

VIASURE

Real Time PCR Detection Kit



Pneumocystis jirovecii
for BD MAX™ System

CE IVD



These instructions for use apply to the following reference / Denna bruksanvisning gäller för följande referens:

PRODUCT / PRODUKT	REFERENCE / REFERENS
VIASURE <i>Pneumocystis jirovecii</i> Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	444207 / VS-JIR124

Table A 1. Reference for product to be used with the BD MAX™ System. / Referens för produkt som ska användas med BD MAX™ System.

NOTE: Instructions for use (IFU) are included into the kit in English/Spanish version / Bruksanvisningar (IFU) ingår i paketet i engelsk/spansk version.

EN For download IFUs from other languages, please enter in certest.es/viasure/labeling. Once you be there, follow the instructions for access to the language that you need. If you need additional information, please contact: viasure@certest.es.

ES Para descargar las IFUS en otros idiomas, por favor, entre en certest.es/viasure/labeling. Una vez esté allí, siga las instrucciones para acceder al idioma que necesite. Si necesita información adicional, contacte: viasure@certest.es.

DA For at downloade IFUS fra andre sprog, skal du gå ind på certest.es/viasure/labeling. Når du er der, skal du følge instruktionerne for at få adgang til det sprog, du har brug for. Hvis du har brug for yderligere oplysninger, bedes du kontakte: viasure@certest.es.

DE Um den IFUS in anderen Sprachen herunterzuladen, gehen Sie bitte zu certest.es/viasure/labeling. Wenn Sie dort sind, folgen Sie den Anweisungen, um auf die gewünschte Sprache zuzugreifen. Wenn Sie weitere Informationen benötigen, wenden Sie sich an: viasure@certest.es.

FR Pour télécharger l'IFUS dans d'autres langues, veuillez vous rendre sur certest.es/viasure/labeling. Une fois sur place, suivez les instructions pour accéder à la langue dont vous avez besoin. Si vous avez besoin d'informations supplémentaires, contactez: viasure@certest.es.

IT Per scaricare l'IFUS in altre lingue, vai su certest.es/viasure/labeling. Una volta che sei lì, segui le istruzioni per accedere alla lingua di cui hai bisogno. Se hai bisogno di ulteriori informazioni, contatta: viasure@certest.es.

NO For å laste ned IFUS fra andre språk, vennligst skriv inn i certest.es/viasure/labeling. Når du er der, følg instruksjonene for tilgang til språket du trenger. Hvis du trenger ytterligere informasjon, vennligst kontakt: viasure@certest.es.

PT Para baixar o IFUS em outros idiomas europeus, acesse certest.es/viasure/labeling. Uma vez lá, siga as instruções para acessar o idioma que você precisa. Se você precisar de informações adicionais, entre em contato: viasure@certest.es.

SV För att ladda ner IFUS från andra språk, vänligen gå in på certest.es/viasure/labeling. När du är där följer du instruktionerna för att få tillgång till det språk du behöver. Om du behöver ytterligare information kan du kontakta: viasure@certest.es.

TR IFUS'u diğer dillerden indirmek için lütfen certest.es/viasure/labeling adresine girin. Oraya girdikten sonra, lütfen ihtiyacınız olan dile erişim için talimatları takip edin. Daha fazla bilgiye ihtiyacınız varsa, lütfen viasure@certest.es adresinden iletişime geçin.

Contact viasure@certest.es if your language is not on the list / Kontakta viasure@certest.es om ditt språk inte finns med på listan.

Note: The user should notify the manufacturer and the competent authority of the Member State in which he is established as a user and/or patient of any serious incident related to the product.

Anmärkning: Användaren ska underrätta tillverkaren och den behöriga myndigheten i den medlemsstat där han eller hon är etablerad som användare och/eller patient om alla allvarliga incidenter i samband med produkten.

Content

1.	Intended use.....	5
2.	Summary and Explanation	5
3.	Principle of the procedure	5
4.	Reagents provided	6
5.	Reagents and equipment to be supplied by the user	6
6.	Transport and storage conditions.....	6
7.	Precautions for users	7
8.	Test procedure	8
8.1.	Sample collection, storage and transport.....	8
8.2.	Sample preparation and DNA extraction	8
8.3.	PCR protocol	9
9.	Result interpretation	12
10.	Limitations of the test	13
11.	Quality control	14
12.	Performance characteristics.....	14
12.1.	Clinical sensitivity and specificity	14
12.2.	Analytical sensitivity	15
12.3.	Analytical specificity	15
12.4.	Analytical reactivity	16

Innehåll

1.	Avsedd användning	17
2.	Sammanfattning och förklaring.....	17
3.	Procedurprincip.....	17
4.	Medföljande reagenser.....	18
5.	Reagenser och utrustning som ska tillhandahållas av användaren.....	18
6.	Transport- och förvaringsförhållanden	18
7.	Försiktighetsåtgärder.....	19
8.	Testprocedur.....	20
8.1.	Insamling, förvaring och transport av prover	20
8.2.	Provberedning och DNA-extraktion	20
8.3.	PCR-protokoll.....	21

9.	Resultatfolkning	24
10.	Testets begränsningar.....	25
11.	Kvalitetskontroll.....	26
12.	Prestandaegenskaper	27
12.1.	Klinisk sensitivitet och specificitet	27
12.2.	Analytisk sensitivitet	28
12.3.	Analytisk specificitet.....	28
12.4.	Analytisk reaktivitet	29
	Bibliography/ Bibliografi.....	30
	Symbols for IVD components and reagents/ Symboler för IVD-komponenter och reagenser.....	30
	Trademarks.....	30

ENGLISH

1. Intended use

VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System is an automated real-time PCR test designed for the qualitative detection of *Pneumocystis jirovecii* DNA in respiratory samples (bronchoalveolar lavage) from patients suspected of respiratory infection by their healthcare professional (HCP). This test is intended to be used as an aid in the identification of *Pneumocystis jirovecii* in combination with patient's clinical signs and symptoms and epidemiological risk factors. The assay uses the BD MAX™ System for automated extraction of DNA and subsequent real-time PCR, employing the reagents provided combined with universal reagents and disposables for the BD MAX™ System. DNA from respiratory samples is detected using fluorescent reporter dye probes specific for *Pneumocystis jirovecii*.

2. Summary and Explanation

Pneumocystis jirovecii pneumonia (PCP) is an acute and life-threatening lung disease caused by the fungus *Pneumocystis jirovecii*. PCP is an important disease of immunocompromised humans, particularly patients with HIV, but also patients with an immune system that is severely suppressed for other reasons. In humans with a normal immune system, it is an extremely common silent infection. In developing regions of the world, the prevalence of PCP was once thought to be much lower, but studies have shown that the lower reported incidence is likely a failure to accurately diagnose.

The symptoms of PCP are nonspecific, in patients with HIV tends to present much later, often after several weeks of symptoms, compared with PCP associated with other immunocompromising conditions. Symptoms of PCP include the following: progressive exertional dyspnea, fever, non-productive cough, chest discomfort, weight loss, chills and hemoptysis (rare).

PCP is difficult to diagnose as a result of the associated nonspecific signs and symptoms. Because *P. jirovecii* cannot be propagated in culture, microscopic visualization of cysts or trophic forms in pulmonary specimens with cytochemical or immunofluorescent staining with monoclonal antibodies and/or DNA amplification are the standard procedures to detect this microorganism.

3. Principle of the procedure

VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System is designed for the qualitative detection of DNA from *Pneumocystis jirovecii* in respiratory samples. After DNA isolation, the identification of *Pneumocystis jirovecii* is performed by the amplification of a conserved region of the large-subunit (mt LSU) rRNA gene using specific primers and a fluorescent-labelled probe.

VIASURE *Pneumocystis jirovecii* 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 *Pneumocystis jirovecii* 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) in a stabilized format, as well as an internal control to monitor the extraction process and/or inhibition of the polymerase activity.

Target	Channel	Gene
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	475/520	Large-subunit (mt LSU) rRNA gene
Internal control (IC)	530/565	-

Table 1. Target, channel and genes.

