

**VIASURE**

Real Time PCR Detection Kit



**Respiratory Virus Mix I**  
for BD MAX™ System

CE IVD



These instructions for use apply to the following reference / Denne bruksanvisningen gjelder for følgende referanse:

PRODUCT / PRODUKT	REFERENCE / REFERANSE
VIASURE Respiratory Virus Mix / Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	444219 / VS-SFR124

Table A 1. Reference for product to be used with the BD MAX™ System. / Referanse for produkt som skal brukes med BD MAX™ System.

**NOTE:** Instructions for use (IFU) are included into the kit in English/Spanish version / Bruksanvisning i engelsk/spansk utgave er inkludert i kitet.

**EN** For download IFUs from other languages, please enter in [certest.es/viasure/labeling](https://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](mailto:viasure@certest.es).

**ES** Para descargar las IFUS en otros idiomas, por favor, entre en [certest.es/viasure/labeling](https://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](mailto:viasure@certest.es).

**DA** For at downloade IFUS fra andre sprog, skal du gå ind på [certest.es/viasure/labeling](https://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](mailto:viasure@certest.es).

**DE** Um den IFUS in anderen Sprachen herunterzuladen, gehen Sie bitte zu [certest.es/viasure/labeling](https://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](mailto:viasure@certest.es).

**FR** Pour télécharger l'IFUS dans d'autres langues, veuillez vous rendre sur [certest.es/viasure/labeling](https://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](mailto:viasure@certest.es).

**IT** Per scaricare l'IFUS in altre lingue, vai su [certest.es/viasure/labeling](https://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](mailto:viasure@certest.es).

**NO** For å laste ned IFUS fra andre språk, vennligst skriv inn i [certest.es/viasure/labeling](https://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](mailto:viasure@certest.es).

**PT** Para baixar o IFUS em outros idiomas europeus, acesse [certest.es/viasure/labeling](https://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](mailto:viasure@certest.es).

**SV** För att ladda ner IFUS från andra språk, vänligen gå in på [certest.es/viasure/labeling](https://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](mailto:viasure@certest.es).

**TR** IFUS'u diğer dillerden indirmek için lütfen [certest.es/viasure/labeling](https://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](mailto:viasure@certest.es) adresinden iletişime geçin.

Contact [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es) if your language is not on the list / Ta kontakt med [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es) slik at du ikke er på listen.

*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.*

*Merk: Brukere skal varsle produsenten og de kompetente myndigheter i medlemslandet der de er etablert som brukere og/eller pasienter, om enhver alvorlig hendelse relatert til produktet.*

## Content

1.	Intended use.....	5
2.	Summary and Explanation .....	5
3.	Principle of the procedure .....	6
4.	Reagents provided .....	7
5.	Reagents and equipment to be supplied by the user .....	7
6.	Transport and storage conditions.....	8
7.	Precautions for users .....	8
8.	Test procedure .....	9
8.1.	Sample collection, storage and transport.....	9
8.2.	Sample preparation and DNA extraction .....	10
8.3.	PCR protocol .....	10
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 .....	17
12.3.	Analytical specificity .....	19
12.4.	Analytical reactivity .....	19

## Innhold

1.	Tiltenkt bruk .....	21
2.	Sammendrag og forklaring .....	21
3.	Grunnleggende prosedyre .....	22
4.	Reagenser som følger med.....	23
5.	Reagenser og utstyr som må skaffes av brukeren .....	23
6.	Transport- og lagringsforhold .....	23
7.	Forholdsregler for brukere.....	24
8.	Testprosedyre.....	25
8.1.	Innsamling, oppbevaring og transport av prøver.....	25
8.2.	Klargjøring av prøver og DNA-ekstraksjon .....	25
8.3.	PCR-protokoll.....	25

---

9.	Tolkning av resultater .....	29
10.	Testens begrensninger .....	31
11.	Kvalitetskontroll .....	32
12.	Ytelsesegenskaper .....	32
12.1.	Klinisk sensitivitet og spesifisitet .....	32
12.2.	Analytisk sensitivitet .....	33
12.3.	Analytisk spesifisitet .....	35
12.4.	Analytisk reaktivitet .....	35
	Bibliography/ Litteratur .....	37
	Symbols for IVD components and reagents/ Symboler for IVD-komponenter og reagenser.....	38
	Trademarks.....	38

---

## ENGLISH

---

### 1. Intended use

VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System is an automated real-time RT-PCR test designed for the qualitative detection of RNA from SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A and RSV (types A and B) in respiratory samples (nasopharyngeal swabs) 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 SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A and RSV (types A and B) infection in combination with patient's clinical signs and symptoms and epidemiological risk factors. 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 SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A and RSV (types A and B).

