

VIASURE

Real Time PCR Detection Kit



***SARS-CoV-2 Variant II
(P681R+L452R) Real Time PCR
Detection Kit for BD MAX™ System***

CE IVD



These instructions for use apply to the following reference / *Bu kullanım talimatları aşağıdaki referans için geerlidir:*

PRODUCT / ÜRÜN	REFERENCE / REFERANS
VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	444218 / VS-VAD124

Table A 1. Reference for product to be used with the BD MAX™ System. / *BD MAX™ System ile kullanılacak ürün için referans.*

Content

1.	Intended use.....	5
2.	Summary and Explanation	5
3.	Principle of the procedure	6
4.	Reagents provided	6
5.	Reagents and equipment to be supplied by the user	7
6.	Transport and storage conditions.....	7
7.	Precautions for users	7
8.	Test procedure	8
8.1.	Sample collection, storage and transport.....	8
8.2.	Sample preparation and RNA extraction.....	9
8.3.	PCR protocol	9
9.	Result interpretation	13
10.	Limitations of the test	15
11.	Quality control	16
12.	Performance characteristics.....	16
12.1.	Clinical sensitivity and specificity	16
12.2.	Analytical sensitivity	18
12.3.	Analytical specificity	18
12.4.	Analytical reactivity	19

İçerik

1.	Kullanım amacı.....	20
2.	Özet ve Açıklama.....	20
3.	Prosedür ilkesi.....	21
4.	Verilen reaktifler	21
5.	Kullanıcı tarafından tedarik edilecek olan reaktifler ve ekipman	22
6.	Taşıma ve depolama koşulları	22
7.	Kullanıcılara uyarılar	22
8.	Test prosedürü.....	23
8.1.	Numunelerin toplanması, saklanması ve taşınması	23
8.2.	Numunelerin hazırlanması ve RNA ekstraksiyonu	24
8.3.	PCR protokolü.....	25

9.	Sonuçların yorumlanması	28
10.	Testin kısıtlamaları	30
11.	Kalite kontrol	31
12.	Performans özellikleri	31
12.1.	Klinik duyarlılık ve özgüllük	31
12.2.	Analitik hassasiyet.....	33
12.3.	Analitik özgüllük	34
12.4.	Analitik reaktivite	35
	Bibliography/ Bibliyografi.....	36
	Symbols for IVD components and reagents/ IVD bileşenlerinin ve reaktiflerin sembolleri	37
	Trademarks.....	37

ENGLISH

1. Intended use

VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System is an automated real-time RT-PCR test designed for the qualitative detection of P681R mutation and L452R mutation in the S gene RNA from positive SARS-CoV-2 nasopharyngeal and oropharyngeal swabs and saliva samples.

The assay is intended to be used with SARS-CoV-2 positive samples or, when the test is performed in conjunction with the VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System (Ref: 444215) with samples from patients suspected Coronavirus disease 2019 (COVID-19) by their healthcare professional (HCP).

This test is intended to be used as an aid to monitor the prevalence of P681R or L452R mutations in the S gene and to assist in control measures. The assay uses the BD MAX™ System for automated extraction of RNA and subsequent real-time RT-PCR, employing the reagents provided combined with universal reagents and disposables for the BD MAX™ System. RNA is extracted from specimens, and complementary DNA (cDNA) is synthesized and amplified using RT-PCR and detected using fluorescent reporter dye probes specific for P681R and L452R mutations.

2. Summary and Explanation

All viruses, including SARS-CoV-2, mutates over time. some changes may affect the virus' properties, such as how easily it spreads, the associated disease severity, or the performance of vaccines, therapeutic medicines, diagnostic tools, or other public health and social measures.

The appearance of genetic mutations is a natural and expected event within the evolution process of a virus. In fact, some specific mutations define the viral genetic groups currently circulating globally. Besides, thanks to the genetic sequencing of the pathogen worldwide, it has been possible to establish patterns of dispersal and evolution of the virus.

At the end of 2020, the appearance of variants with a higher risk for public health prompted the characterization of Variants of Interest (VOI) and Variants of Concern (VOC), in order to facilitate epidemiological control. Some of these SARS-CoV-2 variants are:

Delta (B.1.617.2 lineage) and Kappa (B.1.617.1 lineage) variants were closely associated with a huge COVID-19 increase in India during Spring 2021. Delta variant has multiple mutations in the Spike protein, including P681R and L452R. Kappa variant has also genetic mutations in the Spike protein, including P681R, L452R and E484Q.

All these mutations described above show potential reduction in neutralization by some immunotherapies and reduction of expected effects of vaccines or has been identified to cause community transmission.

That is why, the appearance of variants that increase the transmissibility of the virus, its virulence or that escape the action of the neutralizing antibodies generated after natural infection or the vaccine, constitute a first-order public health problem that can have an important impact on control of the pandemic.

For this reason, VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System has been designed to allow the detection of the main mutation associated with the variant under surveillance.

3. Principle of the procedure

VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System is designed for the qualitative detection of RNA with P681R and L452R mutations in the *S* gene of SARS-CoV-2 from positive nasopharyngeal and oropharyngeal swabs and saliva samples. The detection is done in one step real-time RT-PCR format where the reverse transcription and the subsequent amplification of specific target sequence occur in the same reaction tube. The isolated RNA target is transcribed generating complementary DNA by reverse transcriptase, which is followed by the amplification of a conserved region of *S* gene of SARS-CoV-2 for P681R mutation and L452R mutation using specific primers and fluorescent-labelled probes.

VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System is based on 5' exonuclease activity of DNA polymerase. During DNA amplification, this enzyme cleaves the probe bound to the complementary DNA sequence, separating the quencher dye from the reporter. This reaction generates an increase in the fluorescent signal which is proportional to the quantity of the target template. This fluorescence is measured on the BD MAX™ System.

VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System contains in each tube all the components necessary for real-time PCR assay (specific primers/probes, dNTPs, buffer, polymerase, reverse-transcriptase) in a stabilized format, as well as an endogenous internal control to monitor the extraction process and/or inhibition of the polymerase activity. The assay uses a human housekeeping gene as an Endogenous Internal Control (IC) (human *RNase P* gene). Human housekeeping genes are involved in basic cell maintenance and, therefore, are expected to be present in all nucleated human cells and maintain relatively constant expression levels.

Target	Channel	Gene
P681R mutation	475/520	<i>S</i> gene
L452R mutation	530/565	<i>S</i> gene
Endogenous Internal Control (IC)	585/630	human <i>RNase P</i> gene

Table 1. Target, channel and genes.

4. Reagents provided

VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System includes the following materials and reagents detailed in Table 2:

Reagent/Material	Description	Color or Barcode	Amount
SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) reaction tube	A mix of enzymes, primers-probes, buffer, dNTPs, stabilizers and endogenous internal control in stabilized format	Blue foil	2 pouches of 12 transparent tubes
Rehydration Buffer tube	Solution to reconstitute the stabilized product	11 foil	1 pouch of 24 transparent tubes

Table 2. Reagents and materials provided in VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System with Cat. N°. VS-VAD124 (444218).

5. Reagents and equipment to be supplied by the user

The following list includes the materials and equipment that are required for use but not included in the VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

- Real-time PCR instrument: BD MAX™ System (Ref: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442827 or 442828).
- BD MAX™ PCR Cartridges (Ref: 437519).
- Vortex.
- Micropipettes (accurate between 2 and 1000 µL).
- Filter tips.
- Powder-free disposable gloves.
- Optional: VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System (Ref: 444215)

6. Transport and storage conditions

- The kits can be shipped and stored at 2-40°C until the expiration date which is stated on the label.
- After opening the aluminium pouches which contain the reaction tubes, the product can be used up to 28 days.

7. Precautions for users

- The product is intended for use by professional users only, such as laboratory or health care professionals and technicians, trained in molecular biological techniques.
- For *in vitro* diagnostic use.
- Do not use expired reagents and/or materials.
- Do not use the kit if the label that seals the outer box is broken.
- Do not use reagents if the protective box is open or broken upon arrival.
- Do not use reagents if the protective pouches are open or broken upon arrival.
- Do not use reagents if desiccant is not present or broken inside reagent pouches.
- Do not remove desiccant from reagent pouches.
- Close protective pouches of reagents promptly with the zip seal after each use. Remove any excess air in the pouches prior to sealing.
- Do not use reagents if the foil has been broken or damaged.
- Do not mix reagents from different pouches and/or kits and/or lots.
- Protect reagents from humidity. Prolonged exposure to humidity may affect product performance.
- Keep components away from light.
- In cases where other PCR tests are conducted in the same general area of the laboratory, care must be taken to ensure that the VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, BD MAX™ ExK™ TNA-3 extraction kit, any additional reagents required for testing and the BD MAX™ System are not contaminated. Always avoid microbial and ribonuclease (RNase)/deoxyribonuclease (DNase) contamination of reagents. The use of sterile RNase/DNase-free disposable aerosol resistant or positive

displacement pipette tips is recommended. Use a new tip for each specimen. Gloves must be changed before manipulating reagents and cartridges (BD MAX™ PCR Cartridge).

- To avoid contamination of the environment by amplicons, do not break apart the BD MAX™ PCR Cartridge after use. The seals of the BD MAX™ PCR Cartridge are designed to prevent contamination.
- Design a unidirectional workflow. It should begin in the Extraction Area and then move to the Amplification and Detection Area. Do not return samples, equipment and reagents to the area in which the previous step was performed.
- Follow Good Laboratory Practices. Wear protective clothing, use disposable gloves, goggles and mask. Do not eat, drink, smoke or apply cosmetic products in the working area. Wash your hands after finishing the test.
- Samples must be treated as potentially infectious and/or biohazardous, as well as all the reagents and materials that have been exposed to the samples and they must be handled according to the national safety regulations. Take necessary precautions during the collection, transport, storage, handling, and disposal of samples.
- Samples and reagents must be handled in a biological safety cabinet. Use personal protective equipment (PPE) consistent with current guidelines for the handling of potentially infectious samples. Dispose of waste in compliance with local and state regulations.
- Regular decontamination of commonly used equipment is recommended, especially micropipettes and work surfaces.
- In accordance with Regulation (EC) No 1907/2006 (REACH), VIASURE Real Time PCR Detection Kits do not require Material Safety Data Sheets on account of their classification as non-hazardous to health and the environment, because they do not contain substances and/or mixtures which meet the hazard classification criteria available in Regulation (EC) No 1272/2008 (CLP), or which are in concentrations higher than the value established in the mentioned regulation for their declaration.
- If the kit is used in combination with the VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System (Ref: 444215), please refer to the corresponding instructions for use.
- Consult the BD MAX™ System User's Manual for additional warnings, precautions and procedures.

8. Test procedure

8.1. Sample collection, storage and transport

The VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System has been tested on nasopharyngeal swabs and saliva samples, both collected in viral transport medium (VTM) – Vircell S.L. -; BD™ Universal Viral Transport (UVT) System media – BD - or IMPROVIRAL™ Viral Preservative Medium (VPM) -Guangzhou Improve Medical Instruments Co. Ltd and oropharyngeal swabs collected in viral transport medium (VTM) - Vircell. Other types of samples must be validated by the user.

Collection, storage and transport of specimens should be maintained per the conditions validated by the user. Overall, respiratory and saliva samples should be collected and labelled appropriately in clean containers with or without transport media (depending on sample type) and processed as soon as possible to guarantee the quality of the test. The specimens should be transported at 2 to 8°C for up to 72 hours, following the local and national regulations for the transport of pathogen material. For long term transport (more than 72 hours), we recommend

shipping at $\leq -20^{\circ}\text{C}$ or lower. It is recommended to use fresh specimens for the test. The samples can be stored at 2 to 8°C for up to 72 hours or frozen at -20°C or ideally at -70°C for conservation. Repeated freeze-thaw cycles should be avoided in order to prevent degradation of the sample and nucleic acids.

The nasopharyngeal/oropharyngeal swabs and saliva specimens must be collected, transported and stored according to appropriate laboratory guidelines. For details, refer to the CDC guideline (Specimen collection guidelines. Website <https://www.cdc.gov/urdo/downloads/SpecCollectionGuidelines.pdf> and Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens for COVID-19. Website <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html>) and the IDSA guideline (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt, B. S. (2018). A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94).

