

Vantage Test Strip

INSTRUCCIONES DE USO

REF 300900 NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip

R only

PRECAUCIÓN: Para exportaciones de EE. UU. exclusivamente

IVD Para uso diagnóstico *in vitro* con el NeuMoDx™ 288 y el NeuMoDx™ 96 Molecular SystemPara ver actualizaciones en los folletos, vaya a: www.qiagen.com/neumodx-ifu

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

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

USO PREVISTO

El NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay implementado en el NeuMoDx™ 288 Molecular System y en el NeuMoDx™ 96 Molecular System (NeuMoDx Molecular System[s]) es una prueba diagnóstica múltiple, rápida, automatizada y cualitativa *in vitro* de reacción en real-time RT-PCR para la detección directa y simultánea, y la diferenciación del virus de la gripe A, el virus de la gripe B y el virus respiratorio sincicial (VRS) y el ARN del SARS-CoV-2 en muestras de hisopo nasofaríngeo en un medio de transporte obtenidas de pacientes con signos y síntomas de una infección de las vías respiratorias y con factores de riesgo clínicos y epidemiológicos.

Los resultados de esta prueba no deben utilizarse como única base para el diagnóstico, la terapia u otras decisiones relacionadas con el tratamiento del paciente. Los resultados positivos indican una infección activa. Los resultados negativos no excluyen el virus de la gripe, infección por VRS o SARS-CoV-2 y no deben utilizarse como única base para la terapia u otras decisiones relacionadas con el tratamiento del paciente.

Las características del rendimiento de la detección del virus de la gripe A y B se establecieron con muestras clínicas recogidas durante la temporada de gripe 2019/2020. Cuando empiezan a aparecer otros virus de la gripe A y B, las características del rendimiento pueden variar.

El NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay está diseñado para que lo utilice personal de laboratorio clínico, instruido y formado específicamente en las técnicas de real-time PCR y en los procedimientos de diagnóstico *in vitro* y/o en los NeuMoDx Molecular Systems.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El material de muestra nasofaríngea obtenida con hisopo se recoge mediante Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) System, BD™ Universal Viral Transport System (UVT) o Biologos Bio-VTM™ Viral Transport Media (VTM). El ensayo NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay permite dos flujos de trabajo para el procesamiento de muestras según las necesidades de los laboratorios. Para preparar la prueba con el flujo de trabajo directo, se asigna un código de barras al tubo de recogida primario (con el exudado y el tapón quitados) o a una alícuota del medio de muestra en un tubo de muestras secundario y se cargan en el NeuMoDx System utilizando un soporte designado de tubos de muestras. Para el flujo de trabajo pretratado, la muestra en el medio de transporte puede tratarse primero con el mismo volumen de NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) antes de cargarse en el sistema. Para el flujo de trabajo directo, se aspira una alícuota de la muestra de 400 µl por medio del NeuMoDx System y se mezcla con el mismo volumen de NeuMoDx Lysis Buffer 3, mientras que para el flujo de trabajo pretratado, se combinan 550 µl de la muestra pretratada con un volumen igual de Lysis Buffer 2 (tampón de lisis 2). El NeuMoDx Molecular System realiza automáticamente todos los pasos necesarios para extraer el ácido nucleico del analito, preparar el ARN aislado para la real-time RT-PCR y, si corresponde, amplificar y detectar los productos de la amplificación. El ensayo NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay se dirige a la región conservada del gen Nsp2 del SARS-CoV-2 y las regiones de los genes M de la gripe A y la gripe B, así como a los genomas A o B del virus respiratorio sincicial. El NeuMoDx Flu A-B/RSV Vantage Assay incluye un control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC2) completo de ARN interno para ayudar a supervisar la presencia de posibles sustancias inhibitoras y de fallos de los reactivos o del NeuMoDx System que pueden encontrarse durante el proceso de extracción y amplificación.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay combina la extracción automatizada de ARN y la amplificación y detección mediante real-time RT-PCR. Las muestras nasofaríngeas obtenidas con hisopo se recogen en el Copan UTM-RT® System, BD™ UVT System o Biologos Bio-VTM™ Viral Transport Media (VTM). El flujo de trabajo directo permite que se asigne un código de barras al tubo de recogida primario de exudado o a una alícuota del medio de transporte que se encuentra en un tubo secundario y se cargue en el NeuMoDx System para su procesamiento. De forma alternativa, una muestra de hisopo nasofaríngeo en el medio de transporte puede tratarse primero con el mismo volumen de NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) antes de cargarse en el sistema sin ninguna otra intervención del usuario. El NeuMoDx System aspira automáticamente una alícuota de las muestras para mezclarla con el NeuMoDx Lysis Buffer 3 para el flujo de trabajo directo o una alícuota de muestra pretratada para mezclarla con el Lysis Buffer 2 (tampón de lisis 2) y los reactivos contenidos en la NeuMoDx™ Extraction Plate para iniciar el procesamiento. El NeuMoDx System automatiza e integra la extracción y la concentración de ARN, la preparación de los reactivos y la amplificación y detección del ácido nucleico de las secuencias diana mediante real-time RT-PCR. El control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC2) incluido ayuda a supervisar la presencia de posibles sustancias inhibitoras, así como los fallos de los reactivos, del proceso o del sistema. No es necesaria la intervención del operador una vez cargada la muestra en el NeuMoDx System.

El NeuMoDx System utiliza una combinación de calor, enzimas líticas y reactivos de extracción para realizar automáticamente la lisis, la extracción del ARN y la eliminación de inhibidores. Las partículas paramagnéticas capturan los ácidos nucleicos liberados. Las partículas, con ácido nucleico unido, se cargan en el NeuMoDx™ Cartridge donde los elementos no unidos se eliminan con el NeuMoDx™ Wash Reagent. A continuación, el ARN unido se eluye utilizando el NeuMoDx™ Release Reagent. El NeuMoDx System utiliza el ARN eluido para rehidratar los reactivos de amplificación NeuDry™ patentados que contienen todos los elementos necesarios para la amplificación de los analitos de la gripe A, la gripe B, VRS, SARS-CoV-2 y SPC2. Esto permite la amplificación y la detección simultáneas de todos los analitos y las secuencias de ARN de control del proceso de la muestra. Tras la reconstitución de los reactivos secos de la RCP con retrotranscriptasa, el NeuMoDx System dispensa la mezcla preparada para la RT-RCP en una cámara de RCP (por muestra) del NeuMoDx Cartridge.

