu k použití (výr. č. 40600441). V rámci přípravy na testování se odebrané sliny přenesou z ampulky NeuMoDx Saliva Collection Vial do zkumavky na stabilizaci vzorku NeuMoDx Specimen Stabilization Tube pomocí přenosové pipety tak, aby se ustavil poměr 1 : 1,67 sliny/SSB (obj./obj.). Sliny a stabilizační pufr se důkladně promíchají převrácením lahvičky 5krát až 8krát. Stabilizované sliny lze testovat přímo na soustavě NeuMoDx System anebo uložit pro pozdější testování.

Soustava NeuMoDx System automaticky provádí všechny kroky potřebné k extrakci cílové nukleové kyseliny, přípravě izolované RNA pro polymerázovou řetězovou reakci (RT-PCR) v reálném čase s reverzní transkripcí a, pokud jsou přítomny, k amplifikaci a detekci produktů amplifikace: genu nestrukturního proteinu 2 (Nsp2) a genu N genomu SARS-CoV-2. NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay obsahuje kontrolu zpracování vzorků RNA (Sample Process Control, SPC2), která pomáhá sledovat přítomnost možných inhibičních látek a také selhání soustavy NeuMoDx System nebo reagentů, ke kterému může dojít během extrakce a amplifikace.

PRINCIPY POSTUPU

Analýza NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay kombinuje automatizovanou extrakci RNA a amplifikaci/detekci pomocí RT-PCR v reálném čase. Vzorky z nazofaryngeálních, orofaryngeálních a nazálních stěrů jsou odebírány do systémů Copan UTM-RT System nebo BD UVT System. Vzorky slin se odebírají do soupravy pro odběr slin NeuMoDx Saliva Collection Kit. K dispozici jsou dva pracovní postupy pro přípravu vzorků stěrů pomocí analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. Přímý pracovní postup umožňuje vložit odběrovou zkumavku s tamponem nebo alikvotní podíl přepravního média v sekundární zkumavce do soustavy NeuMoDx System pro zpracování bez dalšího zásahu. Alternativně je médium se vzorkem stěru před umístěním do soustavy NeuMoDx System ke zpracování předem ošetřeno lyzačním pufrem NeuMoDx Viral Lysis Buffer. U vzorku slin obsluha zavede primární zkumavku na stabilizaci vzorku obsahující stabilizované sliny přímo do soustavy NeuMoDx System. Soustava NeuMoDx System automaticky zahájí zpracování tím, že nasaje alikvotní podíl vzorku matrici vzorku stěru nebo stabilizovaných slin a smíchá jej s lyzačním pufrem NeuMoDx Lysis Buffer a reagenty obsaženými na destičce NeuMoDx Extraction Plate. Soustava NeuMoDx System automatizuje a integruje extrakci a zkoncentrování RNA, přípravu PCR reagentů a amplifikaci/detekci nukleové kyseliny cílových sekvencí pomocí RT-PCR v reálném čase. Zahrnutá kontrola zpracování vzorku (Sample Process Control, SPC2) pomáhá monitorovat přítomnost inhibičních látek, selhání soustavy, procesu nebo reagentů. Jakmile je vzorek vložen do soustavy NeuMoDx System, není nutný žádný zásah obsluhy.

Soustava NeuMoDx System využívá k automatickému provedení lýzy, extrakce RNA a odstranění inhibitorů kombinace zahřívání, lytického enzymu a extrakčních reagensů s použitím samostatně dostupných reagensů NeuMoDx. Uvolněné nukleové kyseliny jsou zachyceny paramagnetickými částicemi. Částice s navázanou nukleovou kyselinou jsou vloženy do kazety NeuMoDx Cartridge, kde jsou nenavázané prvky vymyty promývací reagensí NeuMoDx Wash Reagent. Navázaná RNA se potom eluuje za použití uvolňovací reagensie NeuMoDx Release Reagent. Soustava NeuMoDx System využívá eluovanou RNA k rehydrataci patentově chráněné amplifikační směsi RT-PCR NeuDry™, která obsahuje všechny prvky nezbytné k amplifikaci cílů SARS-CoV-2 a SPC2. Tímto je umožněna simultánní amplifikace a detekce jak cíle, tak SPC2 v jedné reakci. Po rekonstituci suchých reagensů RT-PCR nadávkuje soustava NeuMoDx System připravenou RT-PCR-ready směs do jedné PCR komory (na každý vzorek) zásobníku NeuMoDx Cartridge. K reverzní transkripci, amplifikaci a detekci kontrolních a cílových (pokud jsou přítomné) sekvencí dochází v PCR komoře. Kazeta NeuMoDx Cartridge je navržena tak, aby obsahovala amplikon po RT-PCR, čímž se prakticky eliminuje riziko kontaminace po amplifikaci.

Amplifikované cíle jsou detekovány v reálném čase pomocí chemizmu hydrolyzační sondy (běžně označované jako chemizmus TaqMan®) za použití fluorogenních oligonukleotidových molekul sondy, specifických pro amplikony jejich příslušných cílů. Sondy TaqMan sestávají z fluoroforu, kovalentně připojeného k 5' konci oligonukleotidové sondy, a ze zhášedla na 3' konci. Zatímco sonda je intaktní, fluorofor a zhášedlo jsou v blízkosti, čímž molekula zhášedla potlačuje fluorescenci emitovanou fluoroforem přes Försterův rezonanční přenos energie (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Sondy TaqMan jsou určeny k reasociaci DNA v úseku amplifikovaném specifickou sadou primerů. Jak polymeráza Taq DNA prodlužuje primer a syntetizuje nové vlákno, 5' až 3' exonukleázová aktivita polymerázy Taq DNA degraduje sondu, která reasociovala na templát. Degradací sondy se uvolňuje fluorofor a narušuje její blízkost ke zhášedlu, takže účinek zhášení je v důsledku FRET překonán a detekce fluoroforu je možná. Výsledný fluorescenční signál detekovaný kvantitativní RT-PCR v termocykleru soustavy NeuMoDx System je přímo úměrný uvolněnému fluoroforu a může souviset s množstvím přítomného cíle. K detekci oblasti Nsp2 genu SARS-CoV-2 se používá sonda TaqMan značená fluoroforem FAM (470/510 nm) a k detekci genu N genu SARS-CoV-2 se používá sonda TaqMan značená fluoroforem HEX (530/555 nm). Pro detekci SPC2 je TaqMan sonda značena fluoroforem (680/715 nm). Software soustavy NeuMoDx System monitoruje fluorescenční signál vydávaný sondami TaqMan na konci každého amplifikačního cyklu. Když je amplifikace hotova, software soustavy NeuMoDx System údaje analyzuje a podá zprávu o výsledku (POSITIVE (POZITIVNÍ) / NEGATIVE (NEGATIVNÍ) / INDETERMINATE (NEURČITÝ) / NO RESULTS (BEZ VÝSLEDKŮ) / UNRESOLVED (NEROZLIŠENO)).

REAGENCIE / SPOTŘEBNÍ MATERIÁL

Dodaný materiál

REF.	Obsah	Počet testů na jednotku	Počet testů v balení
300800	Testovací proužek NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip <i>Suché reagensie RT-PCR obsahující TaqMan sondy a primery specifické pro SARS-CoV-2 spolu s TaqMan sondou a primery specifickými pro SPC2</i>	16	96

Požadované, ale nedodávané další materiály (k dispozici samostatně od společnosti NeuMoDx)

REF.	Obsah
100100	Zásobník NeuMoDx Cartridge
100200	Extrakční destička NeuMoDx Extraction Plate
400100	Promývací reagensie NeuMoDx Wash Reagent
400200	Uvolňovací reagensie NeuMoDx Release Reagent
400500 (Volitelné*)	Pufr NeuMoDx Lysis Buffer 2
400600**	Pufr NeuMoDx Lysis Buffer 3
401600 (Volitelné*)	Pufr NeuMoDx Viral Lysis Buffer
235903	Hroty Hamilton CO-RE / CO-RE II (300 µl) s filtry
235905	Hroty Hamilton CO-RE / CO-RE II (1 000 µl) s filtry

* Vyžadováno pouze v případě, že je vyžadován krok předúpravy pro lýzu mimo soustavu před vložením vzorků. Viz oddíl „Návod k použití“.

** Vyžadováno pouze pro přímé zpracování čistých vzorků. Viz oddíl „Návod k použití“ uvedený níže.

Odběrový tampon a přepravní médium (nedodávané)

Typ vzorku	Odběrové zařízení	Doporučené odběrové zařízení	Doporučený tampon
Nazofaryngeální stěr	Plastový aplikátor se sterilními tampony z předemného umělého hedvábí a polyesteru a nylonové vložkové tampony se čtyřmi odebranými do média UTM®: Universal Transport Medium (Copan Diagnostic Inc, CA) nebo UVT BD Universal Viral Transport System (UVT) (BD, NJ)	3 ml / 1 ml média Universal Transport Medium (Copan UTM-RT) nebo Universal Viral Transport System (BD UVT)	Flexible Minitip Size Nylon® Flocked Swab (Copan) nebo Vložkový tampon s ohebným minihrotem (BD)
Orofaryngeální stěr			
Nazální stěr			

Materiál pro odběr slin (k dispozici samostatně od společnosti NeuMoDx)

REF.	Obsah
100500	Souprava pro odběr slin NeuMoDx Saliva Collection Kit Obsahuje (1) ampulku pro odběr slin NeuMoDx Saliva Collection Vial, (1) zkumavku pro stabilizaci vzorku NeuMoDx Specimen Stabilization Tube s 1 ml stabilizačního pufru NeuMoDx saliva stabilization buffer a (1) jednorázovou přenosovou pipetu (dostatečné pro odběr jednoho vzorku na soupravu; podrobnosti jsou uvedeny v návodu k použití; výr. č. 40600441)

