

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

**R only**

ВНИМАНИЕ: Само за износ в САЩ

**IVD За *инвитро* диагностика с NeuMoDx 288 и NeuMoDx 96 Molecular Systems**



Версия в електронен формат е налична на [www.qiaagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiaagen.com/neumodx-ifu)

Подробни указания ще намерите в Ръководството за оператора на NeuMoDx 288 Molecular System; ном. № 40600108

Подробни указания ще намерите в Ръководството за оператора на NeuMoDx 96 Molecular System; ном. № 40600317

### ПРЕДВИДЕНА УПОТРЕБА

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay е мултиплексиран, *инвитро* диагностичен тест RT-PCR в реално време, предназначен за едновременното качествено откриване и диференциране на PHK на грипен вирус А (грип А), грипен вирус В (грип В) и респираторен синцитиален вирус (Respiratory Syncytial Virus, RSV) и SARS-CoV-2 от назофарингеални (Nasopharyngeal, NP) тампонни проби, взети в преносна среда от индивиди с признаци и симптоми на грипоподобно заболяване (Influenza Like Illness, ILI).

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, извършван на NeuMoDx 288 Molecular System и NeuMoDx 96 Molecular System включва автоматизирано извличане на PHK за изолиране на прицелни нуклеинови киселини от пробата и RT-PCR в реално време, прицелващ единичен консервиран регион за грип А и RSV, и два консервирани региона за SARS-CoV-2 и грип В.

Резултатите от този тест не трябва да се използват като единствена основа за определяне на диагноза, лечение или други решения за работа с пациента. Положителните резултати показват наличието на PHK на SARS-CoV-2 и/или грип А и/или грип В и/или RSV, но не изключват бактериална инфекция или коинфекция с други вируси. За да се определи състоянието на инфекцията на пациента, е необходимо да се извърши клинична корелация с историята на пациента и друга диагностична информация.

Отрицателните резултати не изключват инфекция с грип А, грип В, RSV или SARS-CoV-2 и не следва да се използват като единствена основа за поставяне на диагноза, лечение или други решения за работа с пациента. Отрицателните резултати трябва да се комбинират с клинични наблюдения, история на пациента и/или епидемиологична информация.

Анализът NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay е предназначен за използване от обучен клиничен лабораторен персонал, специално инструктиран и обучен в техниките на RT-PCR в реално време и диагностични *инвитро* процедури и/или NeuMoDx Molecular Systems. NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay не е предназначен за самотестване или на място на полагане на грижи.

### РЕЗЮМЕ И ОПИСАНИЕ

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay е качествен анализ за използване на апаратните системи NeuMoDx 96 и NeuMoDx 288 за откриване на PHK на SARS-CoV-2, грип А, грип В и/или RSV в назофарингеални тампонни аликвотни части. Анализът не прави разлика между PHK на RSV А и на RSV В. Назофарингеални тампонни проби се взимат в преносна среда Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) (Copan UTM-RT, Copan, CA, САЩ) или универсална вирусна преносна система BD™ Universal Viral Transport System (UVT) (BD™ UVT, BD, NJ, САЩ). Тестът използва вътрешен контрол за обработката на аликвотни части (Sample Process Control, SPC2) PHK, който е включен по време на подготовката на аликвотната част и служи за следене на целия процес на подготовка на аликвотната част, обратна транскрипция и PCR амплификация. NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay позволява до две процедури на обработка на проби според нуждата на лабораторията: директна процедура или процедура с предварителна обработка. NeuMoDx Molecular System автоматично изпълнява всички стъпки, необходими за извличане на прицелните нуклеинови киселини; подготвя изолираната PHK за полимеразна верижна реакция с обратна транскриптаза (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) в реално време и, ако е налице, изпълнява обратна транскрипция, амплифицира и открива продуктите на амплификацията. Анализът NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 прицелва консервирани региони на гените на SARS-CoV-2 Nsp2 и О-рибоза метилтрансфераза, региони в матричния протеин на грипен вирус А и респираторен синцитиален вирус, и гените на матричния протеин и неструктурния протеин NS1 на грипен вирус В.

### ПРИНЦИПИ НА ПРОЦЕДУРАТА

Текущото ниво на техниката за откриване на остра инфекция с грип А/грип В/RSV/SARS-CoV-2 е амплификация на нуклеинова киселина с консервирани региони в генома на прицелната киселина, което е в съответствие с обратна транскриптна PCR в реално време, използвана от анализа NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, изпълняван на NeuMoDx 288 Molecular System и NeuMoDx 96 Molecular System.

Анализът NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay комбинира автоматизирана екстракция на PHK и амплификация/откриване на PHK на SARS-CoV-2, грип А, грип В и/или RSV чрез RT-PCR в реално време. Аликвотните части от назофарингеални тампони се събират в Copan UTM-RT System или BD™ UVT System. Директната процедура позволява първичната епруветка за взимане на тампонна проба или аликвотна част от преносната среда във вторична епруветка да бъдат етикетирани с баркод и заредени за обработка в NeuMoDx System. Като алтернатива, тампонната проба в преносна среда може първоначално да бъде обработена с равен обем NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) преди зареждане в системата без допълнителна намеса на потребителя. За да започне обработката NeuMoDx System автоматично аспирира или аликвотна част от пробата за смесване с буфер за лизиране NeuMoDx Lysis Buffer 3 за директната процедура, или аликвотна част от предварително обработена проба за смесване с буфер за лизиране 2 и реактивите, съдържащи се в NeuMoDx Extraction Plate. По-конкретно, с използване на директна процедура, първичната епруветка за взимане на проби (със свален тампон и капачка) или аликвотна част от преносната среда във вторичната епруветка се етикетират с баркод и се зареждат в NeuMoDx System, използвайки определения носач за епруветки за проби. За процедурата с предварителна обработка пробата в преносна среда първоначално се обработва с равен обем NeuMoDx VVLB преди да бъде заредена в системата. За директната процедура 400 µL аликвотна част от пробата се аспирира от NeuMoDx System и се смесва с равен обем буфер за лизиране NeuMoDx Lysis Buffer 3, докато за процедурата с предварителна обработка 550 µL от предварително обработената аликвотна част се комбинира с равен обем буфер за лизиране 2. NeuMoDx System автоматизира и интегрира извличането и концентрирането на PHK, подготовката на реактивите, амплификацията на нуклеиновите киселини/откриването на прицелната секвенция с RT-PCR в реално време. Контролът за обработка на аликвотни части (Sample Process Control, SPC2) подпомага следенето за наличие на инхибиращи вещества и проблеми, свързани със системата, процеса или реактивите. След зареждането на пробата в NeuMoDx System не е необходима намеса на оператора.

NeuMoDx System използва комбинация от топлина, литичен ензим и реактиви за извличане, за да извършва автоматично лизиране, извличане на РНК и отстраняване на инхибитори. Отделените нуклеинови киселини се улавят от парамагнитни частици. Частиците със свързаната нуклеинова киселина се зареждат в NeuMoDx Cartridge, където несвързаните елементи се отмиват с NeuMoDx Wash Reagent. Свързаната РНК след това се елуира с NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx System след това използва елуираната РНК, за да рехидрати патентовани реактиви за амплификация NeuDry™, съдържащи всички необходими елементи за амплификация на прицелните нуклеинови киселини на грип А, грип В, RSV, SARS-CoV-2 и SPC2. Това позволява едновременна амплификация и откриване на всички прицелни и контролните за процеса секвенции от РНК. След разтварянето на сухите реактиви за RT-PCR NeuMoDx System накапва подготвената смес за RT-PCR в една камера за PCR (за всяка отделна проба) на NeuMoDx Cartridge. Обратната транскрипция, амплификацията и откриването на контролната и прицелната секвенции (ако има) се извършват в камерата за PCR. NeuMoDx Cartridge е конструирана да задържа генериран ампликон след RT-PCR, като на практика елиминира риска от замърсяване след амплификацията.

Амплифицираните прицелни нуклеинови киселини се определят в реално време с прилагане на химичен метод с хидролизна сонда (известен като TaqMan®), с използване на флуорогенни молекули от олигонуклеотидната сонда, специфични за ампликоните на съответните прицелни нуклеинови киселини. Сондите TaqMan се състоят от флуорофор, ковалентно свързан с край 5' на олигонуклеотидната сонда, и гасител в край 3'. Докато сондата е цяла, флуорофорът и гасителят са близо един до друг, което позволява на молекулата на гасителя да потисне флуоресценцията, излъчвана от флуорофора чрез Резонансно предаване на енергия на Фьорстер (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Сондите TaqMan са конструирани, така че да хибридизират в рамките на определен регион от сДНК, амплифициран със специфичен набор от праймери. Докато Таq ДНК полимеразата изтегля праймера и синтезира новата верига, действието на екзонуклеазата от край 5' до край 3' на Таq ДНК полимеразата разгражда хибридираната към образеца сонда. Разграждането на сондата отделя флуорофора и го отдалечава от гасителя, при което се преодолява гасещото действие поради FRET и се създава възможност за откриването на флуорофора. Полученият флуоресцентен сигнал, засечен от NeuMoDx System при RT-PCR апарата за циклична топлинна обработка, е правопропорционален на отделения флуорофор и е в корелация с наличното количество прицелна нуклеинова киселина.

Каналът за откриване на флуоресценция за всяка прицелна нуклеинова киселина на анализа NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 е представен в таблицата по-долу. Софтуерът на NeuMoDx System следи флуоресцентния сигнал, излъчван от сондите TaqMan в края на всеки амплификационен цикъл. Когато цикличната топлинна обработка завърши, софтуерът на NeuMoDx System анализира данните и съобщава резултат (ПОЛОЖИТЕЛЕН)/NEGATIVE (ОТРИЦАТЕЛЕН)/INDETERMINATE (НЕОПРЕДЕЛЕН)/NO RESULT (НЯМА РЕЗУЛТАТ)/UNRESOLVED (НЕПОЛУЧЕН).

**Таблица 1. Канали за откриване**

Прицелна нуклеинова киселина	Прицелен регион	Сонда с флуорофор	Възбуждане/излъчване	Канал за откриване
Грипен вирус А	Матричен протеин	FAM	530/555 nm	Green
Грипен вирус В	Матричен протеин	HEX	470/510 nm	Yellow
	Неструктурен протеин NS1			
SARS-CoV-2	Ген Nsp2	Texas червен	585/610 nm	Orange
	О-рибоза метилтрансфераза			
Респираторен синцитиален вирус	Матричен протеин	Q705	680/715 nm	Far Red
SPC2	Свързващ протеин (MS2)	Q670	625/660 nm	Red

**РЕАКТИВИ/КОНСУМАТИВИ**

**Доставени материали**

№	Съдържание	Брой единици на опаковка	Брой тестове на единица	Брой тестове на опаковка
300901	<b>Тест лента NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip</b> Суши реактиви за RT-PCR, съдържащи специфични за грип А/грип В/RSV/SARS-CoV-2 сонди TaqMan и праймери, и специфични за SPC2 сонда TaqMan и праймери. Съдържа 21,1 % Tris-HCl, 8,4 % dNTP и други неактивни съставки	6	16	96

**Необходими, но непредоставени материали (Предлагат се отделно от NeuMoDx)**

№	Съдържание
901200	<b>NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls</b> Набори за еднократна употреба от FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 положителни и отрицателни контроли за всекидневно установяване на валидността на NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay (по 1 шише от всеки контрол = 1 набор)
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> Суши парамагнитни частици, литичен ензим и контроли за обработка на алиquotни части
400500**	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 2</b>
400600*	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 3</b>
401500**	<b>NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer</b>
400100	<b>NeuMoDx Wash Reagent</b>

№	Съдържание
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Връхчета Hamilton® CO-RE/CO-RE II (300 µL) с филтри
235905	Връхчета Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µL) с филтри

\* Необходим е само за обработка на аликвотни части с използване на директната процедура, без стъпка на предварителна обработка. Вижте раздел „Инструкции за употреба“ по-долу.

\*\* Необходим е само, ако се обработват аликвотни части с използване на процедурата с предварителна обработка, със стъпка на предварителна обработка. Вижте раздел „Инструкции за употреба“ по-долу.