### 2. Summary and Explanation

Coronavirus are enveloped non-segmented positive-sense RNA viruses and belong to Coronaviridae family. There are six coronavirus species known to cause human diseases. Four viruses (229E, OC43, NL63 and HKU1) cause common cold symptoms and the other two (severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) and Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV)) are zoonotic and producing more severe complications. SARS-CoV and MERS-CoV have caused more than 10,000 cumulative cases in the past two decades, with mortality rates of 34% MERS-CoV and 10% SARS-CoV.

In December 2019, some people that worked at or lived around the Huanan seafood market in Wuhan, Hubei Province, China, have presented pneumonia of unknown cause. Deep sequencing analysis of the respiratory samples indicated a novel coronavirus, which was named firstly 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) and lately SARS-CoV-2.

Human-to-human transmission of the SARS-CoV-2 has been confirmed, even in the incubation period without symptoms, and the virus causes severe respiratory illness like those SARS-CoV produced. Although the pneumonia is the principal illness associated, a few patients have developed severe pneumonia, pulmonary edema, acute respiratory distress syndrome, or multiple organ failure and death. Centers of Disease Control and Prevention (CDC) believes that symptoms of SARS-CoV-2 may appear in as few as 2 days or as long as 14 days after exposure, being the most common fever or chills, cough, fatigue, anorexia, myalgia and dyspnea. Less common symptoms are sore throat, nasal congestion, headache, diarrhea, nausea and vomiting. Loss of smell (anosmia) or loss of taste (ageusia) preceding the onset of respiratory symptoms has also been reported. Older adults and people who have severe underlying medical conditions like heart or lung disease or diabetes seem to be at higher risk for developing more serious complications from COVID-19 illness.

CDC recommends upper respiratory tract specimens (nasopharyngeal (NP) and oropharyngeal (OP) swabs, nasal mid-turbinate swab, nasal swab, nasopharyngeal wash/aspirate or nasal wash/aspirate (NW) specimens collected mainly by a healthcare provider) and/or lower respiratory specimens (sputum, endotracheal aspirate, or bronchoalveolar lavage in patients with more severe respiratory disease) for the identification of SARS-CoV-2 and

other respiratory viruses, such as Influenza and RSV.

Influenza viruses belong to the Orthomyxoviridae family and cause the majority of viral lower respiratory tract infections. Influenza A and B are a significant cause of morbidity and mortality worldwide, considering that elderly and compromised individuals are especially at risk of developing severe illness and complications such as pneumonia. People feel some or all of these symptoms: fever or feeling feverish/chills, cough, sore throat, nasal stuffiness and discharge, myalgia, headaches, and anorexia. The influenza viruses can be spread from person to person in two different ways: through the air (large droplets and aerosols from sneezing and coughing), and by direct or indirect contact.

Influenza A and B are an enveloped, single stranded RNA viruses that containing eight segmented strands of genome RNA, which typically encodes 11 or 12 viral proteins. The viral envelope, derived from the host plasma membrane, consists of a lipid bilayer containing transmembrane proteins, like hemagglutinin (HA) and neuraminidase (NA), and matrix proteins M1 and M2. Influenza A viruses are further classified into subtypes based on the antigenicity of their “HA” and “NA” molecules, whereas Influenza B is divided into 2 antigenically and genetically distinct lineages, Victoria and Yamagata.

Human respiratory syncytial viruses A and B (RSV) belong to the Paramyxoviridae family and are the most important viral agents of acute respiratory infections. RSV is an enveloped, nonsegmented, negative, single stranded linear RNA genome virus. Respiratory syncytial virus is a common contributor of respiratory infections causing bronchitis, pneumonia, and chronic obstructive pulmonary infections in people of all ages. People often feel some or all of these symptoms: rhinorrhea, low-grade fever, cough, sore throat, headache, and wheezing. RSV is transmitted via large nasopharyngeal secretion droplets from infected individuals, close contact, or self-inoculation after touching contaminated surfaces.

Diagnosis can be problematic, as a wide range of pathogens can cause acute respiratory infections presenting with similar clinical syndromes. Real-time PCR assays have been shown to be a sensitive and specific diagnostic tool for the detection of SARS-CoV-2, Flu A, Flu B and RSV viruses.

