

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

R only

PRECAUCIÓN: Para exportaciones de EE. UU. exclusivamente

IVD Para uso diagnóstico *in vitro* con el NeuMoDx 288 y el NeuMoDx 96 Molecular System



Puede acceder a la versión electrónica en www.qiaqen.com/neumodx-ifu

Para obtener instrucciones detalladas, consulte el Manual del operador del NeuMoDx 288 Molecular System; ref. 40600108

Para obtener instrucciones detalladas, consulte el Manual del operador del NeuMoDx 96 Molecular System; ref.: 40600317

USO PREVISTO

El NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay es una prueba diagnóstica múltiple *in vitro* de RCP-TI inmediata diseñada para la detección cualitativa y la diferenciación simultáneas del ARN del virus de la gripe A, del virus de la gripe B, del virus respiratorio sincicial (VRS) y del SARS-CoV-2 a partir de muestras de exudado nasofaríngeo (NF) recogidas en medio de transporte procedentes de personas con signos y síntomas de una enfermedad similar a la gripe (ESG).

El NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, tal como se utiliza en el NeuMoDx 288 Molecular System y en el NeuMoDx 96 Molecular System incorpora la extracción automatizada de ARN para aislar el ácido nucleico diana de la muestra y la RCP-TI inmediata, que actúa en una única región conservada en el caso de la gripe A y el VRS, y en dos regiones conservadas en el caso del SARS-CoV-2 y la gripe B.

Los resultados de esta prueba no deben utilizarse como única base para el diagnóstico, la terapia u otras decisiones relacionadas con el tratamiento del paciente. Los resultados positivos indican la presencia de ARN de SARS-CoV-2 y/o gripe A y/o gripe B y/o VRS, pero no descartan las infecciones bacterianas ni las infecciones concomitantes por otros virus. Es necesaria la correlación clínica con los antecedentes del paciente y otra información de diagnóstico para determinar el estado de infección del paciente.

Los resultados negativos no excluyen la infección por gripe A, gripe B, VRS o SARS-CoV-2 y no deben utilizarse como única base para el diagnóstico, la terapia u otras decisiones relacionadas con el tratamiento del paciente. Los resultados negativos se deben combinar con observaciones clínicas, los antecedentes del paciente y/o información epidemiológica.

El NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay está concebido para su uso por parte de personal de laboratorio clínico capacitado que ha recibido instrucción y formación específicas sobre las técnicas de RCP-TI inmediata y los procedimientos de diagnóstico *in vitro*, así como sobre los NeuMoDx Molecular Systems. El NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay no debe utilizarse para el autodiagnóstico ni para el uso en el punto de atención.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay es un ensayo cualitativo para su uso en los sistemas de instrumentos NeuMoDx 96 y NeuMoDx 288 para la detección del ARN del SARS-CoV-2, la gripe A, la gripe B y/o el VRS en muestras de exudado nasofaríngeo. El ensayo no diferencia entre el ARN del VRS A y del VRS B. Las muestras de exudado nasofaríngeo se recogen en el Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) (Copan UTM-RT, Copan, CA, EE. UU.) o en el BD™ Universal Viral Transport System (UVT) (BD™ UVT, BD, NJ, EE. UU.). La prueba utiliza un control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC2) interno de ARN que se incorpora durante la preparación de las muestras y sirve para supervisar todo el proceso de preparación de muestras, transcripción inversa y amplificación de la RCP. El NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay permite hasta dos flujos de trabajo de procesamiento de muestras en función de las necesidades del laboratorio: un flujo de trabajo directo y un flujo de trabajo pretratado. El NeuMoDx Molecular System realiza automáticamente todos los pasos necesarios para extraer los ácidos nucleicos diana, prepara el ARN aislado para la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RCP-TI) inmediata y, si están presentes, efectúa la transcripción inversa, amplifica y detecta los productos de la amplificación. El NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay actúa en las regiones conservadas de los genes de NSP2 y O-ribosa metiltransferasa del SARS-CoV-2, en las regiones de la proteína matriz del virus de la gripe A y del virus respiratorio sincicial, y en los genes de la proteína matriz y de la proteína no estructural NS1 del virus de la gripe B.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El estado actual de la técnica de detección de infecciones agudas por gripe A/gripe B/VRS/SARS-CoV-2 consiste en la amplificación de los ácidos nucleicos de las regiones conservadas dentro del genoma del analito, lo que va en consonancia con la RCP inmediata con transcripción inversa que emplea el NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, tal como se realiza en el NeuMoDx 288 Molecular System y el NeuMoDx 96 Molecular System.

El NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay combina la extracción de ARN y la amplificación/detección automatizadas del ARN del SARS-CoV-2, de la gripe A, de la gripe B y/o del VRS mediante RCP-TI inmediata. Las muestras de exudado nasofaríngeo se recogen en el Copan UTM-RT System o en el BD™ UVT System. El flujo de trabajo directo permite que se asigne un código de barras al tubo de recogida de exudado primario o una alícuota del medio de transporte que se encuentra en un tubo secundario y se carguen en el NeuMoDx System para su procesamiento. Como alternativa, la muestra de exudado del medio de transporte se puede tratar con el mismo volumen de NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) antes de cargarla en el sistema sin ninguna otra intervención del usuario. El NeuMoDx System aspira automáticamente una alícuota de la muestra para mezclarla con el NeuMoDx Lysis Buffer 3 en el flujo de trabajo directo o una alícuota de la muestra pretratada para mezclarla con el Lysis Buffer 2 y los reactivos que contiene la NeuMoDx Extraction Plate para comenzar el procesamiento. En concreto, con el flujo de trabajo directo, se asigna un código de barras al tubo de extracción primario (con el hisopo y el tapón quitados) o a una alícuota del medio de muestra en un tubo de muestras secundario y se cargan en el NeuMoDx System utilizando un soporte de tubos de muestras específico. En el flujo de trabajo pretratado, la muestra del medio de transporte se trata con el mismo volumen de NeuMoDx VVLB antes de cargarla en el sistema. En el flujo de trabajo directo, el NeuMoDx System aspira una alícuota de 400 µl de la muestra y la mezcla con el mismo volumen de NeuMoDx Lysis Buffer 3, mientras que, en el flujo de trabajo pretratado, se combinan 550 µl de la muestra pretratada con el mismo volumen de Lysis Buffer 2. El NeuMoDx System automatiza e integra la extracción y la concentración de ARN, la preparación de los reactivos, y la amplificación y la detección del ácido nucleico de las secuencias del analito mediante RCP-TI inmediata. El control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC2) ayuda a supervisar la presencia de posibles sustancias inhibitoras, así como los fallos de los reactivos, del proceso o del sistema. No es necesaria la intervención del operador una vez cargada la muestra en el NeuMoDx System.

El NeuMoDx System utiliza una combinación de calor, enzimas líticas y reactivos de extracción para realizar automáticamente la lisis, la extracción del ARN y la eliminación de inhibidores. Las partículas paramagnéticas capturan los ácidos nucleicos liberados. Las partículas con ácido nucleico unido se cargan en el NeuMoDx Cartridge, donde los elementos no unidos se eliminan con el NeuMoDx Wash Reagent. A continuación, el ARN unido se eluye utilizando el NeuMoDx Release Reagent. El NeuMoDx System utiliza el ARN eluido para rehidratar los reactivos de amplificación NeuDry™ patentados que contienen todos los elementos necesarios para la amplificación de los analitos de la gripe A, la gripe B, el VRS, el SARS-CoV-2 y el SPC2. Esto permite la amplificación y la detección simultáneas de todas las secuencias de ARN de los analitos y el control de proceso de muestras. Tras la reconstitución de los reactivos secos para RCP-TI, el NeuMoDx System dispensa la mezcla preparada para la RCP-TI en una cámara de RCP (por muestra) del NeuMoDx Cartridge. La transcripción inversa, la amplificación y la detección de las secuencias del analito y de control (si están presentes) tienen lugar en la cámara de RCP. El NeuMoDx Cartridge está diseñado para contener el amplicón generado tras la RCP-TI, eliminando prácticamente el riesgo de contaminación después de la amplificación.

Los analitos amplificados se detectan en tiempo real utilizando productos químicos de sonda de hidrólisis (frecuentemente denominados productos químicos TaqMan®) mediante moléculas de sonda de oligonucleótidos fluorógenos específicas de los amplicones para sus respectivos analitos. Las sondas TaqMan constan de un fluorocromo unido covalentemente al extremo 5' de la sonda de oligonucleótidos y un supresor de la señal en el extremo 3'. Mientras la sonda está intacta, el fluorocromo y el supresor de la señal están cerca, lo que permite que la molécula supresora de la señal extinga la fluorescencia que emite el fluorocromo mediante la Transferencia de energía de resonancia de Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Las sondas TaqMan están diseñadas para hibridarse en una región de ADNc amplificada por un conjunto específico de cebadores. A medida que el ADN polimerasa Taq extiende el cebador y sintetiza la nueva hebra, la actividad de la exonucleasa 5' a 3' del ADN polimerasa Taq degrada la sonda que se ha hibridado con la plantilla. La degradación de la sonda libera el fluorocromo y rompe su proximidad con el supresor de la señal, por lo que se vence el efecto supresor debido a la FRET y se permite la detección del fluorocromo. La señal fluorescente resultante detectada en el termociclador de RCP-TI NeuMoDx System es directamente proporcional al fluorocromo liberado y se puede correlacionar con la cantidad de analito presente.

En la siguiente tabla, se presenta el canal de detección de fluorescencia para cada uno de los analitos del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay. El software del NeuMoDx System supervisa la señal fluorescente que emiten las sondas TaqMan al final de cada ciclo de amplificación. Una vez que ha finalizado el termociclado, el software del NeuMoDx System analiza los datos y genera un informe del resultado (POSITIVE [Positivo], NEGATIVE [Negativo], INDETERMINATE [Indeterminado], NO RESULT [Sin resultado] o UNRESOLVED [No resuelto]).

Tabla 1. Canales de detección

Analito	Región del analito	Fluorocromo de la sonda	Excitación/Emisión	Canal de detección
Gripe A	Proteína matriz	FAM	530/555 nm	Verde
Gripe B	Proteína matriz	HEX	470/510 nm	Amarillo
	Proteína no estructural NS1			
SARS-CoV-2	Gen de NSP2	Rojo Texas	585/610 nm	Naranja
	O-ribosa metiltransferasa			
Virus respiratorio sincicial	Proteína matriz	Q705	680/715 nm	Rojo lejano
SPC2	Proteína agrupada (MS2)	Q670	625/660 nm	Rojo

REACTIVOS/CONSUMIBLES

Materiales suministrados

REF	Contenido	Unidades por paquete	Pruebas por unidad	Pruebas por paquete
300901	NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip <i>Reactivos secos para RCP-TI que contienen sondas y cebadores TaqMan específicos de gripe A/gripe B/VRS/SARS-CoV-2, así como sondas y cebadores TaqMan específicos de SPC2. Contiene Tris-HCl al 21,1 %, dNTP al 8,4 % y otros ingredientes inactivos</i>	6	16	96

Materiales necesarios pero no suministrados (disponibles por separado en NeuMoDx)

REF	Contenido
901200	NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls <i>Conjuntos de controles positivos y negativos de gripe A/gripe B/VRS/SARS-CoV-2 de un solo uso para establecer la validez diaria del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay (1 vial de cada control = 1 conjunto)</i>
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Partículas paramagnéticas, enzima lítica y controles de proceso de muestras secos</i>
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	Puntas Hamilton® CO-RE / CO-RE II (300 µl) con filtros
235905	Puntas Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µl) con filtros

* Se requiere únicamente para el procesamiento de las muestras con el flujo de trabajo directo, sin ningún paso de pretratamiento. Consulte la sección "Instrucciones de uso" a continuación.

**** Se requiere únicamente si se procesan las muestras con el flujo de trabajo pretratado, con un paso de pretratamiento. Consulte la sección "Instrucciones de uso" a continuación.**

Hisopos y medios de transporte (no suministrados)

Tipo de muestra	Dispositivo de recogida recomendado	Hisopo recomendado
Exudado nasofaríngeo	3 ml Universal Transport Medium (Copan UTM-RT, Copan, CA, EE. UU., 305C)	Flexible Minitip Nylon® Flocked Swab (Copan, CA, EE. UU.)
	3 ml Universal Viral Transport System (BD UVT, BD, NJ, EE. UU., BD 220531)	Flexible Minitip Flocked Swab (BD, NJ, EE. UU.)

Instrumentos necesarios

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] o **NeuMoDx 96 Molecular System** [REF 500200]
NeuMoDx System Software versión 1.9.2.6 o superior



PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- El NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay está concebido para uso diagnóstico *in vitro* exclusivamente con los NeuMoDx Systems.
- No utilice los reactivos o consumibles después de la fecha de caducidad indicada.
- No utilice los reactivos si el sello de seguridad está roto o si el embalaje está dañado en el momento de su recepción.
- No utilice consumibles o reactivos si la bolsa protectora está abierta o rota en el momento de su recepción.
- El volumen mínimo de la muestra de las alícuotas secundarias depende del tamaño del tubo/soporte de tubos de muestras, tal y como se define a continuación. Un volumen de muestra por debajo del valor mínimo especificado podría dar lugar al error "Quantity Not Sufficient" (Cantidad insuficiente).
- El uso de muestras almacenadas a temperaturas inadecuadas o más allá de los tiempos de almacenamiento especificados puede producir resultados erróneos o no válidos.
- Evite la contaminación microbiana y por ribonucleasa de todos los reactivos y consumibles. Se recomienda el uso de pipetas de transferencia estériles sin ribonucleasa y desechables cuando se utilizan tubos secundarios. Utilice una pipeta nueva para cada muestra.
- Para evitar la contaminación, no manipule ni separe los NeuMoDx Cartridge después de la amplificación. No recupere los NeuMoDx Cartridges del contenedor para desechos con riesgo biológico (NeuMoDx 288 Molecular System) ni del recipiente para desechos con riesgo biológico (NeuMoDx 96 Molecular System) bajo ninguna circunstancia. El NeuMoDx Cartridge está diseñado para evitar la contaminación.
- En caso de que el laboratorio también realice pruebas de la RCP con el tubo abierto, debe prestarse atención para garantizar que la NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip, los consumibles y reactivos adicionales necesarios para las pruebas, el equipo de protección individual (como los guantes y las batas de laboratorio) y el NeuMoDx System no estén contaminados.
- Se deben llevar guantes limpios de nitrilo sin talco al manipular los reactivos y consumibles NeuMoDx. Se debe tener cuidado de no tocar la superficie superior del NeuMoDx Cartridge, la superficie del sello metálico de la NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip ni de la NeuMoDx Extraction Plate, o la superficie superior del recipiente del NeuMoDx Lysis Buffer; para manipular los consumibles y los reactivos, solo se deben tocar las superficies laterales.
- Los NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls [REF 901200] se deben procesar cada 24 horas a lo largo del análisis con el NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.
- Se proporcionan las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) de cada reactivo (según proceda) en www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Lávese bien las manos después de realizar la prueba.
- No pipetee con la boca. No fume, beba ni coma en zonas en las que se estén manipulando las muestras o los reactivos.
- Manipule siempre las muestras como material infeccioso y de acuerdo con los procedimientos seguros de laboratorio como los descritos en *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹ y en el documento M29-A4 del CLSI.²
- Al trabajar con productos químicos, lleve siempre una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección adecuados. Para obtener más información, consulte las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheet, SDS) pertinentes.
- Elimine los reactivos no utilizados y los residuos de acuerdo con la normativa nacional, provincial, regional y local.

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



Contiene: ácido bórico; nonilfenol etoxilado. Peligro. Causa irritación de la piel. Causa irritación grave de los ojos. Puede afectar a la fertilidad o al bebé no nacido. Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos duraderos. Obtener instrucciones especiales antes del uso. No manipular hasta haber leído y comprendido todas las precauciones de seguridad. Llevar guantes de protección, prendas de protección, gafas y máscara de protección. Si se produce exposición o surgen preocupaciones: consultar a un médico. Guardar bajo llave. Eliminar el contenido o el recipiente en un centro de eliminación de residuos certificado.

Información para emergencias

CHEMTREC

Fuera de EE. UU. Y Canadá +1 703-527-3887

Eliminación

El producto contiene nonilfenol etoxilado, una sustancia alteradora del sistema endocrino que puede tener efectos adversos en el medio ambiente.

Elimine el producto como residuo peligroso de conformidad con la normativa local y nacional. Esto también se aplica a los productos no utilizados.

No tire los residuos líquidos al alcantarillado.

Siga las recomendaciones de la ficha de datos de seguridad (Safety Data Sheet, SDS).



ALMACENAMIENTO, MANIPULACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS PRODUCTOS

- Las NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips permanecen estables en el embalaje primario hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta externa del producto cuando se almacenan a una temperatura de 15 °C a 28 °C.
- No vuelva a cargar ningún producto para pruebas que se haya cargado previamente en otro NeuMoDx System.
- Una vez cargada, la NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip puede permanecer en el NeuMoDx System durante 14 días. La vida útil restante de las tiras reactivas cargadas la controla el software, que informa al usuario en tiempo real. La retirada de una tira reactiva que se ha utilizado más tiempo del permitido la solicitará el NeuMoDx System.

RECOLECCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

Manipule todas las muestras como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos.

- Las muestras se deben recoger empleando el Copan UTM-RT® System o el BD™ UVT System con los hisopos flocados de nylon validados (consulte la sección “Hisopos y medios de transporte”). Además, los hisopos flocados, de poliéster y de nylon son tipos de hisopo aceptables. Siga las instrucciones del fabricante para la recolección, el transporte y el almacenamiento de muestras.
- Las muestras se pueden analizar en tubos de recogida primarios o en tubos de muestras secundarios compatibles.
- Las muestras pueden almacenarse en el NeuMoDx System hasta 8 horas antes del procesamiento. Si es necesario prolongar el tiempo de almacenamiento, se recomienda refrigerar o congelar las muestras como alícuotas de secundarias.
- Las muestras preparadas deben almacenarse a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 7 días antes de realizar el análisis.
- Si las muestras se van a transportar, deben empaquetarse y etiquetarse de conformidad con las normativas nacionales y/o internacionales que correspondan.
- Continúe con la sección *Preparación de las pruebas*.

PREPARACIÓN DE LAS PRUEBAS

El NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay ofrece dos flujos de trabajos diferentes, en función de la preferencia del laboratorio o del usuario:

Flujo de trabajo 1: **DIRECT (DIRECTO)**: las muestras de exudado en medio de transporte se cargan directamente en el NeuMoDx System en un tubo de recogida primario o en un tubo de muestras secundario

o

Flujo de trabajo 2: **PRETREATED (PRETRATADO)**: las muestras de exudado en medio de transporte se pretratan con el NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer antes de cargarlas en el NeuMoDx System en un tubo de recogida primario o en un tubo de muestras secundario

Preparación de las pruebas: flujo de trabajo DIRECT (DIRECTO) para muestras de exudado directas

- Aplique una etiqueta de código de barras de muestra a un tubo de muestras compatible con el NeuMoDx System tal como se describe en el paso 3 que aparece más abajo.
- Si realiza el análisis de la muestra en el tubo de recogida primario, coloque el tubo con código de barras en un soporte de tubos de muestras y asegúrese de que se quiten el tapón y el hisopo antes de cargarlo en el NeuMoDx System.
- De manera alternativa, se puede transferir una alícuota del medio de transporte a un tubo secundario con código de barras y colocarla en un soporte de tubos de muestras. Si utiliza un tubo secundario, transfiera una alícuota del medio de transporte al tubo de muestra con código de barras compatible con el NeuMoDx System según los volúmenes que se definen a continuación:
 - Soporte de tubos de muestras (32 tubos): 11-14 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo $\geq 600 \mu\text{l}$
 - Soporte de tubos de muestras (24 tubos): 14,5-18 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo $\geq 1000 \mu\text{l}$
 - Soporte de tubos de muestras de volumen bajo (32 tubos): Tubo de microcentrífuga de fondo cónico de 1,5 ml; volumen de llenado mínimo $\geq 500 \mu\text{l}$

Preparación de las pruebas: flujo de trabajo PRETREATED (PRETRATADO) para muestras de exudado pretratadas

Nota: Lleve el Vantage Viral Lysis Buffer a temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) antes de utilizarlo.

ADVERTENCIA: El pretratamiento de las muestras de exudado con el NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer no garantiza la inactivación de cualquier virus presente. Todas las muestras se deben manipular como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos.

1. Pretrate el medio de transporte de las muestras con un volumen de proporción 1:1 de NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. Esto se puede llevar a cabo en el tubo de recogida de exudado primario si se conoce el volumen del medio de transporte. Como alternativa, el pretratamiento se puede realizar en un tubo secundario mediante la combinación de una alícuota del medio de transporte con el mismo volumen de NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. La mezcla resultante debe cumplir los requisitos de volumen mínimo que se especifican en el paso 4 a continuación.
2. Mezcle suavemente con una pipeta para asegurar una distribución uniforme del NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer.
3. Si realiza el análisis de la muestra pretratada en el tubo de recogida primario, coloque el tubo con código de barras en un soporte de tubos de muestras y asegúrese de que se quiten el tapón y el hisopo antes de cargarlo en el NeuMoDx System.
4. Si utiliza un tubo secundario, transfiera una alícuota de la muestra pretratada a un tubo de muestra con código de barras compatible con el NeuMoDx System y colóquelo en un soporte de tubos de muestras en función de los volúmenes que se definen a continuación:
 - Soporte de tubos de muestras (32 tubos): 11-14 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo $\geq 750 \mu\text{l}$
 - Soporte de tubos de muestras (24 tubos): 14,5-18 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo $\geq 1100 \mu\text{l}$
 - Soporte de tubos de muestras de volumen bajo (32 tubos): Tubo de microcentrífuga de fondo cónico de 1,5 ml; volumen de llenado mínimo $\geq 650 \mu\text{l}$

Funcionamiento del NeuMoDx System

Para obtener instrucciones detalladas, consulte los Manuales del operador del NeuMoDx 288 y el 96 Molecular System (ref. 40600108 y 40600317)

1. Cargue el pedido de prueba en el NeuMoDx System según el flujo de trabajo utilizado para la preparación de las pruebas:
 - Las muestras de exudado sin tratar y puras preparadas utilizando el flujo de trabajo DIRECT (DIRECTO) se prueban definiéndolas como "Transport Medium" (Medio de transporte)
 - Las muestras de exudado pretratadas con NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer utilizando el flujo de trabajo PRETREATED (PRETRATADO) se prueban definiéndolas como "UserSpecified1" (Especificada por el usuario 1)Si no se define en el pedido de prueba, se utilizará el tipo de muestra Transport Medium (Medio de transporte) (flujo de trabajo directo) en un **Secondary Tube** (Tubo secundario) de forma predeterminada.
2. Rellene uno o más soportes de tiras reactivas del NeuMoDx System con NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips y utilice la pantalla táctil para cargar el o los soportes de tiras reactivas en el NeuMoDx System.
3. Si se lo pide el software del NeuMoDx System, añada los consumibles necesarios a los soportes de consumibles del NeuMoDx System y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes en el NeuMoDx System.
4. Si se lo pide el software del NeuMoDx System, sustituya el NeuMoDx Wash Reagent o el NeuMoDx Release Reagent y vacíe los residuos de cebado, el contenedor para desechos con riesgo biológico (solo el NeuMoDx 288 Molecular System), el recipiente para puntas de desecho (solo el NeuMoDx 96 Molecular System) o el recipiente para desechos con riesgo biológico (solo el NeuMoDx 96 Molecular System), según resulte adecuado.
5. Cargue los tubos de muestras en el soporte de tubos de muestras y asegúrese de que se hayan retirado los tapones y los hisopos de todos los tubos.
6. Coloque el soporte de tubos de muestras en el estante del cargador automático y utilice la pantalla táctil para cargar el soporte en el NeuMoDx System. De ese modo, se iniciará el procesamiento de las muestras cargadas para los análisis identificados, dado que hay un pedido de prueba válido en el sistema.

LIMITACIONES

1. La NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip solo puede utilizarse en NeuMoDx Systems.
2. El rendimiento de la NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip se ha establecido para muestras de exudado faríngeo en medio de transporte recogidas por el médico. No se ha evaluado el uso de la NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip con otros tipos de muestras y medios de recogida, y se desconocen las características del rendimiento.
3. Dado que la detección de analitos víricos suele depender del número de partículas víricas presentes en la muestra, los resultados fiables dependen de una recogida, una manipulación y un almacenamiento correctos de las muestras.
4. Los resultados erróneos se podrían deber a una recogida, una manipulación o un almacenamiento incorrectos de la muestra, o bien a un error técnico o a una confusión con los tubos de muestras. Además, podrían producirse resultados negativos falsos debido a que el número de partículas víricas de la muestra es inferior al límite de detección del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.
5. El funcionamiento del NeuMoDx System solo puede estar a cargo de personal con formación en el uso del NeuMoDx System.
6. Si no se amplifican ni el analito de la gripe A, de la gripe B, del VRS y del SARS-CoV-2 ni el analito del SPC2, se emitirá una notificación de un resultado no válido (Indeterminate [Indeterminado] o Unresolved [No resuelto]) y deberá repetirse la prueba.

7. Si se produce un error en el sistema antes de procesar la muestra, se notificará “No Result” (Sin resultado) y se tendrá que repetir la prueba.
8. Un resultado positivo no es necesariamente indicativo de la presencia viable de la gripe A, la gripe B, el SARS-CoV-2 y/o el VRS. Sin embargo, un resultado positivo indica una posible presencia de ARN de la gripe A, la gripe B, el SARS-CoV-2 y/o el VRS.
9. Las eliminaciones o mutaciones en las regiones conservadas diana del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay pueden afectar a la detección y podrían dar lugar a un resultado erróneo.
10. Los resultados del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay deben utilizarse como complemento de las observaciones clínicas y otra información que el médico tenga a su disposición.
11. Para evitar la contaminación, se recomienda seguir las prácticas recomendadas de laboratorio, entre las que se incluye cambiar de guantes entre la manipulación de las muestras de pacientes.

RESULTADOS

Los resultados disponibles se pueden ver o imprimir desde la pestaña Results (Resultados), en la ventana Results (Resultados) en la pantalla táctil del NeuMoDx System. El software del NeuMoDx System genera automáticamente los resultados del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay utilizando el algoritmo de decisión y los parámetros de procesamiento de los resultados especificados en el archivo de definición de ensayo (Assay Definition File, ADF) del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay (versión 4.0.0 o superior del FluA-B-RSV-CoV-2 ADF). El resultado de un NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay puede notificarse como Negative (Negativo), Positive (Positivo), Indeterminate (Indeterminado), No Result (Sin resultado) o Unresolved (No resuelto), en función del estado de amplificación de los analitos y el SPC2. Los resultados se notifican en función del algoritmo de decisión para el procesamiento de los resultados del ADF, tal como se resume en la *tabla 2* que aparece a continuación.

Tabla 2. Interpretación de los resultados del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay

GLOBAL RESULTADO	ANALITO 1 (gripe A) FAM	ANALITO 2 (gripe B) HEX	ANALITO 3 (SARS-CoV-2) ROJO TX	ANALITO 4 (VRS) Rojo lejano	CONTROL DE PROCESO (SPC2) Rojo	INTERPRETACIÓN
POSITIVE (POSITIVO) (ARN diana detectado)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) [5 ≤ Ct < 25 AND (Y) EPR > 2,0 AND (Y) EP ≥ 750] OR (O) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (Y) EP ≥ 750)	N/D	N/D	N/D	N/D	Se ha detectado ARN de la gripe A
	N/D	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) [5 ≤ Ct < 28 AND (Y) EPR > 1,5 AND (Y) EP ≥ 600] OR (O) [28 ≤ Ct ≤ 37 AND (Y) EP ≥ 600]	N/D	N/D	N/D	Se ha detectado ARN de la gripe B
	N/D	N/D	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) [5 ≤ Ct < 25 AND (Y) EPR > 1,5 AND (Y) EP ≥ 1200] OR (O) [25 ≤ Ct ≤ 37 AND (Y) EP ≥ 1200]	N/D	N/D	Se ha detectado ARN del SARS-CoV-2
	N/D	N/D	N/D	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) [5 ≤ Ct < 30 AND (Y) EPR > 1,15 AND (Y) EP ≥ 1200] OR (O) [30 ≤ Ct ≤ 37 AND (Y) EP ≥ 1200]	N/D	Se ha detectado ARN del VRS
NEGATIVE (NEGATIVO) (ARN diana no detectado)	NOT AMPLIFIED (NO AMPLIFICADO) N/D OR (O) (5 ≤ Ct < 25 AND (Y) EPR ≤ 2,0) OR (O) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (Y) EP < 750) OR (O) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (NO AMPLIFICADO) N/D OR (O) (5 ≤ Ct < 28 AND (Y) EPR ≤ 1,5) OR (O) (28 ≤ Ct ≤ 37 AND (Y) EP < 600) OR (O) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (NO AMPLIFICADO) N/D OR (O) (5 ≤ Ct < 25 AND (Y) EPR ≤ 1,5) OR (O) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (Y) EP < 1200) OR (O) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (NO AMPLIFICADO) N/D OR (O) (5 ≤ Ct < 30 AND (Y) EPR ≤ 1,15) OR (O) (30 ≤ Ct ≤ 37 AND (Y) EP < 1200) OR (O) (Ct > 37)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) (24 ≤ Ct ≤ 31 AND (Y) EP ≥ 1800)	No se ha detectado ARN de la gripe A, la gripe B, el VRS y el SARS-CoV-2

GLOBAL RESULTADO	ANALITO 1 (gripe A) FAM	ANALITO 2 (gripe B) HEX	ANALITO 3 (SARS-CoV-2) ROJO TX	ANALITO 4 (VRS) Rojo lejano	CONTROL DE PROCESO (SPC2) Rojo	INTERPRETACIÓN
NR*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (No amplificado, se ha detectado un error del sistema, procesamiento de la muestra anulado)					El procesamiento de la muestra fue anulado; vuelva a realizar la muestra
IND*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (No amplificado, se ha detectado un error del sistema, procesamiento de la muestra completado)					Todos los resultados del analito fueron no válidos; vuelva a analizar la muestra
UNR*	Not Amplified, No System Error Detected (No amplificado, no se ha detectado ningún error del sistema)					Todos los resultados del analito fueron no válidos; vuelva a analizar la muestra

* El sistema cuenta con la opción Rerun/Repeat (Nuevo análisis/repetición) para habilitar el reprocesamiento automático en caso de obtener un resultado no válido y para minimizar así las demoras en la notificación de resultados.

Resultados no válidos

Si un NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay realizado en el NeuMoDx System no logra generar un resultado válido, se notificará como Indeterminate (Indeterminado), No Result (Sin resultado) o Unresolved (No resuelto) según el tipo de error que se haya producido, y la prueba se debe repetir para obtener un resultado válido.

Se notificará un resultado Indeterminate (Indeterminado) si se detecta un error del NeuMoDx System durante el procesamiento de la muestra. En caso de obtener un resultado Indeterminate (Indeterminado), se recomienda repetir la prueba.

Se notificará un resultado No Result (Sin resultados) si se detecta un error del NeuMoDx System y se anula el procesamiento de la muestra. En caso de obtener un resultado No Result (Sin resultados), se recomienda repetir la prueba.

Se notificará un resultado Unresolved (No resuelto) si no se detecta ningún analito ni existe amplificación del control de proceso de muestras, lo que indica un posible fallo de los reactivos o la presencia de inhibidores. En caso de obtener un resultado Unresolved (No resuelto), se recomienda repetir la prueba como primer paso. Si la nueva prueba falla, puede utilizarse una muestra diluida para mitigar el efecto de una posible inhibición.

Consulte Manual del operador del NeuMoDx 288 Molecular System (ref.: 40600108) o el Manual del operador del NeuMoDx 96 Molecular System (ref.: 40600317) para obtener una lista de los códigos de error que pueden estar asociados con los resultados no válidos.

El NeuMoDx System está equipado con una función Rerun (Nuevo análisis)/Repeat (Repetición) automática que el usuario final puede elegir para asegurar que se vuelva a procesar de manera automática un resultado INVALID (No válido) para así minimizar los retrasos en el informe de resultados.

Control de calidad

La normativa local especifica habitualmente que el laboratorio es responsable de los procedimientos de control que supervisan la exactitud y la precisión del proceso analítico completo, y debe establecer el número, el tipo y la frecuencia de los materiales de control de las pruebas mediante especificaciones de rendimiento verificadas para un sistema de pruebas no modificado y aprobado.

Controles externos

- Los usuarios deben procesar un conjunto de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls [REF. 901200] cada 24 horas y antes de procesar las muestras de los pacientes. Si no existe un conjunto de resultados de controles externos válidos, el software del NeuMoDx System indicará al usuario que se deben procesar los controles para que puedan notificarse los resultados de las muestras.
- Si se requieren controles externos, procese los controles (1 control positivo y 1 control negativo):

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	Color de la etiqueta
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control(s)	Rojo
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Negative Control(s)	Negro

- Si está procesando los controles externos, colóquelos en un soporte de tubos de muestras y utilice la pantalla táctil para cargar el soporte en el NeuMoDx System desde el estante del cargador automático. El NeuMoDx System reconocerá los códigos de barras y comenzará a procesar los controles a menos que no estén disponibles los reactivos o los consumibles necesarios para el análisis.
- El NeuMoDx System evaluará la validez de estos controles externos en función de los resultados esperados.

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	Resultado de la gripe A/la gripe B/el VRS/el SARS-CoV-2	Resultado del SPC2
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control(s)	Se ha detectado ARN de la gripe A, la gripe B, el VRS o el SARS-CoV-2	N/D
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Negative Control(s)	No se ha detectado ARN de la gripe A, la gripe B, el VRS o el SARS-CoV-2	Positivo para el SPC2

- 5) La gestión de resultados discrepantes para los controles externos debe realizarse de la siguiente manera:
- Un resultado positivo de una prueba notificado para una muestra de control negativo puede indicar que existe contaminación, por lo que los procedimientos de control de calidad de los laboratorios deben examinarse para encontrar la causa principal. Asegúrese de utilizar zonas independientes para la preparación de las muestras, la manipulación de los controles y la configuración de la RCP-TI. Para obtener más consejos sobre la resolución de problemas, consulte el *Manual del operador del NeuMoDx 288 o 96 Molecular System*.
 - Un resultado negativo de una prueba notificado para una muestra de control positivo puede indicar que existe un problema relacionado con el NeuMoDx System o con los reactivos. Para obtener consejos sobre la resolución de problemas, consulte el *Manual del operador del NeuMoDx 288 o 96 Molecular System*.
 - En cualquiera de los casos anteriores, o en el caso de que se obtenga un resultado No Result (NR) (Sin resultado), Unresolved (UNR) (No resuelto) o Indeterminate (IND) (Indeterminado), repita el control erróneo con viales recién descongelados de los controles que no superaron la prueba de validez.
 - Si el control positivo sigue notificando un resultado de prueba Negative (Negativo), póngase en contacto con el servicio técnico de QIAGEN.
 - Si el control negativo sigue notificando un resultado de prueba Positive (Positivo), intente eliminar todas las fuentes de posible contaminación, lo que incluye sustituir todos los reactivos y repetir la serie antes de ponerse en contacto con el servicio técnico de QIAGEN.
 - Si los controles externos no proporcionan los resultados esperados, es necesario repetir un conjunto de controles positivos y negativos. No se notificarán los resultados del paciente si los controles no ofrecen los resultados esperados.

Controles (internos) de proceso de muestras

Se incorpora un control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC2) exógeno a la NeuMoDx Extraction Plate y se somete a todo el proceso de extracción del ácido nucleico y amplificación mediante RCP-TI inmediata con cada muestra. Las sondas y los cebadores específicos para el SPC2 también se incluyen en cada NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip, lo que permite detectar el SPC2 con el ARN diana (si está presente) mediante RCP múltiple. La detección de la amplificación del SPC2 permite al software del NeuMoDx System supervisar la eficacia de los procesos de extracción de ARN y amplificación por RCP-TI.

Antes de la RCP-TI, el NeuMoDx System lleva a cabo de forma automática un "FILL CHECK" (Control de llenado) para asegurar que la cámara de RCP se llena de solución y contiene una cantidad adecuada de sonda fluorescente.

El software del NeuMoDx System supervisa de forma continua los sensores y activadores en el instrumento para asegurar un funcionamiento seguro y efectivo del sistema.

Se implementan varios modos de recuperación de errores relacionados con fluidos mediante la supervisión activa de las maniobras de aspiración y dispensación para garantizar que el sistema pueda completar el procesamiento de todas las muestras de manera segura y eficaz o proporcionar un código de error adecuado.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay en los NeuMoDx Molecular Systems se caracterizó en dos partes. El límite de detección (Limit of Detection, LoD) se caracterizó con muestras clínicas negativas anonimizadas de exudado nasofaríngeo sobrantes y combinadas recogidas en la matriz de UVT y cepas modelo de cada analito. Las cepas modelo utilizadas para cada analito se presentan en la *tabla 3*. En primer lugar, se prepararon una serie de diluciones utilizando cepas modelo de cada analito en UVT con los flujos de trabajo directo y pretratado y, a continuación, se procesaron con el NeuMoDx System para determinar un valor preliminar del límite de detección (LoD). En la segunda parte de las pruebas, los valores preliminares del LoD se confirmaron utilizando un estudio de tasa de aciertos tanto en el NeuMoDx 288 Molecular System como en el NeuMoDx 96 Molecular System para ambos flujos de trabajo. El LoD preliminar se aceptó si la prueba de la tasa de aciertos alcanzaba una tasa de positividad del 95 % para los dos flujos de trabajo en ambos sistemas. Las tasas de detección del LoD preliminar se presentan en la *tabla 4*, mientras que en la *tabla 5* se detalla la confirmación de la tasa de aciertos para el N288 System y en la *tabla 6* se detalla la confirmación de la tasa de aciertos para el N96 System. Los valores finales de LoD atribuido de la *tabla 4* aparecen indicados en **negrita**.

Tabla 3. Cepa utilizada para cada analito

Analito/Cepa	Origen	N.º de cat.	N.º de lote	Tipo de material
Gripe A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1688	70031602	Sobrenadante clarificado de células infectadas
Gripe A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1690	70032253	Sobrenadante clarificado de células infectadas
Gripe A, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	Virapur	N/D	B1904J	Virus crudo vivo
Gripe A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	Virapur	N/D	C2030D	Virus crudo vivo
Gripe B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	IRR	FR-1619	70015942	Sobrenadante clarificado de células infectadas
Gripe B, Colorado/6/2017 (Victoria)	IRR	FR-1592	70013310	Sobrenadante clarificado de células infectadas
Gripe B, Florida/78/2015 (Victoria)	ATCC	VR-1931	70020870	Líquido de cultivo clarificado y lisado celular
Gripe B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	Virapur	N/D	B1904N	Virus crudo vivo
VRS A2	ATCC	VR-1540	60430286	Líquido de cultivo y lisado celular
VRS B (WV/14617/85)	ATCC	VR-1400	70013461	Líquido de cultivo y lisado celular
SARS-CoV-2, 1.º estándar internacional de la OMS	NIBSC	20/146	N/D	Virus liofilizado inactivado por ácido y por calor
SARS-CoV-2, aislado EE. UU.-WA1/2020	BEI	NR-52285	70037779	Virus inactivado por calor

Tabla 4. Tasas de detección positivas para la determinación del LoD preliminar del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay:
(a) flujo de trabajo pretratado; (b) flujo de trabajo directo

(a) Flujo de trabajo pretratado

Analito/Cepa	Nivel	Unidad	N.º de resultados válidos (n/N)	N.º de pos	% de pos	Ct promedio	DE de Ct
Gripe A, 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
Gripe A, 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
Gripe A, 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
Gripe A, Hong Kong/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
Gripe B, Hong Kong/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
Gripe B, 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
Gripe B, 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
Gripe B, 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
VRS 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
VRS 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, 1.º estándar internacional de la OMS	50	UI/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, aislado EE. UU.-WA1/2020	50	Copias/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) Flujo de trabajo directo

Analito/Cepa	Nivel	Unidad	N.º de resultados válidos (n/N)	N.º de pos	% de pos	Ct promedio	DE de Ct
Gripe A, 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
Gripe A, 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
Gripe A, 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
Gripe A, Hong Kong/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
Gripe B, Hong Kong/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
Gripe B, 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
Gripe B, 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
Gripe B, 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
VRS 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
VRS 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, 1.º estándar internacional de la OMS	50	UI/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, aislado EE. UU.-WA1/2020	66,7	Copias/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

Tabla 5. Tasas de detección positiva para determinar la confirmación del LoD del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay – N288, (a) Flujo de trabajo pretratado; (b) Flujo de trabajo directo

(a) Flujo de trabajo pretratado

Analito/Cepa	Nivel	Unidad	N.º de resultados válidos (n/N)	N.º de pos	% detección	Ct promedio	DE de Ct
Gripe A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,89	0,57
Gripe A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	33,81	0,44
Gripe A, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,17	0,47
Gripe A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	33,77	0,52
Gripe B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	29/30	29	100 %	32,32	1,09
Gripe B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	34,50	0,68
Gripe B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,83	0,44
Gripe B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	1	TCID ₅₀ /ml	29/30	29	100 %	33,04	0,69
VRS A2	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	32,17	1,23
VRS B (WV/14617/85)	0,05	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	32,39	0,41
SARS-CoV-2, 1.º estándar internacional de la OMS	150	UI/ml	30/30	30	100 %	33,63	0,61
SARS-CoV-2, aislado EE. UU.-WA1/2020	150	Copias/ml	29/30	28	96,6 %	33,59	1,01

(b) Flujo de trabajo directo

Analito/Cepa	Nivel	Unidad	N.º de resultados válidos (n/N)	N.º de pos	% detección	Ct promedio	DE de Ct
Gripe A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,92	0,69
Gripe A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,75	0,57
Gripe A, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	32,96	0,48
Gripe A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,67	0,48
Gripe B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	29/30	28	96,6 %	31,74	1,19
Gripe B, 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
Gripe B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,55	0,38
Gripe B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	0,75	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,33	0,74
VRS A2	1,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	31,87	0,95
VRS B (WV/14617/85)	0,05	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	32,46	0,72
SARS-CoV-2, 1.º estándar internacional de la OMS	150	UI/ml	30/30	29	96,7 %	33,78	0,77
SARS-CoV-2, aislado EE. UU.-WA1/2020	200	Copias/ml	30/30	30	100 %	34,18	0,83

Tabla 6. Tasas de detección positivas para la confirmación del índice de aciertos del LoD para el NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay: N96, (a) flujo de trabajo pretratado; (b) flujo de trabajo directo

(a) Flujo de trabajo pretratado

Analito/Cepa	Nivel	Unidad	N.º de resultados válidos (n/N)	N.º de pos	% detección	Ct promedio	DE de Ct
Gripe A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,05	0,81
Gripe A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	33,53	0,75
Gripe A, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	32,33	1,11
Gripe A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	32,98	0,96
Gripe B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	32,75	0,69
Gripe B, 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
Gripe B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	33,25	0,97
Gripe B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	1	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	33,21	0,96
VRS A2	0,5	TCID ₅₀ /ml	29/30	28	96,6 %	32,39	1,10
VRS B (WV/14617/85)	0,05	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	32,06	0,76
SARS-CoV-2, 1.º estándar internacional de la OMS	150	UI/ml	30/30	29	96,7 %	33,79	0,67
SARS-CoV-2, aislado EE. UU.-WA1/2020	150	Copias/ml	30/30	29	96,7 %	33,59	1,05

(b) Flujo de trabajo directo

Analito/Cepa	Nivel	Unidad	N.º de resultados válidos (n/N)	N.º de pos	% detección	Ct promedio	DE de Ct
Gripe A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,42	0,54
Gripe A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,35	1,10
Gripe A, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	32,17	1,24
Gripe A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,22	0,50
Gripe B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0,03	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	32,78	0,56
Gripe B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	34,21	0,50
Gripe B, Florida/78/2015 (Victoria)	0,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	33,41	0,65
Gripe B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	0,75	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	33,36	1,04
VRS A2	1,25	TCID ₅₀ /ml	30/30	29	96,7 %	32,29	0,99
VRS B (WV/14617/85)	0,05	TCID ₅₀ /ml	30/30	30	100 %	32,17	0,75
SARS-CoV-2, 1.º estándar internacional de la OMS	150	UI/ml	30/30	29	96,7 %	33,50	0,78
SARS-CoV-2, aislado EE. UU.-WA1/2020	200	Copias/ml	29/30	29	100 %	34,45	0,39

Los niveles aceptados como valores del LoD para el NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay en los NeuMoDx Systems se resumen en la *tabla 7*.

Tabla 7. Resumen del estudio del límite de detección

Analito	Cepa	Límite de detección		
		Flujo de trabajo pretratado	Flujo de trabajo directo	Unidad
Gripe A – H1N1	Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0,06	0,06	TCID ₅₀ /ml
	Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0,5	0,5	
Gripe A – H3N2	Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	0,5	
	Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0,5	0,5	
Gripe B – Linaje Victoria	Hong Kong/286/2017	0,03	0,03	
	Colorado/6/2017	0,01	0,01	
	Florida/78/2015	0,25	0,25	
Gripe B – Linaje Yamagata	Phuket/3073/2013	1	0,75	
VRS A	A2	0,5	1,25	
VRS B	(WV/14617/85)	0,05	0,05	
SARS-CoV-2	1.º estándar internacional de la OMS	150	150	UI/ml
	Aislado EE. UU.-WA1/2020	150	200	Copias/ml

Interferencia competitiva en organismos diana: gripe A, gripe B, VRS y SARS-CoV-2

La interferencia competitiva del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay se evaluó utilizando paneles de analitos víricos mezclados con muestras clínicas de exudado nasofaríngeo negativas recogidas en UVT. Diez de los paneles contenían uno o dos analitos próximos al límite de detección (de 3 a 10 veces el LoD) y un único analito a $\geq 1E5$ copias/ml, en representación del analito con infección concomitante. Un undécimo panel contenía un analito de cada uno de los cuatro analitos a 2 veces el LoD. La presencia de dos o tres virus en concentraciones variadas en una sola muestra y sus efectos sobre la sensibilidad analítica se muestran en la *tabla 8*.

Los resultados negativos para la gripe A y el VRS A deben considerarse provisionales en muestras con resultado positivo para el SARS-CoV-2, y los resultados negativos para el VRS deben considerarse provisionales en muestras con resultado positivo para la gripe A. Determinados estudios de interferencia competitiva demostraron que el virus SARS-CoV-2, cuando está presente a concentraciones de $1E5$ copias/ml o superiores, puede inhibir la detección y la amplificación del ARN de la gripe A y del VRS A cuando se da a valores iguales o inferiores a $1,5$ TCID₅₀/ml o $6,25$ TCID₅₀/ml, respectivamente y provocar resultados negativos falsos. Asimismo, el virus de la gripe A, cuando está presente a concentraciones de $1E5$ cop/ml o superiores, puede inhibir la detección y la amplificación del ARN del virus VRS A si se da a un valor igual o inferior a $3,75$ TCID₅₀/ml y provocar resultados negativos falsos para el VRS. Si se sospecha de una infección concomitante con el virus de la gripe A o el VRS en muestras con un resultado positivo para el SARS-CoV-2, o se sospecha de una infección concomitante con el virus del VRS en muestras con un resultado positivo para la gripe A, la muestra debe volver a analizarse con otra prueba de la gripe o del VRS autorizada o aprobada por la FDA en el caso de que la detección del virus de la gripe o del VRS pudiera cambiar el tratamiento clínico.

Tabla 8. Resumen del estudio de interferencia competitiva

Panel	Analito	Nivel del panel	Conc. deseada	Resultados válidos	N.º de pos	% detección
1	Gripe A	3X	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	VRS A	3X	3,75 TCID ₅₀ /ml	24	23	96 %
	Gripe B	Alto	1E5 cop/ml	24	24	100 %
2 (serie 1)	Gripe A	3X	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	19	79 %
	VRS A	3X	3,75 TCID ₅₀ /ml	24	8	33 %
	SARS-CoV-2	Alto	1E5 cop/ml	24	24	100 %
2 (serie 2)	Gripe A	5X	2,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	VRS A	5X	6,25 TCID ₅₀ /ml	24	16	67 %
	SARS-CoV-2	Alto	1E5 cop/ml	24	24	100 %
2 (serie 3)	Gripe A	5X	2,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	VRS A	10X	12,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	SARS-CoV-2	Alto	1E5 cop/ml	24	24	100 %
3	Gripe A	3X	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	SARS-CoV-2	3X	450 UI/ml	24	24	100 %
	VRS B	Alto	1E5 cop/ml	24	24	100 %
4	Gripe B	3X	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	VRS B	3X	0,15 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	Gripe A	Alto	1E5 cop/ml	24	24	100 %
5	Gripe B	3X	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	VRS B	3X	0,15 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	SARS-CoV-2	Alto	1E5 cop/ml	24	24	100 %
6	Gripe B	3X	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	VRS B	Alto	1E5 cop/ml	24	24	100 %
7	SARS-CoV-2	3X	450 UI/ml	24	24	100 %
	Gripe A	Alto	1E5 cop/ml	24	24	100 %
8	SARS-CoV-2	3X	450 UI/ml	24	24	100 %
	Gripe B	Alto	1E5 cop/ml	24	24	100 %
9 (serie 1)	VRS A	3X	3,75 TCID ₅₀ /ml	24	20	83 %
	Gripe A	Alto	1E5 cop/ml	24	24	100 %
9 (serie 2)	VRS A	5X	6,25 TCID ₅₀ /ml	24	23	96 %
	Gripe A	Alto	1E5 cop/ml	24	24	100 %
10	VRS B	3X	0,15 TCID ₅₀ /ml	24	23	96 %
	Gripe B	Alto	1E5 cop/ml	24	24	100 %
11	Gripe A	2X	1 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	Gripe B	2X	0,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	VRS B	2X	0,1 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
	SARS-CoV-2	2X	300 UI/ml	24	24	100 %

Reactividad analítica e inclusividad

La reactividad analítica del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay se evaluó frente a múltiples cepas/aislados de la gripe A, la gripe B, el VRS y el SARS-CoV-2. La reactividad de cada cepa/aislado se caracterizó en dos partes. La evaluación inicial de los niveles de reactividad de cada analito se llevó a cabo con cada una de las cepas diana individuales probadas en 3 concentraciones en una matriz de exudado nasofaríngeo simulada (preparada con 3000 células epiteliales humanas por ml de UVT) (consulte la *tabla 9*). En la segunda parte, el nivel más bajo que obtuvo una tasa positiva del 100 % en la fase 1 se confirmó como el nivel de reactividad mediante la realización de pruebas a un mínimo de 20 réplicas (consulte la *tabla 10*). Se analizó un total de 14 cepas de gripe A, 6 cepas de gripe B, 1 aislado de VRS A, 1 aislado de VRS B y 6 aislados de SARS-CoV-2.

Tabla 9. Cepas de la gripe A, la gripe B, el VRS A, el VRS B y el SARS-CoV-2 – Análisis preliminar del nivel de reactividad

Análisis preliminar					
Analito	Cepa		Niveles analizados	N.º de resultados válidos	% de pos
Gripe A	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-Maonan/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	Suiza/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/Japón/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/Pato/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/Pollo/Alemania/N/49 (H10N7)	1:3.3E4 ¹	8	100 %
22,67 pg/ml ¹			8	100 %	
68 pg/ml ¹			8	100 %	
Gripe B	Linaje Victoria	Malasia/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 %

Análisis preliminar							
Analito	Cepa		Niveles analizados	N.º de resultados válidos	% de pos		
Gripe B (continuación)			1 TCID ₅₀ /ml	8	100 %		
			3 TCID ₅₀ /ml	8	100 %		
	Linaje Yamagata	Wisconsin/1/2010 (Yamagata)	0,17 CEID ₅₀ /ml	8	75,0 %		
			0,5 CEID ₅₀ /ml	8	100 %		
			1,5 CEID ₅₀ /ml	8	100 %		
			0,06 CEID ₅₀ /ml	8	25,0 %		
		B/Utah/09/2014 (linaje Yamagata)	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 %		
		B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N) (Yamagata)	15 CEID ₅₀ /ml	6	100 %		
			0,33 TCID ₅₀ /ml	8	25,0 %		
	VRS	VRSA	A (larga)	1 TCID ₅₀ /ml	8	87,5 %	
				3 TCID ₅₀ /ml	8	100 %	
0,67 pfu/ml				8	37,5 %		
VRSB		B (9320)	2 pfu/ml	8	100 %		
			6 pfu/ml	7	100 %		
			0,03 pfu/ml	8	12,5 %		
SARS-CoV-2	EE. UU./CA-Stanford-15_S02/2021 (Kappa, B.1.617.1)		0,1 pfu/ml	8	87,5 %		
			0,3 pfu/ml	8	100 %		
			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 %		
			EE. UU./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 %
			Japón/TY7-503/2021 (Gamma, Brasil P.1)		1,5 TCID ₅₀ /ml	7	100 %
					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 %		
	EE. UU./PHC658/2021 (Delta, B.1.617.2)		0,17 TCID ₅₀ /ml	8	100 %		
			0,5 TCID ₅₀ /ml	8	100 %		
			0,001 TCID ₅₀ /ml	8	37,5 %		
			0,004 TCID ₅₀ /ml	8	87,5 %		
			0,013 TCID ₅₀ /ml	8	100 %		
	Italia-INMI1		0,04 TCID ₅₀ /ml	8	100 %		
			0,11 TCID ₅₀ /ml	8	100 %		
			0,33 TCID ₅₀ /ml	4	100 %		
			7,44 cop/ml ¹	8	37,5 %		
22,33 cop/ml ¹			8	87,5 %			
Aislado Hong Kong/VM20001061/2020		67 cop/ml ¹	8	100 %			
		200 cop/ml ¹	8	100 %			
		600 cop/ml ¹	8	100 %			
		7,44 cop/ml ¹	8	25,0 %			
		22,33 cop/ml ¹	8	87,5 %			
			67 cop/ml ¹	7	100 %		
			200 cop/ml ¹	7	100 %		
			600 cop/ml ¹	7	100 %		

¹Estas variantes se suministraron con solo una cuantificación de "ARN total" que incluye tanto el ARN vírico como el ARN de las células anfitrionas.

Tabla 10. Cepas de la gripe A, la gripe B, el VRS A, el VRS B y el SARS-CoV-2 – Confirmación del nivel de reactividad

Confirmación					
Analito	Cepa		Nivel	N.º de resultados válidos	% de pos
Gripe A	H1N1	Brisbane/02/2018	1,0 TCID ₅₀ /ml	23	91,3 %
			1,5 TCID ₅₀ /ml	23	100 %
		Guangdong-Maonan/SWL 1536/2019	0,5 TCID ₅₀ /ml	23	82,6 %
			1,0 TCID ₅₀ /ml	24	100 %
		Michigan/272/2017 (H1N1)pdm09	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	Suiza/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 %
			5 CEID ₅₀ /ml	23	91,3 %
		A/Wisconsin/04/2018 (H3N2)	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/Japón/305/57 (H2N2)	10,87 pg/ml ¹	24	100 %
H5N2	A/Pato/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/Pollo/Alemania/N/49 (H10N7)	7,6 pg/ml ¹	23	73,9 %	
		22,67 pg/ml ¹	23	100 %	
Gripe B	Linaje Victoria	Malasia/2506/2004 (Victoria)	1 TCID ₅₀ /ml	23	95,7 %
			5 CEID ₅₀ /ml	24	95,8 %
		Washington/02/2019 (Victoria)	10 CEID ₅₀ /ml	24	100 %
	Linaje Yamagata	B/Maryland/15/2016 (Victoria)	0,01 TCID ₅₀ /ml	23	83,3 %
			0,03 TCID ₅₀ /ml	24	100 %
		Wisconsin/1/2010 (Yamagata)	0,05 CEID ₅₀ /ml	24	100 %
			0,56 TCID ₅₀ /ml	24	87,0 %
		B/Utah/09/2014 (linaje Yamagata)	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	100 %
			0,75 TCID ₅₀ /ml	24	87,5 %
	B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N) (Yamagata)	1,5 TCID ₅₀ /ml	20	95,0 %	
		3,0 TCID ₅₀ /ml	24	100 %	
VRS	VRS A	A (larga)	2 pfu/ml	24	91,7 %
			4 pfu/ml	24	95,8 %
	VRS B	B (9320)	0,15 pfu/ml	24	100 %
			0,3 pfu/ml	21	100 %
SARS-CoV-2	EE. UU./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 %	
	EE. UU./CA_CDC_5574/2020 (Alfa, B.1.1.7)	0,02 TCID ₅₀ /ml	24	95,8 %	
		0,06 TCID ₅₀ /ml	24	100 %	
	Japón/TY7-503/2021 (Gamma, Brasil P.1)	0,006 TCID ₅₀ /ml	24	95,8 %	
	EE. UU./PHC658/2021 (Delta, B.1.617.2)	0,006 TCID ₅₀ /ml	24	87,5 %	
		0,013 TCID ₅₀ /ml	24	100 %	
	Italia-INMI1	22 cop/ml ¹	24	95,8 %	
		67 cop/ml ¹	24	100 %	
Aislado Hong Kong/VM20001061/2020	22 cop/ml ¹	24	57,1 %		
	67 cop/ml ¹	24	100 %		

¹Estas variantes se suministraron con solo una cuantificación de "ARN total" que incluye tanto el ARN vírico como el ARN de las células anfitrionas.

La reactividad del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay en la detección de distintos aislados clínicos del SARS-CoV-2 se demostró realizando un análisis informático con los cebadores y las sondas del ensayo frente a todas las secuencias disponibles en GenBank (a fecha de noviembre de 2021) utilizando la herramienta básica de búsqueda de alineación local (Basic Local Alignment Search Tool, BLAST) del NCBI basada en la web. Los resultados muestran que los cebadores y la sonda para el SARS-CoV-2 presentan una semejanza del 100 % con más del 98 % de las secuencias. En general, los cebadores y la sonda tienen una semejanza superior al 95 % con todas las secuencias analizadas.

Reproducibilidad intralaboratorio

La reproducibilidad intralaboratorio del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay se caracterizó mediante el análisis de diez paneles de gripe A, gripe B, VRS A, VRS B o SARS-CoV-2 a los que les mezcló individualmente analito a 2 niveles (positivo moderado [a 5 veces el LoD] y positivo bajo [a 2 veces el LoD]) y un panel negativo. Los paneles se probaron en tres lotes de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips fabricados siguiendo las prácticas correctas de fabricación (Good Manufacturing Practices, GMP), en dos NeuMoDx Systems y en seis días no consecutivos. Los miembros del panel se prepararon en muestras de exudado nasofaríngeo simuladas preparadas con 3000 células epiteliales humanas por ml de Universal Viral Transport medium (UVT) y se mezclaron con una cepa representativa de la gripe A, la gripe B, el VRS A, el VRS B y el SARS-CoV-2. Las NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips y el NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) se han identificado como los reactivos específicos clave de la prueba, capaces de influir en el rendimiento del ensayo y, por tanto, se utilizó el flujo de trabajo pretratado para incorporar el VVLB al estudio. La desviación estándar para los valores de Ct dentro del mismo lote y entre los tres lotes de las tiras reactivas NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay y dos NeuMoDx Molecular Systems fue $\leq 1,2$ con coeficientes de variación (CV) $\leq 4,0$ % para todos los analitos, lo que demuestra una reproducibilidad excelente (consulte las *tablas 11, 12 y 13*).

Tabla 11. Reproducibilidad de las NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips en todos los sistemas/lotes/días

Analito	Nivel del analito	N válido	% de positivos	Ct promedio	DE	% de CV
Gripe A	Pos. mod.	72	100 %	31,21	0,59	1,9 %
	Pos. bajo	72	100 %	32,01	0,58	1,8 %
Gripe B	Pos. mod.	72	100 %	31,02	0,39	1,3 %
	Pos. bajo	72	100 %	31,88	0,56	1,7 %
VRS A	Pos. mod.	72	100 %	29,71	0,95	3,2 %
	Pos. bajo	72	100 %	30,75	1,18	3,8 %
VRS B	Pos. mod.	72	100 %	28,43	0,53	1,9 %
	Pos. bajo	72	100 %	29,45	0,56	1,9 %
SARS-CoV-2	Pos. mod.	72	100 %	32,70	0,51	1,5 %
	Pos. bajo	72	100 %	33,68	0,56	1,7 %
Negativo verdadero		72	0 %	N/D	N/D	N/D

Tabla 12. Reproducibilidad de las NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips en cada sistema

Panel		N0000096					N000012				
Analito	Nivel del analito	N válido	% de positivos	Ct promedio	DE	% de CV	N válido	% de positivos	Ct promedio	DE	% de CV
Gripe A	Pos. mod.	36	100 %	31,37	0,66	2,1 %	36	100 %	31,05	0,46	1,5 %
	Pos. bajo	36	100 %	32,07	0,65	2,0 %	36	100 %	31,95	0,51	1,6 %
Gripe B	Pos. mod.	36	100 %	31,10	0,40	1,3 %	36	100 %	30,94	0,37	1,2 %
	Pos. bajo	36	100 %	31,84	0,57	1,8 %	36	100 %	31,91	0,55	1,7 %
VRS A	Pos. mod.	36	100 %	29,94	0,97	3,2 %	36	100 %	29,49	0,89	3,0 %
	Pos. bajo	36	100 %	30,93	1,19	3,8 %	36	100 %	30,57	1,16	3,8 %
VRS B	Pos. mod.	36	100 %	28,60	0,58	2,0 %	36	100 %	28,26	0,42	1,5 %
	Pos. bajo	36	100 %	29,60	0,53	1,8 %	36	100 %	29,29	0,56	1,9 %
SARS-CoV-2	Pos. mod.	36	100 %	32,80	0,56	1,7 %	36	100 %	32,61	0,43	1,3 %
	Pos. bajo	36	100 %	33,83	0,64	1,9 %	36	100 %	33,52	0,42	1,2 %
Negativo verdadero		36	0 %	N/D	N/D	N/D	36	0 %	N/D	N/D	N/D

Tabla 13. Reproducibilidad de las NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips en cada lote de reactivo

Panel		Lote 1				Lote 2				Lote 3			
Analito	Nivel del analito	N válido	Ct promedio	DE	% de CV	N válido	Ct promedio	DE	% de CV	N válido	Ct promedio	DE	% de CV
Gripe A	Pos. mod.	24	31,06	0,38	1,2 %	24	31,49	0,62	2,0 %	24	31,08	0,65	2,1 %
	Pos. bajo	24	32,02	0,59	1,8 %	24	32,18	0,50	1,6 %	24	31,82	0,61	1,9 %
Gripe B	Pos. mod.	24	31,05	0,39	1,2 %	24	31,08	0,47	1,5 %	24	30,94	0,29	0,9 %
	Pos. bajo	24	31,93	0,36	1,1 %	24	32,01	0,77	2,4 %	24	31,69	0,42	1,3 %
VRS A	Pos. mod.	24	29,04	0,71	2,4 %	24	30,40	0,66	2,2 %	24	29,69	0,94	3,2 %
	Pos. bajo	24	31,53	0,50	1,6 %	24	29,45	0,79	2,7 %	24	31,25	0,87	2,8 %
VRS B	Pos. mod.	24	28,65	0,54	1,9 %	24	28,29	0,52	1,8 %	24	28,35	0,47	1,7 %
	Pos. bajo	24	29,31	0,48	1,6 %	24	29,46	0,64	2,2 %	24	29,57	0,55	1,8 %
SARS-CoV-2	Pos. mod.	24	32,82	0,43	1,3 %	24	32,70	0,56	1,7 %	24	32,59	0,50	1,5 %
	Pos. bajo	24	33,42	0,58	1,7 %	24	33,80	0,57	1,7 %	24	33,81	0,47	1,4 %
Negativo verdadero		24	N/D	N/D	N/D	24	N/D	N/D	N/D	24	N/D	N/D	N/D

Rendimiento clínico

Las características del rendimiento clínico del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay se determinaron mediante un estudio de comparación de métodos retrospectivo interno con muestras de exudado nasofaríngeo (NF) residual obtenidas de 4 laboratorios clínicos geográficamente diversos. En este estudio también se incluyeron diluciones de muestras clínicas positivas para el SARS-CoV-2 a fin de poner de manifiesto la sensibilidad clínica cercana al LoD.

Se anonimizaron las muestras de exudado NF residual de pacientes sintomáticos y se les proporcionó un único número de identificación según el laboratorio proveedor, lo cual permitió establecer una lista confidencial que asocia el identificador del paciente con las muestras anonimizadas analizadas con fines de investigación. Para este estudio, se recogió un total de 747 muestras de exudado NF independientes. Todas las muestras se procesaron a través de los flujos de trabajo directo y pretratado, y se obtuvieron finalmente 739 resultados válidos y 8 no válidos en el flujo de trabajo directo y 736 resultados válidos y 11 no válidos en el flujo de trabajo pretratado. De las muestras válidas, 121 se dedicaron exclusivamente a la evaluación de los analitos de la gripe A, la gripe B y el VRS. De dichas muestras, las positivas para la gripe A fueron 54, las positivas para la gripe B fueron 34 y las positivas para el VRS, 33. De esta cohorte de 121 muestras, los laboratorios clínicos proveedores facilitaron los resultados de los 3 analitos de interés. Así, esta cohorte de muestras positivas también proporcionó 67 resultados negativos para la gripe A, 87 resultados negativos para la gripe B y 88 resultados negativos para el VRS. Los resultados negativos mencionados anteriormente se complementaron con 59 muestras clínicas que obtuvieron resultados negativos confirmados mediante un ensayo de comparación para los 4 analitos. En total, se identificaron 106 muestras como positivas para el SARS-CoV-2 en ambos flujos de trabajo. Los resultados clínicos negativos para el SARS-CoV-2 se confirmaron con un resultado válido de NeuMoDx en 512 muestras de flujo de trabajo directo y 509 muestras de flujo de trabajo pretratado.

Se denegó al operador el estado de la prueba de estas muestras para implementar un “estudio enmascarado simple”. Para realizar el análisis de comparación de métodos, se usaron los resultados notificados de los dispositivos moleculares específicos legalmente comercializados y autorizados por la FDA y la CE utilizados por parte de los laboratorios para tratamientos habituales.

Los resultados del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay arrojaron una sensibilidad clínica del 98,1 % en ambos flujos de trabajo para el analito de la gripe A y una especificidad clínica del 100 % y del 99,2 % para los flujos de trabajo directo y pretratado, respectivamente (Tabla 14A). Los resultados del analito de la gripe B arrojaron una sensibilidad y una especificidad clínicas del 97,1 % y el 100 %, respectivamente, para ambos flujos de trabajo (Tabla 14B). Los resultados para el analito de VRS (indiscriminado) arrojaron una sensibilidad clínica del 97 % para ambos flujos de trabajo y una especificidad clínica del 99,3 % y del 98,6 % en los flujos de trabajo directo y pretratado, respectivamente (Tabla 14C). Los resultados para el analito de SARS-CoV-2 arrojaron una sensibilidad clínica del 97,2 % para ambos flujos de trabajo y una especificidad clínica del 98,4 % en el flujo de trabajo directo y del 98,2 % en el flujo de trabajo pretratado (Tabla 14D). Los límites inferior y superior de los intervalos de confianza del 95 % se muestran a continuación en las Tablas 14A, 14B, 14C y 14D y se calcularon mediante el procedimiento de Wilson con corrección de continuidad.

Tabla 14A. Resumen del rendimiento clínico – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Detección de **gripe A** (a) flujo de trabajo directo y (b) flujo de trabajo pretratado

(a) Flujo de trabajo directo

Gripe A		Resultado de la prueba de referencia autorizada por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
Resultado de la prueba de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POS	53	0	53
	NEG	1	126	127
Total		54	126	180
Sensibilidad clínica (gripe A) = 98,1 % (88,8 % - 99,9 %)				
Especificidad clínica (gripe A) = 100 % (96,3 % - 100 %)				

(b) Flujo de trabajo pretratado

Gripe A		Resultado de la prueba de referencia autorizada por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
Resultado de la prueba de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POS	53	1	54
	NEG	1	125	126
	Total	54	126	180
Sensibilidad clínica (gripe A) = 98,1 % (88,8 % - 99,9 %)				
Especificidad clínica (gripe A) = 99,2 % (95,0 % - 100 %)				

Tabla 14B. Resumen del rendimiento clínico – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: detección de la **gripe B** (a) flujo de trabajo directo y (b) flujo de trabajo pretratado

(a) Flujo de trabajo directo

Gripe B		Resultado de la prueba de referencia autorizada por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
Resultado de la prueba de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POS	33	0	33
	NEG	1	146	147
	Total	34	146	180
Sensibilidad clínica (gripe B) = 97,1 % (82,9 % - 99,8 %)				
Especificidad clínica (gripe B) = 100 % (96,8 % - 100 %)				

(b) Flujo de trabajo pretratado

Gripe B		Resultado de la prueba de referencia autorizada por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
Resultado de la prueba de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POS	33	0	33
	NEG	1	146	147
	Total	34	146	180
Sensibilidad clínica (gripe B) = 97,1 % (82,9 % - 99,8 %)				
Especificidad clínica (gripe B) = 100 % (96,8 % - 100 %)				

Tabla 14C. Resumen del rendimiento clínico – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Detección de **VRS** por (a) flujo de trabajo directo y (b) flujo de trabajo pretratado

(a) Flujo de trabajo directo

VRS		Resultado de la prueba de referencia autorizada por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
Resultado de la prueba de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POS	32	1	33
	NEG	1	146	147
	Total	33	147	180
Sensibilidad clínica (VRS) = 97,0 % (82,5 % - 99,8 %)				
Especificidad clínica (VRS) = 99,3 % (95,7 % - 100 %)				

(b) Flujo de trabajo pretratado

VRS		Resultado de la prueba de referencia autorizada por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
Resultado de la prueba de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POS	32	2	34
	NEG	1	145	146
	Total	33	147	180
Sensibilidad clínica (VRS) = 97,0 % (82,5 % - 99,8 %)				
Especificidad clínica (VRS) = 98,6 % (94,7 % - 99,8 %)				

Tabla 14D. Resumen del rendimiento clínico – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Detección de SARS-CoV-2 por (a) flujo de trabajo directo y (b) flujo de trabajo pretratado

(a) Flujo de trabajo directo

SARS-CoV-2		Resultado de la prueba de referencia autorizada por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
Resultado de la prueba de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POS	103	8	111
	NEG	3	504	507
Total		106	512	618
Sensibilidad clínica (SARS-CoV-2) = 97,2 % (91,3 % - 99,3 %)				
Especificidad clínica (SARS-CoV-2) = 98,4 % (96,8 % - 99,3 %)				

(b) Flujo de trabajo pretratado

SARS-CoV-2		Resultado de la prueba de referencia autorizada por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
Resultado de la prueba de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2	POS	103	9	112
	NEG	3	500	503
Total		106	509	615
Sensibilidad clínica (SARS-CoV-2) = 97,2 % (91,3 % - 99,3 %)				
Especificidad clínica (SARS-CoV-2) = 98,2 % (96,5 % - 99,1 %)				

Especificidad analítica y reactividad cruzada

La especificidad analítica del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay se evaluó analizando un panel de 47 organismos, formado por 22 cepas víricas, 24 bacterianas y 1 cepa de levaduras que representaban patógenos respiratorios comunes o flora comúnmente presente en las vías respiratorias. Las bacterias y las levaduras se analizaron a concentraciones de ~6E6 UFC/ml o UFI/ml, excepto cuando se indicó lo contrario. Los virus se analizaron a concentraciones de 1E5 a 1E6 TCID₅₀/ml o copias/ml, excepto cuando se indicó lo contrario. Para confirmar la posible reactividad cruzada entre el SARS-CoV-2 y la familia de los coronavirus (229E, OC43, NL63, MERS y SARS-1) junto con *Legionella pneumophila*, se incluyeron réplicas adicionales (>20) para cumplir el requisito del MDCG para los productos sanitarios de diagnóstico in vitro del SARS-CoV-2. La especificidad analítica del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay fue del 100 % para la gripe A, la gripe B, el VRS A, el VRS B y el SARS-CoV-2.

Otro miembro de la familia de los coronavirus que se pretendía probar era HKU1; no obstante, debido a la falta de disponibilidad del virus y del ARN genómico, se probaron 4 réplicas de material sintético. También se realizó un análisis informático entre los cebadores y sondas de NeuMoDx SARS-CoV-2 y los genomas del coronavirus HKU1 publicados en GenBank para investigar la posible reactividad cruzada. Se obtuvo un total de 57 secuencias de genomas de HKU1 de la base de datos NCBI Virus (Virus del NCBI) de los NIH. Todas las secuencias de HKU1 presentaron 3 o más disparidades con cada uno de los cebadores y sondas de NeuMoDx SARS-CoV-2. No se detectó semejanza cercana. Por lo tanto, no se espera que haya reactividad cruzada entre coronavirus HKU1 y el NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.

Tabla 15. Resultados de especificidad analítica

Microorganismo	Concentración	Gripe A	Gripe B	VRS	SARS-CoV-2
Adenovirus tipo 1	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Adenovirus tipo 7	5E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Bordetella pertussis</i> 1176	10 ng/ml	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	10 ng/ml	-	-	-	-
<i>Corynebacterium xerosis</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
EBV	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Hemophilus influenzae</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
HHV 6A	1E6 cop/ml	-	-	-	-
HHV 7	1E6 cop/ml	-	-	-	-
HHV 8	1E6 cop/ml	-	-	-	-
VHS 1	1E6 cop/ml	-	-	-	-
VHS 2	1E6 cop/ml	-	-	-	-
Coronavirus humano 229E	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Coronavirus humano HKU1	1E6 cop/ml	-	-	-	-
Coronavirus humano NL63	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Coronavirus humano OC43	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Enterovirus humano 68	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-

Microorganismo	Concentración	Gripe A	Gripe B	VRS	SARS-CoV-2
Metaneumovirus humano	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Virus paragripal humano tipo 1	5E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Virus paragripal humano tipo 2	5E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Virus paragripal humano tipo 3	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Rinovirus humano tipo 1A	5E3 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus brevis</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus jensenii</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus lactis</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
Virus del sarampión	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Coronavirus MERS EMC/2012	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
Virus de la parotiditis	5E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero A	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero B	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero C	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero D	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
Coronavirus SARS	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	6E6 UFC/ml	-	-	-	-
Gripe A, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016	3 veces el LoD	+	-	-	-
Gripe B, Florida/78/2015 (Victoria)	3 veces el LoD	-	+	-	-
VRS A2	3 veces el LoD	-	-	+	-
VRS B (WV/14617/85)	3 veces el LoD	-	-	+	-
SARS-CoV-2, 1. ^{er} estándar internacional de la OMS	3 veces el LoD	-	-	-	+
Control negativo (sin patógenos)	N/D	-	-	-	-

Tabla 16. Especificidad analítica: familia de los coronavirus junto con *Legionella pneumophila* (>20 réplicas analizadas)

Microorganismo	Concentración	SARS-CoV-2
Coronavirus humano NL63	1,00E+04 TCID ₅₀ /ml	-
SARS-Coronavirus-1	1,00E+06 UFP/ml	-
Coronavirus-MERS EMC/2012	1,00E+04 TCID ₅₀ /ml	-
Coronavirus humano 229E	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml	-
Coronavirus humano OC43	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6,00E+06 UFC/ml	-
Positive control (Control positivo): Primer patrón de la OMS para SARS-CoV-2	3 veces el LoD	+
Control negativo (sin patógenos)	N/D	-

Interferencias de sustancias: organismos comensales

El NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay se analizó para determinar interferencias en presencia de microorganismos no diana (que pueden encontrarse en las vías respiratorias superiores) evaluando el rendimiento del ensayo a niveles bajos (~3 veces el LoD) de gripe A, gripe B, VRS A, VRS B y SARS-CoV-2 en presencia de altas concentraciones de los organismos enumerados anteriormente en la *tabla 15*. Además, para confirmar la posible interferencia entre el SARS-CoV-2 y la familia de los coronavirus (229E, OC43, NL63, MERS y SARS-1) junto con *Legionella pneumophila* (*Tabla 16*), se incluyeron réplicas adicionales (>20) para cumplir el requisito del MDCG para los productos sanitarios de diagnóstico in vitro del SARS-CoV-2. Estas muestras se mezclaron con SARS-CoV-2 solo a ~3 veces el LoD en el caso de la parte de interferencia del estudio. Se observó una tasa de detección del 100 % con todos los analitos. Por tanto, no se observó ninguna interferencia en la detección de ningún analito con ninguno de los organismos comensales.

Sustancias causantes de interferencias: endógenas/exógenas

El NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay se evaluó para determinar la susceptibilidad a la interferencia causada por sustancias posiblemente asociadas a la recogida de muestras de exudado nasofaríngeo. Se mezclaron individualmente muestras clínicas de exudados nasofaríngeos residuales negativas con analitos de gripe A, gripe B, VRS A, VRS B o SARS-CoV-2 a razón de 3 veces el LoD y se procesaron en presencia y ausencia de los agentes que se muestran en la *Tabla 17*. Ninguna de las sustancias incluidas en la prueba tuvo un efecto adverso en el rendimiento del ensayo para ninguno de los analitos.

Tabla 17. Sustancias analizadas en busca de interferencia

	Sustancia	Descripción/ingrediente activo	Concentración*
Exógena	Neo-Syneprine	Fenilefrina	15 % volumen/volumen
	Gel nasal: Ayr Saline Nasal Gel	Cloruro sódico con conservantes	15 % volumen/volumen
	Alivio homeopático de la alergia: Similasan	Cardiospermum, Sabadilla, Luffa operculata, Galphimia glauca	15 % volumen/volumen
	Nature's Bounty Zinc	Gluconato de zinc	0,1 mg/ml
	Anestésico/Analgésico oral: Orajel	Benzocaína, cloruro de benzalconio	1 % volumen/volumen
	Aerosol nasal: Afrin	Oximetazolina	15 % masa/volumen
	Aerosol nasal: Zicam	<i>Luffa operculata</i> , <i>Galphimia glauca</i> , hidrocloreto de histamina y azufre	15 % volumen/volumen
	Corticosteroide nasal: Flonase	Fluticasona	5 % volumen/volumen
	Corticosteroide nasal: Rhinocort	Budesonida	5 % volumen/volumen
	Corticosteroide nasal: Nasacort	Triamcinolona	5 % volumen/volumen
	Corticosteroide nasal: Dexametasona	Dexametasona	10 mg/ml
	Corticosteroide nasal: Mometasona	Mometasona	10 mg/ml
	Corticosteroide nasal: Beclometasona	Beclometasona	10 mg/ml
	Pastillas para la garganta Chloraseptic	Benzocaína, mentol	2 mg/ml
	Antibiótico, pomada nasal	Mupirocina	10 mg/ml
Fármaco antiviral Relenza	Zanamivir	7,5 mg/ml	
Fármaco antiviral Tamiflu	Oseltamivir	25 mg/ml	
Antibiótico sistémico	Tobramicina	15 mg/ml	
Endógena	Mucina	Proteína mucina purificada	2,5 % masa/volumen
	Sangre humana	Sangre	2 % volumen/volumen

* Nota: Las concentraciones indicadas son las utilizadas para saturar los exudados antes de dosificar muestras clínicas positivas elaboradas con la sustancia causante de interferencias. Por lo tanto, son representativas del nivel que se puede tolerar en el lugar de recogida de exudados.

Contaminación cruzada

La tasa de contaminación cruzada del NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay en los sistemas NeuMoDx 288 Molecular System y NeuMoDx 96 Molecular System se determinó procesando muestras negativas y positivas altas en un patrón estilo "tablero de ajedrez" alternado. Todas las muestras consistieron en material de exudado NF simulado, a las que se mezclaron muestras positivas con una concentración de $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml (o ≥ 10 000 veces el LoD). Se utilizaron cinco conjuntos de pruebas estilo tablero de ajedrez, y se obtuvo finalmente un total de 60 réplicas negativas y 60 réplicas positivas tanto en el NeuMoDx 288 Molecular System como en el NeuMoDx 96 Molecular System. En ambos tipos de sistemas, las 120 réplicas de muestras negativas se notificaron con exactitud como negativas, lo que demuestra la ausencia de contaminación cruzada durante el procesamiento de las muestras en los NeuMoDx Systems.

Tiempo de análisis

Se determinó que el tiempo de análisis para procesar 8 muestras con el NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay es de ~85 minutos en el N288 System y de ~78 minutos en el NeuMoDx 96 System para procesar 4 muestras.

Tasa de fallo de todo el sistema

La tasa de fallo de todo el sistema para el NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay se evaluó probando 1 nivel del analito de SARS-CoV-2 a una concentración de ~3 veces el LoD, preparada mezclando muestras clínicas de exudados nasofaríngeos negativas con el Primer Patrón Internacional de la OMS para el SARS-CoV-2. Se procesó un total de 200 réplicas utilizando el flujo de trabajo directo tanto en el NeuMoDx 96 Molecular System como en el NeuMoDx 288 Molecular System (100 réplicas por sistema). La tasa de fallo se calculó como el porcentaje de resultados negativos falsos sobre el número total de resultados válidos obtenidos. La tasa de detección del analito de SARS-CoV-2 en el NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay fue del 100 % tanto en el NeuMoDx 96 Molecular System como en el NeuMoDx 288 Molecular System, lo que se traduce en una tasa de fallo del 0 % en ambos sistemas.

Solidez del sistema: inhibición

La tasa de inhibición se determinó calculando la tasa de Unresolved (No resuelto) (control de proceso de muestras no amplificado en ausencia de error del sistema) en todas las muestras negativas procesadas a lo largo de los estudios de verificación y validación. Se obtuvo un total de 11 resultados Unresolved (No resuelto) de un total de 1221 muestras negativas procesadas, lo que demuestra una tasa de inhibición del 0,9 % para el NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.

REFERENCIAS

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

MARCAS COMERCIALES

BD™ es una marca comercial de Becton, Dickinson and Company

Hamilton® es una marca comercial registrada de Hamilton Company

Minitip Nylon® Flocked Swab es una marca comercial registrada de Copan Diagnostics, Inc.

NeuMoDx™ y NeuDry™ son marcas comerciales de NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® es una marca comercial registrada de Roche Molecular Systems, Inc.

UTM-RT® es una marca comercial registrada de Copan Diagnostics, Inc.

Todos los demás nombres de productos, marcas comerciales y marcas comerciales registradas que puedan aparecer en este documento son propiedad de sus respectivos dueños.

CLAVE DE SÍMBOLOS

 Rx only	Solo para uso prescriptivo		No reutilizar
	Fabricante		Contenido suficiente para <n> pruebas
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar las instrucciones de uso
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Precaución
	Número de referencia		Marca CE
	Código de lote		Contiene
	Fecha de caducidad		Contiene material biológico de origen animal
	Límite de temperatura		

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

Servicio técnico/Informes de vigilancia: support@qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents

EC REP

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