Vantage Test Strip

INSTRUCCIONES DE USO

La transcripción inversa, la amplificación y la detección de las secuencias del analito y de control (si están presentes) tienen lugar en la cámara de RCP. El NeuMoDx Cartridge está diseñado para contener el amplicón generado tras la RT-RCP, lo que elimina prácticamente el riesgo de contaminación después de la amplificación.

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

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

Las sondas TaqMan® se etiquetan con fluoróforos en el extremo 5' y con un supresor de la señal oscuro en el extremo 3' y se utilizan para detectar los analitos víricos. El canal de detección fluorescente para cada analito del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay puede verse en la *Tabla 1*. El software del NeuMoDx System supervisa la señal fluorescente que emiten las sondas TaqMan al final de cada ciclo de amplificación. Una vez finalizado el termociclado, el software del NeuMoDx System analiza los datos y genera un informe del resultado (POSITIVE [Positivo], NEGATIVE [Negativo], INDETERMINATE [Indeterminado], NO RESULT [Sin resultado] o UNRESOLVED [No resuelto]).

Tabla 1. Canal de detección

Microrganismo	Región diana	Fluorocromo de sonda	Excitación/emisión	Canal de detección
Gripe A	Gen M	HEX	530/555 nm	Amarillo
Gripe B	Gen M	FAM	470/510 nm	Verde
SARS-CoV-2	Gen Nsp2	Rojo Texas	585/610 nm	Naranja
Virus sincicial respiratorio	Gen M	Q705	680/715 nm	Rojo lejano
SPC2	Proteína de ensamblaje (MS2)	Q670	625/660 nm	Rojo

REACTIVOS/CONSUMIBLES

Materiales suministrados

REF	Contenido	Unidades por paquete	Pruebas por unidad	Pruebas por paquete
300900	NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip <i>Reactivos secos de la RT-PCR que contienen cebadores y sondas TaqMan® específicos de gripe A-B/RSV/SARS-CoV-2, así como cebadores y sondas TaqMan® específicos de SPC2. Contiene un 21,1 % de Tris-HCl, 8,4 % de dNTP y otros ingredientes inactivos</i>	6	16	96

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

REF	Contenido
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate Partículas paramagnéticas, enzima lítica y controles de proceso de muestras secas
400500**	NeuMoDx™ Lysis Buffer 2
400600*	NeuMoDx™ Lysis Buffer 3
401500**	NeuMoDx™ Vantage Viral Lysis Buffer
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Puntas Hamilton® CO-RE (300 µl) con filtros
235905	Puntas Hamilton® CO-RE (1000 µl) con filtros

* Se requiere solo para el procesamiento directo de muestras, sin un paso de pretratamiento. Consulte la sección "Instrucciones de uso" que se indica a continuación.

** Se requiere solo si se desea llevar a cabo un paso de pretratamiento antes de proceder a la carga de las muestras. Consulte la sección "Instrucciones de uso" que se indica a continuación.

Hisopos y medios de transporte (no suministrados)

Tipo de muestra	Dispositivo de recogida recomendado	Exudado recomendado
Hisopo nasofaríngeo	3 ml Universal Transport Medium (Copan UTM-RT®, Copan, CA, USA)	Flexible Minitip Nylon® Flocked Swab (Copan, CA, USA) Flexible Minitip Flocked Swab (BD, NJ, USA)
	3 ml Universal Viral Transport System (BD™ UVT, BD, NJ, USA)	
	3 ml Bio-VTM™ Viral Transport Medium (Bio-VTM™, Biologos LLC, IL, USA)	

Instrumentos necesarios

NeuMoDx™ 288 Molecular System [REF 500100] o NeuMoDx™ 96 Molecular System [REF 500200]



PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

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



ALMACENAMIENTO, MANIPULACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS PRODUCTOS

- Las NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Tests Strips permanecen estables en el embalaje primario hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta externa del producto cuando se almacenan a una temperatura de entre 4 °C y 28 °C.
- No utilice consumibles ni reactivos que estén caducados.
- No utilice productos para pruebas si el embalaje primario o secundario no está visualmente intacto.
- No vuelva a cargar ningún producto para pruebas que se haya cargado previamente en otro NeuMoDx System.
- Una vez cargada, la NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip puede permanecer en el NeuMoDx System durante 7 días. La vida útil restante de las tiras reactivas cargadas la controla el software, que informa al usuario en tiempo real. La retirada de una tira reactiva que se ha utilizado más tiempo del permitido la solicitará el sistema.

Vantage Test Strip
INSTRUCCIONES DE USO**RECOGIDA, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS**

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

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

INSTRUCCIONES DE USO

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

Flujo de trabajo 1: **DIRECTO**: la muestra de exudado en el medio de transporte se carga directamente en el NeuMoDx System en un tubo de recogida primario o en tubos de muestras secundarios

-o-

Flujo de trabajo 2: **PRETRATADO**: la muestra de exudado en el medio de transporte se pretrata con el tampón NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer antes de cargarla en el NeuMoDx System en el tubo de recogida primario o en tubos de muestras secundarios

Preparación de la prueba: flujo de trabajo DIRECTO para muestras de exudado directo

1. Aplique la etiqueta de código de barras de muestra a un tubo de muestras compatible con el NeuMoDx System, tal como se describe en el paso 4 a continuación.
2. Si realiza el análisis de la muestra en el tubo de recogida primario, coloque el tubo con código de barras en un soporte de tubos de muestras y asegúrese de que se quiten el tapón y el exudado antes de cargarlo en el NeuMoDx System.
3. De manera alternativa, se puede transferir una alícuota del medio de transporte a un tubo secundario con código de barras y colocarla en un soporte de tubos de muestras. Si utiliza un tubo secundario, transfiera una alícuota del medio de transporte al tubo de muestra con código de barras compatible con el NeuMoDx System según los volúmenes que se definen a continuación:
4. *Para muestras de exudado:*
 - Soporte de tubos de muestras (32 tubos): 11-14 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo $\geq 550 \mu\text{l}$
 - Soporte de tubos de muestras (24 tubos): 14,5-18 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo $\geq 1000 \mu\text{l}$
 - Soporte de tubos de muestras de volumen bajo (32 tubos): tubo de microcentrifugadora de fondo redondo de 1,5 ml; volumen de llenado mínimo $\geq 500 \mu\text{l}$

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

Nota: Mantenga el tampón Vantage Viral Lysis Buffer a temperatura ambiente (de 15 a 30 °C) antes de su uso.