### 3. Principle of the procedure

VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System is designed for the qualitative detection of RNA from SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A and RSV (types A and B) in nasopharyngeal swabs. 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 *N* and *ORF1ab* genes of SARS-CoV-2, *M1* gene of Influenza B, *M1* gene of Influenza A and *N* gene of RSV (types A and B) using specific primers and a fluorescent-labelled probe.

VIASURE *Respiratory Virus Mix I* 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 *Respiratory Virus Mix I* 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 and 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 (EIC) (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
SARS-CoV-2	475/520	<i>N</i> and <i>ORF1ab</i> gene
Influenza B	530/565	<i>Matrix</i> gene ( <i>M1</i> )
Influenza A	585/630	<i>Matrix</i> gene ( <i>M1</i> )
RSV (A/B)	630/665	<i>N</i> gene
Endogenous Internal Control (EIC)	680/715	Human <i>RNase P</i> gene

Table 1. Target, channel and genes.

## 4. Reagents provided

VIASURE *Respiratory Virus Mix I* 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>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube	A mix of enzymes, primers-probes, buffer, dNTPs, stabilizers and endogenous internal control in stabilized format	1K 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 *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System with Cat. N°. VS-SFR124 (444219).

## 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 *Respiratory Virus Mix I* 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).
- 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 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 Respiratory Virus Mix I 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 *Respiratory Virus Mix 1* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System has been tested on nasopharyngeal swabs collected in sterile Vircell® transport medium or in sterile Virus transport and preservation medium (Biocomma®), and in Universal Transport Medium, depending on the sample. 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 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 ≤ -20°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 clinical 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>), 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) and García-Lechuz Moya, J.M., González López, J.J., Orta Mira, N., Sánchez Romero, M.I. (2017). Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el Laboratorio de Microbiología. 2017. 1b. Sánchez Romero, M.I., (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla, E., Cantón Moreno, R., (editores). *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)*.

## 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 400-750 µL of nasopharyngeal samples 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 Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System

Note: If you have already created the test for the VIASURE Respiratory Virus Mix I 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 Respiratory Virus Mix I.
- 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 950 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: 1K (concerning Respiratory Virus Mix I 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)	SARS-CoV-2	80	150	0	40
530/565 (HEX)	Influenza B	80	150	0	40
585/630 (ROX)	Influenza A	80	150	0	40
630/665 (Cy5)	RSV (A/B)	80	150	0	40
680/715 (Cy5.5)	EIC	80	150	0	35

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	-	4.0	0.0	0.0	0.0	
	530/565	1.0	-	0.0	0.0	0.0	
	585/630	0.0	0.0	-	1.0	0.0	
	630/665	0.0	0.0	3.0	-	18.0	
	680/715	0.0	0.0	0.0	1.5	-	

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.

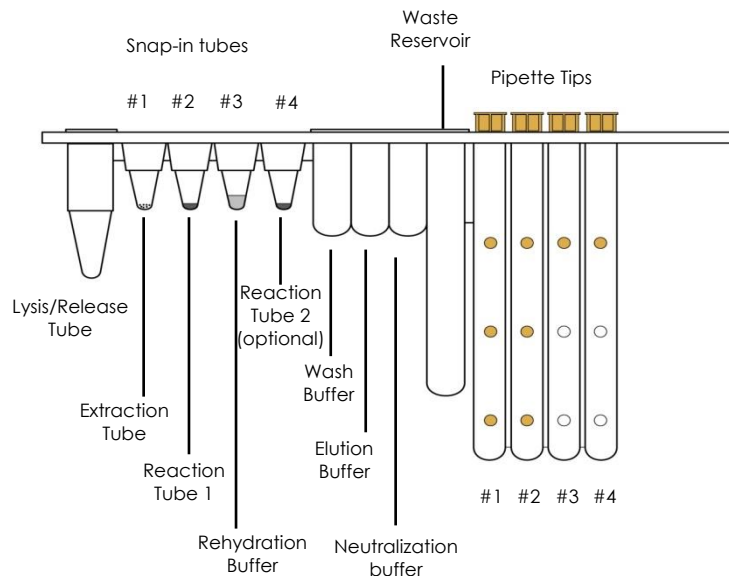
12) Click the "Save Test" button.

### 8.3.2. BD MAX™ Rack set up

- 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 *Respiratory Virus Mix 1* reaction tubes (1K 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.

