

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

R only

ETTEVAATUST. Ainult USA ekspordiks

IVD Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas koos seadmetega NeuMoDx 288 ja NeuMoDx 96 Molecular System



Elektroniline versioon on saadaval aadressil www.qiaqen.com/neumodx-ifu

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadme NeuMoDx 288 Molecular System käsiraamatut; tootekood 40600108

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadme NeuMoDx 96 Molecular System käsiraamatut; tootekood 40600317

SIHTOTSTARVE

Analüüs NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay on multipleksitud *in vitro* reaalaaja RT-PCR diagnostiline analüüs, mis on loodud A-gripiviiruse (A-gripp), B-gripiviiruse (B-gripp), respiratoorse süntsütsiaalviiruse (RSV) ja SARS-CoV-2 RNA samaaegseks kvalitatiivseks avastamiseks ja eristamiseks ninaneelu (NP) tampooniproovidest, mis on kogutud transpordikeskkonda isikutelt, kellel esinevad gripilaadse haiguse tunnused ja sümptomid.

Analüüs NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, mida tehakse süsteemidega NeuMoDx 288 Molecular System ja NeuMoDx 96 Molecular System, sisaldab automaatset RNA ekstraheerimist sihtnukleiinhapete isoleerimiseks proovist ja reaalaajas RT-PCR-i, mis on suunatud ühele konserveerunud piirkonnale FluA ja RSV korral ning kahele konserveerunud piirkonnale SARS-CoV-2 ja FluB korral.

Selle analüüsi tulemusi ei tohiks kasutada diagnoosimise, ravi või muu patsiendi käsitluses otsuste tegemise ainsa alusena. Positiivsed tulemused viitavad SARS-CoV-2 ja/või A-gripi ja/või B-gripi ja/või RSV RNA olemasolule, kuid ei välista bakteriaalset infektsiooni või kaasinfektsiooni teiste viirustega. Patsiendil infektsiooni määramiseks on vajalik kliiniline korrelatsioon patsiendi anamneesi ja muu diagnostilise teabega.

Negatiivsed tulemused ei välista A-gripi, B-gripi, RSV ja/või SARS-CoV-2 infektsiooni ning neid ei tohi kasutada diagnoosimise, ravi või muude patsiendi raviotsuste tegemise ainsa alusena. Negatiivseid tulemusi peab tõlgendama koos kliiniliste vaatluste, patsiendi anamneesi ja/või epidemioloogilise teabega.

Analüüs NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay on ette nähtud kasutamiseks väljaõppega kliinilise labori töötajatele, kes on saanud spetsiifilised juhised ja väljaõppe reaalaaja RT-PCR-i tehnikate ja *in vitro* diagnostiliste protseduuride alal ja/või seadmetega NeuMoDx Molecular Systems. Analüüs NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay ei ole ette nähtud enesetestimiseks või laboriväliseks kasutamiseks.

KOKKUVÕTE JA SELGITUSED

Analüüs NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay on kvalitatiivne test, mida kasutatakse seadmesüsteemides NeuMoDx 96 ja NeuMoDx 288 SARS-CoV-2, A-gripi, B-gripi ja/või RSV RNA tuvastamiseks ninaneelu tampooniproovides. Analüüs ei tee vahet RSV A ja RSV B RNA vahel. Ninaneelu tampooniproovid kogutakse süsteemidesse Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) (Copan UTM-RT, Copan, CA, USA) või BD™ Universal Viral Transport System (UVT) (BD™ UVT, BD, NJ, USA). Analüüsis kasutatakse RNA sisemise proovi töötlemise kontrolli (SPC2), mis lisatakse proovi ettevalmistamise ajal ja mille eesmärk on jälgida kogu proovi ettevalmistamise, pöördtranskriptsiooni ja PCR-amplifikatsiooni protsessi. Analüüs NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay võimaldab laboratooriumi vajadusest lähtudes kuni kahte proovitöötlemise töövoogu: otsene töövoog ja eeltöödeldud proovide töövoog. NeuMoDx Molecular System teeb automaatselt kõik toimingud, mis on vajalikud sihtnukleiinhapete ekstraheerimiseks; valmistab isoleeritud RNA ette reaalaaja pöördtranskriptaasi polümeraasi ahelreaktsiooniks (RT-PCR); ja kui need on olemas, siis pöördtranskribeerib, amplifitseerib ja tuvastab amplifikatsiooniproduktid. Analüüs NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 on suunatud SARS-CoV-2 Nsp2 ja O-riboosmetüültransferaasi geenide konserveeritud piirkondadele, A-gripiviiruse ja respiratoor-süntsütsiaalviiruse maatriksvalgu piirkondadele ning B-gripiviiruse maatriksvalgu ja mittestruktuuralse valgu NS1 geenidele.

PROSEDUURI PÕHIMÕTTED

Praegune tehnika tase ägeda FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 nakkuse avastamiseks on sihtmärgi genoomi konserveeritud piirkondade nukleiinhappe amplifikatsioon, mis on kooskõlas analüüsis NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay kasutatava reaalaajas pöördtranskriptsiooni PCR-iga, nagu seda tehakse süsteemidega NeuMoDx 288 Molecular System ja NeuMoDx 96 Molecular System.

Analüüs NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay ühendab automaatset RNA ekstraheerimist ja SARS-CoV-2, A-gripi, B-gripi ja/või RSV RNA võimendamist/tuvastamist reaalaaja RT-PCR-i abil. Ninaneelu tampoonid kogutakse süsteemi Copan UTM-RT System või BD™ UVT System. Otsene töövoog võimaldab võtkeidid esmase tampooni kogumiskatsuti või sekundaarses katsutis transpordikeskkonna alikvoodi ja laadida need töötlemiseks seadmesse NeuMoDx System. Teise võimalusena võib tampooniproovi esmalt töödelda transpordikeskkonnas võrdses koguses lüüsimispuhvriga NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) enne kui see laaditakse süsteemi ilma kasutaja edasise sekkumise vajaduseta. Töötlemise alustamiseks aspireerib seade NeuMoDx System kas proovi alikvoodi, et segada see lüüsimispuhvriga NeuMoDx Lysis Buffer 3, või eeltöödeldud proovi alikvoodi, et segada see lüüsimispuhvriga NeuMoDx Lysis Buffer 2, ja ekstraheerimisplaadil NeuMoDx Extraction Plate sisalduvate reaktiividega. Otsese töövooga testimiseks ettevalmistamisel võtkeididatakse esmane kogumiskatsuti (tampooni ja kork eemaldatud) või sekundaarses katsutis proovikeskkonna alikvoot ja laaditakse seadmesse NeuMoDx System, kasutades selleks spetsiifilisi proovikatsutikandjaid. Eeltöödeldud töövoog korral töödeldakse transpordikeskkonnas proovi esmalt võrdses koguses lüüsimispuhvriga NeuMoDx VVLB enne kui see laaditakse süsteemi. Otsene töövoog korral aspireeritakse 400 µl suurune proovi alikvoot süsteemi NeuMoDx System poolt ja segatakse võrdses koguses lüüsimispuhvriga NeuMoDx Lysis Buffer 3, samas kui Eeltöödeldud töövoog korral aspireeritakse 550 µl suurune eeltöödeldud proov koos võrdse koguse lüüsimispuhvriga Lysis Buffer 2. Seade NeuMoDx System automatiseerib ja integreerib RNA ekstraheerimise ja kontsentreerimise, reaktiivide ettevalmistamise ning nukleiinhappe amplifitseerimise ja sihtjärjestuste tuvastamise reaalaaja RT-PCR-i abil. Proovi töötlemise kontroll (Sample Process Control, SPC2) aitab jälgida nukleiinhapete ainetes esinemist ja süsteemi, protsessi või reaktiivi tõrkeid. Kui proov on laaditud seadmesse NeuMoDx System, pole kasutaja sekkumine vajalik.

Seade NeuMoDx System kasutab lüüsimise, RNA ekstraheerimise ja inhibiitorite eemaldamise automaatseks teostamiseks kuumutamise, lüütilise ensüümi ja ekstraheerimisreaktiivide kombinatsiooni. Vabanenud nukleiinhapped püütakse kinni paramagnetiliste osakeste abil. Need osakesed mis on seondunud nukleiinhapetega, laaditakse kasseti NeuMoDx Cartridge, kus mitteseondunud elemendid pestakse minema pesemisreaktiiviga NeuMoDx Wash Reagent. Seejärel elueeritakse seondunud RNA vabastusreaktiivi NeuMoDx Release Reagent abil. Seade NeuMoDx System kasutab elueeritud RNA-d, et rehüdreerida patenditud NeuDry™ amplifikatsioonireaktiivid, mis sisaldavad kõiki A-gripi, B-gripi, RSV, SARS-CoV-2 ja SPC2 sihtmärkide amplifitseerimiseks vajalikke elemente. See võimaldab kõigi sihtmärkide ja proovi töötlemise kontrollide RNA järjestuste samaaegset amplifikatsiooni ja tuvastamist. Pärast kuivanud RT-PCR-i reaktiivide taastamist jaotab seade NeuMoDx System ettevalmistatud RT-PCR-iks valmis segu kasseti NeuMoDx Cartridge ühte PCR-i kambrit (proovi kohta). Kontroll- ja sihtjärjestuste (kui on olemas) pöördtranskriptsioon, amplifitseerimine ja tuvastamine toimub PCR-i kambri. Kasseti NeuMoDx Cartridge on loodud genereeritud amplikoni hoidmiseks pärast RT-PCR-i, välistades seeläbi sisuliselt amplifikatsiooni-järgse saastumise riski.

Võimendatud sihtmärgid tuvastatakse reaajas hüdrolüüsisondide keemia abil (tavaliselt nimetatakse seda TaqMan®-i keemiaks), kasutades fluorogeensete oligonukleotiidide sondimolekule, mis on spetsiifilised ampikonidele nende vastavate sihtmärkide jaoks. Sondid TaqMan koosnevad fluorofoorist, mis on kovalentselt seotud oligonukleotiidide sondi 5'-otsaga, ja kustutist 3'-otsas. Kui sond on intaktne, on fluorofoor ja kustuti läheduses, võimaldades kustuti-molekulil summutada fluorestsentsi, mille fluorofoor emiteerib Försteri resonantsenergia ülekande fluorestsentsi resonantsenergia ülekande (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) abil.

TaqMan-i sondid on loodud selliselt, et need tegevnevad praimerite kindla komplektiga võimendatud cDNA piirkonnas. Kui Taq DNA polümeraas pikendab praimerit ja sünteesib uue ahela, siis Taq DNA polümeraasi 5' kuni 3' eksonukleaasi aktiivsus lagundab matriitsiga anniilunud sondi. Sondide lagundamine vabastab fluorofoori ja katkestab läheduse kustutiga, vältides sellega FRET-ist tulenevat kustutusmõju ja võimaldades fluorofoori tuvastada. Seadme NeuMoDx System RT-PCR termotsükleris tuvastatud tekkinud fluorestsentsi signaal on otseselt võrdeline vabanenud fluorofooriga ja seda saab korreleerida esineva sihtmärgi hulga.

Iga analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay fluorestsentsi tuvastuskanali sihtmärk on esitatud allpool tabelis. Seadme NeuMoDx System tarkvara jälgib iga amplifitseerimistsükli lõpus TaqMani sondide poolt emiteeritud fluorestsentssignaali. Kui termotsüklistamine on lõpule jõudnud, analüüsib seadme NeuMoDx System tarkvara andmeid ja esitab tulemuse (POSITIVE (POSITIIVNE) / NEGATIVE (NEGATIIVNE) / INDETERMINATE (MÄÄRAMATU) / NO RESULT (TULEMUS PUUDUB) / UNRESOLVED (LAHENDAMATA)).

Tabel 1. Tuvastuskanalid

Sihtväärtus	Sihtväärtuse piirkond	Sondi fluorofoor	Stimuleerimine/kiirgus	Tuvastuskanal
A-gripp	Maatriksproteiin	FAM	530/555 nm	Green
B-gripp	Maatriksproteiin	HEX	470/510 nm	Yellow
	Mittestrukuraalne valg NS1			
SARS-CoV-2	Nsp2 geen	Texase punane	585/610 nm	Orange
	O-riboosi metüültransferaas			
Respiratoor-süntsüüaiviirus	Maatriksproteiin	Q705	680/715 nm	Far Red
SPC2	Kokkupaneku valg (MS2)	Q670	625/660 nm	Red

REAKTIIVID/KULUKAUBAD

Kaasasolevad materjalid

REF	Sisu	Ühikuid pakis	Teste ühikus	Teste pakis
300901	NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip Kuivanud RT-PCR-i reaktiivid, mis sisaldavad FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2-spetsiifilisi TaqMan-i sonde ja primereid ning SPC2-spetsiifilisi TaqMan-i sonde ja primereid. Sisaldab 21,1% Tris-HCl, 8,4% dNTP-d ja teisi inaktiivseid koostisaineid	6	16	96

Vajalikud, kuid tarnekomplekti mittekuuluvad materjalid (saadaval eraldi ettevõttelt NeuMoDx)

REF	Sisu
901200	NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls Ühekordselt kasutatavad FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 positiivsete ja negatiivsete kontrollproovide komplektid analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay igapäevase kehtivuse määramiseks (iga kontrolli 1 vial = 1 komplekt)
100200	NeuMoDx Extraction Plate Kuivatatud paramagnetilised osakesed, lüütiline ensüüm ja proovi töötlemise kontrollid
400500**	NeuMoDx Lysis Buffer 2
400600*	NeuMoDx Lysis Buffer 3
401500**	NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Filtriga otsikud Hamilton® CO-RE / CO-RE II (300 µl)
235905	Filtriga otsikud Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µl)

* Nõutav ainult proovide töötlemisel, kui kasutatakse otsest töövoogu, ilma eeltötluseta. Vt jaotist „Kasutusjuhend“ allpool.

** Nõutav ainult proovide töötlemisel, kui kasutatakse eeltöödeldud töövoogu koos eeltötlusega. Vt jaotist „Kasutusjuhend“ allpool.

Tampooneid ja transpordikeskkond (pole kaasas)

Sample Type (Proovituüp)	Soovituslik kogumisseade	Soovituslik tampoon
Ninaneelu tampoon	3 ml Universal Transport Medium (Copan UTM-RT, Copan, CA, USA, 305C) või 3 ml Universal Viral Transport System (BD UVT, BD, NJ, USA, BD 220531)	Flexible Minitip Nylon® Flocked Swab (Copan, CA, USA) või Flexible Minitip Flocked Swab (BD, NJ, USA)

Vajalikud mõõteseadmed

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] või NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]
Süsteemi NeuMoDx System tarkvara versioon 1.9.2.6 või uuem



HOIATUSED JA ETTEVAATUSABINÕUD

- NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay on kasutamiseks *in vitro* diagnostikas ainult seadmetega NeuMoDx System.
- Ärge kasutage reaktiive või kulukaupa pärast märgitud kõlblikkuskuupäeva.
- Ärge kasutage ühtegi reaktiivi, kui turvasulgur on katki või kui pakend on saabumisel kahjustatud.
- Ärge kasutage kulukaupasid ega reaktiive, kui kaitsekott on saabumisel avatud või katki.
- Sekundaarsete alikvootide proovi väiksem maht sõltub allpool määratud katsuti suurusest / proovikatsuti kandjast. Proovi kindlaksmääratud miinimumist väiksem maht võib põhjustada tõrke „Quantity Not Sufficient“ (Kogus pole piisav).
- Valel temperatuuril või üle kindlaksmääratud säilitusajaga proovide kasutamine võib põhjustada kehtetuid või ekslikke tulemusi.
- Vältige kõigi reaktiivide ja kulukaupade saastumist mikroobide ja ribonukleasiga (RNAas). Sekundaarsete katsutite kasutamisel on soovitatav kasutada steriilseid, RNAasi-vabu ühekordseid ülekandepipette. Kasutage iga proovi jaoks uut pipetti.
- Saastumise vältimiseks ärge käsitage ega eraldage pärast amplifikatsiooni ühtegi kassetti NeuMoDx Cartridge. Ärge mingil juhul võtke kassette NeuMoDx Cartridges bioohtlike jäätmete mahutist (NeuMoDx 288 Molecular System) ega bioohtlike jäätmete nõures (NeuMoDx 96 Molecular System). Kassett NeuMoDx Cartridge on loodud saastumise vältimiseks.
- Juhtudel, kui laboris tehakse ka avatud katsuti PCR-teste, tuleb hoolitseda selle eest, et testribad NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip, testimiseks vajalikud täiendavad kulukaubad ja reaktiivid, isikukaitsevahendid, nagu kindad ja laborikitlid, ja seade NeuMoDx System ei saastuks.
- NeuMoDx reaktiivide ja kulukaupade käsitsemisel tuleb kanda puhtaid, pulbrivabu nitrilkindaid. Ärge puudutage kassetti NeuMoDx Cartridge ülemist pinda, testriba NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip ja ekstraheerimisplaadi NeuMoDx Extraction Plate fooliumtihendi pinda ega lüüsimispuhvri NeuMoDx Lysis Buffer anuma ülemist pinda; kulukaupade ja reaktiivide käsitsemine peab toimuma ainult külgpindu puudutades.
- Väliseid kontrolle NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls [REF 901200] peab töötleva iga 24 tunni järel, kui analüüsitakse analüüsiga NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.
- Iga reaktiivi kohta on (vastavalt vajadusele) esitatud ohutuskaardid (Safety Data Sheets, SDS) aadressil www.neumodx.com/client-resources.
- Pärast testi tegemist peske hoolikalt käsi.
- Ärge pipeteerige suu abil. Ärge suitsetage, jooge ega sööge kohtades, kus käideldakse proove või reaktiive.
- Käideldes proove alati nakkusohtlikena ja vastavalt ohututele laboriprotseduuridele, mida on kirjeldatud sellistes väljaannetes nagu *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹ ja CLSI dokumendis M29-A4.²
- Kemikaalidega töötades kandke alati sobivat laborikitlit, ühekordselt kasutatavaid kindaid ja kaitseprille. Lisateavet leiate asjakohastest ohutuskaartidest (Safety Data Sheets, SDS).
- Utiliseerige kasutamata reaktiivid ja jäätmed vastavalt riigi-, föderaal-, provintsi, osariigi ja kohalikele seadustele.

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



Sisaldab: boorhape, etoksüülitud nonüülfenool. Oht! Põhjustab nahaärritust. Põhjustab tõsist silmärritust. Võib kahjustada fertiilsust või loodet. Kahjulik veeorganismidele, pikaajaline toime. Enne kasutamist tutvuda erijuhistega. Mitte käidelda enne kõigi ettevaatusabinõudega tutvumist ja nende mõistmist. Kanda kaitsekindaid/-rõivaid/kaitseprille/kaitsemaski. KOKKUPUUTUMISEL või kahtluste tekkimisel: pöörduda arsti poole. Hoiustada lukustatud kohas. Utiliseerige sisu/mahuti heakskiidetud jäätmekäitlusettevõttes

Hädateave

CHEMTREC

Väljaspool USA-d ja Kanadat +1 703-527-3887

Kõrvaldamine

Toode sisaldab etoksüülitud nonüülfenooli, mis on sisenõresüsteemi kahjustav aine, millel võib olla kahjulik mõju keskkonnale.

Kõrvaldage ohtlike jäätmetena vastavalt kohalikele ja riiklikele määrustele. See kehtib ka kasutamata toodetele.

Ärge kõrvaldage vedelaid jäätmeid kanalisatsiooni.

Järgige ohutuskaardi (Safety Data Sheets, SDS) soovitusi.



TOOTE SÄILITAMINE, KÄSITSEMINE JA STABIILSUS

- Testribad NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips on esmases pakendis stabiilsed temperatuuril 15 °C kuni 28 °C kuni toote vahetel etiketil märgitud kõlblikkusaja lõpuni.
- Ärge laadige uuesti ühtegi testitavat toodet, mis on varem laaditud teise seadmesse NeuMoDx System.
- Pärast laadimist võib testriba NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip jääda süsteemi NeuMoDx System 14 päevaks. Laaditud testribade allesjäänud säilivusaega jälgib tarkvara ja teatab kasutajale reaalselt. NeuMoDx System soovib eemaldada testriba, mis on olnud kasutuses pärast selle lubatud vahemikku.

PROOVI KOGUMINE, TRANSPORTIMINE JA SÄILITAMINE

Käsitleda kõiki proove kui võimaliku nakkusohu allikana.

1. Proovid tuleb koguda seadmega Copan UTM-RT® System või BD™ UVT System, kasutades valideeritud nailonist kiudtampoone (vt Tamponid ja transpordikeskkond). Lisaks on vastuvõetavad tamponitüübid kiudtamponid, polüester- ja nailonkiust tamponid. Järgige proovide kogumisel, transpordil ja säilitamisel tootja juhiseid.
2. Proove võib testida ühilduvates primaarsetes kogumiskatsutites või sekundaarsetes proovikatsutites.
3. Proove võib enne töötlemist hoida seadmes NeuMoDx System kuni 8 tundi. Kui hoiustada on vaja kauem, on soovituslik proovid enne jahutada või külmutada sekundaarsete alikvootidena.
4. Ettevalmistatud proove võib hoida temperatuuril 2 kuni 8 °C mitte kauem kui 7 päeva enne testimist.
5. Proovide tarnimisel tuleb need pakendada ja märgistada vastavalt kehtivatele riiklikele ja/või rahvusvahelistele eeskirjadele.
6. Minge edasi jaotisesse *Testi ettevalmistamine*.

ANALÜÜSI ETTEVALMISTAMINE

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay võimaldab kasutaja/labori eelistuste põhjal kasutada kahte erinevat töövoogu.

Töövoog 1: **OTSENE** – transpordikeskkonnas tamponiproov laaditakse otse seadmesse NeuMoDx System esmases kogumiskatsutis või sekundaarses proovikatsutis

-või-

Töövoog 2: **EELTÖÖDELDUD** – transpordikeskkonnas tamponiproovi eeltöödeldakse lüüsimispuhvriga NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer enne selle laadimist seadmesse NeuMoDx System esmases kogumiskatsutis või sekundaarses proovikatsutis

Analüüsi ettevalmistamine – OTSENE töövoog otseste tamponiproovidega

1. Kandke proovikatsutile, mis ühildub seadmega NeuMoDx System, proovi vötkoodisilt, nagu on kirjeldatud allpool etapis 3.
2. Proovi testimisel esmases kogumiskatsutis asetage vötkoodiga katsuti proovikatsuti kandjasse ja veenduge, et kork ja tampon eemaldatakse enne laadimist seadmesse NeuMoDx System.
3. Teise võimalusena võib transpordikeskkonna alikvoodi viia vötkoodiga sekundaarsesse katsutisse ja asetada proovikatsutikandjasse. Sekundaarse katsuti kasutamisel viige transpordikeskkonna alikvoot vötkoodiga proovikatsutisse, mis ühildub süsteemiga NeuMoDx System vastavalt allpool määratud mahtudele.
 - Proovikatsuti kandja (32 katsutile): 11–14 mm läbimööt ja 60–120 mm kõrgus; minimaalne täitemaht $\geq 600 \mu\text{l}$
 - Proovikatsuti kandja (24 katsutile): 14,5–18 mm läbimööt ja 60–120 mm kõrgus; minimaalne täitemaht $\geq 1000 \mu\text{l}$
 - Väikese mahuga proovikatsuti kandja (32 katsutile): 1,5 ml koonilise põhjaga mikrotsentrifuugi katsuti; minimaalne täitemaht on $\geq 500 \mu\text{l}$

Analüüsi ettevalmistamine – EELTÖÖDELDUD töövoog eeltööteldud tamponiproovidele

Märkus. Enne kasutamist laske lüüsimispuhvri Vantage Viral Lysis Buffer saavutada toatemperatuur (15–30 °C).

HOIATUS. Tamponiproovide eeltöötlemine lüüsimispuhvriga NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer ei taga olemasolevate viiruste inaktiveerimist. Kõiki proove tuleb käsitleda nagu need oleks võimalised edasi kandma nakkustekitajaid.

1. Eeltööteldud proovi transpordikeskkonda suhtes 1:1 lüüsimispuhvriga NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. Seda võib teha esmases proovi kogumiskatsutis, kui transpordikeskkonna kogus on teada. Teise võimalusena võib eeltöötlemist teha sekundaarses katsutis, lisades transpordikeskkonna alikvoodile võrdse koguse lüüsimispuhvrit NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. Saadud segu maht peab vastama allpool etapis 4 esitatud väikseima mahu nõuetele.
2. Lüüsimispuhvri NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer ühtlase jaotumise tagamiseks segage ettevaatlikult pipetiga.
3. Eeltööteldud proovi testimisel esmases kogumiskatsutis asetage vötkoodiga katsuti proovikatsuti kandjasse ja veenduge, et kork ja tampon eemaldatakse enne laadimist seadmesse NeuMoDx System.
4. Sekundaarse katsuti kasutamisel viige eeltööteldud proov vötkoodiga proovikatsutisse, mis ühildub seadmega NeuMoDx System ja asetage proovikatsutikandjasse vastavalt allpool määratud mahtudele.
 - Proovikatsuti kandja (32 katsutile): 11–14 mm läbimööt ja 60–120 mm kõrgus; minimaalne täitemaht $\geq 750 \mu\text{l}$
 - Proovikatsuti kandja (24 katsutile): 14,5–18 mm läbimööt ja 60–120 mm kõrgus; minimaalne täitemaht $\geq 1100 \mu\text{l}$
 - Väikese mahuga proovikatsuti kandja (32 katsutile): 1,5 ml koonilise põhjaga mikrotsentrifuugi katsuti; minimaalne täitemaht on $\geq 650 \mu\text{l}$

Seadme NeuMoDx System kasutamine

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadmete NeuMoDx 288 ja 96 Molecular Systems käsiraamatut (tootekoodid 40600108 ja 40600317)

- Laadige analüüsi tellimus seadmesse NeuMoDx System vastavalt analüüsi ettevalmistamise töövoole.
 - OTSESE töövooga ettevalmistatud eeltöötlemata puhtaid tampooniproove analüüsitakse määratlusega „**Transport Medium**“ (Transpordikeskkond)
 - EELTÖÖDELDUD töövooga ettevalmistatud lüüsimispuhvriga NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer eeltöödeldud tampooniproove analüüsitakse määratlusega „**UserSpecified1**“ (Kasutaja määratud 1)Kui see ei ole testi tellimuses määratud, kasutatakse katsutis **Secondary Tube** (Sekundaarne katsuti) vaikimisi proovitüüpi Transport Medium (Transpordikeskkond).
- Täitke üks või enam kandjat NeuMoDx System Test Strip Carrier testribadega NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip ja kasutage puuteekraani, et laadida testribakandjad seadmesse NeuMoDx System.
- Kui seadme NeuMoDx System tarkvara seda soovitab, lisage vajalikud kulukaubad seadme NeuMoDx System tarbitavatele kandjatele ja kasutage puuetundlikku ekraani kandja(te) laadimiseks seadmesse NeuMoDx System.
- Kui seadme NeuMoDx System tarkvara seda soovitab, vahetage välja NeuMoDx Wash Reagent ja/või vabastusreagent NeuMoDx Release Reagent ja tühjendage praimingujäätmed, biohtlike jäätmehahuti (ainult NeuMoDx 288 Molecular System), otsakute jäätmehahuti (ainult NeuMoDx 96 Molecular System) ja/või biohtlike jäätmehahuti (ainult NeuMoDx 96 Molecular System), vastavalt vajadusele.
- Laadige proovikatsuti(d) proovikatsutikandjasse ja veenduge, et kõigilt katsutitelt on korgid ja tampoonid eemaldatud.
- Asetage proovikatsutite kanduri(id) automaatlaadija riulile ja kasutage puuetundlikku ekraani kanduri(te) laadimiseks seadmesse NeuMoDx System. Sellega käivitatakse tuvastatavate testide jaoks laaditud proovide töötlemine, eeldusel, et süsteemis on kehtiv testitellimus.

PIIRANGUD

- Testribasid NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip saab kasutada ainult seadmetel NeuMoDx Systems.
- Testribade NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip toimivus on kindlaks tehtud arsti kogutud transpordikeskkonnas ninaneelu tampooniproovidel. Testribade NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip kasutamist muude proovitüüpide ja kogumiskeskondadega pole hinnatud ja toimivusnäitajad nende korral on teadmata.
- Kuna viiruslike sihtmärkide tuvastamine sõltub üldiselt proovis esinevate viiruseosakeste arvust, sõltuvad usaldusväärsed tulemused proovide nõuetekohasest kogumisest, käitlemisest ja säilitamisest.
- Proovide sobimatu kogumise, käitlemise, säilitamise, tehniliste vigade või proovikatsuti segijamise tulemusel võib saada valed tulemused. Lisaks võivad tekkida valenegatiivsed tulemused, kuna proovis leiduvate viirusosakeste arv on väiksem kui analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay tuvastuspiir.
- Süsteemi NeuMoDx System tohib kasutada ainult süsteemi NeuMoDx System kasutamise väljaõppe saanud personal.
- Kui A-gripi, B-gripi, RSV ja SARS-CoV-2 sihtmärkide ning SPC2 sihtmärgi amplifikatsiooni ei toimu, esitatakse kehtetu tulemus (Indeterminate (Määramatu) või Unresolved (Lahendamata)) ja testi tuleb korrata.
- Kui enne proovi töötlemist tekib süsteemi viga, kajastatakse „No result“ (Tulemus puudub) ning testi tuleb korrata.
- Positiivne tulemus ei näita tingimata elujõulise A-gripiviiruse, B-gripiviiruse, SARS-CoV-2 ja/või RSV esinemist. Siiski on positiivse tulemuse korral A-gripiviiruse, B-gripiviiruse, SARS-CoV-2 ja/või RSV RNA esinemine eeldatav.
- Analüüs NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay sihtmärgiks olevate kaitstud piirkondade deletsioonid või mutatsioonid võivad tuvastamist mõjutada ja põhjustada vale tulemuse.
- Analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay tulemusi tuleks kasutada kliiniliste vaatluste ja muu arstile kättesaadava teabe täiendusena.
- Saastumise vältimiseks on soovitatav hea laboritava, sealhulgas kinnaste vahetamine erinevate patsiendiproovide käitlemise vahel.

TULEMUSED

Kättesaadavaid tulemusi saab vaadata või printida seadme NeuMoDx System puuteekraani akna Results (Tulemused) vahekaardilt „Results“ (Tulemused). Seadme NeuMoDx System tarkvara genereerib analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay tulemused automaatselt, kasutades otsustusalgoritmi ja tulemuste töötlemise parameetreid, mis on esitatud NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay analüüsi definitsiooni failis (FluA-B-RSV-CoV-2 ADF, versioon 4.0.0 või uuem). Analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay tulemus võidakse vastavalt sihtmärkide ja SPC2 amplifitseerimisstaatusel esitada kui Negative (Negatiivne), Positive (Positiivne), Indeterminate (Määramatu), No Result (Tulemus puudub) või Unresolved (Lahendamata). Tulemused esitatakse ADF-i tulemuste töötlemise otsuse algoritmi põhjal, mis on kokku võetud allpool tabelis 2.

Tabel 2. Analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay tulemuste tõlgendamine

ÜLDINE TULEMUS	SIHTVÄÄRTUS 1 (A-gripp) FAM	SIHTVÄÄRTUS 2 (B-gripp) HEX	SIHTVÄÄRTUS 3 (SARS-CoV-2) TX PUNANE	SIHTVÄÄRTUS 4 (RSV) Kaugpunane	TÖÖTLEMIS- SKONTROLL (SPC2) Punane	TÕLGEN-DAMINE
POSITIIVNE (Siht-RNA tuvastatud)	AMPLIFIED (AMPLIFITSEERITUD) [5 ≤ Ct < 25 AND (JA) EPR > 2,0 AND (JA) EP ≥ 750] OR (VÕI) (25 ≤ Ct ≤ 37 JA EP ≥ 750)	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	A-gripi RNA tuvastatud
	Ei kohaldata	AMPLIFIED (AMPLIFITSEERITUD) [5 ≤ Ct < 28 AND (JA) EPR > 1,5 AND (JA) EP ≥ 600] OR (VÕI) [28 ≤ Ct ≤ 37 JA EP ≥ 600]	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	B-gripi RNA tuvastatud
	Ei kohaldata	Ei kohaldata	AMPLIFIED (AMPLIFITSEERITUD) [5 ≤ Ct < 25 JA EPR > 1,5 AND (JA) EP ≥ 1200] OR (VÕI) [25 ≤ Ct ≤ 37 JA EP ≥ 1200]	Ei kohaldata	Ei kohaldata	SARS-CoV-2 RNA tuvastatud
	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	AMPLIFIED (AMPLIFITSEERITUD) [5 ≤ Ct < 30 AND (JA) EPR > 1,15 AND (JA) EP ≥ 1200] OR (VÕI) [30 ≤ Ct ≤ 37 JA EP ≥ 1200]	Ei kohaldata	RVS-i RNA tuvastatud
NEGATIVE (NEGATIIVNE) (Siht-RNA-d ei tuvastatud)	NOT AMPLIFIED (MITTEAMPLIFITSEERITUD) Ei kohaldata OR (VÕI) (5 ≤ Ct < 25 AND (JA) EPR ≤ 2,0) OR (VÕI) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (JA) EP < 750) OR (VÕI) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (MITTEAMPLIFITSEERITUD) Ei kohaldata OR (VÕI) (5 ≤ Ct < 28 AND (JA) EPR ≤ 1,5) OR (VÕI) (28 ≤ Ct ≤ 37 AND (JA) EP < 600) OR (VÕI) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (MITTEAMPLIFITSEERITUD) Ei kohaldata OR (VÕI) (5 ≤ Ct < 25 AND (JA) EPR ≤ 1,5) OR (VÕI) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (JA) EP < 1200) OR (VÕI) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (MITTEAMPLIFITSEERITUD) Ei kohaldata OR (VÕI) (5 ≤ Ct < 30 AND (JA) EPR ≤ 1,15) OR (VÕI) (30 ≤ Ct ≤ 37 AND (JA) EP < 1200) OR (VÕI) (Ct > 37)	AMPLIFIED (AMPLIFITSEERITUD) (24 ≤ Ct ≤ 31 AND (JA) EP ≥ 1800)	A-gripi, B-gripi, RSV-i ja SARS-CoV-2 RNA-d ei tuvastatud
NR*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Mitteamplifitseeritud, Tuvastatud süsteemiviga, Proovi töötlemine katkestatud)					Proovi töötlemine katkestati; testige proovi uuesti
IND*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Mitteamplifitseeritud, Tuvastatud süsteemiviga, Proovi töötlemine lõpetatud)					Kõik tulemused olid kehtetud; testige proovi uuesti
UNR*	Not Amplified, No System Error Detected (Mitteamplifitseeritud, süsteemiviga pole tuvastatud)					Kõik tulemused olid kehtetud; testige proovi uuesti

* Süsteemil on valikuline Rerun/Repeat (kordustest/kordus) võimekus, et kehtetu tulemuse korral automaatselt uuesti töödelda, vähendamaks viivitusi tulemuse kajastamisel.

Kehtetud tulemused

Kui seadmel NeuMoDx System tehtud analüüs NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay ei anna kehtivat tulemust, esitatakse see kas tulemusena Indeterminate (Määramatu), No Result (Tulemus puudub) või Unresolved (Lahendamata) olenevalt tekkinud veatüübist ja analüüsi tuleb kehtiva tulemuse saamiseks korrata.

Kui proovi töötlemisel tuvastatakse seadme NeuMoDx System tõrge, esitatakse tulemus Indeterminate (Määramatu). Tulemuse Indeterminate (Määramatu) korral on soovitatav teha kordustest.

Kui proovi töötlemisel tuvastatakse seadme NeuMoDx System tõrge ja proovi töötlemine katkestatakse, siis esitatakse tulemus No Result (Tulemus puudub). Kui esitatakse tulemus No Result (Tulemus puudub), on soovitatav teostada kordusanalüüs.

Tulemus Unresolved (Lahendamata) esitatakse juhul, kui sihtmärki ei tuvastata ja prooviprotsessi kontrolli amplifitseerimist ei toimu, mis viitab võimalikule reaktiivi tõrkele või inhibiitorite olemasolule. Tulemuse Unresolved (Lahendamata) korral on esimese sammuna soovitatav teha kordustest. Kui kordustest nurjub, võib võimaliku inhibeeriva mõju leevendamiseks kasutada proovi lahjendust.

Vt süsteemi NeuMoDx 288 Molecular System käsiraamatut (tootekood: 40600108) või süsteemi NeuMoDx 96 Molecular System käitaja käsiraamatut (tootekood: 40600317) kõigi olekuga Kehtetud tulemused seotud veakoode.

NeuMoDx System on varustatud automaatse Rerun (Uuesti käitamine) / Repeat (Kordamine) võimekusega, mida lõppkasutaja saab valida, et tagada tulemuse INVALID (KEHTETU) automaatne uuesti töötlemine, et minimeerida tulemuse esitamise viibimist.

Kvaliteedikontroll

Kohalikud eeskirjad määravad tavaliselt, et labor vastutab kontrolliprotseduuride eest, millega jälgitakse kogu analüüsimisprotsessi täpsust ja kordustäpsust, ning peab määrama kontrollmaterjalide analüüsivõime arvu, tüübi ja sageduse, kasutades kinnitatud toimivusspetsifikatsioone modifitseerimata, heakskiidetud analüüsissüsteemi jaoks.

Välised kontrollid

1) Kasutajad peavad iga 24 tunni järel ja enne patsiendi proovide töötlemist töötleva ühe komplekti väliskontrolle NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control [REF 901200]. Kui kehtivad välised kontrollitulemused puuduvad, nõuab seade NeuMoDx System tarkvara kasutajalt kontrollide töötlemist, et tulemusi saaks esitada.

2) Kui väliseid kontrolle on vaja, töödelge kontrolle (1 positiivne kontroll ja 1 negatiivne kontroll):

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	Sildi värviskeem
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control(s)	Punane
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Negative Control(s)	Must

3) Välise kontrollide töötlemisel pange kontrollid proovikatsuti kandjasse ja laadige kandja automaatladija riulilt seadme NeuMoDx System puutetundliku ekraani abil. Seade NeuMoDx System tunneb ära võetkoodid ja alustab kontrollide töötlemist, välja arvatud juhul, kui analüüsiks vajalikud reaktiivid või kulukaubad pole saadaval.

4) Seade NeuMoDx System hindab nende välise kontrollide kehtivust ootuspäraste tulemuste põhjal.

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 tulemus	SPC2 tulemus
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control(s)	FluA, FluB, RSV, SARS-CoV-2 RNA tuvastatud	Ei kohaldata
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Negative Control(s)	FluA, FluB, RSV, SARS-CoV-2 RNA-d ei tuvastatud	SPC2 positiivne

5) Välise kontrollide vastukäivaid tulemusi tuleks käsitleda järgnevalt.

- a) Positiivne analüüsitulemus, millest teatatakse negatiivse kontrollproovi puhul, võib viidata saastumisele ja põhjuse leidmiseks tuleb uurida laboratooriumi kvaliteedikontrolli korda. Proovide ettevalmistamiseks, kontrollide käitlemiseks ja RT-PCRi seadistamiseks peab kasutama eraldi ruume. Täiendavad tõrkeotsingu nõuandeid on süsteemi *NeuMoDx 288 või 96 Molecular System kasutusjuhendis*.
- b) Positiivse kontrollproovi negatiivne analüüsitulemus võib osutada reaktiiviga või seadmega NeuMoDx System seotud probleemile. Tõrkeotsingu näpunäite leiata süsteemi *NeuMoDx 288 või 96 Molecular System käsiraamatust*.
- c) Kummalgi ülaltoodud juhul või juhul, kui tulemuseks on No Result (NR) (Tulemus puudub), Unresolved (UNR) (Lahendamata) või Indeterminate (IND) (Määramatu), korrake nurjunud kehtivustestiga kontrolli värskest sulatatud vialidega.
- d) Kui positiivne kontroll annab uuesti analüüsi tulemuseks Negative (Negatiivne), võtke ühendust QIAGENi tehnilise toega.
- e) Kui negatiivne kontroll annab endiselt analüüsitulemuse Positive (Positiivne), proovige eemaldada kõik võimalikud saastumise allikad, sh kõigi reaktiivide asendamine ja kordusanalüüs, enne kui QIAGENi tehnilise toega ühendust võtate.
- f) Kui välised kontrollid ei anna oodatud tulemusi, tuleb positiivsete ja negatiivsete kontrollide komplekti korrata. Patsiendi tulemusi ei esitata, kui kontrollid ei anna oodatud tulemusi.

Prooviprotsessi (sisemised) kontrollid

Eraldusplaati NeuMoDx Extraction Plate on kätetud eksogeenne proovi töötlemise kontroll (Sample Process Control, SPC2) ning see läbib iga prooviga kogu nukleiinhappe ekstraheerimise ja reaalaaja RT-PCR amplifikatsiooni protsessi. Iga testriba NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip hulka kuuluvad ka SPC2-spetsiifilised praimerid ja sondid, mis võimaldavad mitmekordse PCR-i kaudu sihtmärgistatud RNA (kui esineb) abil tuvastada SPC2. SPC2 amplifikatsiooni tuvastamine võimaldab seadme NeuMoDx System tarkvaral jälgida RNA ekstraheerimise ja RT-PCR-i amplifikatsiooniprotsesside tõhusust.

Enne RT-PCR-i teostab NeuMoDx System automaatselt toimingu „FILL CHECK“ (TÄITMISKONTROLL) tagamaks, et PCR-i kamber on lahusega täidetud ja sisaldab piisavas koguses fluorestseeruvat sondi.

Seadme NeuMoDx System tarkvara jälgib pidevalt süsteemiseseid andureid ja käivitajaid, et tagada süsteemi ohutu ja tõhus töö.

Aspireerimise ja jaotamise toimingute aktiivne jälgimine rakendab mitut vedeliku veetaaste režiimi tagamaks, et süsteem saab ohutult ja tõhusalt lõpule viia kõikide proovide töötlemise või anda asjakohane veakood.

TOIMIVUSNÄITAJAD

Analüütiline sensitiivsus

Analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay analüütiline sensitiivsus seadmetel NeuMoDx Molecular System määrati kahes osas. Tuvastuspiiri (LoD) iseloomustati, kasutades UVT-matriksis ja iga sihtmärgi mudeltüvedes kogutud anonüümitud kliiniliste negatiivsete ninaneelu tampooniproovide jääke. Iga sihtmärgi jaoks kasutatud mudeltüved on esitatud *Tabelis 3*. Esmalt valmistati ette igale mudeltüve sihtmärgi UVT-s lahjenduste seeria otseste ja eeltöödeldud töövoogudena ja seejärel töödeldi seadmega NeuMoDx System määramaks esialgse tuvastamispiiri (Limit of Detection, LoD) väärtus. Teises analüüsimise osas kinnitati nende esialgsete väärtuste LoD kokkulangevust uuringuga seadmete NeuMoDx 288 ja NeuMoDx 96 Molecular Systems mõlema töövooga. Esialgne LoD kinnitati kui kokkulangevuse analüüs saavutas 95%-lise positiivsuse määra mõlema töövooga mõlemas süsteemis. *Esialgse LoD tuvastamismäärad on esitatud tabelis 4, samas kui tabelis 5 on esitatud kokkulangevuse kinnitamise üksikasjad seadmega N288 System ning tabelis 6 seadmega N96 System. Lõpliku LoD väärted tabelis 4 on esitatud paksus kirjas.*

Tabel 3. Sihtväärtustel kasutatud tüved

Sihtväärtus/tüvi	Allikas	Kat. nr	Partii nr	Materjali liik
A-griipp, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1688	70031602	Nakatud rakkude puhastatud supernatant
A-griipp, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1690	70032253	Nakatud rakkude puhastatud supernatant
A-griipp, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	Virapur	Ei kohaldata	B1904J	Elus töötlemata
A-griipp, Hongkong/2671/2019 (H3N2)	Virapur	Ei kohaldata	C2030D	Elus töötlemata
B-griipp, Hongkong/286/2017 (Victoria)	IRR	FR-1619	70015942	Nakatud rakkude puhastatud supernatant
B-griipp, Colorado/6/2017 (Victoria)	IRR	FR-1592	70013310	Nakatud rakkude puhastatud supernatant
B-griipp, Florida/78/2015 (Victoria)	ATCC	VR-1931	70020870	Puhastatud rakuvedelik ja rakulüsaat
B-griipp, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	Virapur	Ei kohaldata	B1904N	Elus töötlemata
RSV A2	ATCC	VR-1540	60430286	Rakuvedelik ja rakulüsaat
RSV B (WV/14617/85)	ATCC	VR-1400	70013461	Rakuvedelik ja rakulüsaat
SARS-CoV-2, esimene WHO rahvusvaheline standard	NIBSC	20/146	Ei kohaldata	Lüofiliseeritud happega ja kuumusega inaktiveeritud viirus
SARS-CoV-2, isolaat USA-WA1/2020	BEI	NR-52285	70037779	Kuumusega inaktiveeritud viirus

Tabel 4. Positiivsed tuvastamismäärad analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay esialgse LoD tuvastamise kinnitamiseks – (a) Eeltöödeldud töövoog; (b) Otsene töövoog

(a) Eeltöödeldud töövoog

Sihtväärtus/tüvi	Tase	Ühik	Kehtivate tulemuste arv (n/N)	Pos arv	Pos %	Ct Avg	Ct SD
A-griipp, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,02	TCID ₅₀ /ml	10/10	7	70%	33,97	0,90
	0,06		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
A-griipp, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,17	TCID ₅₀ /ml	10/10	8	80%	33,72	1,00
	0,5		10/10	10	100%	32,97	0,51
	1,5		10/10	10	100%	32,28	0,60
A-griipp, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,17	TCID ₅₀ /ml	10/10	8	80%	32,81	0,38
	0,5		10/10	10	100%	31,68	0,84
	1,5		10/10	10	100%	31,69	0,65
A-griipp, Hongkong/2671/2019 (H3N2)	0,17	TCID ₅₀ /ml	20/20	15	75%	32,15	1,70
	0,5		10/10	9	90%	32,37	0,50
	1,5		10/10	10	100%	32,63	1,35
B-griipp, Hongkong/286/2017 (Victoria)	0,01	TCID ₅₀ /ml	10/10	8	80%	32,90	1,27
	0,03		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
B-griipp, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,003	TCID ₅₀ /ml	10/10	10	100%	33,97	0,58
	0,01		10/10	10	100%	33,90	0,39
	0,03		10/10	10	100%	33,85	0,56
B-griipp, Florida/78/2015 (Victoria)	0,083	TCID ₅₀ /ml	20/20	18	90%	34,39	0,84
	0,25		10/10	10	100%	32,53	0,21
	0,75		10/10	10	100%	32,57	0,40
B-griipp, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	0,33	TCID ₅₀ /ml	20/20	15	75%	33,58	1,50
	1		10/10	10	100%	34,03	0,69
	3		10/10	10	100%	32,30	0,66
RSV A2	0,17	TCID ₅₀ /ml	10/10	5	50%	32,68	0,43
	0,5		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 ₅₀ /ml	10/10	5	50%	32,20	1,10
	0,05		10/10	10	100%	31,50	0,49
	0,15		10/10	10	100%	29,94	0,93
SARS-CoV-2, esimene WHO rahvusvaheline standard	50	IU/ml	10/10	6	60%	34,36	0,64
	150		10/10	10	100%	34,20	0,31
	450		10/10	10	100%	33,04	0,63
SARS-CoV-2, isolaat USA-WA1/2020	50	koopiat/ml	10/10	6	60%	34,20	1,19
	150		10/10	10	100%	33,46	0,58
	450		10/10	10	100%	32,62	1,06

(b) Otsene töövoog

Sihtväärtus/tüvi	Tase	Ühik	Kehtivate tulemuste arv (n/N)	Pos arv	Pos %	Ct Avg	Ct SD
A-gripp, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,02	TCID ₅₀ /ml	20/20	17	85%	33,11	1,30
	0,06		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
A-gripp, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,17	TCID ₅₀ /ml	20/20	18	90%	33,41	1,10
	0,5		10/10	9	90%	32,54	1,03
	1,5		10/10	10	100%	32,05	0,26
A-gripp, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,17	TCID ₅₀ /ml	10/10	7	70%	33,39	0,16
	0,5		10/10	10	100%	32,70	1,01
	1,5		10/10	10	100%	31,12	1,07
A-gripp, Hongkong/2671/2019 (H3N2)	0,17	TCID ₅₀ /ml	10/10	8	80%	34,11	0,69
	0,5		10/10	10	100%	33,68	0,50
	1,5		10/10	10	100%	32,27	1,29
B-gripp, Hongkong/286/2017 (Victoria)	0,01	TCID ₅₀ /ml	20/20	18	90%	33,31	0,95
	0,03		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
B-gripp, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,003	TCID ₅₀ /ml	10/10	9	90%	34,82	0,39
	0,01		10/10	10	100%	34,37	0,55
	0,03		10/10	10	100%	33,64	0,34
B-gripp, Florida/78/2015 (Victoria)	0,083	TCID ₅₀ /ml	20/20	18	90%	33,78	1,11
	0,25		10/10	10	100%	33,89	0,69
	0,75		10/10	10	100%	32,38	0,47
B-gripp, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	0,25	TCID ₅₀ /ml	10/10	8	80%	33,23	1,17
	0,75		20/20	19	95%	32,63	1,22
	2,25		10/10	10	100%	31,24	1,58
RSV A2	0,42	TCID ₅₀ /ml	10/10	7	70%	32,61	0,70
	1,25		10/10	10	100%	30,99	1,55
	3,75		10/10	10	100%	31,49	1,04
RSV B (WV/14617/85)	0,017	TCID ₅₀ /ml	10/10	6	60%	33,63	1,49
	0,05		10/10	10	100%	32,42	1,12
	0,15		10/10	10	100%	31,81	0,81
SARS-CoV-2, esimene WHO rahvusvaheline standard	50	IU/ml	10/10	7	70%	34,80	0,56
	150		20/20	19	95%	32,88	1,22
	450		10/10	10	100%	33,38	0,46
SARS-CoV-2, isolaat USA-WA1/2020	66,7	koopiat/ml	10/10	7	70%	33,53	0,58
	200		10/10	10	100%	32,63	1,25
	600		10/10	10	100%	32,69	0,86

Tabel 5. Positiivsed tuvastusmäärad analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay LoD kokkulangevuse määramiseks – N288, (a) eeltöödeldud töövoog; (b) otsene töövoog

(a) Eeltöödeldud töövoog

Sihtväärtus/tüvi	Tase	Ühik	Kehtivate tulemuste arv (n/N)	Pos arv	Tuvastamise %	Ct Avg	Ct SD
A-gripp, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,89	0,57
A-gripp, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	33,81	0,44
A-gripp, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,17	0,47
A-gripp, Hongkong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	33,77	0,52
B-gripp, Hongkong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	29/30	29	100%	32,32	1,09
B-gripp, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	34,50	0,68
B-gripp, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,83	0,44
B-gripp, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	1	TCID ₅₀ /ml	29/30	29	100%	33,04	0,69
RSV A2	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	32,17	1,23
RSV B (WV/14617/85)	0,05	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	32,39	0,41
SARS-CoV-2, esimene WHO rahvusvaheline standard	150	IU/ml	30/30	30	100%	33,63	0,61
SARS-CoV-2, isolaat USA-WA1/2020	150	koopiat/ml	29/30	28	96,6%	33,59	1,01

(b) Otsene töövoog

Sihtväärtus/tüvi	Tase	Ühik	Kehtivate tulemuste arv (n/N)	Pos arv	Tuvastamise %	Ct Avg	Ct SD
A-gripp, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,92	0,69
A-gripp, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,75	0,57
A-gripp, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	32,96	0,48
A-gripp, Hongkong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,67	0,48
B-gripp, Hongkong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	29/30	28	96,6%	31,74	1,19
B-gripp, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,0033	TCID ₅₀ /ml	10/10	8	80%	34,88	0,95
	0,01	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	34,22	0,51
B-gripp, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,55	0,38
B-gripp, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	0,75	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,33	0,74
RSV A2	1,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	31,87	0,95
RSV B (WV/14617/85)	0,05	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	32,46	0,72
SARS-CoV-2, esimene WHO rahvusvaheline standard	150	IU/ml	30/30	29	96,7%	33,78	0,77
SARS-CoV-2, isolaat USA-WA1/2020	200	koopiat/ml	30/30	30	100%	34,18	0,83

Tabel 6. Positiivsed tuvastamismäärad analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay LoD kokkulangevuse kinnitamiseks – N96, (a) Eeltöödeldud töövoog; (b) Otsene töövoog

(a) Eeltöödeldud töövoog

Sihtväärtus/tüvi	Tase	Ühik	Kehtivate tulemuste arv (n/N)	Pos arv	Tuvastamise %	Ct Avg	Ct SD
A-gripp, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,05	0,81
A-gripp, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	33,53	0,75
A-gripp, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	32,33	1,11
A-gripp, Hongkong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	32,98	0,96
B-gripp, Hongkong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	32,75	0,69
B-gripp, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,0033	TCID ₅₀ /ml	10/10	4	40%	34,75	0,58
	0,01	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,91	0,75
B-gripp, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	33,25	0,97
B-gripp, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	1	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	33,21	0,96
RSV A2	0,5	TCID ₅₀ /ml	29/30	28	96,6%	32,39	1,10
RSV B (WV/14617/85)	0,05	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	32,06	0,76
SARS-CoV-2, esimene WHO rahvusvaheline standard	150	IU/ml	30/30	29	96,7%	33,79	0,67
SARS-CoV-2, isolaat USA-WA1/2020	150	koopiat/ml	30/30	29	96,7%	33,59	1,05

(b) Otsene töövoog

Sihtvääratus/tüvi	Tase	Ühik	Kehtivate tulemuste arv (n/N)	Pos arv	Tuvastamise %	Ct Avg	Ct SD
A-griip, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,42	0,54
A-griip, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,35	1,10
A-griip, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	32,17	1,24
A-griip, Hongkong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,22	0,50
B-griip, Hongkong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	32,78	0,56
B-griip, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	34,21	0,50
B-griip, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	33,41	0,65
B-griip, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	0,75	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	33,36	1,04
RSV A2	1,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7%	32,29	0,99
RSV B (WV/14617/85)	0,05	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100%	32,17	0,75
SARS-CoV-2, esimene WHO rahvusvaheline standard	150	IU/ml	30/30	29	96,7%	33,50	0,78
SARS-CoV-2, isolaat USA-WA1/2020	200	koopiat/ml	29/30	29	100%	34,45	0,39

Seadmetel NeuMoDx System kinnitatud analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay LoD tasemed on koondatud tabelisse 7.

Tabel 7. Tuvastamispiiri uuringu kokkuvõte

Sihtvääratus	Tüvi	Tuvastuspiir		
		Eeltöödeldud töövoog	Otsene töövoog	Ühik
A-gripiviirus (A-griip) – H1N1	Idaho/07/2018(H1N1) pdm09	0,06	0,06	TCID ₅₀ /ml
	Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	0,5	
A-gripiviirus (A-griip) – H3N2	Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	0,5	
	Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	0,5	
B-gripiviirus (B-griip) – Victoria liin	Hong Kong/286/2017	0,03	0,03	
	Colorado/6/2017	0,01	0,01	
	Florida/78/2015	0,25	0,25	
B-gripiviirus (B-griip) – Yamagata liin	Phuket/3073/2013	1	0,75	
RSV A	A2	0,5	1,25	
RSV B	(WV/14617/85)	0,05	0,05	
SARS-CoV-2	Esimene WHO rahvusvaheline standard	150	150	IU/ml
	Isolaat USA-WA1/2020	150	200	koopiat/ml

Sihorganismide konkureeriv interferents: A-griip, B-griip, RSV ja SARS-CoV-2

Analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay konkureerivat interferentsi hinnati, kasutades sihtviiruste paneele, millele olid lisatud UVT-sse kogutud kliiniliselt negatiivsed ninaneelu tampooniproovid. Kümme paneeli sisaldasid ühte või kahte sihtmärki nende tuvastuspiiri lähedal (3–10 × LoD) ja ühte sihtmärki ≥ 1E5 koopiat/ml, mis oli kaasnakatunud sihtmärk. Üheteistkümmes paneel sisaldas kõigist neljast sihtmärgist ühte tasemel 2 × LoD. Kahe kuni kolme erineva kontsentratsiooniga viiruse esinemine ühes proovis ja nende mõju analüütilisele sensitiivsusele on esitatud tabelis 8.

A-gripi ja RSV A-negatiivseid tulemusi tuleb pidada eeldatavaks proovide korral, mille SARS-CoV-2 tulemus on positiivne, ning RSV-negatiivseid tulemusi tuleks pidada eeldatavaks proovide korral, mille A-gripi tulemus on positiivne. Konkureeriva interferentsi uuringud näitasid, et SARS-CoV-2 viirus, kui selle kontsentratsioon on vähemalt 1E5 koopiat/ml, võib inhibeerida A-gripi ja RSV A RNA avastamist ja amplifikatsiooni, kui nende kontsentratsioon on vastavalt 1,5 TCID₅₀/ml või vähem või 6,25 TCID₅₀/ml, ning võib anda valenegatiivsed tulemused. Lisaks sellele võib A-gripiviirus, kui selle kontsentratsioon on 1E5 cp/ml või suurem, inhibeerida RSV A viiruse RNA avastamist ja amplifikatsiooni, kui selle sisaldus on 3,75 TCID₅₀/ml või alla selle, ning see võib põhjustada RSV suhtes valenegatiivseid tulemusi. Kui positiivse SARS-CoV-2 tulemusega proovides kahtlustatakse A-gripi või RSV-viirusega kaasnevat nakatumist või positiivse A-gripi tulemusega proovides kahtlustatakse koinfektsiooni RSV-viirusega, tuleb proovi uuesti analüüsida mõne teise FDA poolt heaks kiidetud, kinnitatud või lubatud gripi- või RSV-analüüsiga, kui gripi või RSV-viiruse tuvastamine muudaks kliinilist ravi.

Tabel 8. Konkureeriva interferentsi uuringu kokkuvõte

Paneel	Sihtväärtus	Paneeli tase	Sihtkont.	Kehtivad tulemused	Pos arv	Tuvastamise %
1	A-griipp	3X	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV A	3X	3,75 TCID ₅₀ /ml	24	23	96%
	B-griipp	Kõrge	1E5 koopiat/ml	24	24	100%
2 (1. käitamine)	A-griipp	3X	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	19	79%
	RSV A	3X	3,75 TCID ₅₀ /ml	24	8	33%
	SARS-CoV-2	Kõrge	1E5 koopiat/ml	24	24	100%
2 (2. käitamine)	A-griipp	5X	2,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV A	5X	6,25 TCID ₅₀ /ml	24	16	67%
	SARS-CoV-2	Kõrge	1E5 koopiat/ml	24	24	100%
2 (3. käitamine)	A-griipp	5X	2,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV A	10X	12,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	SARS-CoV-2	Kõrge	1E5 koopiat/ml	24	24	100%
3	A-griipp	3X	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	SARS-CoV-2	3X	450 IU/ml	24	24	100%
	RSV B	Kõrge	1E5 koopiat/ml	24	24	100%
4	B-griipp	3X	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV B	3X	0,15 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	A-griipp	Kõrge	1E5 koopiat/ml	24	24	100%
5	B-griipp	3X	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV B	3X	0,15 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	SARS-CoV-2	Kõrge	1E5 koopiat/ml	24	24	100%
6	B-griipp	3X	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV B	Kõrge	1E5 koopiat/ml	24	24	100%
7	SARS-CoV-2	3X	450 IU/ml	24	24	100%
	A-griipp	Kõrge	1E5 koopiat/ml	24	24	100%
8	SARS-CoV-2	3X	450 IU/ml	24	24	100%
	B-griipp	Kõrge	1E5 koopiat/ml	24	24	100%
9 (1. käitamine)	RSV A	3X	3,75 TCID ₅₀ /ml	24	20	83%
	A-griipp	Kõrge	1E5 koopiat/ml	24	24	100%
9 (2. käitamine)	RSV A	5X	6,25 TCID ₅₀ /ml	24	23	96%
	A-griipp	Kõrge	1E5 koopiat/ml	24	24	100%
10	RSV B	3X	0,15 TCID ₅₀ /ml	24	23	96%
	B-griipp	Kõrge	1E5 koopiat/ml	24	24	100%
11	A-griipp	2X	1 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	B-griipp	2X	0,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV B	2X	0,1 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	SARS-CoV-2	2X	300 IU/ml	24	24	100%

Analüütiline reaktsioonivõime ja ulatus

Analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay analüütilist reaktsioonivõimet hinnati mitme A-gripiviiruse, B-gripiviiruse, RSV ja SARS-CoV-2 tüve/isolaadi vastu. Iga tüve/isolaadi reaktsioonivõimet iseloomustati kahes osas. Iga sihtmärgi reaktsioonivõime taseme esialgne hindamine tehti iga üksiku sihtmärgi tüvega, mida analüüsiti 3 kontsentratsioonis imiteeritud ninaneelu tampooniproovi maatriksis (valmistatud 3000 inimese epiteelirakuga ühe ml UVT kohta), tabel 9. Teises osas kinnitati reaktsioonivõime tasemena madalaim tase, mis saavutas 1. faasis 100% positiivse tulemuse, analüüsides vähemalt 20 kordust, tabel 10. Kokku analüüsiti 14 A-gripi tüve, 6 B-gripi tüve, 1 RSV A isolaati, 1 RSV B isolaati ja 6 SARS-CoV-2 isolaati.

Tabel 9. A-gripi, B-gripi, RSV A, RSV B ja SARS-CoV-2 tüved – esialgne reaktsioonivõime taseme analüüs

Esialgne analüüs						
Sihtväärtus	Tüvi		Analüüsitud tasemed	Kehtivate tulemuste arv	Pos %	
A-griip	H1N1	Brisbane/02/2018	0,5 TCID ₅₀ /ml	8	75,0%	
			1,5 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			4,5 TCID ₅₀ /ml	7	100%	
		Guangdong-Moanan/SWL 1536/2019	0,33 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%	
			1 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			3 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			Michigan/272/2017 (H1N1) pdm09	0,17 TCID ₅₀ /ml	6	50%
				0,5 TCID ₅₀ /ml	6	100%
				1,5 TCID ₅₀ /ml	6	100%
		A/Iowa/53/2015 (H1N1) pdm09	0,33 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%	
			1 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			3 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
		A/Bangladesh/3002/2015 (H1N1) pdm09	3,3 CEID ₅₀ /ml	8	62,5%	
			10 CEID ₅₀ /ml	8	87,5%	
			30 CEID ₅₀ /ml	8	100%	
		H3N2	Šveits/9715293/2013 (H3N2)	0,17 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%
				0,5 TCID ₅₀ /ml	8	100%
				1,5 TCID ₅₀ /ml	8	100%
	Hong Kong/4801/2014 (H3N2)		0,15 TCID ₅₀ /ml	7	28,6%	
			0,5 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			1,5 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
	Kansas/14/2017 (H3N2)		2,67 TCID ₅₀ /ml	8	50%	
			8 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%	
			24 TCID ₅₀ /ml	7	100%	
	A/Wisconsin/04/2018 (H3N2)		3,3 CEID ₅₀ /ml	6	83,3%	
			10 CEID ₅₀ /ml	6	100%	
			30 CEID ₅₀ /ml	6	100%	
	A/California/02/2014 (H3N2)		0,01 TCID ₅₀ /ml	8	85,7%	
			0,03 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			0,1 TCID ₅₀ /ml	7	100%	
			0,33 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			1 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			3 TCID ₅₀ /ml	7	100%	
	H2N2	A2/Jaapan/305/57 (H2N2)	10,87 pg/ml ¹	8	100%	
			32,6 pg/ml ¹	8	87,5%	
			97,8 pg/ml ¹	7	100%	
	H5N2	A/Part/Pennsylvania/10218/84 (H5N2)	8 pg/ml ¹	8	100%	
			25 pg/ml ¹	8	100%	
	H7N9	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	75 pg/ml ¹	7	100%	
			1:3E5 ¹	8	50%	
			1:1E5 ¹	7	87,5%	
	H10N7	A/tibu/ Saksamaa/N/49 (H10N7)	1:3.3E4 ¹	8	100%	
22,67 pg/ml ¹			8	100%		
68 pg/ml ¹			8	100%		
B-griip	Victoria liin	Malaisia/2506/2004 (Victoria)	204 pg/ml ¹	8	100%	
			1 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			3 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
		Washington/02/2019 (Victoria)	9 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			2,5 CEID ₅₀ /ml	8	25,0%	
			5 CEID ₅₀ /ml	8	87,5%	
		B/Maryland/15/2016 (Victoria)	15 CEID ₅₀ /ml	8	100%	
			0,01 TCID ₅₀ /ml	12	91,7%	
			0,03 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
		0,1 TCID ₅₀ /ml	8	100%		
		0,33 TCID ₅₀ /ml	16	100%		
		1 TCID ₅₀ /ml	8	100%		

Esiagne analüüs						
Sihtväärtus	Tüvi		Analüüsitud tasemed	Kehtivate tulemuste arv	Pos %	
B-griip (jätkub)	Yamagata liin	Wisconsin/1/2010 (Yamagata)	3 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			0,17 CEID ₅₀ /ml	8	75,0%	
			0,5 CEID ₅₀ /ml	8	100%	
			1,5 CEID ₅₀ /ml	8	100%	
		B/Utah/09/2014 (Yamagata liin)	0,06 CEID ₅₀ /ml	8	25,0%	
			0,19 CEID ₅₀ /ml	8	87,5%	
			0,56 CEID ₅₀ /ml	7	85,7%	
			1,7 CEID ₅₀ /ml	6	100%	
			5 CEID ₅₀ /ml	6	100%	
			15 CEID ₅₀ /ml	6	100%	
			B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N) (Yamagata)	0,33 TCID ₅₀ /ml	8	25,0%
		1 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%		
		3 TCID ₅₀ /ml	8	100%		
RSV	RSVA	A (pikk)	0,67 pfu/ml	8	37,5%	
			2 pfu/ml	8	100%	
			6 pfu/ml	7	100%	
	RSVB	B (9320)	0,03 pfu/ml	8	12,5%	
			0,1 pfu/ml	8	87,5%	
			0,3 pfu/ml	8	100%	
SARS-CoV-2	USA/CA-Stanford-15_S02/2021 (Kappa, B.1.617.1)		0,06 TCID ₅₀ /ml	8	0%	
			0,17 TCID ₅₀ /ml	8	12,5%	
			0,5 TCID ₅₀ /ml	8	37,5%	
			1,5 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%	
			4,5 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			13,5 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			USA/CA_CDC_5574/2020 (Alfa, B.1.1.7)	0,006 TCID ₅₀ /ml	8	62,5%
				0,02 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%
				0,06 TCID ₅₀ /ml	8	100%
				0,17 TCID ₅₀ /ml	7	100%
				0,5 TCID ₅₀ /ml	7	100%
				1,5 TCID ₅₀ /ml	7	100%
			Jaapan/TY7-503/2021 (Gamma, Brasiilia P.1)	0,002 TCID ₅₀ /ml	8	62,5%
				0,006 TCID ₅₀ /ml	8	100%
				0,02 TCID ₅₀ /ml	8	100%
	0,06 TCID ₅₀ /ml	8		100%		
	0,17 TCID ₅₀ /ml	8		100%		
	0,5 TCID ₅₀ /ml	8		100%		
	USA/PHC658/2021 (Delta, B.1.617.2)	0,001 TCID ₅₀ /ml	8	37,5%		
		0,004 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%		
		0,013 TCID ₅₀ /ml	8	100%		
		0,04 TCID ₅₀ /ml	8	100%		
		0,11 TCID ₅₀ /ml	8	100%		
		0,33 TCID ₅₀ /ml	4	100%		
	Itaalia-INMI1	7,44 cp/ml ¹	8	37,5%		
		22,33 cp/ml ¹	8	87,5%		
		67 cp/ml ¹	8	100%		
		200 cp/ml ¹	8	100%		
		600 cp/ml ¹	8	100%		
	Isolaat Hongkong/VM20001061/2020	7,44 cp/ml ¹	8	25,0%		
22,33 cp/ml ¹		8	87,5%			
67 cp/ml ¹		7	100%			
200 cp/ml ¹		7	100%			
600 cp/ml ¹		7	100%			

¹Need variandid saadi ainult „üld-RNA“ kvantifitseerimisega, mis hõlmab nii viiruse RNA-d kui ka peremeesraku RNA-d.

Tabel 10. A-gripi, B-gripi, RSV A, RSV B ja SARS-CoV-2 tüved – reaktsioonivõime taseme kokkulangevus

Kokkulangevus					
Sihtväärtus	Tüvi		Tase	Kehtivate tulemuste arv	Pos %
A-gripp	H1N1	Brisbane/02/2018	1,0 TCID ₅₀ /ml	23	91,3%
			1,5 TCID ₅₀ /ml	23	100%
		Guangdong-Moanan/SWL 1536/2019	0,5 TCID ₅₀ /ml	23	82,6%
			1,0 TCID ₅₀ /ml	24	100%
			0,5 TCID ₅₀ /ml	24	100%
			0,33 TCID ₅₀ /ml	24	85,7%
	A/Iowa/53/2015 (H1N1) pdm09	0,67 TCID ₅₀ /ml	24	95,2%	
	A/Bangladesh/3002/2015 (H1N1) pdm09	10 CEID ₅₀ /ml	24	100%	
	H3N2	Šveits/9715293/2013 (H3N2)	0,25 TCID ₅₀ /ml	24	87,0%
			0,5 TCID ₅₀ /ml	24	100%
		Hong Kong/4801/2014 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /ml	23	91,3%
			1,0 TCID ₅₀ /ml	23	95,7%
		Kansas/14/2017 (H3N2)	12 TCID ₅₀ /ml	23	100%
		A/Wisconsin/04/2018 (H3N2)	5 CEID ₅₀ /ml	23	91,3%
	10 CEID ₅₀ /ml		23	100%	
	A/California/02/2014 (H3N2)	0,01 TCID ₅₀ /ml	24	91,7%	
		0,03 TCID ₅₀ /ml	24	100%	
	H2N2	A2/Jaapan/305/57 (H2N2)	10,87 pg/ml ¹	24	100%
H5N2	A/Part/Pennsylvania/10218/84 (H5N2)	2 pg/ml ¹	24	83,3%	
		4 pg/ml ¹	23	100%	
		8 pg/ml ¹	23	100%	
H7N9	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	1:3.3E4 ¹	24	95,7%	
H10N7	A/tibu/ Saksamaa/N/49 (H10N7)	7,6 pg/ml ¹	23	73,9%	
		22,67 pg/ml ¹	23	100%	
B-gripp	Victoria liin	Malaisia/2506/2004 (Victoria)	1 TCID ₅₀ /ml	23	95,7%
		Washington/02/2019 (Victoria)	5 CEID ₅₀ /ml	24	95,8%
			10 CEID ₅₀ /ml	24	100%
	Yamagata liin	B/Maryland/15/2016 (Victoria)	0,01 TCID ₅₀ /ml	23	83,3%
		Wisconsin/1/2010 (Yamagata)	0,03 TCID ₅₀ /ml	24	100%
			0,05 CEID ₅₀ /ml	24	100%
		B/Utah/09/2014 (Yamagata liin)	0,56 TCID ₅₀ /ml	24	87,0%
			1,5 TCID ₅₀ /ml	24	100%
		B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N) (Yamagata)	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	87,5%
		1,5 TCID ₅₀ /ml	20	95,0%	
		3,0 TCID ₅₀ /ml	24	100%	
RSV	RSVA	A (pikk)	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 (Kappa, B.1.617.1)	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	100%
			3 TCID ₅₀ /ml	24	100%
			4,5 TCID ₅₀ /ml	24	100%
		USA/CA_CDC_5574/2020 (Alfa, B.1.1.7)	0,02 TCID ₅₀ /ml	24	95,8%
			0,06 TCID ₅₀ /ml	24	100%
		Jaapan/TY7-503/2021 (Gamma, Brasiilia P.1)	0,006 TCID ₅₀ /ml	24	95,8%
SARS-CoV-2 (jätkub)		USA/PHC658/2021 (Delta, B.1.617.2)	0,006 TCID ₅₀ /ml	24	87,5%
			0,013 TCID ₅₀ /ml	24	100%
		Itaalia-INMI1	22 cp/ml ¹	24	95,8%
Isolaat Hongkong/VM20001061/2020	67 cp/ml ¹	24	100%		
	22 cp/ml ¹	24	57,1%		
		67 cp/ml ¹	24	100%	

¹Need variandid saadi ainult „üld-RNA“ kvantifitseerimisega, mis hõlmab nii viiruse RNA-d kui ka pemeesraku RNA-d.

Analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay reaktsioonivõimet erinevate SARS-CoV-2 kliiniliste isolaatide tuvastamisel näidati *in silico* analüüsil praimerite ja sondidega kõigi võimalike andmebaasis GenBank (seisuga november 2021) kättesaadavate järjestuste vastu veebipõhise tööriistaga NCBI Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Tulemustega tõestati SARS-CoV-2 praimerite ja sondi 100%-line homoloogsus üle 98% järjestustest. Kokku on praimeritel ja sondil > 95%-line homoloogsus kõigi analüüsitud järjestustega.

Laborisene reprodutseeritavus

Analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay laborisest reprodutseeritavust iseloomustati kümne Flu A, Flu B, RSV A, RSV B või SARS-CoV-2 paneeli testimisega, neist igaühel oli lisatud kahel tasemel [mõõdukalt positiivne (5 × LoD) ja madal positiivne (2 × LoD)], ning ühe negatiivse paneeli testimisega. Paneeli testiti kolme ettevõtte GMP toodetud testribade NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip partiiga kahes süsteemis NeuMoDx System kuue järjestikuse päeva jooksul. Paneeli osad valmistati imiteeritud ninaneelu tampooniproovidest, mis valmistati 3000 inimese epiteelirakuga ühe ml universaalse viiruse transpordikeskkonna (UVT) kohta ja millele lisati A-gripi, B-gripi, RSV A, RSV B ja SARS-CoV-2 representatiivne tüvi. Testribad NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip ja lüüsimispuhver NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) on tuvastatud kui peamised analüüsispetsiifilised reaktiivid, mis võivad mõjutada analüüsi tulemuslikkust, ja seetõttu kasutati uuringus VVLB kaasamiseks eeltöödeldud töövoogu. Ct-väärtuste standardhälve analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay testribade kolme partii piires ja kaupa kahel süsteemil NeuMoDx Molecular System oli ≤ 1,2 variatsioonikordajaga (CV) ≤ 4,0% kõikide sihtmärkide korral, näidates suurepäraselt reprodutseeritavust, tabelid 11, 12 ja 13.

Tabel 11. Testribade NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip kõigi süsteemide/partiide/päevade kaupa

Sihtväärtus	Sihttase	Kehtiv N	Positiivsete %	Keskmine Ct	SD	%CV
A-griipp	Kesk. pos.	72	100%	31,21	0,59	1,9%
	Madal pos.	72	100%	32,01	0,58	1,8%
B-griipp	Kesk. pos.	72	100%	31,02	0,39	1,3%
	Madal pos.	72	100%	31,88	0,56	1,7%
RSV A	Kesk. pos.	72	100%	29,71	0,95	3,2%
	Madal pos.	72	100%	30,75	1,18	3,8%
RSV B	Kesk. pos.	72	100%	28,43	0,53	1,9%
	Madal pos.	72	100%	29,45	0,56	1,9%
SARS-CoV-2	Kesk. pos.	72	100%	32,70	0,51	1,5%
	Madal pos.	72	100%	33,68	0,56	1,7%
Tõene negatiivne		72	0%	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata

Tabel 12. Testribade NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip reprodutseeritavus süsteemide kaupa

Paneel		N0000096					N000012				
Sihtväärtus	Sihttase	Kehtiv N	Positiivsete %	Keskmine Ct	SD	%CV	Kehtiv N	Positiivsete %	Keskmine Ct	SD	%CV
A-griipp	Kesk. pos.	36	100%	31,37	0,66	2,1%	36	100%	31,05	0,46	1,5%
	Madal pos.	36	100%	32,07	0,65	2,0%	36	100%	31,95	0,51	1,6%
B-griipp	Kesk. pos.	36	100%	31,10	0,40	1,3%	36	100%	30,94	0,37	1,2%
	Madal pos.	36	100%	31,84	0,57	1,8%	36	100%	31,91	0,55	1,7%
RSV A	Kesk. pos.	36	100%	29,94	0,97	3,2%	36	100%	29,49	0,89	3,0%
	Madal pos.	36	100%	30,93	1,19	3,8%	36	100%	30,57	1,16	3,8%
RSV B	Kesk. pos.	36	100%	28,60	0,58	2,0%	36	100%	28,26	0,42	1,5%
	Madal pos.	36	100%	29,60	0,53	1,8%	36	100%	29,29	0,56	1,9%
SARS-CoV-2	Kesk. pos.	36	100%	32,80	0,56	1,7%	36	100%	32,61	0,43	1,3%
	Madal pos.	36	100%	33,83	0,64	1,9%	36	100%	33,52	0,42	1,2%
Tõene negatiivne		36	0%	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	36	0%	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata

Tabel 13. Testribade NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip reagendipartide kaupa

Paneel		Partii 1				Partii 2				Partii 3			
Sihtväärtus	Sihttase	Kehtiv N	Keskmine Ct	SD	%CV	Kehtiv N	Keskmine Ct	SD	%CV	Kehtiv N	Keskmine Ct	SD	%CV
A-gripp	Kesk. pos.	24	31,06	0,38	1,2%	24	31,49	0,62	2,0%	24	31,08	0,65	2,1%
	Madal pos.	24	32,02	0,59	1,8%	24	32,18	0,50	1,6%	24	31,82	0,61	1,9%
B-gripp	Kesk. pos.	24	31,05	0,39	1,2%	24	31,08	0,47	1,5%	24	30,94	0,29	0,9%
	Madal pos.	24	31,93	0,36	1,1%	24	32,01	0,77	2,4%	24	31,69	0,42	1,3%
RSV A	Kesk. pos.	24	29,04	0,71	2,4%	24	30,40	0,66	2,2%	24	29,69	0,94	3,2%
	Madal pos.	24	31,53	0,50	1,6%	24	29,45	0,79	2,7%	24	31,25	0,87	2,8%
RSV B	Kesk. pos.	24	28,65	0,54	1,9%	24	28,29	0,52	1,8%	24	28,35	0,47	1,7%
	Madal pos.	24	29,31	0,48	1,6%	24	29,46	0,64	2,2%	24	29,57	0,55	1,8%
SARS-CoV-2	Kesk. pos.	24	32,82	0,43	1,3%	24	32,70	0,56	1,7%	24	32,59	0,50	1,5%
	Madal pos.	24	33,42	0,58	1,7%	24	33,80	0,57	1,7%	24	33,81	0,47	1,4%
Tõene negatiivne		24	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	24	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	24	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata

Kliiniline toimivus

Analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay kliinilised toimivusnäitajad määrati sisemise retrospektiivse meetodi võrdlusuuringu abil, kasutades ninaneelu (Nasopharyngeal, NP) tampooni jääkproove, mis olid pärit 4 geograafiliselt erinevast kliinilisest laborist. Uuringusse kaasati ka kliiniliste SARS-CoV-2 positiivsete proovide lahjendused, et näidata kliinilist sensitiivsust LoD lähedal.

Sümptomaatiliste patsientide ninaneelu tampooni jääkproovid anonüümiti ja neile anti tarnelaboris kordumatu ID-number, luues konfidentsiaalse nimekirja, mis seob patsiendi ID uuringu eesmärgil testitud deidentifitseeritud proovidega. Selleks uuringuks koguti 747 individuaalset NP tampooniproovi. Kõik proovid läbisid nii otsese kui ka eeltöödeldud töövoo, mille tulemusena saadi otsese töövoo korral 739 kehtivat ja 8 kehtetut tulemust ning eeltöödeldud töövoo korral 736 kehtivat ja 11 kehtetut tulemust. Nendest kehtivatest proovidest 121 olid ette nähtud ainult A-gripi, B-gripi ja RSV sihtmärkide hindamiseks. Nendest proovidest 54 olid A-gripi suhtes positiivsed, 34 B-gripi suhtes positiivsed ja 33 RSV suhtes positiivsed. Selles 121 proovist koosnevas kohordis tegid kliinilised tarnelaboratooriumid kättesaadavaks kõigi 3 huvipakkuva sihtmärgi tulemused. Seega andis see positiivsete proovide rühm ka 67 A-gripi suhtes negatiivset tulemust, 87 B-gripi suhtes negatiivset tulemust ja 88 RSV suhtes negatiivset tulemust. Eespool nimetatud negatiivsetele tulemustele lisandus 59 kliinilist proovi, mille võrdlusanalüüsi tulemused olid kõigi 4 sihtmärgi suhtes negatiivsed. Kokku tuvastati mõlema töövoo puhul 106 proovi SARS-CoV-2 suhtes positiivsetena. Kliinilised SARS-CoV-2 suhtes negatiivsed tulemused kinnitati kehtiva analüüsi NeuMoDx tulemusega 512 otsese töövoo proovis ja 509 eeltöödeldud töövoo proovis.

„Üksiku pimeuuringu“ korraldamiseks salastati nende proovide testistaatus operatori eest. Meetodite võrdlusanalüüsi tegemiseks kasutati tulemusi, mis saadi konkreetsetest FDA ja CE poolt lubatud, seaduslikult turustatud molekulaarsetest seadmetest, mida kasutati laboratooriumides tavaravi korral testimiseks.

Analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay tulemused andsid A-gripi sihtmärgi suhtes mõlema töövoo puhul kliinilise sensitiivsuse 98,1% ning kliinilise spetsiifilisuse otsese ja eeltöödeldud töövoo puhul vastavalt 100% ja 99,2%. (Tabel 14A). B-gripiviiruse tulemused andsid 97,1%-lise kliinilise sensitiivsuse ja 100%-lise kliinilise spetsiifilisuse mõlema töövoo (tabel 14B). RSVi (diferentseerimata) sihtmärgi tulemused andsid mõlema töövoo puhul kliinilise sensitiivsuse 97% ning kliinilise spetsiifilisuse tase oli otsese ja eeltöödeldud töövoo puhul vastavalt 99,3% ja 98,6%. (tabel 14C). SARS-CoV-2 sihtmärgi tulemused andsid mõlema töövoo puhul kliinilise sensitiivsuse 97,2% ja kliinilise spetsiifilisuse tase oli otsese ja eeltöödeldud töövoo puhul vastavalt 98,4% ja 98,2%. (Tabel 14D). Allpool tabelites 14A, 14B, 14C, ja 14D esitatud 95% usaldusvahemiku (CI) alumised ja ülemised piirid on arvatud Wilsoni protseduuriga koos pidevuse korrigeerimisega.

Tabel 14A. Kliinilise toimivuse kokkuvõte – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: **A-gripiviiruse** tuvastamine (a) otsese töövooga ja (b) eeltöödeldud töövooga

(a) Otsene töövoog

A-gripp		FDA/CE kinnitatud võrdlustesti tulemus		
		POS	NEG	Kokku
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 testi tulemus	POS	53	0	53
	NEG	1	126	127
	Kokku	54	126	180
Kliiniline sensitiivsus (A-gripp) = 98,1% (88,8%–99,9%)				
Kliiniline spetsiifilisus (A-gripp) = 100% (96,3%–100%)				

(b) Eeltöödeldud töövoog

A-gripp		FDA/CE kinnitatud võrdlustesti tulemus		
		POS	NEG	Kokku
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 testi tulemus	POS	53	1	54
	NEG	1	125	126
	Kokku	54	126	180
Kliiniline sensitiivsus (A-gripp) = 98,1% (88,8%–99,9%)				
Kliiniline spetsiifilisus (A-gripp) = 99,2% (95,0%–100%)				

Tabel 14B. Kliinilise toimivuse kokkuvõte – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: **B-gripiviiruse** tuvastamine (a) otsese töövooga ja (b) eeltöödeldud töövooga

(a) Otsene töövoog

B-gripp		FDA/CE kinnitatud võrdlustesti tulemus		
		POS	NEG	Kokku
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 testi tulemus	POS	33	0	33
	NEG	1	146	147
	Kokku	34	146	180
Kliiniline sensitiivsus (B-gripp) = 97,1% (82,9–99,8%)				
Kliiniline spetsiifilisus (B-gripp) = 100% (96,8%–100%)				

(b) Eeltöödeldud töövoog

B-gripp		FDA/CE kinnitatud võrdlustesti tulemus		
		POS	NEG	Kokku
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 testi tulemus	POS	33	0	33
	NEG	1	146	147
	Kokku	34	146	180
Kliiniline sensitiivsus (B-gripp) = 97,1% (82,9–99,8%)				
Kliiniline spetsiifilisus (B-gripp) = 100% (96,8%–100%)				

Tabel 14C. Kliinilise toimivuse kokkuvõte – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: **RSV** tuvastamine (a) otsese töövooga (b) eeltöödeldud töövooga

(a) Otsene töövoog

RSV		FDA/CE kinnitatud võrdlustesti tulemus		
		POS	NEG	Kokku
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 testi tulemus	POS	32	1	33
	NEG	1	146	147
	Kokku	33	147	180
Kliiniline sensitiivsus (RSV) = 97,0% (82,5%–99,8%)				
Kliiniline spetsiifilisus (RSV) = 99,3% (95,7%–100%)				

(b) Eeltöödeldud töövoog

RSV		FDA/CE kinnitatud võrdlustesti tulemus		
		POS	NEG	Kokku
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 testi tulemus	POS	32	2	34
	NEG	1	145	146
	Kokku	33	147	180
Kliiniline sensitiivsus (RSV) = 97,0% (82,5%–99,8%)				
Kliiniline spetsiifilisus (RSV) = 98,6% (94,7%–99,8%)				

Tabel 14D. Kliinilise toimivuse kokkuvõte – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: SARS-CoV-2 tuvastamine (a) otsese töövooga ja (b) eeltöödeldud töövooga

(a) Otsene töövoog

SARS-CoV-2		FDA/CE kinnitatud võrdlustesti tulemus		
		POS	NEG	Kokku
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 testi tulemus	POS	103	8	111
	NEG	3	504	507
	Kokku	106	512	618
Kliiniline sensitiivsus (SARS-CoV-2) = 97,2% (91,3%–99,3%)				
Kliiniline spetsiifilisus (SARS-CoV-2) = 98,4% (96,8%–99,3%)				

(b) Eeltöödeldud töövoog

SARS-CoV-2		FDA/CE kinnitatud võrdlustesti tulemus		
		POS	NEG	Kokku
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 testi tulemus	POS	103	9	112
	NEG	3	500	503
	Kokku	106	509	615
Kliiniline sensitiivsus (SARS-CoV-2) = 97,2% (91,3%–99,3%)				
Kliiniline spetsiifilisus (SARS-CoV-2) = 98,2% (96,5%–99,1%)				

Analüütiline spetsiifilisus ja ristreaktiivsus

Analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay analüütilist spetsiifilisust hinnati paneeliga, mis sisaldas 47 organismi (22 viiruse, 24 bakteri ja 1 pärmseene tüve), mis esindasid levinud hingamisteede haigustekitajaid või hingamisteedes levinud floorat. Baktiereid ja pärmseeni analüüsiti kontsentratsioonides ~6E6 CFU/ml või IFU/ml, kui ei ole teisiti märgitud. Viiruseid analüüsiti kontsentratsioonides 1E5 kuni 1E6 TCID₅₀/ml või koopiat/ml, kui ei ole teisiti märgitud. SARS-CoV-2 ja koroonaviiruste perekonna (229E, OC43, NL63, MERS ja SARS-1) ning *Legionella pneumophila* võimaliku ristreaktiivsuse kinnitamiseks lisati täiendavaid kordusi (> 20), et täita MDCG nõuet SARS-CoV-2 *in vitro* diagnostiliste meditsiiniseadmete kohta. Analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 analüütiline spetsiifilisus oli A-gripiviiruse, B-gripiviiruse, RSV A, RSV B ja SARS-CoV-2 korral 100%.

HKU1 oli teine testitav koroonaviiruse perekonna liige, kuid viiruse ja genoomse RNA kättesaamatuse tõttu testiti 4 sünteetilise materjali kordust. Samuti tehti *in silico* analüüs NeuMoDx SARS-CoV-2 praimerite ja proovide ning GenBankis avaldatud HKU1 koroonaviiruse genoomide vahel, et uurida võimalikku ristreaktiivsust. NIH-i NCBI viiruste andmebaasist saadi kokku 57 HKU1 genoomi järjestust. Kõigis HKU1 järjestustes oli iga NeuMoDx SARS-CoV-2 praimeriga ja sondiga 3 või enam mittevastavust. Lähedast homoloogiat ei leitud. Seetõttu ei ole oodata ristreaktiivsust HKU1 koroonaviiruse ja analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay vahel.

Tabel 15. Analüütilise spetsiifilise tulemused

Organism	Kontsentratsioon	A-gripp	B-gripp	RSV	SARS-CoV-2
1. tüübi adenoviirus	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
7. tüübi adenoviirus	5E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Bordetella pertussis</i> I176	10 ng/ml	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	10 ng/ml	-	-	-	-
<i>Corynebacterium xerosis</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
EBV	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
<i>Hemophilus influenzae</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
HHV 6A	1E6 koopiat/ml	-	-	-	-
HHV 7	1E6 koopiat/ml	-	-	-	-
HHV 8	1E6 koopiat/ml	-	-	-	-
HSV 1	1E6 koopiat/ml	-	-	-	-
HSV 2	1E6 koopiat/ml	-	-	-	-
Inimese koroonaviirus 229E	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Inimese koroonaviirus HKU1	1E6 koopiat/ml	-	-	-	-
Inimese koroonaviirus NL63	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Inimese koroonaviirus OC43	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Inimese enteroviirus 68	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Inimese metapneumoviirus	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Inimese paragripi 1. tüüp	5E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Inimese paragripi 2. tüüp	5E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Inimese paragripi 3. tüüp	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Inimese rinoviiruse 1A tüüp	5E3 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus brevis</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus jensoni</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus lactis</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
Leetiviirus	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
MERS-koroonaviirus EMC/2012	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
Mumpsi viirus	5E5 TCID ₅₀ /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-koroonaviirus	1E6 TCID ₅₀ /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	-	-	-	-
A-gripp, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016	3x LoD	+	-	-	-
B-gripp, Florida/78/2015 (Victoria)	3x LoD	-	+	-	-
RSV A2	3x LoD	-	-	+	-
RSV B (WV/14617/85)	3x LoD	-	-	+	-
SARS-CoV-2, esimene WHO rahvusvaheline standard	3x LoD	-	-	-	+
Negatiivne kontroll (haigustekitajad puuduvad)	Ei kohaldata	-	-	-	-

Tabel 16. Analüütiline spetsiifilisus – koroonaviiruste perekond koos bakteriga *Legionella pneumophila* (analüüsi > 20 kordust)

Organism	Kontsentratsioon	SARS-CoV-2
Inimese koroonaviirus NL63	1,00E + 04 TCID ₅₀ /ml	-
SARS-koroonaviirus-1	1,00E + 06 pfu/ml	-
MERS-koroonaviirus EMC/2012	1,00E + 04 TCID ₅₀ /ml	-
Inimese koroonaviirus 229E	1,00E +05 TCID ₅₀ /ml	-
Inimese koroonaviirus OC43	1,00E +05 TCID ₅₀ /ml	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6,00E +06 CFU/ml	-
Positiivne kontroll: SARS-CoV-2, esimene WHO standard	3x LoD	+
Negatiivne kontroll (haigustekitajad puuduvad)	Ei kohaldata	-

Segavad ained – kommensaalsed organismid

Analüüsil NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay testiti mitte-sihtmärgorganismide juuresolekul (mis võivad esineda ülemistes hingamisteedes) esinevat interferentsi, hinnates analüüsi toimivust madala tasemega (~3X LoD) A-gripiviiruse, B-gripiviiruse, RSV A, RSV B ja SARS-CoV-2 korral eespool esitatud tabelis 15 loetletud organismide suurte kontsentratsioonide juuresolekul. Lisaks sellele lisati SARS-CoV-2 ja koroonaviiruste perekonna (229E, OC43, NL63, MERS ja SARS-1) ning *Legionella pneumophila* (tabel 16) vahelise võimaliku interferentsi kinnitamiseks täiendavaid kordusi (> 20), et täita MDCG nõuet SARS-CoV-2 *in vitro* diagnostikameditsiiniseadmete kohta. Nendes proovidesse lisati SARS-CoV-2 ainult ~3X LoD uuringu interferentsi käsitleva osa jaoks. Kõikide sihtmärkide puhul täheldati 100% tuvastamismäära. Seetõttu ei täheldatud ühegi sihtmärgi tuvastamisel interferentsi ühegi kommensaalse organismiga.

Segavad ained – endogeensed/eksogeensed

Hinnati analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay tundlikkust interferentsi suhtes, mida võivad põhjustada ninaneelu tampooniproovide kogumisega seotud ained. Kliiniliselt negatiivseid ninaneelu tampooniproovide jääke rikastati üksikult A-gripi, B-gripi, RSV A, RSV B või SARS-CoV-2-ga 3X LoD taseme juures ning töödeldi alltoodud tabelis 17 näidatud ainete esinemise ja puudumise korral. Ükski testimisse kaasatud aine ei mõjutanud analüüsi toimivust ühegi sihtmärgiga.

Tabel 17. Interferentsi suhtes testitud ained

	Aine	Kirjeldus/toimeaine	Kontsentratsioon*
Eksogeenne	Neosünefriin	Fenüülefriin	15% (mahu alusel)
	Ninageel – Ayr Saline Nasal Gel	Naatriumkloriid säilitusainetega	15% (mahu alusel)
	Homöopaatiline allergiaravim – Similasaan	Cardiospermum, Sabadilla, Luffa operculate, Galphimia glauca	15% (mahu alusel)
	Nature's Bounty Zinc	Tsinkglükonaat	0,1 mg/ml
	Suukaudne anesteetikum/valuvaigisti – Oragel	Bensokaiin, bensalkooniumkloriid	1% (mahu alusel)
	Ninasprei – Afrin	Oksümetasoliin	15% (massi/mahu alusel)
	Ninasprei – Zicam	<i>Luffa operculata</i> , <i>Galphimia glauca</i> , Histaminum hydrochloricum, väävel	15% (mahu alusel)
	Nasaalne kortikosteroid – Flonase	Flutikasoon	5% (mahu alusel)
	Nasaalne kortikosteroid – Rhinocort	Budesoniid	5% (mahu alusel)
	Nasaalne kortikosteroid – Nasacort	Triamtsinoloon	5% (mahu alusel)
	Nasaalne kortikosteroid – deksametasoon	Deksametasoon	10 mg/ml
	Nasaalne kortikosteroid – mometasoon	Mometasoon	10 mg/ml
	Nasaalne kortikosteroid – beklometasoon	Beklometasoon	10 mg/ml
	Klooraseptiline kurgu loseng	Bensokaiin, mentool	2 mg/ml
	Antibiootikum, ninasalv	Mupirotsiin	10 mg/ml
	Viirusevastane ravim Relenza	Zanamiviir	7,5 mg/ml
	Viirusevastane ravim Tamiflu	Oseltamiviir	25 mg/ml
	Süsteemne antibiootikum	Tobramütsiin	15 mg/ml
Endogeenne	Mutsiin	Puhastatud mutsiini valk	2,5% (massi/mahu alusel)
	Inimese veri	Veri	2% (mahu alusel)

*Märkus. Näidatud kontsentratsioone kasutatakse tampoonide immutamiseks enne kunstlike positiivsete kliiniliste proovide doseerimist segava ainega. Seega tähistavad need tampooniproovi kogumise asukoha taset, mis on vastuvõetav.

Ristsaastumine

Analüüside NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay ristsaastumise tase määrati süsteemides NeuMoDx Molecular 288 ja 96, töödeldes kõrge positiivse ja negatiivse sisaldusega proove vaheldumisi malelauda mustri järgi. Kõik proovid koosnesid imiteeritud NP tampooniproovi materjalist, kusjuures positiivsete proovide kontsentratsioon oli $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml (või $\geq 10\,000 \times$ LoD). Tehtu viis komplekti malelauda mustri järgi analüüsi, mille tulemusena saadi nii süsteemi NeuMoDx 288 kui ka 96 Molecular System kohta 60 negatiivset kordust ja 60 positiivset kordust. Mõlemal süsteemil tuvastati kõik negatiivse proovi 120 kordust õigesti negatiivsetena, mis näitab NeuMoDx süsteemides proovide töötlemisel ristsaastumise puudumist.

Analüüsiks kuluv aeg

Analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 8 proovi töötlemiseks kulus süsteemil N288 umbes 85 minutit ja süsteemil NeuMoDx 96 kulus 4 proovi töötlemiseks umbes 78 minutit.

Kogu süsteemi veamäär

Analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay kogu süsteemi veamäär hinnati analüüsides üht SARS-CoV-2 sihtmäärataset kontsentratsiooniga $\sim 3 \times$ LoD, mis valmistati kliiniliselt negatiivsete ninaneelu tampooniproovidega, mis olid rikastatud SARS-CoV-2 esimese MTO rahvusvahelise standardi järgi. Seadmetel NeuMoDx 96 ja 288 Molecular Systems töödeldi otsest töövoogu kasutades 200 kokku kordust (100 kordust süsteemi kohta). Veamäär arvatati valenegatiivsete tulemuste protsendina saadud kehtivate tulemuste koguarvust. Nii spsteemi NeuMoDx 96 kui ka NeuMoDx 288 Molecular System puhul oli sihtmärgi SARS-CoV-2 tuvastamismäär analüüsis NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 100%, mis näitab, et mõlema süsteemi veamäär on 0%.

Süsteemi usaldusväärsus – inhibitsioon

Inhibeerimise määr leiti, arvutades kõigi negatiivsete proovide tulemuse Unresolved (lahendamata) (proovi protsessikontrolli ei amplifitseeritud, süsteemi tõrget polnud) määra negatiivsetes proovides, mida kasutati kontrollimise ja kinnitamise uuringutes. Kokku saadi 1221 negatiivset töödeldud proovist 11 tulemust Unresolved (lahendamata), mis näitab, et analüüsi NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay inhibeerimise määr on 0,9%.

VIITED

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.

KAUBAMÄRGID

BD™ on ettevõtte Becton, Dickinson, and Company kaubamärk

Hamilton® on ettevõtte Hamilton Company registreeritud kaubamärk

Minitip Nylon® Flocked Swab on ettevõtte Copan Diagnostics, Inc. registreeritud kaubamärk.

NeuMoDx™ ja NeuDry™ on ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. kaubamärgid.


TaqMan® on ettevõtte Roche Molecular Systems, Inc. registreeritud kaubamärk.

UTM-RT® on ettevõtte Copan Diagnostics, Inc. registreeritud kaubamärk.

Kõik muud tootenimed, kaubamärgid ja registreeritud kaubamärgid, mis võivad esineda selles dokumendis, on nende vastavate omanike omandid.

SÜMBOLITE SELETUSED

R only	Ainult retseptiga kasutamiseks		Mitte korduskasutada
	Tootja		Sisaldab piisavalt <n> testi jaoks
IVD	<i>In vitro</i> diagnostiline meditsiiniseade		Vaadake kasutusjuhendit
EC REP	Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses		Ettevaatust
REF	Katalooginumber	CE	CE-märgis
LOT	Partii kood	CONT	Sisaldab
	Kasutamise lõppkuupäev		Sisaldab loomset päritolu bioloogilist materjali
	Temperatuuri piir		

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

Tehniline tugi /järelvalve aruandlus: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents

EC REP

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

CE