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

1. Pretrate el medio de transporte de la muestra con un volumen de proporción 1:1 del tampón NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. Esto se puede llevar a cabo en el tubo de recogida de exudado primario si se conoce el volumen del medio de transporte. De forma alternativa, el pretratamiento se puede realizar en un tubo secundario mediante la combinación de una alícuota del medio de transporte con un volumen igual del tampón NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. La mezcla resultante debe cumplir los requisitos de volumen mínimo que se especifican a continuación.
2. Mezcle suavemente con la pipeta para asegurar una distribución uniforme del tampón NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer.
3. Si realiza el análisis de la muestra pretratada en el tubo de recogida primario, coloque el tubo con código de barras en un soporte de tubos de muestras y asegúrese de que se quiten el tapón y el exudado antes de cargarlo en el NeuMoDx System.
4. Si utiliza un tubo secundario, transfiera una alícuota de la muestra pretratada al tubo de muestra con código de barras compatible con el NeuMoDx System y colóquelo en el soporte de tubos de muestras según los volúmenes que se definen a continuación:
 - Soporte de tubos de muestras (32 tubos): 11-14 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo $\geq 700 \mu\text{l}$
 - Soporte de tubos de muestras (24 tubos): 14,5-18 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo $\geq 1100 \mu\text{l}$
 - Soporte de tubos de muestras de volumen bajo (32 tubos): tubo de microcentrifugadora de fondo redondo de 1,5 ml; volumen de llenado mínimo $\geq 650 \mu\text{l}$

Vantage Test Strip

INSTRUCCIONES DE USO

Funcionamiento del NeuMoDx System

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

1. Cargue el pedido de prueba en el NeuMoDx System según el flujo de trabajo utilizado para la preparación de las pruebas:
 - Las muestras de exudado sin tratar y puras preparadas utilizando el flujo de trabajo DIRECTO se prueban definiendo la prueba como **"Transport Medium"** (Medio de transporte)
 - Las muestras de exudado pretratadas con el VVLB utilizando el flujo de trabajo PRETRATADO se prueban definiendo la muestra como **"UserSpecified1"** (Especificada por el usuario 1)
2. Rellene uno o más NeuMoDx™ System Test Strip Carrier(s) con las NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strips y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes de tiras reactivas en el NeuMoDx System.
3. Si se lo pide el software del NeuMoDx™ System, añada los consumibles necesarios a los soportes de consumibles del NeuMoDx System y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes en el NeuMoDx System.
4. Si se lo pide el software del NeuMoDx System, sustituya el NeuMoDx Wash Reagent y el NeuMoDx Release Reagent, y vacíe los residuos de cebado, el contenedor para desechos con riesgo biológico (solo el NeuMoDx 288 Molecular System), el recipiente para puntas de desecho (solo el NeuMoDx 96 Molecular System) o el recipiente para desechos con riesgo biológico (solo el NeuMoDx 96 Molecular System), según resulte adecuado.
5. Cargue los tubos de muestras en un soporte de tubos de muestras y asegúrese de que se hayan retirado los tapones y los exudados de todos los tubos.
6. Coloque los soportes de tubos de muestras en el estante del cargador automático y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes en el NeuMoDx System. De ese modo, se iniciará el procesamiento de las muestras cargadas para los análisis identificados, dado que hay un pedido de prueba válido en el sistema.

LIMITACIONES

1. La NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip solo puede utilizarse en los NeuMoDx Systems.
2. El rendimiento de la NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip se ha establecido para muestras de hisopo faríngeo en medio de transporte recogidas por el médico. No se ha evaluado el uso de la NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip con otras fuentes y se desconocen las características del rendimiento para otros tipos de muestras.
3. Dado que la detección de analitos víricos suele depender del número de partículas víricas presentes en la muestra, los resultados fiables dependen de una recogida, una manipulación y un almacenamiento correctos de las muestras.
4. Los resultados erróneos se podrían deber a una recogida, una manipulación o un almacenamiento incorrectos de la muestra, o bien a un error técnico o a una confusión de los tubos de muestras. Además, los resultados falsos negativos se podrían deber a que el número de partículas víricas en la muestra es inferior al límite de detección del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay.
5. El funcionamiento del NeuMoDx System solo puede estar a cargo de personal con formación en el uso del NeuMoDx System.
6. Si no se amplifican ni el analito de la gripe A, la gripe B y el SARS-CoV-2 ni el analito del SPC2, se emitirá una notificación de un resultado no válido (Indeterminate [Indeterminado] o Unresolved [No resuelto]) y deberá repetirse la prueba.
7. Si se produce un error en el sistema antes de procesar la muestra, se notificará "No Result" (Sin resultado) y se tendrá que repetir la prueba.
8. Un resultado positivo no es necesariamente indicativo de la presencia de gripe A, gripe B, SARS-CoV-2 y/o de virus respiratorio sincicial. Sin embargo, un resultado positivo indica una posible presencia de gripe A, gripe B, SARS-CoV-2 y/o del ARN del virus respiratorio sincicial (A o B).
9. La NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV2 Vantage Test Strip puede contener ingredientes inactivos que pueden afectar a la medición.
10. Las eliminaciones o mutaciones en las regiones conservadas diana del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay pueden afectar a la detección y podrían dar lugar a un resultado erróneo.
11. Los resultados del ensayo NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay deben utilizarse como complemento de las observaciones clínicas y otra información que el médico tenga a su disposición.
12. Para evitar la contaminación, se recomienda seguir las prácticas recomendadas de laboratorio, entre las que se incluye cambiar de guantes entre la manipulación de las muestras de pacientes.

RESULTADOS

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

Tabla 2. Interpretación de los resultados del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay

RESULTADO	Gripe A Analito	Gripe B Analito	VRS Analito	Analito SARS-CoV-2	CONTROL DE PROCESO (Sample Process Control 2, SPC2)	Interpretación
POSITIVE (POSITIVO)	Amplified (Amplificado)	N/A	N/A	N/A	N/A	ARN de gripe A detectado
	N/A	Amplified (Amplificado)	N/A	N/A	N/A	ARN de gripe B detectado
	N/A	N/A	Amplified (Amplificado)	N/A	N/A	ARN de VRS detectado
	N/A	N/A	N/A	Amplified (Amplificado)	N/A	ARN de SARS-CoV-2 detectado
NEGATIVE (NEGATIVO)	Not Amplified (No amplificado)	Not Amplified (No amplificado)	Not Amplified (No amplificado)	Not Amplified (No amplificado)	Amplified (Amplificado)	ARN de gripe A, gripe B, VRS y SARS-CoV-2 no detectado
NO RESULT (SIN RESULTADOS)*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (No amplificado, se ha detectado un error del sistema, procesamiento de la muestra anulado)					Todos los resultados del analito fueron no válidos; vuelva a analizar la muestra
IND (INDETERMINADO)*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (No amplificado, se ha detectado un error del sistema, procesamiento de la muestra completado)					El procesamiento de la muestra fue anulado; vuelva a realizar la muestra
UNR (NO RESUELTO)*	Not Amplified, No System Error Detected (No amplificado, No se ha detectado ningún error del sistema)					Todos los resultados del analito fueron no válidos; vuelva a analizar la muestra

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

Resultados no válidos

Si un NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay realizado en el NeuMoDx System no logra generar un resultado válido, se notificará como Indeterminate (Indeterminado), No Result (Sin resultado) o Unresolved (No resuelto) en función del tipo de error que se haya producido y deberá repetirse la prueba para obtener un resultado válido.