Potřebné přístrojové vybavení

Molekulární soustava **NeuMoDx 288 Molecular System** [REF 500100] nebo **NeuMoDx 96 Molecular System** [REF 500200]

  **VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ**

- Analýza NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay je určena pouze pro diagnostiku *in vitro* na soustavách NeuMoDx System.
- Pouze na předpis.
- Nepoužívejte opakovaně.
- Se vzorky je třeba vždy zacházet tak, jako by byly infekční, a v souladu s bezpečnými laboratorními postupy, například těmi popsány v Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories¹ a v dokumentu M29-A4 institutu CLSI.²
- Provádění analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay je omezeno na použití pracovníky vyškolenými v používání soustavy NeuMoDx System a v manipulaci s infekčními materiály.
- Pro testování vzorků slin je analýza NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay určena pouze se soupravou pro odběr slin NeuMoDx Saliva Collection Kit.
- Spotřební materiál ani reagentie po uvedené době expirace nepoužívejte.
- Nepoužívejte žádné reagentie, pokud je bezpečnostní těsnění rozbito nebo je při dodání poškozen obal.
- Spotřební materiál nebo reagentie nepoužívejte, pokud je ochranný váček při dodání otevřený nebo rozbítý.
- Minimální objem vzorku sekundárních alikvotních podílů závisí na velikosti zkumavky / stojanu na zkumavky se vzorkem tak, jak je definováno níže. Objem menší, než je specifikované minimum, může vést k chybě „Quantity Not Sufficient“ (Nedostatečné množství).
- Použití vzorků skladovaných při nesprávných teplotách nebo po uplynutí specifikovaných dob skladování může vést k neplatným nebo chybným výsledkům.
- U všech reagentií a spotřebního materiálu zabraňte mikrobiální a ribonukleázové (RNázové) kontaminaci. Při používání sekundárních zkumavek se doporučuje používat sterilní jednorázové přenosové pipety bez RNázy s bariérami proti aerosolům. Na každý vzorek použijte novou pipetu.
- Abyste předešli kontaminaci, s kazetou NeuMoDx Cartridge po amplifikaci nemanipulujte ani ji nerozebírejte. Za žádných okolností nevyjímejte kazetu NeuMoDx Cartridge z nádoby na biologický nebezpečný odpad (NeuMoDx 288 Molecular System) nebo z koše na nebezpečný biologický odpad (NeuMoDx 96 Molecular System). Zásobník NeuMoDx Cartridge je zkonstruován tak, aby kontaminaci zabránil.
- V případě, že laboratoř provádí také testy PCR s otevřenými zkumavkami, musí být zajištěno, že testovací proužek NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip, doplňkový spotřební materiál a reagentie nezbytné k testování, ochranné osobní prostředky, jako například rukavice a laboratorní pláště, a soustava NeuMoDx System nejsou kontaminovány.
- Při manipulaci s reagentiemi a spotřebním materiálem NeuMoDx byste měli nosit čisté nitrilové rukavice bez obsahu pudru. Měli byste dávat pozor, abyste se nedotýkali vrchního povrchu zásobníku NeuMoDx Cartridge, povrchu fóliového těsnění testovacího proužku NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip a extrakční destičky NeuMoDx Extraction Plate ani vrchního povrchu nádob s lyzacím pufrům NeuMoDx Lysis Buffer; při manipulaci se spotřebním materiálem a reagentiemi byste se měli dotýkat pouze bočních stran.
- Bezpečnostní listy (BL) jsou k dispozici na webových stránkách www.qiagen.com/neumodx-ifu
- Po provedení testu si důkladně umyjte ruce.
- Nepipetujte ústy. Nekuřte, nepijte ani nejzte v oblastech, kde se manipuluje se vzorky nebo reagentiemi.
- Nepoužité reagentie a odpad likvidujte podle státních, federálních, oblastních a místních předpisů.
- Nástroje a postupy analýzy snižují riziko kontaminace amplifikačním produktem. Kontaminace nukleovými kyselinami z pozitivních kontrol nebo vzorků však musí být omezována přijetím správné laboratorní praxe.
- Abyste nedošlo ke kontaminaci, doporučujeme správnou laboratorní praxi, včetně výměny rukavic mezi manipulacemi s patientskými vzorky.



UCHOVÁVÁNÍ, MANIPULACE A STABILITA PRODUKTU

- Testovací proužky NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip jsou stabilní v primárním obalu po dobu expirace, která je uvedena na štítku produktu, při uchovávání při teplotě mezi 4–28 °C.
- Po uplynutí uvedeného data expirace spotřební materiály ani reagentie nepoužívejte.
- Nepoužívejte žádný testovací produkt, pokud byl primární či sekundární obal viditelně narušen
- Nevkládejte žádný produkt testu, který byl již dříve vložen do jiné soustavy NeuMoDx System.
- Testovací proužek NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip může po vložení zůstat v přístroji soustavy NeuMoDx System po dobu 7 dnů. Zbývající životnost vložených testovacích proužků je sledována pomocí softwaru a hlášena uživateli v reálném čase. Soustava vyzve k vyjmutí testovacího proužku, který byl používán po uplynutí povolené doby.

ODBĚR, PŘEPRAVA A UCHOVÁVÁNÍ VZORKŮ

Se všemi vzorky manipulujte, jako kdyby byly schopné přenosu infekčních agens.

Nasofaryngeální a nazální vzorky

Vzorky by měly být odebírány pomocí systému Copan UTM-RT System či BD UVT System pomocí validovaných nylonových vložkových tamponů (viz materiály, které nejsou součástí dodávky). Kromě toho jsou přijatelnými typy tamponů vložkové tampony a tampony z polyesteru a umělého hedvábí. Při odběru, přepravě a skladování postupujte podle pokynů výrobce, které jsou uvedeny v návodu k použití systému Copan UTM-RT System / BD UVT System:

- Po odběru by měl být vzorek skladován při teplotě 2–25 °C a zpracován do 48 hodin.
- Pokud dodání a zpracování přesáhne 48 hodin, vzorky by se měly přepravovat na suchém ledu a v laboratoři by pak měly být ihned zmrazeny při teplotě -70 °C nebo nižší.

Vzorky slin

Podrobné pokyny naleznete v soupravě pro odběr slin NeuMoDx Saliva Collection Kit; vřr. č. 40600441.

Vzorky by se měly odebírat pomocí soupravy pro odběr slin NeuMoDx Saliva Collection Kit. Odebrané sliny se přenesou z ampulky NeuMoDx Saliva Collection Vial do zkumavky na stabilizaci vzorku NeuMoDx Specimen Stabilization Tube pomocí přenosové pipety tak, aby se ustavil poměr 1 : 1,67 sliny/SSB (obj./obj.). Sliny a stabilizační pufr se důkladně promíchají převrácením lahvičky 5krát až 8krát. Stabilizované sliny lze testovat přímo na soustavě NeuMoDx System anebo uložit pro pozdější testování.

- Vzorky slin lze před smícháním se stabilizačním pufrem NeuMoDx Stabilization Buffer (SSB) skladovat až 2 hodiny při okolních podmínkách.
- Po smíchání slin se stabilizačním pufrem zkontrolujte objem ve zkumavce na stabilizaci vzorku. Pokud je celkový objem pod ryskou, přidejte molekulárně čistou vodu, aby se celkový objem dostal po rysku.
- Stabilizované sliny lze uchovávat po dobu až 24 hodin při okolních podmínkách a až 7 dní při teplotě 2–8 °C. Před testováním by měl být vzorek vytemperován na teplotě místnosti.
- Stabilizované sliny lze v soustavách NeuMoDx Molecular System uchovávat po dobu 12 hodin.
- Pokud doba mezi odběrem a zpracováním přesáhne 48 hodin, měly by být stabilizované sliny přepravovány na ledových obkladech a poté chlazeny při 2–8 °C.

NÁVOD K POUŽITÍ

Analýza NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay umožňuje dva různé pracovní postupy v závislosti na preferencích uživatele/laboratoře:

Pracovní postup 1: PŘÍMÝ – vzorek stěru v přepravním médiu a sliny ve stabilizačním pufru jsou vloženy přímo do soustavy NeuMoDx System v primární odběrové zkumavce nebo v sekundárních zkumavkách se vzorky

-nebo-

Pracovní postup 2: S PŘEDÚPRAVOU – vzorek stěru v přepravním médiu je před vložení do soustavy NeuMoDx System v primární odběrové zkumavce nebo v sekundárních zkumavkách se vzorky předem upraven pomocí pufru NeuMoDx Viral Lysis Buffer.

Příprava testu – pracovní postup PŘÍMÝ pro přímé stěry a vzorky slin

Poznámka: Před zpracováním nechejte všechny vzorky vytemperovat na teplotu místnosti (15 až 30 °C).