- 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 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 *Respiratory Virus Mix 1* (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:

SARS-CoV-2 (475/520)	Flu B (530/565)	Flu A (585/630)	RSV (A/B) (630/655)	Endogenous Internal Control (680/715)	Interpretation
+	+	+	+	+/- <sup>1</sup>	SARS-CoV-2, Flu B, Flu A and RSV (A/B) RNA detected <sup>1</sup>
-	+	+	+	+/- <sup>1</sup>	Flu B, Flu A, RSV (A/B) RNA detected and SARS-CoV-2 RNA not detected <sup>1</sup>
+	-	+	+	+/- <sup>1</sup>	SARS-CoV-2, Flu A, RSV (A/B) RNA detected and Flu B RNA not detected <sup>1</sup>
+	+	-	+	+/- <sup>1</sup>	SARS-CoV-2, Flu B, RSV (A/B) RNA detected and Flu A RNA not detected <sup>1</sup>
+	+	+	-	+/- <sup>1</sup>	SARS-CoV-2, Flu B, Flu A RNA detected and RSV (A/B) RNA not detected <sup>1</sup>
+	+	-	-	+/- <sup>1</sup>	SARS-CoV-2, Flu B RNA detected and Flu A, RSV (A/B) RNA not detected <sup>1</sup>
+	-	+	-	+/- <sup>1</sup>	SARS-CoV-2, Flu A RNA detected and Flu B, RSV (A/B) RNA not detected <sup>1</sup>
+	-	-	+	+/- <sup>1</sup>	SARS-CoV-2, RSV (A/B) RNA detected and Flu B, Flu A RNA not detected <sup>1</sup>
-	+	+	-	+/- <sup>1</sup>	Flu B, Flu A RNA detected and SARS-CoV-2, RSV (A/B) RNA not detected <sup>1</sup>
-	+	-	+	+/- <sup>1</sup>	Flu B, RSV (A/B) RNA detected and SARS-CoV-2, Flu A RNA not detected <sup>1</sup>
-	-	+	+	+/- <sup>1</sup>	Flu A, RSV (A/B) RNA detected and SARS-CoV-2, Flu B RNA not detected <sup>1</sup>
+	-	-	-	+/- <sup>1</sup>	SARS-CoV-2 RNA detected <sup>1</sup>
-	+	-	-	+/- <sup>1</sup>	Influenza B RNA detected <sup>1</sup>
-	-	+	-	+/- <sup>1</sup>	Influenza A RNA detected <sup>1</sup>
-	-	-	+	+/- <sup>1</sup>	RSV RNA detected <sup>1</sup>
-	-	-	-	+ <sup>2</sup>	SARS-CoV-2, Flu B, Flu A and RSV (A/B) RNA not detected <sup>2</sup>
-	-	-	-	- <sup>2</sup>	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. <sup>2</sup>
IND	IND	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	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 (EIC) may or may not show an amplification signal. Sometimes, the EIC 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 endogenous 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 nasopharyngeal swabs.
- 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 SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A or RSV (A/B), 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 the *N* and *ORF1ab* genes of SARS-CoV-2, *M1* gene of Influenza B, *M1* gene of Influenza A and *N* gene of RSV (types A and B) used in VIASURE Respiratory Virus Mix I 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 RNA extraction).
  - Degradation of the 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, Influenza B, Influenza A or RSV (A/B) 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. The impacts of vaccines, antiviral therapeutics, antibiotics, chemotherapeutics or immunosuppressant drugs used to prevent COVID-19, gripe and RSV 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 SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A or RSV (A/B) in a clinical specimen.
- A positive test result does not necessarily indicate the presence of viable virus and does not imply that these virus are infectious or are the causative agents for clinical symptoms. However, a positive result is indicative of the presence of target viral sequences.
- If diagnostic tests for other respiratory illnesses are negative and the patient's clinical presentation and epidemiological information suggest that SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A or RSV (A/B) 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 target *RNA* in a clinical specimen. If clinical observations, patient history and epidemiological information suggest SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A or RSV (A/B) infection, re-testing increasing sample volume should be considered.
- In the case of obtaining Unresolved, Indeterminate or Incomplete results using VIASURE *Respiratory Virus Mix I* 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 *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System contains an Endogenous Internal Control (EIC) 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 *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System was tested using clinical samples (nasopharyngeal swabs) from patients with clinical suspicion of SARS-CoV-2, Flu A/B and or RSV A/B infection. The results were as follows:

	Site	Sample type	Workflow	Target
1	CerTest Biotec S.L. in collaboration with the Biobank of the Sistema de Salud de Aragón (BSSA) and the Microbiology and Parasitology Department of Hospital Universitario Central de Asturias	Nasopharyngeal swabs	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	SARS-CoV-2
				Influenza B
				Influenza A
				RSV (A/B)

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

True positive and negative values, false positive and negative values, sensitivity, and specificity for VIASURE *Respiratory Virus Mix I* 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 (Thermo Fisher Scientific) or VIASURE SARS-CoV-2 Real time PCR Detection Kit, + subsequent whole genome sequencing	SARS-CoV-2	127	625	1	3	0.977 (0.934-0.995)	0.998 (0.991-1)
	Cobas® Influenza A/B & RSV Nucleic acid test for use on the cobas® Liat® System (cobas® Influenza A/B & RSV)	Influenza B	18	738	0	0	1 (0.815-1)	1 (0.995-1)
		Influenza A	49	704	1	2	0.961 (0.865 – 0.995)	0.999 (0.992-1)
		RSV (A/B)	50	706	0	0	1 (0.929-1)	1 (0.995-1)

Table 8. True positive and negative values, false positive and negative values, sensitivity, specificity for VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Result show agreement to detect SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A and RSV (A/B) using VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

## 12.2. Analytical sensitivity

VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System detection limit (LoD) results on nasopharyngeal samples with a positive rate of  $\geq 95\%$  are as follows:

- VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System has a detection limit (LoD) of 5.01 IU (International Units)/ $\mu\text{l}$  for SARS-CoV-2.
- VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System has a detection limit (LoD) of  $1.8 \times 10^2$  CEID<sub>50</sub> (Median Chicken Embryo Infectious Dose)/ml for Influenza B.
- VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System has a detection limit (LoD) of  $10^{-0.5}$  TCID<sub>50</sub> (Median Tissue Culture Infectious Dose) /ml for Influenza A.
- VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System has a detection limit (LoD) of 4 genome copies/ $\mu\text{l}$  for RSVA and RSVB.

Note: The detection limit was calculated using a sample volume of 400  $\mu\text{l}$ .

Examples of the amplification plots resulting from running an assay on the BD MAX™ System are shown below

Figure 2. Dilution series of SARS-CoV-2 ( $5 \times 10^5$ - $5 \times 10^0$  copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (475/520 (FAM) channel).

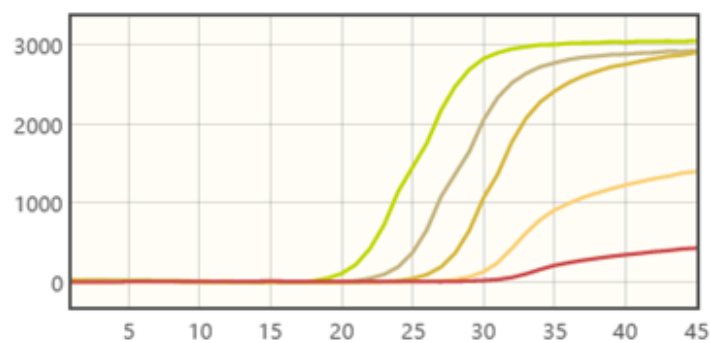


Figure 3. Dilution series of Influenza B ( $5 \times 10^5$ - $5 \times 10^0$  copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (530/565 (HEX) channel).

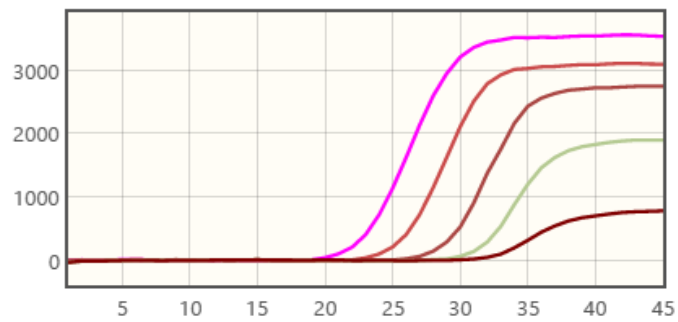


Figure 4. Dilution series of Influenza A ( $5 \times 10^5$ - $5 \times 10^0$  copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (585/630 (ROX) channel).