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

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

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

Consulte el Manual del operador del NeuMoDx 288 Molecular System (ref. 40600108) o el Manual de uso del operador del NeuMoDx 96 Molecular System (ref. 40600317) para obtener una lista de los códigos de error que se pueden asociar a resultados no válidos.

Vantage Test Strip

INSTRUCCIONES DE USO

Control de calidad

Por lo general, las normativas locales especifican que el laboratorio es el responsable de los procedimientos de control que supervisan la exactitud y precisión del proceso analítico completo, y debe establecer el número, tipo y frecuencia de los materiales de control de las pruebas.

NeuMoDx Molecular, Inc. no proporcionará los materiales de control. El laboratorio debe elegir y validar los controles adecuados. Tenga en cuenta que los controles deben cumplir las mismas especificaciones de volumen mínimo que las muestras clínicas especificadas anteriormente en función de las dimensiones del soporte de tubos de muestras. Se recomiendan los siguientes materiales como material de control:

- Control positivo (1 ml por control):
 - 5 µl de RSV Rapid Control Pack (ZeptoMetrix, n.º de cat. KZMC034)
 - 5 µl de NATrol Influenza A/B Positive Control (ZeptoMetrix, n.º de cat. MDZ046)
 - El virus del SARS-CoV-2 termoinactivado (ATCC, VR-1986HK) a una concentración final de 1000 cop/ml
 - BD™ Universal Viral Transport Medium (UVT) o equivalente a un volumen final de 1 ml
- Control negativo: medio de transporte universal BD™ Universal Viral Transport Medium (UVT, BD, NJ) o equivalente

Cuando procese controles definidos por el usuario, coloque los controles etiquetados en un soporte de tubos de muestras y utilice la pantalla táctil para cargar el soporte en el NeuMoDx System desde el estante del cargador automático. Una vez definidos (consulte el Manual del operador del NeuMoDx 288 Molecular System [ref. 40600108] o el Manual de usuario del operador del NeuMoDx 96 Molecular System [ref. 40600317]), el NeuMoDx System reconocerá los códigos de barras asociados y comenzará a procesarlos de forma automática como controles.

Se recomienda que los usuarios procesen un conjunto de controles positivos y negativos antes de procesar muestras de pacientes, una vez cada 24 horas durante el funcionamiento del sistema.

Controles (internos) de proceso de muestras

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

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

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay en los NeuMoDx Molecular Systems se caracterizó en dos partes. En primer lugar, se prepararon diluciones sucesivas utilizando cepas modelo de cada analito en el UVT con el flujo de trabajo pretratado y, a continuación, se procesaron con el NeuMoDx System para determinar el valor preliminar del límite de detección (LoD). En la segunda parte del análisis, este valor de LoD preliminar se confirmó con un estudio de tasa de aciertos en el NeuMoDx 288 Molecular System y en el NeuMoDx 96 Molecular System para ambos flujos de trabajo. El LoD preliminar se aceptaba si el análisis de la tasa de aciertos lograba un 95 % de índice positivo para ambos flujos de trabajo en ambos sistemas. Las tasas de detección para el LoD preliminar están representadas en la *Tabla 3*, la *Tabla 4* detalla la confirmación de la tasa de aciertos para el N288 System y la *Tabla 5* desglosa la confirmación de la tasa de aciertos para el N96 System.

Tabla 3. Tasas de detección positivas para la determinación del LoD preliminar del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay

Analito/cepa	Nivel	Unidad	N.º de resultados válidos	N.º de positivos	% detección
Gripe A, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	TCID ₅₀ /ml	10	10	100 %
	0,25		10	9	90,0 %
Gripe A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5		10	10	100 %
	0,25		10	8	80,0 %
Gripe B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,25		10	10	100 %
	0,05		10	10	100 %
	0,01		8	8	100 %
Gripe B, Florida/78/2015 (Yamagata)	0,25		10	10	100 %
	0,1		10	9	90,0 %
VRS A2	0,5		9	9	100 %
	0,25		9	8	88,9 %
VRS B (WV/14617/85)	0,25		10	10	100 %
	0,05		9	9	100 %
	300		10	10	100 %
SARS-CoV-2, aislado, Estados Unidos-WA1/2020	200	10	10	100 %	
	150	10	10	100 %	
	100	10	7	70,0 %	

Vantage Test Strip

INSTRUCCIONES DE USO

Tabla 4. Tasas de detección positivas para la confirmación del índice de aciertos de LoD para el NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay – N288, (a) flujo de trabajo pretratado; (b) flujo de trabajo directo

(a) Flujo de trabajo pretratado

Analito/cepa	Nivel	N.º de resultados válidos	N.º de positivos	% detección
Gripe A, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
Gripe A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5 TCID ₅₀ /ml	23	23	100 %
Gripe B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
Gripe B, Florida/78/2015 (Yamagata)	0,25 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
VRS A2	0,5 TCID ₅₀ /ml	21	20	95,2 %
VRS B (WV/14617/85)	0,25 TCID ₅₀ /ml	22	22	100 %
SARS-CoV-2, aislado, Estados Unidos-WA1/2020	150 copias/ml	23	23	100 %
SARS-CoV-2, aislado, Italia-INMI1	150 copias/ml	23	23	100 %

(b) Flujo de trabajo directo

Analito/cepa	Nivel	N.º de resultados válidos	N.º de positivos	% detección
Gripe A, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
Gripe A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
Gripe B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01 TCID ₅₀ /ml	24	23	95,8 %
Gripe B, Florida/78/2015 (Yamagata)	0,25 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
VRS A2	1 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
VRS B (WV/14617/85)	0,05 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
SARS-CoV-2, aislado, Estados Unidos-WA1/2020	250 copias/ml	23	22	95,7 %
SARS-CoV-2, aislado, Italia-INMI1	250 copias/ml	23	23	100 %