1. Na zkumavku se vzorkem, kompatibilní se soustavou NeuMoDx System, nalepte štítek s čárovým kódem na vzorky, jak je popsáno v níže uvedených bodech 4 a 5.
2. Pokud testujete vzorek v primární odběrové zkumavce (vzorky stěrů) nebo ve zkumavce na stabilizaci vzorku (vzorky slin), vložte zkumavku označenou čárovým kódem do stojanu na zkumavky se vzorky a před vložení do soustavy NeuMoDx System se ujistěte, že je sejmuta víčko a/nebo vyjmut tampón.
3. Alternativně lze alikvotní podíl přepravního média nebo stabilizované sliny přenést do sekundární zkumavky označené čárovým kódem a umístit do 32místného stojanu na zkumavky se vzorky. Pokud používáte sekundární zkumavku, přeneste alikvotní podíl přepravního média nebo stabilizovaných slin do zkumavky se vzorkem s čárovým kódem, která je kompatibilní se soustavou NeuMoDx System podle objemů definovaných níže:

4. *Pro vzorky stěrů:*
 - Stojan na zkumavky se vzorkem (32 zkumavek): průměr 11–14 mm a výška 60–120 mm; minimální plnicí objem je $\geq 550 \mu\text{l}$
 - Stojan na zkumavky se vzorkem (24 zkumavek): průměr 14,5–18 mm a výška 60–120 mm; minimální plnicí objem je $\geq 1000 \mu\text{l}$
 - Stojan na zkumavky se vzorkem o malém objemu (32 zkumavek): 1,5ml mikrocentrifugační zkumavka s kónickým dnem; minimální plnicí objem je $\geq 500 \mu\text{l}$
5. *Pro vzorky stabilizovaných slin:*
 - Stojan na zkumavky se vzorkem (32 zkumavek): průměr 11–14 mm a výška 60–120 mm; minimální plnicí objem je $\geq 800 \mu\text{l}$
 - Stojan na zkumavky se vzorkem o malém objemu (32 zkumavek): 1,5ml mikrocentrifugační zkumavka s kónickým dnem; minimální plnicí objem je $\geq 700 \mu\text{l}$

Příprava testu – postup s PŘEDÚPRAVOU vzorků výtěru

Poznámka: Před zpracováním nechejte všechny vzorky vytemperovat na teplotu místnosti (15 až 30 °C).

VAROVÁNÍ: *Předběžná úprava vzorků stěrů pomocí lyzačního pufru NeuMoDx Viral Lysis Buffer nezaručuje inaktivaci přítomného viru. Se všemi vzorky je třeba zacházet tak, jako kdyby byly schopné přenosu infekčních agens.*

1. Předběžně upravte přepravní médium se vzorkem objemem lyzačního pufru NeuMoDx Viral Lysis Buffer v poměru 1 : 1. To lze provést v primární odběrové zkumavce, pokud je znám objem přepravního média. Alternativně lze předběžnou úpravu provést v sekundární zkumavce spojením alikvotního podílu přepravního média se stejným objemem lyzačního pufru NeuMoDx Viral Lysis Buffer. Výsledná směs by měla splňovat požadavky na minimální objem, které jsou uvedené níže.
2. Jemně promíchejte pipetou, abyste zajistili rovnoměrnou distribuci pufru NeuMoDx Viral Lysis Buffer.
3. Pokud testujete vzorek v primární odběrové zkumavce, vložte zkumavku označenou čárovým kódem do stojanu na zkumavky se vzorky a před vložením do soustavy NeuMoDx System se ujistěte, že je sejmuta víčko a vyjmut tampón.
4. Pokud používáte sekundární zkumavku, přeneste alikvotní podíl lyzátu s přepravním médiem do zkumavky se vzorkem s čárovým kódem, která je kompatibilní se systémem NeuMoDx System podle objemů definovaných níže:
 - Stojan na zkumavky se vzorkem (32 zkumavek): průměr 11–14 mm a výška 60–120 mm; minimální plnicí objem je $\geq 550 \mu\text{l}$
 - Stojan na zkumavky se vzorkem (24 zkumavek): průměr 14,5–18 mm a výška 60–120 mm; minimální plnicí objem je $\geq 1000 \mu\text{l}$
 - Stojan na zkumavky se vzorkem o malém objemu (32 zkumavek): 1,5ml mikrocentrifugační zkumavka s kónickým dnem; minimální plnicí objem je $\geq 500 \mu\text{l}$

Provoz soustavy NeuMoDx System

Podrobné pokyny jsou uvedeny v návodech k obsluze molekulárních soustav NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System.

1. Podle používaného pracovního postupu testování preparátu vložte do soustavy NeuMoDx System objednávku testu:
 - Neošetřené čisté vzorky ze stěrů připravené pomocí PŘÍMÉHO ZPRACOVÁNÍ jsou testovány definováním vzorku jako „**Transport Medium**“ (Transportní médium)
 - Vzorky výtěrů předběžně upravené pomocí pracovního postupu S PŘEDÚPRAVOU jsou testovány definováním vzorku jako „**UserSpecified1**“ (Specifikováno uživatelem 1).
 - Stabilizované sliny s použitím pracovního postupu PŘÍMÝ jsou testovány definováním vzorku jako „**UserSpecified2**“ (Specifikováno uživatelem 2).
2. Osadte jeden nebo více stojanů na testovací proužky testovacím proužkem (testovacími proužky) NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip a pomocí dotykové obrazovky vložte stojan (stojany) na testovací proužky do soustavy NeuMoDx System.
3. Na výzvu softwaru soustavy NeuMoDx System přidejte do stojanů na spotřební materiál soustavy NeuMoDx System nezbytný spotřební materiál (kazety NeuMoDx Cartridges, extrakční destičky NeuMoDx Extraction Plates, pufrý NeuMoDx Lysis Buffer 2 a NeuMoDx Lysis Buffer 3 a hroty CO-RE) a podle potřeby vložte stojan (stojany) do soustavy NeuMoDx System.
4. Pokud vás software soustavy NeuMoDx System vyzve, vyměňte podle potřeby promývací reagenty NeuMoDx Wash Reagent a/nebo uvolňovací reagenty NeuMoDx Release Reagent.
5. Pokud vás software soustavy NeuMoDx System vyzve, vyprázdněte podle potřeby odpadní reagenty z plnění, nádobu na biologicky nebezpečný odpad (pouze molekulární soustava NeuMoDx 288 Molecular System), odpadní koš na hroty (pouze molekulární soustava NeuMoDx 96 Molecular System) nebo koš na nebezpečný biologický odpad (pouze molekulární soustava NeuMoDx 96 Molecular System).
6. Vzorek (vzorky) vložte do stojanu na zkumavky se vzorky a ujistěte se, že jsou ze všech zkumavek sejmuta víčka.
7. Stojan (stojany) na zkumavky se vzorky umístěte na přihrádku automatického podavače a k vloženému stojanu (stojanům) do soustavy NeuMoDx System použijte dotykovou obrazovku. Tím se zahájí zpracování vložených vzorků pro určené testy, pokud je v systému nastaveno platné pořadí testů.

OMEZENÍ

- Analýza NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay byla hodnocena pouze pro použití v molekulárních systémech NeuMoDx.
- Analýza NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay byla navržena pro detekci RNA viru SARS-CoV-2 ve vzorcích nasofaryngeálních, orofaryngeálních a nazálních výtěrů, odebraných pomocí systému Copan UTM-RT System (UTM-RT) nebo BD Universal Viral Transport System (UVT), případně ve vzorcích slin, odebraných pomocí soupravy NeuMoDx Saliva Collection Kit. Použití analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay s jinými typy vzorků nebylo hodnoceno a výkonová charakteristika není známa.
- Spolehlivé výsledky závisejí na správném odběru vzorků, zacházení s nimi a na jejich skladování.
- Nazální stěry z nosu a ze střední skořepky nosní a vzorky bronchoalveolární laváže jsou považovány za přijatelné typy vzorků pro použití s analýzou NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, ale účinnost u těchto typů vzorků nebyla stanovena. Testování nazálních stěrů z nosu a ze střední skořepky nosní (vlastní odběr pod dohledem poskytovatele zdravotní péče nebo odběr poskytovatelem zdravotní péče) je omezeno na pacienty s příznaky onemocnění COVID-19.
- Pro testování vzorků slin je analýza NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay určena pouze se soupravou pro odběr slin NeuMoDx Saliva Collection Kit.
- K chybným výsledkům testů může dojít kvůli nesprávnému odběru vzorků, zacházení s nimi, jejich nevhodnému skladování, technické chybě nebo nesprávné identifikaci zkumavek se vzorkem. Nesprávný objem slin ve zkumavce na stabilizaci vzorku může snížit citlivost testu. Kromě toho by se mohly objevit falešně negativní výsledky kvůli tomu, že množství virových částic ve vzorku je pod mezí detekce analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay.
- Pokud se ani cílový SARS-CoV-2, ani cílová SPC2 neamplifikují, bude oznámen neplatný výsledek (Indeterminate (Neurčitý), No Results (Bez výsledků) nebo Unresolved (Nerozlišeno)) a test by měl být zopakován.
- Delece nebo mutace v oblastech zacílených analýzou NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay mohou ovlivnit detekci nebo by mohly vést k chybnému výsledku.
- Přítomnost zubní pasty Crest® Pro-Health Advanced Gum Protection Toothpaste ve vzorcích slin může potenciálně interferovat s detekcí RNA viru SARS-CoV-2 a může vést k chybným výsledkům.
- Pozitivní výsledek naznačuje přítomnost RNA viru SARS-CoV-2, ale nemusí nutně znamenat přítomnost infekčního viru SARS-CoV-2.
- Negativní výsledky nevylučují infekci virem SARS-CoV-2 a neměly by být jediným základem pro ošetření/léčbu pacienta nebo pro rozhodnutí v oblasti veřejného zdraví.
- Výsledky analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay by měly být použity jako doplněk klinických pozorování a dalších informací, které má lékař k dispozici.
- Aby nedošlo ke kontaminaci, doporučujeme správnou laboratorní praxi, včetně výměny rukavic mezi manipulacemi s patientskými vzorky.

VÝSLEDKY

Dostupné výsledky testů lze zobrazit na kartě „Results“ (Výsledky) v okně Results (Výsledky) na dotykové obrazovce systému NeuMoDx System, případně je odtud i vytisknout. Výsledek testu je Positive (Pozitivní, POS), Negative (Negativní, NEG), Indeterminate (Neurčitý, IND), No Results (Bez výsledků, NR) nebo Unresolved (Nerozlišeno, UNR) na základě stavu amplifikace cíle a kontroly zpracování vzorku (Sample Process Control, SPC2).

Kritéria pro pozitivní či negativní hlášení jsou uvedena v souboru definic analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay (Assay Definition File, ADF), který je nainstalován v soustavě NeuMoDx System. Výsledky vzorků stěrů a slin jsou uvedeny na základě rozhodovacího algoritmu ADF, který je shrnut v *tabulkách 1 a 2* níže.

