

REF

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

R only

VOORZICHTIG: Voor VS: uitsluitend bestemd voor export

IVD

Voor *in-vitro* diagnostisch gebruik met de NeuMoDx 288 en NeuMoDx 96 Molecular Systems



De digitale versie is beschikbaar via www.qiagen.com/neumodx-ifu

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van NeuMoDx 288 Molecular System voor gedetailleerde instructies; O/N 40600108

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van NeuMoDx 96 Molecular System voor gedetailleerde instructies; O/N 40600317

BEOOGD GEBRUIK

De NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay is een multiplexe, *in-vitro* realtime RT-PCR diagnostische test bedoeld voor de gelijktijdige kwalitatieve detectie en differentiëring van influenza A-virus (Flu A), influenza B-virus (Flu B), respiratoir syncytieel virus (RSV) en SARS-CoV-2-RNA uit nasofaryngeale (NP) uitstrijkjes, afgenomen in transportmedium bij personen die tekenen en symptomen van influenza-achtige ziekte (ILI) vertoonden.

De NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, uitgevoerd op het NeuMoDx 288 Molecular System en NeuMoDx 96 Molecular System, omvat geautomatiseerde RNA-extractie om doel-nucleïnezuren uit het monster te isoleren en realtime RT-PCR die zich op één geconserveerd gebied voor Flu A en RSV richt, en op twee geconserveerde gebieden voor SARS-CoV-2 en Flu B.

De resultaten van deze test mogen niet worden gebruikt als enige basis voor de diagnose, behandeling of andere beslissingen over de behandeling van de patiënt. Positieve resultaten tonen de aanwezigheid van SARS-CoV-2- en/of Flu A- en/of Flu B- en/of RSV-RNA aan, maar sluiten bacteriële infectie of gelijktijdige infectie met andere virussen niet uit. Klinische correlatie met de voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische informatie is nodig om de infectiestatus van de patiënt te bepalen.

Negatieve resultaten sluiten infectie met Flu A, Flu B, RSV of SARS-CoV-2 niet uit en mogen niet worden gebruikt als enige onderbouwing voor diagnose, behandeling of andere beslissingen over de behandeling van de patiënt. Negatieve resultaten moeten worden gecombineerd met klinische observaties, voorgeschiedenis van de patiënt en/of epidemiologische informatie.

De NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay is bedoeld voor gebruik door getraind klinisch laboratoriumpersoneel dat specifiek geïnstrueerd en getraind is in de technieken van realtime RT-PCR en *in-vitro* diagnostische procedures en/of NeuMoDx Molecular Systems. De NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay is niet bedoeld voor zelftests of voor gebruik op de plaats van zorgverlening.

SAMENVATTING EN UITLEG

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay is een kwalitatieve assay voor gebruik op het NeuMoDx 96- NeuMoDx 288-instrumentsysteem voor de detectie van SARS-CoV-2-, influenza A-, influenza B- en/of RSV-RNA in nasofaryngeale uitstrijkjes. De assay maakt geen onderscheid tussen RSV A- en RSV B-RNA. Nasofaryngeale uitstrijkjes worden afgenomen in het Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) (Copan UTM-RT, Copan, CA, USA) of het BD™ Universal Viral Transport System (UVT) (BD™ UVT, BD, NJ, USA). De test maakt gebruik van een interne RNA-monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC2) die wordt geïmplementeerd tijdens de monsterbereiding en dient om het gehele monsterbereiding-, reverse-transcriptie- en PCR-amplificatieproces te monitoren. De NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay maakt tot twee specimen-verwerkingsworkflows mogelijk, op basis van de behoefte van het laboratorium, namelijk een direct-workflow en een voorbehandeling-workflow. Het NeuMoDx Molecular System voert automatisch alle stappen uit die nodig zijn voor het extraheren van het nucleïnezuur-doelmateriaal, het voorbereiden van het geïsoleerde RNA voor realtime reverse-transcriptase polymerasekettingreactie (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction; RT-PCR) en, indien aanwezig, het omgekeerd transcriberen, amplificeren en detecteren van de amplificatieproducten. De NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2-assay richt zich op de geconserveerde gebieden van de SARS-CoV-2-Nsp2 en O-ribose-methyltransferasegenen, gebieden in de matrixproteïne van influenza A-virus en respiratoir syncytieel virus en de matrixproteïne- en non-structurele proteïne NS1-genen van influenza B-virus.

UITGANGSPUNT VAN DE PROCEDURE

De huidige werkwijze voor de detectie van een acute infectie met FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 is de nucleïnezuuramplificatie van geconserveerde gebieden van het doelgenoom. Dit komt overeen met de realtime reverse transcriptie PCR van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay, uitgevoerd op het NeuMoDx 288 Molecular System en het NeuMoDx 96 Molecular System.

De NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay combineert geautomatiseerde RNA-extractie met amplificatie/detectie van SARS-CoV-2, Flu A, Flu B en/of RSV-RNA door middel van realtime RT-PCR. Nasofaryngeale uitstrijkjes worden afgenomen in het Copan UTM-RT System of het BD™ UVT System. Dankzij de Direct-workflow kan het primaire afnamebuisje of een aliquot van het transportmedium in een secundair buisje voorzien worden van een barcode en worden geladen op het NeuMoDx System voor verwerking. Als alternatief kan het uitstrijkje in transportmedium eerst behandeld worden met een gelijk volume van NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) voordat het in het systeem wordt geladen voor verwerking, zonder dat bijkomende werkzaamheden nodig zijn. Het NeuMoDx System zuigt automatisch een aliquot van het specimen op en mengt dit met NeuMoDx Lysis Buffer 3 voor de Direct-workflow, of zuigt een aliquot van voorbehandeld specimen op en mengt dit met Lysis Buffer 2 en de in de NeuMoDx Extraction Plate opgenomen reagentia om de verwerking in gang te zetten. Specifiek voor de Direct-workflow wordt het primaire afnamebuisje (met wattenstaafje en dopje verwijderd) of een aliquot van het monstermedium voorzien van een barcode met behulp van een daarvoor bestemde specimenbuisjesdrager op het NeuMoDx System geladen. Voor de Voorbehandeling-workflow wordt het specimen in transportmedium eerst behandeld met een gelijk volume van NeuMoDx VVLB voordat het in het systeem wordt geladen. Voor de Direct-workflow wordt een 400 µl aliquot van het monster door het NeuMoDx System geaspireerd en gemengd met een gelijk volume NeuMoDx Lysis Buffer 3; voor de Voorbehandeling-workflow wordt 550 µl van het voorbehandelde monster gecombineerd met een gelijk volume van Lysis Buffer 2. Het NeuMoDx System automatiseert en integreert extractie en concentratie van RNA, bereiding van reagentia, nucleïnezuuramplificatie/detectie van de beoogde sequentie met behulp van realtime RT-PCR. De monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC2) dient als hulpmiddel voor het opsporen van remmers en fouten van het systeem, het proces of de reagentia. Zodra het specimen in het NeuMoDx System is geplaatst, zijn er geen handelingen meer nodig door een laborant.

Het NeuMoDx System gebruikt een combinatie van hitte, lytisch enzym en extractiereagentia om automatisch lysis en RNA-extractie uit te voeren en remmende stoffen te verwijderen. De vrijgekomen nucleïnezuuren worden opgevangen door paramagnetische deeltjes. De deeltjes met gebonden nucleïnezuur worden geladen in de NeuMoDx Cartridge waar de ongebonden elementen worden weggespoeld met NeuMoDx Wash Reagent. Het gebonden RNA wordt vervolgens geëluëerd met behulp van NeuMoDx Release Reagent. Het NeuMoDx System doordrenkt de bedrijfseigen NeuDry™-amplificatiereagentia met het geëluëerde RNA. Deze reagentia bevatten alle elementen die nodig zijn voor de amplificatie van het Flu A-, Flu B-, RSV-, SARS-CoV-2- en SPC2-doelmateriaal. Zo kunnen alle doelwitten en RNA-sequenties van monsterverwerkingscontrole tegelijkertijd worden geamplificeerd en gedetecteerd. Na reconstitutie van de gedroogde RT-PCR-reagentia brengt het NeuMoDx System het bereide RT-PCR-mengsel over naar één PCR-kamer (per specimen) van de NeuMoDx Cartridge. Reverse transcriptie, amplificatie en detectie van de controle- en doel-sequenties (indien aanwezig) vinden plaats in de PCR-kamer. De NeuMoDx Cartridge is ontworpen om het gegenereerde amplificaat na RT-PCR te bevatten, waardoor het risico op verontreiniging na amplificatie vrijwel volledig wordt weggenomen.

De geamplificeerde doelen worden realtime gedetecteerd met behulp van hydrolyseprobeverbindingen (meestal aangeduid met TaqMan®-verbindingen) die gebruikmaken van fluorogene oligonucleotideprobleemoleculen van hun respectievelijke doelen. TaqMan-probes bestaan uit een fluorofoor die covalent is bevestigd aan het 5'-uiteinde van de oligonucleotideprobe en een quencher die is bevestigd aan het 3'-uiteinde. De fluorofoor en de quencher bevinden zich vlak bij elkaar op de intacte probe, waardoor het quenchermolecuul het fluorescent dat wordt uitgestraald door de fluorofoor kan onderdrukken door middel van Förster-resonantie-energieoverdracht (Förster Resonance Energy Transfer; FRET).

TaqMan-probes zijn zo ontworpen dat ze hybridiseren binnen een cDNA-gebied dat is geamplificeerd door een specifieke set primers. Terwijl de Taq-DNA-polymerase de primer verlengt en de nieuwe streng synthetiseert, degradeert de activiteit van de 5'- tot 3'-exonuclease van de Taq-DNA-polymerase de probe die aan de template is gehybridiseerd. Door de degradatie geeft de probe de fluorofoor vrij en wordt de nabijheid met de polymerase verbroken, waardoor het dovende effect door middel van FRET wordt doorbroken en detectie van de fluorofoor mogelijk wordt. Het resulterende fluorescente signaal dat wordt gedetecteerd in de RT-PCR-thermocycler van het NeuMoDx System is recht evenredig aan de vrijgekomen fluorofoor en kan worden gecorreleerd met de hoeveelheid doelmateriaal dat aanwezig is.

Het kanaal van fluorescentiedetectie voor elk doelwit van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay staat in de onderstaande tabel vermeld. De software van het NeuMoDx System meet het fluorescentiesignaal dat aan het einde van elke amplificatiecyclus wordt uitgezonden door de TaqMan-probes. Wanneer de thermische cycli zijn voltooid, analyseert de software van het NeuMoDx System de gegevens en geeft het systeem de uitslag POSITIVE (Positief), NEGATIVE (Negatief), INDETERMINATE (Onbepaald), NO RESULT (Geen resultaat) of UNRESOLVED (Onbekend).