4. Reagents provided

VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System includes the following materials and reagents detailed in Table 2:

Reagent/Material	Description	Barcode	Amount
<i>Pneumocystis jirovecii</i> reaction tube	A mix of enzymes, primers-probes, buffer, dNTPs, stabilizers and internal control in stabilized format	1D 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 *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System with Cat. N°: VS-JIR124 (444207).

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 *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

- Real-time PCR instrument: BD MAX™ System (Ref: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442828 or 442827).
- BD MAX™ PCR Cartridges (Ref: 437519).
- Vortex.
- Micropipettes (accurate between 2 and 1000 µL).
- N-Acetyl-L-cysteine (recommended N-Acetyl-L-cysteine Ref. A7250, Merck KGaA).
- Nuclease-free water.
- Filter tips.
- Powder-free disposable gloves.

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 aluminum pouches which contain the reaction tubes, the product can be used up to 24 months.

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 *Pneumocystis jirovecii* 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.

- 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 *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System has been tested on bronchoalveolar lavages (BALs). 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 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 4°C for up to 7 days, following the local and national regulations for the transport of pathogen material. For long term transport (more than 7 days), 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 4°C for up to 7 days or frozen at -20°C or ideally at -80°C for conservation. Repeated freeze-thaw cycles should be avoided in order to prevent degradation of the sample and nucleic acids.

The respiratory samples 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 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).

If sputum samples are used, they can be tested according to recommendations cited below.

8.2. Sample preparation and DNA 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.

1. Pipette 200 μL of BAL 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.
2. For sputum samples, add acetylcysteine (recommended N-Acetyl-L-cysteine Ref. A7250, Merck KGaA) to the sample at a 1:1 ratio (i.e. 250 μL of sputum and 250 μL of acetylcysteine 100 mg/ml), mix by vortexing and heat 95°C for 10 minutes. Pipette 200 μL of the pretreated sputum 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 *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System

Note: If you have already created the test for the VIASURE *Pneumocystis jirovecii* 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 *Pneumocystis jirovecii*.
- 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 an additional VIASURE for BD MAX test, 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 700 µL.
- 7) In the "Ct Calculation" select "Call Ct at Threshold Crossing".
- 8) If running software version 5.00 or higher and have barcoded foil snap-in tubes, in the "Custom Barcodes" select the following configuration:
 - a. Snap-In 2 Barcode: 1D (concerning *Pneumocystis jirovecii* reaction tube).
 - b. Snap-In 3 Barcode: 11 (concerning Rehydration Buffer tube).
 - c. Snap-In 4 Barcode: another reaction tube (different foil) if you choose 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 an additional VIASURE for BD MAX™ test, PCR Settings and Test Steps should be completed for snap 2 (green) and snap 4 (blue) positions.

Channel	Alias	Gain	Threshold	Ct Min	Ct Max
475/520 (FAM)	<i>P. jirovecii</i>	50	200	0	33*
530/565 (HEX)	IC	80	200	0	35
585/630 (ROX)	-	0	0	0	0
630/665 (Cy5)	-	0	0	0	0
680/715 (Cy5.5)	-	0	0	0	0

Table 3. PCR settings.

* The use of a clinical threshold of Ct 33 in this test system (equalling 3000 copies/ml) allows to distinguish between high and low fungal load and therefore provides valuable information that helps to differentiate between infected and colonized patient. This cut off was based on the reference values recovered from the literature as well as in the sensitivity and specificity values obtained in the clinical evaluation of the product. See Section 12. Performance characteristics.

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	-	0.0	0.0	0.0	0.0
	530/565	0.0	-	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
Initial denaturation	Hold	1	120	98°C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection)	2-Temperature	45	10	95°C	-
			41	63°C	✓

Table 5. PCR protocol.

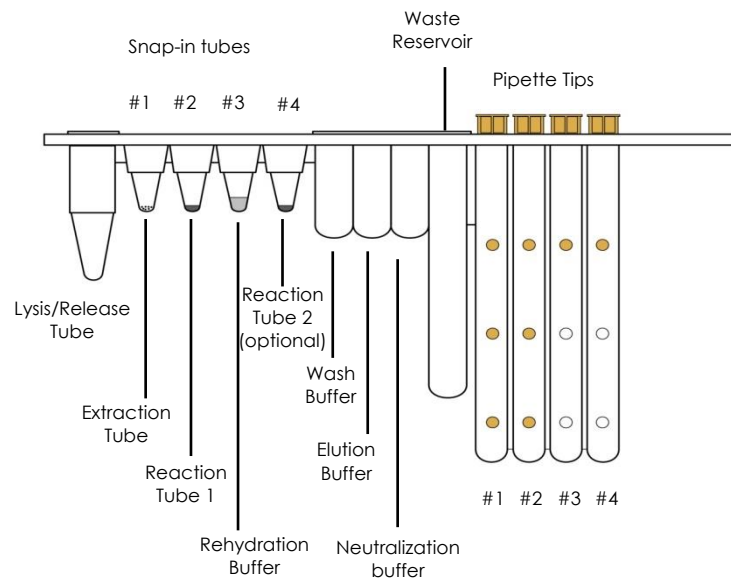
12) Click the "Save Test" button.

8.3.2. BD MAX™ Rack set up

- 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.
- 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.
- Determine and separate the appropriate number of *Pneumocystis jirovecii* reaction tubes (1D foil) and snap into their corresponding positions in the strip (Snap position 2, green color coding on the rack. See Figure 1).
 - Remove excess air, and close aluminum pouches with the zip seal.
 - 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.
 - 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 VIASURE reaction tubes (different foil) 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 aluminum 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 *Pneumocystis jirovecii* (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 analyze data, refer to the BD MAX™ System User's manual.

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 that meets the setting criteria.
- 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 analyzed using the following table:

<i>Pneumocystis jirovecii</i> (475/520)	Internal Control (530/565)	Interpretation
+	+/-1	<i>Pneumocystis jirovecii</i> DNA Detected ¹
-	+ ²	<i>Pneumocystis jirovecii</i> DNA Not Detected ²
-	_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	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	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 33. The 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 A sample is considered negative if the sample shows no amplification signal in the detection system, but the internal control is positive (Ct less than 35). An inhibition of the PCR reaction can be excluded by the amplification of internal control. In case of unresolved results (UNR), absence of internal control signal in negative sample it is recommended to repeat the assay following the indications below.

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 PCR steps and review the parameters; and to check the sigmoid shape of the curve and the intensity of fluorescence.

NOTE: New samples may be tested in the same run with repeat samples.

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 BAL. In addition, if sputum samples are used, they can be tested with the recommendations cited above.
- 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.
- There is a possibility of false positive results due to cross-contamination by *Pneumocystis jirovecii* suspicious samples containing high concentrations of target DNA or contamination due to PCR products from previous reactions.
- The specific primer and probe combinations for detection of the *mt LSU rRNA* gene used in VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System do not show significant combined homologies with the human genome, human microflora, or other respiratory microorganisms, 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 DNA extraction).
 - Degradation of the DNA during sample shipping/storage and/or processing.
 - Mutations or polymorphisms in primer or probe binding regions may affect detection of new or unknown *Pneumocystis jirovecii* strains.
 - Organism levels in the specimen below the limit of detection or cutoff for the assay.
 - The presence of qPCR inhibitors or other types of interfering substances.
 - Failure to follow instructions for use and the assay procedure.

- A positive test result does not necessarily indicate the presence of viable fungus and does not imply that these fungi are infectious or are the causative agents for clinical symptoms. However, a positive result is indicative of the presence of *Pneumocystis jirovecii* targets sequences.
- If diagnostic tests for other respiratory illnesses are negative and the patient's clinical presentation and epidemiological information suggest that *Pneumocystis* infection is possible, then a false negative result should be considered, and a re-testing of the patient should be discussed.
- A negative result does not preclude the presence of *Pneumocystis jirovecii* DNA in a clinical specimen. If clinical observations, patient history and epidemiological information suggest *Pneumocystis* infection, re-testing increasing sample volume should be considered.
- In the case of obtaining Unresolved, Indeterminate or Incomplete results using VIASURE *Pneumocystis jirovecii* 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 *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System contains an 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 *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System was tested using clinical samples (bronchoalveolar lavages) already characterized as positive or negative for *P. jirovecii*. The results were as follows:

	Site	Sample type	Workflow	Target
1	Institute of Medical Microbiology and Virology, Technische Universität Dresden (Germany)	Bronchoalveolar lavages	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	<i>P. jirovecii</i>

Table 7. Site, sample type, workflow and target.