Tabla 5. Tasas de detección positivas para la confirmación del índice de aciertos de LoD para el NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay – N96, (a) flujo de trabajo pretratado; (b) flujo de trabajo directo

(a) Flujo de trabajo pretratado

Analito/cepa	Nivel	N.º de resultados válidos	N.º de positivos	% detección
Gripe A, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /ml	24	23	95,8 %
Gripe A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5 TCID ₅₀ /ml	22	21	95,5 %
Gripe B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01 TCID ₅₀ /ml	24	23	95,8 %
Gripe B, Florida/78/2015 (Yamagata)	0,25 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
VRS A2	0,5 TCID ₅₀ /ml	22	22	100 %
VRS B (WV/14617/85)	0,25 TCID ₅₀ /ml	23	23	100 %
SARS-CoV-2, aislado, Estados Unidos-WA1/2020	150 copias/ml	23	22	95,7 %
SARS-CoV-2, aislado, Italia-INMI1	150 copias/ml	22	21	95,5 %

(b) Flujo de trabajo directo

Analito/cepa	Nivel	N.º de resultados válidos	N.º DE POS	% detección
Gripe A, Singapur/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /ml	24	23	95,8 %
Gripe A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5 TCID ₅₀ /ml	23	23	100 %
Gripe B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01 TCID ₅₀ /ml	24	24	100 %
Gripe B, Florida/78/2015 (Yamagata)	0,25 TCID ₅₀ /ml	24	23	95,8 %
VRS A2	1 TCID ₅₀ /ml	22	22	100 %
VRS B (WV/14617/85)	0,05 TCID ₅₀ /ml	23	23	100 %
SARS-CoV-2, aislado, Estados Unidos-WA1/2020	250 copias/ml	23	22	95,7 %
SARS-CoV-2, aislado, Italia-INMI1	250 copias/ml	23	22	95,7 %

Los niveles aceptados como valores del LoD para el NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay en los NeuMoDx Systems se resumen en la *Tabla 6*. Se afirma que el límite de detección del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay es: 0,5 TCID₅₀/ml para la gripe A; 0,25 TCID₅₀/ml para la gripe B; 1,0 TCID₅₀/ml para el VRS A y 0,05 TCID₅₀/ml para el VRS B, y 250 copias/ml para SARS-CoV-2.

Tabla 6. Resumen del estudio del límite de detección

Analito	Cepa	Límite de detección		
		Flujo de trabajo pretratado	Flujo de trabajo directo	Unidad
Influenza A (Gripe A) – H3N2	Singapur/INIFMIH-16-0019/2016	0,5	0,5	TCID ₅₀ /ml
Influenza A (Gripe A) – H1N1	Michigan/272/2017 pdm09	0,5	0,5	
Influenza B (Gripe B) – cepa Victoria	Colorado/6/2017	0,01	0,01	
Influenza B (Gripe B) – cepa Yamagata	Florida/78/2015	0,25	0,25	
VRS A	A2	0,25	1	
VRS B	(WV/14617/85)	0,05	0,05	
SARS-CoV-2	Aislado, Estados Unidos-WA1/2020	150	250	copias/ml

Interferencias competitivas en la detección de SARS-CoV-2

La sensibilidad analítica del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay se evaluó en el contexto de una doble infección elaborada de SARS-CoV-2 con los otros tres analitos: gripe A, gripe B o VRS. Este escenario se evaluó con muestras preparadas mediante la dilución de SARS-CoV-2 terminoinactivado con una matriz de exudados negativos cribados previamente a razón de 1 vez LoD en presencia de analitos de gripe A, gripe B o VRS en concentraciones $\geq 3 \text{ Log}_{10} \text{TCID}_{50}/\text{ml}$ de sus niveles de LoD respectivos. La tasa de detección de SARS-CoV-2 en el nivel de LoD no resultó afectada a causa de la presencia de alta concentración vírica de gripe A, gripe B, VRS A o VRS B, *Tabla 7*.

Tabla 7. Resumen del estudio de interferencias competitivas

Muestra	n	SARS-CoV-2			Gripe A, Gripe B, VRS A o VRS B		
		% de positivos	Valor medio de Ct	SD	% de positivos	Valor medio de Ct	SD
SARS-CoV-2/Gripe A	24	96 %	33,53	0,42	100 %	25,22	0,53
SARS-CoV-2/Gripe B	24	96 %	34,01	0,72	100 %	24,43	0,46
SARS-CoV-2/VRS A	24	100 %	33,76	0,44	100 %	19,47	0,69
SARS-CoV-2/VRS B	24	100 %	33,84	0,43	100 %	20,55	0,62

Reactividad e inclusión analíticas

La reactividad del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay se evaluó frente a múltiples cepas/aislados de gripe A, gripe B, virus respiratorios sinciales y SARS-CoV-2. Las cepas y los aislados víricos se analizaron en un mínimo de 20 duplicados. Se analizó un total de 24 cepas de gripe A, 6 cepas de gripe B, 3 aislados de VRS A, 2 aislados de VRS B y 4 aislados de SARS-CoV-2, *Tabla 8*.