Všechny kontroly testu by měly být před interpretací výsledků pacienta zkontrolovány. Pokud kontroly nejsou platné, výsledky pacienta nelze interpretovat.

Tabulka 1. Interpretace výsledků analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

CELKOVÝ VÝSLEDEK	CÍL 1 (Nsp2-gen) FAM	CÍL 2 (N-gen) HEX	KONTROLA ZPRACOVÁNÍ (SPC2) Far Red (hraniční červená)	Interpretace
POSITIVE (POZITIVNÍ)	AMPLIFIED (AMPLIFIKOVÁNO) [5 ≤ Ct < 20 A EPR ≥ 1.2 A EP ≥ 700] NEBO (20 ≤ Ct ≤ 40 AEP ≥ 700)	N/A	N/A	Detekována RNA SARS-CoV-2**
	N/A	AMPLIFIED (AMPLIFIKOVÁNO) (5 ≤ Ct < 20 A EPR ≥ 1,5) A EP ≥ 1000] NEBO (20 ≤ Ct ≤ 40 A EP > 1000)		
NEGATIVE (NEGATIVNÍ)	NOT AMPLIFIED (NENÍ AMPLIFIKOVÁNO) N/A NEBO (5 ≤ Ct < 20 A EPR < 1,2) NEBO (20 ≤ Ct ≤ 40 A EP < 700) NEBO (Ct > 40)	NOT AMPLIFIED (NENÍ AMPLIFIKOVÁNO) N/A NEBO (5 ≤ Ct < 20 A EPR < 1,5) NEBO (20 ≤ Ct ≤ 40 A EP < 1000) NEBO (Ct > 40)	AMPLIFIED (AMPLIFIKOVÁNO) (24 ≤ Ct ≤ 33 A EP ≥ 1000)	RNA SARS-CoV-2 nebyla detekována
IND*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Completed (NENÍ AMPLIFIKOVÁNO / Byly zaznamenány chyby soustavy, Zpracování vzorků dokončeno)			Všechny výsledky cíle byly neplatné; otestujte vzorek znovu
NR*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Completed (NENÍ AMPLIFIKOVÁNO / Byly zaznamenány chyby soustavy, Zpracování vzorků přerušeno)			Zpracování vzorku bylo přerušeno; otestujte vzorek znovu
UNR*	NOT AMPLIFIED, No System Errors Noted (NENÍ AMPLIFIKOVÁNO, Žádné chyby soustavy nebyly zaznamenány)			Všechny výsledky cíle byly neplatné; otestujte vzorek znovu

* Soustava je opatřena automatickou funkcí Rerun (Nová analýza) / Repeat (Opakovat), kterou si může koncový uživatel zvolit k zajištění, že výsledek IND/NR/UNR bude automaticky znovu zpracován, a tak se minimalizovaly prodlevy v hlášení výsledků.

** V případě potřeby lze provést opakovaný test v případě, že je amplifikován pouze jeden ze dvou cílů SARS-CoV-2.

Tabulka 2. Interpretace výsledků analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay – vzorky sliin

CELKOVÝ VÝSLEDEK	CÍL 1 (Nsp2-gen) FAM	CÍL 2 (N-gen) HEX	KONTROLA ZPRACOVÁNÍ (SPC2) Far Red (hraniční červená)	Interpretace
POSITIVE (POZITIVNÍ)	AMPLIFIED (AMPLIFIKOVÁNO) [5 ≤ Ct < 28 A EP ≥ 600 A EPR > 1,2] NEBO [28 ≤ Ct ≤ 40 A EP ≥ 600]	N/A	N/A	Detekována RNA SARS-CoV-2**
	N/A	AMPLIFIED (AMPLIFIKOVÁNO) [5 ≤ Ct < 28 A EP ≥ 675 A EPR > 1,2] NEBO [28 ≤ Ct ≤ 40 A EP ≥ 675]		
NEGATIVE (NEGATIVNÍ)	NOT AMPLIFIED (NENÍ AMPLIFIKOVÁNO) N/A NEBO [5 ≤ Ct < 28 A EPR ≤ 1,2] NEBO [28 ≤ Ct ≤ 42 A EP < 600] NEBO [Ct > 40]	NOT AMPLIFIED (NENÍ AMPLIFIKOVÁNO) N/A NEBO [5 ≤ Ct < 28 A EPR ≤ 1,2] NEBO [28 ≤ Ct ≤ 42 A EP < 675] NEBO [Ct > 40]	AMPLIFIED (AMPLIFIKOVÁNO) (24 ≤ Ct ≤ 33 A EP ≥ 1000)	RNA SARS-CoV-2 nebyla detekována
IND*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Completed (NENÍ AMPLIFIKOVÁNO / Byly zaznamenány chyby soustavy, Zpracování vzorků dokončeno)			Všechny výsledky cíle byly neplatné; otestujte vzorek znovu
NR*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Completed (NENÍ AMPLIFIKOVÁNO / Byly zaznamenány chyby soustavy, Zpracování vzorků přerušeno)			Zpracování vzorku bylo přerušeno; otestujte vzorek znovu
UNR*	NOT AMPLIFIED, No System Errors Noted (NENÍ AMPLIFIKOVÁNO, Žádné chyby soustavy nebyly zaznamenány)			Všechny výsledky cíle byly neplatné; otestujte vzorek znovu

* Soustava je opatřena automatickou funkcí Rerun (Nová analýza) / Repeat (Opakovat), kterou si může koncový uživatel zvolit k zajištění, že výsledek IND/NR/UNR bude automaticky znovu zpracován, a tak se minimalizovaly prodlevy v hlášení výsledků.

** V případě potřeby lze provést opakovaný test v případě, že je amplifikován pouze jeden ze dvou cílů SARS-CoV-2.

Pozitivní výsledek může být hlášen u vzorků poskytujících stav diferenciální amplifikace, takže se amplifikuje pouze jeden z cílů – cíl 1 (gen Nsp2) nebo cíl 2 (gen N). K tomu může dojít v důsledku 1) vzorku v koncentracích blízko meze detekce testu nebo pod touto mezí, 2) mutace v jedné z cílových oblastí nebo 3) jiných faktorů. V případě pozitivního testu, kde amplifikuje pouze jeden z cílů, lze zvážit opakované testování, pokud je kontrola SPC2 negativní. Pokud výsledek opakování zůstává stejný, mělo by být provedeno další potvrzovací testování, pokud je to klinicky indikováno.

Neplatné výsledky

Pokud se analýze NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay prováděné na soustavě NeuMoDx System nepodaří vyprodukovat platný výsledek, bude výsledek ohlášen buď jako Indeterminate (Neurčitý), No Results (Bez výsledků), anebo Unresolved (Nerozlišeno) podle typu chyby, ke které došlo. Pro získání platného výsledku by měl být test zopakován.

Výsledek Indeterminate (Neurčitý) bude oznámen tehdy, pokud je během zpracování vzorků detekována chyba soustavy NeuMoDx System. V případě ohlášení výsledku Indeterminate (Neurčitý) se doporučuje opakování testu.

Výsledek No Result (Bez výsledku) bude ohlášen tehdy, pokud je detekována chyba soustavy NeuMoDx System a zpracování vzorku je přerušeno. V případě ohlášení výsledku No Result (Bez výsledku) se doporučuje opakování testu.

Výsledek Unresolved (Nerozlišeno) bude oznámen, pokud není detekován žádný cíl a nedojde k žádné amplifikaci kontroly zpracování vzorku, což naznačuje možné selhání reagentie nebo přítomnost inhibitorů. V případě ohlášení výsledku Unresolved (Nerozlišeno) se jako první krok doporučuje opakování testu. Pokud opakovaný test není úspěšný, lze použít zředěný vzorek pro snížení účinků možné inhibice.

Kontrola kvality

Laboratoře jsou odpovědné za kontrolní postupy, které monitorují přesnost a preciznost celého analytického procesu, a musejí stanovit počet, typ a četnost testů kontrolních materiálů.

1. Kontrolní materiály nejsou součástí analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. Následující kontrolní materiály však byly společností NeuMoDx ověřeny a jsou doporučeny. Kontroly musejí splňovat stejné specifikace minimálního objemu jako klinické vzorky uvedené výše dle velikosti stojanu na zkumavky se vzorky.

U vzorků stěrů se doporučují následující kontroly

- Pozitivní kontrola:
 - Purifikovaná genomová RNA SARS-CoV-2 (kat. č. VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, USA) při konečné koncentraci 5E3 pohárů/ml
 - Tepelně inaktivovaný SARS-CoV-2 (kat. č. VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, USA) při konečné koncentraci 5E3 pohárů/ml
 - 5 ml NATtrol™ SARS-CoV-2 (recombinant) Stock (obsahuje pouze gen N, katalogové č. 0831042, ZeptoMetrix, Buffalo, NY, USA) v 1 ml média BD UVT.
- Negativní kontrola: Médium Copan / BD UVT nebo ekvivalent.

U vzorků slin se doporučují následující kontroly

Pozitivní kontrola: Naředte kterýkoli z následujících materiálů ve směsi molekulově čisté vody a pufru SSB (Saliva Stabilization Buffer) v poměru 1 : 1,67 voda/SSB (obj./obj.):

- Purifikovaná genomová RNA SARS-CoV-2 (kat. č. VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, USA) při konečné koncentraci 5E3 pohárů/ml
- Tepelně inaktivovaný SARS-CoV-2 (kat. č. VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, USA) při konečné koncentraci 5E3 pohárů/ml
- NATtrol™ SARS-CoV-2 (Recombinant) Stock (obsahuje pouze gen N, kat. č. 0831042, Zeptomatrix, Buffalo, NY, USA) v ředění 1 : 20.