True positive and negative values, false positive and negative values, sensitivity, and specificity for VIASURE *Pneumocystis jirovecii* 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	RealStar® <i>Pneumocystis jirovecii</i> PCR assay*	<i>P. jirovecii</i>	38	128	0	5	88% (79 – 94)	100% (98 – 100)

Table 8. True positive and negative values, false positive and negative values, sensitivity, specificity for VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

* RealStar® *Pneumocystis jirovecii* PCR assay is a qualitative assay, samples with concentrations of ≥ 3000 copies/ml were considered positive

Due to the importance of establishing a correct diagnosis, a cut off value was considered in order to obtain an estimation of the fungal burden and therefore distinguish between infected and colonized patient. This cut off was based on the reference values recovered from the literature (1. Louis M, Guitard J, Jodar M, et al. Impact of HIV infection status on interpretation of quantitative PCR for detection of pneumocystis jirovecii. J Clin Microbiol. 2015;53(12):3870-3875; 2. Fauchier T, Housseine L, Gari-Toussaint M, Casanova V, Marty PM, Pomares C. Detection of pneumocystis jirovecii by quantitative PCR to differentiate colonization and pneumonia in immunocompromised HIV-Positive and HIV-Negative Patients. J Clin Microbiol. 2016;54(6):1487-1495), as well as sensitivity and specificity values obtained in this clinical study. Fungal load higher than 3×10^4 copies/ml ($C_t < 30$) is very suggestive of *P. jirovecii* Pneumonia, while fungal load below 3×10^3 copies/ml ($C_t > 33$) usually corresponds to colonization.

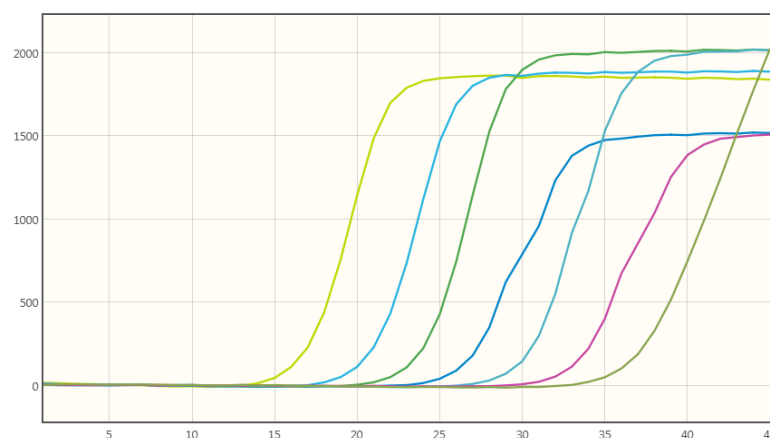
The comparator assay method used in the clinical evaluation was RealStar® Pneumocystis jirovecii PCR (Altona). This method provides quantification of the fungal load since Pneumocystis jirovecii quantification standards are included in each run. From the 43 samples that showed a quantification value $> 3 \times 10^3$ copies/ml using the comparator assay, 38 showed C_t value < 33 using VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. On the other hand, all the samples that showed a quantification value $< 3 \times 10^3$ copies/ml showed a C_t value > 33 or were negative.

Results show agreement to detect *Pneumocystis jirovecii* using VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

12.2. Analytical sensitivity

VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System has a detection limit (LoD) of 236 copies per reaction on bronchoalveolar lavages (BALs) with a positive rate of $\geq 95\%$:

Figure 2. Dilution series of *Pneumocystis jirovecii* (2.36×10^7 - 2.36×10^1 copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (475/520 (FAM) channel).



12.3. Analytical specificity

The specificity of the *Pneumocystis jirovecii* 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					
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	HHV6 strain Z29	-	<i>Legionella dumoffii</i>	-
Human Adenovirus types 1-5, 8, 15, 31, 40 and 41	-	HHV6 Type A	-	<i>Legionella longbeachae</i>	-
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	HHV6 Type B	-	<i>Legionella micdadei</i>	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	HSV-1 strain MacIntyre	-	<i>Legionella pneumophila</i>	-
BK Virus Type Ib-2	-	HSV-2 MS	-	<i>Listeria innocua</i> Serotype 6a/strain CCUG 15531	-
BK Virus Type IV	-	Influenza A/New Caledonia/20/99(H1N1) virus	-	<i>Listeria ivanovii</i> Serovar 5/strain CCUG 15528	-
Bocavirus	-	Influenza A/California/7/2009(H1N1)pdm09-like virus	-	<i>Listeria monocytogenes</i> Serotype 1/2b	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	-	Influenza A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09 virus	-	<i>Listeria monocytogenes</i> Serovar 4b/Strain CIP 59.53	-
<i>Bordetella holmesii</i>	-	Influenza A/Singapore/GP1908/2015, IVR-180 (H1N1)pdm09 virus	-	Human metapneumovirus A and B	-
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	Influenza A/Perth/16/2009(H3N2)-like virus	-	<i>Moraxella catarrhalis</i>	-
<i>Bordetella pertussis</i>	-	Influenza A/Thüringen/5/17 (H3N2) virus	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
<i>Candida albicans</i>	-	Influenza A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2) virus	-	Human parainfluenza 1, 2, 3 and 4 viruses	-
<i>Chlamydia caviae</i>	-	Influenza A/Hong Kong/4801/2014, NYMC X-263B (H3N2) virus	-	Parvovirus B19	-
<i>Chlamydia psittaci</i> genotype A and C	-	Influenza A/Turkey/Germany R2485+86/2014 (H5N8) virus	-	<i>Plasmodium falciparum</i> 3D7	-
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	-	Influenza A/DE-SH/Reiherente/AR8444/ 2016 (H5N8) virus	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
Citomegalovirus strain AD-169	-	Influenza A/Anhui/1/2013 (H7N9) virus	-	Respiratory syncytial virus (RSV)	-
Human coronavirus 229E, OC43 and NL63	-	Influenza B/Brisbane/60/2008-like virus	-	Human rhinovirus	-
MERS Coronavirus	-	Influenza B/Florida/04/06 virus	-	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	-
<i>Enterobacter aerogenes</i> Serotype Cloaca B	-	Influenza B/Phuket/3073/2013 virus	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
<i>Enterobacter cloacae</i> Serotype Cloaca A	-	JC Virus Type 1A	-	<i>Toxoplasma gondii</i> Type II	-
Epstein-Barr virus	-	JC Virus Type 2B	-	<i>Treponema pallidum</i>	-
<i>Escherichia coli</i> 0.1285;O18:H7:K1	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	Varicella-Zoster Virus Ellen	-
<i>Haemophilus influenzae</i> MinnA	-	<i>Legionella bozemanii</i>	-	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:3	-
Hepatitis A	-				

Table 9. Reference pathogenic microorganisms used in this study.

12.4. Analytical reactivity

The reactivity of VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System was evaluated against DNA extracted from *P. jirovecii* Type 1A, *P. jirovecii* g885652 and *P. jirovecii* j888023, showing positive results.

SVENSKA

1. Avsedd användning

VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System är ett automatiserat Realtids-PCR-test utformat för kvalitativ detektion av *Pneumocystis jirovecii* DNA i luftvägsprover (bronkoalveolärt lavage) från patienter som av sjukvårdspersonal misstänks ha luftvägsinfektion. Detta test är avsett att användas som en hjälp för identifiering av *Pneumocystis jirovecii* i kombination med patientens kliniska tecken och symtom samt epidemiologiska riskfaktorer. Analysen använder BD MAX™ System för automatiserad extraktion av DNA och efterföljande Realtids-PCR som använder medföljande reagenser kombinerade med universella reagenser och engångsartiklar för BD MAX™ System. DNA från luftvägsprover detekteras med fluorescerande rapportörfärgprober som är specifika för *Pneumocystis jirovecii*.