Vantage Test Strip

INSTRUCCIONES DE USO

Tabla 8. Cepas de gripe A, gripe B, VRS A, VRS B y SARS-CoV-2 analizadas

Analito	Cepa	Concentración	% de pos	
Gripe A	H1N1	Brisbane/02/2018	1 TCID ₅₀ /ml	95,5 %
		California/07/2009	1 TCID ₅₀ /ml	100 %
		California/07/2009 NYMC X-179A (H1N1)pdm09	18 TCID ₅₀ /ml	95,5 %
		Louisiana/08/2013 pdm 09, AVR Reference Strain, M2: S31N, NA: H275Y	8 TCID ₅₀ /ml	100 %
		Nueva York/18/2009 (H1N1)pdm09	6 TCID ₅₀ /ml	100 %
		Guangdong-Moanan/SWL 1536/2019	1 TCID ₅₀ /ml	100 %
	H2N2	A2/Japón/305/57	32,6 pg/ml	100 %
		Corea/426/68 (HA, NA) x A/PR/8/34	6,25 pg/ml	100 %
	H3N2	Hong Kong/4801/2014	0,5 TCID ₅₀ /ml	100 %
		Hong Kong/2671/2019	0,5 TCID ₅₀ /ml	100 %
		Suiza/9715293/2013	0,5 TCID ₅₀ /ml	100 %
		Kansas/14/2017 (H3N2)	8 TCID ₅₀ /ml	100 %
		Texas/50/2012 (H3N2)	4 TCID ₅₀ /ml	100 %
	Wisconsin/15/2009 (H3N2)	0,5 TCID ₅₀ /ml	95,5 %	
	H5N1-H5N3	pollo/Vietnam/NCVD-016/2008(H5N1)-PR8-IDCDC-RG12	1:50.000*	100 %
		Egipto/N03072/2010(H5N1)-PR8-IDCDC-RG29	1;100.000*	100 %
		Hubei/1/2010(H5N1)-PR8-IDCDC-RG30	1:10 000*	100 %
		Pato/Pensilvania/10218/84 (H5N2)	2,55 pg/ml	100 %
		faisán/Nueva Jersey/1355/1998(H5N2)-PR8-IBCDC-4	1:50.000*	100 %
	Pato/Singapur/645/97 (H5N3) V-331-0E5-271	24,8 pg/ml	100 %	
H7N2, H7N7, H7N9	A/pavo/Virginia/4529/2002 (H7N2) x PR8-IBCDC-5	1:100.000*	95,5 %	
	A/ánade azulón/Países bajos/12/2000(H7N7)/PR8-IBCDC-1, ARN genómico	1:100.000*	100 %	
	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	1:100.000*	100 %	
H10N7	A/Pollo/Alemania/N/49 (H10N7)	68 pg/ml	100 %	
Gripe B	Victoria	Brisbane/60/2008	1 TCID ₅₀ /ml	100 %
	Victoria	Malasia/2506/2004	3 TCID ₅₀ /ml	100 %
	Yamagata	Phuket/3703/2013	0,5 TCID ₅₀ /ml	95,2 %
	N/A	Virginia/ATCC5/2012	0,02 pfu/ml	100 %
	Victoria	Washington/02/2019	5 TCID ₅₀ /ml	100,0 %
	Yamagata	Wisconsin/1/2010	0,05 CEID ₅₀ /ml	95,5 %
VRS	VRS A	A (larga)	2 pfu/ml	95,5 %
		A2001/3-12	8 TCID ₅₀ /ml	95,5 %
		A2001/2-20	8 TCID ₅₀ /ml	100 %
	VRS B	B, 9320	0,1 pfu/ml	100 %
		B1	4 TCID ₅₀ /ml	100 %
SARS-CoV-2	Estados Unidos-IL1/2020	250 cop/ml	95,5 %	
	Estados Unidos-AZ1/2020	250 cop/ml	100 %	
	Estados Unidos-CA3/2020	250 cop/ml	100 %	
	Hong Kong/VM20001061/2020	250 cop/ml	100 %	

Se demostró la reactividad del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay en la detección de distintos aislados clínicos de SARS-CoV-2 mediante un análisis informático con los cebadores y las sondas del ensayo frente a todas las secuencias disponibles en el GenBank (con fecha del 12 de agosto de 2020) utilizando la herramienta web básica de búsqueda de alineación local (Basic Local Alignment Search Tool, BLAST) del NCBI. Los resultados muestran que los cebadores y la sonda para SARS-CoV-2 tienen una homología de 100 % con más de 98 % de las secuencias. En general, los cebadores y la sonda tienen >95 % de homología con todas las secuencias analizadas.

Reproducibilidad entre lotes

Se comprobó la reproducibilidad entre lotes para el NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay con un análisis retrospectivo de los datos generados a partir de las pruebas de cualificación realizadas por tres operadores en tres NeuMoDx Systems en tres días no consecutivos para tres lotes de tiras de la NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test fabricadas de acuerdo con las prácticas recomendadas de fabricación. El medio Universal Viral Transport (UVT) se mezcló con 2,0 TCID₅₀/ml de una cepa representativa de gripe A y gripe B, y se mezcló el ARN genómico del VRS, además del SARS-CoV-2, en 500 copias/ml. La desviación estándar de los valores de Ct dentro de cada lote y entre los tres lotes de las tiras de prueba del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay fue ≤1,1 con coeficientes de variación (CV) ≤3,5 % para todos los analitos que demostraron una reproducibilidad excelente, *Tabla 9*.

Tabla 9. Reproducibilidad de tres lotes de las NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strips

N.º de lote	Gripe A 2,0 TCID ₅₀ /ml			Gripe B 2,0 TCID ₅₀ /ml			SARS-CoV-2 (500 copias/ml)			VRS 2,0 TCID ₅₀ /ml			Control de proceso de muestras 2 (SPC2)		
	C _t promedio	SD de C _t	% de CV	C _t promedio	SD de C _t	% de CV	C _t promedio	SD de C _t	% de CV	C _t promedio	SD de C _t	% de CV	C _t promedio	SD de C _t	% de CV
10499X	32,74	0,56	1,7 %	32,46	1,10	3,4 %	32,35	1,02	3,2 %	30,95	0,92	3,0 %	26,21	0,43	1,6 %
10508X	31,73	0,57	1,8 %	32,11	0,56	1,8 %	32,70	0,48	1,5 %	31,02	0,37	1,2 %	25,88	0,73	2,8 %
10519X	32,61	0,41	1,3 %	32,38	0,27	0,8 %	32,71	0,73	2,2 %	31,03	0,23	0,7 %	26,27	0,29	1,1 %
En los tres lotes	32,35	0,69	2,1 %	32,31	0,74	2,3 %	32,59	0,78	2,4 %	31,00	0,58	1,9 %	26,12	0,54	2,1 %

Rendimiento clínico

Las características del rendimiento clínico del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay se determinaron mediante un estudio de comparación de métodos retrospectivo interno con muestras de hisopo nasofaríngeo residual obtenidas de dos laboratorios clínicos geográficamente diversos.

Se anonimizaron las muestras de exudado nasofaríngeas de pacientes sintomáticos y se les proporcionó un único número de identificación según el laboratorio clínico, lo cual permitió establecer una lista confidencial que asocia el identificador del paciente con las muestras anonimizadas analizadas con fines de investigación. De las 215 muestras nasofaríngeas individuales analizadas con los flujos de trabajo directo y pretratado (un total de 439 resultados válidos generados), 30 muestras se identificaron como gripe A positiva, 30 se identificaron como gripe B positiva, 30 se identificaron como VRS A/B (indiscriminada) positivo y 30 muestras se identificaron como SARS-CoV-2 positivo por parte de los laboratorios clínicos. Adicionalmente, se identificaron 50 muestras individuales como negativas para analitos de gripe A, gripe B y VRS y se identificaron otras 50 muestras individuales como SARS-CoV-2 negativo por parte de los laboratorios clínicos. Se denegó al operador el estado de la prueba de estas muestras para implementar un “estudio enmascarado simple”. Se analizó cada muestra para cada analito en cada flujo de trabajo utilizado para el análisis de muestras. Para realizar el análisis de comparación de métodos, se usaron los resultados notificados de los dispositivos moleculares específicos legalmente comercializados y aprobados por la FDA y la CE utilizados por parte de los laboratorios para tratamientos habituales.

Los resultados del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay proporcionaron una sensibilidad y una especificidad clínicas del 100 % para ambos flujos de trabajo para el analito de la gripe A (*Tabla 10A*). Los resultados para el analito de la gripe B proporcionaron una sensibilidad y una especificidad clínicas del 96,7 % y 98 %, respectivamente, en ambos flujos de trabajo (*Tabla 10B*). Los resultados para el analito de VRS (indiscriminado) arrojó una sensibilidad clínica del 100 % para ambos flujos de trabajo, mientras que la especificidad clínica se determinó en el 98 % para el flujo de trabajo directo y en el 100 % para el flujo de trabajo pretratado (*Tabla 10C*). Los resultados para el analito del SARS-CoV-2 proporcionaron una sensibilidad clínica del 100 % y una especificidad clínica del 98 % en ambos flujos de trabajo (*Tabla 10D*). Los límites inferior y superior de los intervalos de confianza del 95 % se muestran a continuación en las *Tablas 10A, 10B, 10C y 10D*, y se calcularon mediante el procedimiento de Wilson con corrección de continuidad.

Tabla 10A. Resumen del rendimiento clínico – NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip: Detección de la gripe A

(a) Flujo de trabajo directo y (b) flujo de trabajo pretratado

(a) Flujo de trabajo directo

Gripe A		Resultado de la prueba de referencia aprobado por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	29	0	29
	NEG	0	50	50
	Total	29	50	79
Sensibilidad clínica (gripe A) = 100 % (85,4 %-100 %)				
Especificidad clínica (gripe A) = 100 % (91,1 %-100 %)				

Vantage Test Strip

INSTRUCCIONES DE USO

(b) Flujo de trabajo pretratado

Gripe A		Resultado de la prueba de referencia aprobado por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	0	30
	NEG	0	50	50
	Total	30	50	80
Sensibilidad clínica (gripe A) = 100 % (85,9 %-100 %)				
Especificidad clínica (gripe A) = 100 % (91,1 %-100 %)				

Tabla 10B. Resumen del rendimiento clínico – NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip: Detección de la **gripe B**

(a) Flujo de trabajo directo y (b) flujo de trabajo pretratado

(a) Flujo de trabajo directo

Gripe B		Resultado de la prueba de referencia aprobado por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	29	1	30
	NEG	1	49	50
	Total	30	50	80
Sensibilidad clínica (gripe B) = 96,7 % (80,9 %-99,8 %)				
Especificidad clínica (gripe B) = 98,0 % (88,0 %-99,9 %)				

(b) Flujo de trabajo pretratado

Gripe B		Resultado de la prueba de referencia aprobado por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	29	1	30
	NEG	1	49	50
	Total	30	50	80
Sensibilidad clínica (gripe B) = 96,7 % (80,9 %-99,8 %)				
Especificidad clínica (gripe B) = 98,0 % (88,0 %-99,9 %)				

Tabla 10C. Resumen del rendimiento clínico – NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip: Detección del **VRS A/B** mediante (a) flujo de trabajo directo y (b) flujo de trabajo pretratado

(a) Flujo de trabajo directo

VSR A/B		Resultado de la prueba de referencia aprobado por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	1	31
	NEG	0	49	49
	Total	30	50	80
Sensibilidad clínica (VRS A/B) = 100 % (85,9 %-100 %)				
Especificidad clínica (VRS A/B) = 98,0 % (87,9 %-99,9 %)				

(b) Flujo de trabajo pretratado

VSR A/B		Resultado de la prueba de referencia aprobado por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	0	30
	NEG	0	50	50
	Total	30	50	80
Sensibilidad clínica (VRS A/B) = 100 % (85,9 %-100 %)				
Especificidad clínica (VRS A/B) = 100 % (91,1 %-100 %)				

Tabla 10D. Resumen del rendimiento clínico – NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip: Detección del **SARS-CoV-2** mediante (a) flujo de trabajo directo y (b) flujo de trabajo pretratado

(a) Flujo de trabajo directo

SARS-CoV-2		Resultado de la prueba de referencia aprobado por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	1	31
	NEG	0	49	49
	Total	30	50	80
Sensibilidad clínica (SARS-CoV-2) = 100 % (85,9 %-100 %)				
Especificidad clínica (SARS-CoV-2) = 98,0 % (87,9 %-99,9 %)				

(b) Flujo de trabajo pretratado

SARS-CoV-2		Resultado de la prueba de referencia aprobado por la FDA/CE		
		POS	NEG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	1	31
	NEG	0	49	49
	Total	30	50	80
Sensibilidad clínica (SARS-CoV-2) = 100 % (85,9 %-100 %)				
Especificidad clínica (SARS-CoV-2) = 98,0 % (87,9 %-99,9 %)				

Vantage Test Strip

INSTRUCCIONES DE USO

Especificidad analítica y reactividad cruzada

La especificidad analítica del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay se evaluó analizando un panel de 47 microorganismos, compuestos por 22 cepas víricas, 24 cepas bacterianas y 1 cepa de levaduras que representan los patógenos respiratorios comunes o la flora presente de forma habitual en las vías respiratorias. Las bacterias y levaduras se analizaron en concentraciones de aproximadamente 6E6 UFC/ml o IFU/ml, excepto cuando se indicó lo contrario. Los virus se analizaron en concentraciones de 1E5-1E6 TCID₅₀/ml o copia/ml, excepto cuando se indicó lo contrario. La especificidad analítica del NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay fue del 100 % para gripe A, gripe B, VRS A, VRS B y SARS-CoV-2.

Tabla 11. Resultados de la especificidad analítica

Microorganismo	Concentración	Gripe A	Gripe B	VRS A	VRS B	SARS-CoV-2
Adenovirus, tipo 1	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Adenovirus, tipo 7	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Bordetella pertussis I176	10 ng/ml	-	-	-	-	-
Candida albicans	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Chlamydia pneumoniae	6E6 IFU/ml	-	-	-	-	-
Corynebacterium xerosis	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
EBV	1E6 cop/ml	-	-	-	-	-
Escherichia coli	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Hemophilus influenzae	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
HHV 6A	1E6 cop/ml	-	-	-	-	-
HHV 7	1E6 cop/ml	-	-	-	-	-
HHV8	1E6 cop/ml	-	-	-	-	-
VHS1	1E6 cop/ml	-	-	-	-	-
VHS2	1E6 cop/ml	-	-	-	-	-
Coronavirus humano 229E	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Coronavirus humano HKU1	1E6 cop/ml	-	-	-	-	-
Coronavirus humano NL63	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Coronavirus humano OC43	5E3 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Enterovirus humano 68	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Metaneumovirus humano	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Virus paragripal, tipo 1	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Virus paragripal, tipo 2	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Virus paragripal, tipo 3	1E6 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Rinovirus humano, tipo 1A	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Lactobacillus acidophilus	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Lactobacillus brevis	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Lactobacillus jensoni	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Lactobacillus lactis	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Legionella pneumophila	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Sarampión	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Coronavirus-MERS EMC/2012	0,5 ng/ml	-	-	-	-	-
Moraxella catarrhalis	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Virus de la parotiditis	1E5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Mycobacterium tuberculosis	10 ng/ml	-	-	-	-	-
Mycoplasma pneumoniae	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Neisseria gonorrhoeae	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Neisseria meningitidis, serogrupo A	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Neisseria meningitidis serogrupo B	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Neisseria meningitidis serogrupo C	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Neisseria meningitidis serogrupo D	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
SARS-coronavirus	1E6 pfu/ml	-	-	-	-	-
Staphylococcus aureus	1E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Staphylococcus epidermidis	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Streptococcus pneumonia	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Streptococcus pyogenes	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Streptococcus salivarius	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Gripe A, (Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1))	3 veces el LoD	+	-	-	-	-
Gripe B, Florida/78/2015 (Yamagata)	3 veces el LoD	-	+	-	-	-
VRS A, A2	3 veces el LoD	-	-	+	-	-
VRS B (WV/14617/85)	3 veces el LoD	-	-	-	+	-
SARS-CoV-2, Estados Unidos-WA1/2020	3 veces el LoD	-	-	-	-	+
Control negativo (sin patógenos)	N/A	-	-	-	-	-

Vantage Test Strip

INSTRUCCIONES DE USO

Sustancias interferentes: microorganismos comensales

El NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay se analizó para ver la interferencia en presencia de microorganismos no analitos (posiblemente presentes en el tracto respiratorio superior) evaluando el rendimiento del ensayo a niveles bajos (aproximadamente 3 veces el LoD) de gripe A, gripe B, VRS A, VRS B y SARS-CoV-2 en presencia de concentraciones altas de los microorganismos que se muestran en la *Tabla 11*, arriba. No se observaron interferencias en la detección de ningún analito con ninguno de los microorganismos comensales.

Sustancias interferentes: endógenas/exógenas

El NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay se evaluó en busca de susceptibilidad a la interferencia causada por sustancias posiblemente asociadas a la recogida de muestras de hisopo nasofaríngeo. Se mezclaron individualmente muestras clínicas residuales de hisopos nasofaríngeos negativas con la gripe A, gripe B, VRS A, VRS B o SARS-CoV-2 a razón de 3 veces el LoD y se procesaron en presencia y ausencia de los agentes que se muestran en la *Tabla 12*. Ninguna de las sustancias incluidas en el análisis tuvo ningún efecto adverso en el rendimiento del ensayo para ninguno de los analitos.

Tabla 12. Sustancias analizadas en busca de interferencia

	Sustancia	Descripción/ingrediente activo	Concentración*
Exógena	Neo-Synephrine	Fenilefrina	15 % (volumen/volumen)
	Aerosol nasal Afrin	Oximetazolina	15 % masa/volumen
	Aerosol nasal salino	Cloruro sódico con conservantes	15 % volumen/volumen
	Aerosol nasal Zicam	Luffa operculata, Galphimia glauca, hidrocloreuro de histamina y azufre	15 % volumen/volumen
	Corticosteroide nasal: Flonase	Fluticasona	5 % volumen/volumen
	Corticosteroide nasal: Rhinocort	Budesónida	5 % volumen/volumen
	Corticosteroide nasal: Nasacort	Triamcinolona	5 % volumen/volumen
	Corticosteroide nasal: Dexamethasone	Dexametasona	10 mg/ml
	Corticosteroide nasal: Mometasone	Mometasona	10 mg/ml
	Corticosteroide nasal: Beclometasona	Beclometasona	10 mg/ml
	Pastillas para el dolor de garganta Chloraseptic	Benzocaína, mentol	2 mg/ml
	Antibiótico, pomada nasal	Mupirocina	10 mg/ml
	Fármaco antiviral Relenza	Zanamivir	7,5 mg/ml
	Fármaco antiviral TamiFlu	Oseltamivir	25 mg/ml
Antibiótico sistémico	Tobramicina	1,5 mg/ml	
Endógena	Mucina	Proteína mucina purificada	2,5 % masa/volumen
	Sangre humana	Sangre	2 % volumen/volumen

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

REFERENCIAS

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

Vantage Test Strip

INSTRUCCIONES DE USO

MARCAS COMERCIALES

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

Bio VTM™ es una marca comercial de Biologos LLC.

Hamilton® es una marca comercial registrada de Hamilton Company

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


NeuMoDx™ y NeuDry™ son marcas comerciales de NeuMoDx Molecular, Inc. TaqMan® es una marca comercial registrada de Roche Molecular Systems, Inc.


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


El resto de los nombres de productos, marcas comerciales y marcas comerciales registradas que pueden aparecer en este documento son propiedad de sus respectivos dueños.


LEYENDA DE SÍMBOLOS


R only Solo para uso prescriptivo


 Fabricante


 Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*


 Representante autorizado en la Comunidad Europea


 Número de catálogo


 Código de lote


 Fecha de caducidad


 Límite de temperatura

 No reutilizar

 Contenido suficiente para <n> pruebas

 Consultar las instrucciones de uso

 Precaución

 Riesgos biológicos

 Marca CE



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

+1 888 301 NMDX (6639)
support@qiagen.com

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



Informes de vigilancia: support@qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents