

REF 300800 NeuMoDx™ SARS-CoV-2 Test Strip**R only**

ATTENZIONE: solo per l'esportazione negli Stati Uniti

IVD Per uso diagnostico *in vitro* con NeuMoDx 288 e NeuMoDx 96 Molecular System*Per gli aggiornamenti dei fogli illustrativi, andare su: www.qiagen.com/neumodx-ifu**Per istruzioni dettagliate, fare riferimento al Manuale dell'operatore del NeuMoDx 288 Molecular System; P/N 40600108**Per istruzioni dettagliate fare riferimento al Manuale dell'operatore del NeuMoDx 96 Molecular System; P/N 40600317**Per istruzioni dettagliate, fare riferimento alle Istruzioni per l'uso del NeuMoDx Saliva Collection Kit; P/N 40600441***USO PREVISTO**

Il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay eseguito sul NeuMoDx 288 Molecular System e sul NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx Molecular System), è un test diagnostico RT-PCR real-time destinato al rilevamento qualitativo dell'RNA del coronavirus SARS-CoV-2 in tamponi nasali, nasofaringei e orofaringei in terreno di trasporto e campioni di lavaggio broncoalveolare (BAL) da soggetti per i quali il medico sospetti un'infezione da COVID-19.

Questo test può essere utilizzato anche con campioni di saliva raccolti da pazienti all'interno di un ambiente sanitario utilizzando il NeuMoDx Saliva Collection Kit, quando ritenuto opportuno da un medico.

I risultati sono relativi all'identificazione dell'RNA del SARS-CoV-2. L'RNA del SARS-CoV-2 può essere generalmente rilevato nei campioni respiratori durante la fase acuta dell'infezione. Risultati positivi indicano la presenza dell'RNA del SARS-CoV-2. Per determinare lo stato di infezione del paziente sono necessarie la correlazione clinica con l'anamnesi del paziente e altre informazioni diagnostiche. Risultati positivi non escludono un'infezione batterica o una coinfezione con altri virus. I laboratori all'interno degli Stati Uniti e nei relativi territori dovranno segnalare tutti i risultati positivi alle autorità sanitarie pubbliche appropriate.

Risultati negativi non escludono la presenza di infezione da SARS-CoV-2 e non dovranno essere impiegati come unica base per le decisioni in merito alla gestione del paziente. I risultati negativi devono essere combinati con osservazioni cliniche, all'anamnesi del paziente e alle informazioni epidemiologiche. I risultati negativi per l'RNA del SARS-CoV-2 dalla saliva dovranno essere confermati testando un tipo di campione alternativo, se clinicamente indicato.

Il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay è destinato all'uso da parte del personale dei laboratori clinici addestrato e formato in maniera specifica nelle tecniche delle procedure diagnostiche PCR real-time e *in vitro*.

SOMMARIO E SPIEGAZIONI

I campioni nasofaringei, orofaringei o nasali vengono raccolti in Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) System o BD™ Universal Viral Transport System (UVT). Per la preparazione per il test, la provetta di prelievo principale (con il tampone e il tappo rimossi), un'aliquota non diluita del terreno campione o un'aliquota del terreno di trasporto pretrattato con NeuMoDx Viral Lysis Buffer in una provetta per campioni secondaria viene fornita di codice a barre e caricata nel NeuMoDx System utilizzando uno specifico portaprovette per campioni, dopodiché il processo ha inizio automaticamente. Per ogni campione, viene aspirata un'aliquota di 400 µL dal NeuMoDx System e viene mescolata con NeuMoDx Lysis Buffer 3 (campioni diretti) o con NeuMoDx Lysis Buffer 2 (campioni pretrattati).

I campioni di saliva vengono raccolti nel NeuMoDx Saliva Collection kit secondo le istruzioni per l'uso (P/N 40600441). Per la preparazione del test, la saliva raccolta viene trasferita dalla NeuMoDx Saliva collection vial alla NeuMoDx Specimen Stabilization Tube utilizzando la pipetta di trasferimento in modo tale da stabilire un rapporto di 1:1,67 saliva/SSB (v/v). La saliva e il tampone stabilizzante vengono miscelati accuratamente capovolgendo la fiala 5-8 volte. La saliva stabilizzata può essere testata direttamente sul NeuMoDx System o conservata per un test successivo.

Il NeuMoDx System esegue automaticamente i passaggi richiesti per estrarre l'acido nucleico target, preparare l'RNA isolato per la reazione a catena della polimerasi della trascrittasi inversa (RT-PCR) real-time e, se presenti, amplificare e rilevare i prodotti dell'amplificazione: il gene della proteina non strutturale 2 (Nsp2) e il gene N del genoma del SARS-CoV-2. Il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay include un Controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control, SPC2) del RNA per aiutare a monitorare la presenza di sostanze potenzialmente inibitorie e gli errori relativi al NeuMoDx System o ai reagenti che si possono verificare durante il processo di estrazione e di amplificazione.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay combina l'estrazione automatizzata, l'amplificazione e la rilevazione del RNA tramite RT-PCR real-time. I tamponi nasofaringei, orofaringei o nasali sono raccolti nel Copan UTM-RT System o nel BD UVT System. I campioni di saliva vengono raccolti nel NeuMoDx Saliva Collection Kit. Sono disponibili due flussi di lavoro per la preparazione dei campioni di tampone con il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. Il flusso di lavoro diretto consente di caricare la provetta di prelievo del tampone o un'aliquota del terreno di trasporto di una provetta secondaria sul NeuMoDx System per l'elaborazione senza ulteriore intervento. In alternativa, il terreno del tampone viene pretrattato con NeuMoDx Viral Lysis Buffer prima di essere posizionati sul NeuMoDx System per l'elaborazione. Per il campione di saliva, l'operatore carica la provetta di stabilizzazione per campioni primari contenente saliva stabilizzata direttamente sul NeuMoDx System. Il NeuMoDx System inizia automaticamente l'elaborazione aspirando un'aliquota della matrice di campione del tampone o della saliva stabilizzata e la mescola con il NeuMoDx Lysis Buffer e con i reagenti contenuti nel NeuMoDx Extraction Plate. Il NeuMoDx System automatizza e integra l'estrazione e la concentrazione dell'RNA, la preparazione dei reagenti per PCR, l'amplificazione e la rilevazione dell'acido nucleico delle sequenze target mediante RT-PCR real-time. Il controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control, SPC2) incluso consente di monitorare la presenza di potenziali sostanze inibitorie nonché gli errori di sistema, processo o reagente. Una volta caricato il campione sul NeuMoDx System non è necessario alcun intervento dell'operatore.

Il NeuMoDx System utilizza una combinazione di calore, enzima litico e reagenti di estrazione per eseguire automaticamente la lisi, l'estrazione dell'RNA e l'eliminazione degli inibitori usando i reagenti NeuMoDx disponibili a parte. Gli acidi nucleici rilasciati vengono catturati da microsferi paramagnetiche. Le particelle, con l'acido nucleico legato, sono caricate nella NeuMoDx Cartridge, dove gli elementi non legati vengono rimossi tramite lavaggio con NeuMoDx Wash Reagent. L'RNA legato viene quindi eluito utilizzando il NeuMoDx Release Reagent. Il NeuMoDx System utilizza l'RNA eluito per reidratare la miscela proprietaria di amplificazione per la RT-PCR NeuDry™ contenente tutti gli elementi necessari per l'amplificazione dei target di SARS-CoV-2 e per l'SPC2. Ciò consente l'amplificazione e rilevazione simultanee del target e dell'SPC2 in un'unica reazione. Dopo la ricostituzione dei reagenti RT-PCR essiccati, il NeuMoDx System dispensa la miscela pronta per RT-PCR in una camera PCR (per campioni) della NeuMoDx Cartridge. Trascrittasi inversa, amplificazione e rilevazione delle sequenze di controllo e target (se presenti) si verificano nella camera PCR. Il NeuMoDx Cartridge è progettato per contenere l'amplicone dopo la RT-PCR, praticamente eliminando il rischio della contaminazione post-amplificazione.

I target amplificati vengono rilevati in tempo reale utilizzando la chimica delle sonde a idrolisi (comunemente nota come chimica TaqMan®) che si avvale di molecole di sonde oligonucleotidiche fluorogeniche specifiche per gli ampliconi dei rispettivi target. Le sonde TaqMan sono costituite da un fluoroforo legato covalentemente all'estremità 5' della sonda oligonucleotidica e da un quencher all'estremità 3'. Mentre la sonda è intatta, il fluoroforo e il quencher sono in prossimità, consentendo alla molecola quencher di sopprimere la fluorescenza emessa dal fluoroforo tramite FRET (Förster Resonance Energy Transfer).

Le sonde TaqMan sono progettate in modo tale da eseguire l'annealing all'interno di una regione del DNA amplificata da un set specifico di primer. Quando la Taq DNA polimerasi estende il primer e sintetizza il nuovo filamento, l'attività di esonucleasi 5' - 3' della Taq DNA polimerasi degrada la sonda che ha eseguito l'annealing allo stampo. La degradazione della sonda rilascia il fluoroforo e spezza la prossimità con il quencher, superando quindi l'effetto di smorzamento dovuto al FRET e consentendo la rilevazione del fluoroforo. Il segnale di fluorescenza risultante rilevato nel termociclatore per RT-PCR quantitativa del NeuMoDx System è direttamente proporzionale al fluoroforo rilasciato e può essere correlato alla quantità di target presente. Una sonda TaqMan contrassegnata con un fluoroforo FAM (470/510 nm) viene utilizzata per rilevare la regione Nsp2 del genoma del SARS-CoV-2 e una sonda TaqMan contrassegnata con un fluoroforo HEX (530/555 nm) viene utilizzata per rilevare il gene N del genoma del SARS-CoV-2. Per il rilevamento dell'SPC2, la sonda TaqMan è contrassegnata con un fluoroforo rosso intenso (680/715 nm). Il software del NeuMoDx System monitora il segnale fluorescente emesso dalle sonde TaqMan alla fine di ogni ciclo di amplificazione. Quando l'amplificazione è completa, il software del NeuMoDx System analizza i dati e riporta un risultato (POSITIVE (POSITIVO)/NEGATIVE (NEGATIVO)/INDETERMINATE (INDETERMINATO)/NO RESULT (NESSUN RISULTATO)/UNRESOLVED (IRRISOLTO)).