2. Sammanfattning och förklaring

Pneumocystis jirovecii-pneumoni(PCP) är en akut och livshotande lungsjukdom som orsakas av svampen *Pneumocystis jirovecii*. PCP är en huvudsaklig sjukdom hos immunkomprometterade personer, särskilt patienter med HIV, men även patienter med ett immunsystem som är svårt nedsatt av andra orsaker. Hos personer med ett normalt immunsystem är det en extremt vanlig tyst infektion. I världens utvecklingsregioner ansågs förekomsten av PCP en gång vara mycket lägre men studier har visat att den lägre rapporterade incidensen troligen beror på brist på korrekt diagnos.

Symtomen på PCP är ospecifika. Hos HIV-patienter brukar symtomen uppträda mycket senare, ofta efter flera veckor med symtom, jämfört med PCP förknippad med andra immunkomprometterande tillstånd. Symtom på PCP omfattar följande: progressiv ansträngningsdyspné, feber, icke-produktiv hosta, bröstobehag, viktminskning, frossa och hemoptys (sällsynt).

PCP är svår att diagnostisera som ett resultat av de relaterade ospecifika tecknen och symtomen. Eftersom *P. jirovecii* inte kan sprida ut sig i odling är mikroskopisk visualisering av cystor eller trofiska former i lungprover med cytokemisk färgning eller immunfluorescensfärgning med monoklonala antikroppar och/eller DNA-amplifiering standardprocedurer för att detektera denna mikroorganism.

3. Procedurprincip

VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System är utformat för kvalitativ detektion av DNA från *Pneumocystis jirovecii* i luftvägsprover. Efter DNA-isolering utförs identifiering av *Pneumocystis jirovecii* genom amplifiering av en konserverad region av den stora underenheten (mt LSU) rRNA-genen med användning av specifika primrar och en fluorescensmärkt prob.

VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System baseras på DNA-polymerasets 5'-exonukleasaktivitet. Under DNA-amplifieringen klyver detta enzym proben som är bunden till den komplementära DNA-sekvensen, vilket separerar quencher-färgen (släckare) från rapportören. Denna reaktion genererar en ökning

av fluorescenssignalen som är proportionell mot mängden av målmall. Denna fluorescens mäts på BD MAX™ System.

Varje rör av VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System innehåller alla de komponenter som krävs för realtids-PCR-analys (specifika primrar/prober, dNTP, buffert och polymeras) i stabiliserad form samt en intern kontroll för att övervaka extraktionsprocessen och/eller inhiberingen av polymerasaktiviteten.

Mål	Kanal	Gen
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	475/520	Stor underenhet (mt LSU) rRNA-gen
Intern kontroll (IC)	530/565	–

Tabell 1. Mål, kanal och gener.

4. Medföljande reagenser

VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System omfattar följande material och reagenser som anges i tabell 2:

Reagens/material	Beskrivning	Streckkod	Mängd
<i>Pneumocystis jirovecii</i> reaction tube	En blandning av enzymer, primrar, prober, buffert, dNTP, stabiliserande medel och intern kontroll i stabiliserad form	1D-folie	2 påsar med 12 genomskinliga rör
Rehydration Buffer tube	Lösning för att bereda den stabiliserade produkten	11-folie	1 påse med 24 genomskinliga rör

Tabell 2. Reagenser och material som medföljer VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System med kat. nr VS-JIR124 (444207).

5. Reagenser och utrustning som ska tillhandahållas av användaren

Följande lista omfattar material och utrustning som krävs för användning men som inte medföljer i VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

- Realtids-PCR-instrument: BD MAX™ System(Ref: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442828 eller 442827).
- BD MAX™ PCR Cartridges (Ref: 437519).
- Vortexblandare.
- Mikropipetter (noggrannhet mellan 2 och 1 000 µl).
- N-acetyl-L-cystein (rekommenderat N-acetyl-L-cystein Ref. A7250, Merck KGaA).
- Nukleasfritt vatten.
- Filterspetsar.
- Puderfria engångshandskar.

6. Transport- och förvaringsförhållanden

- Satserna kan transporteras och förvaras vid 2–40 °C fram till utgångsdatumet som anges på etiketten.

- Efter att ha öppnat de aluminiumpåsar som innehåller reaktionsrören kan produkten användas i upp till 24 månader.

7. Försiktighetsåtgärder

- Produkten är avsedd att användas enbart av yrkesmässiga användare, exempelvis laboratoriepersonal, sjukvårdspersonal och tekniker, vilka har utbildning i molekylärbiologiska tekniker.
- För *in vitro*-diagnostik.
- Använd inte utgångna reagenser och/eller utgången material.
- Använd inte satsen om etiketten som förseglar den yttre lådan är bruten.
- Använd inte reagenser om den skyddande lådan är öppen eller om förseglingen är bruten vid ankomst.
- Använd inte reagenser om de skyddande påsarna är öppna eller om förseglingen är bruten vid ankomst.
- Använd inte reagenser om torkmedel inte finns eller inte har fungerat i reagenspåsar.
- Ta inte ut torkmedel från reagenspåsar.
- Stäng reagensernas skyddande påsar med blixtlåsförseglingen direkt efter varje användning. Avlägsna eventuell luft i påsarna före försegling.
- Använd inte reagenser om folien är bruten eller skadad.
- Blanda inte reagenser från olika påsar och/eller satser och/eller partier.
- Skydda reagenser från fukt. Längre tids exponering för fukt kan påverka produktprestanda.
- Förvara komponenter borta från ljus.
- I fall då andra PCR-tester utförs i samma allmänna område av laboratoriet måste varsamhet iakttas för att säkerställa att VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, BD MAX™ ExK™ TNA-3 extraction kit, ytterligare reagenser som krävs för testning och BD MAX™ System inte är kontaminerade. Undvik alltid kontamination av reagenser från mikroorganismer och ribonukleas (RNas)/deoxyribonukleas (DNas). Användning av sterila, RNas/DNas-fria och aerosolresistent pipettspetsar eller pipettspetsar av typen positiv förskjutning ("positive displacement") rekommenderas. Använd en ny spets för varje prov. Skyddshandskar måste bytas före hantering av reagenser och kassetter (BD MAX™ PCR Cartridge).
- I syfte att undvika kontamination av miljön med amplikoner ska BD MAX™ PCR Cartridge inte brytas itu efter användning. Tätningarna på BD MAX™ PCR Cartridge är utformade för att förhindra kontamination.
- Utforma ett enkelriktat arbetsflöde. Det bör börja i extraktionsområdet och sedan flytta till amplifierings- och detektionsområdet. Flytta inte prover, utrustning och reagenser tillbaka till området där det föregående steget utfördes.
- Följ god laboratoriesed. Bär skyddskläder, använd engångshandskar, skyddsglasögon och mask. Ät inte, drick inte, rök inte och använd inte smink i arbetsområdet. Tvätta händerna efter att testet har slutförts.
- Prover måste behandlas som potentiellt smittförande och/eller biofarliga, precis som alla reagenser och allt material som har exponerats för proverna. De måste hanteras enligt nationella säkerhetsbestämmelser. Vidta nödvändiga försiktighetsåtgärder vid insamling, transport, förvaring, hantering och kassering av prover.
- Prover och reagenser måste hanteras i ett biologiskt säkerhetskåp. Använd personlig skyddsutrustning som uppfyller gällande riktlinjer för hantering av potentiellt smittsamma prover. Kassera avfall enligt lokala och nationella bestämmelser.

- Regelbunden dekontaminering av den utrustning som används ofta rekommenderas, särskilt mikropipetter och arbetsytor.
- I enlighet med direktiv (EG) nr 1907/2006 (REACH) krävs inte materialsäkerhetsdatablad (Safety Data Sheets) för "VIASURE Real Time PCR Detection Kit", pga. dess klassificering som ofarlig för hälsa och miljö, eftersom den inte innehåller ämnen och/eller blandningar som uppfyller kriterierna i direktiv (EG) nr 1272/2008 (CLP), eller förekommer i koncentrationer högre än det värde som fastställts för deklaration enligt nämnda direktiv.
- Se användarhandboken för BD MAX™ System för ytterligare varningar, försiktighetsåtgärder och procedurer.

8. Testprocedur

8.1. Insamling, förvaring och transport av prover

VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System har testats på prover tagna med bronkoalveolärt lavage (BAL). Andra typer av prover måste valideras av användaren.

Insamling, förvaring och transport av prover ska utföras enligt de villkor som validerats av användaren. I allmänhet ska luftvägsprover samlas in och märkas på lämpligt sätt i rena behållare med eller utan transportmedia (beroende på provtyp) och bearbetas så snart som möjligt för att garantera testets kvalitet. Proverna får transporteras vid 4 °C i upp till 7 dagar enligt lokala och nationella bestämmelser för transport av patogent material. För långvarig transport (mer än 7 dagar) rekommenderar vi transport vid ≤ -20 °C eller lägre. Användning av färska prover rekommenderas för testet. Proverna kan förvaras vid 4 °C i upp till 7 dagar eller frysta vid -20 °C eller helst vid -80 °C för bevarande. Upprepade nedfrysningar och upptiningar bör undvikas för att förhindra nedbrytning av provet och nukleinsyror.

Luftvägsproverna måste samlas in, transporteras och förvaras enligt lämpliga laboratorieriktlinjer. Se CDC:s riktlinje för mer information (Specimen collection guidelines). Webbplats <https://www.cdc.gov/urdo/downloads/SpecCollectionGuidelines.pdf>) och IDSA-riktlinje (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: uppdaterad 2018 av Infectious Diseases Society of America och American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94).

Om sputumprover används kan de testas enligt rekommendationer angivna nedan.

8.2. Provberedning och DNA-extraktion

Utför provberedning enligt rekommendationerna i bruksanvisningen för extraktionssatsen som används, BD MAX™ ExK™ TNA-3. Observera att vissa andra prover kan kräva förbearbetning. Tillämpningsspecifika procedurer för extraktionsförberedelse ska utvecklas och valideras av användaren.

1. Pipettera 200 µl BAL i ett BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube och stäng röret med ett membranlock. Säkerställ fullständig blandning genom att vortexa provet vid hög hastighet i 1 minut. Fortsätt till drift av BD MAX™ System.
2. För sputumprover tillsätter du acetylcystein (rekommenderat N-acetyl-L-cystein Ref. A7250, Merck KGaA) till provet vid en förhållande på 1:1 (d.v.s. 250 µl sputum och 250 µl acetylcystein 100 mg/ml), blanda genom att

vortexa och värm till 95 °C i 10 minuter. Pipettera 200 µl förberett sputumprov i ett BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube och stäng röret med ett membranlock. Säkerställ fullständig blandning genom att vortexa provet vid hög hastighet i 1 minut. Fortsätt till drift av BD MAX™ System.

8.3. PCR-protokoll

Obs! Se användarhandboken för BD MAX™ System för detaljerade anvisningar.

8.3.1. Skapa PCR-testprogram för VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System

Obs! Om du redan har skapat testet VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System kan du hoppa över steg 8.3.1 och gå direkt till 8.3.2.

- 1) Välj fliken "Test Editor" (Testredigerare) på skärmen "Run" (Kör) på BD MAX™ System.
- 2) Klicka på knappen "Create" (Skapa).
- 3) Döp testet, dvs. VIASURE *Pneumocystis jirovecii*, i fönstret "Test Name" (Testnamn) på fliken för grundläggande information.
- 4) Välj "ExK TNA-3" i listrutan "Extraction Type" (Extraktionstyp).
- 5) Välj "Type 5" (Typ 5) i listrutan "Master Mix Format" (Masterblandningsform).
 - a. Obs! Produkten kan användas i kombination med ett ytterligare VIASURE for BD MAX-test och välj då "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Dubbel masterblandning – koncentrerad frystorkad masterblandning med rehydreringsbuffert (typ 5)).
- 6) Välj "User defined" (Användardefinierad) i "Sample extraction parameters" (Provextraktionsparametrar) och justera provvolymen till 700 µl.
- 7) Välj "Call Ct at Threshold Crossing" (Hämta Ct vid tröskelvärdesgräns) i "Ct Calculation" (Ct-beräkning).
- 8) Välj följande konfiguration i "Custom Barcodes" (Anpassa streckkoder) om du kör programvaruversion 5.00 eller senare och använder streckkodade och folieförsedda rör som ska knäppas fast:
 - a. Snap-In 2 Barcode (Streckkod för rör 2): 1D (gällande reaktionsrör för *Pneumocystis jirovecii* reaction tube).
 - b. Snap-In 3 Barcode (Streckkod för rör 3): 11 (gällande Rehydration Buffer tube).
 - c. Snap-In 4 Barcode (Streckkod för rör 4): en annan reaction tube (annan folie) om du väljer formen "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Dubbel masterblandning – koncentrerad frystorkad masterblandning med Rehydration Buffer (typ 5)) (avsnitt 8.3.1).
- 9) Ange följande parametrar på fliken "PCR settings" (PCR-inställningar): "Channel Settings" (Kanalinställningar), "Gains" (Förstärkningar) och "Threshold" (Tröskelvärde) (tabell 3).
 - a. Obs! Produkten kan användas i kombination med ett ytterligare VIASURE for BD MAX™-test och PCR-inställningar och teststeg ska slutföras för positionerna för rör 2 (grön) och rör 4 (blå).

Channel (Kanal)	Alias (Alias)	Gain (Förstärkning)	Threshold (Tröskelvärde)	Ct Min (Ct min)	Ct Max (Ct max)
475/520 (FAM)	<i>P. jirovecii</i>	50	200	0	33*
530/565 (HEX)	IC	80	200	0	35
585/630 (ROX)	-	0	0	0	0
630/665 (Cy5)	-	0	0	0	0
680/715 (Cy5.5)	-	0	0	0	0

Tabell 3. "PCR settings" (PCR-inställningar).

* Användningen av ett kliniskt tröskelvärde på Ct 33 i detta testsystem (samma som 3 000 kopior/ml) möjliggör urskilning mellan hög och låg svampbelastning och tillhandahåller därför värdefull information som hjälper att differentiera mellan en infekterad och koloniserad patient. Detta brytvärde baserades på referensvärden från litteraturen såväl som sensitivitets- och specificitetsvärden erhållna från klinisk utvärdering av produkten. Se avsnitt 12. Prestandaegenskaper.

Obs! Det rekommenderas att ställa in de minimitröskelvärden som anges ovan för varje kanal som en startpunkt. De slutliga inställningarna måste dock fastställas av slutanvändaren under resultatolkningen. Detta för att säkerställa att tröskelvärdena faller inom fluorescenskurvornas exponentiella fas och över eventuell bakgrundssignal. Tröskelvärdet för olika instrument kan variera på grund av olika signalintensiteter.

10) Ange även följande parametrar "Spectral Cross Talk" (Spektral överhörning) på fliken "PCR settings" (PCR-inställningar) (tabell 4).

		False Receiving Channel (Falsk mottagarkanal)					
		Channel (Kanal)	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Excitationskanal)	475/520	-	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	530/565	0,0	-	0,0	0,0	0,0	0,0
	585/630	0,0	0,0	-	0,0	0,0	0,0
	630/665	0,0	0,0	0,0	-	0,0	0,0
	680/715	0,0	0,0	0,0	0,0	-	0,0

Tabell 4. Parametrar för "Spectral Cross Talk" (spektral överhörning).

11) Ange PCR-protokollet på fliken "Test Steps" (Teststeg) (tabell 5).