8.2. Sample preparation and RNA extraction

Perform the sample preparation according to the recommendations in the instructions for use of extraction kit used, BD MAX™ ExK™ TNA-3. Note that some other samples may require pre-processing. Application-specific extraction preparation procedures should be developed and validated by the user.

When using nasopharyngeal or oropharyngeal specimens:

1. Pipette between 400 and 750 μL of nasopharyngeal or oropharyngeal swab collected in viral transport media (VTM), BD™ Universal Viral Transport (UVT) System media or IMPROVIRAL™ Viral Preservative Medium (VPM) into a BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube and close the tube with a septum cap. Ensure complete mixing by vortexing the sample at high speed for 1 minute. Proceed to BD MAX™ System Operation.

In case of using saliva samples collected in transport media:

1. Saliva samples may be collected in Viral Transport Medium (VTM), BD™ Universal Viral Transport (UVT), or IMPROVIRAL™ Viral Preservative Medium (VPM) at a ratio of 1:3 (saliva:media). Vortex for 1 minute at high speed. Pipette 750 μL into a BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube and close the tube with a septum cap. Ensure complete mixing by vortexing the sample at high speed for 1 minute. Proceed to BD MAX™ System Operation.

In case of using neat saliva samples:

1. Combine saliva with Viral Transport Medium (VTM), BD™ Universal Viral Transport (UVT), or IMPROVIRAL™ Viral Preservative Medium (VPM) so that the final ratio of saliva:media is 1:3. Vortex for 1 minute at high speed. Then pipette 750 μL into a BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube and close the tube with a septum cap. Ensure complete mixing by vortexing the sample at high speed for 1 minute. Proceed to BD MAX™ System Operation.

8.3. PCR protocol

Note: Please, refer to the BD MAX™ System User's Manual for detailed instructions.

8.3.1. Creating PCR test program for VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System

Note: If you have already created the test for the VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, you can skip step 8.3.1 and go directly to 8.3.2.

- 1) On the "Run" screen of the BD MAX™ System, select the "Test Editor" tab.
- 2) Click the "Create" button.
- 3) In the Basic Information tab, within the "Test Name" window, name your test: i.e. VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R).
- 4) In the "Extraction Type" drop down menu, select "ExK TNA-3".
- 5) In the "Master Mix Format" drop down menu, choose "Type 5".
 - a. Note: Product may be used in combination with the VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System (Ref: 444215), then select "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)".
- 6) In the "Sample extraction parameters" select "User defined" and adjust sample volume to 950 µL.
- 7) In the "Ct Calculation" select "Call Ct at Threshold Crossing".
- 8) If running software version 5.00 or higher, in the "Custom Barcodes" select the following configuration:
 - a. Snap-In 2 Barcode: leave empty (concerning SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) reaction tube no barcode configuration is needed).
 - b. Snap-In 3 Barcode: 11 (concerning Rehydration Buffer tube).
 - c. Snap-In 4 Barcode: 1G if used in combination with SARS-CoV-2 (N1 + N2) reaction tube and the format "Dual Master mix Concentrated Lyophilized MM with rehydration Buffer (Type 5)" (Section 8.3.1).
- 9) In "PCR settings" tab enter the following parameters: "Channel Settings", "Gains" and "Threshold" (Table 3).
 - a. Note: Product may be used in combination with the VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System (Ref: 444215), "PCR Settings" and "Test Steps" should be completed for Snap-In 4 (blue) position (see the corresponding instructions for use).

Channel	Alias	Gain	Threshold	Ct Min	Ct Max
475/520 (FAM)	P681R	80	150	0	40
530/565 (HEX)	L452R	80	150	0	40
585/630 (ROX)	IC	80	150	0	35
630/665 (Cy5)	-	0	0	0	0
680/715 (Cy5.5)	-	0	0	0	0

Table 3. PCR settings.

Note: It is recommended to set the minimum threshold values listed above for each channel as a starting point, but the final settings must be determined by the end-user during the result interpretation, in order to ensure that thresholds fall within the exponential phase of the fluorescence curves and above any background signal. The threshold value for different instruments may vary due to different signal intensities.

- 10) In "PCR settings" tab enter the following parameters "Spectral Cross Talk" (Table 4), as well.

		False Receiving Channel				
Channel		475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel	475/520	-	3.0	0.0	0.0	0.0
	530/565	1.0	-	0.0	0.0	0.0
	585/630	0.0	0.0	-	0.0	0.0
	630/665	0.0	0.0	0.0	-	0.0
	680/715	0.0	0.0	0.0	0.0	-

Table 4. Spectral cross-talk parameters.

- 11) In "Test Steps" tab, enter the PCR protocol (Table 5).

Step Name	Profile Type	Cycles	Time (s)	Temperature	Detect
Reverse transcription	Hold	1	900	45°C	-
Initial denaturation	Hold	1	120	98°C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection)	2-Temperature	45	10	95°C	-
			61.1	63°C	✓

Table 5. PCR protocol.

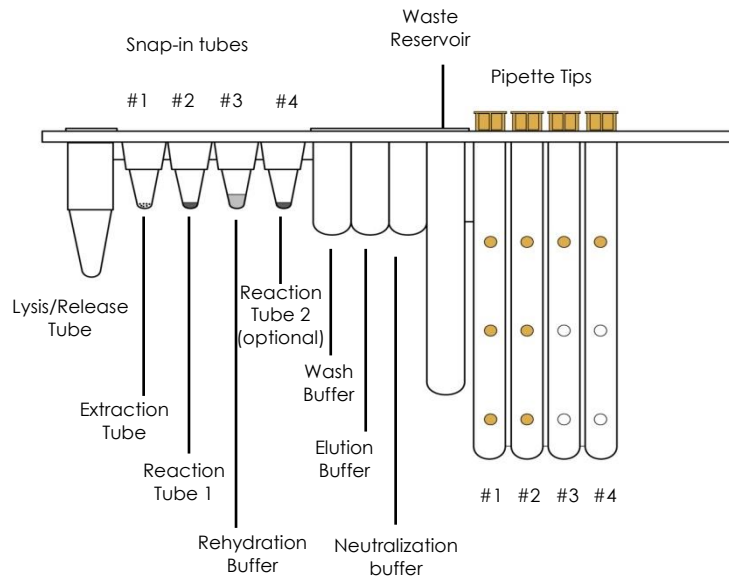
- 12) Click the "Save Test" button.

8.3.2. BD MAX™ Rack set up

- 1) For each sample to be tested, remove one Unitized Reagent Strips from the BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit. Gently tap each strip onto a hard surface to ensure that all the liquids are at the bottom of the tubes and load on the BD MAX™ System sample racks.
- 2) Remove the required number of BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (B4) (white foil) from their protective pouch. Snap the Extraction Tube(s) (white foil) into its corresponding positions in the TNA strip (Snap position 1, white color coding on the rack. See Figure 1). Remove excess air, and close pouch with the zip seal.
- 3) Determine and separate the appropriate number of SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) reaction tubes (blue foil) and snap into their corresponding positions in the strip (Snap position 2, green color coding on the rack. See Figure 1).
 - a. Remove excess air, and close aluminium pouches with the zip seal.
 - b. In order to carry out a correct rehydration, please make sure that the lyophilized product is in the bottom of the tube and is not adhered to the top area of the tube or to the foil seal. Gently tap each tube on a hard surface to make sure all the product is at the bottom of the tube.
 - i. Note: If you choose the format "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Section 8.3.1), determine and separate the appropriate number of additional SARS-CoV-2 reaction tubes (1G foil in case of VIASURE SARS-CoV-2 (N1+N2) test) and snap into their corresponding positions in the strip (Snap position 4, blue color coding on the rack. See Figure 1). Remove excess air, and close aluminium pouches with the zip seal.

- 4) Remove the required number of Rehydration Buffer tubes (11 foil) and snap into their corresponding positions in the strip (Snap position 3, non-color coding on the rack. See Figure 1). Remove excess air and close the pouch with the zip seal.
 - a. In order to ensure a correct transfer, please make sure that the liquid is in the bottom of the tube and is not adhered to the top area of the tube or to the foil seal. Gently tap each tube on a hard surface to make sure all the buffer is at the bottom of the tube.

Figure 1. BD MAX™ TNA Reagent Strip (TNA) from the BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit.



8.3.3. BD MAX™ Instrument set up

- 1) Select the "Work List" tab on the "Run" screen of the BD MAX™ System software v4.50A or higher.
- 2) In the "Test" drop down menu, select *VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R)* (if not already created see Section 8.3.1).
- 3) Select the appropriate kit lot number (found on the outer box of extraction kit used) from the pull-down menu (optional).
- 4) Enter the Sample Buffer Tube identification number into the Sample tube window of the Work List, either by scanning the barcode with the scanner or by manual entry.
- 5) Fill the Specimen/Patient ID and/or Accession window of the Work List and click the "Save" button. Continue until all Sample Buffer Tubes are entered. Ensure that the specimen/patient ID and the Sample Buffer Tubes are accurately matched.
- 6) Place the prepared Sample Buffer Tube into the BD MAX™ Rack(s).
- 7) Load the rack(s) into the BD MAX™ System (Rack A is positioned on the left side of the BD MAX™ System and Rack B on the right side).
- 8) Place the required number of BD MAX™ PCR Cartridge(s) into the BD MAX™ System.
- 9) Close the BD MAX™ System door.
- 10) Click "Start Run" to begin the procedure.

8.3.4. BD MAX™ report

- 1) In main menu, click the "Results" button.
- 2) Either double click on your run in the list or press the "view button".
- 3) Click on "Print", select: "Run Details, Test Details and Plot...".
- 4) Click on "Print or Export button" on the "Run Reports" screen.

9. Result interpretation

For a detailed description on how to analyse data, refer to the BD MAX™ System User's manual.

Analysis of the VIASURE SARS-CoV-2 *Variant II (P681R+L452R)* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System is intended to be performed as a reflex on samples with positive result for SARS-CoV-2 RNA. If used in conjunction with VIASURE SARS-CoV-2 *(N1 + N2)* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System on samples of unknown status for presence of SARS-CoV-2 RNA, please refer to those instructions for use for results interpretation for determination of the SARS-CoV-2 RNA result.

The analysis of the data is done by the BD MAX™ software according to the manufacturer's instructions. The BD MAX™ software reports Ct values and amplification curves for each detector channel of each sample tested in the following way:

- Ct value of 0 indicates that there was no Ct value calculated by the software with the specified Threshold (see Table 3). Amplification curve of the sample showing a "0" Ct value must be checked manually.
- Ct value of -1 indicates that no amplification process has occurred.
- Any other Ct value should be interpreted in correlation with the amplification curve and according to the sample interpretation guidelines outlined in Table 6.

Check Internal Control signal to verify the correct functioning of the amplification mix. In addition, check that there is no report of BD MAX™ System failure.

Results should be read and analysed using the following table:

P681R mutation target (475/520)	L452R mutation target (530/565)	Endogenous Internal Control (585/630)	Interpretation
+	-	+/- ¹	P681R mutation Detected ¹
-	+	+/- ¹	L452R mutation Detected ¹
+	+	+/- ¹	P681R mutation and L452R mutation Detected ¹
-	-	+ ¹	P681R mutation and L452R mutation Not Detected ¹
-	-	- ²	Unresolved (UNR) Result obtained in the presence of inhibitors in the PCR reaction or when a general problem (not reported by an error code) with the sample processing and/or amplification steps occurs.²
IND	IND	IND	Indeterminate assay result (IND). Due to BD MAX™ System failure. Assay result displayed in case of an instrument failure linked to an error code.
INC	INC	INC	Incomplete assay result (INC). Due to BD MAX™ System failure. Assay result displayed in case of failure to complete run.

Table 6. Sample interpretation.

+: Amplification occurred.

-: No amplification occurred.

1 A sample is considered positive if the Ct value obtained is less than 40. The endogenous Internal Control (IC) may or may not show an amplification signal. Sometimes, the IC detection is not necessary because a high copy number of the target can cause preferential amplification of target-specific nucleic acids.

2 In the case of P681R mutation and L452R mutation targets sites negative, IC must show an amplification signal with Ct less than 35. The Ct value could be very variable due to the Endogenous Internal Control is a human housekeeping gene that should be present in all human nucleated cells in the original sample. If there is an absence of signal or Ct value ≥ 35 of the Endogenous Internal Control, the result is considered as 'Unresolved', and retesting is required.

Summary of mutations associated with the following lineages present in the most known Variants of Concern (VOC):

Lineages	WHO label	Mutations in the S gene ¹	
		P681R	L452R
B.1.617.1	Kappa	X	X
B.1.617.2	Delta	X	X

Table 7. Summary of mutations associated with known Variants of Concern (VOC).

¹Tracking SARS-CoV-2 variants: <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/> (data up to 02nd September 2021).

²Overview of Variants/Mutations <https://covariants.org/variants> (data up to 02nd September 2021).

Other variants can present the mutations P681R and L452R because they are not specific for the variants mentioned.

Final assignment to a lineage must be done by sequencing.

In case of a continued ambiguous result, it is recommended to review the instructions for use, the extraction process used by the user; to verify the correct performance of each RT-qPCR steps and review the parameters; and to check the sigmoid shape of the curve and the intensity of fluorescence.

The results of the test should be evaluated by a health care professional in the context of medical history, clinical symptoms and other diagnostic tests.

10. Limitations of the test

- The results of the test should be evaluated by a health care professional in the context of medical history, clinical symptoms and other diagnostic tests.
- Although this assay can be used with other types of samples it has been validated with nasopharyngeal/oropharyngeal swabs and saliva samples.
- For good test performance, the lyophilized product should be at the bottom of the tube and not adhered to the top area of the tube or the foil seal. Gently tap each tube on a hard surface to make sure all the product is at the bottom of the tube.
- An appearance of the reaction mixture in stabilized format, normally found at the bottom of the tube, different from the usual one (without conical shape, inhomogeneous, smaller/larger in size and/or color different from whitish) does not alter the functionality of the test.
- The quality of the test depends on the quality of the sample; proper extracted nucleic acid from respiratory samples must be extracted.
- This test is a qualitative test and does not provide quantitative values or indicate the number of organisms present.
- Extremely low levels of target below the limit of detection might be detected, but results may not be reproducible.
- Samples with a Ct value between 35 and 40 might show greater variability in the results obtained.
- There is a possibility of false positive results due to cross-contamination by SARS-CoV-2 RNA with P681R mutation or L452R mutation in the S gene, either samples containing high concentrations of target RNA or contamination due to PCR products from previous reactions.
- The specific primer and probe combinations for detection of P681R mutation or L452R mutation used in VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System do not show significant combined homologies with the human genome, human microflora, or other coronaviruses, which might result in predictable false positive.
- False Negative results may arise from several factors and their combinations, including:
 - Improper specimens' collection, transport, storage, and/or handling methods.
 - Improper processing procedures (including RNA extraction).
 - Degradation of the viral RNA during sample shipping/storage and/or processing.
 - Mutations or polymorphisms in primer or probe binding regions may affect detection of new or unknown SARS-CoV-2 variant.
 - A viral load in the specimen below the limit of detection for the assay.
 - The presence of RT-qPCR inhibitors or other types of interfering substances. The impacts of vaccines, antiviral therapeutics, antibiotics, chemotherapeutics or immunosuppressant drugs used to prevent COVID-19 or used during the treatment of the infection have not been evaluated.

- Failure to follow instructions for use and the assay procedure.
- Some samples may fail to exhibit *RNase P* amplification curves due to low human cell numbers in the original clinical sample. A negative IC signal does not preclude the presence of P681R mutation or L452R mutation in a clinical specimen.
- A positive test result does not necessarily indicate the presence of viable viruses and does not imply that these viruses are infectious or are the causative agents for clinical symptoms. However, a positive result is indicative of the presence of targets viral sequences.
- The presence of the P681R and L452R mutations is associated with Kappa (lineage B.1.617.1) and Delta (lineage B.1.617.2) variants, however, final assignment to a lineage must be done by sequencing.
- Negative results do not preclude presence of SARS-CoV-2 RNA due to this assay is intended to be used with positive SARS-CoV-2 samples.
- In the case of obtaining Unresolved, Indeterminate or Incomplete results using VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, retesting will be required. Unresolved results may be due to the presence of inhibitors in the sample or an incorrect rehydration of lyophilized reaction mix tube. If there is an instrument failure, Indeterminate or Incomplete results will be obtained.

11. Quality control

VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System contains an Endogenous Internal Control (IC) in each reaction tube which confirms the correct performance of the technique.

12. Performance characteristics

12.1. Clinical sensitivity and specificity

The clinical performance of VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System was tested using clinical samples (nasopharyngeal swabs) already characterized as positive or negative for SARS-CoV-2, from patients. The results were as follows:

	Site	Sample type	Workflow	Target
1	CerTest Biotec S.L (Zaragoza, Spain)	nasopharyngeal swab	BD MAX™ EXK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	P681R mutation L452R mutation

Table 8. Site, sample type, workflow and target.

True positive and negative values, false positive and negative values, sensitivity, and specificity for VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System were calculated in relation to each comparator assay as shown in the following table:

Site	Comparator assay	Target	TP	TN	FP	FN	Sensitivity	Specificity
1	TaqPath COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kit/ VIASURE SARS-CoV-2 Real Time PCR Detection Kit molecular assay + sequencing	P681R mutation	99	98	0	1	99% (93 – 99)	100% (95 – 100)
		L452R mutation	92	98	0	8	92% (84 – 96)	100% (95 – 100)

Table 9. True positive and negative values, false positive and negative values, sensitivity, specificity for VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

In order to evaluate the compatibility of different sample matrices (nasopharyngeal swab, oropharyngeal swab and nasopharyngeal/oropharyngeal swab in Viral Transport Medium (VTM) from Vircell), a compatibility study have been carried out. The obtained results showed that the three different sample matrices were compatible with the VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

The tentative clinical performance of VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R + L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System with saliva samples was evaluated. Negative saliva single samples spiked with a known concentration of synthetic cDNA fragment for P681R mutation and L452R mutation in the S gene belonging to SARS-CoV-2 were tested. The evaluation was designed to be carried out with 20 positive samples (10 samples 2xLoD and 10 samples 10xLoD) and 10 negative samples. This assay was performed using a 750 µl sample volume of each condition added in the Sample Buffer Tube (SBT) of the TNA-3 Extraction Kit and it was run in full process mode (Automated extraction and PCR amplification) using BD MAX™ ExK™ TNA-3.

The percentage of agreement was calculated in relation to the expected result for each individual sample and results are showed in the following table.

Saliva sample	Agreement
Positive samples	95%
Negative samples	100%

Table 10. Percentage of agreement of VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R + L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System with saliva samples.

Besides, a comparative analysis of nasopharyngeal swabs and saliva samples was carried out to evaluate the clinical performance of VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R + L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System with saliva samples. 7 saliva samples and their corresponding nasopharyngeal sample were analysed and compared observing 100% of concordance. Both mutations (P681R and L452R) were detected in the six saliva samples characterized as Delta variant.

Target	TP	TN	FP	FN	Sensitivity	Specificity
P681R mutation	6	1	0	0	100% (51 – 100)	n.a*
L452R mutation	6	1	0	0	100% (51 – 100)	n.a*

Table 11. True positive and negative values, false positive and negative values, sensitivity, specificity for VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

* Due to the limited availability of negative samples, the calculation of the clinical specificity of the test could not be performed.

In conclusion, saliva samples were compatible with VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R + L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Result show agreement to detect the P681R and L452R mutations using VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

12.2. Analytical sensitivity

VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System detection limit (LoD) results with a positive rate of $\geq 95\%$ are as follows:

- VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System has a detection limit (LoD) of ≥ 40 RNA copies/reaction on nasopharyngeal samples and ≥ 250 RNA copies/reaction on saliva samples for P681R mutation.
- VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System has a detection limit (LoD) of ≥ 40 RNA copies/reaction on nasopharyngeal samples and ≥ 500 RNA copies/reaction on saliva samples for L452R mutation.

Figure 2. Dilution series of SARS-CoV-2 Variant II (P681R mutation) (synthetic cDNA) (5.3×10^6 - 5×10^1 copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (475/520 (FAM) channel).

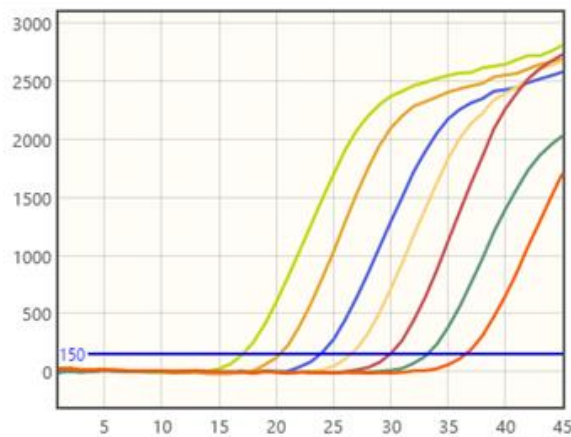
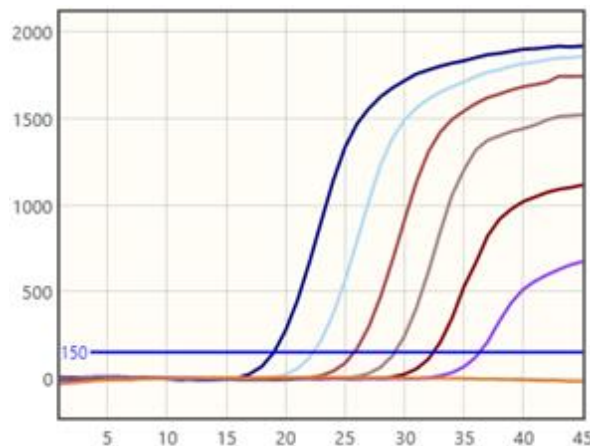


Figure 3. Dilution series of SARS-CoV-2 Variant II (L452R mutation) (synthetic cDNA) (5.3×10^6 - 5×10^1 copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (530/565 (HEX) channel).



12.3. Analytical specificity

The specificity of the SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) assay was confirmed by testing a panel consisting of different microorganisms representing the most common respiratory pathogens. No cross-reactivity was detected between any of the following microorganisms tested:

Cross-reactivity testing					
Human Adenovirus types 1-5, 8, 15, 31, 40 and 41	-	Influenza A/Singapore/GP1908/2015, IVR-180 (H1N1)pdm09 virus	-	Human parainfluenza 1, 2, 3 and 4 viruses	-
Bocavirus	-	Influenza A/Thüringen/5/17 (H3N2) virus	-	Pneumocystis jirovecii Type A1 and g885652	-
Bordetella bronchiseptica	-	Influenza A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2) virus	-	Human rhinovirus	-
Bordetella holmesii	-	Influenza A/Hong Kong/4801/2014, NYMC X-263B (H3N2) virus	-	Respiratory syncytial virus (RSV) A/B	-
Bordetella parapertussis	-	Influenza A/DE-SH/Reiherente/AR8444/ 2016 (H5N8) virus	-	Staphylococcus aureus	-
Bordetella pertussis	-	Influenza A/Anhui/1/2013 (H7N9) virus	-	Streptococcus pneumoniae	-
Chlamydia caviae	-	Influenza B/Brisbane/60/2008 virus	-	Streptococcus pyogenes	-
Chlamydia psittaci genotype A and C	-	Influenza A/South Australia/55/2014, IVR-175	-	SARS Coronavirus Strain Frankfurt 1	-
Chlamydophila pneumoniae CM-1	-	Influenza B/Phuket/3073/2013 virus	-	Human 2019-nCoV strain BetaCoV/Germany/BavPat1/2020 p.1*	-
Human coronavirus 229E, OC43, NL63 and HKU1	-	Influenza B/Florida/04/06 virus	-	Human 2019-nCoV strain 2019-nCoV/Italy-INMI1*	-
MERS Coronavirus	-	Legionella bozemanii	-	MT007544.1 (SARS-CoV-2 isolate Australia/VIC01/2020)*	-
Enterovirus Coxsackievirus A24, A9 and B3	-	Legionella dumoffii	-	MN908947.3 (SARS-CoV-2 isolate Wuhan-Hu-1)*	-
Enterovirus Echovirus 30	-	Legionella longbeachae	-	SARS-CoV-2 strain 2019nCoV/USAWA1/2020*	-
Enterovirus 68, 71	-	Legionella micdadei	-	SARS-CoV-2 BetaCoV/Berlin/ChVir1670/2020_IsolatBER*	-
Haemophilus influenzae MinnA	-	Legionella pneumophila	-	SARS-CoV-2 BetaCoV/Munich/ChVir984/2020*	-
Influenza A/New Caledonia/20/99(H1N1) virus	-	Human metapneumovirus A and B	-	SARS-CoV-2 BetaCoV/Baden-Wuerttemberg/1/ChVir1577/2020_IsolatBER*	-
Influenza A/Victoria/210/2009 (H3N2)	-	Moraxella catarrhalis	-	SARS-CoV-2 B.1.1.7_710528 and SARS-CoV-2 B.1.1.7_601443 lineages (Alpha Variant) *	-
Influenza A/California/7/2009(H1N1) pdm09 virus	-	Mycoplasma pneumoniae	-	SARS-CoV-2 B.1.351 lineage (Beta Variant) *	-
Influenza A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09 virus	-	Mycobacterium tuberculosis	-	SARS-CoV-2 P.1 lineage (Gamma Variant) *	-

Table 12. Reference pathogenic microorganisms used in this study.

* Please note that the detection of these SARS-CoV-2 strains is not considered in this assay. This test is designed for the qualitative detection of P681R mutation and L452R mutation in the S gene present in several SARS-CoV-2 variants.

12.4. Analytical reactivity

The reactivity of VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System was evaluated against synthetic RNA controls from Kappa variant (B.1.617.1 India/CT-ILSGS00361/2021) and clinical samples characterized as Delta variant (B.1.617.2) by sequencing, showing positive results.

TÜRKÇE

1. Kullanım amacı

VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, pozitif SARS-CoV-2 nazofaringeal ve orofaringeal sürüntülerden ve tükürük örneklerinden S geni RNA'sındaki P681R mutasyonu ve L452R mutasyonunun kalitatif tespiti için tasarlanmış otomatik bir gerçek zamanlı RT-PCR testidir.

Testin, SARS-CoV-2 pozitif numunelerde veya sağlık uzmanlarının (HCP) Coronavirus hastalığı 2019 (COVID-19) bulunduğu şüphelendiği hastalardan alınan örneklerde, BD MAX™ System için VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System (Ref: 444215) ile gerçekleştirildiğinde kullanılması tasarlanmıştır.

Bu testin, S geninde P681R veya L452R mutasyonlarını taşıyan varyantların prevalansını izlemek ve kontrol önlemlerine yardımcı olmak için destek olarak kullanılması amaçlanmıştır. Analiz, BD MAX™ System Sistemini, otomatik olarak RNA'nın ekstraksiyonu için kullanır ve ardından BD MAX™ System için evrensel reaktifler ve atılabilir maddeler ile birlikte sağlanan reaktiflerin kullanıldığı gerçek zamanlı RT-PCR'yi kullanır. RNA solunum numunelerinden ekstrakte edilir ve tamamlayıcı DNA'ya (cDNA); RT-PCR kullanılarak amplifikasyon uygulanır ve P681R ve L452R mutasyonlarına özel floresan raportör boya problemleri kullanılarak tespit edilir.

2. Özet ve Açıklama

SARS-CoV-2 de dahil olmak üzere tüm virüsler zamanla mutasyona uğrar. Virüsün ne kadar kolay yayıldığı, ilişkili hastalık şiddeti veya aşılardan, terapötik ilaçların, tanı araçlarının ya da diğer halk sağlığı ve sosyal önlemlerin performansı gibi bazı değişiklikler virüsün özelliklerini etkileyebilir.

Genetik mutasyonların ortaya çıkması, virüsün evrim sürecinde doğal ve beklenen bir olaydır. Aslında, bazı spesifik mutasyonlar, şu anda küresel olarak dolaşan viral genetik grupları tanımlar. Ayrıca, patojenin dünya çapındaki genetik dizilimi sayesinde, virüsün yayılma ve evrim modellerini oluşturmak mümkün olmuştur.

2020'nin sonunda, halk sağlığı için daha yüksek risk taşıyan varyantların ortaya çıkması, epidemiyolojik kontrolü kolaylaştırmak için İlgili Varyantları (VOI) ve Endişe Varyantlarının (VOC) karakterizasyonuna neden oldu. Bu SARS-CoV-2 varyantlarından bazıları şunlardır:

Delta (B.1.617.2 soyu) ve Kappa (B.1.617.1 soyu) varyantları, 2021 baharında Hindistan'da büyük bir COVID-19 artışı ile yakından ilişkiliydi. Delta varyantı, P681R ve L452R dahil olmak üzere Spayk proteininde çoklu mutasyonlar içerir. Kappa varyantı ayrıca P681R, L452R ve E484Q dahil olmak üzere Spike proteininde genetik mutasyonlar gösterir.

Yukarıda açıklanan tüm bu mutasyonlar, bazı immünoterapiler tarafından nötralizasyonda potansiyel azalma ve aşılardan beklenen etkilerinde azalma gösterir veya toplumdaki bulaşmaya neden olduğu tespit edilmiştir.

İşte bu nedenle, virüsün bulaşabilirliğini, virülansını artıran veya doğal enfeksiyon veya aşılardan sonra üretilen nötrale edici antikorların etkisinden kaçan varyantların ortaya çıkması, pandemiyi kontrolü üzerinde önemli bir etkisi olabilecek birinci dereceden bir halk sağlığı sorunu teşkil eder.

Bundan dolayı, VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, sürveyans altındaki varyantla ilişkili ana mutasyonun saptanmasına izin verecek şekilde tasarlanmıştır.

3. Prosedür ilkesi

VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, pozitif nazofaringeal ve orofaringeal sürüntüler ve tükürük örneklerinde SARS-CoV-2'nin S genindeki P681R ve L452R mutasyonlu RNA'nın kalitatif tespiti için tasarlanmıştır. Tespit, ters transkripsiyonun ve onu izleyen spesifik hedef sekans amplifikasyonunun aynı reaksiyon tüpünde meydana geldiği tek adımlı gerçek zamanlı RT-PCR formatında gerçekleştirilir. İzole edilmiş RNA hedefi, ters transkriptaz ile tamamlayıcı DNA üreterek kopyalanır, bunu spesifik primerler ve floresan etiketli proplar kullanılarak P681R mutasyonu ve L452R mutasyonu için SARS-CoV-2'nin S geninin korunmuş bir bölgesinin amplifikasyonu takip eder.

BD MAX™ System için VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, DNA polimerazının 5' eksonükleaz aktivitesine dayanır. DNA amplifikasyonu sırasında, bu enzim tamamlayıcı DNA sekansına bağlı probu ayırarak; söndürücü boyanın raportörden ayırt edilmesini sağlar. Bu reaksiyon, hedef şablonun miktarıyla orantılı olan floresan sinyalinde bir artış meydana getirir. Bu floresans BD MAX™ System'de ölçülür.

BD MAX™ System için VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System her tüpte, stabilize edilmiş bir formatta gerçek zamanlı PCR testi için gerekli tüm bileşenleri (spesifik primer/proplar, dNTPS, tampon, polimeraz, ters transkriptaz) ve ayrıca PCR inhibisyonunu izlemek için bir endojen dahili kontrol içerir. Testte, Endojen Dahili Kontrol (IC) olarak bir insan housekeeping geni kullanılır (insan RNase P geni). İnsan housekeeping genleri temel hücre bakımında rol oynar ve bu nedenle tüm çekirdekli insan hücrelerinde bulunması ve nispeten sabit ekspresyon seviyelerini muhafaza etmesi beklenir.

Hedef	Kanal	Gen
P681R mutasyonu	475/520	S geni
L452R mutasyonu	530/565	S geni
Endojen Dahili kontrol (IC)	585/630	insan RNaz P geni

Tablo 1. Hedef, kanal ve genler.

4. Verilen reaktifler

BD MAX™ System için VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, Tablo 2'de ayrıntılı olarak verilen aşağıdaki maddeleri ve reaktifleri içerir:

Reaktif/Materyal	Açıklama	Renk veya Barkod	Miktar
SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) reaction tube	Enzimler, primer proplar, tampon, dNTP'ler, stabilizatörler ve stabilize edilmiş formatta endojen dahili kontrol içeren bir karışım	Mavi folyo	12 şeffaf tüp içeren 2 poşet
Rehydration Buffer tube	Stabilize edilmiş ürünün sulandırmak için solüsyon	11 folyo	24 şeffaf tüp içeren 1 poşet

Tablo 2. VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System with Cat içinde sağlanan reaktif ve materyaller. N°. VS-VAD124 (444218).

5. Kullanıcı tarafından tedarik edilecek olan reaktifler ve ekipman

Aşağıdaki liste, kullanım için gerekli olan ancak BD MAX™ System için VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System içinde bulunmayan materyalleri ve ekipmanları içerir.

- Gerçek Zamanlı PCR cihazı: BD MAX™ System (Ref: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442827 veya 442828).
- BD MAX™ PCR Cartridges (Ref: 437519).
- Vorteks.
- Mikropipetler (2 ile 1000 µL arasında hatasız).
- Filtre uçları.
- Pudrasız tek kullanımlık eldivenler.
- Opsiyonel: BD MAX™ System için VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System (Ref: 444215)

6. Taşıma ve depolama koşulları

- Kitler, etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar 2-40 °C'de sevk edilip saklanabilir.
- Reaksiyon tüplerini içeren alüminyum poşetler, açıldıktan sonra ürün 28 güne kadar kullanılabilir.

7. Kullanıcılara uyarılar

- Ürün yalnızca moleküler biyolojik teknikler konusunda eğitilmiş laboratuvar veya sağlık uzmanları ve teknisyenler gibi profesyonel kullanıcılar tarafından kullanılmak üzere tasarlanmıştır.
- *In vitro* tanısal kullanım içindir.
- Son kullanma tarihi geçmiş reaktifleri ve/veya materyalleri kullanmayın.
- Dış kutuyu mühürleyen etiket açılmışsa kiti kullanmayın.
- Koruyucu kutu ulaştığında açılmış veya kırılmışsa reaktifleri kullanmayın.
- Koruyucu poşetler ulaştığında açıksa veya kırılmışsa reaktifleri kullanmayın.
- Reaktif poşetler içinde kurutucu mevcut değilse veya parçalanmışsa reaktifleri kullanmayın.
- Kurutucu maddeyi reaktif poşetlerinden çıkarmayın.
- Her kullanımdan sonra hemen reaktif koruyucu poşetlerin fermuarını kapatın. Kapatmadan önce poşetlerdeki fazla havayı giderin.
- Folyo kırılmış veya hasar görmüşse reaktifleri kullanmayın.
- Farklı poşetlerden ve/veya kitlerden ve/veya partilerden reaktifleri karıştırmayın.
- Reaktifleri nemden koruyun. Neme uzun süre maruz kalmak ürün performansını etkileyebilir.
- Bileşenleri ışıktan koruyun.
- Laboratuvarın genel alanında başka PCR testlerinin yapıldığı durumlarda, BD MAX™ System için VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, BD MAX™ ExK™ TNA-3 ekstraksiyon kiti, bunun için gerekli herhangi bir reaktif ile Test ve BD MAX™ Sisteminin kontamine olmamasına dikkat edilmelidir. Reaktiflerin mikrobiyal ve ribonükleaz (RNaz)/deoksiribonükleaz (DNaz) kontaminasyonundan daima kaçının. Steril RNaz/DNaz içermeyen, tek kullanımlık, aerosole dirençli veya pozitif

deplasmanlı pipet uçlarının kullanılması önerilir. Her numune için yeni uç kullanın. Reaktifler ve kartuşlar (BD MAX™ PCR Cartridge) kullanılmadan önce eldivenler değiştirilmelidir.

- Ortamın amplikonlarla kontaminasyonunu önlemek için, BD MAX™ PCR Cartridge kullandıktan sonra parçalamayın. BD MAX™ PCR Cartridge contaları kontaminasyonu önleyecek şekilde tasarlanmıştır.
- Tek yönlü bir iş akışı tasarlayın. Ekstraksiyon Alanında başlanmalı ve Amplifikasyon ve Tespit Alanında devam edilmelidir. Numuneleri, ekipmanı ve reaktifleri önceki adımın gerçekleştirildiği alana geri götürmeyin.
- İyi Laboratuvar Uygulamalarına Uyun. Koruyucu kıyafet giyin, tek kullanımlık eldivenler, gözlükler ve maske kullanın. Çalışma alanında bir şey yemeyin, içmeyin, sigara kullanmayın veya kozmetik ürünler uygulamayın. Testi bitirdikten sonra ellerinizi yıkayın.
- Numuneler ile numunelere maruz kalan tüm reaktifler ve materyaller potansiyel olarak bulaşıcı ve/veya biyolojik risk taşıyan madde muamelesi görmeli ve ulusal güvenlik düzenlemelerine uygun olarak ele alınmalıdır. Numunelerin toplanması, taşınması, saklanması, kullanımı ve bertarafı sırasında gerekli önlemleri alın.
- Numuneler ve reaktifler biyolojik güvenlik kabini içinde kullanılmalıdır. Potansiyel olarak bulaşıcı numunelerin işlenmesine yönelik mevcut talimatlara uygun personal protective equipment (PPE) (kişisel koruyucu ekipman) kullanın. Atıkları yerel düzenlemelere ve eyalet düzenlemelerine uygun olarak atın.
- Yaygın olarak kullanılan ekipmanın, özellikle mikropipetler ve çalışma yüzeylerinin düzenli olarak dekontamine edilmesi önerilir.
- "1907/2006 (REACH) sayılı Yönetmelik (AK) uyarınca, "VIASURE Real Time PCR Detection Kits"; Yönetmelik (AK) No 1272/2008'de (CLP) yer alan tehlike sınıfı kriterlerini karşılayan veya söz konusu yönetmelikte beyan için belirlenen değerden daha yüksek konsantrasyonlarda bulunan maddeler ve/veya karışımlar "içermediklerinden sağlığa ve çevreye zararsız olarak sınıflandırılmaları nedeniyle Malzeme Güvenlik Bilgi Formları (Safety Data Sheets) gerektirmezler.
- Kit, BD MAX™ System için VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System (Ref: 444215) ile kullanılıyorsa, lütfen ilgili kullanım talimatlarına bakın.
- Ek uyarılar, önlemler ve prosedürler için BD MAX™ System Kullanıcı El Kitabına bakın.

8. Test prosedürü

8.1. Numunelerin toplanması, saklanması ve taşınması

BD MAX™ System için VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, her biri viral taşıma ortamında (VTM) toplanan nazofarengeal sürüntüler ve tükürük numuneleri üzerinde test edilmiştir – Vircell S.L. -; BD™ Universal Viral Transport (UVT) System media – BD - veya IMPROVIRAL™ Viral Preservative Medium (VPM) -Guangzhou Improve Medical Instruments Co. Ltd ve viral taşıma ortamında (VTM) toplanan orofarengeal swablar - Vircell. Diğer numune türleri kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Toplanan, saklanan ve taşınan numuneler, kullanıcı tarafından doğrulanan şartlarda muhafaza edilmelidir. Genel olarak, solunum ve tükürük numuneleri taşıma ortamı içeren veya içermeyen (numune türüne göre) temiz kaplarda uygun şekilde toplanmalı ve etiketlenmeli ve testin kalitesini garanti etmek için en kısa sürede işleme konmalıdır. Numuneler patojen materyalin taşınması ile ilgili yerel ve ulusal düzenlemelere uyularak, 72 saate kadar 2 - 8°C sıcaklıkta taşınmalıdır. Uzun süreli taşımalar için (72 saatten fazla), sevkıyatın °-20°C veya daha düşük sıcaklıkta yapılması önerilir. Test için taze örneklerin kullanılması tavsiye edilir. Örnekler 2 ila 8 °C'de 72 saate kadar saklanabilir

veya -20 °C'de dondurulabilir ya da koruma için ideal olarak -70 °C'de saklanabilir. Numune ve nükleik asitlerin bozulmasını önlemek için tekrarlanan donma-çözülme döngülerinden kaçınılmalıdır.

Nazofarigeal/orofarigeal sürüntü ve saliva numuneleri, uygun laboratuvar talimatlarına uygun şekilde toplanmalı, taşınmalı ve saklanmalıdır. Ayrıntılı bilgi için CED guideline (CDC kılavuzu) belgesine bakın (Specimen collection guidelines (Numune toplama talimatları)). Web sitesi <https://www.cdc.gov/urdo/downloads/SpecCollectionGuidelines.pdf> ve Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens for COVID-19 (COVID-19 için Klinik Numunelerin Toplanması, Kullanımı ve Test Edilmesine Yönelik Ara Talimatlar). Website <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html> ve IDSA kılavuzu (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt, B. S. (2018). Enfeksiyon hastalıklarının teşhisi için mikrobiyoloji laboratuvarını kullanma rehberi: Infectious Diseases Society of America ve American Society for Microbiology (Amerika Bulaşıcı Hastalıklar Derneği ve Amerikan Mikrobiyoloji Derneği) 2018 güncellemesi. *Clinical Infectious Diseases* (Klinik Bulaşıcı Hastalıklar), 67(6), e1-e94).

8.2. Numunelerin hazırlanması ve RNA ekstraksiyonu

Numune hazırlama işlemini kullanılan ekstraksiyon kiti olan BD MAX™ ExK™ TNA-3'nin kullanım talimatlarındaki önerilere uyararak gerçekleştirin. Bazı numunelerin ön işlem gerektirebileceğini unutmayın. Uygulamaya özel ekstraksiyon hazırlama prosedürleri kullanıcı tarafından geliştirilmeli ve doğrulanmalıdır.

Nazofarigeal veya orofarigeal örnekler kullanırken:

1. Bir BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube içine viral taşıma ortamında (VTM) veya BD™ Universal Viral Transport (UVT) Sisteminde ya da IMPROVIRAL™ Viral Preservative Medium (VPM) içinde 400 ve 750 µL nazofarigeal veya orofarigeal sürüntü numunesini pipetleyin ve tüpü bir septum başlığıyla kapatın. Numuneyi 1 dakika boyunca yüksek hızda vorteksleyerek tamamen karıştırın. BD MAX™ System Operation'a (Kullanımına) geçin.

Taşıma ortamında toplanan tükürük numunelerinin kullanılması durumunda:

1. Tükürük numuneleri 1:3 oranında (tükürük:ortam) Viral Transport Medium (VTM), BD™ Universal Viral Transport (UVT) veya IMPROVIRAL™ Viral Preservative Medium (VPM) içinde toplanabilir. Yüksek hızda 1 dakika vorteksleyin. Ardından, bir BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube içine 750 µL süspansiyon ekleyin ve tüpü septumlu kapakla kapatın. Numuneyi 1 dakika boyunca yüksek hızda vorteksleyerek tamamen karıştırın. BD MAX™ System Operation'a (Kullanımına) geçin.

Düzgün tükürük örnekleri kullanılması durumunda:

1. Tükürüğü Viral Transport Medium (VTM), BD™ Universal Viral Transport (UVT) veya IMPROVIRAL™ Viral Preservative Medium (VPM) ile, tükürük ortamının son oranı 1:3 olacak şekilde birleştirin;. Yüksek hızda 1 dakika vorteksleyin. Ardından bir BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube içine 750 µL süspansiyon ekleyin ve tüpü septumlu kapakla kapatın. Numuneyi 1 dakika boyunca yüksek hızda vorteksleyerek tamamen karıştırın. BD MAX™ System Operation'a (Kullanımına) geçin.

8.3. PCR protokolü

Not: Lütfen ayrıntılı talimatlar için BD MAX™ System Kullanıcı El Kitabına bakın.

8.3.1. VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System için PCR test programı oluşturma.

Not: BD MAX™ System için VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System için testi zaten oluşturduysanız, 8.3.1 adımını atlayabilir ve doğrudan 8.3.2'ye gidebilirsiniz.

- 1) BD MAX™ System'in "Run" (Çalıştır) ekranında, "Test Editor" (Test Düzenleyici) sekmesini seçin.
- 2) "Create" (Oluştur) düğmesine tıklayın.
- 3) "Test Adı" (Test Name) penceresindeki Temel Bilgi sekmesinde, testinize bir ad verin: örneğin VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R).
- 4) "Extraction Type" (Ekstraksiyon Tipi) açılır menüsünde, "ExK TNA-3"yi seçin.
- 5) "Master Mix Format" (Master Karışım Formatı) açılır menüsünde, "Type 5"i (Tip 5) seçin.
 - a. Not: Ürün, BD MAX™ System için VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System (Ref: 444215) ile birlikte kullanılabilir, ardından "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Rehidrasyon Tamponlu Çift Master Karışimli Konsantre Liyofilize MM (Tip 5))'i seçin.
- 6) "Sample extraction parameters" (Numune ekstraksiyon parametreleri) içinde "User defined" (Kullanıcı tanımlı) seçeneğini seçin ve numune hacmini 950 µL olarak ayarlayın.
- 7) "Ct Calculation" (Ct Hesaplaması)'nda "Call Ct at Threshold Crossing" (Eşiğin Geçilmesi Halinde Ct'yi Ara)'yı seçin.
- 8) Yazılım sürümü 5.00 veya üzeri ise, "Custom Barcodes" (Özel Barkodlar) kısmında aşağıdaki yapılandırmayı seçin:
 - a. "Snap-In 2 Barcode" (Snap-In 2 Barkod): boş bırakın (SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) reaction tube (reaksiyon tüpü) ile ilgili olarak barkod yapılandırmasına gerek yoktur).
 - b. "Snap-In 3 Barcode" (Snap-In 3 Barkodu): 1 1 (Rehidrasyon Buffer tube için)
 - c. "Snap-In 4 Barcode" (Snap-In 4 Barkodu): SARS-CoV-2 (N1 + N2) reaction tube (reaksiyon tüpü) ve "Rehidrasyon Tamponlu (Tip 5) İkili Ana karışım Konsantre Liyofilize MM (Tip 5)" formatı ile birlikte kullanılırsa 1 G (Bölüm 8.3.1).
- 9) "PCR settings" (PCR ayarları) sekmesinde aşağıdaki parametreleri girin: "Channel Settings" (Kanal Ayarları), "Gains" (Kazanımlar) ve "Threshold" (Eşik) (Tablo 3).
 - a. Not: Ürün, BD MAX™ System için VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System (Ref: 444215) ile birlikte kullanılabilir; Snap-In 4 (mavi) konumu için "PCR settings" (PCR ayarları) ve "Test steps" (Test Adımları) tamamlanmalıdır (ilgili kullanım talimatlarına bakınız).

Channel (Kanal)	Alias (Takma İsim)	Gain (Kazanım)	Threshold (Eşik)	Ct Min (Ct Asgari)	Ct Max (Ct Azami)
475/520 (FAM)	P681R	80	150	0	40
530/565 (HEX)	L452R	80	150	0	40
585/630 (ROX)	IC	80	150	0	35
630/665 (Cy5)	-	0	0	0	0
680/715 (Cy5.5)	-	0	0	0	0

Tablo 3. "PCR settings" (PCR ayarları).

Not: Her kanal için başlangıç noktası olarak yukarıda listelenen minimum eşik değerlerinin ayarlanması önerilir, ancak eşiklerin floresan eğrilerinin üstel fazı dahilinde ancak arka plan sinyallerinin üzerinde kalmasını sağlamak için nihai ayarların sonuç enterpolasyonu sırasında son kullanıcı tarafından belirlenmesi gerekir. Farklı cihazlar için eşik değeri, farklı sinyal yoğunlukları nedeniyle değişebilir.

10) "PCR settings" (PCR ayarları) sekmesinde aşağıdaki parametreleri de girin: "Spectral Cross Talk" (Spektral Tartışma) (Tablo 4).

		False Receiving Channel (Yanlış Alıcı Kanal)				
Channel (Kanal)		475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Eksitasyon Kanalı)	475/520	-	3,0	0,0	0,0	0,0
	530/565	1,0	-	0,0	0,0	0,0
	585/630	0,0	0,0	-	0,0	0,0
	630/665	0,0	0,0	0,0	-	0,0
	680/715	0,0	0,0	0,0	0,0	-

Tablo 4. "Spectral Cross Talk" (Spektral tartışma) parametreleri.

11) "Test Steps" (Test Adımları) sekmesine PCR protokolünü girin (Tablo 5).

Step Name (Adım İsmi)	Profile Type (Profil Tipi)	Cycles (Döngüler)	Time (s) (Süreler)	Temperature (Sıcaklık)	Detect (Tespit)
Reverse transcription (Revers transkripsiyon)	Tutma	1	900	45°C	-
Initial denaturation (Başlangıç denatürasyonu)	Tutma	1	120	98°C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Denatürasyon ve Yeniden Birleştirme/Genişletme (Veri toplama))	2- Sıcaklık	45	10	95°C	-
			61,1	63°C	✓

Tablo 5. PCR protokolü.

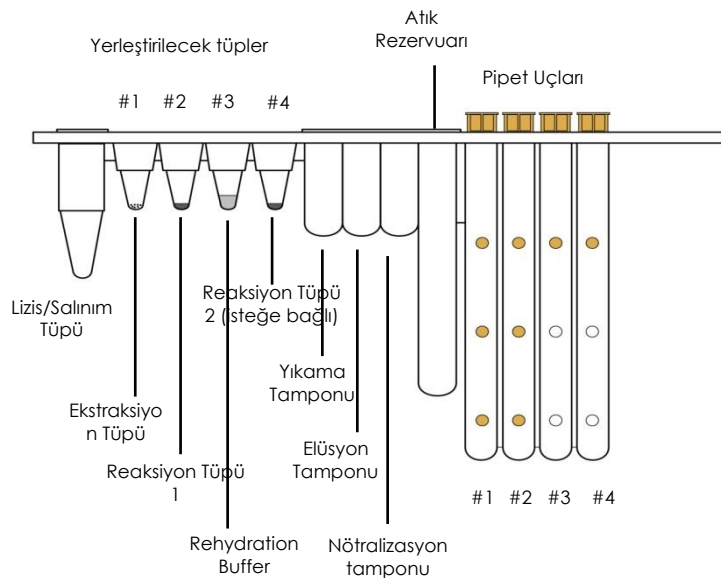
12) "Save Test (Testi Kaydet)" düğmesine tıklayın.

8.3.2. BD MAX™ Raf kurulumu.

1) Test edilecek her bir numune için, BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit içinden bir adet Unitized Reagent Strips çıkarın. Tüm sıvıların tüplerin alt kısmında olduğundan ve BD MAX™ System numune raflarına yüklendiğinden emin olmak için her bir şeridi hafifçe sert bir yüzeye vurun.

- 2) Gerekli sayıda BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes Ekstraksiyon Tüpü'nü (B4) (beyaz folyo) koruyucu poşetlerinden çıkarın. Ekstraksiyon Tüpünü/Tüplerini (beyaz folyo) TNA şeridindeki ilgili pozisyonlara yerleştirin (1. Yerleştirme pozisyonu, raftaki beyaz renkli kodlama. Şekil 1'e bakın). Fazla havayı çıkartın ve poşeti fermuar ile kapatın.
- 3) Uygun sayıda SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) reaction tubes (mavi folyo) belirleyin ve ayırın ve şeritte karşılık gelen konumlarına yerleştirin (2. Yerleştirme pozisyonu, raftaki yeşil renkli kodlama. Şekil 1'e bakın).
 - a. Fazla havayı çıkartın ve alüminyum poşetleri fermuar ile kapatın.
 - b. Rehidrasyonu doğru şekilde gerçekleştirebilmek için, lütfen liyofilize ürünün tüpün dibinde olduğundan ve tüpün üst kısmına veya folyo kapamasına yapışmadığından emin olun. Tüm ürünün tüpün altında olduğundan emin olmak için her bir tüpü sert bir yüzeye hafifçe vurun.
 - i. Not: "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Rehidrasyon Tamponlu Çift Master Karışimli Konsantre Liyofilize MM (Tıp 5))" (Bölüm 8.3.1) biçimini seçerseniz, uygun sayıda ek SARS-CoV-2 reaction tubes (VIASURE SARS -CoV-2 (N1+N2) testi olması durumunda 1G folyo) belirleyin ve ayırın ve şeritteki karşılık gelen konumlarına oturtun (Snap konumu 4, rafta mavi renk kodlaması. Şekil 1'e bakın). Fazla havayı çıkartın ve alüminyum poşetleri fermuar ile kapatın.
- 4) Gerekli sayıda Rehydration Buffer tubes (11 folyo) çıkarın ve şeritteki konumlarına yerleştirin (3. Yerleştirme pozisyonu, raftaki renksiz kodlama. Şekil 1'e bakın). Fazla havayı çıkartın ve poşeti fermuar ile kapatın.
 - a. Aktarımı doğru şekilde gerçekleştirebilmek için, sıvının tüpün dibinde olduğundan ve tüpün üst kısmına veya folyo kapamasına yapışmadığından emin olun. Tüm tamponun tüpün altında olduğundan emin olmak için her tüpü sert bir yüzeye hafifçe vurun.

Şekil 1. BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit içindeki BD MAX™ TNA Reagent Strip (TNA).



8.3.3. BD MAX™ Cihaz kurulumu.

- 1) BD MAX™ System yazılımı v4.50A veya daha üstü sürümünde "Run" (Çalıştır) ekranında "Work List" (İş Listesi) sekmesini seçin.

- 2) "Test" aşağı açılır menüsünde VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) ögesini seçin II(+ L452R) (daha önce oluşturulmadıysa, Bölüm 8.3.1'e bakın).
- 3) Aşağı açılır menüden uygun kit parti numarasını (kullanılan ekstraksiyon kitinin dış kutusunda bulunur) seçin (isteğe bağlı).
- 4) Barkod tarayıcı ile tarayarak veya elle girerek İş Listesinin (Worklist) Sample tube (Numune tüpü) penceresine Sample Buffer Tube (Numune Tampon Tüpü) kimlik numarasını girin.
- 5) İş Worklist (Listesinin) Specimen/Patient ID and/or Accession (Numune/Hasta Kimliği ve/veya Erişim) penceresini doldurun ve "Save" (Kaydet) düğmesine tıklayın. Tüm Sample Buffer Tube ögeleri (Numune Tampon Tüpleri) girilene kadar devam edin. Numune/hasta kimliğinin ve Sample Buffer Tube ögesinin (Numune Tampon Tüplerinin) doğru şekilde eşleştiğinden emin olun.
- 6) Hazırlanan Sample Buffer Tube ögesini (Numune Tampon Tüpünü) BD MAX™ Racks'a yerleştirin.
- 7) Rafları BD MAX™ System'e yükleyin (A Rafı, BD MAX™ System'in sol tarafında ve B Rafı sağ tarafta yer alır).
- 8) BD MAX™ System'e gerekli sayıda BD MAX™ PCR Cartridges yerleştirin.
- 9) BD MAX™ System'in kapağını kapatın.
- 10) Prosedüre başlamak için "Start Run" (Çalıştırmaya Başla) düğmesine tıklayın.

8.3.4. BD MAX™ raporu

- 1) Ana menüde "Results" (Sonuçlar) düğmesine tıklayın.
- 2) Ya listenizdeki çalıştır tuşuna çift tıklayın ya da "view button"a (görüntüle düğmesi) basın.
- 3) "Print" (Yazdır) ögesine tıklayın ve: "Run Details, Test Details and Plot..." (Çalıştırma Detayları, Test Detayları ve Çizit....) ögesini seçin.
- 4) "Run Reports" (Raporları Çalıştır) ekranında "Print or Export" (Yazdır veya Dışa Aktar) düğmesine tıklayın.

9. Sonuçların yorumlanması

Verilerin nasıl analiz edileceğine dair ayrıntılı açıklama için, BD MAX™ System Kullanım Kılavuzuna bakın.

BD MAX™ System için VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System analizinin, SARS-CoV-2 RNA için pozitif sonuç veren numuneler üzerinde refleks olarak yapılması amaçlanmıştır. VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System ile birlikte SARS-CoV-2 RNA varlığı için durumu bilinmeyen örneklerde kullanılıyorsa, SARS-CoV-2 RNA sonucunun belirlenmesi için sonuçları yorumlama ile ilgili olarak lütfen bu kullanım talimatlarına bakın.

Verilerin analizi, üreticinin talimatlarına göre BD MAX™ yazılımı tarafından yapılır. BD MAX™ yazılımı, aşağıdaki şekilde test edilen her bir numunenin her bir tespit kanalı için Ct değerlerini ve amplifikasyon eğrilerini raporlar:

- 0'ın Ct değeri, belirtilen Eşik değerine sahip yazılım tarafından hesaplanan hiçbir Ct değerinin olmadığını gösterir (bkz. Tablo 3). "0" Ct değeri gösteren numunenin amplifikasyon eğrisi manuel olarak kontrol edilmelidir.

- -1'lik Ct değeri, amplifikasyon işleminin gerçekleşmediğini gösterir.

- Diğer herhangi bir Ct değeri, amplifikasyon eğrisi ile ilintili olarak ve Tablo 6'te verilen numune yorumlama kılavuzlarına göre yorumlanmalıdır.

Amplifikasyon karışımının doğru çalıştığını doğrulamak için Dahili Kontrol sinyalini kontrol edin. Ek olarak, herhangi bir BD MAX™ System hatası raporu olup olmadığını kontrol edin.

Sonuçlar aşağıdaki tabloyu kullanarak okunmalı ve analiz edilmelidir:

P681R mutasyon hedefi (475/520)	L452R mutasyon hedefi (530/565)	Endojen Dahili kontrol (585/630)	Yorumlama
+	-	+/- ¹	P681R mutasyonu Tespit edildi ¹
-	+	+/- ¹	L452R mutasyonu Tespit edildi ¹
+	+	+/- ¹	P681R mutasyonu ve L452R mutasyonu Tespit edildi ¹
-	-	+ ¹	P681R mutasyonu ve L452R mutasyonu Tespit edilmedi ¹
-	-	- ²	PCR reaksiyonunda inhibitörlerin olması ya da numune işleme ve/veya amplifikasyon adımlarında genel bir sorun (hata kodu ile rapor edilmemiş) meydana gelmesi durumunda Çözülenmemiş (UNR) Sonuç elde edilir.²
IND	IND	IND	Belirsiz tahlil sonucu (IND). BD MAX™ System arızası nedeniyle. Bir hata koduna bağlı cihaz arızası durumunda gösterilen tahlil sonucu.
INC	INC	INC	Eksik tahlil sonucu (INC). BD MAX™ System arızası nedeniyle. Çalışmanın tamamlanamaması durumunda gösterilen tahlil sonucu.

Tablo 6. Numunelerin yorumlanması.

+: Amplifikasyon meydana geldi.

-: Amplifikasyon meydana gelmedi.

1 Elde edilen Ct değeri 40'tan küçükse, numune pozitif olarak kabul edilir. Endojen Dahili Kontrol (IC) bir amplifikasyon sinyali gösterebilir veya göstermeyebilir. Bazen, hedefin yüksek kopya sayısı, hedefe özel nükleik asitlerin tercihi amplifikasyonuna neden olabileceğinden, IC tespiti gerekli değildir.

2 P681R mutasyonu ve L452R mutasyonu negatif bölgeleri hedeflerse, IC, Ct 35'ten düşük bir amplifikasyon sinyali göstermelidir. Endojen Dahili Kontrol, orijinal numunedeki tüm çekirdekli insan hücrelerinde bulunması gereken bir insan housekeeping geni olduğundan Ct değeri çok değişken olabilir. Endojen Dahili Kontrolde sinyal yokluğu veya ≥ 35 Ct değeri varsa, sonuç 'Çözülenmemiş' olarak kabul edilir ve yeniden test edilmesi gerekir.

En çok bilinen Endişe Verici Varyantlarda (VOC) bulunan aşağıdaki soylarla ilişkili mutasyonların özeti:

Soylar	WHO etiketi	S genindeki mutasyonlar ¹	
		P681R	L452R
B.1.617.1	Kappa	X	X
B.1.617.2	Delta	X	X

Tablo 7. Bilinen Endişe Verici Varyantlar (VOC) ile ilişkili mutasyonların özeti.

¹SARS-CoV-2 varyantlarının izlemesi: <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/> (veriler 2 Eylül 2021 itibarıyla günceldir).

²Varyantlara/Mutasyonlara genel bakış <https://covariants.org/variants> (veriler 2 Eylül 2021 itibarıyla günceldir).

Diğer varyantlar P681R ve L452R mutasyonlarını arz edebilir; çünkü bunlar bahsedilen varyantlara özgü değildir.

Bir soy için nihai atama, sekans ile yapılmalıdır.

Belirsiz sonucun devam etmesi durumunda, kullanma talimatlarının, kullanıcı tarafından kullanılan ekstraksiyon işleminin gözden geçirilmesi; her bir RT-qPCR adımının doğru performansının teyidi ve parametrelerin gözden geçirilmesi; ayrıca eğrinin sigmoid şeklinin ve flüoresans yoğunluğunun kontrol edilmesi önerilir.

Test sonuçları tıbbi geçmiş, klinik semptomlar ve diğer tanı testleri baz alınarak, bir sağlık uzmanı tarafından değerlendirilmelidir.

10. Testin kısıtlamaları

- Test sonuçları tıbbi geçmiş, klinik semptomlar ve diğer tanı testleri baz alınarak, bir sağlık uzmanı tarafından değerlendirilmelidir.
- Her ne kadar bu analiz diğer numune tipleriyle birlikte kullanılabilse de, nazofaringeal ve/veya orofaringeal swablar ile doğrulanmıştır.
- İyi bir test performansı için liyofilize ürün, tüpün altında olmalı ve tüpün üst alanına veya folyo kapamaya yapışmamalıdır. Tüm ürünün tüpün altında olduğundan emin olmak için her bir tüpü sert bir yüzeye hafifçe vurun.
- Reaksiyon karışımının, normalde tüpün altında, normalden farklı (konik şekil olmayan, homojen olmayan, boyut olarak daha küçük/daha büyük ve/veya beyazımsı renkten farklı) stabilize formatta görünümü, testin işlevini değiştirmez.
- Testin kalitesi numunenin kalitesine bağlıdır; solunum numunelerinden uygun şekilde ekstrakte edilmiş nükleik asitlerin varlığı önemlidir.
- Bu test kalitatif bir testtir ve kantitatif değerler sağlamaz veya mevcut organizma sayısını göstermez.
- Bu gibi durumlarda, tespit sınırının altında son derece düşük hedef seviyeleri tespit edilebilir, ancak sonuçlar tekrarlanamayabilir.
- Ct değeri 35 ile 40 arasında olan numuneler, elde edilen sonuçlarda daha fazla değişkenlik gösterebilir.
- S geninde P681R mutasyonu veya L452R mutasyonu olan SARS-CoV-2 RNA ile çapraz kontaminasyon, yüksek konsantrasyonlarda hedef RNA içeren numuneler veya önceki reaksiyonlardan PCR ürünlerine bağlı kontaminasyon nedeniyle yalancı pozitif sonuç olasılığı vardır.
- VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System ile kullanılan, P681R mutasyonu veya L452R mutasyonunun saptanmasına yönelik spesifik primer ve prob kombinasyonları, insan genomu, insan mikroflorası veya diğer koronavirüslerle, tahmin edilebilir yalancı pozitif sonuç ile neticelenebilecek önemli birleşik homologiler göstermez.
- Yalancı Negatif sonuçlar, aşağıdakiler dahil çeşitli faktörlerden ve bunların kombinasyonlarından kaynaklanabilir:
 - Uygun olmayan örneklerin toplanması, taşınması, depolanması ve/veya muamele yöntemleri.
 - Uygun olmayan işleme prosedürleri (RNA ekstraksiyonu dahil).
 - Numunelerin taşınması/depolanması ve/veya işlenmesi sırasında viral RNA'nın bozulması.
 - Primer veya prob bağlama bölgelerindeki mutasyonlar veya polimorfizmler, yeni veya bilinmeyen SARS-CoV-2 varyantın tespitini etkileyebilir.
 - Numunede test için tespit limitinin altında viral yük.

- RT-qPCR inhibitörlerinin veya diğer türden müdahale edici maddelerin varlığı. COVID-19'u önlemek için kullanılan veya enfeksiyonun tedavisi sırasında kullanılan aşuların, antiviral terapötik ajanların, antibiyotiklerin, kemoterapötik ajanların veya immünoşüpresan ilaçların etkileri değerlendirilmemiştir.
- Kullanım talimatlarına ve test prosedürüne uyulmaması.
- Orijinal klinik numunedeki düşük insan hücre sayısı nedeniyle bazı numuneler RNase P amplifikasyon eğrilerini gösteremeyebilir. Negatif bir IC sinyali, bir klinik numunede P681R mutasyonunun veya L452R mutasyonunun varlığını engellemez.
- Pozitif test sonucu, mutlaka canlı virüslerin varlığını göstermez ve bu virüslerin bulaşıcı olduğu veya klinik semptomlara neden olan ajanlar olduğu anlamına gelmez. Ancak pozitif sonuç, hedef viral dizilerin varlığının göstergesidir.
- P681R ve L452R mutasyonlarının varlığı Kappa (soy B.1.617.1) ve Delta (soy B.1.617.2) varyantları ile ilişkilidir; ancak bir soy için son atama sekans ile yapılmalıdır.
- Bu testin pozitif SARS-CoV-2 örnekleriyle kullanılması amaçlandığından, negatif sonuçlar SARS-CoV-2 RNA'sının varlığını engellemez.
- BD MAX™ System için VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System kullanılarak Çözümlememiş, Belirsiz veya Eksik sonuçların alınması durumunda, yeniden test yapılması gerekecektir. Çözümlememiş sonuçlar, numunede inhibitörlerin varlığından veya liyofilize edilmiş reaksiyon karışımı tüpünün yanlış rehidrasyonundan kaynaklanabilir. Bir cihaz arızası varsa, Belirsiz veya Eksik sonuçlar elde edilecektir.

11. Kalite kontrol

BD MAX™ System için VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, her reaksiyon tüpünde tekniğin doğru biçimde uygulandığını onaylayan Endojen Dahili bir Kontrol (IC) içerir.

12. Performans özellikleri

12.1. Klinik duyarlılık ve özgüllük

VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System'in klinik performansı, SARS-CoV-2 için hastalardan alınan zaten pozitif veya negatif olarak karakterize edilen klinik numuneler (nazofaringeal sürüntüler) kullanılarak test edilmiştir. Sonuçlar aşağıdaki gibiydi:

	Saha	Numune türü	İş akışı	Hedef
1	CerTest Biotec SL (Zaragoza, İspanya)	nazofaringeal sürüntü	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	P681R mutasyonu L452R mutasyonu

Tablo 8. Saha, numune türü, iş akışı ve hedef.

VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System için gerçek pozitif ve negatif değerler, yalancı pozitif ve negatif değerler, hassasiyet ve özgüllük, her bir karşılaştırmalı teste göre hesaplanmıştır ve aşağıdaki tabloda sunulmuştur:

Saha	Karşılaştırma testi	Hedef	TP	TN	FP	FN	Hassasiyet	Özgüllük
1	TaqPath COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kiti/ VIASURE SARS-CoV-2 Real Time PCR Detection Kit moleküler tahlil + sekanslama	P681R mutasyonu	99	98	0	1	%99 (93 – 99)	%100 (95 – 100)
		L452R mutasyonu	92	98	0	8	%92 (84 – 96)	%100 (95 – 100)

Tablo 9. VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System için gerçek pozitif (TP) ve negatif değerler (TN), yalancı pozitif (FP) ve negatif değerler (FN), hassasiyet, özgüllük.

Farklı numune matrislerinin (Viricell, Viral Transport Medium'da (VTM) nazofaringeal sürüntü, orofaringeal sürüntü ve nazofaringeal/orofaringeal sürüntü) uyumluluğunu değerlendirmek için bir uyumluluk çalışması yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, üç farklı numune matrisinin BD MAX™ System için VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. ile uyumlu olduğunu gösterdi.

VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R + L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System'in geçici klinik performansı tükürük numuneleri ile değerlendirildi. SARS-CoV-2'ye ait S genindeki P681R mutasyonu ve L452R mutasyonu için bilinen bir sentetik cDNA fragmanı konsantrasyonu ile spayklanmış negatif tükürük numuneleri test edildi. Değerlendirme, 20 pozitif numune (10 numune 2xLoD ve 10 numune 10xLoD) ve 10 negatif numune ile gerçekleştirilecek şekilde tasarlanmıştır. Bu test, TNA-3 Extraction Kit'in Sample Buffer Tube (SBT) içine eklenen her koşuldan 750 µl numune hacmi kullanılarak gerçekleştirildi ve BD MAX™ ExK™ TNA-3 kullanılarak tam işlem modunda (Otomatik ekstraksiyon ve PCR amplifikasyonu) çalışıldı.

Anlaşma yüzdesi, her bir numune için beklenen sonuca göre hesaplandı ve sonuçlar aşağıdaki tabloda gösterildi.

Tükürük numunesi	Anlaşma
Pozitif numuneler	%95
Negatif numuneler	%100

Tablo 10. VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R + L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System ile tükürük numuneleri arasındaki uyum yüzdesi.

Ayrıca, tükürük numuneleri kullanılarak VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R + L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System'in klinik performansını değerlendirmek için, nazofaringeal sürüntülerin ve tükürük numunelerinin karşılaştırmalı bir analizi yapılmıştır. 7 tükürük numunesi ve bunlara karşılık gelen nazofaringeal numune analiz edildi ve karşılaştırma sonucu %100 uyum gözlemlendi. Delta varyantı olarak karakterize edilen altı tükürük numunesinde her iki mutasyon (P681R ve L452R) da tespit edildi.

Hedef	TP	TN	FP	FN	Hassasiyet	Özgüllük
P681R mutasyonu	6	1	0	0	%100 (51 – 100)	-*
L452R mutasyonu	6	1	0	0	%100 (51 – 100)	-*

Tablo 11. VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System için gerçek pozitif (TP) ve negatif değerler (TN), yalancı pozitif (FP) ve negatif değerler (FN), hassasiyet, özgüllük.

* Negatif numunelerin sınırlı sayıda olması nedeniyle, testin klinik özgüllüğünün hesaplanması gerçekleştirilemedi.

Sonuç olarak, tükürük numuneleri, BD MAX™ System için VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R + L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System ile uyumluydu.

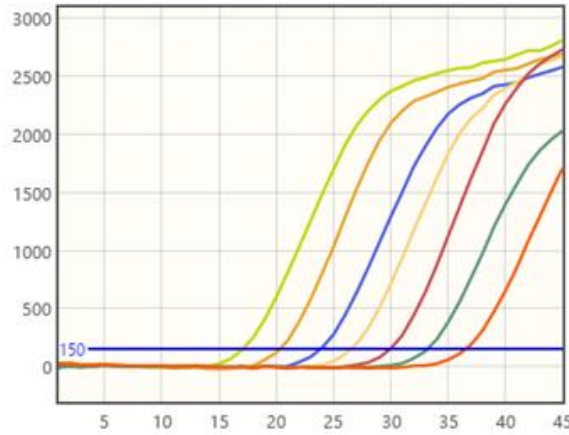
Sonuç, VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System kullanılarak P681R ve L452R mutasyonlarını saptamaya uyumlu ortaya koymuştur.

12.2. Analitik hassasiyet

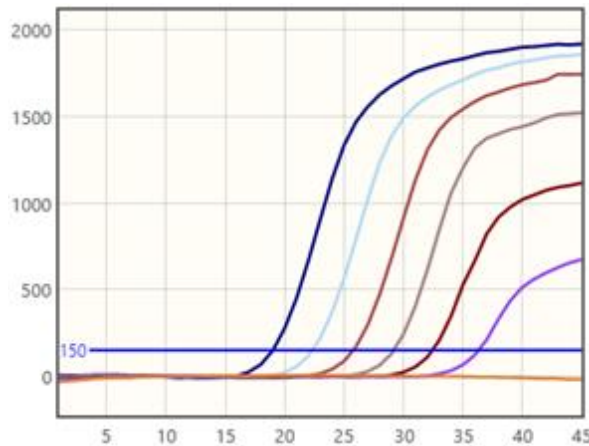
VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System için pozitif oranı \geq %95 olan tespit limiti (LoD) sonuçları aşağıdaki gibidir:

- VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, P681R mutasyonu için nazofaringeal numunelerde ≥ 40 RNA kopyası/reaksiyonu ve tükürük numunelerinde ≥ 250 RNA kopyası/reaksiyonu tespit limitine (LoD) sahiptir.
- VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, L452R mutasyonu için nazofaringeal numunelerde ≥ 40 RNA kopyası/reaksiyonu ve tükürük numunelerinde ≥ 500 RNA kopyası/reaksiyonu tespit limitine (LoD) sahiptir.

Şekil 2. SARS-CoV-2 Varyant II (P681R mutasyonu) (sentetik cDNA) (reaksiyon başına $5,3 \cdot 10^6$ - $5 \cdot 10^1$ kopyası) şablonu dilüsyon serisi BD MAX™ System (475/520 (FAM) kanalında çalışır).



Şekil 3. SARS-CoV-2 Variant II (L452R mutasyonu) (sentetik cDNA) (reaksiyon başına $5,3 \cdot 10^6$ - $5 \cdot 10^1$ kopyası) şablonunun seyreltme serisi BD MAX™ Sisteminde (530/565 (HEX) kanalında çalışır).



12.3. Analitik özgüllük

SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) testinin özgüllüğü, en yaygın solunum patojenlerini temsil eden farklı mikroorganizmalardan oluşan bir panel test edilerek doğrulanmıştır. Test edilen aşağıdaki mikroorganizmaların hiçbiri arasında çapraz reaktivite tespit edilmemiştir:

Çapraz reaktivite testi					
İnsan Adenovirus tipleri 1-5, 8, 15, 31, 40 ve 41	-	Influenza A/Singapore/GP1908/2015, IVR-180 (H1N1)pdm09 virüs	-	İnsan parainfluenza 1, 2, 3 ve 4 virüsleri	-
Bocavirus	-	Influenza A/Thüringen/5/17 (H3N2) virüsü	-	Pneumocytis jirovecii Tip A1 ve g885652	-
Bordetella bronchiseptica	-	Influenza A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2) virüsü	-	İnsan rinovirus	-
Bordetella holmesii	-	Influenza A/Hong Kong/4801/2014, NYMC X-263B (H3N2) virüsü	-	Respiratuvar sinsityal virüs (RSV) A/B	-
Bordetella parapertussis	-	Influenza A/DE-SH/Reiherente/AR8444/ 2016 (H5N8) virüsü	-	Staphylococcus aureus	-
Bordetella pertussis	-	Influenza A/Anhui/1/2013 (H7N9) virüsü	-	Streptococcus pneumoniae	-
Chlamydia caviae	-	Influenza B/Brisbane/60/2008 virüs	-	Streptococcus pyogenes	-
Chlamydia psittaci genotip A ve C	-	Influenza A/South Australia/55/2014, IVR-175	-	SARS Koronavirüs Suş Frankfurt 1	-
Chlamydophila pneumoniae CM-1	-	Influenza B/Phuket/3073/2013 virüs	-	İnsan 2019-nCoV suşu BetaCoV/Almanya/BavPat1/2020 s.1*	-
İnsan koronavirüs 229E, OC43, NL63 ve HKU1	-	Influenza B/Florida/04/06 virüs	-	İnsan 2019-nCoV suşu 2019-nCoV/İtalya-INMI1*	-
MERS Koronavirüs	-	Legionella bozemanii	-	MT007544.1 (SARS-CoV-2 isolate Australia/VIC01/2020)*	-
Enterovirüs Cocksackievirus A24, A9 ve B3	-	Legionella dumoffii	-	MN908947.3 (SARS-CoV-2 isolate Wuhan-Hu-1)*	-
Enterovirüs Echovirüs 30	-	Legionella longbeachae	-	SARS-CoV-2 suşu 2019nCoV/USAWA1/2020*	-
Enterovirüs 68, 71	-	Legionella micdadei	-	SARS-CoV-2 BetaCoV/Berlin/ChVir1670/2020_IsolatBER*	-
Haemophilus influenzae MinnA	-	Legionella pneumophila	-	SARS-CoV-2 BetaCoV/Munich/ChVir984/2020*	-
Influenza A/New Caledonia/20/99(H1N1) virüs	-	İnsan metapnömonivirüs A ve B	-	SARS-CoV-2 BetaCoV/Baden-Wuerttemberg/1/ChVir1577/2020_IsolatBER*	-
Influenza A/Victoria/210/2009 (H3N2)	-	Moraxella catarrhalis	-	SARS-CoV-2 B.1.1.7_710528 ve SARS-CoV-2 B.1.1.7_601443 soyları (Alfa Varyantı) *	-
Influenza A/California/7/2009(H1N1) pdm09 virüsü	-	Mycoplasma pneumoniae	-	SARS-CoV-2 B.1.351 soyu (Beta Varyantı) *	-
Influenza A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09 virüs	-	Mycobacterium tuberculosis	-	SARS-CoV-2 P.1 soyu (Gamma Varyantı) *	-

Tablo 12. Bu çalışmada kullanılan referans patojenik mikroorganizmalar.

* Lütfen bu SARS-CoV-2 suşlarının tespitinin bu testte dikkate alınmadığını unutmayın. Bu test, birkaç SARS-CoV-2 varyantında bulunan S genindeki P681R mutasyonu ve L452R mutasyonunun kalitatif tespiti için tasarlanmıştır.

12.4. Analitik reaktivite











VIASURE SARS-CoV-2 Variant II (P681R+L452R) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System'in reaktivitesi, Kappa varyantından (B.1.617.1 India/CT-ILSGS00361/2021) sentetik RNA kontrol numunelerine ve sekanslama ile Delta varyantı (B.1.617.2) olarak karakterize edilen ve pozitif sonuçlar gösteren klinik numunelere karşı değerlendirildi.

Bibliography/ Bibliyografi

1. Huang, C. *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 2020. DOI : 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
2. Zhu N. *et al.* A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine.*, 2020. DOI : 10.1056/NEJMoA2001017.
3. World Health Organization. MERS situation update. January 2020. Available from <https://applications.emro.who.int/docs/EMCSR254E.pdf?ua=1> Accessed June 2021.
4. Chen N. *et al.*. Epidemiological and Clinical Characteristics of 99 Cases of 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Pneumonia in Wuhan, China. *The Lancet*, 2020. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
5. Lv D.F. *et al.* Dynamic change process of target genes by RT-PCR testing of SARS-Cov-2 during the course of a Coronavirus Disease 2019 patient. *Clinica Chimica Acta* 2020; 506: 172-175.
6. World Health Organization. Clinical management of COVID-19 disease" Interim guidance 27 May 2020. Available from <https://www.who.int/publications/i/item/clinical-management-of-covid-19> Accessed June 2021.
7. Lu R. *et al.* Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*, 2020. DOI : 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
8. Rothe C. *et al.* Transmission of 2019-nCoV Infection from an Asymptomatic Contact in Germany. *New England Journal of Medicine*, 2020. DOI : 10.1056/NEJMc2001468.
9. Centers of Disease Control and Prevention (CDC). Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), Older Adults. Available from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/need-extra-precautions/older-adults.html> Accessed August 2021.
10. World Health Organization. Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases. Interim guidance. 19 March 2020. Available from <https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117> Accessed June 2021.
11. Yan Y *et al.* Laboratory testing of SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2 (2019-nCoV): Current status, challenges, and countermeasures. *Reviews in Medical Virology* 2020; 30(3):e2106.
12. Centers of Disease Control and Prevention (CDC). 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-time rRT-PCR Panel Primers and Probes. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/downloads/rt-pcr-panel-primer-probes.pdf> Accessed June 2021.
13. Chu D.K.W. *et al.* Molecular Diagnosis of a Novel Coronavirus (2019-nCoV) Causing an Outbreak of Pneumonia. *Clinical Chemistry* 2020;66(4): 549-555.
14. Corman V.M. *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *European communicable disease bulletin* 2020;25(3).
15. European Centre for Disease Prevention and Control. Novel coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: increased transmission in the EU/EEA and the UK – sixth update – 12 March 2020. Stockholm: ECDC; 2020. Available from <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/RRA-sixth-update-Outbreak-of-novel-coronavirus-disease-2019-COVID-19.pdf> Accessed June 2021.
16. Lim, Y. X., Ng, Y. L., Tam, J. P., & Liu, D. X. (2016). Human coronaviruses: a review of virus–host interactions. *Diseases*, 4(3), 26.
17. McBride R. *et al.* The coronavirus nucleocapsid is a multifunctional protein. *Viruses* 2014; 6(8):2991-3018.
18. Sheikh A. *et al.* Analysis of preferred codon usage in the coronavirus N genes and their implications for genome evolution and vaccine design. *Journal of Virological Methods* 2020; 277:113806.

19. World Health Organization. Public health surveillance for COVID-19. 16 December 2020. Available from [https://www.who.int/publications-detail/global-surveillance-for-human-infection-with-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/publications-detail/global-surveillance-for-human-infection-with-novel-coronavirus-(2019-ncov)) Accessed June 2021.
20. Enfermedad por coronavirus, COVID-19, Información Científica-técnica. Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias. Ministerio de Sanidad, España. 01-2021.
21. Centers of Disease Control and Prevention (CDC). Emerging SARS-CoV-2 Variants. Available from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/science-briefs/scientific-brief-emerging-variants.html> Accessed June 2021.
22. Centers of Disease Control and Prevention (CDC). SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions. Available from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-updates/variant-surveillance/variant-info.html> Accessed August 2021.

Symbols for IVD components and reagents/ IVD bileşenlerinin ve reaktiflerin sembolleri

 IVD	<i>In vitro</i> diagnostic device <i>In vitro</i> tanı cihazı	 Keep dry Kuru halde tutun	 Use by Son kullanma tarihi	 Manufacturer Üretici	 LOT	Batch code (Lot) Parti kodu (Lot)
 i	Consult instructions for use Kullanım talimatlarına bakın	 Temperature limitation Sıcaklık sınırlaması	 Contains sufficient for <n> test <n> testi için yeterli içerik	 DIL	 REF	Sample diluent Numune dilüsyonu Catalog number Katalog numarası

Trademarks

BD MAX™ is a registered trademark of Becton, Dickinson and Company.

Change Control / Kontrol Değişimi		
Version No. / Versiyon No.	Changes / Değişiklikler	Date / Tarih
00	Original version / Orijinal versiyon.	26/10/2021

Table A 2. Control change table/ Kontrol değişim tablosu.

Revision: 26 Ekim 2021

VIASURE



CerTest Biotec, S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II · Calle J, Nº1
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spain)

Tel. (+34) 976 520 354

Fax (+34) 976 106 268

certest@certest.es | viasure@certest.es

www.certest.es

One step ahead



F-566 rev01