Negativní kontrola: 0,6 ml molekulově čisté vody přidané do 1 ml stabilizačního pufru slin (Saliva Stabilization Buffer, SSB) nebo v poměru 1 : 1,67 voda/SSB (obj./obj.).

2. Doporučuje se zpracovat jednu sadu pozitivních a negativních kontrol každých 24 hodin a před zpracováním patientských vzorků.
3. Při zpracování kontrolního materiálu umístěte označený kontrolní materiál do stojanu na zkumavky se vzorkem a k založení stojanu do soustavy NeuMoDx System z přihrádky automatického podavače použijte dotykovou obrazovku. Soustava NeuMoDx System po nadeřinování rozpozná čárové kódy a spustí zpracování kontrol.
4. Každý testovací proužek NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip obsahuje primery a sondu specifické pro kontrolu zpracování vzorků (Sample Process Control, SPC2). Tato kontrola zpracování vzorků umožňuje soustavě NeuMoDx System sledovat účinnost extrakce RNA a procesy amplifikace pomocí RT-PCR.
5. Před RT-PCR soustava NeuMoDx System automaticky provede kontrolu „FILL CHECK“ (Kontrola plnění), aby se zajistilo, že je PCR komora naplněna roztokem a obsahuje dostatečné množství fluorescenční sondy.
6. Software soustavy NeuMoDx System nepřetržitě monitoruje snímače a regulátory v přístroji, aby byl zajištěn bezpečný a efektivní provoz soustavy.
7. Aktivní monitorování sacích a dávkovacích operací zavádí několik režimů zotavení z fluidikových chyb, aby se zajistilo, že soustava může bezpečným a efektivním způsobem dokončit zpracování všech vzorků, případně uvést vhodný kód chyby.
8. Soustava NeuMoDx System je opatřena automatickou funkcí Rerun (Nová analýza) / Repeat (Opakovat), kterou si může koncový uživatel zvolit k zajištění, že výsledek INVALID (NEPLATNÝ) bude automaticky znovu zpracován, a tak se minimalizovaly prodlevy v hlášení výsledků.
9. Pozitivní výsledek testu vykázaný pro vzorek negativní kontroly může indikovat problém s kontaminací vzorku. Tipy pro řešení problémů naleznete v *návodu k obsluze molekulárních soustav NeuMoDx 288 Molecular System nebo NeuMoDx 96 Molecular System*.
10. Negativní výsledek u vzorku pozitivní kontroly může naznačovat problém související s reagensy nebo soustavou NeuMoDx System. Tipy pro řešení problémů naleznete v *návodu k obsluze molekulárních soustav NeuMoDx 288 Molecular System nebo NeuMoDx 96 Molecular System*.

VÝKONOVÁ CHARAKTERISTIKA

Analytická citlivost – vzorky nazofaryngeálních stěrů

Mez detekce (limit of detection, LoD) analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay byla stanovena testováním série ředění sloučených negativních klinických vzorků nazofaryngeálních stěrů (stěr pomocí nylonového vločkového tamponu, odebráno do média UTM [Copan Diagnostic Inc, CA] nebo UVT [BD, NJ]), obohacených genomovou RNA SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) a zpracovaných pomocí pracovních postupů PŘÍMÝ I S PŘEDÚPRAVOU. V obou soustavách NeuMoDx System bylo pro každý pracovní postup hodnoceno nejméně dvacet replikátů každého ředění. LoD byla stanovena jako **150 kopií/ml**.

Tabulka 3. Míra detekce a mez detekce pro SARS-CoV-2 na molekulární soustavě NeuMoDx 96 Molecular System: Pracovní postup S předúpravou

LoD SARS-CoV-2: N96, pracovní postup S předúpravou								
Úroveň cíle	Platné výsledky	Pozitivní na gen Nsp2		Míra detekce genu Nsp2	Gen N Positive (Pozitivní)		Míra detekce genu N	Míra amplifikace obou cílů
		n	Střední Ct		n	Střední Ct		
250 pohárů/ml	22	22	31,7	100 %	22	30,9	100%	100%
150 pohárů/ml	20	20	31,5	100 %	20	31,0	100%	100%
50 pohárů/ml	24	0	n/a	0%	22	31,8	91,7%	0%
Negative (Negativní)	30	n/a		0%	0	n/a	0%	0%
LoD N96: 150 pohárů/ml [nejnižší úroveň cíle prokazující > 95% míru detekce obou cílů]								

Tabulka 4. Míra detekce a mez detekce pro SARS-CoV-2 na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System: Pracovní postup S předúpravou

LoD SARS-CoV-2: N288, pracovní postup S předúpravou								
Úroveň cíle	Platné výsledky	Gen Nsp2 Positive (Pozitivní)		Míra detekce genu Nsp2	Gen N Positive (Pozitivní)		Míra detekce genu N	Míra amplifikace obou cílů
		n	Střední Ct		n	Střední Ct		
250 pohárů/ml	21	21	32,1	100 %	21	31,4	100 %	100 %
150 pohárů/ml	26	26	31,7	100 %	26	31,2	100 %	100 %
50 pohárů/ml	21	11	32,2	52,4%	20	32,2	95,2%	52,4%
Negative (Negativní)	20	0	n/a	0%	0	n/a	0%	0%
LoD N288: 150 pohárů/ml [nejnižší úroveň cíle prokazující > 95% míru detekce obou cílů]								

Tabulka 5. Míra detekce a mez detekce pro SARS-CoV-2 na molekulární soustavě NeuMoDx 96 Molecular System: Pracovní postup Přímý

LoD SARS-CoV-2: N96, pracovní postup Přímý								
Úroveň cíle	Platné výsledky	Gen Nsp2 Positive (Pozitivní)		Míra detekce genu Nsp2	Gen N Positive (Pozitivní)		Míra detekce genu N	Míra amplifikace obou cílů
		n	Střední Ct		n	Střední Ct		
400 pohárů/ml	24	23*	32,4	95,8%	24	31,1	100,0%	95,8%
250 pohárů/ml	24	24	33,0	100,0%	24	31,7	100,0%	100,0%
150 pohárů/ml	24	24	33,4	100,0%	24	32,4	100,0%	100,0%
50 pohárů/ml	24	12	32,6	50,0%	18	32,8	75,0%	41,7 %**
Negative (Negativní)	22	0		0%	0		0%	0%
LoD N96: 150 pohárů/ml [nejnižší úroveň cíle prokazující > 95% míru detekce obou cílů]								

* Tento vzorek navíc vykazoval slabou amplifikaci SPC2 a nedostatečná amplifikace byla považována za artefakt zpracování v soustavě. To podporuje 100% míru detekce při stejné koncentraci cíle v RPT-8505B (klinické hodnocení). Navíc bylo u této studie dosaženo 100% míry detekce při nižších koncentracích 250 pohárů/ml a 150 pohárů/ml.

** U deseti z 24 vzorků byly oba cíle detekovány při 50 pohárech/ml, při celkové míře pozitivnosti 41,7 %.

Tabulka 6. Míra detekce a mez detekce pro SARS-CoV-2 na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System: Pracovní postup Přímý

LoD SARS-CoV-2: N288, pracovní postup Přímý								
Úroveň cíle	Platné výsledky	Gen Nsp2 Positive (Pozitivní)		Míra detekce genu Nsp2	Gen N Positive (Pozitivní)		Míra detekce genu N	Míra amplifikace obou cílů
		n	Střední Ct		n	Střední Ct		
400 pohárů/ml	24	24	32,8	100,0%	24	31,7	100,0%	100,0%
250 pohárů/ml	24	24	33,0	100,0%	24	32,0	100,0%	100,0%
150 pohárů/ml	22	21	33,5	95,5%	22	32,4	100,0%	95,5%
50 pohárů/ml	24	20	34,3	83,3%	24	33,4	100,0%	83,3%
Negative (Negativní)	24	0		0,0 %	0		0,0%	0,0%
LoD N288: 150 pohárů/ml [nejnižší úroveň cíle prokazující > 95% míru detekce obou cílů]								

Analytická citlivost – vzorky slin

Mez detekce (limit of detection, LoD) analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay s použitím vzorků slin byla hodnocena testováním série ředění sloučených negativních vzorků slin (smíchaných se stabilizačním pufrům NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer v poměru 1 : 1,67 sliny/pufr), obohacených o γ -ozářený virus SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52287) nebo genomovou RNA SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) a zpracovaných pomocí pracovního postupu Přímý. Minimálně pět replikátů při každém ředění bylo vyhodnoceno kolem očekávané LoD, po čemž následovalo potvrzovací zpracování alespoň dvaceti replikátů na nejnižších úrovních a ty všechny poskytly pozitivní výsledky. LoD pro genomovou RNA a γ -ozářený virus byly stanoveny jako **50 kopií/ml**, respektive **0,0075 TCID50/ml**.

Tabulka 7. Míra detekce a předběžná mez detekce s γ -ozářeným SARS-CoV-2

LoD SARS-CoV-2; γ -ozářený virus SARS-CoV-2								
Úroveň cíle	Platné výsledky	Gen Nsp2 Positive (Pozitivní)		Míra detekce genu Nsp2	Gen N Positive (Pozitivní)		Míra detekce genu N	Míra amplifikace obou cílů
		N	Střední Ct		n	Střední Ct		
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 %*
Předběžná LoD – γ-ozářený virus: 0,005 TCID50/ml [nejnižší úroveň cíle prokazující > 95% míru detekce obou cílů]								
** U tří z deseti (3/10) vzorků byly oba cíle detekovány při 0,0025 TCID50/ml, při celkové míře positivity 30 %								

Tabulka 8. Míra detekce a předběžná mez detekce s gRNA SARS-CoV-2

LoD SARS-CoV-2; genomová RNA SARS-CoV-2								
Úroveň cíle	Platné výsledky	Gen Nsp2 Positive (Pozitivní)		Míra detekce genu Nsp2	Gen N Positive (Pozitivní)		Míra detekce genu N	Míra amplifikace obou cílů
		N	Střední Ct		n	Střední Ct		
100 pohárů/ml	5	5	32,7	100 %	5	31,8	100 %	100 %
50 pohárů/ml	5	5	33,3	100 %	5	32,5	100 %	100 %
40 pohárů/ml	10	6	34,4	60%	9	33,1	90%	60%*
25 pohárů/ml	10	4	34,1	40%	9	33,0	90%	40%**
Předběžná LoD – gRNA: 50 pohárů/ml [nejnižší úroveň cíle prokazující > 95% míru detekce obou cílů]								
** U šesti z deseti (6/10) vzorků byly oba cíle detekovány při 40 pohárech/ml, při celkové míře positivity 60 %								
** U čtyřech z deseti (4/10) vzorků byly oba cíle detekovány při 25 pohárech/ml, při celkové míře positivity 40 %								

Tabulka 9. Míra detekce a potvrzení meze detekce s γ -ozářeným SARS-CoV-2

LoD SARS-CoV-2; γ -ozářený virus SARS-CoV-2									
Soustava	Úroveň cíle	Platné výsledky	Gen Nsp2 Positive (Pozitivní)		Míra detekce genu Nsp2	Gen N Positive (Pozitivní)		Míra detekce genu N	Míra amplifikace obou cílů
			N	Střední Ct		n	Střední Ct		
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%**
LoD N288: 0,0075 TCID50/ml [nejnižší úroveň cíle prokazující > 95% míru detekce obou cílů] LoD N96: 0,0075 TCID50/ml [nejnižší úroveň cíle prokazující > 95% míru detekce obou cílů]									
* U sedmnácti (17) z dvaceti (20) vzorků byly oba cíle detekovány na soustavě N288, při celkové míře positivity 85 % ** U třinácti (13) z dvaceti (20) vzorků byly oba cíle detekovány na soustavě N96, při celkové míře positivity 65 %									

Tabulka 10. Míra detekce a potvrzení meze detekce s gRNA SARS-CoV-2

LoD SARS-CoV-2; genomová RNA SARS-CoV-2									
Soustava	Úroveň cíle	Platné výsledky	Gen Nsp2 Positive (Pozitivní)		Míra detekce genu Nsp2	Gen N Positive (Pozitivní)		Míra detekce genu N	Míra amplifikace obou cílů
			N	Střední Ct		n	Střední Ct		
N288	50 pohárů/ml	20	20	34,4	100 %	20	33,9	100 %	100 %
N96	50 pohárů/ml	20	19	33,9	95%	19	33,8	95%	95%*
LoD N288: 50 pohárů/ml [nejnižší úroveň cíle prokazující > 95% míru detekce obou cílů] LoD N96: 50 pohárů/ml [nejnižší úroveň cíle prokazující > 95% míru detekce obou cílů]									
* U devatenácti (19) z dvaceti (20) vzorků byly oba cíle detekovány na soustavě N96, při celkové míře positivity 95 %									

Inkluzivnost

Inkluzivnost analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay byla hodnocena *in silico* analýzou mapující primery a sondy analýzy ke všem dostupným sekvencím SARS-CoV-2 (n = 96) v databázi NCBI ke 14. březnu 2020. Oblasti primerů a sondy testu byly porovnány *in silico* analýzou za účelem ověření homologie sekvence s cirkulujícími kmeny SARS-CoV-2. Analýza NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay měla 100% homologii se všemi kromě jedné sekvence pro gen Nsp2 (cíl 1). Bylo zjištěno, že jedna sekvence má v přímém primeru jediný nesoulad nukleotidů bez předvídaného dopadu na výkonnost analýzy. Bylo zjištěno, že homologie mezi primery a sondou N genu (cíl 2) je 100% pro všechny dostupné sekvence.

Zkřížená reaktivita / mikrobiální interference

Analýza NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay byla hodnocena *in silico* na možné zkřížené reakce s mikroorganismy uvedenými v *tabulce 11*, a to individuálním mapováním primerů a sondy analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay k sekvencím v databázi NCBI. Žádná z analyzovaných sekvencí nevykazovala homologii pro primery nebo sondu genu Nsp2 (cíl 1). Mikroorganismus *Haemophilus influenzae* (CP000672.1) vykazoval homologii s přímým primerem genu N (cíl 2), ale neměl významnou homologii s reverzním primerem a sondou. Podobně, koronavirus SARS (AY345986.1) vykazoval homologii pro přímý primer a sondu genu N, ale žádnou významnou homologii pro reverzní primer. Mikroorganismus *Pseudomonas aeruginosa* (CP000438.1) vykazoval homologii s přímým primerem SPC2, ale ne s žádným z cílů SARS-CoV-2. Analýza *in silico* proto neprokázala pravděpodobnou zkříženou reaktivitu s žádnou z hodnocených sekvencí. Byly provedeny další testy za mokra, aby se potvrdilo, že mikroorganismy *H. influenzae* a *P. aeruginosa* nepředstavují žádné riziko zkřížené reaktivity nebo mikrobiální interference. Výsledky těchto testů jsou uvedeny v *tabulkách 12 a 13*.

Tabulka 11. *In Silico* analýza pro organismy se zkříženou reaktivitou

Organismus	Přístupové číslo (čísla) NCBI GenBank	Organismus	Přístupové číslo (čísla) NCBI GenBank
Lidský koronavirus 229E	KF514433.1	Chřipka B	MK969560.1
	KF514432.1	Enterovirus	JF896312.1
Lidský koronavirus OC43	KX344031.1	Respirační syncytiální virus	JN032120.1
	KF530099.1	Rhinovirus	NC_001490.1
Lidský koronavirus HKU1	KF430201.1	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	NZ_LN847241.1
	MH940245.1	<i>Haemophilus influenzae</i>	CP000672.1
Lidský koronavirus NL63	KF530114.1	<i>Legionella pneumophila</i>	CP015928.1
	KF530113.1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	AP018036.1
Koronavirus SARS	AY686863.1	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	CP027540.1
		<i>Streptococcus pyogenes</i>	AE009949.1
Koronavirus MERS	MH013216.1	<i>Bordetella pertussis</i>	CP011448.1
Adenovirus	AC_000017.1	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	CP039772.1
Lidský metapneumovirus (hMPV)	KJ627437.1	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	MH010446.1
Virus parainfluenzy 1	KX639498.1	<i>Candida albicans</i>	NC_018046.1
Virus parainfluenzy 2	KM190939.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CP000438.1
Virus parainfluenzy 3	KF530243.1	<i>Staphylococcus epidermis</i>	KY750253.1
Virus parainfluenzy 4	KF483663.1	<i>Streptococcus salivarius</i>	CP020451.2
Chřipka A	MH798556.1		

Tabulka 12. Testování zkřížené reaktivity a interference pro mikroorganismus *H. Influenzae*

VZOREK		Platné výsledky	Počet pozitivních na gen N	% pozitivní na gen N (žlutá)	Ct prům. gen N	Počet pozitivních na gen Nsp2	% pozitivní na gen Nsp2 (zelená)	Ct prům. gen Nsp2	SPC2 Ct prům.
Zkřížená reaktivita	Čisté UVT (negativní kontrola)	3	0	0 %	N/A	0	0 %	N/A	27,7
	UVT+ <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 KTJ/ml)	3	0	0 %	N/A	0	0 %	N/A	28,3
Interference	Čisté UVT + RNA SARS-CoV-2 (750 kopií/ml) (pozitivní kontrola)	3	3	100 %	32,03	3	100 %	34,05	27,8
	UVT + <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 KTJ/ml) + RNA SARS-CoV-2 (750 kopií/ml)	3	3	100 %	32,45	3	100 %	33,98	27,7

Tabulka 13. Testování zkřížené reaktivity a interference pro mikroorganismus *P. aeruginosa*

VZOREK		Platné výsledky	na gen N (HEX)			Gen Nsp2 (FAM)			SPC2 (Far Red)
			Poz.	% poz.	Prům. Ct	Poz.	% poz.	Prům. Ct	Prům. Ct
Zkřížená reaktivita	UVT + <i>P. aeruginosa</i> (1E6 KTJ/ml)	3	0	0%	N/A	0	0%	N/A	27,5
Interference	Kontrola, čisté UVT	3	3	100%	30,3	3	100%	32,0	26,9
	Positive (Pozitivní)								
	UVT + <i>P. aeruginosa</i> (1 ^{E6} KTJ/ml) + RNA SARS-CoV-2 (450 kopií/ml)	3	3	100%	30,4	3	100%	32,0	27,0

Interferující látky – vzorky nazofaryngeálních stěrů

Analýza NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay byla vyhodnocena z hlediska náchylnosti na interferenci způsobenou látkami potenciálně spojenými s odběrem vzorků z nazofaryngeálních stěrů. Zbytkové klinicky negativní vzorky z nazofaryngeálních stěrů byly obohaceny genomovou RNA SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) při koncentraci 5× LoD a zpracovány v přítomnosti a nepřítomnosti látek uvedených v *tabulce 14* níže. Žádná látka zahrnutá do testování neměla nepříznivý účinek na účinnost analýzy.

Tabulka 14. Látky testované kvůli interferenci

		Látka	Koncentrace*
Endogenní		Mucin	0,5% (hm./obj.)
		Krev	2% (obj./obj.)
Exogenní		Afrin® Original (oxymetazolin)	15% (obj./obj.)
		Nosní sprej Zicam® Cold Remedy	5% (obj./obj.)
		Flonase® Allergy Relief (flutikason)	5% (obj./obj.)
		Beklometason	10 mg/ml
		Mupirocin	11,4 mg/ml
		Relenza® (zanamivir)	5,25 mg/ml
		Tamiflu® (oseltamivir)	7,5 mg/ml
	Tobramycin	1,8 mg/ml	

*Poznámka: Uvedené koncentrace jsou ty, které se používají k nasycení tampónů před nadávkováním uměle připravených pozitivních klinických vzorků s interferující látkou. Jsou proto reprezentativní pro tolerovanou úroveň v místě odběru stěrů.