Step Name (Stegnamn)	Profile Type (Profiltyp)	Cycles (Cykler)	Time (s) (Tid (s))	Temperature (Temperatur)	Detect (Detektion)
Initial denaturation (Inledande denaturering)	Uppehåll	1	120	98 °C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Denaturering och hybridisering/förlängning (datainsamling))	2-temperatur	45	10	95 °C	-
			41	63 °C	✓

Tabell 5. PCR-protokoll.

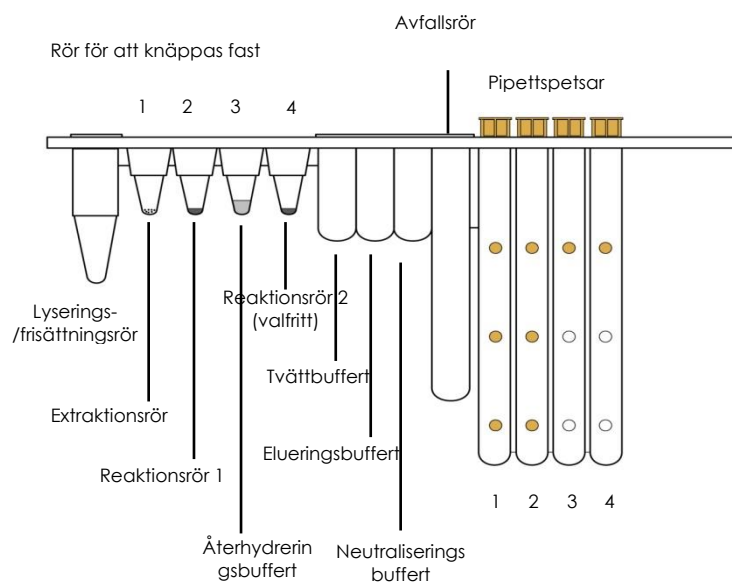
12) Klicka på knappen "Save Test" (Spara test).

8.3.2. Installation av BD MAX™-ställ

1) För varje prov som ska testas ska du ta ut en Unifized Reagent Strips från BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit. Knacka försiktigt varje remsa mot en hård yta för att säkerställa att alla vätskor finns på rörens botten och ladda den på provrörstället för BD MAX™ System.

- 2) Ta ut nödvändigt antal BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (B4) (vit folie) från den skyddande påsen. Knäpp fast extraktionsrören (vit folie) på motsvarande positioner på TNA-remsan (rörposition 1, vit färgkodning på stället, se figur 1). Avlägsna överskott av luft och stäng påsen med blixtlåsförseglingen.
- 3) Bestäm och separera lämpligt antal *Pneumocystis jirovecii* reaction tubes (1D-folie) och knäpp fast dem på motsvarande positioner på remsan (rörposition 2, grön färgkodning på stället, se figur 1).
 - a. Avlägsna överskott av luft och stäng aluminiumpåsarna med blixtlåsförseglingen.
 - b. Utför en korrekt rehydrering genom att se till att den frystorkade produkten finns på rörets botten och att den inte klibbar fast på rörets övre del eller på folieförseglingen. Knacka försiktigt varje rör mot en hård yta för att se till att all produkt hamnar på botten av röret.
 - i. Obs! Om du väljer formatet "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Dubbel masterblandning – koncentrerad frystorkad masterblandning med återhydreringsbuffert (typ 5)) (avsnitt 8.3.1) ska du bestämma och separera lämpligt antal ytterligare VIASURE reaction tubes (annan folie) och knäppa fast dem på motsvarande positioner på remsan (rörposition 4, blå färgkodning på stället, se figur 1). Avlägsna överskott av luft och stäng aluminiumpåsarna med blixtlåsförseglingen.
- 4) Ta ut lämpligt antal Rehydration Buffer tube (11-folie) och knäpp fast rören på motsvarande positioner på remsan (rörposition 3, färglös kodning på stället, se figur 1). Avlägsna överskott av luft och stäng påsen med blixtlåsförseglingen.
 - a. Utför en korrekt överföring genom att se till att vätskan finns på rörets botten och att den inte klibbar fast på rörets övre del eller på folieförseglingen. Knacka försiktigt varje rör mot en hård yta för att se till att all buffert hamnar på botten av röret.

Figur 1. BD MAX™ TNA Reagent Strip (TNA) från BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit.



8.3.3. Inställning av BD MAX™-instrument

- 1) Välj fliken "Work List" (Arbetslista) på skärmen "Run" (Kör) i programvara v4.50A eller senare för BD MAX™ System.
- 2) I listrutan "Test" (Test) väljer du VIASURE *Pneumocystis jirovecii* (se avsnitt 8.3.1 om det inte redan har skapats).

- 3) Välj lämpligt satslotnummer (finns angivet på den använda extraktionssatsens ytterlåda) från listrutan (valfritt).
- 4) Ange Sample Buffer Tube-identifikationsnumret i fönstret för provrör i arbetslistan, antingen genom att läsa av streckkoden med en streckkodsläsare eller genom manuell inmatning.
- 5) Fyll i fönstret för prov-/patient-ID och/eller accession i arbetslistan och klicka på knappen "Save" (Spara). Fortsätt tills alla Sample Buffer Tubes har angivits. Säkerställ att prov-/patient-ID och Sample Buffer Tubes nogga överensstämmer.
- 6) Placera det förberedda Sample Buffer Tube i BD MAX™ Rack(s).
- 7) Ladda stället/ställen i BD MAX™ System (ställ A är positionerat på den vänstra sidan av BD MAX™ System och ställ B på dess högra sida).
- 8) Placera lämpligt antal BD MAX™ PCR Cartridge i BD MAX™ System.
- 9) Stäng luckan på BD MAX™ System.
- 10) Klicka på "Start Run" (Starta körning) för att påbörja proceduren.

8.3.4. BD MAX™-rapport

- 1) Klicka på knappen "Results" (Resultat) i huvudmenyn.
- 2) Dubbelklicka antingen på din körning i listan eller tryck på "visningsknappen".
- 3) Klicka på "Print" (Skriv ut) och välj: "Run Details, Test Details and Plot..." (Körningsinformation, testinformation och kurva ...).
- 4) Klicka på knappen "Print or Export" (Skriv ut eller exportera) på skärmen "Run Reports" (Körningsrapport).

9. Resultatolkning

Se användarhandboken för BD MAX™ System för en detaljerad beskrivning av dataanalys.

Dataanalys utförs av BD MAX™-programvaran enligt tillverkarens anvisningar. BD MAX™-programvaran rapporterar Ct-värden och amplifieringskurvor för varje detektorkanal för varje testat prov på följande sätt:

- Ct-värde på 0 anger att det inte fanns något Ct-värde beräknat av programvaran med det specificerade tröskelvärdet (se tabell 3). Amplifieringskurvan för provet med ett Ct-värde på 0 måste kontrolleras manuellt.
- Ct-värde på -1 anger att ingen amplifieringsprocess har inträffat som uppfyller inställningskriterierna.
- Ett annat Ct-värde ska tolkas i korrelation med amplifieringskurvan och enligt riktlinjerna för provtolkning som finns i tabell 6.

Kontrollera signalen för den interna kontrollen för att bekräfta korrekt funktion av amplifieringsblandningen. Kontrollera dessutom att det inte föreligger någon rapport om fel på BD MAX™ System.

Resultat bör avläsas och analyseras med hjälp av följande tabell:

<i>Pneumocystis jirovecii</i> (475/520)	Intern kontroll (530/565)	Tolkning
+	+/- ¹	<i>Pneumocystis jirovecii</i> DNA detekterad ¹
-	+ ²	<i>Pneumocystis jirovecii</i> DNA icke-detekterad ²
-	- ²	Olösta resultat (UNR) erhålls när det förekommer inhibitorer i PCR-reaktionen eller när ett allmänt problem (som inte rapporterats av en felkod) inträffar under bearbetningen av provet och/eller amplifieringen.²
IND	IND	Obestämt analysresultat (IND). Beror på fel på BD MAX™ System. Analysresultat som visas vid instrumentfel som är kopplade till en felkod.
INC	INC	Ofullständigt analysresultat (INC). Beror på fel på BD MAX™ System. Analysresultat som visas om körningen inte kan slutföras.

Tabell 6. Provtolkning.

+: Amplifiering inträffade.

-: Ingen amplifiering inträffade.

1 Ett prov anses vara positivt om Ct-värdet som erhålls är lägre än 33. Den interna kontrollen (IC) kan eller kan inte uppvisa en amplifieringssignal. Ibland är IC-detektion inte nödvändig eftersom ett stort antal kopior av målskvensen kan orsaka föredragen amplifiering av målspecifika nukleinsyror.

2 Ett prov anses vara negativt om provet inte visar någon amplifieringssignal i detektionssystemet men den interna kontrollen är positiv (Ct-värde lägre än 35). En inhibering av PCR-reaktionen kan uteslutas genom amplifieringen av den interna kontrollen. I fall av olösta resultat (UNR), frånvaro av signal för den interna kontrollen i negativa prover, rekommenderas att analysen upprepas genom att följa nedanstående indikationer.

Om ett tvetydigt resultat visas kontinuerligt rekommenderas att konsultera bruksanvisningen, granska den använda extraktionsprocessen, verifiera korrekt prestanda för varje PCR-steg och granska parametrarna samt att kontrollera den sigmoida formen på kurvan och fluorescensintensiteten.

Obs! Nya prover kan testas i samma körning med upprepade prover.

Resultat av testet bör utvärderas av sjukvårdspersonal med beaktande av medicinsk anamnes, kliniska symtom och andra diagnostiska tester.

10. Testets begränsningar

- Resultat av testet bör utvärderas av sjukvårdspersonal med beaktande av medicinsk anamnes, kliniska symtom och andra diagnostiska tester.
- Även om denna analys kan användas med andra typer av prover, har den validerats med BAL-prover. Dessutom om sputumprover används kan de testas enligt rekommendationer angivna nedan.
- Den frystorkade produkten ska finnas i botten av röret för god testprestanda och inte häfta fast vid rörets överdel eller folieförseglingen. Knacka försiktigt varje rör mot en hård yta för att se till att all produkt hamnar på botten av röret.
- Testets funktion påverkas inte om reaktionsblandningen i stabiliserad form, vanligtvis i botten av röret, inte ser ut som vanligt (utan konisk form, icke-homogen, mindre/större i storlek och/eller annan färg än vit).

- Testets kvalitet beror av provets kvalitet. Extraktion av nukleinsyra från luftvägsprover måste ske på lämpligt sätt.
- Detta test är kvalitativt och ger inga kvantitativa värden och anger inte antalet förekommande organismer.
- Extremt låga nivåer av mål under detektionsgränsen kan detekteras, men resultaten är kanske inte reproducerbara.
- Det finns en risk för falskt positiva resultat på grund av korskontamination av prover som misstänks innehålla *Pneumocystis jirovecii* med höga koncentrationer av mål-DNA eller kontamination på grund av PCR-produkter från tidigare reaktioner.
- Den specifika kombinationen av primer/prob för detektion av *mt LSU rRNA-genen som används i VIASURE Pneumocystis jirovecii Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System* uppvisar inte signifikanta kombinerade homologier med humangenom, humanmikroflora eller andra luftvägsmikroorganismer, vilket kan resultera i förutsägbart falskt positivt resultat.
- Falskt negativa resultat kan inträffa på grund av flera faktorer och kombinationer av dessa, inklusive:
 - Olämplig insamling, transport, förvaring och/eller hantering av prover.
 - Olämpliga processförfaranden (inklusive DNA-extraktion).
 - Nedbrytning av DNA under provtransport/-förvaring och/eller bearbetning.
 - Mutationer eller polymorfismer i primer- eller probbindande regioner kan påverka detektion av nya eller okända stammar av *Pneumocystis jirovecii*.
 - Organismnivåer i provet under analysens detektionsgräns eller brytvärde.
 - Förekomsten av qPCR-inhibitorer eller andra typer av störande ämnen.
 - Underlåtelse att följa bruksanvisningar och analysförfarandet.
- Ett positivt testresultat anger inte nödvändigtvis förekomsten av livskraftiga svampar och antyder inte att dessa svampar är smittsamma eller orsakar kliniska symtom. Ett positivt resultat anger dock förekomsten av *Pneumocystis jirovecii*-målsekvenser.
- Om diagnostiska tester för andra luftvägssjukdomar är negativa och patientens kliniska presentation och epidemiologisk information antyder att infektion av *Pneumocystis* är möjlig, ska förekomsten av ett falskt negativt resultat övervägas och en omtestning av patienten bör diskuteras.
- Ett negativt resultat utesluter inte förekomsten av *Pneumocystis jirovecii*-DNA i ett kliniskt prov. Om kliniska observationer, patientens anamnes och epidemiologisk information antyder att infektion av *Pneumocystis* föreligger bör omtestning övervägas med ökad provvolym.
- Om resultaten blir olösta, obestämda eller ofullständiga med användning av *VIASURE Pneumocystis jirovecii Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System* krävs omtestning. Olösta prover kan orsakas av förekomsten av inhibitorer i provet eller en inkorrekt återhydrering av röret med frystorkad reaktionsblandning. Om det föreligger ett instrumentfel kommer obestämda eller ofullständiga resultat att erhållas.

11. Kvalitetskontroll

VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System innehåller en intern kontroll (IC) i varje reaktionsrör som bekräftar korrekt prestanda för tekniken.

12. Prestandaegenskaper

12.1. Klinisk sensitivitet och specificitet

Den kliniska prestandan för VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System har testats med hjälp av kliniska prover (bronkoalveolärt lavage) som redan har identifierats som positiva eller negativa för *P. jirovecii*. Resultaten var enligt följande:

	Plats	Provtyp	Arbetsflöde	Mål
1	Institute of Medical Microbiology and Virology, Technische Universität Dresden (Tyskland)	Bronkoalveolärt lavage-prover	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	<i>P. jirovecii</i>

Tabell 7. Plats, provtyp, arbetsflöde och mål.

Sanna positiva och negativa värden, falska positiva och negativa värden, sensitivitet och specificitet för VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System beräknades i relation till respektive jämförelseanalys, i enlighet med följande tabell:

Plats	Jämförelseanalys	Mål	TP	TN	FP	FN	Sensitivitet	Specificitet
1	RealStar® <i>Pneumocystis jirovecii</i> PCR-analys*	<i>P. jirovecii</i>	38	128	0	5	88 % (79–94)	100 % (98–100)

Tabell 8. Sanna positiva (TP) och negativa (TN) värden, falskt positiva (FP) och negativa (FN) värden, sensitivitet, specificitet för VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

* RealStar® *Pneumocystis jirovecii* PCR-analys är en kvalitativ analys, prover med koncentrationer på $\geq 3\,000$ kopior/ml ansågs vara positiva.

På grund av betydelsen av att fastställa en korrekt diagnos övervägdes ett brytvärde för att erhålla en uppskattning av svampbelastningen och därför skilja mellan infekterad och koloniserad patient. Detta brytvärde baserades på referensvärden från litteraturen (1. Louis M, Guitard J, Jodar M, et al. Impact of HIV infection status on interpretation of quantitative PCR for detection of pneumocystis jirovecii. J Clin Microbiol. 2015;53(12):3870-3875; 2. Fauchier T, Hasseine L, Gari-Toussaint M, Casanova V, Marty PM, Pomares C. Detection of pneumocystis jirovecii by quantitative PCR to differentiate colonization and pneumonia in immunocompromised HIV-Positive and HIV-Negative Patients. J Clin Microbiol. 2016;54(6):1487-1495) samt sensitivitets- och specificitetsvärden från denna kliniska studie. Svampbelastning högre än 3×10^4 kopior/ml ($Ct < 30$) antyder i mycket hög grad en förekomst av *P. jirovecii*-pneumoni, medan svampbelastning lägre än 3×10^3 kopior/ml ($Ct > 33$) vanligtvis motsvarar kolonisering.

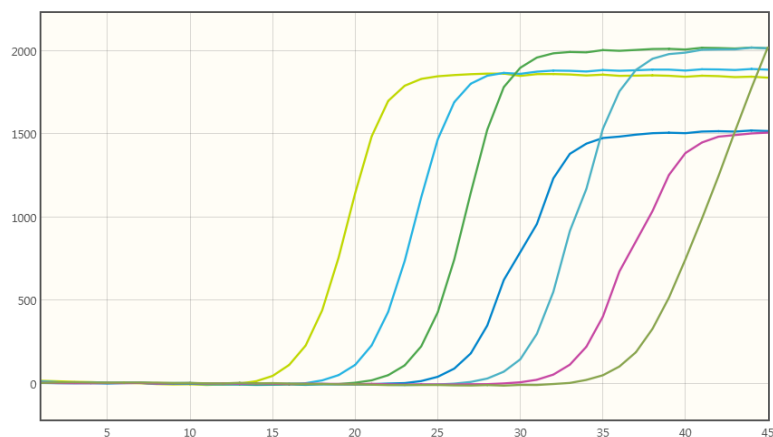
Jämförelseanalysmetoden som används vid den kliniska utvärderingen var RealStar® *Pneumocystis jirovecii* PCR (Altona). Denna metod ger kvantifiering av svampbelastningen eftersom kvantifieringsstandarder för *Pneumocystis jirovecii* ingår i varje körning. Från de 43 proverna som visade ett kvantifieringsvärde $> 3 \times 10^3$ kopior/ml med användning av jämförelseanalysen visade 38 Ct-värde < 33 med användning av VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Å andra sidan visade alla prover som visade ett kvantifieringsvärde $< 3 \times 10^3$ kopior/ml ett Ct-värde > 33 eller var negativa.

Resultaten uppvisar överensstämmelse för att detektera *Pneumocystis jirovecii* med användning av VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

12.2. Analytisk sensitivitet

VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System har en detektionsgräns (LoD) på 236 kopior per reaktion på bronkoalveolärt lavage-prover (BAL) med en positiv frekvens på ≥ 95 %:

Figur 2. Spädningsserier för en mallkörning av *Pneumocystis jirovecii* ($2,36 \cdot 10^7$ – $2,36 \cdot 10^1$ kopior per reaktion) på BD MAX™ System (475/520 (FAM)-kanal).



12.3. Analytisk specificitet

Pneumocystis jirovecii-analysens specificitet bekräftades genom att testa en panel av olika mikroorganismer som representerar de vanligaste luftvägspatogenerna. Ingen korsreaktivitet detekterades mellan någon av de mikroorganismer som testades:

Testning av korsreaktivitet					
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	HHV6-stam Z29	-	<i>Legionella dumoffii</i>	-
Typer av humant adenovirus 1–5, 8, 15, 31, 40 och 41	-	HHV6 typ A	-	<i>Legionella longbeachae</i>	-
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	HHV6 typ B	-	<i>Legionella micdadei</i>	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	HSV-1-stam MacIntyre	-	<i>Legionella pneumophila</i>	-
BK-virus, typ Ib-2	-	HSV-2 MS	-	<i>Listeria innocua</i> serotyp 6a/stam CCUG 15531	-
BK-virus, typ IV	-	Influenzavirus A/New Caledonia/20/99(H1N1)	-	<i>Listeria ivanovii</i> serotyp 5/stam CCUG 15528	-
Bocavirus	-	Influenza A/California/7/2009(H1N1)pdm09-liknande virus	-	<i>Listeria monocytogenes</i> serotyp 1/2b	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	-	Influenzavirus A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09	-	<i>Listeria monocytogenes</i> serotyp 4b/stam CIP 59.53	-
<i>Bordetella holmesii</i>	-	Influenzavirus A/Singapore/GP1908/2015, IVR-180 (H1N1)pdm09	-	Humant metapneumovirus A och B	-
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	Influenza A/Perth/16/2009(H3N2)-liknande virus	-	<i>Moraxella catarrhalis</i>	-
<i>Bordetella pertussis</i>	-	Influenzavirus A/Thüringen/5/17 (H3N2)	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
<i>Candida albicans</i>	-	Influenzavirus A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2)	-	Humant parainfluenzavirus 1, 2, 3 och 4	-

Testning av korsreaktivitet					
<i>Chlamydia caviae</i>	-	Influenzavirus A/Hong Kong/4801/2014, NYMC X-263B (H3N2)	-	Parvovirus B19	-
<i>Chlamydia psittaci</i> genotyp A och C	-	Influenzavirus A/Turkey/Germany/R2485+86/2014 (H5N8)	-	<i>Plasmodium falciparum</i> 3D7	-
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	-	Influenzavirus A/DE-SH/Reiherente/AR8444/ 2016 (H5N8)	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
Cytomegalovirus, stam AD-169	-	Influenzavirus A/Anhui/1/2013 (H7N9)	-	Respiratoriskt syncytialvirus (RSV)	-
Humant coronavirus 229E, OC43 och NL63	-	Influenza B/Brisbane/60/2008-liknande virus	-	Humant rhinovirus	-
MERS coronavirus	-	Influenzavirus B/Florida/04/06	-	<i>Staphylococcus aureus</i> ssp. <i>aureus</i>	-
<i>Enterobacter aerogenes</i> serotyp Cloaca B	-	Influenzavirus B/Phuket/3073/2013	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
<i>Enterobacter cloacae</i> serotyp Cloaca A	-	JC-virus, typ 1A	-	<i>Toxoplasma gondii</i> Type II	-
Epstein-Barr-virus	-	JC-virus, typ 2B	-	<i>Treponema pallidum</i>	-
<i>Escherichia coli</i> 0.1285;O18:H7:K1	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	Varicella-Zoster-virus Ellen	-
<i>Haemophilus influenzae</i> MinnA	-	<i>Legionella bozemanii</i>	-	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:3	-
Hepatit A	-				

Tabell 9. Patogena referensmikroorganismer som använts i denna studie.











12.4. Analytisk reaktivitet

Reaktiviteten för VIASURE *Pneumocystis jirovecii* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System utvärderades mot DNA extraherad från *P. jirovecii*, typ 1A, *P. jirovecii* g885652 och *P. jirovecii* j888023 och uppvisade positiva resultat.

Bibliography/ Bibliografi

1. A. Roux et al. Pneumocystis jirovecii pneumonia in patients with or without AIDS, France. Emerging Infectious Diseases journal 2014; 20: 1490–1497.
2. E.J. Calderón et al. Pneumocystis infection in humans: diagnosis and treatment. Expert Review of Anti-infective Therapy 2010; 8: 683–701.
3. J.R. Harris et al. Pneumocystis Jirovecii Pneumonia: Current Knowledge and Outstanding Public Health Issues. Current Fungal Infection Reports Journal, 2010; 4(4): 229-237.
4. P. Rohner et al. Detection of Pneumocystis jirovecii by two staining methods and two quantitative PCR assays. Infection, 2009; 37(3):261-5.

Symbols for IVD components and reagents/ Symboler för IVD-komponenter och reagenser

 IVD	<i>In vitro</i> diagnostic device <i>In vitro</i> -diagnostik	 Keep dry Håll torrt	 Use by Utgångsdatum	 Manufacturer Tillverkare	 LOT	Batch code (Lot) Satskod (lot)
 Consult instructions for use Se bruksanvisningen	 Temperature limitation Temperaturgräns	 Contains sufficient for <n> test Innehåller tillräckligt för <n> tester	 UDI	Unique Device Identification Unik identifiering av en enhet	 REF	Catalognumber Katalognummer

Trademarks

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

Change Control / Ändringskontroll		
Version No. / Versionsnr	Changes / Ändringar	Date / Datum
00	Original version / Originalversion.	08/02/2022
01	Typo corrections / Rättelser av stavfel	08/03/2022
02	Format update. Section 'Transport and storage conditions' update. UDI symbol is included. / Uppdatering av formatet. Uppdatering av avsnittet " 6. Transport- och förvaringsförhållanden". UDI-symbol ingår	06/06/2022

Table A 2. Control change table/ Kontrolländringstabell.

Revision: 6th June 2022

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 rev02