REAGENTI/MATERIALI DI CONSUMO

Materiali in dotazione

REF	Contenuto	Test per unità	Test per confezione
300800	NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip <i>Reagenti RT-PCR essiccati contenenti sonde TaqMan e primer specifici per SARS-CoV-2 insieme a sonda TaqMan e primer specifici per SPC2</i>	16	96

Altri materiali necessari ma non in dotazione (disponibili separatamente da NeuMoDx)

REF	Contenuto
100100	NeuMoDx Cartridge
100200	NeuMoDx Extraction Plate
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
400500 <i>(Opzionale*)</i>	NeuMoDx Lysis Buffer 2
400600**	NeuMoDx Lysis Buffer 3
401600 <i>(Opzionale*)</i>	NeuMoDx Viral Lysis Buffer
235903	Puntali Hamilton CO-RE / CO-RE II (300 µL) con filtri
235905	Puntali Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µL) con filtri

*Richiesti solo se si desidera un passaggio di pretrattamento per la lisi off-board prima di caricare i campioni. Vedere la sezione "Istruzioni per l'uso".

**Richiesti solo per l'elaborazione diretta dei campioni non diluiti. Vedere la sezione "Istruzioni per l'uso" di seguito.

Tampone e terreni di trasporto (non in dotazione)

Tipo di campione	Dispositivi di raccolta	Dispositivo di raccolta consigliato	Tampone consigliato
Tampone nasofaringeo	Applicatore in plastica con filato di rayon sterile e tamponi in poliestere e tamponi in nylon floccato raccolti in UTM®: Universal Transport Medium (Copan Diagnostic Inc, CA) o UVT BD Universal Viral Transport System (UVT) (BD, NJ)	3 mL/1 mL Universal Transport Medium (Copan UTM-RT) o Universal Viral Transport System (BD UVT)	Flexible Minitip Size Nylon® Flocked Swab (Copan) o Flexible minitip floccated swab (BD)
Tampone orofaringeo			
Tampone nasale			

Materiale per la raccolta della saliva (disponibile separatamente da NeuMoDx)

REF	Contenuto
100500	NeuMoDx Saliva Collection Kit Contiene (1) NeuMoDx Saliva Collection Vial, (1) NeuMoDx Specimen Stabilization Tube con 1 mL NeuMoDx saliva stabilization buffer e (1) pipetta di trasferimento monouso (sufficiente per la raccolta di un campione per kit; per i dettagli, fare riferimento alle Istruzioni per l'uso; P/N 40600441)

Strumentazione richiesta

NeuMoDx 288 Molecular System [RIF 500100] o NeuMoDx 96 Molecular System [RIF 500200].



AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay è per uso diagnostico *in vitro* solo su sistemi NeuMoDx System.
- Solo su prescrizione medica.
- Non riutilizzare.
- I campioni devono essere trattati sempre come se fossero infettivi e in conformità di procedure di laboratorio sicure, come quelle descritte in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories¹ e nel Documento M29-A4 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).²
- Le prestazioni del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay sono limitate all'uso da parte di personale formato sull'uso del NeuMoDx System e nella gestione dei materiali infetti.
- Per testare campioni di saliva, il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay è esclusivamente destinato all'uso con il NeuMoDx Saliva Collection kit.
- Non utilizzare i reagenti o i materiali di consumo dopo la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare alcun reagente se il sigillo di sicurezza è rotto o se la confezione risulta danneggiata all'arrivo.
- Non utilizzare i materiali di consumo o i reagenti se il sacchetto di protezione appare aperto o rotto all'arrivo.
- Il volume minimo del campione dell'aliquota secondaria dipende dalle dimensioni della provetta/dal portaprovette per campioni come definiti di seguito. Un volume al di sotto del minimo specificato può generare un errore "Quantity Not Sufficient" (Quantità non sufficiente).
- L'uso di campioni conservati a temperature non corrette oppure oltre i tempi di stoccaggio specificati può produrre risultati non validi o errati.
- Evitare la contaminazione microbica e da ribonucleasi (RNasi) di tutti i reagenti e i materiali di consumo. In caso di trasferimento del campione in una provetta secondaria, si raccomanda l'uso di pipette di trasferimento monouso sterili prive di RNasi. Utilizzare una nuova pipetta per ciascun campione.
- Per evitare la contaminazione, non manipolare o spezzare nessuna NeuMoDx Cartridge dopo l'amplificazione. In nessun caso recuperare le NeuMoDx Cartridge dal contenitore dei materiali di scarto a rischio biologico (NeuMoDx 288 Molecular System) o dal recipiente materiali di scarto a rischio biologico (NeuMoDx 96 Molecular System). La cartuccia NeuMoDx Cartridge è stata progettata in modo da prevenire la contaminazione.
- Nei casi in cui dal laboratorio siano condotti anche test per PCR in provetta aperta, è necessario assicurarsi che NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip, i materiali di consumo e i reagenti aggiuntivi necessari per i test, i dispositivi di protezione individuale come guanti e camicie da laboratorio e il NeuMoDx System non siano contaminati.
- Durante la manipolazione dei reagenti e dei materiali di consumo NeuMoDx, è necessario indossare guanti in nitrile, puliti e privi di polvere. Prestare attenzione a non toccare la superficie superiore della NeuMoDx Cartridge, la superficie del sigillante della NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip e della NeuMoDx Extraction Plate o la superficie superiore dei contenitori del NeuMoDx Lysis Buffer; la manipolazione dei materiali di consumo e dei reagenti deve essere effettuata toccando solo le superfici laterali.
- Le schede di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) sono disponibili all'indirizzo www.qiagen.com/neumodx-ifu
- Lavarsi bene le mani dopo avere eseguito il test.
- Non pipettare con la bocca. Non fumare, mangiare o bere nelle aree in cui vengono manipolati i campioni o i reagenti.
- Smaltire i reagenti inutilizzati e i materiali di scarto in conformità alle normative nazionali, federali, provinciali, regionali e locali.
- Gli strumenti e le procedure di esame riducono il rischio di contaminazione mediante il prodotto dell'amplificazione. La contaminazione da acido nucleico dai controlli positivi o dai campioni deve essere tuttavia controllata da buone pratiche di laboratorio.
- Si raccomandano buone pratiche di laboratorio, compreso il cambio di guanti tra una manipolazione dei campioni dei pazienti e quella successiva, per evitare la contaminazione.



STOCCAGGIO, MANIPOLAZIONE E STABILITÀ DEL PRODOTTO

- Le NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip sono stabili nell'imballaggio primario fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta esterna del prodotto, se conservate a una temperatura compresa tra 4 e 28 °C.
- Non utilizzare i materiali di consumo e i reagenti dopo la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare alcun prodotto di test se la confezione primaria o quella secondaria è stata visivamente compromessa.
- Non ricaricare alcun prodotto di test che sia stato caricato in precedenza su un altro NeuMoDx System.
- Una volta caricata, la NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip può restare a bordo del NeuMoDx System per 7 giorni. Il periodo di validità residuo delle strisce reattive caricate è tracciato dal software e segnalato all'utente in tempo reale. La rimozione di una striscia reattiva utilizzata oltre il periodo consentito sarà richiesta dal sistema.

PRELIEVO, TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Trattare tutti i campioni come se fossero potenziali mezzi di trasmissione di agenti infettivi.

Campioni nasofaringei e nasali

I campioni dovranno essere raccolti con il Copan UTM-RT System o il BD UVT System utilizzando i tamponi floccati in nylon convalidati (vedere materiali non forniti). Inoltre, i tamponi floccati, i tamponi in poliestere e rayon sono tipi di tamponi accettabili. Seguire le istruzioni del produttore per la raccolta, il trasporto e la conservazione fornite nelle Istruzioni per l'uso del Copan UTM-RT System/BD UVT System:

- Dopo il prelievo, il campione deve essere conservato a 2-25 °C ed elaborato entro 48 ore.
- Se l'erogazione e l'elaborazione superano le 48 ore, i campioni devono essere trasportati in ghiaccio secco e una volta in laboratorio congelati a una temperatura di almeno -70 °C.

Campioni di saliva

Per istruzioni dettagliate, fare riferimento al NeuMoDx Saliva Collection Kit; P/N 40600441

I campioni dovranno essere raccolti utilizzando il NeuMoDx Saliva Collection Kit. La saliva raccolta viene trasferita dalla NeuMoDx Saliva collection vial alla NeuMoDx Specimen Stabilization Tube, utilizzando la pipetta di trasferimento in modo tale da stabilire un rapporto di 1:1,67 saliva/SSB (v/v). La saliva e il tampone stabilizzante vengono miscelati accuratamente capovolgendo la fiala 5-8 volte. La saliva stabilizzata può essere testata direttamente sul NeuMoDx System o conservata per un test successivo.

- I campioni di saliva possono essere conservati fino a un massimo di 2 ore a temperatura ambiente prima della miscelazione con il NeuMoDx Stabilization Buffer (SSB).
- Dopo aver miscelato la saliva con il tampone di stabilizzazione, controllare il volume nella provetta di stabilizzazione del campione. Se il volume totale è inferiore alla linea di riempimento, aggiungere acqua di grado molecolare per portare il volume totale alla linea di riempimento.
- La saliva stabilizzata può essere conservata fino a 24 ore a temperatura ambiente e fino a 7 giorni a 2-8°C. Al campione dovrà essere consentito di raggiungere la temperatura ambiente prima del test.
- La saliva stabilizzata può essere conservata per 12 ore sul NeuMoDx Molecular System.
- La saliva stabilizzata dovrà essere trasportata su sacchetti di ghiaccio e quindi refrigerata a 2-8°C se il tempo compreso tra la raccolta e l'elaborazione supera le 48 ore.

ISTRUZIONI PER L'USO

Il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay consente due tipi di flusso di lavoro, a seconda della preferenza dell'utente o del laboratorio:

Flusso di lavoro 1: DIRECT (DIRETTO): campione di tampone in terreno di trasporto e saliva in tampone di stabilizzazione vengono caricati direttamente nel NeuMoDx System in una provetta per il prelievo primaria o in provette per campioni secondarie

- o -

Flusso di lavoro 2: PRETREATED (PRETRATTATO): il campione di tampone in terreno di trasporto viene pretrattato con NeuMoDx Viral Lysis Buffer prima del caricamento nel NeuMoDx System nella provetta di prelievo primaria o nelle provette per campioni secondarie

Preparazione del test: flusso di lavoro DIRETTO per campioni diretti di tampone e saliva

Nota: portare tutti i campioni a temperatura ambiente (tra 15 e 30 °C) prima dell'elaborazione.

1. Applicare l'etichetta con codice a barre del campione su una provetta per campioni compatibile con il NeuMoDx System, come descritto ai punti 4 e 5 riportati di seguito.
2. Se il test del campione viene eseguito nella provetta per il prelievo del campione primaria (campioni di tampone) o nella provetta di stabilizzazione del campione (campioni di saliva), collocare la provetta con l'etichetta con codice a barre in un portaprovette per campioni e accertarsi che il tappo e/o il tampone vengano rimossi prima del caricamento nel NeuMoDx System.
3. In alternativa, un'aliquota del terreno di trasporto o la saliva stabilizzata può essere trasferita a una provetta secondaria con codice a barre e collocata in un portaprovette per campioni da 32 provette. Se si utilizza una provetta secondaria, trasferire un'aliquota del terreno di trasporto o la saliva stabilizzata alla provetta per campioni con codice a barre compatibile con il NeuMoDx System in base ai volumi definiti di seguito:

4. *Per campioni di tampone:*
 - Portaprovette per campioni (32 provette): 11-14 mm di diametro e 60-120 mm di altezza; volume di riempimento minimo $\geq 550 \mu\text{L}$
 - Portaprovette per campioni (24 provette): 14,5-18 mm di diametro e 60-120 mm di altezza; volume di riempimento minimo $\geq 1000 \mu\text{L}$
 - Portaprovette per campioni a volume ridotto (32 provette): provetta per microcentrifuga a fondo conico da 1,5 mL; volume di riempimento minimo $\geq 500 \mu\text{L}$
5. *Per campioni di saliva stabilizzata:*
 - Portaprovette per campioni (32 provette): 11-14 mm di diametro e 60-120 mm di altezza; volume di riempimento minimo $\geq 800 \mu\text{L}$
 - Portaprovette per campioni a volume ridotto (32 provette): provetta per microcentrifuga a fondo conico da 1,5 mL; volume di riempimento minimo $\geq 700 \mu\text{L}$

Preparazione del test: flusso di lavoro PRETRATTATO per campioni di tampone pretrattati

Nota: portare tutti i campioni a temperatura ambiente (tra 15 e 30 °C) prima dell'elaborazione.

AVVERTENZA: *il pretrattamento dei campioni di tampone con NeuMoDx Viral Lysis Buffer non garantisce la disattivazione di eventuali virus presenti. Tutti i campioni devono essere trattati come se fossero in grado di trasmettere agenti infettivi.*

1. Pretrattare il terreno di trasporto dei campioni con un volume 1:1 di NeuMoDx Viral Lysis Buffer. Se il volume del terreno di trasporto è noto, tale operazione può essere eseguita nella provetta per il prelievo del tampone principale. In alternativa, il pretrattamento può essere eseguito in una provetta secondaria combinando un'aliquota del terreno di trasporto con un uguale volume di NeuMoDx Viral Lysis Buffer. La miscela che ne risulta deve soddisfare i requisiti di volume minimo specificati di seguito.
2. Mescolare con delicatezza con la pipetta per garantire la distribuzione uniforme del NeuMoDx Viral Lysis Buffer.
3. Se il test del campione viene eseguito nella provetta per il prelievo del campione primaria, collocare la provetta con l'etichetta con codice a barre in un portaprovette per campioni e accertarsi che il tappo e il tampone vengano rimossi prima del caricamento nel NeuMoDx System.
4. Se si utilizza una provetta secondaria, trasferire un'aliquota del lisato del terreno di trasporto alla provetta per campioni con codice a barre compatibile con il NeuMoDx System in base ai volumi definiti di seguito:
 - Portaprovette per campioni (32 provette): 11-14 mm di diametro e 60-120 mm di altezza; volume di riempimento minimo $\geq 550 \mu\text{L}$
 - Portaprovette per campioni (24 provette): 14,5-18 mm di diametro e 60-120 mm di altezza; volume di riempimento minimo $\geq 1000 \mu\text{L}$
 - Portaprovette per campioni a volume ridotto (32 provette): provetta per microcentrifuga a fondo conico da 1,5 mL; volume di riempimento minimo $\geq 500 \mu\text{L}$

Funzionamento del NeuMoDx System

Per istruzioni dettagliate, fare riferimento ai Manuali dell'operatore dei sistemi del NeuMoDx 288 e 96 Molecular System.

1. Caricare l'ordine di test sul NeuMoDx System in base al flusso di lavoro utilizzato per la preparazione del test:
 - I campioni di tampone non diluiti non trattati preparati utilizzando il flusso di lavoro DIRETTO vengono testati definendo il campione come "Transport Medium" (Terreno di trasporto)
 - I campioni di tampone pretrattati mediante il flusso di lavoro PRETRATTATO vengono testati definendo il campione come "User-Specified1" (Specificato dall'utente 1)
 - La saliva stabilizzata mediante il flusso di lavoro DIRETTO viene testata definendo il campione come "User-Specified2" (Specificato dall'utente 2)
2. Riempire uno o più supporti per strisce reattive con NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip e utilizzare il touchscreen per caricare i supporti per strisce reattive nel NeuMoDx System.
3. Se richiesto dal software NeuMoDx System, aggiungere i materiali di consumo a bordo necessari (NeuMoDx Cartridge, NeuMoDx Extraction Plate, NeuMoDx Lysis Buffer 2, NeuMoDx Lysis Buffer 3, puntali CO-RE) sui supporti dei materiali di consumo NeuMoDx System e utilizzare il touchscreen per caricare i supporti nel NeuMoDx System, secondo necessità.
4. Se richiesto dal software NeuMoDx System, sostituire il NeuMoDx Wash Reagent e/o il NeuMoDx Release Reagent, secondo necessità.
5. Se richiesto dal software NeuMoDx System, svuotare il contenitore dei rifiuti di adescamento, dei materiali di scarto a rischio biologico (solo NeuMoDx 288 Molecular System), Tip Waste Bin (solo NeuMoDx 96 Molecular System) o Biohazard Waste Bin (solo NeuMoDx 96 Molecular System), secondo necessità.
6. Caricare i campioni in un portaprovette per campioni standard e assicurarsi che da tutte le provette siano stati rimossi i tappi.
7. Posizionare i portaprovette per campioni sul ripiano del caricatore automatico e utilizzare il touchscreen per caricare i portaprovette nel NeuMoDx System. In tal modo verrà avviata l'elaborazione dei campioni caricati per i test identificati, a condizione che nel sistema sia presente un ordine di test valido.

LIMITAZIONI

- Il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay è stato valutato per l'uso solo sui NeuMoDx Molecular System.
- Il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay è stato progettato per la rilevazione dell'RNA del SARS-CoV-2 in tamponi nasofaringei, orofaringei e nasali raccolti con Copan UTM-RT System (UTM-RT) o BD Universal Viral Transport System (UVT) o campioni di saliva raccolti utilizzando il NeuMoDx Saliva Collection Kit. L'uso del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay con altri tipi di campione non è stato valutato e le caratteristiche delle prestazioni non sono note.
- L'affidabilità dei risultati dipende dal prelievo, dal trattamento e dallo stoccaggio corretti dei campioni.
- I tamponi nasali e nasali del turbinato medio e i campioni di lavaggio broncoalveolare sono considerati tipi di campione accettabili per l'uso con NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, ma le prestazioni con questi tipi di campione non sono state stabilite. Il test dei tamponi nasali e dei tamponi nasali del turbinato medio (raccolti autonomamente sotto la supervisione o da parte di un operatore sanitario) è limitato ai pazienti con sintomi di COVID-19.
- Per testare campioni di saliva, il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay è esclusivamente destinato all'uso con il NeuMoDx Saliva Collection kit.
- Eventuali risultati errati potrebbero essere dovuti a operazioni di prelievo, manipolazione o conservazione dei campioni non corrette, a errori tecnici o a scambi di provette per campioni. Un volume di saliva non corretto nella provetta di stabilizzazione del campione può ridurre la sensibilità del test. Inoltre potrebbero verificarsi falsi negativi se il numero di particelle virali nel campione è al di sotto del limite di rilevazione del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay.
- Se non si amplificano sia i target SARS-CoV-2 sia il target SPC2, si otterrà un risultato non valido (Indeterminate (Indeterminato), No Results (Nessun risultato) o Unresolved (Irrisolto)) e sarà necessario ripetere il test.
- Eventuali cancellazioni o mutazioni nelle regioni target del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay possono influire sul rilevamento e portare a un risultato errato.
- La presenza di Crest® Pro-Health Advanced Gum Protection Toothpaste in campioni di saliva potrebbe potenzialmente interferire con la rilevazione dell'RNA del SARS-CoV-2 e potrebbe determinare un risultato errato.
- Un risultato positivo è indicativo della presenza dell'RNA del SARS-CoV-2, ma non indica necessariamente la presenza di SARS-CoV-2 contagioso.
- Risultati negativi non escludono l'infezione da virus SARS-CoV-2 e non dovranno essere l'unica base per il trattamento/la gestione di un paziente o per una decisione in materia di salute pubblica.
- I risultati del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay dovranno essere impiegati in aggiunta alle osservazioni cliniche e ad altre informazioni disponibili al medico.
- Si raccomandano buone pratiche di laboratorio, compreso il cambio di guanti tra una manipolazione dei campioni dei pazienti e quella successiva, per evitare la contaminazione.

RISULTATI

I risultati dei test disponibili possono essere visualizzati o stampati dalla scheda "Results" (Risultati) nella finestra Results (Risultati) sul touchscreen del NeuMoDx System. Un risultato del test può essere riportato come Positive (Positivo) (POS), Negative (Negativo) (NEG), Indeterminate (Indeterminato) (IND), No Results (Nessun risultato) (NR) o Unresolved (Irrisolto) (UNR) in base allo stato di amplificazione del target e al controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control, SPC2).

I criteri per un'indicazione di positività o negatività sono specificati nel file di definizione del test (Assay Definition File, ADF) per NeuMoDx SARS-CoV-2 installato sul NeuMoDx System. I risultati per i campioni di tampone e saliva sono riportati in base all'algoritmo decisionale dell'ADF, riassunto, rispettivamente, nelle *Table 1 e 2* seguenti.

Tutti i controlli del test dovranno essere esaminati prima dell'interpretazione dei risultati del paziente. Se i controlli non sono validi, i risultati del paziente non possono essere interpretati.

Tabella 1. Interpretazione dei risultati del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

RISULTATO COMPLESSIVO	TARGET 1 (gene Nsp2) FAM	TARGET 2 (gene N) HEX	CONTROLLO DI PROCESSO (Sample Process Control, SPC2) Rosso intenso	Interpretazione
POSITIVE (POSITIVO)	AMPLIFIED (AMPLIFICATO) [5 ≤ Ct < 20 AND (E) EPR ≥ 1,2 AND (E) EP ≥ 700] OR (OPPURE) (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (E) EP ≥ 700)	N/A	N/A	SARS-CoV-2 RNA rilevato**
	N/A	AMPLIFIED (AMPLIFICATO) [5 ≤ Ct < 20 AND (E) EPR ≥ 1,5 AND (E) EP ≥ 1000] OR (OPPURE) (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (E) EP >1000)		
NEGATIVE (NEGATIVO)	NOT AMPLIFIED (NON AMPLIFICATO) N/A OR (OPPURE) (5 ≤ Ct < 20 AND (E) EPR <1,2) OR (OPPURE) (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (E) EP <700) OR (OPPURE) (Ct > 40)	NOT AMPLIFIED (NON AMPLIFICATO) N/A OR (OPPURE) (5 ≤ Ct < 20 AND (E) EPR <1,5) OR (OPPURE) (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (E) EP <1000) OR (OPPURE) (Ct > 40)	AMPLIFIED (AMPLIFICATO) (24 ≤ Ct ≤ 33 AND (E) EP ≥ 1000)	RNA SARS-CoV-2 non rilevato
IND*	NOT AMPLIFIED, System Errors Noted, Sample Processing Completed (NON AMPLIFICATO, Notato errore di sistema, Elaborazione del campione completata)			Tutti i risultati target erano non validi; ripetere il test
NR*	NOT AMPLIFIED, System Errors Noted, Sample Processing Aborted (NON AMPLIFICATO, Notato errore di sistema, Elaborazione del campione interrotta)			L'elaborazione dei campioni è stata interrotta; ripetere il test
UNR*	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (NON AMPLIFICATO/Nessun errore di sistema notato)			Tutti i risultati target erano non validi; ripetere il test

*Il sistema è dotato di una funzione automatica Rerun/Repeat (Riesegui/Ripeti), che può essere selezionata dall'utente finale per garantire la rielaborazione automatica dei risultati IND/NR/UNR (INDETERMINATO/NESSUN RISULTATO/IRRISOLTO) e ridurre così al minimo i ritardi nell'ottenimento dei risultati.

**Se si desidera, è possibile eseguire nuovamente il test nel caso in cui sia amplificato solo uno dei due target SARS-CoV-2.

Tabella 2. Interpretazione dei risultati del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay: campioni di saliva

RISULTATO COMPLESSIVO	TARGET 1 (gene Nsp2) FAM	TARGET 2 (gene N) HEX	CONTROLLO DI PROCESSO (Sample Process Control, SPC2) Rosso intenso	Interpretazione
POSITIVE (POSITIVO)	AMPLIFIED (AMPLIFICATO) [5 ≤ Ct < 28 AND (E) EP ≥600 AND (E) EPR >1,2] OR (OPPURE) [28 ≤ Ct ≤ 40 AND (E) EP ≥600]	N/A	N/A	SARS-CoV-2 RNA rilevato**
	N/A	AMPLIFIED (AMPLIFICATO) [5 ≤ Ct < 28 AND (E) EP ≥675 AND (E) EPR >1,2] OR (OPPURE) [28 ≤ Ct ≤ 40 AND (E) EP ≥675]		
NEGATIVE (NEGATIVO)	NOT AMPLIFIED (NON AMPLIFICATO) N/A OR (OPPURE) [5 ≤ Ct < 28 AND (E) EPR ≤1,2] OR (OPPURE) [28 ≤ Ct ≤ 42 AND (E) EP <600] OR (OPPURE) [Ct >40]	NOT AMPLIFIED (NON AMPLIFICATO) N/A OR (OPPURE) [5 ≤ Ct < 28 AND (E) EPR ≤1,2] OR (OPPURE) [28 ≤ Ct ≤ 42 AND (E) EP <675] OR (OPPURE) [Ct >40]	AMPLIFIED (AMPLIFICATO) (24 ≤ Ct ≤ 33 AND (E) EP ≥ 1000)	RNA SARS-CoV-2 non rilevato
IND*	NOT AMPLIFIED, System Errors Noted, Sample Processing Completed (NON AMPLIFICATO, Notato errore di sistema, Elaborazione del campione completata)			Tutti i risultati target erano non validi; ripetere il test
NR*	NOT AMPLIFIED, System Errors Noted, Sample Processing Aborted (NON AMPLIFICATO, Notato errore di sistema, Elaborazione del campione interrotta)			L'elaborazione dei campioni è stata interrotta; ripetere il test
UNR*	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (NON AMPLIFICATO/Nessun errore di sistema notato)			Tutti i risultati target erano non validi; ripetere il test

*Il sistema è dotato di una funzione automatica Rerun/Repeat (Riesegui/Ripeti), che può essere selezionata dall'utente finale per garantire la rielaborazione automatica dei risultati IND/NR/UNR (INDETERMINATO/NESSUN RISULTATO/IRRISOLTO) e ridurre così al minimo i ritardi nell'ottenimento dei risultati.

**Se si desidera, è possibile eseguire nuovamente il test nel caso in cui sia amplificato solo uno dei due target SARS-CoV-2.

Un risultato positivo può essere riportato per i campioni che riportano uno stato di amplificazione differenziale, tale che solo uno dei target, Target 1 (gene Nsp2) o Target 2 (gene N) si amplifica. Ciò può verificarsi a causa di 1) un campione a concentrazioni vicine o al di sotto del limite di rilevamento del test, 2) una mutazione in una delle regioni target o 3) altri fattori. Nel caso di un test positivo in cui si amplifica solo uno dei target, si può prendere in considerazione la ripetizione del test se il controllo SPC2 è negativo. Se il risultato del test ripetuto continua a essere lo stesso, sarebbe opportuno eseguire ulteriori test di conferma se clinicamente indicato.

Risultati non validi

Se un NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay eseguito nel NeuMoDx System non riesce a produrre un risultato valido, verrà segnalato come Indeterminate (Indeterminato), No Results (Nessun risultato) o Unresolved (Irrisolto) in base al tipo di errore che si è verificato, e il test deve essere ripetuto per ottenere un risultato valido.

Un risultato Indeterminate (Indeterminato) verrà segnalato se viene rilevato un errore del NeuMoDx System durante l'elaborazione del campione. Nel caso di un risultato Indeterminate (Indeterminato), è consigliabile ripetere il test.

Il risultato sarà No Result (Nessun risultato) quando viene rilevato un errore del NeuMoDx System e viene interrotta l'elaborazione del campione. Nel caso di un risultato No Result (Nessun risultato), è consigliabile ripetere il test.

Il risultato sarà Unresolved (Irrisolto) quando non viene rilevato alcun target e non vi è amplificazione del controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control): ciò indica un possibile errore relativo al reagente o la presenza di inibitori. In caso di risultato Unresolved (Irrisolto), è consigliabile ripetere il test come primo passaggio. Se ancora non si ottiene un risultato valido, è possibile usare un campione diluito per mitigare l'effetto di una possibile inibizione.

Controllo qualità

I laboratori hanno la responsabilità di procedure di controllo che monitorino l'accuratezza e la precisione del processo analitico completo e stabiliscano il numero, il tipo e la frequenza dell'esecuzione dei test dei materiali di controllo.

1. I materiali di controllo non sono forniti con il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. Tuttavia, i seguenti materiali di controllo sono stati convalidati da NeuMoDx e sono consigliati. I controlli devono rispettare le stesse specifiche di volume minimo dei campioni clinici specificate in precedenza sulla base delle dimensioni del portaprovette per campioni.

Per i campioni di tampone si consigliano i seguenti controlli

- Controllo positivo:
 - RNA genomico del SARS-CoV-2 purificato (n. cat.: VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, USA) alla concentrazione finale di 5E3 cp/mL
 - SARS-CoV-2 inattivato dal calore (n. cat.: VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, USA) alla concentrazione finale di 5E3 cp/mL
 - 5 mL di NATtrol™ SARS-CoV-2 (Recombinant) Stock (contiene solo il gene N, n. di catalogo 0831042, ZeptoMetrix, Buffalo, NY, USA) in 1 mL di terreno BD UVT.
- Controllo negativo: Terreni Copan/BD UVT o equivalenti.

Per i campioni di saliva si consigliano i seguenti controlli

Controllo positivo: Diluire uno dei seguenti materiali in una miscela di acqua di grado molecolare e SSB in un rapporto di 1:1.67 acqua/SSB (v/v):

- RNA genomico del SARS-CoV-2 purificato (n. cat.: VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, USA) alla concentrazione finale di 5E3 cp/mL
- SARS-CoV-2 inattivato dal calore (n. cat.: VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, USA) alla concentrazione finale di 5E3 cp/mL
- NATtrol™ SARS-CoV-2 (Recombinant) Stock (contiene solo il gene N, n. di catalogo 0831042, ZeptoMetrix, Buffalo, NY, USA) con rapporto di diluizione 1:20.

Controllo negativo: 0,6 mL di acqua di grado molecolare aggiunti a 1 mL di tampone di stabilizzazione della saliva (SSB), o in un rapporto di 1:1.67 acqua/SSB (v/v).