Tabel 1. Detectiekanalen

Doelwit	Doelgebied	Probe-fluorofoor	Bekrachtiging/emissie	Detectiekanaal
Influenza A	Matrixproteïne	FAM	530/555 nm	Groen
Influenza B	Matrixproteïne	HEX	470/510 nm	Geel
	Non-structurele proteïne NS1			
SARS-CoV-2	Nsp2-gen	Texas Red	585/610 nm	Oranje
	O-ribose-methyltransferase			
Respiratoir syncytieel virus	Matrixproteïne	Q705	680/715 nm	Dieprood
SPC2	Proteïnecomplex (MS2)	Q670	625/660 nm	Rood

REAGENTIA/VERBRUIKSARTIKELEN

Meegeleverde materialen

REF	Inhoud	Eenheden per pakket	Tests per eenheid	Tests per pakket
300901	NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip Gedroogde RT-PCR-reagentia die FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2-specifieke TaqMan®-probes en primers bevatten, en SPC2-specifieke TaqMan-probe en primers. Bevat 21,1% Tris-HCl, 8,4% dNTP en andere niet-werkzame bestanddelen.	6	16	96

Materialen die benodigd zijn, maar niet worden meegeleverd (afzonderlijk verkrijgbaar via NeuMoDx)

REF	Inhoud
901200	NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls Sets met FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2-positieve en -negatieve controles voor eenmalig gebruik om de dagelijkse validiteit van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay vast te stellen (1 flacon van elke controle = 1 set)
100200	NeuMoDx Extraction Plate Gedroogde paramagnetische deeltjes, lytisch enzym en monsterverwerkingscontroles
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-tips (300 µl) met filters
235905	Hamilton CO-RE/CO-RE II-tips (1000 µl) met filters

* Alleen vereist voor de verwerking van monsters aan de hand van de Direct-workflow, zonder een voorbehandelingsstap. Zie de paragraaf 'Gebruikshandleiding' hieronder.

** Alleen vereist als monsters worden verwerkt aan de hand van de Voorbehandeling-workflow, met een voorbehandelingsstap. Zie de paragraaf 'Gebruikshandleiding' hieronder.

Wattenstaafjes en transportmedia (niet meegeleverd)

Monstertype	Aanbevolen afnamehulpmiddel	Aanbevolen wattenstaafje
Nasofaryngeaal wattenstaafje	3 ml Universal Transport Medium (Copan UTM-RT, Copan, CA, USA, 305C) of 3 ml Universal Viral Transport System (BD UVT, BD, NJ, USA, BD 220531)	Flexible Minitip Nylon® Flocked Swab (Copan, CA, USA) of Flexible Minitip Flocked Swab (BD, NJ, USA)

Benodigde instrumenten

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] of NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]
NeuMoDx System-software versie 1.9.2.6 of hoger



WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

- De NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay is uitsluitend geschikt voor *in-vitro* diagnostisch gebruik met NeuMoDx Systems.
- Gebruik de reagentia en de verbruiksartikelen niet na de vermelde houdbaarheidsdatum.
- Gebruik de reagentia niet als de verzegeling is verbroken of als de verpakking bij aankomst is beschadigd.
- Gebruik de verbruiksartikelen of reagentia niet als de beschermhoes bij levering is geopend of beschadigd.
- Het minimale specimenvolume van secundaire aliquots is afhankelijk van de grootte van het buisje of de specimenbuisjesdrager volgens de onderstaande specificaties. Een specimenvolume onder het opgegeven minimum kan leiden tot de fout 'Quantity Not Sufficient' (Te weinig volume).
- Het gebruik van specimen die bij ongeschikte temperaturen of langer dan de gespecificeerde opslagtijd zijn bewaard, kan leiden tot ongeldige of foutieve resultaten.
- Voorkom besmetting van reagentia en verbruiksartikelen met microben en ribonuclease (RNase). Bij het gebruik van secundaire buisjes wordt aanbevolen steriele RNase-vrije wegwerppipetten te gebruiken. Gebruik voor elk specimen een nieuwe pipet.
- Hanteer of demonteer na het amplificatieproces geen NeuMoDx Cartridges om contaminatie te voorkomen. Haal onder geen enkele omstandigheid NeuMoDx Cartridges uit de container voor biologisch gevaarlijk afval (NeuMoDx 288 Molecular System) of de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval (NeuMoDx 96 Molecular System). De NeuMoDx Cartridge is ontworpen om besmetting te voorkomen.
- Let goed op dat de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip, de aanvullende benodigde verbruiksartikelen en reagentia voor de test, de persoonlijke beschermingsuitrusting zoals handschoenen en een laboratoriumjas, en het NeuMoDx System niet worden verontreinigd wanneer er in het laboratorium ook PCR-tests met open buisjes worden uitgevoerd.
- Draag schone, poedervrije handschoenen van nitril bij het hanteren van NeuMoDx-reagentia en -verbruiksartikelen. Let goed op dat u de bovenkant van de NeuMoDx Cartridge, de folielaag van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip en de NeuMoDx Extraction Plate of de bovenkant van de NeuMoDx Lysis Buffer-container niet aanraakt; pak de verbruiksartikelen en reagentia alleen bij de zijanten vast.
- NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls [REF 901200] moeten elke 24 uur worden verwerkt wanneer met de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay wordt getest.
- Voor elk reagens zijn veiligheidsinformatiebladen (VIB's) beschikbaar (waar van toepassing) via www.giagen.com/neumodx-ifu.
- Was uw handen grondig na het uitvoeren van de test.
- Pipetteer niet met de mond. Rook, drink of eet niet in ruimten waarin specimen of reagentia worden verwerkt.
- Behandel specimen altijd alsof ze infectieus zijn en volg procedures voor veilig werken in het laboratorium, zoals beschreven in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹ en in CLSI-document M29-A4.²
- Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB's).
- Voer ongebruikte reagentia en afval af in overeenstemming met nationale, federale, provinciale en lokale regelgeving.

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



Bevat: boorzuur, geëthoxylerd nonylfenol. Gevaar! Veroorzaakt huidirritatie. Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Kan de vruchtbaarheid of het ongeboren kind schaden. Langdurig schadelijk voor in het water levende organismen. Voor gebruik speciale aanwijzingen raadplegen. Niet hanteren tot alle voorzorgsmaatregelen zijn gelezen en begrepen. Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen. Bij blootstelling of twijfel: Medische hulp inschakelen. In een vergrendelde opberging bewaren. Voer de inhoud/bak af naar een erkende stortlocatie.

Informatie bij noodgevallen

CHEMTREC
Buiten de VS en Canada +1 703-527-3887
NeuMoDx Molecular, Inc.

40600555-NL_C
2023-08

Afvoeren

Dit product bevat geëthoxylerd nonylfenol, een hormoonverstorende stof die nadelige effecten op het milieu kan hebben. Voer af als gevaarlijk afval in overeenstemming met lokale en nationale wetgeving. Dit is ook van toepassing op ongebruikte producten. Voer vloeibaar afval niet af via het riool. Volg de aanbevelingen in het veiligheidsinformatieblad (VIB).



OPSLAG, HANTERING EN STABILITEIT VAN HET PRODUCT

- De NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips blijven in de primaire verpakking tot en met de vermelde uiterste gebruiksdatum op het productetiket stabiel bij 15 °C tot 28 °C.
- Laad testproducten die eerder op een ander NeuMoDx System zijn geladen niet nogmaals.
- Wanneer de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip is geladen, kan de strip maximaal 14 dagen op het NeuMoDx System aanwezig blijven. De resterende houdbaarheid van geladen teststrips wordt door de software bijgehouden en direct aan de gebruiker gemeld. Het NeuMoDx System vraagt de gebruiker om teststrips die na de toegestane periode worden gebruikt te verwijderen.

AFNAME, TRANSPORT EN OPSLAG VAN SPECIMENS

Hanteer alle specimens alsof ze infectieuze agentia zouden kunnen overdragen.

1. Specimens moeten worden verzameld met het Copan UTM-RT® System of BD™ UVT System met behulp van de gevalideerde gevlokte wattenstaafjes van nylon (zie Wattenstaafjes en transportmedia). Ook gevlokte, nylon en polyester wattenstaafjes worden geaccepteerd. Volg de instructies van de fabrikant voor afname, transport en opslag van specimens.
2. Specimens kunnen worden getest in compatibele primaire afnamebuisjes of secundaire specimenbuisjes.
3. Specimens kunnen maximaal 8 uur in het NeuMoDx System worden bewaard voorafgaand aan de verwerking. Als bijkomende opslagtijd vereist is, wordt aanbevolen dat de specimens worden gekoeld of bevroren als secundaire-aliquots.
4. Bewaar bereide specimens voorafgaand aan het testen maximaal 7 dagen bij 2 tot 8 °C.
5. Als specimens worden verzonden, moeten ze worden verpakt en gelabeld conform de toepasselijke landelijke en/of internationale regelgeving.
6. Ga verder met de instructies in de paragraaf *Testvoorbereiding*.

TESTVOORBEREIDING

De NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay omvat twee verschillende workflows die afhankelijk van de voorkeur van de gebruiker/het laboratorium gevolgd kunnen worden:

Workflow 1: **DIRECT** – uitstrijkjes in transportmedium worden rechtstreeks op het NeuMoDx System geladen in een primair afnamebuisje of een secundair specimenbuisje

-of-

Workflow 2: **VOORBEHANDELING** – uitstrijkjes in transportmedium worden voorbehandeld met NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer voordat ze in een primair afnamebuisje of een secundair specimenbuisje op het NeuMoDx System worden geladen

Testvoorbereiding – DIRECT-workflow voor directe uitstrijkjes met specimens

1. Breng een barcodelabel voor het specimen aan op een specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx System volgens de beschrijving in stap 3 hieronder.
2. Als u het specimen in het primaire afnamebuisje test, plaatst u het buisje met barcode in een specimenbuisjesdrager. Zorg er daarbij voor dat de dop en het wattenstaafje zijn verwijderd alvorens het buisje op het NeuMoDx System te laden.
3. Ook kan een aliquot van het transportmedium worden overgebracht op secundaire buisje met barcode dat geplaatst wordt in een specimenbuisjesdrager. Als u een secundair buisje gebruikt, brengt u een aliquot van het transportmedium over naar een specimenbuisje met barcode en dat compatibel is met het NeuMoDx System (zie hieronder voor het juiste volume):
 - Specimenbuisjesdrager (32 buisjes): 11-14 mm diameter en 60-120 mm hoogte; minimaal vulvolume ≥ 600 µl
 - Specimenbuisjesdrager (24 buisjes): 14,5-18 mm diameter en 60-120 mm hoogte; minimaal vulvolume ≥ 1000 µl
 - Specimenbuisjesdrager met laag volume (32 buisjes): 1,5 ml microcentrifugebuisje met conische bodem; minimaal vulvolume ≥ 500 µl

Testvoorbereiding – VOORBEHANDELING workflow voor voorbehandelde uitstrijkjes met specimens

Opmerking: Breng Vantage Viral Lysis Buffer vóór verwerking op kamertemperatuur (15-30 °C).

WAARSCHUWING: Voorbehandeling van uitstrijkjes met NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer garandeert niet dat eventueel aanwezig virus geïnactiveerd wordt. Alle monsters moeten worden behandeld alsof ze infectieuze agentia zouden kunnen overdragen.

1. Behandel het specimen transportmedium voor met een 1:1-volume NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. Als het transportmedium bekend is, kan dit worden gedaan in het primaire buisje voor afname van het uitstrijkje. Het is ook mogelijk om de voorbehandeling uit

te voeren in een secundair buisje door een aliquot van het transportmedium te mengen met een gelijk volume NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. Het resulterende mengsel moet voldoen aan de in stap 4 (zie hieronder) vermelde vereisten voor het minimumvolume.

2. Meng voorzichtig met een pipet om een uniforme verdeling van de NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer te garanderen.
3. Als u het voorbehandelde specimen in het primaire afnamebuisje test, plaatst u het buisje met barcode in een specimenbuisjesdrager. Zorg er daarbij voor dat de dop en het wattenstaafje zijn verwijderd alvorens het buisje op het NeuMoDx System te laden.
4. Als u een secundair buisje gebruikt, brengt u een aliquot van het voorbehandelde monster over naar een specimenbuisje met barcode dat compatibel is met het NeuMoDx System, en plaatst u het in een specimenbuisjesdrager volgens onderstaande volumes:
 - Specimenbuisjesdrager (32 buisjes): 11-14 mm diameter en 60-120 mm hoogte; minimaal vulvolume $\geq 750 \mu\text{l}$
 - Specimenbuisjesdrager (24 buisjes): 14,5-18 mm diameter en 60-120 mm hoogte; minimaal vulvolume $\geq 1100 \mu\text{l}$
 - Specimenbuisjesdrager met laag volume (32 buisjes): 1,5 ml microcentrifugebuisje met conische bodem; minimaal vulvolume $\geq 650 \mu\text{l}$

Bediening van het NeuMoDx System

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 288 en NeuMoDx 96 Molecular System (O/N 40600108 en 40600317) voor gedetailleerde instructies.

1. Laad de testopdracht op het NeuMoDx System volgens de workflow die is gebruikt voor de testvoorbereiding:
 - Onbehandelde, pure uitstrijkjes die voorbereid zijn volgens de DIRECT-workflow worden getest door het specimen te definiëren als 'Transport Medium' (Transportmedium).
 - Uitstrijkjes die voorbehandeld zijn met NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer volgens de VOORBEHANDELING-workflow worden getest door het specimen te definiëren als 'UserSpecified1' (Gebruiker-bepaald 1)Indien niet gedefinieerd in de testopdracht, wordt het specimentype Transport Medium (Transportmedium) (direct-workflow) in een **Secondary Tube** (Secundair buisje) als standaard gebruikt.
2. Plaats NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip(s) in een of meer NeuMoDx System teststripdrager(s) en plaats de teststripdrager(s) met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System.
3. Plaats de benodigde verbruiksartikelen in de betreffende dragers van het NeuMoDx System als de software van het NeuMoDx System dat aangeeft. Laad de dragers voor verbruiksartikelen vervolgens met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System.
4. Vervang het NeuMoDx Wash Reagent en/of het NeuMoDx Release Reagent en leeg het primerafval en de container voor biologisch gevaarlijk afval (alleen NeuMoDx 288 Molecular System), de bak voor tipafval (alleen NeuMoDx 96 Molecular System) en/of de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval (alleen NeuMoDx 96 Molecular System) als u de instructie hiervoor krijgt op het scherm van de NeuMoDx System-software.
5. Laad de specimenbuisjes in een specimenbuisjesdrager en controleer of alle dopjes en wattenstaafjes van de buisjes zijn verwijderd.
6. Plaats de specimenbuisjesdrager(s) in het autoladerrek en laad de drager(s) met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System. Omdat er een geldige testopdracht in het systeem aanwezig is, wordt hierdoor de verwerking van de geladen specimen voor de aangegeven tests gestart.

BEPERKINGEN

1. De NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip kan alleen worden gebruikt met NeuMoDx Systems.
2. De prestaties van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip zijn vastgesteld voor door artsen afgenomen nasofaryngeale uitstrijkjes in transportmedium. Het gebruik van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip met andere specimentypes en transportmedia is niet beoordeeld en de prestatiekenmerken hiervan zijn onbekend.
3. Aangezien de detectie van virale doel afhankelijk is van het aantal virale deeltjes dat in het monster aanwezig is, zijn betrouwbare resultaten afhankelijk van de manier waarop specimen worden afgenomen, behandeld en bewaard.
4. Foutieve resultaten kunnen worden veroorzaakt door onjuiste afname, hantering of opslag van specimen, door technische fouten of door het door elkaar halen van specimenbuisjes. Bovendien kunnen zich fout-negatieve resultaten voordoen wanneer het aantal virusdeeltjes in het monster lager is dan de detectielimiet van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.
5. Het bedienen van het NeuMoDx System mag alleen worden uitgevoerd door medewerkers die zijn getraind in het gebruik van het NeuMoDx System.
6. Als zowel de Flu A-, Flu B-, RSV- en SARS-CoV-2-doelwitten als het SPC2-doelwit niet amplificeert, wordt er een ongeldig resultaat (Indeterminate (Onbepaald) of Unresolved (Onbekend)) gerapporteerd en moet de test worden herhaald.
7. Als er een systeemfout optreedt voor de monsterverwerking wordt voltooid, wordt 'No Result' (Geen resultaat) gemeld en moet de test worden herhaald.
8. Een positief resultaat wijst niet per definitie op de aanwezigheid van syncytische influenza A, influenza B, SARS-CoV-2 en/of RSV. Een positief resultaat doet echter wel het vermoeden rijzen dat er RNA van influenza A, influenza B, SARS-CoV-2 en/of RSV aanwezig is.
9. Verwijderingen of mutaties in de geconserveerde gebieden waarop de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay is gericht, kunnen de detectie beïnvloeden en kunnen tot een foutief resultaat leiden.
10. De resultaten van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay moeten door de arts worden beschouwd als aanvulling op klinische observaties en overige beschikbare informatie.

11. Gebruik de goede laboratoriumpraktijken, zoals het aantrekken van nieuwe handschoenen bij het hanteren van specimens van verschillende patiënten, om besmetting te voorkomen.

RESULTATEN

Beschikbare resultaten kunnen worden bekeken of afgedrukt vanuit het tabblad 'Results' (Resultaten) in het venster Results (Resultaten) op het aanraakscherm van het NeuMoDx System. De resultaten van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay worden automatisch gegenereerd door de software van het NeuMoDx System, dat gebruikmaakt van het beslissingsalgoritme en de resultaatverwerkingsparameters die in het NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay-assaydefinitiebestand (FluA-B-RSV-CoV-2 ADF versie 4.0.0 of hoger) worden vermeld. Een resultaat van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay kan worden gerapporteerd als Negative (Negatief), Positive (Positief), Indeterminate (Onbepaald), No Result (Geen resultaat) of Unresolved (Onbekend), afhankelijk van de amplificatiestatus van het doelmateriaal en SPC2. Resultaten worden gerapporteerd op basis van het ADF-beslissingsalgoritme voor verwerking van resultaten, volgens het overzicht in de onderstaande tabel 2.

Tabel 2. Interpretatie van resultaten van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay

ALGEMEEN RESULTAAT	DOELWIT 1 (Flu A) FAM	DOELWIT 2 (Flu B) HEX	DOELWIT 3 (SARS-CoV-2) TX RED	DOELWIT 4 (RSV) Dieprood	VERWERKINGSCONTROLE (SPC2) Rood	INTERPRETATIE
POSITIVE (POSITIEF) (doel-RNA gedetecteerd)	AMPLIFIED (GEAMPLIFICEERD) [5 ≤ Ct < 25 AND (EN) EPR > 2.0 AND (EN) EP ≥ 750] OR (OF) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (EN) EP ≥ 750)	N.v.t	N.v.t	N.v.t	N.v.t	Flu A-RNA gedetecteerd
	N.v.t	AMPLIFIED (GEAMPLIFICEERD) [5 ≤ Ct < 28 AND (EN) EPR > 1.5 AND (EN) EP ≥ 600] OR (OF) [28 ≤ Ct ≤ 37 AND (EN) EP ≥ 600]	N.v.t	N.v.t	N.v.t	Flu B-RNA gedetecteerd
	N.v.t	N.v.t	AMPLIFIED (GEAMPLIFICEERD) [5 ≤ Ct < 25 AND (EN) EPR > 1.5 AND (EN) EP ≥ 1200] OR (OF) [25 ≤ Ct ≤ 37 AND (EN) EP ≥ 1200]	N.v.t	N.v.t	SARS-CoV-2- RNA gedetecteerd
	N.v.t	N.v.t	N.v.t	AMPLIFIED (GEAMPLIFICEERD) [5 ≤ Ct < 30 AND (EN) EPR > 1.15 AND (EN) EP ≥ 1200] OR (OF) [30 ≤ Ct ≤ 37 AND (EN) EP ≥ 1200]	N.v.t	RSV-RNA gedetecteerd

ALGEMEEN RESULTAAT	DOELWIT 1 (Flu A) FAM	DOELWIT 2 (Flu B) HEX	DOELWIT 3 (SARS-CoV-2) TX RED	DOELWIT 4 (RSV) Dieprood	VERWERKINGSCONTROLE (SPC2) Rood	INTERPRETATIE
NEGATIVE (NEGATIEF) (Doel-RNA niet gedetecteerd)	NOT AMPLIFIED (NIET GEAMPLIFICEERD) N.v.t OR (OF) (5 ≤ Ct < 25 AND (EN) EPR ≤ 2.0) OR (OF) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (EN) EP < 750) OR (OF) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (NIET GEAMPLIFICEERD) N.v.t OR (OF) (5 ≤ Ct < 28 AND (EN) EPR ≤ 1.5) OR (OF) (28 ≤ Ct ≤ 37 AND (EN) EP < 600) OR (OF) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (NIET GEAMPLIFICEERD) N.v.t OR (OF) (5 ≤ Ct < 25 AND (EN) EPR ≤ 1.5) OR (OF) (25 ≤ Ct ≤ 37 AND (EN) EP < 1200) OR (OF) (Ct > 37)	NOT AMPLIFIED (NIET GEAMPLIFICEERD) N.v.t OR (OF) (5 ≤ Ct < 30 AND (EN) EPR ≤ 1.15) OR (OF) (30 ≤ Ct ≤ 37 AND (EN) EP < 1200) OR (OF) (Ct > 37)	AMPLIFIED (GEAMPLIFICEERD) (24 ≤ Ct ≤ 31 AND (EN) EP ≥ 1800)	RNA van Flu A, Flu B, RSV en SARS-CoV-2 niet gedetecteerd
NR*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Niet geamplificeerd, Systeemfout gedetecteerd, Monsterverwerking afgebroken)					Verwerking van het monster werd afgebroken; test het monster opnieuw
IND*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Niet geamplificeerd, Systeemfout gedetecteerd, Monsterverwerking voltooid)					Alle doelresultaten waren ongeldig; test het monster opnieuw
UNR*	Not amplified, No System Error Detected (Niet geamplificeerd, Geen systeemfout gedetecteerd)					Alle doelresultaten waren ongeldig; test het monster opnieuw

* Het systeem is uitgerust met een functie voor automatische Rerun (Opnieuw uitvoeren)/Repeat (Herhalen) om automatische herverwerking mogelijk te maken in geval van een ongeldig resultaat, om vertragingen in het vermelden van resultaten te minimaliseren.

Ongeldige resultaten

Als een NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay die wordt uitgevoerd met het NeuMoDx System geen geldig resultaat oplevert, wordt dit gerapporteerd als Indeterminate (Onbepaald), No Result (Geen resultaat) of Unresolved (Onbekend), afhankelijk van de fout die is opgetreden. In dat geval moet de test worden herhaald om een geldig resultaat te verkrijgen.

Een resultaat wordt gerapporteerd als Indeterminate (Onbepaald) als er een fout wordt gedetecteerd bij het NeuMoDx System tijdens de verwerking van het monster. In het geval van een Indeterminate (Onbepaald) resultaat wordt aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren.

Een resultaat wordt gerapporteerd als No Result (Geen resultaat) als er een fout wordt gedetecteerd bij het NeuMoDx System en de verwerking van het monster wordt afgebroken. In het geval van No Result (Geen resultaat) wordt aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren.

Een resultaat wordt gerapporteerd als Unresolved (Onbekend) als er geen doel is gedetecteerd en er geen amplificatie van de monsterverwerkingscontrole heeft plaatsgevonden. Dit wijst mogelijk op een reagensdefect of de aanwezigheid van remmers. In het geval van een Unresolved (Onbepaald) resultaat wordt in eerste instantie aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren. Als deze test ook een ongeldig resultaat oplevert, kan een verdund specimen worden gebruikt om het effect van mogelijke remming te verminderen.

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 288 Molecular System (O/N: 40600108) of de gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 96 Molecular System (O/N: 40600317) voor een lijst van de foutcodes die kunnen optreden bij Ongeldige resultaten.

Het NeuMoDx System is uitgerust met een functie voor automatische Rerun (Opnieuw uitvoeren)/Repeat (Herhalen) die de eindgebruiker kan gebruiken om ervoor te zorgen dat een INVALID (Ongeldig) resultaat automatisch opnieuw wordt verwerkt om vertragingen in de resultaatrapportage zoveel mogelijk te beperken.

Kwaliteitscontrole

Lokale regelgeving stelt meestal dat het laboratorium verantwoordelijk is voor controleprocedures om de nauwkeurigheid en precisie van het gehele analyseproces te bewaken. Ook moet zij het aantal, type en de frequentie van testcontrolemiddelen vaststellen met behulp van geverifieerde werkingsspecificaties voor een niet-gemodificeerd, goedgekeurd teststelsel.

Externe controles

1) Gebruikers moeten elke 24 uur en voorafgaand aan het verwerken van patiëntmonsters één set NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Controls [REF 901200] verwerken. Als er geen set met geldige externe controleresultaten bestaat, attendeert de software van het NeuMoDx System de gebruiker erop dat controles moeten worden verwerkt voordat monsterresultaten kunnen worden gerapporteerd.

2) Verwerk de externe controles als ze zijn vereist (1 positieve controle en 1 negatieve controle):

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	Overzicht labelkleuren
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control(s)	Rood
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Negative Control(s)	Zwart

3) Voor het verwerken van externe controles, plaatst u de controles in een specimenbuisjesdrager en plaatst u de drager vanuit het autoladerrek in het NeuMoDx System met behulp van het aanraakscherm. Het NeuMoDx System herkent de streepjescodes en start met de verwerking van de controles, tenzij de reagentia of verbruiksartikelen die benodigd zijn voor de test niet aanwezig zijn.

4) De validiteit van deze externe controles wordt door het NeuMoDx System beoordeeld op basis van de verwachte resultaten.

NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 External Control	FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2-resultaat	Resultaat SPC2
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Positive Control(s)	FluA, FluB, RSV, SARS-CoV-2 RNA Detected (RNA van FluA, FluB, RSV, SARS-CoV-2 gedetecteerd)	N.v.t
NeuMoDx Flu A/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Negative Control(s)	FluA, FluB, RSV, SARS-CoV-2 RNA Not Detected (Geen RNA van FluA, FluB, RSV, SARS-CoV-2 gedetecteerd)	SPC2-positief

5) In geval van afwijkende resultaten bij externe controles doet u het volgende:

- a) Een positief testresultaat dat voor een negatief controlemonster is gerapporteerd, kan contaminatie aantonen, en de kwaliteitscontroleprocedures van de laboratoria moeten onderzocht worden om een grondoorzaak vast te stellen. Zorg dat u gebruikmaakt van afzonderlijke gebieden voor monsterbereiding, controleverwerking en RT-PCR-opstelling. Raadpleeg de *Gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 288/96 Molecular System* voor aanvullende adviezen over probleemoplossing.
- b) Een Negative (Negatief) testresultaat dat wordt gerapporteerd voor een positieve-controlemonster kan op een probleem met reagentia of het NeuMoDx System wijzen. Raadpleeg de *Gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 288/96 Molecular System* voor advies over probleemoplossing.
- c) In beide bovengenoemde gevallen of bij een No Result (Geen resultaat; NR), Unresolved (Onbekend; UNR) of Indeterminant (Onbepaald; IND) resultaat herhaalt u de mislukte controle met (een) nieuwe ontdoode flacon(s) van de controle(s) die de validiteitstest niet heeft/hebben doorstaan.
- d) Als de positieve controle een Negative (Negatief) testresultaat blijft opleveren, neemt u contact op met de technische ondersteuning van QIAGEN.
- e) Als de negatieve controle een Positive (Positief) testresultaat blijft opleveren, probeert u alle mogelijke besmettingsbronnen te verwijderen. U moet onder meer alle reagentia vervangen en de run herhalen, voordat u contact opneemt met de technische ondersteuning van QIAGEN.
- f) Indien de externe controles niet de verwachte resultaten opleveren, is het vereist om een set met positieve en negatieve controles te herhalen. Patiëntresultaten worden niet gerapporteerd indien controles geen verwachte resultaten opleveren.

(Interne) monsterverwerkingscontroles

Een exogene monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC2) is in de NeuMoDx Extraction Plate opgenomen en ondergaat met elk monster het hele proces van extractie van nucleïnezuur en realtime RT-PCR-amplificatie. SPC2-specifieke primers en -probes zijn ook opgenomen in elke putje van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip, waardoor de detectie van SPC2 en het doel-RNA (indien aanwezig) mogelijk is via multiplexe PCR. Detectie van SPC2-amplificatie zorgt ervoor dat de software van het NeuMoDx System de doeltreffendheid van de RNA-extractie en RT-PCR-amplificatieprocessen kan monitoren.

Voorafgaand aan RT-PCR voert het NeuMoDx System automatisch een 'FILL CHECK' (Vulcontrole) uit om er zeker van te zijn dat de PCR-kamer met oplossing is gevuld en een voldoende hoeveelheid fluorescente probe bevat.

De software van het NeuMoDx System bewaakt continu de ingebouwde sensoren en actuatoren om een veilige en effectieve werking van het systeem te garanderen.

Door actieve bewaking van aspiratie- en doseerbewerkingen worden verschillende fluidische foutherstelmodi geïmplementeerd om ervoor te zorgen dat het systeem de verwerking van alle monsters op een veilige en effectieve manier kan voltooien of een passende foutcode weergeeft.

PRESTATIEKENMERKEN

Analytische gevoeligheid

De analytische gevoeligheid van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay op de NeuMoDx Molecular Systems werd gekenmerkt in twee delen. De detectielimiet (Limit of Detection, LoD) werd gekenmerkt met een pool van resterende gedeïdentificeerde klinische negatieve nasofaryngeale uitstrijkjes, afgenomen in UVT-matrix en modelstammen van elk doelwit. De modelstammen die voor elk doelwit zijn gebruikt, staan vermeld in *tabel 3*. Eerst werd een verdunningsreeks met modelstammen van elk doelwit in UVT voorbereid met de Direct- en Voorbehandeling-workflow en daarna verwerkt met het NeuMoDx System om een voorlopige waarde van de detectielimiet (Limit of Detection; LoD) te bepalen. In het tweede deel van de tests werden deze voorlopige LoD-waarden bevestigd met een trefpercentage-onderzoek op de NeuMoDx 288 en de NeuMoDx 96 Molecular Systems voor beide workflows. De voorlopige LoD werd geaccepteerd indien de test van het trefpercentage een positiviteitspercentage van 95% opleverde voor beide workflows op beide systemen. Detectiepercentages voor de voorlopige LoD worden samengevat in *tabel 4*, terwijl *tabel 5* de bevestiging van het trefpercentage voor het N288 System voorstelt en *tabel 6* de bevestiging van het trefpercentage voor het N96 System. De uiteindelijke LoD-claims in *tabel 4* zijn **vetgedrukt** aangegeven.

Tabel 3. Stam gebruikt voor elk doelwit

Doel/stam	Bron	Catalogusnummer	Partijnummer	Materiaaltype
Flu A, Idaho/07/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1688	70031602	Gezuiverd supernatant van geïnfecteerde cellen
Flu A, Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	IRR	FR-1690	70032253	Gezuiverd supernatant van geïnfecteerde cellen
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	Virapur	N.v.t	B1904J	Live Crude
Flu A, Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	Virapur	N.v.t	C2030D	Live Crude
Flu B, Hong Kong/286/2017 (Victoria)	IRR	FR-1619	70015942	Gezuiverd supernatant van geïnfecteerde cellen
Flu B, Colorado/6/2017 (Victoria)	IRR	FR-1592	70013310	Gezuiverd supernatant van geïnfecteerde cellen
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	ATCC	VR-1931	70020870	Gezuiverd cultuurvocht en cellysaat
Flu B, Phuket/3073/2013 (Yamagata)	Virapur	N.v.t	B1904N	Live Crude
RSV A2	ATCC	VR-1540	60430286	Cultuurvocht en cellysaat
RSV B (WV/14617/85)	ATCC	VR-1400	70013461	Cultuurvocht en cellysaat
SARS-CoV-2, 1 ^e internationale norm van de WHO	NIBSC	20/146	N.v.t	Gelyofiliseerd zuur en door warmte gedeactiveerd virus
SARS-CoV-2, isolaat USA-WA1/2020	BEI	NR-52285	70037779	Door warmte gedeactiveerd virus

Tabel 4. Positieve detectiepercentages voor bepaling van voorlopige LoD van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay – (a) Voorbehandeling-workflow; (b) Direct-workflow

(a) Voorbehandeling-workflow

Doel/stam	Niveau	Eenheid	Aantal geldige resultaten (n/N)	Aantal positief	% Pos	Ct Gem	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

Doel/stam	Niveau	Eenheid	Aantal geldige resultaten (n/N)	Aantal positief	% Pos	Ct Gem	Ct SD
	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
			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, 1e internationale norm van de WHO	50	IE/ml	10/10	6	60%	34,36	0,64
	150		10/10	10	100%	34,20	0,31
	450		10/10	10	100%	33,04	0,63
SARS-CoV-2, isolaat USA-WA1/2020	50	kopieën/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) Direct-workflow

Doel/stam	Niveau	Eenheid	Aantal geldige resultaten (n/N)	Aantal positief	% Pos	Ct Gem	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, 1e internationale norm van de WHO	50	IE/ml	10/10	7	70%	34,80	0,56
	150		20/20	19	95%	32,88	1,22
	450		10/10	10	100%	33,38	0,46
SARS-CoV-2, isolaat USA-WA1/2020	66,7	kopieën/ml	10/10	7	70%	33,53	0,58
	200		10/10	10	100%	32,63	1,25
	600		10/10	10	100%	32,69	0,86

Tabel 5. Positieve detectiepercentages voor bevestigende bepaling van LoD voor de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay – N288, (a) Voorbehandeling-workflow; (b) Direct-workflow

(a) Voorbehandeling-workflow

Doel/stam	Niveau	Eenheid	Aantal geldige resultaten (n/N)	Aantal positief	% detectie	Ct Gem	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, 1e internationale norm van de WHO	150	IE/ml	30/30	30	100%	33,63	0,61
SARS-CoV-2, isolaat USA-WA1/2020	150	kopieën/ml	29/30	28	96,6%	33,59	1,01

(b) Direct-workflow

Doel/stam	Niveau	Eenheid	Aantal geldige resultaten (n/N)	Aantal positief	% detectie	Ct Gem	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, 1e internationale norm van de WHO	150	IE/ml	30/30	29	96,7%	33,78	0,77
SARS-CoV-2, isolaat USA-WA1/2020	200	kopieën/ml	30/30	30	100%	34,18	0,83

Tabel 6. Positieve detectiepercentages voor bevestiging van trefpercentage van LoD voor de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay – N96, (a) Voorbehandeling-workflow; (b) Direct-workflow

(a) Voorbehandeling-workflow

Doel/stam	Niveau	Eenheid	Aantal geldige resultaten (n/N)	Aantal positief	% detectie	Ct Gem	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, 1e internationale norm van de WHO	150	IE/ml	30/30	29	96,7%	33,79	0,67
SARS-CoV-2, isolaat USA-WA1/2020	150	kopieën/ml	30/30	29	96,7%	33,59	1,05

(b) Direct-workflow

Doel/stam	Niveau	Eenheid	Aantal geldige resultaten (n/N)	Aantal positief	% detectie	Ct Gem	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, 1e internationale norm van de WHO	150	IE/ml	30/30	29	96,7%	33,50	0,78
SARS-CoV-2, isolaat USA-WA1/2020	200	kopieën/ml	29/30	29	100%	34,45	0,39

De niveaus die werden geaccepteerd als de LoD-waarden voor de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay op de NeuMoDx Systems worden weergegeven in tabel 7.

Tabel 7. Overzicht van detectielimietonderzoek

Doelwit	Stam	Detectielimiet		
		Voorbehandeling-workflow	Direct-workflow	Eenheid
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	
	Hongkong/2671/2019 (H3N2)	0,5	0,5	
Influenza B (Flu B) – Victoria-variant	Hongkong/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-variant	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	1 ^e internationale norm van de WHO	150	150	IE/ml
	Isolaat USA-WA1/2020	150	200	kopieën/ml

Concurrerende interferentie voor doelorganismen: Flu A, Flu B, RSV en SARS-CoV-2

De concurrerende interferentie van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay is geëvalueerd met behulp van panels van virale doelwitten, verrijkt in klinisch negatieve nasofaryngeale uitstrijkjes, afgenomen in UVT. Tien panels bevatten een of twee doelwitten nabij de detectielimiet (3-10X LoD) en één doelwit bij $\geq 1E5$ kopieën/ml, wat het gelijktijdig geïnfecteerde doelwit vertegenwoordigt. Het elfde panel bevatte een van elk van de vier doelwitten bij 2X LoD. De aanwezigheid van twee tot drie virussen bij verschillende concentraties in één specimen en de bijbehorende effecten op de analytische gevoeligheid worden weergegeven in tabel 8.

Negatieve resultaten van influenza A- en RSV-A moeten worden beschouwd als vermoedelijk bij monsters met een positief SARS-CoV-2-resultaat, en negatieve RSV-resultaten moeten worden beschouwd als vermoedelijk bij monsters met een positief influenza A-resultaat. Uit onderzoek naar concurrerende interferentie is gebleken dat SARS-CoV-2-virus de detectie en amplificatie van influenza A- en RSV-A-RNA kan beperken bij SARS-CoV-2-concentraties van of hoger dan $1E5$ kopieën/ml, indien er respectievelijk $1,5$ TCID₅₀/ml of $6,25$ TCID₅₀/ml RNA aanwezig is. Dit kan leiden tot fout-negatieve resultaten. Daarnaast kan influenza A-virus, indien aanwezig in een concentratie van of boven $1E5$ cp/ml, de detectie en amplificatie van RSV A-virus-RNA beperken indien aanwezig met of minder dan $3,75$ TCID₅₀/ml. Dit kan leiden tot fout-negatieve resultaten voor RSV. Indien er vermoedens van co-infectie met influenza A of RSV-virus in monsters met een positief SARS-CoV-2-resultaat zijn, of er vermoedens van co-infectie met RSV-virus in monsters met een positief influenza A-resultaat zijn, moet het monster opnieuw worden getest met een ander door de FDA geoorloofde, goedgekeurde of geautoriseerde influenza- of RSV-test, indien detectie van influenza of RSV-virus het klinische traject zou veranderen.

Tabel 8. Samenvatting van studie van concurrerende interferentie

Panel	Doelwit	Panelniveau	Doelconcentratie	Geldige resultaten	Aantal positief	% detectie
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	Hoog	1E5 cp/ml	24	24	100%
2 (run 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	Hoog	1E5 cp/ml	24	24	100%
2 (run 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	Hoog	1E5 cp/ml	24	24	100%
2 (run 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	Hoog	1E5 cp/ml	24	24	100%
3	Flu A	3X	1,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	SARS-CoV-2	3X	450 IE/ml	24	24	100%
	RSV B	Hoog	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	Hoog	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	Hoog	1E5 cp/ml	24	24	100%
6	Flu B	3X	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	24	100%
	RSV B	Hoog	1E5 cp/ml	24	24	100%
7	SARS-CoV-2	3X	450 IE/ml	24	24	100%
	Flu A	Hoog	1E5 cp/ml	24	24	100%
8	SARS-CoV-2	3X	450 IE/ml	24	24	100%
	Flu B	Hoog	1E5 cp/ml	24	24	100%
9 (run 1)	RSV A	3X	3,75 TCID ₅₀ /ml	24	20	83%
	Flu A	Hoog	1E5 cp/ml	24	24	100%
9 (run 2)	RSV A	5X	6,25 TCID ₅₀ /ml	24	23	96%
	Flu A	Hoog	1E5 cp/ml	24	24	100%
10	RSV B	3X	0,15 TCID ₅₀ /ml	24	23	96%
	Flu B	Hoog	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 IE/ml	24	24	100%

Analytische reactiviteit en inclusiviteit

De analytische reactiviteit van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay werd geëvalueerd met meerdere stammen/isolaten van de virussen influenza A, influenza B, RSV en SARS-CoV-2. De reactiviteit van elk(e) stam/isolaat werd gekenmerkt in twee delen. De initiële evaluatie van reactiviteitsniveaus voor elk doelwit werd uitgevoerd met elke individuele doelstam, getest bij 3 concentraties in gesimuleerde nasofaryngeale uitstrijkmatrix (bereid met 3000 humane epitheliale cellen per ml UVT), *tabel 9*. In het tweede deel werd het laagste niveau dat een 100% positief percentage verkreeg in fase 1 bevestigd als het reactiviteitsniveau door minimaal 20 replica's te testen, *tabel 10*. In totaal werden 14 stammen van Flu A, 6 stammen van Flu B, 1 isolaat van RSV A, 1 isolaat van RSV B en 6 isolaten van SARS-CoV-2 getest.

Tabel 9. Stammen van Flu A, Flu B, RSV A, RSV B en SARS-CoV-2 – Preliminaire analyse van reactiviteitsniveau

Preliminaire analyse					
Doelwit	Stam		Geteste niveaus	Aantal geldige resultaten	% Pos
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	Zwitserland/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%
		Hongkong/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/Californië/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%		
H2N2	A2/Japan/305/57 (H2N2)	3 TCID ₅₀ /ml	7	100%	
		10,87 pg/ml ¹	8	100%	
		32,6 pg/ml ¹	8	87,5%	
H5N2	A/Duck/Pennsylvania/10218/84 (H5N2)	97,8 pg/ml ¹	7	100%	
		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/Kip/Duitsland/N/49 (H10N7)	1:3.3E4 ¹	8	100%	
		22,67 pg/ml ¹	8	100%	
		68 pg/ml ¹	8	100%	
Flu B	Victoria-variant	Maleisië/2506/2004 (Victoria)	204 pg/ml ¹	8	100%
			1 TCID ₅₀ /ml	8	100%
			3 TCID ₅₀ /ml	8	100%
		Washington/02/2019 (Victoria)	9 TCID ₅₀ /ml	8	100%
			2,5 CEID ₅₀ /ml	8	25,0%
			5 CEID ₅₀ /ml	8	87,5%
		B/Maryland/15/2016 (Victoria)	15 CEID ₅₀ /ml	8	100%
			0,01 TCID ₅₀ /ml	12	91,7%
			0,03 TCID ₅₀ /ml	8	100%
		0,1 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
		0,33 TCID ₅₀ /ml	16	100%	
		1 TCID ₅₀ /ml	8	100%	

Preliminare analyse						
Doelwit	Stam		Geteste niveaus	Aantal geldige resultaten	% Pos	
Flu B (vervolg)	Yamagata-variant	Wisconsin/1/2010 (Yamagata)	3 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
			0,17 CEID ₅₀ /ml	8	75,0%	
			0,5 CEID ₅₀ /ml	8	100%	
			1,5 CEID ₅₀ /ml	8	100%	
		B/Utah/09/2014 (Yamagata-variant)	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%	
			0,33 TCID ₅₀ /ml	8	25,0%	
		B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N) (Yamagata)	1 TCID ₅₀ /ml	8	87,5%	
			3 TCID ₅₀ /ml	8	100%	
0,67 pfu/ml	8		37,5%			
RSV	RSVA	A (long)	2 pfu/ml	8	100%	
			6 pfu/ml	7	100%	
			0,03 pfu/ml	8	12,5%	
	RSVB	B (9320)	0,1 pfu/ml	8	87,5%	
			0,3 pfu/ml	8	100%	
			0,06 TCID ₅₀ /ml	8	0%	
SARS-CoV-2	USA/CA-Stanford-15_S02/2021 (Kappa, B.1.617.1)		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%	
			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%	
	VS/CA_CDC_5574/2020 (Alpha, B.1.1.7)			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%
				0,17 TCID ₅₀ /ml	8	100%
				0,5 TCID ₅₀ /ml	8	100%
	Japan/TY7-503/2021 (Gamma, Brazilië P.1)			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%
	VS/PHC658/2021 (Delta, B.1.617.2)			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%
	Italië-INMI1			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%
				7,44 cp/ml ¹	8	25,0%
				22,33 cp/ml ¹	8	87,5%
				67 cp/ml ¹	7	100%
	Isolaat Hongkong/VM20001061/2020			200 cp/ml ¹	7	100%
				600 cp/ml ¹	7	100%
				7,44 cp/ml ¹	8	25,0%
				22,33 cp/ml ¹	8	87,5%

¹Deze varianten waren geleverd met alleen een 'totaal-RNA' kwantificering, die zowel viraal RNA als gastheer-CEL-RNA bevatten.

Tabel 10. Stammen van Flu A, Flu B, RSV A, RSV B en SARS-CoV-2 – Bevestiging van reactiviteitsniveau

Bevestiging					
Doelwit	Stam		Niveau	Aantal geldige resultaten	% Pos
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%
		A/Iowa/53/2015 (H1N1)pdm09	0,33 TCID ₅₀ /ml	24	85,7%
	A/Bangladesh/3002/2015 (H1N1)pdm09	0,67 TCID ₅₀ /ml	24	95,2%	
	H3N2	Zwitserland/9715293/2013 (H3N2)	10 CEID ₅₀ /ml	24	100%
			0,25 TCID ₅₀ /ml	24	87,0%
		Hongkong/4801/2014 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /ml	24	100%
			1,0 TCID ₅₀ /ml	23	91,3%
		Kansas/14/2017 (H3N2)	12 TCID ₅₀ /ml	23	95,7%
		A/Wisconsin/04/2018 (H3N2)	5 CEID ₅₀ /ml	23	100%
	A/Californië/02/2014 (H3N2)	10 CEID ₅₀ /ml	23	91,3%	
		0,01 TCID ₅₀ /ml	24	100%	
	H2N2	A2/Japan/305/57 (H2N2)	0,03 TCID ₅₀ /ml	24	91,7%
	H5N2	A/Duck/Pennsylvania/10218/84 (H5N2)	10,87 pg/ml ¹	24	100%
			2 pg/ml ¹	24	83,3%
4 pg/ml ¹			23	100%	
H7N9	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	8 pg/ml ¹	23	100%	
		1:3.3E4 ¹	24	95,7%	
H10N7	A/Kip/Duitsland/N/49 (H10N7)	7,6 pg/ml ¹	23	73,9%	
		22,67 pg/ml ¹	23	100%	
Flu B	Victoria-variant	Maleisië/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-variant	B/Maryland/15/2016 (Victoria)	0,03 TCID ₅₀ /ml	24	100%
			0,05 CEID ₅₀ /ml	24	100%
		Wisconsin/1/2010 (Yamagata)	0,56 TCID ₅₀ /ml	24	87,0%
			B/Utah/09/2014 (Yamagata-variant)	1,5 TCID ₅₀ /ml	24
B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N) (Yamagata)	0,75 TCID ₅₀ /ml	24	87,5%		
	1,5 TCID ₅₀ /ml	20	95,0%		
RSV	RSVA	A (long)	3,0 TCID ₅₀ /ml	24	100%
			2 pfu/ml	24	91,7%
	RSVB	B (9320)	4 pfu/ml	24	95,8%
			0,15 pfu/ml	24	100%
SARS-CoV-2	USA/CA-Stanford-15_S02/2021 (Kappa, B.1.617.1)	0,3 pfu/ml	21	100%	
			1,5 TCID ₅₀ /ml	24	100%
			3 TCID ₅₀ /ml	24	100%
		VS/CA_CDC_5574/2020 (Alpha, B.1.1.7)	4,5 TCID ₅₀ /ml	24	100%
			0,02 TCID ₅₀ /ml	24	95,8%
		Japan/TY7-503/2021 (Gamma, Brazilië P.1)	0,06 TCID ₅₀ /ml	24	100%
	0,006 TCID ₅₀ /ml		24	95,8%	
	VS/PHC658/2021 (Delta, B.1.617.2)	0,006 TCID ₅₀ /ml	24	87,5%	
		0,013 TCID ₅₀ /ml	24	100%	
	Italië-INMI1	22 cp/ml ¹	67 cp/ml ¹	24	95,8%
			67 cp/ml ¹	24	100%
	Isolaat Hongkong/VM20001061/2020	22 cp/ml ¹	67 cp/ml ¹	24	57,1%
67 cp/ml ¹			24	100%	

¹Deze varianten waren geleverd met alleen een 'totaal-RNA' kwantificering, die zowel viraal RNA als gastheer-cel-RNA bevatten.

De reactiviteit van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay in de detectie van verschillende klinische isolaten van SARS-CoV-2 werd aangetoond aan de hand van een *in silico*-analyse met de primers en probes van de assay tegen alle sequenties beschikbaar in GenBank (versie van november 2021) met behulp van de Basis lokale zoektool voor alignment NCBI (Basic Local Alignment Search Tool, BLAST). De resultaten toonden aan dat de primers en probe voor SARS-CoV-2 een homologie van 100% hadden met meer dan 98% van de sequenties. In totaal hadden de primers en probe > 95% homologie met alle geanalyseerde sequenties.

Reproduceerbaarheid binnen het laboratorium

Reproduceerbaarheid binnen het laboratorium voor de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay werd gekenmerkt door het testen van 10 panels van Flu A, Flu B, RSV A, RSV B of SARS-CoV-2, elk afzonderlijk verrijkt op 2 niveaus [matig-positief (5x LoD) en laag-positief (2x LoD)] en één negatief panel. De panels zijn getest voor drie partijen NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test strips gemaakt overeenkomstig GMP, voor twee NeuMoDx Systems en voor zes niet-opeenvolgende dagen. Panel-onderdelen werden bereid in gesimuleerde nasofaryngeale uitstrijkjes bereid met 3000 humane eotheliale cellen per ml universele viraal transportmedium (Universal Viral Transport medium; UVT) en verrijkten een representatieve stam van Flu A, Flu B, RSV A, RSV B en SARS-CoV-2. De NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips en NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) zijn vastgesteld als de hoofdtestspecifieke reagentia die mogelijk de prestaties van de assay kunnen beïnvloeden. Om die reden is de Voorbehandeling-workflow gebruikt om VVLB in het onderzoek mee te nemen. De standaardafwijking voor Ct-waarden binnen en over drie partijen van NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay-teststrips, twee NeuMoDx Molecular Systems was $\leq 1,2$ met variatiecoëfficiënten (CV) $\leq 4,0\%$ voor alle doelwitten, wat een uitstekende reproduceerbaarheid aanduidt, tabel 11, 12 en 13.

Tabel 11. Reproduceerbaarheid van NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips over alle systemen/partijen/dagen

Doelwit	Doelniveau	Geldige N	% positief	Gem. CT	SD	%CV
Flu A	Mat. pos.	72	100%	31,21	0,59	1,9%
	Laag pos.	72	100%	32,01	0,58	1,8%
Flu B	Mat. pos.	72	100%	31,02	0,39	1,3%
	Laag pos.	72	100%	31,88	0,56	1,7%
RSV A	Mat. pos.	72	100%	29,71	0,95	3,2%
	Laag pos.	72	100%	30,75	1,18	3,8%
RSV B	Mat. pos.	72	100%	28,43	0,53	1,9%
	Laag pos.	72	100%	29,45	0,56	1,9%
SARS-CoV-2	Mat. pos.	72	100%	32,70	0,51	1,5%
	Laag pos.	72	100%	33,68	0,56	1,7%
Echt negatief		72	0%	N.v.t	N.v.t	N.v.t

Tabel 12. Reproduceerbaarheid van NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips bij elk systeem

Panel		N0000096					N000012				
Doelwit	Doelniveau	Geldige N	% positief	Gem. CT	SD	%CV	Geldige N	% positief	Gem. CT	SD	%CV
Flu A	Mat. pos.	36	100%	31,37	0,66	2,1%	36	100%	31,05	0,46	1,5%
	Laag pos.	36	100%	32,07	0,65	2,0%	36	100%	31,95	0,51	1,6%
Flu B	Mat. pos.	36	100%	31,10	0,40	1,3%	36	100%	30,94	0,37	1,2%
	Laag pos.	36	100%	31,84	0,57	1,8%	36	100%	31,91	0,55	1,7%
RSV A	Mat. pos.	36	100%	29,94	0,97	3,2%	36	100%	29,49	0,89	3,0%
	Laag pos.	36	100%	30,93	1,19	3,8%	36	100%	30,57	1,16	3,8%
RSV B	Mat. pos.	36	100%	28,60	0,58	2,0%	36	100%	28,26	0,42	1,5%
	Laag pos.	36	100%	29,60	0,53	1,8%	36	100%	29,29	0,56	1,9%
SARS-CoV-2	Mat. pos.	36	100%	32,80	0,56	1,7%	36	100%	32,61	0,43	1,3%
	Laag pos.	36	100%	33,83	0,64	1,9%	36	100%	33,52	0,42	1,2%
Echt negatief		36	0%	N.v.t	N.v.t	N.v.t	36	0%	N.v.t	N.v.t	N.v.t

Tabel 13. Reproduceerbaarheid van NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strips bij elke reagenspartij

Panel		Partij 1				Partij 2				Partij 3			
Doelwit	Doelniveau	Geldige N	Gem. CT	SD	%CV	Geldige N	Gem. CT	SD	%CV	Geldige N	Gem. CT	SD	%CV
Flu A	Mat. pos.	24	31,06	0,38	1,2%	24	31,49	0,62	2,0%	24	31,08	0,65	2,1%
	Laag pos.	24	32,02	0,59	1,8%	24	32,18	0,50	1,6%	24	31,82	0,61	1,9%
Flu B	Mat. pos.	24	31,05	0,39	1,2%	24	31,08	0,47	1,5%	24	30,94	0,29	0,9%
	Laag pos.	24	31,93	0,36	1,1%	24	32,01	0,77	2,4%	24	31,69	0,42	1,3%
RSV A	Mat. pos.	24	29,04	0,71	2,4%	24	30,40	0,66	2,2%	24	29,69	0,94	3,2%
	Laag pos.	24	31,53	0,50	1,6%	24	29,45	0,79	2,7%	24	31,25	0,87	2,8%
RSV B	Mat. pos.	24	28,65	0,54	1,9%	24	28,29	0,52	1,8%	24	28,35	0,47	1,7%
	Laag pos.	24	29,31	0,48	1,6%	24	29,46	0,64	2,2%	24	29,57	0,55	1,8%
SARS-CoV-2	Mat. pos.	24	32,82	0,43	1,3%	24	32,70	0,56	1,7%	24	32,59	0,50	1,5%
	Laag pos.	24	33,42	0,58	1,7%	24	33,80	0,57	1,7%	24	33,81	0,47	1,4%
Echt negatief		24	N.v.t	N.v.t	N.v.t	24	N.v.t	N.v.t	N.v.t	24	N.v.t	N.v.t	N.v.t

Klinische prestaties

De klinische prestatiekenmerken van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay zijn vastgesteld door middel van een intern, retrospectief, methodevergelijkend onderzoek waarin gebruik werd gemaakt van overgebleven nasofaryngeale uitstrijkjes uit 4 geografisch gespreide klinische laboratoria. Verdunningen van klinische SARS-CoV-2-positieve monsters zijn tevens meegenomen in dit onderzoek om de klinische gevoeligheid tegen de LoD aan te tonen.

De overgebleven nasofaryngeale uitstrijkjes van symptomatische patiënten werden geanonimiseerd en door het leverende laboratorium voorzien van een uniek identificatienummer en er werd een vertrouwelijke lijst opgesteld waarin de patiënt-ID werd gekoppeld aan de geanonimiseerde specimens die voor onderzoeksdoeleinden werden getest. Er zijn in totaal 747 individuele nasofaryngeale uitstrijkjes afgenomen voor dit onderzoek. Alle specimens zijn verwerkt middels zowel de Direct- als de Voorbehandeling-workflow, wat uiteindelijk 739 geldige en 8 ongeldige resultaten in de Direct-workflow en 736 geldige en 11 ongeldige resultaten in de Voorbehandeling-workflow heeft opgeleverd. Van deze geldige monsters waren 121 uitsluitend gewijd aan de beoordeling van Flu A-, Flu B- en RSV-doelwitten. 54 van deze specimens zijn positieve Flu A-monsters, 34 zijn positieve Flu B-monsters 33 zijn positieve RSV-monsters. Binnen dit cohort van 121 monsters waren de resultaten voor alle drie de betreffende doelwitten beschikbaar gesteld aan de leverende klinische laboratoria. Dientengevolge leverde dit cohort aan positieve monsters tevens 67 negatieve Flu A-resultaten, 87 negatieve Flu B-resultaten en 88 negatieve RSV-resultaten. De eerder genoemde negatieve resultaten worden verder aangevuld met 59 klinische specimens die voor alle 4 doelen negatieve resultaten hadden die door de vergelijkingsassay zijn bevestigd. In totaal zijn er 106 monsters door beide workflows aangeduid als SARS-CoV-2-positief. Er zijn in 512 monsters voor de Direct-workflow en in 509 monsters voor de Voorbehandeling-workflow klinische negatieve SARS-CoV-2-resultaten bevestigd met een geldig NeuMoDx-resultaat.

De teststatus van deze monsters is achtergehouden voor de laborant, om een 'enkele blinde studie' te kunnen uitvoeren. Voor de methodevergelijkinganalyse zijn gerapporteerde resultaten gebruikt van de specifieke FDA- en CE-goedgekeurde, legaal in de handel gebrachte moleculaire instrumenten die door de laboratoria standaard werden ingezet voor het testen van zorgstandaarden.

Resultaten van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay leverde een klinische gevoeligheid van 98,1% op bij beide workflows voor Flu A-doelwit en een klinische specificiteit van respectievelijk 100% en 99,2% voor de Direct- en Voorbehandeling-workflows (tabel 14A). De resultaten voor het Flu B-doelwit leverden een klinische gevoeligheid en klinische specificiteit van respectievelijk 97,1% en 100% op voor beide workflows (tabel 14B). De resultaten voor het RSV-doelwit (ongedifferentieerd) leverden een klinische gevoeligheid van 97% op voor beide workflows en een klinische specificiteit van 99,3% en 98,6% voor de Direct- en Voorbehandeling-workflow respectievelijk (tabel 14C). De resultaten voor het SARS-CoV-2-doelwit leverden een klinische gevoeligheid van 97,2% op voor beide workflows, terwijl de klinische specificiteit 98,4% bedroeg voor de Direct-workflow en 98,2% voor de Voorbehandeling-workflow (tabel 14D). De onder- en bovengrenzen van het betrouwbaarheidsinterval van 95% worden hieronder weergegeven in tabel 14A, 14B, 14C en 14D. Ze zijn berekend met behulp van de Wilson-procedure met continuïteitscorrectie.

Tabel 14A. Overzicht klinische prestaties – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Detectie van **Flu A** met (a) Direct-workflow en (b) Voorbehandeling-workflow

(a) Direct-workflow

Flu A		FDA-/CE-goedgekeurd testresultaat ter referentie		
		POS	NEG	Totaal
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2-testresultaat	POS	53	0	53
	NEG	1	126	127
	Totaal	54	126	180
Klinische gevoeligheid (Flu A) = 98,1% (88,8% – 99,9%)				
Klinische specificiteit (Flu A) = 100% (96,3% – 100%)				

(b) Voorbehandeling-workflow

Flu A		FDA-/CE-goedgekeurd testresultaat ter referentie		
		POS	NEG	Totaal
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2- testresultaat	POS	53	1	54
	NEG	1	125	126
	Totaal	54	126	180
Klinische gevoeligheid (Flu A) = 98,1% (88,8% – 99,9%)				
Klinische specificiteit (Flu A) = 99,2% (95,0% – 100%)				

Tabel 14B. Overzicht klinische prestaties – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Detectie van **Flu B** met (a) Direct-workflow en (b) Voorbehandeling-workflow

(a) Direct-workflow

Flu B		FDA-/CE-goedgekeurd testresultaat ter referentie		
		POS	NEG	Totaal
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2- testresultaat	POS	33	0	33
	NEG	1	146	147
	Totaal	34	146	180
Klinische gevoeligheid (Flu B) = 97,1% (82,9% – 99,8%)				
Klinische specificiteit (Flu B) = 100% (96,8% – 100%)				

(b) Voorbehandeling-workflow

Flu B		FDA-/CE-goedgekeurd testresultaat ter referentie		
		POS	NEG	Totaal
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2- testresultaat	POS	33	0	33
	NEG	1	146	147
	Totaal	34	146	180
Klinische gevoeligheid (Flu B) = 97,1% (82,9% – 99,8%)				
Klinische specificiteit (Flu B) = 100% (96,8% – 100%)				

Tabel 14C. Overzicht klinische prestaties – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Detectie van **RSV** met (a) Direct-workflow en (b) Voorbehandeling-workflow

(a) Direct-workflow

RSV		FDA-/CE-goedgekeurd testresultaat ter referentie		
		POS	NEG	Totaal
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2- testresultaat	POS	32	1	33
	NEG	1	146	147
	Totaal	33	147	180
Klinische gevoeligheid (RSV) = 97,0% (82,5% – 99,8%)				
Klinische specificiteit (RSV) = 99,3% (95,7% – 100%)				

(b) Voorbehandeling-workflow

RSV		FDA-/CE-goedgekeurd testresultaat ter referentie		
		POS	NEG	Totaal
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2- testresultaat	POS	32	2	34
	NEG	1	145	146
	Totaal	33	147	180
Klinische gevoeligheid (RSV) = 97,0% (82,5% – 99,8%)				
Klinische specificiteit (RSV) = 98,6% (94,7% – 99,8%)				

Tabel 14D. Overzicht klinische prestaties – NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Test Strip: Detectie van SARS-CoV-2 met (a) Direct-workflow en (b) Voorbehandeling-workflow

(a) Direct-workflow

SARS-CoV-2		FDA-/CE-goedgekeurd testresultaat ter referentie		
		POS	NEG	Totaal
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2-testresultaat	POS	103	8	111
	NEG	3	504	507
	Totaal	106	512	618
Klinische gevoeligheid (SARS-CoV-2) = 97,2% (91,3% – 99,3%)				
Klinische specificiteit (SARS-CoV-2) = 98,4% (96,8% – 99,3%)				

(b) Voorbehandeling-workflow

SARS-CoV-2		FDA-/CE-goedgekeurd testresultaat ter referentie		
		POS	NEG	Totaal
NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2-testresultaat	POS	103	9	112
	NEG	3	500	503
	Totaal	106	509	615
Klinische gevoeligheid (SARS-CoV-2) = 97,2% (91,3% – 99,3%)				
Klinische specificiteit (SARS-CoV-2) = 98,2% (96,5% – 99,1%)				

Analytische specificiteit en kruisreactiviteit

De analytische specificiteit van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay werd geëvalueerd door een panel van 47 organismen te testen: 22 virale, 24 bacteriële en 1 giststam, die pathogenen of flora voorstellen die vaak voorkomen in de luchtwegen. De bacteriën en gist werden getest bij concentraties van ~6E6 CFU/ml of IFU/ml, tenzij anders vermeld. De virussen werden getest bij concentraties van 1E5 tot 1E6 TCID₅₀/ml of kopieën/ml, tenzij anders vermeld. Om de potentiële kruisreactiviteit tussen SARS-CoV-2, de familie van coronavirussen (229E, OC43, NL63, MERS en SARS-1) en *Legionella pneumophila* te bevestigen, zijn er aanvullende replica's (>20) opgenomen om aan de MDCG-vereisten voor medische hulpmiddelen voor in-vitrodiagnostiek van SARS-CoV-2 te voldoen. De analytische specificiteit van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay was 100% voor Flu A, Flu B, RSV A, RSV B en SARS-CoV-2.

Omdat er van HKU1, een lid van de familie van coronavirussen dat moest worden getest, geen virus- en genomisch RNA beschikbaar was, zijn er 4 replica's van synthetisch materiaal getest. Om de potentiële kruisreactiviteit te onderzoeken, is er een *in-silico* analyse uitgevoerd tussen de NeuMoDx SARS-CoV-2-primers en -probes en de HKU1 coronavirus-genomen die in GenBank zijn gepubliceerd. In totaal zijn er 57 sequenties van HKU1-genomen verkregen uit de database van NCBI-virussen van het NIH. Alle HKU1-sequenties hadden 3 of meer mismatches met elk van de NeuMoDx SARS-CoV-2-primers en -probes. Er is geen homologie gedetecteerd. Er wordt daarom geen kruisreactiviteit verwacht tussen Coronavirus HKU1 en de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay.

Tabel 15. Resultaten van analytische specificiteit

Organisme	Concentratie	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	-	-	-	-
Humaan coronavirus 229E	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humaan coronavirus HKU1	1E6 cp/ml	-	-	-	-
Humaan coronavirus NL63	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humaan coronavirus OC43	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humaan enterovirus 68	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-

Organisme	Concentratie	Flu A	Flu B	RSV	SARS-CoV-2
Humaan metapneumovirus	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humaan parainfluenza type 1	5E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humaan parainfluenza type 2	5E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humaan parainfluenza type 3	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Humaan rhinovirus type 1A	5E3 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus brevis</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus jensenii</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus lactis</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
Mazelenvirus	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
MERS-coronavirus EMC/2012	1E4 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	6E6 CFU/ml	-	-	-	-
Bofvirus	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	-	-	-	-
Flu A, Singapore/INIFMIH-16-0019/2016	3 x LoD	+	-	-	-
Flu B, Florida/78/2015 (Victoria)	3 x LoD	-	+	-	-
RSV A2	3 x LoD	-	-	+	-
RSV B (WV/14617/85)	3 x LoD	-	-	+	-
SARS-CoV-2, 1e internationale norm van de WHO	3 x LoD	-	-	-	+
Negatieve controle (geen pathogenen)	N.v.t	-	-	-	-

Tabel 16. Analytische specificiteit - De familie van coronavirussen en *Legionella pneumophila* (> 20 replica's getest)

Organisme	Concentratie	SARS-CoV-2
Humaan 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	-
Humaan coronavirus 229E	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml	-
Humaan coronavirus OC43	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml	-
<i>Legionella pneumophila</i>	6,00E+06 CFU/ml	-
Positive control (Positieve controle): SARS-CoV-2 eerste WHO-norm	3 x LoD	+
Negatieve controle (geen pathogenen)	N.v.t	-

Interfererende stoffen – Commensale organismen

De NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay werd getest op interferentie in aanwezigheid van niet-doelorganismen (mogelijk aanwezig in de bovenste luchtwegen) door de assayprestaties te evalueren op lage niveaus (~3X LoD) van Flu A, Flu B, RSV A, RSV B en SARS-CoV-2 in aanwezigheid van hoge concentraties van de organismen opgesomd in bovenstaande tabel 15. Om de potentiële kruisreactiviteit tussen SARS-CoV-2, de familie van coronavirussen (229E, OC43, NL63, MERS en SARS-1) en *Legionella pneumophila* (tabel 16) te bevestigen, zijn er bovendien aanvullende replica's (>20) opgenomen om aan de MDCG-vereisten voor medische hulpmiddelen voor in-vitrodiagnostiek van SARS-CoV-2 te voldoen. Deze monsters werden voor het gedeelte van het onderzoek over interferentie alleen bij ~3X LoD met SARS-CoV-2 verrijkt. Er is voor alle doelwitten een detectiepercentage van 100% geobserveerd. Daarom werd bij geen van de commensale organismen interferentie bij de detectie van een doelwit geobserveerd.

Interfererende stoffen – Endogeen/exogeen

De NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay werd geëvalueerd op gevoeligheid voor interferentie, veroorzaakt door stoffen die mogelijk geassocieerd zijn met de afname van nasofaryngeale uitstrijkjes. Resterende klinische negatieve nasofaryngeale uitstrijkjes werden individueel verrijkt met Flu A, Flu B, RSV A, RSV B of SARS-CoV-2 op 3X LoD en verwerkt in de aanwezigheid en afwezigheid van de middelen die zijn vermeld in tabel 17. Geen van de in de test opgenomen stoffen had een nadelig effect op de assayprestaties voor het doelmateriaal.

Tabel 17. Stoffen die zijn getest op interferentie

	Stof	Beschrijving/actief bestanddeel	Concentratie*
Exogeen	Neo-Syneprine	Fenylefrine	15% v/v
	Neusgel - Ayr Saline Nasal Gel	Natriumchloride met conserveringsmiddelen	15% v/v
	Homeopathische antihistamine - Similasan	Cardiospermum, Sabadilla, Luffa operculata, Galphimia glauca	15% v/v
	Nature's Bounty Zinc	Zinkgluconaat	0,1 mg/ml
	Oraal anestheticum/pijnstillers - Oragel	Benzocaïne, benzalkoniumchloride	1% v/v
	Neusspray - Afrin	Oxymetazoline	15% w/v
	Neusspray - Zicam	<i>Luffa operculata, Galphimia glauca, Histaminum hydrochloricum, zwavel</i>	15% v/v
	Nasale corticosteroïde - Flonase	Fluticasone	5% v/v
	Nasale corticosteroïde - Rhinocort	Budesonide	5% v/v
	Nasale corticosteroïde - Nasacort	Triamcinolon	5% v/v
	Nasale corticosteroïde - Dexamethason	Dexamethason	10 mg/ml
	Nasale corticosteroïde - Mometason	Mometason	10 mg/ml
	Nasale corticosteroïde - Beclometason	Beclomethason	10 mg/ml
	Chloraseptic Throat Lozenge	Benzocaïne, menthol	2 mg/ml
	Antibioticum, neuszalf	Mupirocine	10 mg/ml
Relenza antiviraal middel	Zanamivir	7,5 mg/ml	
Tamiflu antiviraal middel	Oseltamivir	25 mg/ml	
Antibioticum, systemisch	Tobramycine	15 mg/ml	
Endogeen	Mucine	Gezuiverd mucine-eiwit	2,5% w/v
	Menselijk bloed	Bloed	2% v/v

*Opmerking: De getoonde concentraties zijn degene die worden gebruikt om uitstrijkjes te verzadigen vóór het doseren van een interfererende stof aan kunstmatige positieve klinische monsters. Ze zijn daarom representatief voor het niveau op de locatie van de afname van het uitstrijkje dat getolereerd kan worden.

Kruisbesmetting

Het percentage kruisbesmetting voor de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay op de NeuMoDx Molecular 288 en 96 Systems werd vastgesteld door in een dambordpatroon afwisselend hoog-positieve en -negatieve monsters te verwerken. Alle monsters zijn opgebouwd uit gesimuleerd materiaal van nasofaryngeale uitstrijkjes, met positieve monsters die zijn verrijkt tot $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml (of $\geq 10.000X$ LoD). Er zijn vijf sets van dambordtesten uitgevoerd, wat uiteindelijk totaal 60 negatieve en 60 positieve replica's op de NeuMoDx 288 en 96 Molecular System opleverde. Bij beide systeemtypen werden alle 120 replica's van negatieve monsters correct als negatief gerapporteerd, wat aantoont dat er geen kruisbesmetting heeft plaatsgevonden tijdens de verwerking op de NeuMoDx Systems.

Omlooptijd

De omlooptijd voor de verwerking van 8 monsters aan de hand van de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay is vastgesteld op ca. 85 minuten op het N288-systeem en ca. 78 minuten op het NeuMoDx 96-systeem voor de verwerking van 4 monsters.

Faalpercentage van het gehele systeem

Het faalpercentage van het gehele systeem is voor de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay geëvalueerd door 1 niveau van SARS-CoV-2-doelwit te testen bij een concentratie van $\sim 3X$ LoD die is bereid door een klinisch negatieve nasofaryngeaal uitstrijkje te verrijken met de 1^e internationale norm van het WHO voor SARS-CoV-2. In totaal zijn er 200 replica's verwerkt met de Direct-workflow op de NeuMoDx 96 en 288 Molecular System (100 replica's per systeem). Het faalpercentage is berekend met het percentage van fout-negatieve resultaten van het totaal aantal verkregen geldige resultaten. Het detectiepercentage van het SARS-CoV-2-doelwit in de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay bleek voor de NeuMoDx 96 en 288 Molecular Systems 100% te zijn, wat een faalpercentage van 0% op beide systemen betekent.

Betrouwbaarheid van het systeem - remming

Het remmingspercentage is bepaald door voor alle negatieve monsters die zijn uitgevoerd voor verificatie- en validatieonderzoeken het percentage Unresolved (Onbekend) (monsterverwerkingscontrole is niet geamplificeerd in afwezigheid van systeemfouten) te berekenen. In totaal zijn er van 1221 verwerkte negatieve monsters 11 Unresolved (Onbekend) resultaten verkregen, wat een remmingspercentage van 0,9% voor de NeuMoDx FluA/FluB/RSV/SARS-CoV-2 Assay betekent.

LITERATUUR

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

HANDELSMERKEN

BD™ is een handelsmerk van Becton, Dickinson and Company

Hamilton® is een gedeponerd handelsmerk van Hamilton Company

Minitip Nylon® Flocked Swab is een gedeponerd handelsmerk van Copan Diagnostics, Inc.

NeuMoDx™ en NeuDry™ zijn handelsmerken van NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® is een gedeponerd handelsmerk van Roche Molecular Systems, Inc.

UTM-RT® is een gedeponerd handelsmerk van Copan Diagnostics, Inc.

Alle andere productnamen, handelsmerken en gedeponerde handelsmerken die in dit document kunnen voorkomen, zijn eigendom van hun respectieve eigenaars.

LIJST MET SYMBOLEN

R only	Gebruik uitsluitend op voorschrift		Niet hergebruiken
	Fabrikant		Inhoud voldoende voor <n> tests
IVD	<i>In-vitro</i> diagnostisch medisch hulpmiddel		Raadpleeg de gebruikshandleiding
EC REP	Geautoriseerde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap		Voorzichtig
REF	Catalogusnummer	CE	CE-markering
LOT	Batchcode	CONT	Bevat
	Uiterste gebruiksdatum		Bevat biologisch materiaal van dierlijke oorsprong
	Temperatuurbeperring		



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



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

Technische ondersteuning/alertheidsmeldingen: support@qiagen.com

Octrooi: www.neumodx.com/patents