**Тампон и преносна среда (не са предоставени)**

Вид аликвотна част	Препоръчано устройство за вземане на проби	Препоръчан тампон
Назофарингеален тампон	3 mL Universal Transport Medium (Copan UTM-RT, Copan, CA, САЩ, 305C) или 3 mL Universal Viral Transport System (BD UVT, BD, NJ, САЩ, BD 220531)	Flexible Minitip Nylon® Flocked Swab (Copan, CA, САЩ) или Flexible Minitip Flocked Swab (BD, NJ, САЩ)

**Необходима апаратура**

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] или NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]  
NeuMoDx системен софтуер версия 1.9.2.6 или по-нова



**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ**

- Анализът NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay е предназначен само за *invitro* диагностика с NeuMoDx Systems.
- Не използвайте реактивите и консумативите след посочения срок на годност.
- Не използвайте реактиви, ако защитният им печат е скъсан или опаковката е повредена при доставката им.
- Не използвайте консумативи или реактиви с отворен или повреден защитен плик при получаването.
- Минималният обем от пробата за вторичните аликвотни части зависи от размера на епруветката/носача за епруветки за проби, както е описано по-долу. Обем на пробата, по-малък от посочения минимум, може да доведе до грешка „Quantity Not Sufficient“ (Недостатъчно количество).
- Употребата на проби, съхранявани при неподходящи температури или след указания срокове за съхранение, може да даде невалидни или грешни резултати.
- Трябва да се избягва замърсяване на всички реактиви и консумативи с микроорганизми и рибонуклеаза (РНКаза). При употреба на вторични епруветки се препоръчва използването на несъдържащи РНКаза стерилни преносни пипети за еднократна употреба. Използвайте нова пипета за всяка проба.
- За да предотвратите замърсяване, не пипайте NeuMoDx Cartridge след амплификацията. В никакъв случай не изваждайте касети NeuMoDx Cartridges от съда за биорискови отпадъци (NeuMoDx 288 Molecular System) или от кошчето за биорискови отпадъци (NeuMoDx 96 Molecular System). NeuMoDx Cartridge е конструирана за предотвратяване на замърсяване.
- В лабораториите, в които се извършват и тестове с PCR с отворени епруветки, трябва да се вземат мерки NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip, допълнителните консумативи и реактиви, необходими за тестването, личните предпазни средства като ръкавиците и лабораторните престилки и NeuMoDx System да не се контаминират.
- Чисти ръкавици от нитрилен каучук без талк следва да се носят при боравенето с реактиви и консумативи за NeuMoDx. Трябва да се внимава да не се докосва горната повърхност на NeuMoDx Cartridge, повърхността на запечатващото фолио на NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip и NeuMoDx Extraction Plate или горната повърхност на контейнера с NeuMoDx Lysis Buffer; при боравенето с консумативите и реактивите могат да се докосват само страничните повърхности.
- Външни контроли NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls [REF 901200] трябва да се обработват на всеки 24 часа при тестване с NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.
- Информационни листове за безопасност (ИЛБ) са предоставени за всеки съответен реактив (ако е необходимо) на [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu).
- Измивайте добре ръцете след извършването на теста.
- Не пипетирайте с уста. Не пушете, не пийте и не се хранете на места, на които се борави с проби или реактиви.
- С пробите винаги трябва да се борави като с инфекциозни и в съответствие с процедурите за безопасност в лабораторията като описаните в *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>1</sup> и в документ M29-A4 на CLSI.<sup>2</sup>
- При работа с химикали винаги носете подходяща лабораторна престилка, ръкавици за еднократна употреба и предпазни очила. За повече информация направете справка със съответния информационен лист за безопасност (ИЛБ).

- Депонирайте неизползваните реактиви и отпадъци в съответствие с държавните, федералните, провинциалните, щатските и местните разпоредби.

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



Съдържа: борна киселина; етоксилиран нонилфенол. Опасно! Предизвиква дразнене на кожата. Предизвиква сериозно дразнене на очите. Може да увреди оплодителната способност или плода. Вреден за водните организми, с дълготраен ефект. Преди употреба се снабдете със специални инструкции. Не използвайте, преди да сте прочели и разбрали всички предпазни мерки за безопасност. Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице. ПРИ явна или предполагаема експозиция: Потърсете медицински съвет/помощ. Да се съхранява под ключ. Съдържанието/съдът да се изхвърли в одобрено място за обезвреждане на отпадъци.

#### Информация при спешни случаи

CHEMTREC

Извън САЩ и Канада +1 703-527-3887

#### Изхвърляне

Продуктът съдържа етоксилиран нонилфенол – вещество, нарушаващо ендокринната система, което може да има неблагоприятни ефекти върху околната среда.

Да се изхвърля като опасен отпадък в съответствие с местните и националните разпоредби. Това важи и за неизползвани продукти. Течният отпадък не трябва да се изхвърля в канализацията.

Спазвайте препоръките в информационния лист за безопасност (ИЛБ).



#### СЪХРАНЕНИЕ, БОРАВЕНЕ И СТАБИЛНОСТ НА ПРОДУКТИТЕ

- В първичната опаковка и съхранение при температури в диапазона 15 °C – 28 °C, NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips са стабилни до срока на годност, посочен върху фабричния етикет на продукта.
- Не зареждайте отново продукт за тестове, който е бил зареден преди това в друга NeuMoDx System.
- След като бъде заредена, NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip може да остане в NeuMoDx System в продължение на 14 дни. Оставашият срок на годност на заредените тест-ленти се проследява от софтуера и се съобщава на потребителя в реално време. NeuMoDx System ще съобщи, когато трябва да се извади тест-лента, използвана по-дълго от допустимия срок.

#### ВЗЕМАНЕ, ПРЕНАСЯНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИ

*В всички проби трябва да се борави като с материал, който може да предава инфекциозни агенти.*

1. Пробите трябва да се вземат с Copan UTM-RT® System или BD™ UVT System като се използват валидирани найлонови флок-тампони (виж Тампони и преносна среда). Освен това, приемливи видове тампони са флок-тампоните, полиестерните и найлоновите тампони. Следвайте инструкциите на производителя за вземане, пренасяне и съхранение на проби.
2. Пробите могат да се тестват в съвместими първични епруветки за вземане на проби или вторични епруветки за проби.
3. Пробите могат да се съхраняват в NeuMoDx System до 8 часа преди обработката. При необходимост от по-дълго време за съхранение се препоръчва пробите да бъдат поставени в хладилник или фризер като вторични аликвотни части.
4. Подготвените проби трябва да се съхраняват при температури 2 – 8 °C за не повече от 7 дни преди тестването.
5. Ако се налага транспортиране на пробите, те трябва да бъдат опаковани и етикетирани в съответствие с действащите държавни и/или международни разпоредби.
6. Преминете към раздел *Подготовка на теста*.

#### ПОДГОТОВКА НА ТЕСТА

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay включва две различни работни процедури, в зависимост от предпочитанията на потребителя/лабораторията:

Процедура 1: **ДИРЕКТНА** – тампонна проба в преносна среда се зарежда директно в NeuMoDx System в първична епруетка за взимане на проба или вторична епруетка за проби

-или-

Процедура 2: **ПРЕДВАРИТЕЛНА ОБРАБОТКА** – тампонна проба в преносна среда се обработва предварително с NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer, преди да бъде заредена в NeuMoDx System в първична епруетка за взимане на проба или вторична епруетка за проби

#### Подготовка на теста – ДИРЕКТНА процедура за директни тампонни проби

1. Поставете етикета с баркод за проба върху епруетка за проби, съвместима с NeuMoDx System, както е описано в стъпка 3 по-долу.
2. Ако тествате пробата в първичната епруетка за взимане на проба, поставете епруетката с баркода в носача за епруетки за проби и свалете капачката и тампона преди да я заредите в NeuMoDx System.

3. Като алтернатива, аликвотна част от преносната среда може да бъде прехвърлена в кодирана с баркод вторична епруветка и поставена в носача за епруветки за проби. Ако използвате вторична епруветка, прехвърлете аликвотна част от преносната среда в епруветка за проби с баркод, съвместима с NeuMoDx System, като спазвате посочените по-долу обеми:
  - Носач за епруветки за проби (за 32 епруветки): диаметър 11 – 14 mm и височина 60 – 120 mm; минимален обем проба в епруветката  $\geq 600 \mu\text{L}$
  - Носач за епруветки за проби (за 24 епруветки): диаметър 14,5 – 18 mm и височина 60 – 120 mm; минимален обем проба в епруветката  $\geq 1000 \mu\text{L}$
  - Носач за епруветки за проби с малък обем (за 32 епруветки): 1,5 mL епруветка с конично дъно за микроцентрифуга; минимален обем проба в епруветката  $\geq 500 \mu\text{L}$

#### Подготовка на теста – Процедура за ПРЕДВАРИТЕЛНО ОБРАБОТЕНИ тампонни проби

*Забележка: Преди използване приведете Vantage Viral Lysis Buffer до стайна температура (15 – 30 °C).*

*ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ: Предварителната обработка на тампонни аликвотни части с NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer не гарантира инактивиране на който и да е наличен вирус. С всички аликвотни части, калибратори и контроли трябва да се работи като с материал, способен да предава инфекциозни агенти.*

1. Предварително обработете преносната среда за проби с NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer в обемно съотношение 1:1. Ако е известен обемът на преносната среда, това може да се направи в първичната епруветка за взимане на тампонна проба. Като алтернатива, предварителната обработка може да се извърши във вторична епруветка чрез комбиниране на аликвотна част от преносната среда с равен обем NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. Получената смес трябва да отговаря на изискванията за минимален обем, посочени в стъпка 4 по-долу.
2. Смесете внимателно с пипета, за да осигурите равномерно разпределение на буфера за лизиране NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer.
3. Ако тестовата предварително обработена проба в първична епруветка за взимане на проба, поставете епруветката с баркод в носача за епруветки за проби и свалете капачката и тампона преди да я заредите в NeuMoDx System.
4. Ако се използва вторична епруветка, прехвърлете аликвотна част от предварително обработената проба в епруветка с баркод за проба, съвместима с NeuMoDx System, и я поставете в носач за епруветки за проби като спазвате посочените по-долу обеми:
  - Носач за епруветки за проби (за 32 епруветки): диаметър 11 – 14 mm и височина 60 – 120 mm; минимален обем проба в епруветката  $\geq 750 \mu\text{L}$
  - Носач за епруветки за проби (за 24 епруветки): диаметър 14,5 – 18 mm и височина 60 – 120 mm; минимален обем проба в епруветката  $\geq 1100 \mu\text{L}$
  - Носач за епруветки за проби с малък обем (за 32 епруветки): 1,5 mL епруветка с конично дъно за микроцентрифуга; минимален обем проба в епруветката  $\geq 650 \mu\text{L}$

#### Работа с NeuMoDx System

*Подробни указания ще намерите в Ръководствата за оператора на NeuMoDx 288 и 96 Molecular Systems (ном. № 40600108 и 40600317)*

1. Заредете заявката за теста в NeuMoDx System в зависимост от избраната процедура използвана за подготовка на теста:
  - Необработени, чисти тампонни проби, подготвени с използване на ДИРЕКТНА процедура, се изпитват като пробата се дефинира като „**Transport Medium**“ (Преносна среда)
  - Тампонни проби, предварително обработени с буфер за лизиране NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer с използване на процедура за ПРЕДВАРИТЕЛНА ОБРАБОТКА, се изпитват като пробата се дефинира като „**UserSpecified1**“ (Специфицирана от потребител1)

Ако не е дефиниран в заявката за теста, по подразбиране ще се използва вид проба Transport Medium (Преносна среда) в **Secondary Tube** (Вторична епруветка).
2. Заредете един или повече носачи за тест-ленти NeuMoDx System Test Strip Carrier(s) с тест-ленти NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip(s) и използвайте сензорния екран, за да заредите носачите с тест-лентите в NeuMoDx System.
3. Ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System, добавете необходимите консумативи в носачите за консумативи на NeuMoDx System и използвайте сензорния екран, за да заредите носачите в NeuMoDx System.
4. Ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System, сменете NeuMoDx Wash Reagent и/или NeuMoDx Release Reagent, и изпразнете бутилката с отпадъци от запълването, съда за биорискови отпадъци (само за система NeuMoDx 288 Molecular System), кошчето за отпадъци от връхчета (само за NeuMoDx 96 Molecular System) и/или кошчето за биорискови отпадъци (само за NeuMoDx 96 Molecular System), ако е необходимо.
5. Заредете епруветките за проби в носач за епруветки за проби и се уверете, че са свалени капачките и тампоните от всички епруветки.
6. Поставете носача за епруветки за проби на полицата на автоматичното зареждащо устройство и използвайте сензорния екран, за да заредите носача(ите) в NeuMoDx System. Това ще стартира обработката на заредените проби за посочените тестове, стига в системата да има валидна заявка за теста.

**ОГРАНИЧЕНИЯ**

1. Тест-лентата NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip може да се използва само с NeuMoDx Systems.
2. Работните характеристики на NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip са определени чрез клинично взети с назофарингеален тампон проби в преносна среда. Използването на NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip с други типове проби и преносна среда не е оценявано, а работните му характеристики са неизвестни.
3. Тъй като откриването на прицелни вирусни нуклеинови киселини обикновено зависи от броя на присъстващите в аликвотната част вирусни частици, надеждните резултати зависят от правилното вземане, боравене и съхранение на пробите.
4. Грешни резултати от тестовете могат да се получат при неправилно взимане, боравене и съхранение на проби, техническа грешка или объркване на епруветки за проби. Освен това, грешни отрицателни резултати могат да се получат, когато броят на вирусните частици в аликвотната част е под границата на откриваемост на анализа NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.
5. С NeuMoDx System може да работи само персонал, обучен в употребата на NeuMoDx System.
6. Ако прицелните нуклеинови киселини за грип А, грип В, RSV и SARS-CoV-2 и контролата за обработката на аликвотните части (Sample Process Control, SPC2) не се амплифицират, ще бъде съобщен невалиден резултат (Indeterminate (неопределен) или Unresolved (неполучен)) и тестът трябва да се повтори.
7. Ако преди приключване на обработката на аликвотната част възникне грешка в системата, ще бъде отчетено „No Result“ (няма резултат) и тестът трябва да бъде повторен.
8. Положителният резултат не е непременно показателен за наличието на жизнеспособен грип А, грип В, SARS-CoV-2 и/или RSV. Положителен резултат обаче говори за вероятно наличие на РНК на грип А, грип В, SARS-CoV-2 и/или RSV.
9. Делеции или мутации в прицелните консервирани региони за NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay , могат да повлияят на откриването и да доведат до погрешен резултат.
10. Резултатите от анализа NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay трябва да се използват в допълнение към клиничните наблюдения и останалата информация, с която лекарят разполага.
11. За да се предотврати замърсяване, се препоръчва спазване на добрите лабораторни практики, включително смяната на ръкавиците преди боравене с проба от пациент.

**РЕЗУЛТАТИ**

Достъпните резултати могат да се разглеждат и отпечатват от раздела „Results“ (Резултати) в прозореца с Results (Резултати) на сензорния екран на NeuMoDx System. Резултатите от анализа NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay се генерират автоматично от софтуера на NeuMoDx System, с алгоритъм за взимане на решение и параметри за обработка на резултатите, посочени във файла с дефиниция за анализа NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 (FluA-B-RSV-CoV-2 ADF версия 4.0.0 или по-висока). Според състоянието на амплификация на прицелните нуклеинови киселини и SPC2, резултатът от NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay може да бъде съобщен като Negative (Отрицателен), Positive (Положителен), Indeterminate (Неопределен), No Result (Няма резултат) или Unresolved (Неполучен). Резултати се съобщават според алгоритъма за взимане на решение във файла с дефиниция за анализа (Assay Definition File, ADF), обобщен в Таблица 2 по-долу.

**Таблица 2.** Интерпретиране на резултати от NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay

ОБЩ РЕЗУЛТАТ	ПРИЦЕЛНА НУКЛЕИНОВА КИСЕЛИНА 1 (Грип А)	ПРИЦЕЛНА НУКЛЕИНОВА КИСЕЛИНА 2 (Грип В)	ПРИЦЕЛНА НУКЛЕИНОВА КИСЕЛИНА 3 (SARS-CoV-2)	ПРИЦЕЛНА НУКЛЕИНОВА КИСЕЛИНА 4 (RSV)	КОНТРОЛ НА ОБРАБОТКАТА (SAMPLE PROCESS CONTROL, SPC2)	ИНТЕРПРЕТАЦИЯ
	FAM	HEX	TX RED	Краен червен	Червен	
<b>POSITIVE (ПОЛОЖИТЕЛЕН – Открита прицелна РНК)</b>	<b>AMPLIFIED (ИМА АМПЛИФИКАЦИЯ)</b>  [5 ≤ Ct < 25 AND (И) EPR > 2,0 AND (И) EP ≥ 750] <b>OR (ИЛИ)</b> (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (И) EP ≥ 750)	Няма	Няма	Няма	Няма	Открита РНК на Грип А

ОБЩ РЕЗУЛТАТ	ПРИЦЕЛНА НУКЛЕИНОВА КИСЕЛИНА 1 (Грип А) FAM	ПРИЦЕЛНА НУКЛЕИНОВА КИСЕЛИНА 2 (Грип В) HEX	ПРИЦЕЛНА НУКЛЕИНОВА КИСЕЛИНА 3 (SARS-CoV-2) TX RED	ПРИЦЕЛНА НУКЛЕИНОВА КИСЕЛИНА 4 (RSV) Краен червен	КОНТРОЛ НА ОБРАБОТКАТА (SAMPLE PROCESS CONTROL, SPC2) Червен	ИНТЕРПРЕТАЦИЯ
	Няма	<b>AMPLIFIED (ИМА АМПЛИФИКАЦИЯ)</b> [5 ≤ Ct < 28 AND (И) EPR > 1,5 AND (И) EP ≥ 600] <b>OR (ИЛИ)</b> [28 ≤ Ct ≤ 37 AND (И) EP ≥ 600]	Няма	Няма	Няма	Открита РНК на Грип В
	Няма	Няма	<b>AMPLIFIED (ИМА АМПЛИФИКАЦИЯ)</b> [5 ≤ Ct < 25 AND (И) EPR > 1,5 AND (И) EP ≥ 1200] <b>OR (ИЛИ)</b> [25 ≤ Ct ≤ 37 AND (И) EP ≥ 1200]	Няма	Няма	Открита РНК SARS-CoV-2
	Няма	Няма	Няма	<b>AMPLIFIED (ИМА АМПЛИФИКАЦИЯ)</b> [5 ≤ Ct < 30 AND (И) EPR > 1,15 AND (И) EP ≥ 1200] <b>OR (ИЛИ)</b> [30 ≤ Ct ≤ 37 AND (И) EP ≥ 1200]	Няма	Открита РНК RSV
<b>NEGATIVE (ОТРИЦАТЕЛЕН)</b> (Не е открита прицелна РНК)	<b>NOT AMPLIFIED (НЯМА АМПЛИФИКАЦИЯ)</b> Няма <b>OR (ИЛИ)</b> (5 ≤ Ct < 25 AND (И) EPR ≤ 2,0) <b>OR (ИЛИ)</b> (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (И) EP < 750) <b>OR (ИЛИ)</b> (Ct > 37)	<b>NOT AMPLIFIED (НЯМА АМПЛИФИКАЦИЯ)</b> Няма <b>OR (ИЛИ)</b> (5 ≤ Ct < 28 AND (И) EPR ≤ 1,5) <b>OR (ИЛИ)</b> (28 ≤ Ct ≤ 37 AND (И) EP < 600) <b>OR (ИЛИ)</b> (Ct > 37)	<b>NOT AMPLIFIED (НЯМА АМПЛИФИКАЦИЯ)</b> Няма <b>OR (ИЛИ)</b> (5 ≤ Ct < 25 AND (И) EPR ≤ 1,5) <b>OR (ИЛИ)</b> (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (И) EP < 1200) <b>OR (ИЛИ)</b> (Ct > 37)	<b>NOT AMPLIFIED (НЯМА АМПЛИФИКАЦИЯ)</b> Няма <b>OR (ИЛИ)</b> (5 ≤ Ct < 30 AND (И) EPR ≤ 1,15) <b>OR (ИЛИ)</b> (30 ≤ Ct ≤ 37 AND (И) EP < 1200) <b>OR (ИЛИ)</b> (Ct > 37)	<b>AMPLIFIED (ИМА АМПЛИФИКАЦИЯ)</b> (24 ≤ Ct ≤ 31 AND (И) EP ≥ 1800)	Не е открита РНК на Грип А, Грип В, RSV и SARS-CoV-2
<b>NR*</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Няма амплификация, Установена е грешка в системата, Обработката на аликвотни части е прекратена)					Обработката на аликвотните части е прекратена; тествайте аликвотната част отново
<b>IND*</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Няма амплификация, Установена е грешка в системата, Обработката на аликвотни части е приключена)					Всички резултати за прицелната нуклеинова киселина са невалидни; тествайте аликвотната част отново

ОБЩ РЕЗУЛТАТ	ПРИЦЕЛНА НУКЛЕИНОВА КИСЕЛИНА 1 (Грип А) FAM	ПРИЦЕЛНА НУКЛЕИНОВА КИСЕЛИНА 2 (Грип В) HEX	ПРИЦЕЛНА НУКЛЕИНОВА КИСЕЛИНА 3 (SARS-CoV-2) TX RED	ПРИЦЕЛНА НУКЛЕИНОВА КИСЕЛИНА 4 (RSV) Краен червен	КОНТРОЛ НА ОБРАБОТКАТА (SAMPLE PROCESS CONTROL, SPC2) Червен	ИНТЕРПРЕТАЦИЯ
<b>UNR*</b>	Not Amplified, No System Error Detected (Няма амплификация, Не е установена грешка в системата)					Всички резултати за прицелната нуклеинова киселина са невалидни; тествайте алиquotната част отново

\* Системата има възможност за автоматично изпълнение на Rerun (Повторна обработка) /Repeat (Повторение) в случай на невалиден резултат, за да се минимизират забавянията в съобщаването на резултатите.

#### Невалидни резултати

Ако NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, извършен на NeuMoDx System, не даде валиден резултат, в зависимост от вида на възникналата грешка той ще бъде съобщен като Indeterminate (Неопределен) или Unresolved (Неполучен) и за да се получи валиден резултат тестът трябва да бъде повторен.

Indeterminate (Неопределен) резултат ще бъде съобщен, ако по време на обработката на алиquotната част, бъде установена грешка в NeuMoDx System. Ако бъде съобщен резултат Indeterminate (Неопределен), се препоръчва извършване на повторен тест.

No Result (няма резултат) ще бъде съобщен, ако в NeuMoDx System е установена грешка и обработката на алиquotната част е прекратена. Ако бъде съобщено, че No Result (няма резултат), се препоръчва извършване на повторен тест.

Unresolved (Неполучен) резултат ще се съобщи, ако не бъде открита прицелна нуклеинова киселина и няма амплификация на контрола за обработката на алиquotните части, което означава евентуален проблем в реактивите или наличие на инхибитори. Ако бъде съобщен резултат Unresolved (неполучен), повторно тестване е препоръчителната първа стъпка. Ако и повторното тестване е неуспешно, разреждана проба може да се използва за смекчаване на ефектите от евентуално инхибиране на алиquotната част.

Виж Ръководство за оператора на NeuMoDx 288 Molecular System (P/N: 40600108) или Ръководство за оператора на NeuMoDx 96 Molecular System (P/N: 40600317) за списък на кодовете за грешка, които могат да бъдат свързани с всеки невалиден резултат.

NeuMoDx System има възможност за автоматично изпълнение на Rerun (Повторна обработка)/Repeat (Повторение), която крайният потребител може да избере, за да бъде сигурно, че при INVALID (НЕВАЛИДЕН) резултат автоматично ще се извърши повторна обработка за минимално забавяне на съобщаването на резултатите.

#### Качествен контрол

В местните разпоредби обикновено се посочва, че лабораторията отговаря за процедурите за вътрешен качествен контрол, чрез които се следи точността и прецизността на цялостния аналитичен процес, и трябва да установи броя, вида и честотата на тестването на контролните материали с проверени спецификации за работни характеристики за немодифицирана одобрена тестова система.

#### Външни контроли

- 1) Изисква се потребителите да обработват един набор от външни контроли NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls [REF 901200] на всеки 24 часа и преди обработката на алиquotни части на пациенти. Ако няма резултати от набор валидни външни контроли, софтуерът на NeuMoDx System ще уведоми потребителя, че контролите трябва да се обработят, преди да могат да се съобщават резултати за алиquotните части.
- 2) Ако са необходими външни контроли, обработете контролите (1 положителен контрол и 1 отрицателен контрол):

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	Цвят на етикета
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control(s)	Червен
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Negative Control(s)	Черен

- 3) Когато обработвате външни контроли, поставяйте контролите в носача за епруветки за проби и използвайте сензорния екран, за да заредите носача в NeuMoDx System от полицата на автоматичното зареждащо устройство. NeuMoDx System ще разпознае баркодовете и ще започне да обработва контролите, освен ако няма достатъчно от необходимите за тестването реактиви или консумативи.



4) Валидността на тези външни контроли ще бъде оценена от NeuMoDx System според очакваните резултати.

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	Резултат за грип А/грип В/RSV/SARS-CoV-2	Резултат за SPC2
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control(s)	Открита РНК на грип А, грип В, RSV, SARS-CoV-2	Няма
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Negative Control(s)	Не е открита РНК на грип А, грип В, RSV, SARS-CoV-2	SPC2-положителни

5) Обработката на несъответстващи резултати за външни контроли трябва да се извърши по следния начин:

- Positive (Положителен) резултат от теста, съобщен за алиquotна част с отрицателен контрол може да означава замърсяване и процедурите за качествен контрол на лабораториите трябва да бъдат проверени, за да се открие първопричината. За подготовка на алиquotната част, боравенето с контроли и настройката за RT-PCR трябва да се използват отделни зони. Допълнителни съвети за отстраняване на проблеми ще намерите в *Ръководството за оператора на NeuMoDx 288 или 96 Molecular System*.
- Negative (отрицателен) резултат от теста, съобщен за алиquotна част с положителен контрол, може да означава, че има проблем с реактив или NeuMoDx System. Съвети за отстраняване на проблеми ще намерите в *Ръководството за оператора на NeuMoDx 288 или 96 Molecular System*.
- Във всеки от описаните по-горе случаи или ако резултатът е No Result (Няма резултат) (NR), Unresolved (Неполучен) (UNR) или Indeterminate (Неопределен) (IND), обработката на неиздържания проверката контрол трябва да се повтори с прясно размразени шишета от същия контрол.
- Ако положителен контрол продължава да дава Negative (отрицателен) резултат от тест, се обърнете към отдела за техническо съдействие на QIAGEN.
- Ако отрицателен контрол продължава да дава Positive (положителен) резултат от тест, се опитайте да отстраните всички потенциални източници на контаминация, включително като смените всички реактиви и повторите серията, преди да се обърнете към отдела за обслужване на QIAGEN.
- Ако външните контроли не осигуряват очакваните резултати е необходимо да се повтори набор от положителни и отрицателни контроли. Резултатите на пациенти няма да се съобщават, ако контролите не дават очакваните резултати.

**(Вътрешни) контроли за обработка на алиquotни части**

Екзогенен контрол за обработката на алиquotните части (Sample Process Control, SPC2) е включен в NeuMoDx Extraction Plate и преминава по целия процес за извличане и амплификация на нуклеинови киселини с RT-PCR в реално време с всяка алиquotна част. Във всеки сектор на NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip са включени също и специфични за SPC2 праймери и сонди, за да позволят откриване на SPC2 с прицелна РНК (ако присъства) чрез мултиплексна PCR. Откриването на амплификация на SPC2 позволява на софтуера на NeuMoDx System да следи ефективността на процедурите за извличане и амплификация с RT-PCR на РНК.

Преди да започне RT-PCR, NeuMoDx System автоматично извършва „FILL CHECK“ (ПРОВЕРКА НА ЗАПЪЛВАНЕТО), за да бъде сигурно, че камерата за PCR е пълна с разтвор и съдържа достатъчно количество флуоресцентна сонда.

Софтуерът на NeuMoDx System непрекъснато следи датчиците и изпълнителните механизми в системата, за да осигури нейната безопасна и ефективна работа.

Използват се различни режими за възстановяване след грешки във флуидните системи с активно следене на операциите за аспириране и накапване, за да бъде сигурно, че системата ще може безопасно и ефективно да приключи обработката на всички алиquotни части или да изведе съответен код на грешка.

**РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

**Аналитична чувствителност**

Аналитичната чувствителност на NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay върху NeuMoDx Molecular Systems е характеризирана на две части. Границата на откриване (Limit of Detection, LoD) е характеризирана с използване на група от остатъци от деидентифицирани клинични тампонни назофарингеални тампонни проби, събрани в универсална вирусна транспортна (Universal Viral Transport, UVT) матрица и еталонни щамове от всяка прицелна РНК. Еталонните щамове, използвани за всяка прицелна РНК са представени в *Таблица 3*. Първо с процедурите за директна и предварителна обработка се приготвя серия разреждания в UVT с използване на еталонни щамове на всяка прицелна РНК, която впоследствие се обработва в NeuMoDx System за определяне на предварителната стойност за граница на откриване (Limit of Detection, LoD). Във втората част на изпитването, тези предварителни стойности за LoD бяха потвърдени с използване на изследване процента на съвпадения върху системи NeuMoDx 288 и NeuMoDx 96 Molecular Systems и за двете работни процедури. Предварителната LoD се приема ако изследването на процента на съвпадения достига ниво на положителност 95%, за двете работни процедури и на двете системи. Нивото на откриване за предварителна LoD е показано в *Таблица 4*, докато *Таблица 5* съдържа подробни данни за потвърждение за броя на съвпаденията за система N288, а *Таблица 6* съдържа подробни данни за потвърждение за броя на съвпаденията за система N96. Крайните обявени стойности на LoD в *Таблица 4* са посочени с **удебелен шрифт**.

**Таблица 3. Щам, използван за всяка прицелна РНК**

Прицелна/Щам	Източник	Кат.№	№ на партида	Тип материал
Грип А, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1688	70031602	Пречистен супернатант от инфектирани клетки
Грип А, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1690	70032253	Пречистен супернатант от инфектирани клетки
Грип А, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	Virapur	Няма	B1904J	Live Crude
Грип А, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	Virapur	Няма	C2030D	Live Crude
Грип В, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	IRR	FR-1619	70015942	Пречистен супернатант от инфектирани клетки
Грип В, Colorado/6/2017 (Victoria)	IRR	FR-1592	70013310	Пречистен супернатант от инфектирани клетки
Грип В, Florida/78/2015 (Victoria)	ATCC	VR-1931	70020870	Пречистен културален флуид и клетъчен лизат
Грип В, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	Virapur	Няма	B1904N	Live Crude
RSV A2	ATCC	VR-1540	60430286	Културален флуид и клетъчен лизат
RSV B (WV/14617/85)	ATCC	VR-1400	70013461	Културален флуид и клетъчен лизат
SARS-CoV-2, 1 <sup>ва</sup> международен стандарт на СЗО	NIBSC	20/146	Няма	Лиофилизирана киселина и топлинно инактивиран вирус
SARS-CoV-2, Isolate USA-WA1/2020	BEI	NR-52285	70037779	Топлинно инактивиран вирус

**Таблица 4.** Процент положителни резултати за определяне на предварителна LoD за анализа NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay – (а) Процедура с предварителна обработка; (б) Директна процедура

**(а) Процедура с предварителна обработка**

Прицелна/Щам	Ниво	Единица	Брой валидни резултати (n/N)	Брой положителни	% положителни	Среден Ct	Ct SD
Грип А, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,02	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	7	70%	33,97	0,90
	<b>0,06</b>		10/10	10	100 %	33,36	0,96
	0,17		10/10	10	100 %	32,17	0,45
	0,5		10/10	10	100 %	31,05	0,42
	1,5		10/10	10	100 %	31,01	0,45
Грип А, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,17	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	8	80%	33,72	1,00
	<b>0,5</b>		10/10	10	100 %	32,97	0,51
	1,5		10/10	10	100 %	32,28	0,60
Грип А, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,17	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	8	80%	32,81	0,38
	<b>0,5</b>		10/10	10	100 %	31,68	0,84
	1,5		10/10	10	100 %	31,69	0,65
Грип А, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,17	TCID <sub>50</sub> /mL	20/20	15	75%	32,15	1,70
	<b>0,5</b>		10/10	9	90%	32,37	0,50
	1,5		10/10	10	100 %	32,63	1,35
Грип В, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,01	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	8	80%	32,90	1,27
	<b>0,03</b>		10/10	10	100 %	32,26	0,48
	0,08		10/10	10	100 %	31,48	0,78
	0,25		10/10	10	100 %	30,59	0,40
Грип В, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,003	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	10	100 %	33,97	0,58
	<b>0,01</b>		10/10	10	100 %	33,90	0,39
	0,03		10/10	10	100 %	33,85	0,56
Грип В, Florida/78/2015 (Victoria)	0,083	TCID <sub>50</sub> /mL	20/20	18	90%	34,39	0,84
	<b>0,25</b>		10/10	10	100 %	32,53	0,21
	0,75		10/10	10	100 %	32,57	0,40
Грип В, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	0,33	TCID <sub>50</sub> /mL	20/20	15	75%	33,58	1,50
	<b>1</b>		10/10	10	100 %	34,03	0,69
	3		10/10	10	100 %	32,30	0,66
RSV A2	0,17	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	5	50%	32,68	0,43
	<b>0,5</b>		10/10	10	100 %	31,72	0,85
	1,5		10/10	10	100 %	31,71	1,35
RSV B (WV/14617/85)	0,017	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	5	50%	32,20	1,10
	<b>0,05</b>		10/10	10	100 %	31,50	0,49
	0,15		10/10	10	100 %	29,94	0,93
SARS-CoV-2, 1ви международен стандарт на СЗО	50	IU/mL	10/10	6	60%	34,36	0,64
	<b>150</b>		10/10	10	100 %	34,20	0,31
	450		10/10	10	100 %	33,04	0,63
SARS-CoV-2, Isolate USA-WA1/2020	50	копия/mL	10/10	6	60%	34,20	1,19
	<b>150</b>		10/10	10	100 %	33,46	0,58
	450		10/10	10	100 %	32,62	1,06

**(б) Директна процедура**

Прицелна/Щам	Ниво	Единица	Брой валидни резултати (n/N)	Брой положителни	% положителни	Среден Ct	Ct SD
Грип А, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,02	TCID <sub>50</sub> /mL	20/20	17	85%	33,11	1,30
	<b>0,06</b>		10/10	10	100 %	33,18	0,86
	0,17		10/10	10	100 %	32,63	1,14
	0,5		10/10	10	100 %	31,33	0,74
	1,5		10/10	10	100 %	30,79	0,31
Грип А, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,17	TCID <sub>50</sub> /mL	20/20	18	90%	33,41	1,10
	<b>0,5</b>		10/10	9	90%	32,54	1,03
	1,5		10/10	10	100 %	32,05	0,26
Грип А, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,17	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	7	70%	33,39	0,16
	<b>0,5</b>		10/10	10	100 %	32,70	1,01
	1,5		10/10	10	100 %	31,12	1,07
Грип А, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,17	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	8	80%	34,11	0,69
	<b>0,5</b>		10/10	10	100 %	33,68	0,50
	1,5		10/10	10	100 %	32,27	1,29
Грип В, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,01	TCID <sub>50</sub> /mL	20/20	18	90%	33,31	0,95
	<b>0,03</b>		10/10	10	100 %	31,51	0,94
	0,08		10/10	10	100 %	31,76	0,46
	0,25		10/10	10	100 %	30,11	0,45
Грип В, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,003	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	9	90%	34,82	0,39
	<b>0,01</b>		10/10	10	100 %	34,37	0,55
	0,03		10/10	10	100 %	33,64	0,34
Грип В, Florida/78/2015 (Victoria)	0,083	TCID <sub>50</sub> /mL	20/20	18	90%	33,78	1,11
	<b>0,25</b>		10/10	10	100 %	33,89	0,69
	0,75		10/10	10	100 %	32,38	0,47
Грип В, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	0,25	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	8	80%	33,23	1,17
	<b>0,75</b>		20/20	19	95%	32,63	1,22
	2,25		10/10	10	100 %	31,24	1,58
RSV A2	0,42	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	7	70%	32,61	0,70
	<b>1,25</b>		10/10	10	100 %	30,99	1,55
	3,75		10/10	10	100 %	31,49	1,04
RSV В (WV/14617/85)	0,017	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	6	60%	33,63	1,49
	<b>0,05</b>		10/10	10	100 %	32,42	1,12
	0,15		10/10	10	100 %	31,81	0,81
SARS-CoV-2, 1ви международен стандарт на СЗО	50	IU/mL	10/10	7	70%	34,80	0,56
	<b>150</b>		20/20	19	95%	32,88	1,22
	450		10/10	10	100 %	33,38	0,46
SARS-CoV-2, Isolate USA-WA1/2020	66,7	копия/mL	10/10	7	70%	33,53	0,58
	<b>200</b>		10/10	10	100 %	32,63	1,25
	600		10/10	10	100 %	32,69	0,86

**Таблица 5.** Процент положителни резултати за определяне на потвърждаваща LoD за анализа NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay – N288, (а) Процедура с предварителна обработка; (б) Директна процедура

**(а) Процедура с предварителна обработка**

Прицелна/Щам	Ниво	Единица	Брой валидни резултати (n/N)	Брой положителни	% открити	Среден Ct	Ct SD
Грип А, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	<b>0,06</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,89	0,57
Грип А, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7%	33,81	0,44
Грип А, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,17	0,47
Грип А, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7%	33,77	0,52
Грип В, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	<b>0,03</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	29/30	29	100 %	32,32	1,09
Грип В, Colorado/6/2017 (Victoria)	<b>0,01</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7%	34,50	0,68
Грип В, Florida/78/2015 (Victoria)	<b>0,25</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,83	0,44
Грип В, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	<b>1</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	29/30	29	100 %	33,04	0,69
RSV A2	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7%	32,17	1,23
RSV В (WV/14617/85)	<b>0,05</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	32,39	0,41
SARS-CoV-2, 1ви международен стандарт на СЗО	<b>150</b>	IU/mL	30/30	30	100 %	33,63	0,61
SARS-CoV-2, Isolate USA-WA1/2020	<b>150</b>	копия/mL	29/30	28	96,6%	33,59	1,01

**(б) Директна процедура**

Прицелна/Щам	Ниво	Единица	Брой валидни резултати (n/N)	Брой положителни	% открити	Среден Ct	Ct SD
Грип А, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	<b>0,06</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,92	0,69
Грип А, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,75	0,57
Грип А, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	32,96	0,48
Грип А, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,67	0,48
Грип В, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	<b>0,03</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	29/30	28	96,6%	31,74	1,19
Грип В, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,0033	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	8	80%	34,88	0,95
	<b>0,01</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	34,22	0,51
Грип В, Florida/78/2015 (Victoria)	<b>0,25</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,55	0,38
Грип В, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	<b>0,75</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,33	0,74
RSV A2	<b>1,25</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7%	31,87	0,95
RSV В (WV/14617/85)	<b>0,05</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7%	32,46	0,72
SARS-CoV-2, 1ви международен стандарт на СЗО	<b>150</b>	IU/mL	30/30	29	96,7%	33,78	0,77
SARS-CoV-2, Isolate USA-WA1/2020	<b>200</b>	копия/mL	30/30	30	100 %	34,18	0,83

**Таблица 6.** Процент положителни резултати на откриване с използване на потвърждение за броя на съвпаденията за LoD за анализ NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay – N96, (а) Процедура с предварителна обработка; (б) Директна процедура

**(а) Процедура с предварителна обработка**

Прицелна/Щам	Ниво	Единица	Брой валидни резултати (n/N)	Брой положителни	% открити	Среден Ct	Ct SD
Грип А, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	<b>0,06</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,05	0,81
Грип А, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7%	33,53	0,75
Грип А, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7%	32,33	1,11
Грип А, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	32,98	0,96
Грип В, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	<b>0,03</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7%	32,75	0,69
Грип В, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,0033	TCID <sub>50</sub> /mL	10/10	4	40%	34,75	0,58
	<b>0,01</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,91	0,75
Грип В, Florida/78/2015 (Victoria)	<b>0,25</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7%	33,25	0,97
Грип В, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	<b>1</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7%	33,21	0,96
RSV A2	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	29/30	28	96,6%	32,39	1,10
RSV В (WV/14617/85)	<b>0,05</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	32,06	0,76
SARS-CoV-2, 1ви международен стандарт на СЗО	<b>150</b>	IU/mL	30/30	29	96,7%	33,79	0,67
SARS-CoV-2, Isolate USA-WA1/2020	<b>150</b>	копия/mL	30/30	29	96,7%	33,59	1,05

**(б) Директна процедура**

Прицелна/Щам	Ниво	Единица	Брой валидни резултати (n/N)	Брой положителни	% открити	Среден Ct	Ct SD
Грип А, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	<b>0,06</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,42	0,54
Грип А, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,35	1,10
Грип А, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	32,17	1,24
Грип А, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	<b>0,5</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,22	0,50
Грип В, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	<b>0,03</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	32,78	0,56
Грип В, Colorado/6/2017 (Victoria)	<b>0,01</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	34,21	0,50
Грип В, Florida/78/2015 (Victoria)	<b>0,25</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	33,41	0,65
Грип В, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	<b>0,75</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7%	33,36	1,04
RSV A2	<b>1,25</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	29	96,7%	32,29	0,99
RSV В (WV/14617/85)	<b>0,05</b>	TCID <sub>50</sub> /mL	30/30	30	100 %	32,17	0,75
SARS-CoV-2, 1ви международен стандарт на СЗО	<b>150</b>	IU/mL	30/30	29	96,7%	33,50	0,78
SARS-CoV-2, Isolate USA-WA1/2020	<b>200</b>	копия/mL	29/30	29	100 %	34,45	0,39

Нивата, приети като стойности на LoD за NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay на NeuMoDx Systems, са обобщени в Таблица 7.

**Таблица 7. Обобщение на изследването за определяне границата на откриване**

Прицелна нуклеинова киселина	Щам	Граница на откриване		
		Процедура с предварителна обработка	Директна процедура	Единица
Грипен вирус А (Грип А) – H1N1	Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	0,06	TCID <sub>50</sub> /mL
	Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	0,5	
Грипен вирус А (Грип А) – H3N2	Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	0,5	
	Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	0,5	
Грипен вирус В (Грип В) – Victoria lineage	Hong Kong/286/2017	0,03	0,03	
	Colorado/6/2017	0,01	0,01	
	Florida/78/2015	0,25	0,25	
Грипен вирус В (Грип В) – Yamagata lineage	Phuket/3073/2013	1	0,75	
RSV А	A2	0,5	1,25	
RSV В	(WV/14617/85)	0,05	0,05	
SARS-CoV-2	1 <sup>ва</sup> международен стандарт на СЗО	150	150	IU/mL
	Изолат USA-WA1/2020	150	200	копия/mL

**Конкурентна интерференция за прицелни организми: Грип А, грип В, RSV и SARS-CoV-2**

Конкурентната интерференция на анализа NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay беше оценена с използване на панели от вирусни прицелни нуклеинови киселини, добавени в клинични отрицателни назофарингеални тампонни проби, взети в UVT. Десет панела съдържаха една или две прицелни РНК близо до тяхната граница на откриване (3-10X LoD), а една прицелна РНК с  $\geq 1E5$  копия/mL, представляваща съинфектираната прицелна РНК. Единадесети панел съдържаха по една от всяка от четирите прицелни РНК с 2X LoD. Наличието на два до три вируса с различни концентрации в една проба и техните ефекти върху аналитичната чувствителност са показани в Таблица 8.

Отрицателни резултати за грип А и RSV А трябва да се считат като вероятно налични в аликвотни части, които имат положителен резултат за SARS-CoV-2, а отрицателни резултати за RSV трябва да се считат като вероятно налични в проби, които имат положителен резултат за грип А. Проучвания на конкурентната интерференция показаха, че вирусът SARS-CoV-2, когато е наличен с концентрации с или над  $1E5$  копия/mL, може да инхибира откриването и амплификацията на РНК на грип А и RSV А, ако са налични с или под съответно  $1,5$  TCID<sub>50</sub>/mL или  $6,25$  TCID<sub>50</sub>/mL, и може да доведе до фалшиво отрицателни резултати. Освен това, грипен вирус А, когато е наличен с концентрации с или над  $1E5$  ср/mL, може да инхибира откриването и амплификацията на РНК на RSV А вирус, ако е наличен с или под  $3,75$  TCID<sub>50</sub>/mL и може да доведе до фалшиво отрицателни резултати за RSV. Ако се подозира коинфекция с грипен вирус А или вирус RSV в аликвотни части с положителен резултат за SARS-CoV-2, или ако се подозира коинфекция с RSV вирус в аликвотни части с положителен резултат за грип А, аликвотната част трябва да бъде тествана повторно с друг разрешен, одобрен или ототизиран от FDA тест за грип или RSV, ако откриването на грипен или RSV вирус би променило клиничния контрол.

Таблица 8. Обобщение на изследването за конкурентна интерференция

Панел	Прицелна нуклеинова киселина	Ниво на панела	Прицелна концентрация	Валидни резултати	Брой положителни	% открити
1	Грип А	3X	1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	RSV А	3X	3,75 TCID <sub>50</sub> /mL	24	23	96%
	Грип В	Висока	1Е5 cp/mL	24	24	100 %
2 (цикъл 1)	Грип А	3X	1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	19	79%
	RSV А	3X	3,75 TCID <sub>50</sub> /mL	24	8	33%
	SARS-CoV-2	Висока	1Е5 cp/mL	24	24	100 %
2 (цикъл 2)	Грип А	5X	2,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	RSV А	5X	6,25 TCID <sub>50</sub> /mL	24	16	67%
	SARS-CoV-2	Висока	1Е5 cp/mL	24	24	100 %
2 (цикъл 3)	Грип А	5X	2,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	RSV А	10X	12,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	SARS-CoV-2	Висока	1Е5 cp/mL	24	24	100 %
3	Грип А	3X	1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	SARS-CoV-2	3X	450 IU/mL	24	24	100 %
	RSV В	Висока	1Е5 cp/mL	24	24	100 %
4	Грип В	3X	0,75 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	RSV В	3X	0,15 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	Грип А	Висока	1Е5 cp/mL	24	24	100 %
5	Грип В	3X	0,75 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	RSV В	3X	0,15 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	SARS-CoV-2	Висока	1Е5 cp/mL	24	24	100 %
6	Грип В	3X	0,75 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	RSV В	Висока	1Е5 cp/mL	24	24	100 %
7	SARS-CoV-2	3X	450 IU/mL	24	24	100 %
	Грип А	Висока	1Е5 cp/mL	24	24	100 %
8	SARS-CoV-2	3X	450 IU/mL	24	24	100 %
	Грип В	Висока	1Е5 cp/mL	24	24	100 %
9 (цикъл 1)	RSV А	3X	3,75 TCID <sub>50</sub> /mL	24	20	83%
	Грип А	Висока	1Е5 cp/mL	24	24	100 %
9 (цикъл 2)	RSV А	5X	6,25 TCID <sub>50</sub> /mL	24	23	96%
	Грип А	Висока	1Е5 cp/mL	24	24	100 %
10	RSV В	3X	0,15 TCID <sub>50</sub> /mL	24	23	96%
	Грип В	Висока	1Е5 cp/mL	24	24	100 %
11	Грип А	2X	1 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	Грип В	2X	0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	RSV В	2X	0,1 TCID <sub>50</sub> /mL	24	24	100 %
	SARS-CoV-2	2X	300 IU/mL	24	24	100 %

**Аналитична реактивоспособност или инклузивност**

Аналитичната реактивоспособност на NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay бе оценена спрямо множество щамове/изолати на вируси на грип А, грип В, RSV и SARS-CoV-2. Реактивоспособността на всеки щам/изолат е характеризирана на две части. Първоначалната оценка на нивата на реактивоспособност за всяка прицелна РНК беше изпълнена с отделен прицелен щам, тестван с 3 концентрации в симулирана матрица на назофарингеален тампон (получена с 3000 човешки епителни клетки на mL UVT), Таблица 9. Във втората част най-ниското ниво, което съдържаше 100% положителен резултат във фаза 1 беше потвърдено като нивото на реактивоспособност чрез тестване на минимум от 20 репликата, Таблица 10. Тествани са общо 14 щамове грип А, 6 щамове грип В, 1 изолат RSV А, 1 изолат RSV В и 6 изолата на SARS-CoV-2.

**Таблица 9.** Щамове на грип А, грип В, RSV А, RSV В и SARS-CoV-2 – предварителен анализ на ниво на реактивоспособност

Предварителен анализ					
Прицелна нуклеинова киселина	Щам		Тествани нива	Брой валидни резултати	% положителни
Грип А	H1N1	Brisbane/02/2018	0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	75,0%
			1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
			4,5 TCID <sub>50</sub> /mL	7	100 %
		Guangdong-Moanan/SWL 1536/2019	0,33 TCID <sub>50</sub> /mL	8	87,5%
			1 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
			3 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
		Michigan/272/2017 (H1N1)pdm09	0,17 TCID <sub>50</sub> /mL	6	50%
			0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	6	100 %
			1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	6	100 %
		A/Iowa/53/2015 (H1N1)pdm09	0,33 TCID <sub>50</sub> /mL	8	87,5%
			1 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
			3 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
		A/Bangladesh/3002/2015 (H1N1)pdm09	3,3 CEID <sub>50</sub> /mL	8	62,5%
			10 CEID <sub>50</sub> /mL	8	87,5%
			30 CEID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
	H3N2	Switzerland/9715293/2013 (H3N2)	0,17 TCID <sub>50</sub> /mL	8	87,5%
			0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
			1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
		Hong Kong/4801/2014 (H3N2)	0,15 TCID <sub>50</sub> /mL	7	28,6%
			0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
			1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
		Kansas/14/2017 (H3N2)	2,67 TCID <sub>50</sub> /mL	8	50%
			8 TCID <sub>50</sub> /mL	8	87,5%
			24 TCID <sub>50</sub> /mL	7	100 %
		A/Wisconsin/04/2018 (H3N2)	3,3 CEID <sub>50</sub> /mL	6	83,3%
			10 CEID <sub>50</sub> /mL	6	100 %
			30 CEID <sub>50</sub> /mL	6	100 %
		A/California/02/2014 (H3N2)	0,01 TCID <sub>50</sub> /mL	8	85,7%
			0,03 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
			0,1 TCID <sub>50</sub> /mL	7	100 %
	0,33 TCID <sub>50</sub> /mL		8	100 %	
	1 TCID <sub>50</sub> /mL		8	100 %	
	H2N2	A2/Japan/305/57 (H2N2)	3 TCID <sub>50</sub> /mL	7	100 %
			10,87 pg/mL <sup>1</sup>	8	100 %
			32,6 pg/mL <sup>1</sup>	8	87,5%
	H5N2	A/патешки/Pennsylvania/10218/84 (H5N2)	97,8 pg/mL <sup>1</sup>	7	100 %
			8 pg/mL <sup>1</sup>	8	100 %
			25 pg/mL <sup>1</sup>	8	100 %
	H7N9	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	75 pg/mL <sup>1</sup>	7	100 %
			1:3E <sup>5</sup>	8	50%
			1:1E <sup>5</sup>	7	87,5%
	H10N7	A/птиче/Germany/N/49 (H10N7)	1:3,3E <sup>4</sup>	8	100 %
22,67 pg/mL <sup>1</sup>			8	100 %	
68 pg/mL <sup>1</sup>			8	100 %	
Грип В	Victoria Lineage	Malaysia/2506/2004 (Victoria)	204 pg/mL <sup>1</sup>	8	100 %
			1 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
			3 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
		Washington/02/2019 (Victoria)	9 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
			2,5 CEID <sub>50</sub> /mL	8	25,0%
			5 CEID <sub>50</sub> /mL	8	87,5%
		B/Maryland/15/2016 (Victoria)	15 CEID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
			0,01 TCID <sub>50</sub> /mL	12	91,7%
			0,03 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
		0,1 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
		0,33 TCID <sub>50</sub> /mL	16	100 %	



Предварителен анализ							
Прицелна нуклеинова киселина	Щам		Тествани нива	Брой валидни резултати	% положителни		
Грип В (продължава)			1 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %		
			3 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %		
	Yamagata Lineage	Wisconsin/1/2010 (Yamagata)	0,17 CEID <sub>50</sub> /mL	8	75,0%		
			0,5 CEID <sub>50</sub> /mL	8	100 %		
			1,5 CEID <sub>50</sub> /mL	8	100 %		
			0,06 CEID <sub>50</sub> /mL	8	25,0%		
		B/Utah/09/2014 (Yamagata Lineage)	0,19 CEID <sub>50</sub> /mL	8	87,5%		
			0,56 CEID <sub>50</sub> /mL	7	85,7%		
			1,7 CEID <sub>50</sub> /mL	6	100 %		
			5 CEID <sub>50</sub> /mL	6	100 %		
			15 CEID <sub>50</sub> /mL	6	100 %		
			B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N) (Yamagata)	0,33 TCID <sub>50</sub> /mL	8	25,0%	
	RSV	RSVA	A (long)	1 TCID <sub>50</sub> /mL	8	87,5%	
				3 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %	
0,67 pfu/ml				8	37,5%		
RSVB		B (9320)	2 pfu/ml	8	100 %		
			6 pfu/ml	7	100 %		
			0,03 pfu/mL	8	12,5%		
SARS-CoV-2	USA/CA-Stanford-15_S02/2021 (капа, B.1.617.1)		0,1 pfu/mL	8	87,5%		
			0,3 pfu/mL	8	100 %		
			0,06 TCID <sub>50</sub> /mL	8	0%		
			0,17 TCID <sub>50</sub> /mL	8	12,5%		
			0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	37,5%		
			1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	87,5%		
			4,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %		
			13,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %		
			USA/CA_CDC_5574/2020 (алфа, B.1.1.7)		0,006 TCID <sub>50</sub> /mL	8	62,5%
					0,02 TCID <sub>50</sub> /mL	8	87,5%
					0,06 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %
					0,17 TCID <sub>50</sub> /mL	7	100 %
					0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	7	100 %
					1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	7	100 %
			Japan/TY7-503/2021 (гама, Brazil P.1)		0,002 TCID <sub>50</sub> /mL	8	62,5%
	0,006 TCID <sub>50</sub> /mL	8			100 %		
	0,02 TCID <sub>50</sub> /mL	8			100 %		
	0,06 TCID <sub>50</sub> /mL	8			100 %		
	0,17 TCID <sub>50</sub> /mL	8			100 %		
	0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	8			100 %		
	USA/PHC658/2021 (делта, B.1.617.2)		0,001 TCID <sub>50</sub> /mL	8	37,5%		
			0,004 TCID <sub>50</sub> /mL	8	87,5%		
			0,013 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %		
			0,04 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %		
			0,11 TCID <sub>50</sub> /mL	8	100 %		
			0,33 TCID <sub>50</sub> /mL	4	100 %		
	Italy-INMI1		7,44 cp/mL <sup>1</sup>	8	37,5%		
			22,33 cp/mL <sup>1</sup>	8	87,5%		
			67 cp/mL <sup>1</sup>	8	100 %		
			200 cp/mL <sup>1</sup>	8	100 %		
600 cp/mL <sup>1</sup>			8	100 %			
Изолат Hong Kong/VM20001061/2020		7,44 cp/mL <sup>1</sup>	8	25,0%			
		22,33 cp/mL <sup>1</sup>	8	87,5%			
		67 cp/mL <sup>1</sup>	7	100 %			
		200 cp/mL <sup>1</sup>	7	100 %			
		600 cp/mL <sup>1</sup>	7	100 %			

<sup>1</sup>Тези варианти са доставени само с количествено определяне на „обща РНК“, които включват както вирусна РНК, така и РНК на клетка-гостоприемник.

**Таблица 10.** Щамове грип А, грип В, RSV А, RSV В и SARS-CoV-2 – потвърждаване на ниво на реактивоспособност

Потвърждаване					
Прицелна нуклеинова киселина	Щам		Ниво	Брой валидни резултати	% положителни
Грип А	H1N1	Brisbane/02/2018	1,0 TCID <sub>50</sub> /mL	23	91,3%
			1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	23	100 %
		Guangdong-Moanan/SWL 1536/2019	0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	23	82,6%
		Michigan/272/2017 (H1N1)pdm09	1,0 TCID <sub>50</sub> /mL	24	100 %
		A/Iowa/53/2015 (H1N1)pdm09	0,33 TCID <sub>50</sub> /mL	24	85,7%
		A/Bangladesh/3002/2015 (H1N1)pdm09	0,67 TCID <sub>50</sub> /mL	24	95,2%
		A/Bangladesh/3002/2015 (H1N1)pdm09	10 CEID <sub>50</sub> /mL	24	100 %
	H3N2	Switzerland/9715293/2013 (H3N2)	0,25 TCID <sub>50</sub> /mL	24	87,0%
			0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	100 %
		Hong Kong/4801/2014 (H3N2)	0,5 TCID <sub>50</sub> /mL	23	91,3%
			1,0 TCID <sub>50</sub> /mL	23	95,7%
		Kansas/14/2017 (H3N2)	12 TCID <sub>50</sub> /mL	23	100 %
		A/Wisconsin/04/2018 (H3N2)	5 CEID <sub>50</sub> /mL	23	91,3%
		A/Wisconsin/04/2018 (H3N2)	10 CEID <sub>50</sub> /mL	23	100 %
		A/California/02/2014 (H3N2)	0,01 TCID <sub>50</sub> /mL	24	91,7%
		A/California/02/2014 (H3N2)	0,03 TCID <sub>50</sub> /mL	24	100 %
	H2N2	A2/Japan/305/57 (H2N2)	10,87 pg/mL <sup>1</sup>	24	100 %
	H5N2	A/патешки/Pennsylvania/10218/84 (H5N2)	2 pg/mL <sup>1</sup>	24	83,3%
4 pg/mL <sup>1</sup>			23	100 %	
8 pg/mL <sup>1</sup>			23	100 %	
H7N9	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	1:3,3E4 <sup>1</sup>	24	95,7%	
H10N7	A/птиче/Germany/N/49 (H10N7)	7,6 pg/mL <sup>1</sup>	23	73,9%	
		22,67 pg/mL <sup>1</sup>	23	100 %	
Грип В	Victoria Lineage	Malaysia/2506/2004 (Victoria)	1 TCID <sub>50</sub> /mL	23	95,7%
			5 CEID <sub>50</sub> /mL	24	95,8%
		Washington/02/2019 (Victoria)	10 CEID <sub>50</sub> /mL	24	100 %
		B/Maryland/15/2016 (Victoria)	0,01 TCID <sub>50</sub> /mL	23	83,3%
		B/Maryland/15/2016 (Victoria)	0,03 TCID <sub>50</sub> /mL	24	100 %
	Yamagata Lineage	Wisconsin/1/2010 (Yamagata)	0,05 CEID <sub>50</sub> /mL	24	100 %
		B/Utah/09/2014 (Yamagata Lineage)	0,56 TCID <sub>50</sub> /mL	24	87,0%
			1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	24	100 %
		B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N) (Yamagata)	0,75 TCID <sub>50</sub> /mL	24	87,5%
		1,5 TCID <sub>50</sub> /mL	20	95,0%	
	B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N) (Yamagata)	3,0 TCID <sub>50</sub> /mL	24	100 %	
RSV	RSVA	A (long)	2 pfu/mL	24	91,7%
			4 pfu/mL	24	95,8%
	RSVB	B (9320)	0,15 pfu/mL	24	100 %
			0,3 pfu/mL	21	100 %
SARS-CoV-2	USA/CA-Stanford-15_S02/2021 (кана, B.1.617.1)	1,5 TCID <sub>50</sub> /ml	24	100 %	
		3 TCID <sub>50</sub> /ml	24	100 %	
		4,5 TCID <sub>50</sub> /ml	24	100 %	
		USA/CA_CDC_5574/2020 (алфа, B.1.1.7)	0,02 TCID <sub>50</sub> /ml	24	95,8%
			0,06 TCID <sub>50</sub> /ml	24	100 %
		Japan/TY7-503/2021 (гама, Brazil P.1)	0,006 TCID <sub>50</sub> /ml	24	95,8%
SARS-CoV-2 (продължава)	USA/PHC658/2021 (делта, B.1.617.2)	0,006 TCID <sub>50</sub> /ml	24	87,5%	
			0,013 TCID <sub>50</sub> /ml	24	100 %
		Italy-INMI1	22 cp/mL <sup>1</sup>	24	95,8%
		67 cp/mL <sup>1</sup>	24	100 %	
	Изолат Hong Kong/VM20001061/2020	22 cp/mL <sup>1</sup>	24	57,1%	
		67 cp/mL <sup>1</sup>	24	100 %	

<sup>1</sup>Тези варианти са доставени само с количествено определяне на „общи РНК“, които включват както вирусна РНК, така и РНК на клетка-гостоприемник.

Реактивоспособността на анализа NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay при откриване на различни клинични изолати на SARS-CoV-2 е демонстрирана чрез извършване на *in silico* анализ с праймерите и сондите на анализа срещу всички налични секвенции в GenBank (към ноември 2021 г.) с помощта на уеб-базиран NCBI Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Резултатите показват, че праймерите и сондата за SARS-CoV-2 имат 100% хомология с над 98% от секвенциите. Общо праймерите и сондата имат > 95% хомология на всички анализирани секвенции.

**Вътрешнолабораторна възпроизводимост**

Вътрешнолабораторната възпроизводимост за NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay беше характеризирана чрез тестване на десет панела от грип А, грип В, RSV А, RSV В или SARS-CoV-2, добавени индивидуално в 2 нива [средно положителни (5x LoD) и ниско положителни (2x LoD)] и едно отрицателно ниво. Панелите бяха тествани между три партиди от NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test strips, произведени съгласно GMP, между две системи NeuMoDx Systems и между шест непоследователни дни. Елементите от панела бяха получени в симулирани назофарингеални тампонни проби, приготвени с 3000 човешки епителни клетки на mL от универсална вирусна транспортна среда (UVT) и към тях беше добавен представителен щам от грип А, грип В, RSV А, RSV В и SARS-CoV-2. Тест лентите NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips и буферът за лизиране NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) са идентифицирани като ключовите специфични за теста реактиви, способни да повлияят върху работните характеристики на анализа и поради тази причина процедурата с предварителна обработка бе използвана, за да се включи VVLB в проучването. Стандартното отклонение за стойностите на Ct в рамките на и между три партиди тест ленти NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, две NeuMoDx Molecular Systems бе  $\leq 1,2$  с коефициенти на вариация (Coefficient of Variation, CV)  $\leq 4,0\%$  за всички прицелни нуклеинови киселини, демонстриращи отлична възпроизводимост, Таблица 11, 12 и 13.

**Таблица 11.** Възпроизводимост на NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips между всички системи/партиди/дни

Прицелна нуклеинова киселина	Прицелно ниво	Валиден N	% положителни	Среден Ct	SD	%CV
Грип А	Средно пол	72	100 %	31,21	0,59	1,9%
	Ниско пол	72	100 %	32,01	0,58	1,8%
Грип В	Средно пол	72	100 %	31,02	0,39	1,3%
	Ниско пол	72	100 %	31,88	0,56	1,7%
RSV А	Средно пол	72	100 %	29,71	0,95	3,2%
	Ниско пол	72	100 %	30,75	1,18	3,8%
RSV В	Средно пол	72	100 %	28,43	0,53	1,9%
	Ниско пол	72	100 %	29,45	0,56	1,9%
SARS-CoV-2	Средно пол	72	100 %	32,70	0,51	1,5%
	Ниско пол	72	100 %	33,68	0,56	1,7%
Категорично отрицателен		72	0%	Няма	Няма	Няма

**Таблица 12.** Възпроизводимост на NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips чрез всяка система

Панел		N0000096					N000012				
Прицелна нуклеинова киселина	Прицелно ниво	Валиден N	% положителни	Среден Ct	SD	%CV	Валиден N	% положителни	Среден Ct	SD	%CV
Грип А	Средно пол	36	100 %	31,37	0,66	2,1%	36	100 %	31,05	0,46	1,5%
	Ниско пол	36	100 %	32,07	0,65	2,0%	36	100 %	31,95	0,51	1,6%
Грип В	Средно пол	36	100 %	31,10	0,40	1,3%	36	100 %	30,94	0,37	1,2%
	Ниско пол	36	100 %	31,84	0,57	1,8%	36	100 %	31,91	0,55	1,7%
RSV А	Средно пол	36	100 %	29,94	0,97	3,2%	36	100 %	29,49	0,89	3,0%
	Ниско пол	36	100 %	30,93	1,19	3,8%	36	100 %	30,57	1,16	3,8%
RSV В	Средно пол	36	100 %	28,60	0,58	2,0%	36	100 %	28,26	0,42	1,5%
	Ниско пол	36	100 %	29,60	0,53	1,8%	36	100 %	29,29	0,56	1,9%
SARS-CoV-2	Средно пол	36	100 %	32,80	0,56	1,7%	36	100 %	32,61	0,43	1,3%
	Ниско пол	36	100 %	33,83	0,64	1,9%	36	100 %	33,52	0,42	1,2%
Категорично отрицателен		36	0%	Няма	Няма	Няма	36	0%	Няма	Няма	Няма

**Таблица 13.** Възпроизводимост на NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips чрез всяка партида реактиви

Панел		Партида 1				Партида 2				Партида 3			
Прицелна нуклеинова киселина	Прицелно ниво	Валиден N	Среден Ct	SD	%CV	Валиден N	Среден Ct	SD	%CV	Валиден N	Среден Ct	SD	%CV
Грип А	Средно пол	24	31,06	0,38	1,2%	24	31,49	0,62	2,0%	24	31,08	0,65	2,1%
	Ниско пол	24	32,02	0,59	1,8%	24	32,18	0,50	1,6%	24	31,82	0,61	1,9%
Грип В	Средно пол	24	31,05	0,39	1,2%	24	31,08	0,47	1,5%	24	30,94	0,29	0,9%
	Ниско пол	24	31,93	0,36	1,1%	24	32,01	0,77	2,4%	24	31,69	0,42	1,3%
RSV А	Средно пол	24	29,04	0,71	2,4%	24	30,40	0,66	2,2%	24	29,69	0,94	3,2%
	Ниско пол	24	31,53	0,50	1,6%	24	29,45	0,79	2,7%	24	31,25	0,87	2,8%
RSV В	Средно пол	24	28,65	0,54	1,9%	24	28,29	0,52	1,8%	24	28,35	0,47	1,7%
	Ниско пол	24	29,31	0,48	1,6%	24	29,46	0,64	2,2%	24	29,57	0,55	1,8%
SARS-CoV-2	Средно пол	24	32,82	0,43	1,3%	24	32,70	0,56	1,7%	24	32,59	0,50	1,5%
	Ниско пол	24	33,42	0,58	1,7%	24	33,80	0,57	1,7%	24	33,81	0,47	1,4%
Категорично отрицателен		24	Няма	Няма	Няма	24	Няма	Няма	Няма	24	Няма	Няма	Няма

**Клинични работни характеристики**

Клиничните работни характеристики на NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay са определени с използване на вътрешен ретроспективен метод за изучаване на остатъчни проби от назофарингеален (Nasopharyngeal, NP) тампон с произход от 4 географски разнообразни местоположения на клинични лаборатории. Разреждания на клинични положителни за SARS-CoV-2 аликвотни части също бяха включени в това проучване, за да се демонстрира клиничната чувствителност в близост до LoD.

Остатъчните проби от назофарингеален тампон от симптоматични пациенти са анонимизирани и обозначени с уникален идентификационен номер от доставящата лаборатория, като е изготвен поверителен списък, свързващ номера на пациента с анонимизираните проби, тествани за целите на изследването. За това проучване са взети общо 747 отделни назофарингеални тампонни проби. Всички проби бяха обработени както чрез директна процедура, така и чрез процедура с предварителна обработка, като в крайна сметка се получиха 739 валидни и 8 невалидни резултати в директната процедура, и 736 валидни и 11 невалидни резултати в процедурата с предварителна обработка. От тези валидни аликвотни части 121 бяха изключително предназначени за оценката на прицелни нуклеинови киселини на грип А, грип В и RSV. Положителни аликвотни части за грип А представляват 54 от тези проби, като положителните аликвотни части за грип В са 34, а положителните аликвотни части за RSV са 33. В рамките на тази кохорта от 121 аликвотни части резултатите за всичките 3 прицелни нуклеинови киселини, представляващи интерес, бяха предоставени от доставящите клинични лаборатории. Като такава тази кохорта от положителни аликвотни части също осигури 67 отрицателни резултата за грип А, 87 отрицателни резултати за грип В и 88 отрицателни резултати за RSV. Гореспоменатите отрицателни резултати освен това бяха допълнени с 59 клинични проби, които имаха отрицателни резултати и за 4-те прицелни нуклеинови киселини, потвърдени чрез сравнителен анализ. Общо 106 аликвотни части бяха идентифицирани като положителни за SARS-CoV-2 в двете процедури. Клиничните отрицателни резултати за SARS-CoV-2 бяха потвърдени с валиден резултат от NeuMoDx в 512 аликвотни части с директна процедура и 509 аликвотни части с процедура с предварителна обработка.

Тестовият статус на тези аликвотни части е задържан от оператора, за прилагане на т.н. „едностранно сляпо изследване“. Докладваните резултати от специфични, разрешени от FDA и CE, законно маркирани молекулярни изделия, използвани от лабораториите за стандартни здравни тестове, са били използвани за сравнителен анализ на метода.

Резултатите от анализа NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay осигуриха клинична чувствителност от 98,1% между двете процедури за прицелни РНК на грип А и клинична специфичност от съответно 100% и 99,2% за директната процедура и процедурата с предварителна обработка (Таблица 14А). Резултатите за прицелна нуклеинова киселина на Грип В осигуряват клинична чувствителност и клинична специфичност съответно 97,1% и 100% за двете работни процедури (Таблица 14В). Резултатите за прицелната РНК на RSV (недиференцирана) осигуряват клинична чувствителност от 97% за двете процедури и клинична специфичност от съответно 99,3% и 98,6% в директната процедура и процедурата с предварителна обработка (Таблица 14С). Резултатите за прицелна РНК на SARS-CoV-2 осигуряват клинична чувствителност от 97,2% за двете процедури и клинична специфичност от 98,4% в директната процедура и 98,2% в процедурата с предварителна обработка (Таблица 14D). Долната и горната граници на 95% доверителните интервали са представени в Таблицы 14А, 14В, 14С, и 14D по-долу и са изчислени с използване на процедурата на Уилсън с корекция за непрекъснатост.

**Таблица 14А.** Обобщение на клиничните характеристики – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Откриване на **грип А** чрез (а) Директна процедура и (б) Процедура с предварителна обработка

**(а) Директна процедура**

Грип А		Резултат от еталонния тест, разрешен от FDA/CE		
		Положителни	Отрицателни	Общо
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 – резултати от тестовете	Положителни	53	0	53
	Отрицателни	1	126	127
	Общо	54	126	180
Клинична чувствителност (грип А) = 98,1% (88,8% – 99,9%)				
Клинична специфичност (Грип А) = 100% (96,3% – 100%)				

**(б) Процедура с предварителна обработка**

Грип А		Резултат от еталонния тест, разрешен от FDA/CE		
		Положителни	Отрицателни	Общо
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 – резултати от тестовете	Положителни	53	1	54
	Отрицателни	1	125	126
	Общо	54	126	180
Клинична чувствителност (грип А) = 98,1% (88,8% – 99,9%)				
Клинична специфичност (грип А) = 99,2% (95,0% – 100%)				

**Таблица 14В.** Обобщение на клиничните характеристики – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Откриване на **Грип В** чрез (а) Директна процедура и (б) Процедура с предварителна обработка

**(а) Директна процедура**

Грип В		Резултат от еталонния тест, разрешен от FDA/CE		
		Положителни	Отрицателни	Общо
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 – резултати от тестовете	Положителни	33	0	33
	Отрицателни	1	146	147
	Общо	34	146	180
Клинична чувствителност (Грип В) = 97,1% (82,9% – 99,8%)				
Клинична специфичност (Грип В) = 100% (96,8% – 100%)				

**(б) Процедура с предварителна обработка**

Грип В		Резултат от еталонния тест, разрешен от FDA/CE		
		Положителни	Отрицателни	Общо
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 – резултати от тестовете	Положителни	33	0	33
	Отрицателни	1	146	147
	Общо	34	146	180
Клинична чувствителност (Грип В) = 97,1% (82,9% – 99,8%)				
Клинична специфичност (Грип В) = 100% (96,8% – 100%)				

**Таблица 14С.** Обобщение на клиничните характеристики – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Откриване на **RSV** чрез (а) Директна процедура и (б) Процедура с предварителна обработка

**(а) Директна процедура**

RSV		Резултат от еталонния тест, разрешен от FDA/CE		
		Положителни	Отрицателни	Общо
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 – резултати от тестовете	Положителни	32	1	33
	Отрицателни	1	146	147
	Общо	33	147	180
Клинична чувствителност (RSV) = 97,0% (82,5% – 99,8%)				
Клинична специфичност (RSV) = 99,3% (95,7% – 100%)				

**(b) Процедура с предварителна обработка**

RSV		Резултат от еталонния тест, разрешен от FDA/CE		
		Положителни	Отрицателни	Общо
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 – резултати от тестовете	Положителни	32	2	34
	Отрицателни	1	145	146
	Общо	33	147	180
Клинична чувствителност (RSV) = 97,0% (82,5% – 99,8%)				
Клинична специфичност (RSV) = 98,6% (94,7% – 99,8%)				

**Таблица 14D.** Обобщение на клиничните характеристики – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Откриване на SARS-CoV-2 чрез (а) Директна процедура и (б) Процедура с предварителна обработка

**(а) Директна процедура**

SARS-CoV-2		Резултат от еталонния тест, разрешен от FDA/CE		
		Положителни	Отрицателни	Общо
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 – резултати от тестовете	Положителни	103	8	111
	Отрицателни	3	504	507
	Общо	106	512	618
Клинична чувствителност (SARS-CoV-2) = 97,2% (91,3% – 99,3%)				
Клинична специфичност (SARS-CoV-2) = 98,4% (96,8% – 99,3%)				

**(b) Процедура с предварителна обработка**

SARS-CoV-2		Резултат от еталонния тест, разрешен от FDA/CE		
		Положителни	Отрицателни	Общо
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 – резултати от тестовете	Положителни	103	9	112
	Отрицателни	3	500	503
	Общо	106	509	615
Клинична чувствителност (SARS-CoV-2) = 97,2% (91,3% – 99,3%)				
Клинична специфичност (SARS-CoV-2) = 98,2% (96,5% – 99,1%)				

**Аналитична специфичност и кръстосана реактивност**

Аналитичната специфичност на анализа NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 assay е оценена чрез тестване на панел от 47 организми, състоящ се от 22 вирусни, 24 бактериални и 1 дрождов шам, представителни за обичайните респираторни патогени или флора, присъстващи обикновено в респираторния тракт. Бактериите и дрождите бяха изпитани в концентрации от ~6Е6 CFU/mL или IFU/mL, освен в случаите, когато е отбелязано друго. Вирусите бяха изпитани в концентрации от 1Е5 до 1Е6 TCID<sub>50</sub>/mL или копия/mL, освен в случаите, когато е отбелязано друго. За да се потвърди потенциалната кръстосана реактивност между SARS-CoV-2 и семейството Коронавируси (229Е, OC43, NL63, MERS и SARS-1) заедно с *Legionella pneumophila* допълнителни репликати (> 20) бяха включени, за да се изпълни изискването на MDCG за медицински изделия за инвитро диагностика на SARS-CoV-2. Аналитична специфичност на анализа NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay бе установена като 100% за грип А, грип В, RSV А, RSV В и SARS-CoV-2.

HKU1 беше друг член от семейството Коронавируси за тестване, но поради неналичността на вируса и геномната РНК бяха тествани 4 репликата от синтетичен материал. Беше изпълнен и анализ *in-silico* между праймерите и сондите NeuMoDx SARS-CoV-2 и коронавирусни геноми HKU1, публикувани в GenBank, за да се изследва потенциалната кръстосана реактивност. Общо 57 секвенции от HKU1 геноми бяха получени от вирусната база данни NCBI на NIH. Всички HKU1 секвенции имаха 3 или повече несъответствия с всеки от праймерите и сондите NeuMoDx SARS-CoV-2. Не беше открита близка хомология. Поради тази причина не се очаква кръстосана реактивност между анализите Coronavirus HKU1 и NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.

**Таблица 15.** Резултати за аналитична специфичност

Организъм	Концентрация	Грип А	Грип В	RSV	SARS-CoV-2
Adenovirus Type 1	1Е6 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
Adenovirus Type 7	5Е5 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
<i>Bordetella pertussis</i> 1176	10 ng/mL	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	6Е6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	10 ng/mL	-	-	-	-
<i>Corynebacterium xerosis</i>	6Е6 CFU/mL	-	-	-	-
EBV	1Е6 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-

Организъм	Концентрация	Грип А	Грип В	RSV	SARS-CoV-2
<i>Escherichia coli</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Hemophilus influenzae</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
HHV 6A	1E6 cp/mL	-	-	-	-
HHV 7	1E6 cp/mL	-	-	-	-
HHV 8	1E6 cp/mL	-	-	-	-
HSV 1	1E6 cp/mL	-	-	-	-
HSV 2	1E6 cp/mL	-	-	-	-
Human Coronavirus 229E	1E5 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
Human Coronavirus HKU1	1E6 cp/mL	-	-	-	-
Human Coronavirus NL63	1E4 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
Human Coronavirus OC43	1E5 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
Human Enterovirus 68	1E5 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
Human Metapneumovirus	1E4 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
Human Parainfluenza Type 1	5E5 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
Human Parainfluenza Type 2	5E5 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
Human Parainfluenza Type 3	1E6 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
Human Rhinovirus Type 1A	5E3 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Lactobacillus brevis</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Lactobacillus jensonii</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Lactobacillus lactis</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
Вирус на дребна шарка	1E4 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
MERS-Coronavirus EMC/2012	1E4 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
Mumps Virus	5E5 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero A	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero B	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero C	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero D	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
SARS-Coronavirus	1E6 TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
Грип А, Singapore/INIFM1H-16-0019/2016	3x LoD	+	-	-	-
Грип В, Florida/78/2015 (Victoria)	3x LoD	-	+	-	-
RSV A2	3x LoD	-	-	+	-
RSV B (WV/14617/85)	3x LoD	-	-	+	-
SARS-CoV-2, 1ви международен стандарт на СЗО	3x LoD	-	-	-	+
Отрицателен контрол (няма патогени)	Няма	-	-	-	-

Таблица 16. Аналитична специфичност – семейство Коронавируси заедно с *Legionella pneumophila* (тествани > 20 репликата)

Организъм	Концентрация	SARS-CoV-2
Human coronavirus NL63	1,00E+04 TCID <sub>50</sub> /mL	-
SARS-Coronavirus-1	1,00E+06 pfu/mL	-
MERS-coronavirus EMC/2012	1,00E+04 TCID <sub>50</sub> /mL	-
Human Coronavirus 229E	1,00E+05 TCID <sub>50</sub> /mL	-
Human Coronavirus OC43	1,00E+05 TCID <sub>50</sub> /mL	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6,00E+06 CFU/mL	-
Positive control (Положителен контрол): Първи стандарт на СЗО SARS-CoV-2	3x LoD	+
Отрицателен контрол (няма патогени)	Няма	-

**Интерфериращи вещества – коменсални организми**

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay е тестван за интерференция в присъствието на неприцелни организми (потенциално присъстващи в горния респираторен тракт) чрез проверка на работните характеристики на анализа при ниски нива на (~3X LoD) на Грип А, Грип В, RSV А, RSV В и SARS-CoV-2 в присъствието на високи концентрации на организмите, посочени в *Таблица 15* по-горе. В допълнение, за потвърждаване на потенциалната интерференция между SARS-CoV-2 и семейството Коронавируси (229E, OC43, NL63, MERS и SARS-1), заедно с *Legionella pneumophila* (*Таблица 16*), бяха включени допълнителни репликати (> 20), за да се извърши изискването на MDCG за медицински изделия за инвитро диагностика на SARS-CoV-2. Към тези аликвотни части беше добавен SARS-CoV-2 само при ~3X LoD за частта с интерференция от проучването. За всички прицелни нуклеинови киселини беше наблюдавано откриване 100%. Поради тази причина с никой от коменсалните организми не беше наблюдавана интерференция за никой от прицелните нуклеинови киселини.

**Интерфериращи вещества – ендогенни/екзогенни**

Анализът NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay е оценен за резистентност към интерференция, причинена от вещества, потенциално свързани с вземане на назофарингеални тампонни проби. Към остатъчни клинични отрицателни назофарингеални тампонни проби са добавени прицелни нуклеинови киселини на грип А, грип В, RSV А, RSV В или SARS-CoV-2 при 3X LoD и обработени в присъствие и отсъствие на агентите, показани по-долу в *Таблица 17*. Нито едно от веществата, включени в тестването, не оказва неблагоприятно въздействие върху работните характеристики на анализа за всяка от прицелните нуклеинови киселини.

**Таблица 17. Вещества изпитани за интерференция**

	Вещество	Описание/Активна съставка	Концентрация*
Екзогенни	Neo-Synephrine	Phenylephrine	15% об/об
	Назален гел – Ayr Saline Nasal Gel	Натриев хлорид с презерванти	15% об/об
	Хомеопатично средство за облекчаване на алергия – Similasan	Cardiospermum, Sabadilla, Luffa operculata, Galphimia glauca	15% об/об
	Nature’s Bounty Zinc	Цинков глюконат	0,1mg/mL
	Перорален анестетик/аналгетик – Oragel	Бензокаин, бензалкониев хлорид	1% об/об
	Назален спрей – Afrin	Оксиметазолин	15% тегло/обем
	Назален спрей – Zicam	Luffa operculata, Galphimia glauca, Хистаминум хидрохлоридум, сяра	15% об/об
	Назален кортикостероид – Flonase	Флутиказон	5% об/об
	Назален кортикостероид – Rhinocort	Budesonide	5% об/об
	Назален кортикостероид – Nasacort	Triamcinolone	5% об/об
	Назален кортикостероид – Dexamethasone	Dexamethasone	10 mg/mL
	Назален кортикостероид – Mometasone	Mometasone	10 mg/mL
	Назален кортикостероид – Beclomethasone	Беклометазон	10 mg/mL
	Chloraseptic Throat Lozenge	Benzocaine, Menthol	2 mg/mL
	Антибиотичен, назален мехлем	Mupirocin	10 mg/mL
	Антивирусен препарат Relenza	Zanamivir	7,5 mg/mL
Антивирусно лекарство Tamiflu	Oseltamivir	25mg/mL	
Антибиотик, системен	Tobramycin	15 mg/mL	
Ендогенни	Муцин	Пречистен муцинов протеин	2,5% тегло/обем
	Човешка кръв	Кръв	2% об/об

\*Забележка: Показаните концентрации са използвани за насищане на тампони преди дозиране на изкуствено създадени положителни клинични аликвотни части с интерфериращото вещество. Следователно те са представителни за нивото на допустимото място на вземане на тампонни проби.

**Кръстосана контаминация**

Степента на кръстосана контаминация за NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, изпълнен на системите NeuMoDx Molecular 288 и 96 Systems бе определена чрез обработка на силно положителни и отрицателни аликвотни части в редуващ се „шахматен“ модел. Всички проби се състоят от симулиран назофарингеален тампонен материал с положителни аликвотни части, допълнени до  $\geq 10^5$  TCID<sub>50</sub>/mL (или  $\geq 10$  000X LoD). Бяха изпълнени пет набора от шахматно тестване, при които в крайна сметка се получават общо 60 отрицателни репликата и 60 положителни репликата и на двете системи NeuMoDx 288 и 96 Molecular Systems. Между двата вида системи, всичките 120 репликата от отрицателни аликвотни части са правилно съобщени като отрицателни, с което се демонстрира, че липсва кръстосана контаминация по време на обработката на аликвотните части на NeuMoDx System.

**Време за изпълнение**

Определено е, че времето за изпълнение на обработката на 8 аликвотни части с използване на NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay е около 85 минути на системата N288 и около 78 минути на NeuMoDx 96 System за обработка на 4 аликвотни части.



#### Степен на неизправност на цялата система

Степента на неизправност на цялата система за NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay е оценена чрез тестване на 1 ниво от прицелна SARS-CoV-2 с концентрация около 3X LoD, получена чрез добавяне на клинично отрицателни тампонни проби с 1-вия Международен стандарт на СЗО за SARS-CoV-2. Общо 200 репликата бяха обработени с използване на Директната процедура и на двете системи NeuMoDx 96 и 288 Molecular Systems (100 репликата на системата). Степента на неизправност беше изчислена като процентът на получените фалшиво отрицателни резултати от общия брой валидни резултати. Установено бе, че процентът откриване за прицелната SARS-CoV-2 в NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay е 100% и за двете NeuMoDx 96 и 288 Molecular Systems, което показва 0% степен на неизправност за двете системи.

#### Надеждност на системата – инхибиране

Степента на инхибиране беше определена чрез изчисляване на степента на Unresolved (Неполучен) (неамплифицирана контрола за обработката на аликвотните части в отсъствието на грешки в системата) между всички отрицателни аликвотни части, изпълнени през проучванията за проверка и валидиране. Общо 11 неполучени резултата бяха постигнати от общо 1221 обработени отрицателни аликвотни части, което показва степен на инхибиране 0,9% за анализа NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.

#### ЦИТИРАНИ ИЗТОЧНИЦИ

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

#### ТЪРГОВСКИ МАРКИ

BD™ е регистрирана търговска марка на Becton, Dickinson and Company

Hamilton® е регистрирана търговска марка на Hamilton Company

Minitip Nylon® Flocked Swab е регистрирана търговска марка на Copan Diagnostics, Inc.

NeuMoDx™ и NeuDry™ са търговски марки на NeuMoDx Molecular, Inc.


TaqMan® е регистрирана търговска марка на Roche Molecular Systems, Inc.

UTM-RT® е регистрирана търговска марка на Copan Diagnostics, Inc.

Всички останали наименования на продукти, търговски марки и регистрирани търговски марки, фигуриращи в настоящия документ, са собственост на съответните им притежатели.

**ЛЕГЕНДА НА СИМВОЛИТЕ**

 <b>Rx only</b>	За употреба само по лекарско предписание		Само за еднократна употреба
	Производител		Съдържанието е достатъчно за <math>\leq 1</math> теста
	Медицинско изделие за <i>invitro</i> диагностика		Направете справка с инструкциите за употреба
	Упълномощен представител в Европейската общност		Внимание
	Каталожен номер		Маркировка CE
	Код на партида		Съдържа
	Срок на годност		Съдържа биологичен материал от животински произход
	Ограничение за температура		

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

**EC REP**

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

Техническа поддръжка/Докладване на бдителност: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

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