Interferující látky – vzorky slin

Analýza NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay byla vyhodnocena z hlediska náchylnosti na interferenci způsobenou látkami potenciálně spojenými s odběrem vzorků slin. Smíchané negativní sliny byly obohaceny γ-ozářeným virem SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52287) při koncentraci 10× LoD, připraveny pomocí soupravy pro odběr slin NeuMoDx Saliva Collection Kit a zpracovány v přítomnosti a nepřítomnosti látek uvedených níže v *tabulce 15*. Žádná látka zahrnutá do testování neměla při daných koncentracích nepříznivý účinek na účinnost analýzy.

Tabulka 15. Látky testované kvůli interference – vzorky slin

	Látka	Koncentrace
Endogenní	Plná krev	1 % obj./obj.
Exogenní	Altoids™ (Spearmint)	2 % hm./obj.
	Aspirin™	1% hm./obj.
	Antiseptická ústní voda LISTERINE® Ultra-clean	1 % obj./obj.
	Bonbony proti kašli Halls™ (mentolové)	1% hm./obj.
	Crest Pro-Health Advanced Gum Protection	0,001 % (hm./obj.)
	Sirup proti kašli Wal-Tussin® DM Max	1 % obj./obj.

* Koncentrace této látky je uváděna jako výsledek studie reakce na dávku od 0,1 %, kde byla prokázána inhibice.

Reprodukovatelnost

Vnitrolaboratorní reprodukovatelnost analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay byla ověřena retrospektivní analýzou výkonosti s použitím negativních a uměle připravených pozitivních klinických vzorků z nazofaryngeálních stěrů. Data shrnutá v *tabulkách 16a–c* představují testování prováděné více pracovníky obsluhy na dvou přístrojích v průběhu tří denního období. Jsou představeny výsledky vzorků připravených s pracovními postupy PŘÍMÝ I S PŘEDÚPRAVOU.

Tabulka 16a. Celková reprodukovatelnost a preciznost analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Úroveň SARS-CoV-2 (poháry/ml)	N	Cíl N			Cíl Nsp2			SPC2		
		% pozitivních	Ct prům.	Ct %CV	Pozitivní (%)	Ct prům.	Ct %CV	Pozitivní (%)	Ct prům.	Ct %CV
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%

Tabulka 16b. Reprodukovatelnost a preciznost analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Cíl	Úroveň (poháry/ml)	Molekulární soustava NeuMoDx 288 Molecular System				Molekulární soustava NeuMoDx 96 Molecular System			
		N	% pozitivních	Ct prům.	Ct %CV	N	% pozitivních	Ct prům.	Ct %CV
Cíl 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%
Cíl 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%

Tabulka 16c. Celková reprodukovatelnost a preciznost analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Cíl	Úroveň (poháry/ml)	Pracovní postup PŘÍMÝ				Pracovní postup S PŘEDÚPRAVOU			
		N	% pozitivních	Ct prům.	Ct %CV	N	% pozitivních	Ct prům.	Ct %CV
Cíl 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%
Cíl 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%

Klinický výkon
a. Testování uměle připravených vzorků – vzorky nazofaryngeálních stěrů

Výkonnost analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay se zbytkovými klinickými vzorky nazofaryngeálních stěrů (stěry odebrané na nylonových vložkových tamponech v médiu UTM [Copan Diagnostic Inc, CA] nebo UVT [BD, NJ]) byla hodnocena pomocí panelu 82 negativních klinických vzorků a 87 uměle připravených pozitivních klinických vzorků dříve předložených k testování chřipky a/nebo respiračního syncyviálního viru od pacientů se známkami a příznaky infekce horních cest dýchacích. Uměle připravené pozitivní vzorky byly připraveny přidáním genomové RNA SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) do negativních klinických vzorků. Z 87 uměle připravených pozitivních vzorků bylo 57 v koncentracích 1–2× LoD a 30 v koncentracích 4–8× LoD. Zpracování vzorků bylo provedeno pomocí pracovních postupů PŘÍMÝ i S PŘEDÚPRAVOU na obou soustavách NeuMoDx System.

Všechny pozitivní vzorky byly hlášeny jako pozitivní a všechny negativní vzorky byly hlášeny jako negativní, jak je podrobně uvedeno v tabulkách 17–20.

Tabulka 17. Předupravené vzorky stěrů pouze na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System

Pracovní postup S předúpravou: Molekulární soustava NeuMoDx 288 Molecular System					
Koncentrace vzorků	n	Cíl 1 (gen Nsp2)		Cíl 2 (gen N)	
		% pozitivních (oboustranný 95% CI)	Střední Ct	% pozitivních (oboustranný 95% CI)	Střední Ct
225 pohárů/ml ~1,5 × LoD	12	100 (75,6–99,9)	32,5	100 (75,6–99,9)	32,2
400 kopií/ml ~2,7 × LoD	11	100 (74,0–99,9)	31,4	100 (74,0–99,9)	30,2
500 kopií/ml ~3,3 × LoD	10	100 (72,1–99,9)	31,2	100 (72,1–99,9)	30,2
1000 kopií/ml	5	100 (56,4–99,9)	30,5	100 (56,4–99,9)	29,4
2000 kopií/ml	6	100 (60,8–99,9)	30,2	100 (60,8–99,9)	28,8
Negative (Negativní)	29	0 (n/a)	n/a	0 (n/a)	n/a
Výkonnost oproti očekávaným výsledkům: Procentuální shoda pozitivních výsledků 44/44 = 100 % (95% CI: 91,9 % – 100 %) Procentuální shoda negativních výsledků 29/29 = 100 % (95% CI: 88,2% – 100 %)					

Tabulka 18. Předupravené vzorky stěrů pouze na molekulární soustavě NeuMoDx 96 Molecular System

Pracovní postup S předúpravou: Molekulární soustava NeuMoDx 96 Molecular System					
Koncentrace vzorků	n	Cíl 1 (gen Nsp2)		Cíl 2 (gen N)	
		% pozitivních (oboustranný 95% CI)	Střední Ct	% pozitivních (oboustranný 95% CI)	Střední Ct
225 pohárů/ml ~1,5 × LoD	12	100 (75,6–99,9)	32,0	100 (75,6–99,9)	31,5
400 kopií/ml ~2,7 × LoD	3	100 (43,7–99,8)	31,2	100 (43,7–99,8)	30,4
500 kopií/ml ~3,3 × LoD	3	100 (43,7–99,8)	31,5	100 (43,7–99,8)	30,6
1000 kopií/ml	2	100 (34,2–99,8)	30,2	100 (34,2–99,8)	29,2
2000 kopií/ml	2	100 (34,2–99,8)	30,1	100 (34,2–99,8)	28,9
Negative (Negativní)	20	0 (n/a)	n/a	0 (n/a)	n/a
Výkonnost oproti očekávaným výsledkům: Procentuální shoda pozitivních výsledků 22/22 = 100 % (95% CI: 85,0% – 100 %) Procentuální shoda negativních výsledků 20/20 = 100 % (95% CI: 83,8% – 100 %)					

Tabulka 19. Vzorky výtěrů zpracované pracovním postupem Přímý pouze na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System

Pracovní postup Přímý: Molekulární soustava NeuMoDx 288 Molecular System					
Koncentrace vzorků	n	Cíl 1 (gen Nsp2)		Cíl 2 (gen N)	
		% pozitivních (oboustranný 95% CI)	Střední Ct	% pozitivních (oboustranný 95% CI)	Střední Ct
225 pohárů/ml ~1,5 × LoD	12	100 (75,6–99,9)	33,8	100 (75,6–99,9)	32,7
400 kopií/ml ~2,7 × LoD	11	100 (74,0–99,9)	32,4	100 (74,0–99,9)	31,1
500 kopií/ml ~3,3 × LoD	11	100 (74,0–99,9)	32,5	100 (72,1–99,9)	31,3
1000 kopií/ml	6	100 (60,8–99,9)	31,9	100 (56,4–99,9)	30,5
2000 kopií/ml	6	100 (60,8–99,9)	31,1	100 (60,8–99,9)	29,7
Negative (Negativní)	33	0 (n/a)	n/a	0 (n/a)	n/a
Výkonnost oproti očekávaným výsledkům:					
Procentuální shoda pozitivních výsledků		46/46 = 100 % (95% CI: 92,2% – 100 %)			
Procentuální shoda negativních výsledků		33/33 = 100 % (95% CI: 89,5% – 100 %)			

Tabulka 20. Vzorky výtěrů zpracované pracovním postupem Přímý pouze na molekulární soustavě NeuMoDx 96 Molecular System

Pracovní postup Přímý: Molekulární soustava NeuMoDx 96 Molecular System					
Koncentrace vzorků	n	Cíl 1 (gen Nsp2)		Cíl 2 (gen N)	
		% pozitivních (oboustranný 95% CI)	Střední Ct	% pozitivních (oboustranný 95% CI)	Střední Ct
225 pohárů/ml ~1,5 × LoD	12	100 (75,6–99,9)	33,4	100 (75,6–99,9)	32,3
400 kopií/ml ~2,7 × LoD	4	100 (50,9–99,9)	32,7	100 (50,9–99,9)	31,7
500 kopií/ml ~3,3 × LoD	4	100 (50,9–99,9)	32,6	100 (50,9–99,9)	31,5
1000 kopií/ml	1	100 (20,7–99,8)	31,9	100 (20,7–99,8)	30,2
2000 kopií/ml	2	100 (34,2–99,8)	31,5	100 (34,2–99,8)	29,7
Negative (Negativní)	0	0 (n/a)	N/A	0 (n/a)	N/A
Výkonnost oproti očekávaným výsledkům:					
Procentuální shoda pozitivních výsledků		23/23 = 100 % (95% CI: 85,6% – 100 %)			
Procentuální shoda negativních výsledků		N/A			

b. Testování uměle připravených vzorků – vzorky slin

Výkonnost analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay se vzorky slin (připravenými pomocí soupravy NeuMoDx Saliva Collection Kit) byla hodnocena pomocí panelu 36 negativních vzorků od dárců. Každý vzorek od zdravého dárce byl použit k přípravě negativního a uměle připraveného pozitivního vzorku, a to obohacením γ -ozářeného viru SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52287), čímž bylo získáno celkem 72 vzorků pro testování. Z 36 uměle připravených pozitivních vzorků bylo 28 v koncentracích 1,5–2 \times LoD, 4 v koncentraci 10 \times LoD a 4 v koncentraci 20 \times LoD. Zpracování vzorků bylo provedeno pomocí pracovního postupu UserSpecified2 (Uživatelem definovaný 2).

Všechny pozitivní vzorky byly hlášeny jako pozitivní a všechny negativní vzorky byly hlášeny jako negativní, jak je podrobně uvedeno v *tabulce 21*.

Tabulka 21. Vzorky slin na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System

Koncentrace vzorků	n	Cíl 1 (gen Nsp2)		Cíl 2 (gen N)	
		% pozitivních (oboustranný 95% CI)	Střední Ct	% pozitivních (oboustranný 95% CI)	Střední Ct
0,01125–0,015 TCID50/ml (1,5–2 \times LoD)	27	96 (81,7-99,3)	33,2	100 (87,6–100)	33,1
0,075 TCID50/ml (10 \times LoD)	4	100 (51,0-100)	32,7	100 (51,0–100)	32,3
0,15 TCID50/ml (20 \times LoD)	4	100 (51,0-100)	31,0	100 51,0–100	30,9
Negative (Negativní)	35	0 (n/a)	n/a	0 (n/a)	n/a
Výkonnost oproti očekávaným výsledkům: Gen Nsp2, procentuální shoda pozitivních výsledků 34/35 = 97,1 % (95% CI: 85,5% – 99,5%) Gen Nsp2, procentuální shoda negativních výsledků 35/35 = 100 % (95% CI: 90,1% – 100 %) Gen N, procentuální shoda pozitivních výsledků 35/35 = 100 % (95% CI: 90,1% – 100 %) Gen N, procentuální shoda negativních výsledků 35/35 = 100 % (95% CI: 90,1% – 100 %) Celková procentuální shoda pozitivních výsledků 35/35 = 100 % (95% CI: 90,1% – 100 %) Celková procentuální shoda negativních výsledků 35/35 = 100 % (95% CI: 90,1% – 100 %)					

c. Testování klinických vzorků – vzorky nazofaryngeálních stěrů

Výkonnost analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay byla také hodnocena pomocí klinických vzorků. Zbylé deidentifikované klinické vzorky nazofaryngeálních (NP) stěrů od symptomatických pacientů byly odebrány vložkovými tampony s minihrotem do 3 ml média BD Universal Viral Transport Medium (BD UVT). Vzorky byly odeslány k testování na SARS-CoV-2 na dvě externí testovací pracoviště, která provedla srovnávací testování těchto vzorků s testy dříve schválenými americkým úřadem FDA pro nouzové použití. Testování pomocí analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay bylo provedeno na jednom interním a jednom externím testovacím pracovišti. Pomocí analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay bylo zpracováno celkem 40 vzorků. Některé vzorky byly testovány na obou soustavách N288 NeuMoDx System i N96 NeuMoDx System s využitím pracovních postupů PŘÍMÝ i S PŘEDÚPRAVOU. Výsledky analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay byly v úplné shodě s výsledky srovnávacích analýz pro všechny klinické vzorky testované v této srovnávací studii metod (tabulky 22 a 23).

Tabulka 22. Výsledky kvalitativního srovnání metod pro analýzu NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay na molekulárních soustavách NeuMoDx Molecular System versus referenční testy – pracovní postup S PŘEDÚPRAVOU

N96 a N288 S předúpravou		Srovnávací analýza (analýzy)		
		Poz.	Neg.	Celkem
Analýza NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Poz.	25	0	25
	Neg.	0	15	15
	Celkem	25	15	40
Klinická citlivost 100 % (95% CI 86,6–100 %)				
Klinická specifita 100 % (95% CI 79,5–99,9 %)				

Tabulka 23. Výsledky kvalitativního srovnání metod pro analýzu NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay versus referenční testy – pracovní postup PŘÍMÝ

(a) na molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System (N288) a (b) na molekulární soustavě NeuMoDx 96 Molecular System (N96)

(a)

(b)

N288, Přímý		Srovnávací analýza (analýzy)		
		Poz.	Neg.	Celkem
Analýza NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Poz.	10	0	10
	Neg.	0	9	9
	Celkem	10	9	19
Klinická citlivost 100 % (95% CI 72,1–99,9%)				
Klinická specifita 100 % (95% CI 69,9–99,9 %)				

N96, Přímý		Srovnávací analýza (analýzy)		
		Poz.	Neg.	Celkem
Analýza NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Poz.	5	0	5
	Neg.	0	6	6
	Celkem	5	6	11
Klinická citlivost 100 % (95% CI 56,4–99,9%)				
Klinická specifita 100 % (95% CI 60,8–99,9 %)				

d. Testování klinických vzorků – vzorky slin

Výkonnost analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay se vzorky slin (připravenými pomocí soupravy NeuMoDx Saliva Collection Kit) byla hodnocena pomocí 112 deidentifikovaných párových vzorků slin a nasofaryngeálních (nasopharyngeal, NP) výtěrů buď odebraných postupně prospektivně, anebo zbytkových (rovněž odebraných postupně) od stejného jedince. Pro prospektivní odběr vzorků slin byly použity soupravy NeuMoDx Saliva Collection Kit, zatímco zbytkové vzorky slin byly odebrány do ampulky na vzorky, která neobsahovala konzervační látky, a byly skladovány zmrazené při teplotě $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ až do testování se stabilizačním pufrem NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer. Vzorky nasofaryngeálních (nasopharyngeal, NP) stěrů byly odebrány vložkovými tampony s minihrotem do 3 ml média BD Universal Viral Transport Medium (BD UVT). Všechny vzorky slin a většina nasofaryngeálních (nasopharyngeal, NP) vzorků byly testovány pomocí analýzy NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a kombinace soustav N288 NeuMoDx System a N96 NeuMoDx System. Zbytek nasofaryngeálních (nasopharyngeal, NP) vzorků byl zpracován pomocí jiných srovnávacích testů se schválením pro nouzové použití (emergency use authorization, EUA). Testování bylo prováděno na jednom interním a dvou externích testovacích pracovištích. Celkově byla pro analýzu NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay s použitím vzorků slin prokázána > 95% pozitivní i negativní shoda s výsledky referenčních testů pro vzorky nasofaryngeálních (nasopharyngeal, NP) stěrů, jak je podrobně uvedeno v *tabulce 24*.

Tabulka 24. Výsledky kvalitativního srovnání metod pro analýzu NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay se vzorky slin versus vzorky z nazofaryngeálních stěrů

Kvalitativní shoda		Vzorky z nazofaryngeálních stěrů		
		Poz.	Neg.	Celkem
Vzorky slin	Poz.	41	2	43
	Neg.	2	67	69
	Celkem	43	69	112
Klinická citlivost 95,4 % (84,5 % – 98,7 %)				
Klinická specifická 97,1 % (90,0 % – 99,2 %)				

REFERENCE














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

OCHRANNÉ ZNÁMKY

NeuMoDx™ a NeuDry™ jsou obchodní značky společnosti NeuMoDx Molecular, Inc.
 Afrin® je registrovaná ochranná známka společnosti Bayer AG.
 Altoids™ je ochranná známka společnosti Callard and Bowser Limited.
 Aspirin™ je registrovaná ochranná známka společnosti Bayer AG.
 BD™ je ochranná známka společnosti Becton, Dickinson and Company.
 Crest® Pro-Health je registrovaná ochranná známka společnosti Procter and Gamble Company.
 Flonase® je registrovaná ochranná známka společnosti GlaxoSmithKline plc.
 Halls™ je ochranná známka společnosti Mondelēz International Group.
 Hamilton® je registrovaná ochranná známka společnosti Hamilton Company.
 Listerine® je registrovaná ochranná známka společnosti Johnson & Johnson.
 Relenza® je registrovaná ochranná známka společnosti GlaxoSmithKline plc.
 Tamiflu® je registrovaná ochranná známka společnosti Genentech USA, Inc.
 TaqMan® je registrovaná ochranná známka společnosti Roche Molecular Systems, Inc.
 UTM-RT® je registrovaná ochranná známka společnosti Copan Diagnostics, Inc.
 Wal-Tussin® je registrovaná ochranná známka společnosti Walgreens Company.
 Zicam® je registrovaná ochranná známka společnosti Matrixx Initiatives, Inc.

Všechny ostatní názvy produktů, ochranné známky a registrované ochranné známky, které se mohou objevit v tomto dokumentu, jsou majetkem příslušných vlastníků.

LEGENDA K SYMBOLŮM

R only	Pouze na lékařský předpis		Omezení teploty
	Výrobce		Nepoužívejte opakovaně
	Zdravotnický prostředek pro diagnostiku <i>in vitro</i>		Obsahuje dostatečné množství pro <n> testů
	Autorizovaný zástupce v Evropském společenství		Prostudujte si návod k použití
	Katalogové číslo		Upozornění
	Číslo šarže		Biologická rizika
	Datum spotřeby		Značka CE



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

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



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



Technická podpora / vigilanční hlášení: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents