

REF

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

R only

注意：僅限美國出口使用

IVD

適用於體外診斷，並搭配 NeuMoDx 288 及 NeuMoDx 96 Molecular System



如需電子版，請瀏覽網頁：www.qiagen.com/neumodx-ifu

如需詳細資訊，請參閱 NeuMoDx 288 Molecular System 操作人員手冊；P/N 40600108

如需詳細資訊，請參閱 NeuMoDx 96 Molecular System 操作人員手冊；P/N 40600317

用途

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 是多工、體外、即時 RT-PCR 診斷檢測，可同時定性偵測及區別來自鼻咽 (Nasopharyngeal, NP) 拭子樣品的 Influenza A virus (Flu A)、Influenza B virus (Flu B)、Respiratory Syncytial Virus (RSV) 及 SARS-CoV-2 RNA，這些樣品以運送培養基採集自出現類流感 (Influenza Like Illness, ILI) 表徵及症狀的個體。

在 NeuMoDx 288 Molecular System 及 NeuMoDx 96 Molecular System 進行的 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 結合自動化 RNA 萃取，從樣品中分離目標核酸，並針對 Flu A 和 RSV 的單一保留區域，以及 SARS-CoV-2 和 Flu B 的兩個保留區域進行即時 RT-PCR。

這項檢測的結果，不應作為診斷、治療或其他患者管理決策的唯一依據。陽性結果表示存在 SARS-CoV-2 及/或 Flu A 及/或 Flu B 及/或 RSV RNA，但無法排除細菌感染或與其他病毒的共同感染。與患者病史及其他診斷資訊的臨床相關性，對於確定患者感染狀態十分重要。

陰性結果無法排除 Flu A、Flu B、RSV 或 SARS-CoV-2 感染，不應作為診斷、治療或其他患者管理決策的唯一依據。陰性結果必須結合臨床觀察、患者病史及/或流行病學資訊。

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 可供經訓練的臨床實驗室人員使用，該人員在即時 RT-PCR 技術和體外診斷程序及/或 NeuMoDx Molecular System 等方面，接受過專門指導及訓練。NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 不適合用於自我檢測或定點照護使用。

摘要與說明

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 是用於 NeuMoDx 96 及 NeuMoDx 288 儀器系統的定性測定，可偵測鼻咽拭子檢體中 SARS-CoV-2、Influenza A、Influenza B 及/或 RSV RNA。這項測定不會區別 RSV A 與 RSV B RNA。鼻咽拭子樣品採集於 Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) (Copan UTM-RT, Copan, CA, USA) 或 BD™ Universal Viral Transport System (UVT) (BD™ UVT, BD, NJ, USA)。這項檢測使用 RNA 內部檢體處理品管液 (Sample Process Control, SPC2)，對納入檢體製備過程，用於監測整個檢體製備、反轉錄及 PCR 擴增程序。NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 允許依實驗室需要，而進行最多兩個樣品處理工作流程：直接工作流程及預處理工作流程。NeuMoDx Molecular System 會自動執行萃取目標核酸所需的所有步驟；為即時反轉錄酶聚合酶鏈鎖反應 (RT-PCR) 製備分離的 RNA；若有 RNA，就會反轉錄、擴增及偵檢擴增產物。NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 主要是針對 SARS-CoV-2 Nsp2 和 O-核糖甲基轉移酶基因的保留區域、Influenza A Virus 和 Respiratory Syncytial Virus 基質蛋白中的區域，以及和 Influenza B Virus 的基質蛋白和非結構蛋白 NS1 基因。

程序原理

偵測 FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 急性感染的最新技術是目標基因體內保留區域的核酸擴增，與 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 採用的即時反轉錄 PCR 一致，都是在 NeuMoDx 288 Molecular System 及 NeuMoDx 96 Molecular System 進行。

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 結合自動化 RNA 萃取，並透過即時 RT-PCR 擴增/偵測 SARS-CoV-2、Flu A、Flu B 及/或 RSV RNA。鼻咽拭子檢體採集於 Copan UTM-RT System 或 BD™ UVT System。直接工作流程可對主要拭子採集試管或次要試管中的分裝運送培養基貼上條碼，將其裝載至 NeuMoDx System 進行處理。或者可先用等體積的 NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB)，對運送培養基中的拭子樣品進行處理，然後再將其裝載至系統，而不需使用者進一步介入操作。NeuMoDx System 會自動抽吸一部分樣品與 NeuMoDx Lysis Buffer 3 混合，用於直接工作流程，或者抽吸一部分預處理樣品與溶解緩衝液 2 和 NeuMoDx Extraction Plate 內含的試劑混合，以開始處理。具體而言，使用直接工作流程時，主要採集試管（去除拭子及蓋子）或次要試管中的分裝檢體培養基會貼上條碼，並使用指定的樣品試管托架裝載至 NeuMoDx System。對於預處理工作流程，運送培養基中的樣品首先以等體積的 NeuMoDx VVLB 處理，然後再裝載至系統。對於直接工作流程，NeuMoDx System 會抽吸 400 µL 分裝檢體，並與等體積的 NeuMoDx Lysis Buffer 3 混合，而對於預處理工作流程，會將 550 µL 預處理檢體與等體積的溶解緩衝液 2 混合。NeuMoDx System 使用即時 RT-PCR，自動化並整合 RNA 萃取和濃縮、試劑製備，以及目標序列的核酸擴增/偵測。檢體處理品管液 (Sample Process Control, SPC2) 有助於監測抑制物質是否存在，以及是否發生系統、程序或試劑失效。將樣品裝載至 NeuMoDx System 後，無需操作人員介入操作。

NeuMoDx System 搭配使用加熱、溶解酵素、萃取試劑，自動化進行溶解、RNA 萃取、抑制劑移除。順磁顆粒可抓取釋放的核酸。將含結合核酸的顆粒裝載至 NeuMoDx Cartridge，其中未結合的成分以 NeuMoDx Wash Reagent 澈底沖掉。然後結合的 RNA 使用 NeuMoDx Release Reagent 析出。NeuMoDx System 使用析出的 RNA 再水化 NeuDry™ 專有擴增試劑，該試劑含有對 Flu A、Flu B、RSV、SARS-CoV-2 及 SPC2 目標擴增所需的所有成分。這可同時擴增和偵測所有目標及檢體處理品管液的 RNA 序列。配製好乾 RT-PCR 試劑後，NeuMoDx System 將製備好的 RT-PCR 就緒混合物分注至 NeuMoDx Cartridge 的一個 PCR 腔室（每個樣品）。品管液和目標序列（若有）的反轉錄、擴增及偵測發生於 PCR 腔室。NeuMoDx Cartridge 可用於容納 RT-PCR 後產生的擴增子，幾乎去除了擴增後的污染風險。

使用針對各別目標之擴增子的螢光寡核苷酸探針分子，以水解探針化學法（一般稱為 TaqMan® 化學法）即時偵測擴增目標。TaqMan 探針由共價結合於寡核苷酸探針 5' 端的螢光團及 3' 端淬滅劑組成。探針完好無損時，螢光團與淬滅劑接近，使淬滅劑分子透過 Förster 共振能量轉移 (FRET) 抑制由螢光團發出的螢光。

TaqMan 探針設計使其在一組特定引子擴增的 cDNA 區域內黏合。隨著 Taq DNA 聚合酶延長引子並合成新股，Taq DNA 聚合酶的 5' 至 3' 核酸外切酶活性會降解與模板黏合的探針。探針降解後釋出螢光團，並遠離淬滅劑，從而克服由 FRET 引起的淬滅效應，可偵測到螢光團。在 NeuMoDx System RT-PCR 熱循環儀偵測所得的螢光訊號與螢光團釋出數量成正比，並與目標存在數量具有相關性。

每個 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 目標的螢光偵測通道如下表所示。NeuMoDx System 軟體會在每個擴增循環結束時，監測 TaqMan 探針發出的螢光訊號。熱循環完成後，NeuMoDx System 軟體會分析數據並報告結果（POSITIVE（陽性）/NEGATIVE（陰性）/INDETERMINATE（不確定）/NO RESULT（無結果）/UNRESOLVED（未解決））。

表 1：偵測通道

目標	目標區域	探針螢光團	激發/放射	偵測通道
Influenza A	基質蛋白	FAM	530/555 nm	Green
Influenza B	基質蛋白	HEX	470/510 nm	Yellow
	非結構蛋白 NS1			
SARS-CoV-2	Nsp2 基因	德克薩斯紅	585/610 nm	Orange
	O-核糖甲基轉移酶			
Respiratory Syncytial Virus	基質蛋白	Q705	680/715 nm	Far Red
SPC2	組裝蛋白 (MS2)	Q670	625/660 nm	Red

試劑/耗材

提供的材料

REF	內容	每包裝單位數	每單位檢測數	每包裝檢測數
300901	NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip 含有 FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 特異性 TaqMan 探針及引子、SPC2 特異性 TaqMan 探針及引子的乾 RT-PCR 試劑。 含有 21.1% Tris-HCl、8.4% dNTP 及其他非活性成分	6	16	96

需要但未提供的材料（與 NeuMoDx 分開提供）

REF	內容
901200	NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls 單次使用的 FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 陽性和陰性品管液，用於確立 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 的每日效度（每個品管液 1 瓶 = 1 組）
100200	NeuMoDx Extraction Plate 乾順磁顆粒、溶解酵素及檢體處理品管液
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	Hamilton® CO-RE/CO-RE II 管尖 (300 µL) 附濾網
235905	Hamilton CO-RE/CO-RE II 管尖 (1000 µL) 附濾網

* 僅在使用直接工作流程而不需預處理步驟處理檢體時需要。請參閱下方「使用說明」章節。

** 僅在使用預處理工作流程且需預處理步驟處理檢體時需要。請參閱下方「使用說明」章節。

拭子及運送培養基（未提供）

檢體類型	建議的採集裝置	建議的拭子
鼻咽拭子	3 mL Universal Transport Medium (Copan UTM-RT, Copan, CA, USA, 305C) 或 3 mL Universal Viral Transport System (BD UVT, BD, NJ, USA, BD 220531)	Flexible Minitip Nylon® Flocked Swab (Copan, CA, USA) 或 Flexible Minitip Flocked Swab (BD, NJ, USA)

需要的儀器

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] 或 NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]
NeuMoDx System 軟體版本 1.9.2.6 以上

警告與注意事項

- NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 適用於體外診斷，僅限搭配 NeuMoDx System。
- 若試劑或耗材已超過標示的有效日期，請勿使用。
- 若試劑到達時安全封條破損或包裝損壞，請勿使用。
- 若耗材或試劑到達時保護袋已開啟或破損，請勿使用。
- 次要分裝樣品的最小樣品容量，取決於以下定義的試管尺寸/樣品試管托架。低於指定最小樣品容量可能導致「Quantity Not Sufficient (容量不足)」錯誤。
- 使用保存於不適當溫度或超過規定保存時間的樣品，可能產生無效或錯誤的結果。
- 請避免所有試劑和耗材受到微生物及核酸酶 (RNase) 污染。使用次要試管時，建議使用無菌、不含 RNase 的拋棄式移液吸量管。每個樣品都使用新的吸量管。
- 為了避免污染，請勿在擴增後處理或拆開任何 NeuMoDx Cartridge。在任何情況下，請勿從生物危害廢棄物容器 (NeuMoDx 288 Molecular System) 或生物危害廢棄物箱 (NeuMoDx 96 Molecular System) 取出 NeuMoDx Cartridge。NeuMoDx Cartridge 的設計可防止污染。
- 若實驗室也進行開放試管 PCR 檢測，須注意確保 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip、檢測所需的額外耗材和試劑、手套和實驗衣等個人防護裝備及 NeuMoDx System 皆未受到污染。
- 處理 NeuMoDx 試劑和耗材時，應穿戴乾淨、無粉的丁腈手套。請注意不要接觸 NeuMoDx Cartridge 頂部表面、NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip 和 NeuMoDx Extraction Plate 的薄膜密封表面，或 NeuMoDx Lysis Buffer 容器的頂部表面；處理耗材及試劑時只能接觸側面來完成。
- 使用 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 進行檢測時，必須每 24 小時處理一次 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control [REF 901200]。
- 網站 www.qiagen.com/neumodx-ifu 提供了每種試劑（若適用）的安全資料表 (Safety Data Sheet, SDS)。
- 進行檢測後請徹底清洗雙手。
- 請勿用嘴操作吸量管。請勿在處理樣品或試劑的區域吸菸或飲食。
- 請務必依照 *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (微生物和生物醫學實驗室之生物安全)*¹ 及 CLSI 文件 M29-A4 說明的安全實驗室程序來處理樣品，將其視為具有感染性。²
- 操作化學品時，請務必穿戴合適的實驗衣、拋棄式手套及護目鏡。如需更多資訊，請參閱適當的安全資料表 (Safety Data Sheet, SDS)。
- 依據國家、聯邦、省、州和地方法規棄置未使用的試劑和廢棄物。

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



含有：boric acid；Ethoxylated nonylphenol。危險！造成皮膚刺激。造成嚴重的眼睛刺激。可能會傷害生育能力或未出生的孩子。對水生生物有害且具長期的持續影響。使用前請取得特別說明。請先閱讀並理解所有安全注意事項再進行處理。請穿戴防護手套/防護服/護目鏡/面罩。若意外接觸或有疑慮：請尋求醫療協助。保存處請上鎖。請將內容物/容器丟棄至經核准的廢物處理廠。

緊急資訊

CHEMTREC

美國及加拿大以外地區 +1 703-527-3887

處置

本產品含有壬基酚聚乙氧基醇，是一種內分泌干擾物質，會對環境帶來不良影響。

請按照當地及國家法規視為危害廢棄物處置。這也適用於仍未使用的產品。

請勿將廢液倒入排水管。

請遵循安全資料表 (Safety Data Sheet, SDS) 的建議。



產品存放、處理與穩定性

- NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip 若保存於 15°C 至 28°C，可在初級包裝中維持穩定，直到當前產品標籤所標示的有效日期。
- 請勿重新裝載先前已裝載至另一個 NeuMoDx System 的任何檢測產品。
- NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip 裝載後，可能會在 NeuMoDx System 保留 14 天。裝載的檢測反應盤剩餘架儲期由軟體追蹤，並即時通報使用者。NeuMoDx System 將提示移除已使用超過容許期限的檢測反應盤。

樣品收集、運送和儲存

處理所有樣品時，請將其視為能夠傳播感染原。

1. 應以 Copan UTM-RT® System 或 BD™ UVT System 使用經驗證的尼龍植絨拭子採集樣品（請參閱拭子及運送培養基）。此外，植絨拭子、聚酯拭子、尼龍拭子也是可接受的拭子類型。請遵循製造商對於樣品採集、運送和儲存的說明。
2. 樣品可在相容的主要採集試管或次要樣品試管中進行檢測。
3. 樣品處理之前，可在 NeuMoDx System 保存最多 8 小時。如需額外的保存時間，建議將樣品冷藏或冷凍作為次要分裝樣品。
4. 製備好的樣品在檢測前應在 2 至 8 °C 保存不超過 7 天。
5. 如需運送樣品，應按照適當的國家及/或國際法規包裝和標記樣品。
6. 繼續參閱 檢測製備 章節。

檢測製備

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 適用於兩種不同的工作流程，取決於使用者/實驗室的偏好：

工作流程 1：直接 — 將運送培養基中的拭子樣品直接裝載至 NeuMoDx System 的主要採集試管或次要樣品試管

-或-

工作流程 2：預處理 — 運送培養基中的拭子樣品先以 NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer 預處理後，再裝載至 NeuMoDx System 的主要採集試管或次要樣品試管

檢測製備 — 直接拭子樣品的直接工作流程

1. 如第 3 步驟所述，將樣品條碼標籤貼在與 NeuMoDx System 相容的樣品試管上。
2. 若在主要採集試管中檢測樣品，請將條碼標示的試管放入樣品試管托架，並確認取下蓋子及拭子再裝載至 NeuMoDx System。
3. 或者可將運送培養基的分裝試管轉移至條碼標示的次要試管，再放入樣品試管托架。若使用次要試管，請依據以下所定義的容積，將分裝的運送培養基轉移至與 NeuMoDx System 相容條碼標示的樣品試管：
 - 樣品試管托架（32 根試管）：直徑 11 – 14 mm，高 60 – 120 mm；最小填充容量 ≥ 600 µL
 - 樣品試管托架（24 根試管）：直徑 14.5 – 18 mm，高 60 – 120 mm；最小填充容量 ≥ 1000 µL
 - 低容量樣品試管托架（32 根試管）：1.5 mL 錐底微量離心管；最小填充容量 ≥ 500 µL

檢測製備 — 預處理拭子樣品的預處理工作流程

備註：使用前請將 Vantage Viral Lysis Buffer 回復至室溫（15 至 30°C）。

警告：使用 NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer 預處理拭子檢體，並無法保證使存在的所有病毒失去活性。所有檢體皆應按照可能傳播感染原的方式處理。

1. 以 1:1 體積的 NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer 預處理樣品運送培養基。若已知運送培養基的體積，即可在主要拭子採集試管中完成。或者可將分裝的運送培養基與等體積 NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer 混合，在次要試管中進行預處理。所得的混合物應符合以下步驟 4 指定的最小容量要求。
2. 以吸量管輕輕混合均勻，確保 NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer 均勻分布。
3. 若在主要採集試管中檢測預處理的樣品，請將條碼標示的試管放入樣品試管托架，並確認取下蓋子及拭子再裝載至 NeuMoDx System。
4. 若使用次要試管，請依據以下所定義的容積，將分裝的預處理檢體轉移至與 NeuMoDx System 相容條碼標示的樣品試管，再放入樣品試管托架：
 - 樣品試管托架（32 根試管）：直徑 11 – 14 mm，高 60 – 120 mm；最小填充容量 ≥ 750 µL
 - 樣品試管托架（24 根試管）：直徑 14.5 – 18 mm，高 60 – 120 mm；最小填充容量 ≥ 1100 µL
 - 低容量樣品試管托架（32 根試管）：1.5 mL 錐底微量離心管；最小填充容量 ≥ 650 µL

NeuMoDx System 操作

如需詳細資訊，請參閱 *NeuMoDx 288 及 96 Molecular System 操作人員手冊 (P/N 40600108 & 40600317)*

1. 依據用於檢測製備的工作流程，將檢測工作單載入 NeuMoDx System：
 - 使用直接工作流程製備的未處理、乾淨拭子樣品，經由將樣品定義為「**Transport Medium**」（運送培養基）進行檢測
 - 經由將樣品定義為「**UserSpecified1**」，使用預處理工作流程對用 NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer 預處理的拭子樣品進行檢測若尚未在檢測工作單中定義，則將使用**次要試管**中的運送培養基樣品類型（直接工作流程）作為預設值。
2. 以 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip 填充一個或多個 NeuMoDx System Test Strip Carrier，並使用觸控螢幕將檢測反應盤托架裝載至 NeuMoDx System。
3. 若 NeuMoDx System 軟體提示，將必要的耗材新增至 NeuMoDx System 耗材托架，再使用觸控螢幕將托架裝載至 NeuMoDx System。
4. 若 NeuMoDx System 軟體提示，需更換 NeuMoDx Wash Reagent 及/或 NeuMoDx Release Reagent，並清空灌注廢液、生物危害廢棄物容器（僅限 NeuMoDx 288 Molecular System）、管尖廢棄物箱（僅限 NeuMoDx 96 Molecular System）及/或生物危害廢棄物箱（僅限 NeuMoDx 96 Molecular System），視情況而定。
5. 將樣品試管裝載至樣品試管托架，並確保從所有試管取下蓋子及所有拭子。
6. 將樣品試管托架放於自動裝載器架，然後使用觸控螢幕將托架裝載至 NeuMoDx System。若系統中存在有效的檢測工作單，將啟動處理已識別檢測的裝載樣品。

限制

1. NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip 僅能用於 NeuMoDx System。
2. NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip 的效能已針對臨床醫師在運送培養基採集的鼻咽拭子樣品建立。目前尚未評估將 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip 與其他樣品類型及採集培養基搭配使用，效能特性仍不清楚。
3. 由於病毒目標偵測效能通常取決於檢體中存在的病毒顆粒數量，因此可靠的結果取決於正確樣品採集、處理與儲存。
4. 不適當的樣品採集、處理、儲存、技術錯誤或樣品試管混淆，可能造成檢測結果錯誤。此外，由於檢體中病毒顆粒的數量低於 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 的偵測極限，因此可能會出現偽陰性結果。
5. NeuMoDx System 僅限於接受過 NeuMoDx System 使用訓練的人員操作。
6. 若 Flu A、Flu B、RSV 及 SARS-CoV-2 目標及 SPC2 目標都沒有擴增，將報告無效結果（不確定或未解決）且應重複檢測。
7. 若在檢體處理完成前發生系統錯誤，將報告「**No Result**（無結果）」並重複檢測。
8. 陽性結果並不一定表示具有活性 influenza A、influenza B、SARS-CoV-2 及/或 RSV。不過，陽性結果是推論具有 influenza A、influenza B、SARS-CoV-2 及/或 RSV RNA。
9. NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 針對的保留區域發生缺失或突變，可能會影響檢測並造成結果錯誤。
10. NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 的結果應作為醫師對臨床觀察及其他資訊的參考。
11. 建議採用優良實驗室操作規範，包括在處理患者樣品前後更換手套，以避免污染。

結果

可從 NeuMoDx System 觸控螢幕 Results（結果）視窗的「Results（結果）」分頁查看或列印現有結果。NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 結果是由 NeuMoDx System 軟體使用 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 測定定義檔（FluA-B-RSV-CoV-2 ADF 版本 4.0.0 以上）指定的決策演算法及結果處理參數自動產生。依據目標與 SPC2 的擴增情況，NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 結果可能報告為 **Negative**（陰性）、**Positive**（陽性）、**Indeterminate**（不確定）、**No Result**（無結果）或 **Unresolved**（未解決）。結果會依據 ADF 結果處理決策演算法報告，總結於下方的表 2 中。

表 2：NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 結果判讀

整體結果	目標 1 (Flu A) FAM	目標 2 (Flu B) HEX	目標 3 (SARS-CoV-2) TX 紅	目標 4 (RSV) 遠紅外線	處理品管液 (SPC2) 紅色	判讀
POSITIVE (陽性) (偵測到目標 RNA)	AMPLIFIED (已擴增) [5 ≤ Ct < 25 AND (及) EPR > 2.0 AND (及) EP ≥ 750] OR (或) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (及) EP ≥ 750)	不適用	不適用	不適用	不適用	偵測到 Flu A RNA
	不適用	AMPLIFIED (已擴增) [5 ≤ Ct < 28 AND (及) EPR > 1.5 AND (及) EP ≥ 600] OR (或) [28 ≤ Ct ≤ 37 AND (及) EP ≥ 600]	不適用	不適用	不適用	偵測到 Flu B RNA
	不適用	不適用	AMPLIFIED (已擴增) [5 ≤ Ct < 25 AND (及) EPR > 1.5 AND (及) EP ≥ 1200] OR (或) [25 ≤ Ct ≤ 37 AND (及) EP ≥ 1200]	不適用	不適用	偵測到 SARS-CoV-2 RNA
	不適用	不適用	不適用	AMPLIFIED (已擴增) [5 ≤ Ct < 30 AND (及) EPR > 1.15 AND (及) EP ≥ 1200] OR (或) [30 ≤ Ct ≤ 37 AND (及) EP ≥ 1200]	不適用	偵測到 RSV RNA
NEGATIVE (陰性) (未偵測到目標 RNA)	NOT AMPLIFIED (未擴增) 不適用 OR (或) (5 ≤ Ct < 25 AND (及) EPR ≤ 2.0) OR (或) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (及) EP < 750) OR (或) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (未擴增) 不適用 OR (或) (5 ≤ Ct < 28 AND (及) EPR ≤ 1.5) OR (或) (28 ≤ Ct ≤ 37 AND (及) EP < 600) OR (或) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (未擴增) 不適用 OR (或) (5 ≤ Ct < 25 AND (及) EPR ≤ 1.5) OR (或) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (及) EP < 1200) OR (或) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (未擴增) 不適用 OR (或) (5 ≤ Ct < 30 AND (及) EPR ≤ 1.15) OR (或) (30 ≤ Ct ≤ 37 AND (及) EP < 1200) OR (或) (Ct > 37)	AMPLIFIED (已擴增) (24 ≤ Ct ≤ 31 AND (及) EP ≥ 1800)	未偵測到 Flu A、Flu B、RSV 及 SARS-CoV-2 RNA
NR*	Not Amplified (未擴增) , System Error Detected (偵測到系統錯誤) , Sample Processing Aborted (檢體處理中止)					檢體處理中止；重複檢測檢體
IND*	Not Amplified (未擴增) , System Error Detected (偵測到系統錯誤) , Sample Processing Completed (檢體處理完成)					所有目標結果皆無效；重複檢測檢體
UNR*	Not Amplified (未擴增) , No System Error Detected (未偵測到系統錯誤)					所有目標結果皆無效；重複檢測檢體

* 系統允許選擇性的重新運行/重複檢測功能，以便在出現無效結果時啟動自動重新處理，盡量減少結果報告延遲時間。

無效結果

若在 NeuMoDx System 進行的 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 無法產生有效結果，則會報告為 Indeterminate（不確定）、No Result（無結果）或 Unresolved（未解決）；以及依據發生的錯誤類型，應重複檢測以獲得有效結果。

若在檢體處理過程中檢測到 NeuMoDx System 錯誤，將報告 Indeterminate（不確定）結果。若結果為 Indeterminate（不確定），建議重複檢測。

如果檢測到 NeuMoDx System 錯誤並中止檢體處理，將報告 No Result（無結果）。若出現 No Result（無結果），建議重複檢測。

若未偵測到目標且檢體處理品管液並未擴增，將報告 Unresolved（未解決）結果，這表示可能發生試劑失效或有抑制劑存在。若出現 Unresolved（未解決）結果，建議重複檢測作為第一步。如果重複檢測失敗，可使用稀釋的樣品來減少可能出現的抑制作用。

請參閱 NeuMoDx 288 Molecular System 操作人員手冊 (PN：40600108) 或 NeuMoDx 96 Molecular System 操作人員使用者手冊 (PN：40600317) 取得可能與任何無效結果有關的錯誤代碼列表。

NeuMoDx System 配備自動重新運行/重複檢測的功能，使用者可選擇使用該功能來確保自動重新處理 INVALID（無效結果），盡量減少結果報告延遲時間。

品管

當地法規通常規定實驗室負責監控整個分析過程準確度及精確度的品管程序，且必須使用未經修改、經核准檢測系統的驗證效能規範，以確立檢測品管材料的數量、類型及頻率。

外部品管液

1) 使用者需每 24 小時及處理患者檢體之前處理一組 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control [REF 901200]。若沒有一組有效的外部品管液結果，NeuMoDx System 軟體將提示使用者在報告檢體結果前處理品管液。

2) 若需要外部品管液，請處理品管液（1 個陽性品管液、1 個陰性品管液）：

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	標籤配色一覽
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control(s)	紅色
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Negative Control(s)	黑色

3) 處理外部品管液時，將品管液放於樣品試管托架，並使用觸控螢幕將托架從自動裝載器架裝載至 NeuMoDx System。NeuMoDx System 將識別條碼並開始處理品管液，除非檢測所需的試劑或耗材無法使用。

4) NeuMoDx System 會依據預期結果評估這些外部品管液的效度。

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 結果	SPC2 結果
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control(s)	偵測到 FluA、FluB、RSV、SARS-CoV-2 RNA	不適用
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Negative Control(s)	未偵測到 FluA、FluB、RSV、SARS-CoV-2 RNA	SPC2 陽性

5) 外部品管液的差異結果處理應按照以下方式進行：

- 陰性品管液檢體報告的陽性檢測結果可能表示存在污染，需檢查實驗室的品管程序以找出根本原因。確保使用獨立的區域進行檢體製備、品管液處理和 RT-PCR 設置。有關其他疑難排除提示，請參閱 *NeuMoDx 288 或 96 Molecular System 操作人員手冊*。
- 陽性品管液檢體報告的陰性檢測結果可能表示存在試劑或 NeuMoDx System 相關問題。有關疑難排除提示，請參閱 *NeuMoDx 288 或 96 Molecular System 操作人員手冊*。
- 在上述任何一種情況下，或在 No Result (NR)（無結果）、Unresolved (UNR)（未解決）或 Indeterminate (IND)（不確定）結果的情況，使用新解凍、未通過效度檢測的品管液瓶，重複失敗的品管液效度檢測。
- 若陽性品管液持續報告 Negative（陰性）檢測結果，請聯絡 QIAGEN 技術支援部。
- 若陰性品管液持續報告 Positive（陽性）檢測結果，請嘗試去除所有可能污染源，包括更換所有試劑，並於聯絡 QIAGEN 技術支援部前重複運行。
- 若外部品管液未提供預期結果，則需重複檢測一組陽性及陰性品管液。若品管液未給出預期結果，就不會報告患者結果。

檢體處理（內部）品管液

NeuMoDx Extraction Plate 包含一個外源性檢體處理品管液 (Sample Process Control, SPC2)，並使用每個檢體進行核酸萃取及即時 RT-PCR 擴增的完整程序。每個 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip 孔也含有 SPC2 特異性引子及探針，從而能夠透過多工 PCR 偵測帶有目標 RNA（若有）的 SPC2。偵測 SPC2 擴增允許 NeuMoDx System 軟體監測 RNA 萃取及 RT-PCR 擴增程序的功效。

進行 RT-PCR 之前，NeuMoDx System 會自動執行「FILL CHECK」（填滿檢查），以確保 PCR 腔室充滿溶液並含有足量的螢光探針。

NeuMoDx System 軟體會持續監測裝載感測器和致動器，以確保系統安全有效運行。

通過主動監測抽吸和分注操作，來實行多種流體錯誤復原模式，以確保系統能夠以安全有效的方式完成所有檢體的處理，或顯示適當的錯誤代碼。

效能特性

分析靈敏度

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 對 NeuMoDx Molecular System 的分析靈敏度分為兩部分。偵測極限 (Limit of Detection, LoD) 使用採集於 UVT 基質和每個目標模型病毒株的合併剩餘、去識別化臨床陰性鼻咽拭子樣品進行分析。用於每個目標的模型病毒株如表 3 所示。首先，使用直接及預處理工作流程製備 UVT 中每個目標的模型病毒株序列稀釋，然後由 NeuMoDx System 處理以確定初步偵測極限 (Limit of Detection, LoD) 值。在檢測的第二部分，透過對兩個工作流程的 NeuMoDx 288 及 NeuMoDx 96 Molecular System 命中率研究，確認這些初步 LoD 值。若在兩個系統的兩個工作流程命中率檢測皆達到 95% 的陽性率，則接受初步 LoD 值。表 4 說明了初步 LoD 的檢出率，表 5 詳細說明了 N288 System 的命中率確認，表 6 詳細說明了 N96 System 的命中率確認。表 4 中的最終 LoD 聲明以粗體顯示。

表 3：用於每個目標的病毒株

目標/病毒株	來源	產品編號	批號	材料類型
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1688	70031602	來自受感染細胞的澄清上清液
Flu A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1690	70032253	來自受感染細胞的澄清上清液
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	Virapur	不適用	B1904J	活性粗萃取物
Flu A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	Virapur	不適用	C2030D	活性粗萃取物
Flu B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	IRR	FR-1619	70015942	來自受感染細胞的澄清上清液
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	IRR	FR-1592	70013310	來自受感染細胞的澄清上清液
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	ATCC	VR-1931	70020870	澄清培養液及細胞溶解物
Flu B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	Virapur	不適用	B1904N	活性粗萃取物
RSV A2	ATCC	VR-1540	60430286	培養液及細胞溶解物
RSV B (WV/14617/85)	ATCC	VR-1400	70013461	培養液及細胞溶解物
SARS-CoV-2，第一代 WHO 國際標準品	NIBSC	20/146	不適用	凍晶酸及加熱去活性病毒
SARS-CoV-2，分離株 USA-WA1/2020	BEI	NR-52285	70037779	加熱去活性病毒

表 4：NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 初步 LoD 測定的陽性檢出率 - (a) 預處理工作流程；(b) 直接工作流程

(a) 預處理工作流程

目標/病毒株	濃度	單位	有效結果數量 (n/N)	陽性數量	陽性率 (%)	Ct 平均	Ct SD
Flu 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
Flu 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
Flu A, Singapore/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
Flu 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
Flu 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
Flu 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
Flu 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
Flu 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
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, 第一代 WHO 國際標準品	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, 分離株 USA-WA1/2020	50	copies/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) 直接工作流程

目標/病毒株	濃度	單位	有效結果數量 (n/N)	陽性數量	陽性率 (%)	Ct 平均	Ct SD
Flu 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
Flu 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
Flu A, Singapore/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
Flu 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
Flu 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
Flu 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
Flu 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
Flu 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
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, 第一代 WHO 國際標準品	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, 分離株 USA-WA1/2020	66.7	copies/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

表 5：NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 確認 LoD 測定的陽性檢出率 - N288，(a) 預處理工作流程；
(b) 直接工作流程

(a) 預處理工作流程

目標/病毒株	濃度	單位	有效結果數量 (n/N)	陽性數量	偵測率 (%)	Ct 平均	Ct SD
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0.06	TCID ₅₀ /mL	30/30	30	100%	33.89	0.57
Flu A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0.5	TCID ₅₀ /mL	30/30	29	96.7%	33.81	0.44
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0.5	TCID ₅₀ /mL	30/30	30	100%	33.17	0.47
Flu A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0.5	TCID ₅₀ /mL	30/30	29	96.7%	33.77	0.52
Flu B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0.03	TCID ₅₀ /mL	29/30	29	100%	32.32	1.09
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0.01	TCID ₅₀ /mL	30/30	29	96.7%	34.50	0.68
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	0.25	TCID ₅₀ /mL	30/30	30	100%	33.83	0.44
Flu B, 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，第一代 WHO 國際標準品	150	IU/mL	30/30	30	100%	33.63	0.61
SARS-CoV-2，分離株 USA-WA1/2020	150	copies/mL	29/30	28	96.6%	33.59	1.01

(b) 直接工作流程

目標/病毒株	濃度	單位	有效結果數量 (n/N)	陽性數量	偵測率 (%)	Ct 平均	Ct SD
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0.06	TCID ₅₀ /mL	30/30	30	100%	33.92	0.69
Flu A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0.5	TCID ₅₀ /mL	30/30	30	100%	33.75	0.57
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0.5	TCID ₅₀ /mL	30/30	30	100%	32.96	0.48
Flu A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0.5	TCID ₅₀ /mL	30/30	30	100%	33.67	0.48
Flu B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0.03	TCID ₅₀ /mL	29/30	28	96.6%	31.74	1.19
Flu 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
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	0.25	TCID ₅₀ /mL	30/30	30	100%	33.55	0.38
Flu B, 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，第一代 WHO 國際標準品	150	IU/mL	30/30	29	96.7%	33.78	0.77
SARS-CoV-2，分離株 USA-WA1/2020	200	copies/mL	30/30	30	100%	34.18	0.83

表 6：NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 的 LoD 命中率確認陽性檢出率 - N96，(a) 預處理工作流程；
(b) 直接工作流程

(a) 預處理工作流程

目標/病毒株	濃度	單位	有效結果數量 (n/N)	陽性數量	偵測率 (%)	Ct 平均	Ct SD
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0.06	TCID ₅₀ /mL	30/30	30	100%	33.05	0.81
Flu A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0.5	TCID ₅₀ /mL	30/30	29	96.7%	33.53	0.75
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0.5	TCID ₅₀ /mL	30/30	29	96.7%	32.33	1.11
Flu A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0.5	TCID ₅₀ /mL	30/30	30	100%	32.98	0.96
Flu B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0.03	TCID ₅₀ /mL	30/30	29	96.7%	32.75	0.69
Flu 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
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	0.25	TCID ₅₀ /mL	30/30	29	96.7%	33.25	0.97
Flu B, 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，第一代 WHO 國際標準品	150	IU/mL	30/30	29	96.7%	33.79	0.67
SARS-CoV-2，分離株 USA-WA1/2020	150	copies/mL	30/30	29	96.7%	33.59	1.05

(b) 直接工作流程

目標/病毒株	濃度	單位	有效結果數量 (n/N)	陽性數量	偵測率 (%)	Ct 平均	Ct SD
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0.06	TCID ₅₀ /mL	30/30	30	100%	33.42	0.54
Flu A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0.5	TCID ₅₀ /mL	30/30	30	100%	33.35	1.10
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0.5	TCID ₅₀ /mL	30/30	30	100%	32.17	1.24
Flu A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0.5	TCID ₅₀ /mL	30/30	30	100%	33.22	0.50
Flu B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	0.03	TCID ₅₀ /mL	30/30	30	100%	32.78	0.56
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0.01	TCID ₅₀ /mL	30/30	30	100%	34.21	0.50
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	0.25	TCID ₅₀ /mL	30/30	30	100%	33.41	0.65
Flu B, 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, 第一代 WHO 國際標準品	150	IU/mL	30/30	29	96.7%	33.50	0.78
SARS-CoV-2, 分離株 USA-WA1/2020	200	copies/mL	29/30	29	100%	34.45	0.39

表 7 總結了接受作為 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 在 NeuMoDx System 的 LoD 值程度。

表 7：偵測極限研究總結

目標	病毒株	偵測極限		
		預處理工作流程	直接工作流程	單位
Influenza A (Flu A) - H1N1	Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	0.06	0.06	TCID ₅₀ /mL
	Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	0.5	0.5	
Influenza A (Flu A) - H3N2	Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0.5	0.5	
	Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	0.5	0.5	
Influenza B (Flu B) - Victoria lineage	Hong Kong/286/2017	0.03	0.03	
	Colorado/6/2017	0.01	0.01	
	Florida/78/2015	0.25	0.25	
Influenza B (Flu B) - Yamagata lineage	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	第一代 WHO 國際標準品	150	150	IU/mL
	分離株 USA-WA1/2020	150	200	copies/mL

目標生物體的競爭性干擾：Flu A、Flu B、RSV 及 SARS-CoV-2

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 的競爭性干擾，使用在 UVT 採集臨床陰性鼻咽拭子樣品中添加的病毒目標檢驗組進行了評估。十個檢驗組包含一個或兩個接近其偵測極限 (3-10X LoD) 的目標，以及一個 ≥1E5 copies/mL 的單一目標，表示共同感染的目標。第十一個檢驗組包含 2X LoD 的每四個目標之一。單一樣品中存在不同濃度的二至三種病毒及其對分析靈敏度的影響，如表 8 所示。

對於 SARS-CoV-2 結果陽性的檢體，應視為 influenza A 及 RSV A 陰性，而對於 influenza A 結果陽性的檢體，應視為 RSV 陰性。競爭性干擾研究結果顯示，SARS-CoV-2 virus 濃度等於或高於 1E5 copies/mL 時，若濃度等於或低於 1.5 TCID₅₀/mL 或 6.25 TCID₅₀/mL，則可能抑制 influenza A 及 RSV A RNA 的偵檢及擴增，並可能導致偽陰性結果。此外，influenza A virus 濃度等於或高於 1E5 cp/mL 時，若濃度等於或低於 3.75 TCID₅₀/mL，則可能抑制 RSV A virus RNA 的偵測及擴增，並可能導致 RSV 的偽陰性結果。若對 SARS-CoV-2 結果陽性的檢體懷疑合併感染 influenza A 或 RSV virus，或對 influenza A 結果陽性的檢體懷疑合併感染 RSV virus，若 influenza 或 RSV 病毒檢測會改變臨床管理決定，則應以另一個 FDA 許可、核准或授權的 influenza 或 RSV 檢測重複檢測檢體。

表 8：競爭性干擾研究總結

檢驗組	目標	檢驗組濃度	目標濃度	有效結果	陽性數量	偵測率 (%)
1	Flu A	3X	1.5 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
	RSV A	3X	3.75 TCID ₅₀ /mL	24	23	96%
	Flu B	高	1E5 cp/mL	24	24	100%
2 (運行 1)	Flu A	3X	1.5 TCID ₅₀ /mL	24	19	79%
	RSV A	3X	3.75 TCID ₅₀ /mL	24	8	33%
	SARS-CoV-2	高	1E5 cp/mL	24	24	100%
2 (運行 2)	Flu A	5X	2.5 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
	RSV A	5X	6.25 TCID ₅₀ /mL	24	16	67%
	SARS-CoV-2	高	1E5 cp/mL	24	24	100%
2 (運行 3)	Flu A	5X	2.5 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
	RSV A	10X	12.5 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
	SARS-CoV-2	高	1E5 cp/mL	24	24	100%
3	Flu A	3X	1.5 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
	SARS-CoV-2	3X	450 IU/mL	24	24	100%
	RSV B	高	1E5 cp/mL	24	24	100%
4	Flu B	3X	0.75 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
	RSV B	3X	0.15 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
	Flu A	高	1E5 cp/mL	24	24	100%
5	Flu B	3X	0.75 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
	RSV B	3X	0.15 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
	SARS-CoV-2	高	1E5 cp/mL	24	24	100%
6	Flu B	3X	0.75 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
	RSV B	高	1E5 cp/mL	24	24	100%
7	SARS-CoV-2	3X	450 IU/mL	24	24	100%
	Flu A	高	1E5 cp/mL	24	24	100%
8	SARS-CoV-2	3X	450 IU/mL	24	24	100%
	Flu B	高	1E5 cp/mL	24	24	100%
9 (運行 1)	RSV A	3X	3.75 TCID ₅₀ /mL	24	20	83%
	Flu A	高	1E5 cp/mL	24	24	100%
9 (運行 2)	RSV A	5X	6.25 TCID ₅₀ /mL	24	23	96%
	Flu A	高	1E5 cp/mL	24	24	100%
10	RSV B	3X	0.15 TCID ₅₀ /mL	24	23	96%
	Flu B	高	1E5 cp/mL	24	24	100%
11	Flu A	2X	1 TCID ₅₀ /mL	24	24	100%
	Flu B	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%

分析反應性及包容性

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 對 Influenza A、Influenza B、RSV 和 SARS-CoV-2 的多種病毒株/分離株的分析反應性進行了評估。每個病毒株/分離株的反應性以兩個部分進行分析。在模擬鼻咽拭子基質（每毫升 UVT 以 3000 個人類上皮細胞製備）中以 3 種濃度檢測每個單獨的目標病毒株，對每個目標的反應性濃度進行初步評估，表 9。在第二部分中，透過檢測至少 20 次重複，確認在第 1 階段獲得 100% 陽性率的最低濃度為反應性濃度，表 10。共檢測了 14 株 Flu A 病毒株、6 株 Flu B 病毒株、1 株 RSV A 分離株、1 株 RSV B 分離株和 6 株 SARS-CoV-2 分離株。

表 9：Flu A、Flu B、RSV A、RSV B 及 SARS-CoV-2 病毒株 — 反應性濃度初步分析

初步分析						
目標	病毒株		檢測的濃度	有效結果數量	陽性率 (%)	
Flu 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-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	Switzerland/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/Japan/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/Duck/Pennsylvania/10218/84 (H5N2)	8 pg/mL ¹	8	100%	
			25 pg/mL ¹	8	100%	
			75 pg/mL ¹	7	100%	
	H7N9	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	1:3E ⁵	8	50%	
			1:1E ⁵	7	87.5%	
			1:3.3E ⁴	8	100%	
H10N7	A/Chick/Germany/N/49 (H10N7)	22.67 pg/mL ¹	8	100%		
		68 pg/mL ¹	8	100%		
		204 pg/mL ¹	8	100%		
Flu B	Victoria Lineage	Malaysia/2506/2004 (Victoria)	1 TCID ₅₀ /mL	8	100%	
			3 TCID ₅₀ /mL	8	100%	
			9 TCID ₅₀ /mL	8	100%	
		Washington/02/2019 (Victoria)	2.5 CEID ₅₀ /mL	8	25.0%	
			5 CEID ₅₀ /mL	8	87.5%	
			15 CEID ₅₀ /mL	8	100%	
		B/Maryland/15/2016 (Victoria)	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%		

初步分析							
目標	病毒株		檢測的濃度	有效結果數量	陽性率 (%)		
Flu B (延續 上頁)	Yamagata Lineage	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%		
		B/Utah/09/2014 (Yamagata Lineage)	1.5 CEID ₅₀ /mL	8	100%		
			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 (long)	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 (Alpha, 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%
			Japan/TY7-503/2021 (Gamma, Brazil 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%		
	Italy-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%		
			Isolate Hong Kong/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%					
600 cp/mL ¹	7	100%					

¹ 這些變異體僅提供「總 RNA」定量，包括病毒 RNA 及宿主細胞 RNA。

表 10：Flu A、Flu B、RSV A、RSV B 及 SARS-CoV-2 病毒株 — 反應性濃度確認

確認						
目標	病毒株		濃度	有效結果數量	陽性率 (%)	
Flu A	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%	
		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	Switzerland/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/Japan/305/57 (H2N2)	10.87 pg/mL ¹	24	100%		
H5N2	A/Duck/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/Chick/Germany/N/49 (H10N7)	7.6 pg/mL ¹	23	73.9%		
		22.67 pg/mL ¹	23	100%		
Flu B	Victoria Lineage	Malaysia/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%	
			0.01 TCID ₅₀ /mL	23	83.3%	
	Yamagata Lineage	B/Maryland/15/2016 (Victoria)	0.03 TCID ₅₀ /mL	24	100%	
		Wisconsin/1/2010 (Yamagata)	0.05 CEID ₅₀ /mL	24	100%	
		B/Utah/09/2014 (Yamagata Lineage)	0.56 TCID ₅₀ /mL	24	87.0%	
			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%			
RSV	RSVA	A (long)	2 pfu/mL	24	91.7%	
			4 pfu/mL	24	95.8%	
	RSVB	B (9320)	0.15 pfu/mL	24	100%	
			0.3 pfu/mL	21	100%	
SARS-CoV-2	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 (Alpha, B.1.1.7)	0.02 TCID ₅₀ /ml	24	95.8%
			0.06 TCID ₅₀ /ml	24	100%	
		Japan/TY7-503/2021 (Gamma, Brazil P.1)	0.006 TCID ₅₀ /ml	24	95.8%	
	SARS-CoV-2 (延續上頁)	USA/PHC658/2021 (Delta, B.1.617.2)	0.006 TCID ₅₀ /ml	24	87.5%	
			0.013 TCID ₅₀ /ml	24	100%	
		Italy-INMI1	22 cp/mL ¹	24	95.8%	
			67 cp/mL ¹	24	100%	
Isolate Hong Kong/VM20001061/2020	22 cp/mL ¹	24	57.1%			
	67 cp/mL ¹	24	100%			

¹ 這些變異體僅提供「總 RNA」定量，包括病毒 RNA 及宿主細胞 RNA。

證實 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 偵測 SARS-CoV-2 不同臨床分離株的反應性時，透過使用該測定的引子和探針，針對 GenBank (截至 2021 年 11 月) 所有可用序列，以基於網路的 NCBI Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) 進行電腦分析。結果顯示，SARS-CoV-2 的引子及探針與 98% 以上序列具有 100% 的同源性。整體而言，引子及探針與所有分析序列具有 >95% 的同源性。

實驗室內再現性

透過檢測 10 組 Flu A、Flu B、RSV A、RSV B 或 SARS-CoV-2 檢驗組，分別添加 2 個濃度 [中度陽性 (5x LoD) 及低度陽性 (2x LoD)]，以及 1 組陰性檢驗組，分析 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 的實驗室內再現性。這些檢驗組在 GMP 下生產的三批 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip、兩個 NeuMoDx System，以及非連續六天內進行了檢測。檢驗組目標在模擬的鼻咽拭子樣品中製備，每毫升通用病毒轉送培養基 (UVT) 含有 3000 個人類上皮細胞，並添加了 Flu A、Flu B、RSV A、RSV B 及 SARS-CoV-2 的代表性病毒株。NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip 和 NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) 已確定為能影響測定效能的關鍵檢測特定試劑，因此預處理工作流程是用於將 VVLB 納入研究。三批 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 檢測反應盤、兩個 NeuMoDx Molecular System 內部和之間的 Ct 值標準偏差 ≤1.2，所有目標的變異係數 (CV) ≤4.0%，顯示極佳的再現性，表 11、12 和 13。

表 11：所有系統/批次/天數之間的 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip 再現性

目標	目標濃度	有效數量	陽性率 (%)	平均 Ct	SD	%CV
Flu A	中度陽性	72	100%	31.21	0.59	1.9%
	低度陽性	72	100%	32.01	0.58	1.8%
Flu B	中度陽性	72	100%	31.02	0.39	1.3%
	低度陽性	72	100%	31.88	0.56	1.7%
RSV A	中度陽性	72	100%	29.71	0.95	3.2%
	低度陽性	72	100%	30.75	1.18	3.8%
RSV B	中度陽性	72	100%	28.43	0.53	1.9%
	低度陽性	72	100%	29.45	0.56	1.9%
SARS-CoV-2	中度陽性	72	100%	32.70	0.51	1.5%
	低度陽性	72	100%	33.68	0.56	1.7%
真陰性		72	0%	不適用	不適用	不適用

表 12：每個系統對 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip 的再現性

檢驗組		N0000096					N000012				
目標	目標濃度	有效數量	陽性率 (%)	平均 Ct	SD	%CV	有效數量	陽性率 (%)	平均 Ct	SD	%CV
Flu A	中度陽性	36	100%	31.37	0.66	2.1%	36	100%	31.05	0.46	1.5%
	低度陽性	36	100%	32.07	0.65	2.0%	36	100%	31.95	0.51	1.6%
Flu B	中度陽性	36	100%	31.10	0.40	1.3%	36	100%	30.94	0.37	1.2%
	低度陽性	36	100%	31.84	0.57	1.8%	36	100%	31.91	0.55	1.7%
RSV A	中度陽性	36	100%	29.94	0.97	3.2%	36	100%	29.49	0.89	3.0%
	低度陽性	36	100%	30.93	1.19	3.8%	36	100%	30.57	1.16	3.8%
RSV B	中度陽性	36	100%	28.60	0.58	2.0%	36	100%	28.26	0.42	1.5%
	低度陽性	36	100%	29.60	0.53	1.8%	36	100%	29.29	0.56	1.9%
SARS-CoV-2	中度陽性	36	100%	32.80	0.56	1.7%	36	100%	32.61	0.43	1.3%
	低度陽性	36	100%	33.83	0.64	1.9%	36	100%	33.52	0.42	1.2%
真陰性		36	0%	不適用	不適用	不適用	36	0%	不適用	不適用	不適用

表 13：每批試劑對 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip 的再現性

檢驗組		批次 1				批次 2				批次 3			
目標	目標濃度	有效數量	平均 Ct	SD	%CV	有效數量	平均 Ct	SD	%CV	有效數量	平均 Ct	SD	%CV
Flu A	中度陽性	24	31.06	0.38	1.2%	24	31.49	0.62	2.0%	24	31.08	0.65	2.1%
	低度陽性	24	32.02	0.59	1.8%	24	32.18	0.50	1.6%	24	31.82	0.61	1.9%
Flu B	中度陽性	24	31.05	0.39	1.2%	24	31.08	0.47	1.5%	24	30.94	0.29	0.9%
	低度陽性	24	31.93	0.36	1.1%	24	32.01	0.77	2.4%	24	31.69	0.42	1.3%
RSV A	中度陽性	24	29.04	0.71	2.4%	24	30.40	0.66	2.2%	24	29.69	0.94	3.2%
	低度陽性	24	31.53	0.50	1.6%	24	29.45	0.79	2.7%	24	31.25	0.87	2.8%
RSV B	中度陽性	24	28.65	0.54	1.9%	24	28.29	0.52	1.8%	24	28.35	0.47	1.7%
	低度陽性	24	29.31	0.48	1.6%	24	29.46	0.64	2.2%	24	29.57	0.55	1.8%
SARS-CoV-2	中度陽性	24	32.82	0.43	1.3%	24	32.70	0.56	1.7%	24	32.59	0.50	1.5%
	低度陽性	24	33.42	0.58	1.7%	24	33.80	0.57	1.7%	24	33.81	0.47	1.4%
真陰性		24	不適用	不適用	不適用	24	不適用	不適用	不適用	24	不適用	不適用	不適用

臨床效能

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 的臨床效能特性是使用內部回溯性方法比較研究確定，這項研究使用來自 4 個不同地理位置臨床實驗室的殘餘鼻咽 (Nasopharyngeal, NP) 拭子樣品。本研究也包含臨床 SARS-CoV-2 陽性檢體的稀釋液，以證實接近 LoD 的臨床靈敏度。

有症狀患者的殘餘 NP 拭子樣品經過去識別化，並由供應的實驗室提供唯一 ID 編號，並建立一個機密列表，將患者 ID 與為研究目的檢測的去識別化樣品聯繫起來。本研究共收集 747 個單獨 NP 拭子樣品。所有樣品皆透過直接工作流程和預處理工作流程進行處理，最終在直接工作流程產生 739 個有效結果及 8 個無效結果，在預處理工作流程產生 736 個有效結果及 11 個無效結果。在這些有效檢體中，121 個專門用於評估 Flu A、Flu B 及 RSV 目標。Flu A 陽性檢體佔這些樣品中的 54 個，Flu B 陽性檢體佔 34 個，RSV 陽性檢體佔 33 個。在這 121 個檢體的組別中，由供應的臨床實驗室提供所有 3 個關注目標的結果。因此，這組陽性檢體也提供了 67 個 Flu A 陰性結果、87 個 Flu B 陰性結果及 88 個 RSV 陰性結果。59 個臨床樣品進一步補充了上述陰性結果，這些樣品的比較測定證實了所有 4 個目標的陰性結果。整體而言，兩個工作流程中的 106 個檢體確定為 SARS-CoV-2 陽性。在 512 個直接工作流程檢體和 509 個預處理工作流程檢體中，透過有效的 NeuMoDx 結果確認了臨床 SARS-CoV-2 的陰性結果。

這些檢體的檢測狀態不會告知操作人員，以實現「單盲研究」。實驗室針對照護標準檢測利用特定 FDA 及 CE 許可、合法銷售分子設備報告的結果，用於進行方法比較分析。

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 的結果，對 Flu A 目標的兩個工作流程提供了 98.1% 的臨床靈敏度，對直接及預處理工作流程提供了 100% 及 99.2% 的臨床特異性 (表 14A)。Flu B 目標的結果對兩種工作流程提供了分別為 97.1% 及 100% 的臨床靈敏度及臨床特異性 (表 14B)。RSV (未區分) 目標的結果對工作流程提供了 97% 的臨床靈敏度，在直接工作流程及預處理工作流程中，臨床特異性分別為 99.3% 及 98.6% (表 14C)。SARS-CoV-2 目標的結果對兩個工作流程提供了 97.2% 的臨床靈敏度，對直接工作流程提供了 98.4% 的臨床特異性，對預處理工作流程提供了 98.2% 的臨床特異性 (表 14D)。95% 信賴區間的下限及上限列於下表 14A、14B、14C 和 14D 中，並使用連續校正的 Wilson 程序計算。

表 14A：臨床效總結 — NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip：偵測 Flu A (a) 直接工作流程及 (b) 預處理工作流程

Flu A		FDA/CE 許可參考檢測結果		
		陽性	陰性	總計
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 檢測結果	陽性	53	0	53
	陰性	1	126	127
	總計	54	126	180
臨床靈敏度 (Flu A) = 98.1% (88.8% - 99.9%)				
臨床特異性 (Flu A) = 100% (96.3% - 100%)				

Flu A		FDA/CE 許可參考檢測結果		
		陽性	陰性	總計
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 檢測結果	陽性	53	1	54
	陰性	1	125	126
	總計	54	126	180
臨床靈敏度 (Flu A) = 98.1% (88.8% - 99.9%)				
臨床特異性 (Flu A) = 99.2% (95.0% - 100%)				

表 14B：臨床效總結 — NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip：偵測 Flu B (a) 直接工作流程及 (b) 預處理工作流程

Flu B		FDA/CE 許可參考檢測結果		
		陽性	陰性	總計
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 檢測結果	陽性	33	0	33
	陰性	1	146	147
	總計	34	146	180
臨床靈敏度 (Flu B) = 97.1% (82.9% - 99.8%)				
臨床特異性 (Flu B) = 100% (96.8% - 100%)				

(b) 預處理工作流程

Flu B		FDA/CE 許可參考檢測結果		
		陽性	陰性	總計
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 檢 測結果	陽性	33	0	33
	陰性	1	146	147
	總計	34	146	180
臨床靈敏度 (Flu B) = 97.1% (82.9% - 99.8%)				
臨床特異性 (Flu B) = 100% (96.8% - 100%)				

表 14C：臨床效總結 — NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip：偵測 RSV (a) 直接工作流程及 (b) 預處理工作流程

(a) 直接工作流程

RSV		FDA/CE 許可參考檢測結果		
		陽性	陰性	總計
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 檢 測結果	陽性	32	1	33
	陰性	1	146	147
	總計	33	147	180
臨床靈敏度 (RSV) = 97.0% (82.5% - 99.8%)				
臨床特異性 (RSV) = 99.3% (95.7% - 100%)				

(b) 預處理工作流程

RSV		FDA/CE 許可參考檢測結果		
		陽性	陰性	總計
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 檢 測結果	陽性	32	2	34
	陰性	1	145	146
	總計	33	147	180
臨床靈敏度 (RSV) = 97.0% (82.5% - 99.8%)				
臨床特異性 (RSV) = 98.6% (94.7% - 99.8%)				

表 14D：臨床效總結 — NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip：偵測 SARS-CoV-2 (a) 直接工作流程及 (b) 預處理工作流程

(a) 直接工作流程

SARS-CoV-2		FDA/CE 許可參考檢測結果		
		陽性	陰性	總計
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 檢 測結果	陽性	103	8	111
	陰性	3	504	507
	總計	106	512	618
臨床靈敏度 (SARS-CoV-2) = 97.2% (91.3% - 99.3%)				
臨床特異性 (SARS-CoV-2) = 98.4% (96.8% - 99.3%)				

(b) 預處理工作流程

SARS-CoV-2		FDA/CE 許可參考檢測結果		
		陽性	陰性	總計
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 檢 測結果	陽性	103	9	112
	陰性	3	500	503
	總計	106	509	615
臨床靈敏度 (SARS-CoV-2) = 97.2% (91.3% - 99.3%)				
臨床特異性 (SARS-CoV-2) = 98.2% (96.5% - 99.1%)				

分析特異性及交叉反應性

經由檢測 47 種生物體的檢驗組，包括 22 個病毒株、24 個菌株及 1 個酵母菌株，代表常見的呼吸道病原體或呼吸道常見菌群，評估了 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 的分析特異性。除非另有說明，否則會以 ~6E6 CFU/mL 或 IFU/mL 的濃度檢測細菌及酵母菌。除非另有說明，否則以 1E5 至 1E6 TCID₅₀/mL 或 copies/mL 的濃度檢測病毒。為了確認 SARS-CoV-2 和 Coronavirus 科（229E、OC43、NL63、MERS 及 SARS-1）以及 *Legionella pneumophila* 的可能交叉反應性，納入其他重複檢測 (> 20)，以符合 SARS-CoV-2 體外診斷醫療器材的 MDCG 要求。NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 對於 Flu A、Flu B、RSV A、RSV B 及 SARS-CoV-2 的分析特異性為 100%。

HKU1 是待測 Coronavirus 家族的另一個目標，但由於病毒及基因體 RNA 無法取得，而檢測了 4 重複的合成材料。此外，也進行了 GenBank 發表的 NeuMoDx SARS-CoV-2 引子和探針與 HKU1 coronavirus 基因體之間的電腦分析，以探討可能的交叉反應性。從 NIH 的 NCBI 病毒資料庫取得共計 57 組 HKU1 基因體序列。所有 HKU1 序列與 NeuMoDx SARS-CoV-2 引子及探針皆有 3 個以上的配對錯誤。未偵測到密切同源性。因此，Coronavirus HKU1 與 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 之間沒有出現預期的交叉反應性。

表 15：分析特異性結果

生物體	濃度	Flu A	Flu B	RSV	SARS-CoV-2
Adenovirus Type 1	1E6 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Adenovirus Type 7	5E5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>Bordetella pertussis</i> 1176	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 cp/mL	-	-	-	-
HHV 7	1E6 cp/mL	-	-	-	-
HHV 8	1E6 cp/mL	-	-	-	-
HSV 1	1E6 cp/mL	-	-	-	-
HSV 2	1E6 cp/mL	-	-	-	-
Human Coronavirus 229E	1E5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Human Coronavirus HKU1	1E6 cp/mL	-	-	-	-
Human Coronavirus NL63	1E4 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Human Coronavirus OC43	1E5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Human Enterovirus 68	1E5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Human Metapneumovirus	1E4 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Human Parainfluenza Type 1	5E5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Human Parainfluenza Type 2	5E5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Human Parainfluenza Type 3	1E6 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Human Rhinovirus Type 1A	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	-	-	-	-
Measles Virus	1E4 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
MERS-Coronavirus EMC/2012	1E4 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	6E6 CFU/mL	-	-	-	-
Mumps Virus	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-Coronavirus	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	-	-	-	-

生物體	濃度	Flu A	Flu B	RSV	SARS-CoV-2
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016	3x LoD	+	-	-	-
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	3x LoD	-	+	-	-
RSV A2	3x LoD	-	-	+	-
RSV B (WV/14617/85)	3x LoD	-	-	+	-
SARS-CoV-2, 第一代 WHO 國際標準品	3x LoD	-	-	-	+
陰性品管液 (無病原體)	不適用	-	-	-	-

表 16：分析特异性 - Coronavirus 科及 *Legionella pneumophila* (檢測 > 20 重複)

生物體	濃度	SARS-CoV-2
Human coronavirus NL63	1.00E+04 TCID ₅₀ /mL	-
SARS-Coronavirus-1	1.00E+06 pfu/mL	-
MERS-coronavirus EMC/2012	1.00E+04 TCID ₅₀ /mL	-
Human Coronavirus 229E	1.00E+05 TCID ₅₀ /mL	-
Human Coronavirus OC43	1.00E+05 TCID ₅₀ /mL	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6.00E+06 CFU/mL	-
陽性品管液：SARS-CoV-2 第一代 WHO 標準品	3x LoD	+
陰性品管液 (無病原體)	不適用	-

干擾物質 — 共生生物體

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 在非目標生物體 (可能存在於上呼吸道) 存在的情況下進行干擾檢測, 評估了 Flu A、Flu B、RSV A、RSV B 及 SARS-CoV-2 於高濃度上述表 15 所列生物體存在時的測定效能 (約 3 倍 LoD)。此外, 為了確認 SARS-CoV-2 和 Coronavirus 科 (229E、OC43、NL63、MERS 及 SARS-1) 以及 *Legionella pneumophila* (表 16) 的可能干擾, 納入其他重複檢測 (> 20), 以符合 SARS-CoV-2 體外診斷醫療器材的 MDCG 要求。在研究的干擾部分, 這些檢體僅在 ~3X LoD 添加 SARS-CoV-2。對所有目標皆達到 100% 的檢出率。因此, 並未觀察到任何共生生物體對任何目標偵測的干擾。

干擾物質 — 內生性/外源性

評估了 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, 對與鼻咽拭子樣品採集可能相關物質引起的干擾易感性。殘餘的臨床陰性鼻咽拭子樣品以 3X LoD 單獨添加 Flu A、Flu B、RSV A、RSV B 或 SARS-CoV-2, 且在不論是否存在表 17 所示試劑的情況下進行處理。檢測中未包含的物質對於任何目標的測定效能都沒有不良影響。

表 17：經干擾檢測的物質

物質	說明/活性成分	濃度*	
外源性	Neo-Syneprine	Phenylephrine	15% v/v
	鼻用凝膠 — Ayr Saline Nasal Gel	Sodium chloride with preservatives	15% v/v
	順勢療法過敏舒緩 — Similasan	Cardiospermum, Sabadilla, Luffa operculate, Galphimia glauca	15% v/v
	Nature's Bounty Zinc	Zinc Gluconate	0.1mg/mL
	口腔麻醉/鎮痛 — Oragel	Benzocaine, Benzalkonium chloride	1% v/v
	鼻噴劑 — Afrin	Oxymetazoline	15% w/v
	鼻噴劑 — Zicam	<i>Luffa operculata</i> , <i>Galphimia glauca</i> , Histaminum hydrochloricum, Sulfur	15% v/v
	鼻用皮質類固醇 — Flonase	Fluticasone	5% v/v
	鼻用皮質類固醇 — Rhinocort	Budesonide	5% v/v
	鼻用皮質類固醇 — Nasacort	Triamcinolone	5% v/v
	鼻用皮質類固醇 — Dexamethasone	Dexamethasone	10 mg/mL
	鼻用皮質類固醇 — Mometasone	Mometasone	10 mg/mL
	鼻用皮質類固醇 — Beclomethasone	Beclomethasone	10 mg/mL
	Chloraseptic Throat Lozenge	Benzocaine, Menthol	2 mg/mL
	抗生素, 鼻用軟膏	Mupirocin	10 mg/mL
	Relenza 抗病毒藥物	Zanamivir	7.5 mg/mL
Tamiflu 抗病毒藥物	Oseltamivir	25mg/mL	
全身性抗生素	Tobramycin	15 mg/mL	
內生性	Mucin	純化的黏蛋白	2.5% w/v

物質	說明/活性成分	濃度*
人類血液	血液	2% v/v

*備註：所示濃度是在經設計陽性臨床檢體添加干擾物質之前，用於飽和拭子的濃度。因此，其代表拭子採集單位可接受的濃度。

交叉污染

以交替「棋盤式」模式處理高度陽性及陰性檢體，來確認 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 在 NeuMoDx Molecular 288 及 96 系統的交叉污染率。所有檢體皆由模擬 NP 拭子材料組成，陽性檢體添加至 $\geq 10^5$ TCID₅₀/mL（或 $\geq 10,000$ X LoD）。進行了五組棋盤式檢測，最終對 NeuMoDx 288 及 96 Molecular System 產生 60 個陰性重複及 60 個陽性重複。在兩種系統類型中，所有 120 重複的陰性檢體皆準確報告為陰性，表示在 NeuMoDx System 的檢體處理過程沒有交叉污染。

發出報告的時間

使用 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 在 N288 系統處理 8 個檢體的發出報告時間約為 85 分鐘，在 NeuMoDx 96 系統處理 4 個檢體約為 78 分鐘。

整體系統失效率

透過約 3X LoD 濃度檢測 1 個濃度的 SARS-CoV-2 目標（此目標是在臨床陰性鼻咽拭子樣品添加 SARS-CoV-2 第一代世界衛生組織國際標準品），評估 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 的整體系統失效率。使用 NeuMoDx 96 及 288 Molecular System 的直接工作流程（每個系統 100 重複），總共處理 200 重複。在獲得的有效結果總數中，以偽陰性結果的百分比計算失效率。NeuMoDx 96 及 288 Molecular System 的 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay SARS-CoV-2 目標的檢出率皆為 100%，表示兩個系統的失效率皆為 0%。

系統可靠度—抑制

透過計算整個驗證及確效研究運行的所有陰性檢體未解決（檢體處理品管液在沒有系統錯誤的情況下並未擴增）率來確認抑制率。經處理的所有 1221 個陰性檢體共獲得 11 個未解決結果，表示 NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay 的抑制率為 0.9%。

參考文獻

- 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.

商標

BD™ 是 Becton, Dickinson and Company 的商標

Hamilton® 是 Hamilton Company 的註冊商標

Minitip Nylon® Flocked Swab 是 Copan Diagnostics, Inc. 的註冊商標

NeuMoDx™ 及 NeuDry™ 是 NeuMoDx Molecular, Inc. 的商標

TaqMan® 是 Roche Molecular Systems, Inc. 的註冊商標。

UTM-RT® 是 Copan Diagnostics, Inc. 的註冊商標

本文件可能出現的其他所有產品名稱、商標、註冊商標，皆為其各別所有者的財產。

符號

R only	僅限處方使用		請勿重複使用
	製造商		內容物足夠進行「n」次檢測
IVD	體外診斷醫療裝置		參閱使用說明
EC REP	歐盟授權代表		注意
REF	目錄編號	CE	CE 標誌
LOT	批次代碼	CONT	包含
	使用期限		含有動物來源的生物材料
	溫度限制		



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

技術支援/警示通報：support@qiagen.com

專利：www.neumodx.com/patents



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