2. È consigliabile che gli utenti elaborino un set di controlli negativi e positivi ogni 24 ore e prima di trattare i campioni paziente.
3. Quando si trattano i controlli, collocare i controlli etichettati in un portaprovette per campioni e utilizzare il touchscreen per caricare il portaprovette nel NeuMoDx System dal ripiano del caricatore automatico. Una volta definito, il NeuMoDx System riconoscerà i codici a barre e avvierà l'elaborazione dei controlli.
4. In ciascuna NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip sono inclusi i primer e la sonda specifici per il controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control, SPC2). Questo controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control) consente al NeuMoDx System di monitorare l'efficacia dei processi di estrazione del RNA e di amplificazione della RT-PCR.
5. Prima della RT-PCR, il NeuMoDx System esegue automaticamente un "FILL CHECK" (CONTROLLO RIEMPIMENTO) per verificare che la camera PCR sia riempita con la soluzione e che contenga un'adeguata quantità di sonda fluorescente.
6. Il software NeuMoDx System monitora continuamente i sensori di bordo e gli attuatori per garantire un funzionamento sicuro ed efficiente del sistema.
7. Il monitoraggio attivo delle operazioni di aspirazione e dispensa implementa varie modalità di recupero degli errori fluidici per garantire che il sistema completi l'elaborazione di tutti i campioni in maniera sicura ed efficiente o fornisca un codice di errore appropriato.
8. Il NeuMoDx System è dotato di una funzione automatica Rerun (Riesegui)/Repeat (Ripeti), che può essere selezionata dall'utente finale per garantire la rielaborazione automatica di un risultato INVALID (NON VALIDO) e ridurre così al minimo i ritardi nell'ottenimento dei risultati.
9. Un risultato del test positivo riportato per un campione di controllo negativo può indicare un problema di contaminazione del campione. Per suggerimenti in merito alla risoluzione dei problemi, fare riferimento al *Manuale dell'operatore del NeuMoDx 288 o 96 Molecular System*.
10. Un risultato negativo riportato per un campione di controllo positivo può indicare la presenza di un problema correlato a un reagente oppure al NeuMoDx System. Per suggerimenti in merito alla risoluzione dei problemi, fare riferimento al *Manuale dell'operatore del NeuMoDx 288 o 96 Molecular System*.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Sensibilità analitica: campioni di tampone nasofaringeo

Il limite di rilevamento (Limit of Detection, LoD) del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay è stato determinato testando una serie di diluizioni di campioni di tamponi nasofaringei clinici negativi raccolti in gruppo (tampone floccato in nylon raccolto in terreno di trasporto universale (UTM) [Copan Diagnostic Inc, CA] o Universal Viral Transport (UVT) [BD, NJ]) arricchiti con RNA genomico del SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) ed elaborati utilizzando entrambi i flussi di lavoro DIRETTO e PRETRATTATO. Per ciascun flusso di lavoro sono stati valutati almeno venti replicati di ogni diluizione su entrambi i NeuMoDx System. Il limite di rilevamento (Limit of Detection, LoD) è stato determinato pari a **150 copie/mL**.

Tabella 3. Tasso di rilevamento e limite di rilevamento per SARS-CoV-2 su NeuMoDx 96 Molecular System: Flusso di lavoro pretrattato

Limite di rilevamento di SARS-CoV-2: N96, Flusso di lavoro pretrattato								
Livello target	Risultati validi	Positivo a gene Nsp2		Tasso di rilevamento gene Nsp2	Gene N Positive (Positivo)		Tasso di rilevamento gene N	Tasso amplificato di entrambi i target
		n	Ct medio		n	Ct medio		
250 cp/mL	22	22	31,7	100%	22	30,9	100%	100%
150 cp/mL	20	20	31,5	100%	20	31,0	100%	100%
50 cp/mL	24	0	n/a	0%	22	31,8	91,7%	0%
Negative (Negativo)	30	n/a		0%	0	n/a	0%	0%

LoD N96: 150 cp/mL [il livello target più basso che dimostra un tasso di rilevamento >95% di entrambi i target]

Tabella 4. Tasso di rilevamento e limite di rilevamento per SARS-CoV-2 su NeuMoDx 288 Molecular System: Flusso di lavoro pretrattato

Limite di rilevamento di SARS-CoV-2: N288, Flusso di lavoro pretrattato								
Livello target	Risultati validi	Gene Nsp2 Positive (Positivo)		Tasso di rilevamento gene Nsp2	Gene N Positive (Positivo)		Tasso di rilevamento gene N	Tasso amplificato di entrambi i target
		n	Ct medio		n	Ct medio		
250 cp/mL	21	21	32,1	100%	21	31,4	100%	100%
150 cp/mL	26	26	31,7	100%	26	31,2	100%	100%
50 cp/mL	21	11	32,2	52,4%	20	32,2	95,2%	52,4%
Negative (Negativo)	20	0	n/a	0%	0	n/a	0%	0%

LoD N288: 150 cp/mL [il livello target più basso che dimostra un tasso di rilevamento >95% di entrambi i target]

Tabella 5. Tasso di rilevamento e limite di rilevamento per SARS-CoV-2 su NeuMoDx 96 Molecular System: Flusso di lavoro diretto

Limite di rilevamento di SARS-CoV-2: N96, Flusso di lavoro diretto								
Livello target	Risultati validi	Gene Nsp2 Positive (Positivo)		Tasso di rilevamento gene Nsp2	Gene N Positive (Positivo)		Tasso di rilevamento gene N	Tasso amplificato di entrambi i target
		n	Ct medio		n	Ct medio		
400 cp/mL	24	23*	32,4	95,8%	24	31,1	100,0%	95,8%
250 cp/mL	24	24	33,0	100,0%	24	31,7	100,0%	100,0%
150 cp/mL	24	24	33,4	100,0%	24	32,4	100,0%	100,0%
50 cp/mL	24	12	32,6	50,0%	18	32,8	75,0%	41,7%**
Negative (Negativo)	22	0		0%	0		0%	0%

LoD N96: 150 cp/mL [il livello target più basso che dimostra un tasso di rilevamento >95% di entrambi i target]

*Questo campione ha anche mostrato una debole amplificazione SPC2 e si è ritenuto che la mancanza di amplificazione fosse un artefatto dell'elaborazione del sistema. Ciò è supportato da un tasso di rilevamento del 100% alla stessa concentrazione target in RPT-8505B (Valutazione clinica). Inoltre, per questo studio è stato ottenuto un tasso di rilevamento del 100% alle concentrazioni inferiori di 250 cp/mL e 150 cp/mL.

**In dieci campioni su 24 sono stati rilevati entrambi i target a 50 cp/mL, per un tasso di positività complessiva del 41,7%.

Tabella 6. Tasso di rilevamento e limite di rilevamento per SARS-CoV-2 su NeuMoDx 288 Molecular System: Flusso di lavoro diretto

Limite di rilevamento di SARS-CoV-2: N288, Flusso di lavoro diretto								
Livello target	Risultati validi	Gene Nsp2 Positive (Positivo)		Tasso di rilevamento gene Nsp2	Gene N Positive (Positivo)		Tasso di rilevamento gene N	Tasso amplificato di entrambi i target
		n	Ct medio		n	Ct medio		
400 cp/mL	24	24	32,8	100,0%	24	31,7	100,0%	100,0%
250 cp/mL	24	24	33,0	100,0%	24	32,0	100,0%	100,0%
150 cp/mL	22	21	33,5	95,5%	22	32,4	100,0%	95,5%
50 cp/mL	24	20	34,3	83,3%	24	33,4	100,0%	83,3%
Negative (Negativo)	24	0		0,0%	0		0,0%	0,0%

LoD N288: 150 cp/mL [il livello target più basso che dimostra un tasso di rilevamento >95% di entrambi i target]

Sensibilità analitica: campioni di saliva

Il limite di rilevamento (LoD) del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay che utilizza campioni di saliva è stato determinato testando una serie di diluizioni di campioni di saliva negativi raccolti in gruppo (miscelati con NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer in un rapporto tra saliva e tampone di 1:1,67), arricchiti con virus SARS-CoV-2 γ -irradiato (BEI Resources NR-52287) o RNA genomico del SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) ed elaborati utilizzando il flusso di lavoro Diretto. Almeno cinque repliche di ciascuna diluizione sono state valutate intorno al limite di rilevamento previsto, seguite dall'elaborazione di conferma di almeno venti repliche ai livelli più bassi che hanno dato tutte risultati positivi. Il limite di rilevamento per RNA genomico e virus γ -irradiato è stato determinato rispettivamente pari a **50 copie/mL** e **0,0075 TCID50/mL**.

Tabella 7. Tassi di rilevamento e limite di rilevamento preliminare con SARS-CoV-2 γ -irradiato

Limite di rilevamento del SARS-CoV-2; Virus SARS-CoV-2 γ -irradiato								
Livello target	Risultati validi	Gene Nsp2 Positive (Positivo)		Tasso di rilevamento gene Nsp2	Gene N Positive (Positivo)		Tasso di rilevamento gene N	Tasso amplificato di entrambi i target
		N	Ct medio		n	Ct medio		
0,01 TCID50/mL	5	5	32,8	100%	5	32,6	100%	100%
0,005 TCID50/mL	5	5	34,0	100%	5	33,1	100%	100%
0,0025 TCID50/mL	10	4	33,5	40%	5	32,7	50%	30%*

Limite di rilevamento preliminare: virus γ -irradiato: 0,005 TCID50/mL [il livello target più basso che dimostra un tasso di rilevamento >95% di entrambi i target]

*In tre campioni su 10 sono stati rilevati entrambi i target a 0,0025 TCID50/mL, per un tasso di positività complessiva del 30%.

Tabella 8. Tassi di rilevamento e limite di rilevamento preliminare con gRNA del SARS-CoV-2

Limite di rilevamento del SARS-CoV-2; RNA genomico del SARS-CoV-2								
Livello target	Risultati validi	Gene Nsp2 Positive (Positivo)		Tasso di rilevamento gene Nsp2	Gene N Positive (Positivo)		Tasso di rilevamento gene N	Tasso amplificato di entrambi i target
		N	Ct medio		n	Ct medio		
100 cp/mL	5	5	32,7	100%	5	31,8	100%	100%
50 cp/mL	5	5	33,3	100%	5	32,5	100%	100%
40 cp/mL	10	6	34,4	60%	9	33,1	90%	60%*
25 cp/mL	10	4	34,1	40%	9	33,0	90%	40%**

Limite di rilevamento preliminare: gRNA: 50 cp/mL [il livello target più basso che dimostra un tasso di rilevamento >95% di entrambi i target]

*In sei campioni su 10 sono stati rilevati entrambi i target a 40 cp/mL, per un tasso di positività complessiva del 60%.

**In quattro campioni su 10 sono stati rilevati entrambi i target a 25 cp/mL, per un tasso di positività complessiva del 40%.

Tabella 9. Tassi di rilevamento e conferma del limite di rilevamento con SARS-CoV-2 γ -irradiato

Limite di rilevamento del SARS-CoV-2; Virus SARS-CoV-2 γ -irradiato									
Sistema	Livello target	Risultati validi	Gene Nsp2 Positive (Positivo)		Tasso di rilevamento gene Nsp2	Gene N Positive (Positivo)		Tasso di rilevamento gene N	Tasso amplificato di entrambi i target
			N	Ct medio		n	Ct medio		
N288	0,0075 TCID50/mL	20	20	33,7	100%	20	33,0	100%	100%
N96	0,0075 TCID50/mL	20	20	34,2	100%	20	33,8	100%	100%
N288	0,005 TCID50/mL	20	18	33,4	90%	18	33,3	90%	85%*
N96	0,005 TCID50/mL	20	15	33,4	80%	16	33,3	80%	65%**
LoD N288: 0,0075 TCID50/mL [il livello target più basso che dimostra un tasso di rilevamento >95% di entrambi i target] LoD N96: 0,0075 TCID50/mL [il livello target più basso che dimostra un tasso di rilevamento >95% di entrambi i target]									
*In diciassette (17) campioni su venti (20) sono stati rilevati entrambi i target su N288, per un tasso di positività complessiva dell'85%. **In tredici (13) campioni su venti (20) sono stati rilevati entrambi i target su N96, per un tasso di positività complessiva del 65%.									

Tabella 10. Tassi di rilevamento e conferma del limite di rilevamento con gRNA del SARS-CoV-2

Limite di rilevamento del SARS-CoV-2; RNA genomico del SARS-CoV-2									
Sistema	Livello target	Risultati validi	Gene Nsp2 Positive (Positivo)		Tasso di rilevamento gene Nsp2	Gene N Positive (Positivo)		Tasso di rilevamento gene N	Tasso amplificato di entrambi i target
			N	Ct medio		n	Ct medio		
N288	50 cp/mL	20	20	34,4	100%	20	33,9	100%	100%
N96	50 cp/mL	20	19	33,9	95%	19	33,8	95%	95%*
LoD N288: 50 cp/mL [il livello target più basso che dimostra un tasso di rilevamento >95% di entrambi i target] LoD N96: 50 cp/mL [il livello target più basso che dimostra un tasso di rilevamento >95% di entrambi i target]									
*In diciannove (19) campioni su venti (20) sono stati rilevati entrambi i target su N96, per un tasso di positività complessiva del 95%.									

Inclusività

L'inclusività del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay è stata valutata mediante analisi *in silico* mappando i primer dell'esame e le sonde a tutte le sequenze di SARS-CoV-2 disponibili (n = 96) nel database NCBI al 14 marzo 2020. Sono state confrontate le regioni dei primer e delle sonde del test tramite esame *in silico* per verificare l'omologia delle sequenze con ceppi di SARS-CoV-2 in circolazione. Il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay aveva un'omologia del 100% con tutte le sequenze del gene Nsp2 (Target 1) tranne 1. In quest'unica sequenza è stata rilevata la mancata corrispondenza di un solo nucleotide nel primer forward senza impatto previsto sulle prestazioni dell'esame. È stata riscontrata un'omologia del 100% fra i primer e la sonda del gene N (Target 2) per tutte le sequenze disponibili.

Reattività crociata/Interferenza microbica

Il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay è stato valutato *in silico* per possibili reattività crociate con i microorganismi indicati nella *Tabella 11* mappando singolarmente i primer e le sonde del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay rispetto a sequenze presenti nel database NCBI. Nessuna delle sequenze analizzate ha mostrato l'omologia per i primer o la sonda del gene Nsp2 (Target 1). L'*Haemophilus influenzae* (CP000672.1) ha mostrato l'omologia per il primer forward del gene N (Target 2) ma nessuna omologia significativa con il primer reverse e la sonda. Allo stesso modo, il coronavirus SARS (AY345986.1) ha mostrato un'omologia per il primer forward e la sonda del gene N ma nessuna omologia significativa per il primer reverse. La *Pseudomonas aeruginosa* (CP000438.1) ha mostrato omologia del primer forward SPC2 ma non di nessun altro dei target di SARS-CoV-2. Pertanto, l'analisi *in silico* non ha mostrato alcuna reattività crociata probabile con nessuna delle sequenze valutate. È stato eseguito un ulteriore test umido per confermare che *H. influenzae* e *P. aeruginosa* non comportassero rischi di reattività crociata o interferenza microbica; i risultati sono presentati nelle *Table 12 e 13*.

Tabella 11. Analisi *in silico* per gli organismi a reattività crociata

Organismo	Numeri di accesso GenBank NCBI	Organismo	Numeri di accesso GenBank NCBI
Coronavirus umano 229E	KF514433.1	Influenza B	MK969560.1
	KF514432.1	Enterovirus	JF896312.1
Coronavirus umano OC43	KX344031.1	Virus respiratorio sinciziale	JN032120.1
	KF530099.1	Rinovirus	NC_001490.1
Coronavirus umano HKU1	KF430201.1	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	NZ_LN847241.1
	MH940245.1	<i>Haemophilus influenzae</i>	CP000672.1
Coronavirus umano NL63	KF530114.1	<i>Legionella pneumophila</i>	CP015928.1
	KF530113.1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	AP018036.1
Coronavirus della SARS	AY686863.1	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	CP027540.1
		<i>Streptococcus pyogenes</i>	AE009949.1
Coronavirus della MERS	MH013216.1	<i>Bordetella pertussis</i>	CP011448.1
Adenovirus	AC_000017.1	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	CP039772.1
Metapneumovirus umano (hMPV)	KJ627437.1	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	MH010446.1
Virus della parainfluenza 1	KX639498.1	<i>Candida albicans</i>	NC_018046.1
Virus della parainfluenza 2	KM190939.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CP000438.1
Virus della parainfluenza 3	KF530243.1	<i>Staphylococcus epidermis</i>	KY750253.1
Virus della parainfluenza 4	KF483663.1	<i>Streptococcus salivarius</i>	CP020451.2
Influenza A	MH798556.1		

Tabella 12. Test di reattività crociata e interferenza per *H. Influenzae*

CAMPIONE		Risultati validi	N. positivo Gene N	% di positivi al gene N (giallo)	Ct medio gene N	N. di positivi al gene NspP2	% di positivi al gene Nsp2 (verde)	Ct medio gene Nsp2	SPC2 Ct medio
Reattività crociata	UVT non diluito (Controllo negativo)	3	0	0%	N/A	0	0%	N/A	27,7
	UVT+ <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 CFU/mL)	3	0	0%	N/A	0	0%	N/A	28,3
Interferenza	UVT non diluito + SARS-CoV-2 RNA (750 copie/mL) (Controllo positivo)	3	3	100%	32,03	3	100%	34,05	27,8
	UVT+ <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 CFU/mL) + SARS-CoV-2 RNA (750 copie/mL)	3	3	100%	32,45	3	100%	33,98	27,7

Tabella 13. Test di reattività crociata e interferenza di *P. aeruginosa*

CAMPIONE		Risultati validi	Gene N (HEX)			Gene Nsp2 (FAM)			SPC2 (Rosso intenso)
			Pos	% Pos	Ct medio	Pos	% Pos	Ct medio	Ct medio
Reattività crociata	UVT+ <i>P. aeruginosa</i> (1 ^{E6} CFU/mL)	3	0	0%	N/A	0	0%	N/A	27,5
Interferenza	Controllo UVT non diluito	3	3	100%	30,3	3	100%	32,0	26,9
	Positive (Positivo)								
	UVT + <i>P. aeruginosa</i> (1 ^{E6} CFU/mL) + RNA di SARS-CoV-2 (450 copie/mL)	3	3	100%	30,4	3	100%	32,0	27,0

Sostanze interferenti – campioni di tampone nasofaringeo

Il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay è stato valutato per verificare la suscettibilità all'interferenza causata dalle sostanze potenzialmente associate al prelievo di tamponi nasofaringei. I campioni clinici residui dei tamponi nasofaringei negativi sono stati arricchiti con RNA genomico di SARS-CoV-2 (Risorse BEI NR-52285) a 5 volte il LoD ed elaborati in presenza e in assenza degli agenti indicati sotto nella *Tabella 14*. Nessuna sostanza inclusa nell'esame ha avuto effetto negativo sulle prestazioni dell'esame.

Tabella 14. Sostanze testate per l'interferenza

		Sostanza	Concentrazione*
Endogena		Mucina	0,5% (m/v)
		Sangue	2% (v/v)
Esogena		Afrin® Originale (ossimetazolina)	15% (v/v)
		Zicam® Cold Remedy Nasal Spray	5% (v/v)
		Flonase® Allergy Relief (fluticasone)	5% (v/v)
		Beclometasone	10 mg/mL
		Mupirocina	11,4 mg/mL
		Relenza® (zanamivir)	5,25 mg/mL
		Tamiflu® (oseltamivir)	7,5 mg/mL
	Tobramicina	1,8 mg/mL	

*Nota: le concentrazioni mostrate sono quelle utilizzate per saturare i tamponi prima di dosare i campioni clinici artificiali positivi con la sostanza interferente. Pertanto sono rappresentative del livello nel sito di prelievo del tampone che è possibile tollerare.

Sostanze interferenti – campioni di saliva

Il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay è stato valutato per verificare la suscettibilità all'interferenza causata da sostanze potenzialmente associate alla raccolta di campioni di saliva. La saliva negativa raggruppata è stata arricchita con virus SARS-CoV-2 γ -irradiato (BEI Resources NR-52287) a 10X LoD, preparata con il NeuMoDx Saliva Collection Kit, ed elaborata in presenza e in assenza degli agenti indicati di seguito in *Tabella 15*. Nessuna sostanza inclusa nell'esame ha prodotto un effetto avverso sulle prestazioni del test alle concentrazioni date.

Tabella 15. Sostanze testate per valutare l'interferenza – campioni di saliva

	Sostanza	Concentrazione
Endogena	Sangue intero	1% (v/v)
	Altoids™ (caramelle alla menta)	2% (m/v)
Esogena	Aspirin™	1% (m/v)
	Collutorio antisettico LISTERINE® Ultra-clean	1% (v/v)
	Caramelle contro la tosse Halls™ (Mentho-Lyptus)	1% (m/v)
	Crest Pro-Health Advanced Gum Protection	0,001% (m/v)*
	Sciroppo per la tosse Wal-Tussin® DM Max	1% (v/v)

*La concentrazione di questa sostanza è stata riportata come risultato di uno studio dose-risposta dallo 0,1%, dove si è dimostrata inibitoria.

Riproducibilità

La riproducibilità all'interno del laboratorio del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay è stata verificata mediante l'analisi retrospettiva delle prestazioni utilizzando campioni di tampone nasofaringeo clinici artificiali negativi e positivi. I dati riepilogati nelle *Tabelle 16a-c* rappresentano i test eseguiti da vari operatori attraverso due strumenti in un arco di tempo di tre giorni. Sono rappresentati i risultati dei campioni preparati sia con il flusso di lavoro DIRETTO che con il flusso di lavoro PRETRATTATO.

Tabella 16a. Riproducibilità e precisione complessive del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Livello SARS-CoV-2 (cp/mL)	N	Target N			Target Nsp2			SPC2		
		% positivo	Ct medio	Ct %CV	% positivo	Ct medio	Ct %CV	% positivo	Ct medio	Ct %CV
2000	16	100%	29,3	2,1%	100%	30,7	2,4%	100%	27,1	2,1%
1000	14	100%	29,9	2,1%	100%	31,2	2,6%	100%	27,1	2,3%
500	28	100%	30,9	2,2%	100%	32,0	2,8%	100%	27,3	1,6%
400	77	100%	31,2	2,1%	99%	32,4	2,2%	100%	27,2	1,7%
250	91	100%	31,5	2,1%	100%	32,4	2,6%	100%	27,4	1,6%
150	46	100%	31,1	1,8%	100%	31,6	1,7%	100%	27,1	2,0%
0	178	0%	N/A	N/A	0%	N/A	N/A	100%	27,5	2,6%

Tabella 16b. Riproducibilità e precisione del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Target	Livello (cp/mL)	NeuMoDx 288 Molecular System				NeuMoDx 96 Molecular System			
		N	% positivo	Ct medio	Ct %CV	N	% positivo	Ct medio	Ct %CV
Target N	2000	12	100%	29,3	2,3%	4	100%	29,3	1,4%
	1000	11	100%	30,0	2,0%	3	100%	29,5	1,6%
	500	21	100%	30,8	2,2%	7	100%	31,1	1,7%
	400	46	100%	31,2	2,3%	31	100%	31,1	1,9%
	250	45	100%	31,7	2,0%	46	100%	31,3	2,0%
	150	26	100%	31,2	1,6%	20	100%	31,0	1,9%
Target Nsp2	2000	12	100%	30,7	2,3%	4	100%	30,8	2,6%
	1000	11	100%	31,3	2,5%	3	100%	26,8	0,4%
	500	21	100%	31,9	2,9%	7	100%	32,1	2,0%
	400	46	100%	32,4	2,4%	31	97%	32,3	2,0%
	250	45	100%	32,6	2,3%	46	100%	32,3	2,8%
	150	26	100%	31,7	1,8%	20	100%	31,5	1,6%

Tabella 16c. Riproducibilità e precisione complessive del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Target	Livello (cp/mL)	Flusso di lavoro DIRETTO				Flusso di lavoro PRETRATTATO			
		N	% positivo	Ct medio	Ct %CV	N	% positivo	Ct medio	Ct %CV
Target N	2000	8	100%	29,7	0,8%	8	100%	28,8	1,9%
	1000	7	100%	30,5	0,7%	7	100%	29,4	1,2%
	500	15	100%	31,3	1,3%	13	100%	30,3	1,4%
	400	63	100%	31,4	1,8%	14	100%	30,3	1,0%
	250	48	100%	31,9	1,5%	43	100%	31,1	2,0%
Target Nsp2	2000	8	100%	31,2	1,3%	8	100%	30,1	1,9%
	1000	7	100%	31,9	0,6%	7	100%	30,4	1,5%
	500	15	100%	32,6	1,6%	13	100%	31,3	2,2%
	400	63	98%	32,6	1,6%	14	100%	31,4	2,0%
	250	48	100%	33,0	1,8%	43	100%	31,9	2,2%

Prestazioni cliniche

a. Test su campioni artificiali – campioni di tampone nasofaringeo

Le prestazioni del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay con residui di campioni clinici di tamponi nasofaringei (tampone floccato in nylon raccolto in UTM [Copan Diagnostic Inc, CA] o UVT [BD, NJ]) sono state valutate utilizzando un pannello di 82 campioni clinici negativi e 87 campioni clinici positivi artificiali precedentemente sottoposti al test del virus dell'influenza e/o del virus respiratorio sinciziale da pazienti con segni e sintomi di infezione delle vie respiratorie superiori. I campioni artificiali positivi sono stati preparati arricchendo l'RNA genomico SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) nei campioni clinici negativi. Di 87 campioni artificiali positivi, 57 erano a concentrazioni 1-2X LoD e 30 a concentrazioni 4-8X LoD. L'elaborazione dei campioni è stata eseguita utilizzando entrambi i flussi di lavoro DIRETTO e PRETRATTATO in entrambi i NeuMoDx System.

Tutti i campioni positivi sono risultati positivi e tutti i campioni negativi sono risultati negativi, come indicato nelle *Table 17–20*.

Tabella 17. Campioni di tamponi pretrattati solo su NeuMoDx 288 Molecular System

Flusso di lavoro pretrattato: NeuMoDx 288 Molecular System					
Concentrazione campioni	n	Target 1 (gene Nsp2)		Target 2 (gene N)	
		% positivo (IC 95% bilaterale)	Ct medio	% positivo (IC 95% bilaterale)	Ct medio
225 cp/mL Circa 1,5 volte il LoD	12	100 (75,6 – 99,9)	32,5	100 (75,6 – 99,9)	32,2
400 cp/mL Circa 2,7 volte il LoD	11	100 (74,0–99,9)	31,4	100 (74,0–99,9)	30,2
500 cp/mL Circa 3,3 volte il LoD	10	100 (72,1–99,9)	31,2	100 (72,1–99,9)	30,2
1000 cp/mL	5	100 (56,4–99,9)	30,5	100 (56,4–99,9)	29,4
2000 cp/mL	6	100 (60,8–99,9)	30,2	100 (60,8–99,9)	28,8
Negative (Negativo)	29	0 (n/a)	n/a	0 (n/a)	n/a
Le prestazioni rispetto ai risultati attesi sono le seguenti: Concordanza percentuale positiva 44/44 = 100% (IC 95%: 91,9% - 100%) Concordanza percentuale negativa 29/29 = 100% (IC 95%: 88,2% - 100%)					

Tabella 18. Campioni di tamponi pretrattati solo su NeuMoDx 96 Molecular System

Flusso di lavoro pretrattato: NeuMoDx 96 Molecular System					
Concentrazione campioni	n	Target 1 (gene Nsp2)		Target 2 (gene N)	
		% positivo (IC 95% bilaterale)	Ct medio	% positivo (IC 95% bilaterale)	Ct medio
225 cp/mL Circa 1,5 volte il LoD	12	100 (75,6–99,9)	32,0	100 (75,6–99,9)	31,5
400 cp/mL Circa 2,7 volte il LoD	3	100 (43,7–99,8)	31,2	100 (43,7–99,8)	30,4
500 cp/mL Circa 3,3 volte il LoD	3	100 (43,7–99,8)	31,5	100 (43,7–99,8)	30,6
1000 cp/mL	2	100 (34,2–99,8)	30,2	100 (34,2–99,8)	29,2
2000 cp/mL	2	100 (34,2–99,8)	30,1	100 (34,2–99,8)	28,9
Negative (Negativo)	20	0 (n/a)	n/a	0 (n/a)	n/a
Le prestazioni rispetto ai risultati attesi sono le seguenti: Concordanza percentuale positiva 22/22 = 100% (IC 95%: 85,0% - 100%) Concordanza percentuale negativa 20/20 = 100% (IC 95%: 83,8% - 100%)					

Tabella 19. Campioni di flusso di lavoro tamponi diretto solo su NeuMoDx 288 Molecular System

Flusso di lavoro diretto: NeuMoDx 288 Molecular System					
Concentrazione campioni	n	Target 1 (gene Nsp2)		Target 2 (gene N)	
		% positivo (IC 95% bilaterale)	Ct medio	% positivo (IC 95% bilaterale)	Ct medio
225 cp/mL Circa 1,5 volte il LoD	12	100 (75,6 – 99,9)	33,8	100 (75,6 – 99,9)	32,7
400 cp/mL Circa 2,7 volte il LoD	11	100 (74,0–99,9)	32,4	100 (74,0–99,9)	31,1
500 cp/mL Circa 3,3 volte il LoD	11	100 (74,0–99,9)	32,5	100 (72,1–99,9)	31,3
1000 cp/mL	6	100 (60,8–99,9)	31,9	100 (56,4–99,9)	30,5
2000 cp/mL	6	100 (60,8–99,9)	31,1	100 (60,8–99,9)	29,7
Negative (Negativo)	33	0 (n/a)	n/a	0 (n/a)	n/a
Le prestazioni rispetto ai risultati attesi sono le seguenti: Concordanza percentuale positiva 46/46 = 100% (IC 95%: 92,2% - 100%) Concordanza percentuale negativa 33/33 = 100% (IC 95%: 89,5% - 100%)					

Tabella 20. Campioni di flusso di lavoro tamponi diretto solo su NeuMoDx 96 Molecular System

Flusso di lavoro diretto: NeuMoDx 96 Molecular System					
Concentrazione campioni	n	Target 1 (gene Nsp2)		Target 2 (gene N)	
		% positivo (IC 95% bilaterale)	Ct medio	% positivo (IC 95% bilaterale)	Ct medio
225 cp/mL Circa 1,5 volte il LoD	12	100 (75,6 – 99,9)	33,4	100 (75,6 – 99,9)	32,3
400 cp/mL Circa 2,7 volte il LoD	4	100 (50,9–99,9)	32,7	100 (50,9–99,9)	31,7
500 cp/mL Circa 3,3 volte il LoD	4	100 (50,9–99,9)	32,6	100 (50,9–99,9)	31,5
1000 cp/mL	1	100 (20,7–99,8)	31,9	100 (20,7–99,8)	30,2
2000 cp/mL	2	100 (34,2–99,8)	31,5	100 (34,2–99,8)	29,7
Negative (Negativo)	0	0 (n/a)	N/A	0 (n/a)	N/A
Le prestazioni rispetto ai risultati attesi sono le seguenti: Concordanza percentuale positiva 23/23 = 100% (IC 95%: 85,6% - 100%) Concordanza percentuale negativa N/A					

b. Test di campioni artificiali – campioni di saliva

Le prestazioni del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay con campioni di saliva (preparati utilizzando il NeuMoDx Saliva Collection Kit) sono state valutate utilizzando un pannello di 36 campioni di donatori negativi. Ogni campione di donatore sano è stato utilizzato per preparare un campione negativo e un campione positivo artificiale mediante arricchimento del virus del SARS-CoV-2 γ -irradiato (BEI Resources NR-52287), per un totale di 72 campioni per il test. Dei 36 campioni positivi artificiali, 28 erano a concentrazioni 1,5-2X LoD, 4 erano a 10X LoD, mentre 4 erano a 20X. L'elaborazione dei campioni è stata eseguita utilizzando il flusso di lavoro definito dall'UserSpecified2 (Specificato da utente 2). Tutti i campioni positivi sono risultati positivi e tutti i campioni negativi sono risultati negativi, come indicato nella *Tabella 21*.

Tabella 21. Campioni di saliva su NeuMoDx 288 Molecular System

Concentrazione campioni	n	Target 1 (gene Nsp2)		Target 2 (gene N)	
		% positivo (IC 95% bilaterale)	Ct medio	% positivo (IC 95% bilaterale)	Ct medio
0,01125-0,015 TCID50/mL (1,5-2X LoD)	27	96 (81,7-99,3)	33,2	100 (87,6-100)	33,1
0,075 TCID50/mL (10X LoD)	4	100 (51,0-100)	32,7	100 (51,0-100)	32,3
0,15 TCID50/mL (20X LoD)	4	100 (51,0-100)	31,0	100 51,0-100	30,9
Negative (Negativo)	35	0 (n/a)	n/a	0 (n/a)	n/a
Le prestazioni rispetto ai risultati attesi sono le seguenti: Concordanza percentuale positiva gene Nsp2 34/35 = 97,1% (IC 95%: 85,5% - 99,5%) Concordanza percentuale negativa gene Nsp2 35/35 = 100% (IC 95%: 90,1% - 100%) Concordanza percentuale positiva gene N 35/35 = 100% (IC 95%: 90,1% - 100%) Concordanza percentuale negativa gene N 35/35 = 100% (IC 95%: 90,1% - 100%) Concordanza percentuale positiva complessiva 35/35 = 100% (IC 95%: 90,1% - 100%) Concordanza percentuale negativa complessiva 35/35 = 100% (IC 95%: 90,1% - 100%)					

c. Test di campioni clinici – campioni di tamponi nasofaringei

Anche le prestazioni del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay sono state valutate utilizzando campioni clinici. I campioni residui di tampone nasofaringeo clinico (NP) deidentificati da pazienti sintomatici sono stati raccolti con tamponi minitip floccati in 3 mL di terreno di trasporto virale universale BD (BD UVT). I campioni sono stati sottoposti per il test del SARS-CoV-2 a due centri di analisi esterni, che hanno eseguito il test di confronto di questi campioni con test precedentemente autorizzati dalla FDA degli Stati Uniti per uso di emergenza. Il test con il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay è stato eseguito presso un centro di analisi interno e uno esterno. È stato elaborato un totale di 40 campioni utilizzando il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. Alcuni campioni sono stati testati in entrambi, i NeuMoDx System N288 e N96, e impiegando i flussi di lavoro PRETRATTATO e DIRECT (DIRETTO). I risultati del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay hanno concordato pienamente con i risultati dell'esame di confronto di tutti i campioni clinici testati in questo studio di confronto di metodi (Tabelle 22 e 23).

Tabella 22. Risultati del confronto con il metodo qualitativo per il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay su NeuMoDx Molecular System rispetto ai test di riferimento – Flusso di lavoro PRETRATTATO

N96 e N288 Pretrattato		Esame(i) di confronto		
		Pos	Neg	Totale
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Pos	25	0	25
	Neg	0	15	15
	Totale	25	15	40
100% Sensibilità clinica (IC 95% 86,6-100%)				
100% Specificità clinica (IC 95% 79,5-99,9%)				

Tabella 23. Risultati del confronto con il metodo qualitativo per il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay rispetto ai test di riferimento – Flusso di lavoro DIRETTO

(a) sul NeuMoDx 288 Molecular System (N288) e (b) sul NeuMoDx 96 Molecular System (N96)

(a)

(b)

N288 Diretto		Esame(i) di confronto		
		Pos	Neg	Totale
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Pos	10	0	10
	Neg	0	9	9
	Totale	10	9	19
100% Sensibilità clinica (IC 95% 72,1-99,9%)				
100% Specificità clinica (IC 95% 69,9-99,9%)				

N96 Diretto		Esame(i) di confronto		
		Pos	Neg	Totale
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Pos	5	0	5
	Neg	0	6	6
	Totale	5	6	11
100% Sensibilità clinica (IC 95% 56,4-99,9%)				
100% Specificità clinica (IC 95% 60,8-99,9%)				

d. Test di campioni clinici – campioni di saliva

Le prestazioni del NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay con campioni di saliva (preparati utilizzando il NeuMoDx Saliva Collection Kit) sono state valutate utilizzando 112 campioni accoppiati di saliva e tampone nasofaringeo (NP) deidentificati, raccolti consecutivamente in modo prospettico o residui (anch'essi raccolti consecutivamente) dallo stesso soggetto. I NeuMoDx Saliva Collection Kit sono stati utilizzati per la raccolta prospettica dei campioni di saliva, mentre i campioni di saliva residui sono stati raccolti in una fiala senza conservanti e conservati congelati a -80°C fino al test con NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer. I campioni di tampone nasofaringeo (NP) sono stati raccolti con tamponi minitip floccati in 3 mL di terreno di trasporto virale universale BD (BD UVT). Tutti i campioni di saliva e la maggior parte dei campioni di tampone nasofaringeo (NP) sono stati analizzati utilizzando il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay e una combinazione di NeuMoDx System N288 e N96. I rimanenti campioni nasofaringei sono stati elaborati utilizzando altri test di confronto approvati EUA. Il test è stato eseguito presso un centro di analisi interno e due centri esterni. Nel complesso, per i campioni di tampone nasofaringeo è stata dimostrata una concordanza positiva e negativa >95% rispetto ai risultati del test di riferimento per il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay che utilizza campioni di saliva, come indicato in *Tabella 24*.

Tabella 24. Risultati del confronto con il metodo qualitativo per il NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay con campioni di saliva rispetto ai campioni di tamponi nasofaringei

Concordanza qualitativa		Campioni di tamponi nasofaringei		
		Pos	Neg	Totale
Campioni di saliva	Pos	41	2	43
	Neg	2	67	69
	Totale	43	69	112
Sensibilità clinica 95,4% (84,5%-98,7%)				
Specificità clinica 97,1% (90,0%-99,2%)				

BIBLIOGRAFIA

- 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.

MARCHI COMMERCIALI

NeuMoDx™ e NeuDry™ sono marchi commerciali di NeuMoDx Molecular, Inc.
 Afrin® è un marchio commerciale registrato Bayer AG
 Altoids™ è un marchio commerciale di Callard and Bowser Limited
 Aspirin™ è un marchio commerciale registrato di Bayer AG
 BD™ è un marchio commerciale di Becton, Dickinson and Company
 Crest® Pro-Health è un marchio commerciale registrato di Procter and Gamble Company
 Flonase® è un marchio commerciale registrato di GlaxoSmithKline plc
 Halls™ è un marchio commerciale di Mondelēz International Group
 Hamilton® è un marchio commerciale registrato di Hamilton Company
 Listerine® è un marchio commerciale registrato di Johnson & Johnson
 Relenza® è un marchio commerciale registrato di GlaxoSmithKline plc
 Tamiflu® è un marchio commerciale registrato di Genentech USA, Inc.
 TaqMan® è un marchio commerciale registrato di Roche Molecular Systems, Inc.
 UTM-RT® è un marchio commerciale registrato di Copan Diagnostics, Inc.
 Wal-Tussin® è un marchio registrato di Walgreens Company
 Zicam® è un marchio commerciale registrato di Matrixx Initiatives, Inc.

Tutti gli altri nomi di prodotto, i marchi commerciali e i marchi commerciali registrati che possono apparire in questo documento sono di proprietà dei rispettivi proprietari.

LEGENDA DEI SIMBOLI

R only	Solo su prescrizione medica		Limite di temperatura
	Produttore		Non riutilizzare
IVD	Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>		Contenuto sufficiente per <n> test
	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea		Consultare le istruzioni per l'uso
REF	Numero di catalogo		Attenzione
LOT	Codice lotto		Rischio biologico
	Data di scadenza	CE	Marchio CE



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

Sponsor (AUS):
QIAGEN Pty Ltd
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148
Australia



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands



Assistenza tecnica/Rapporti di vigilanza: support@qiagen.com

Brevetto: www.neumodx.com/patents