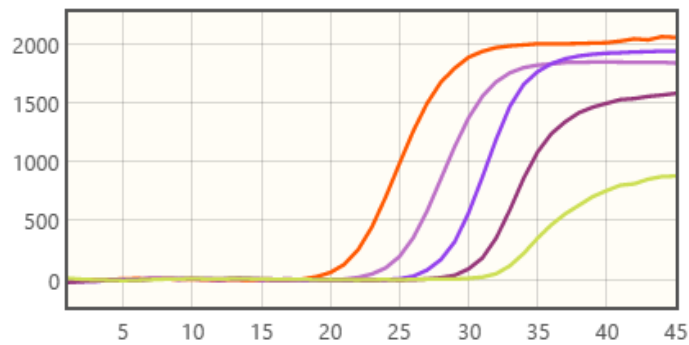


Figure 5. Dilution series of RSVA ( $5 \times 10^5$ - $5 \times 10^0$  genome copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (630/665 (CY5) channel).

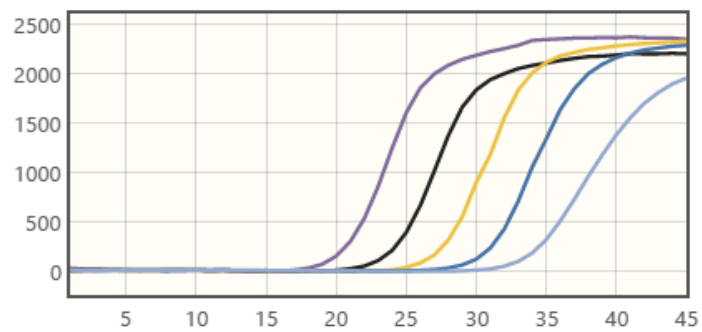
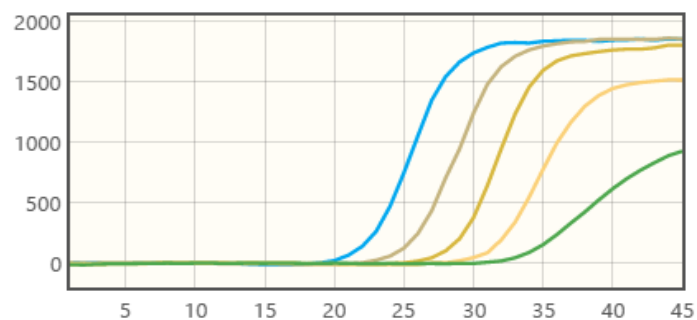


Figure 6. Dilution series of RSVB ( $5 \times 10^5$ - $5 \times 10^0$  genome copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (630/665 (CY5) channel).



### 12.3. Analytical specificity

The specificity of the *Respiratory Virus Mix I* 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	-	Enterovirus Coxsackievirus A24, A9 and B3	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
Bocavirus	-	Enterovirus Echovirus 30	-	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	-	Enterovirus 68, 71	-	Human parainfluenza 1, 2, 3 and 4 viruses	-
<i>Bordetella holmesii</i>	-	<i>Haemophilus influenzae</i> MinnA	-	<i>Pneumocytis jirovecii</i> Type A1 and g885652	-
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	<i>Legionella bozemanii</i>	-	Human rhinovirus	-
<i>Bordetella pertussis</i>	-	<i>Legionella dumoffii</i>	-	SARS Coronavirus Strain Frankfurt 1	-
<i>Chlamydia caviae</i>	-	<i>Legionella longbeachae</i>	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
<i>Chlamydia psittaci</i> genotype A and C	-	<i>Legionella micdadei</i>	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> CM-1	-	<i>Legionella pneumophila</i>	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Human coronavirus 229E, OC43, NL63 and HKU1	-	Human metapneumovirus A and B	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
MERS Coronavirus	-	<i>Moraxella catarrhalis</i>	-	<i>Streptococcus salivarius</i>	-

Table 9. Reference pathogenic microorganisms used in this study.

### 12.4. Analytical reactivity

The reactivity of VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System for **SARS-CoV-2** was evaluated against RNA extracted from Human 2019-nCoV strain BetaCoV/Germany/BavPat1/2020 p.1, Human 2019-nCoV strain 2019-nCoV/Italy-INMI1, synthetic RNA controls for MT007544.1 variant (SARSCoV2 isolate Australia/VIC01/2020), MN908947.3 variant (SARS-CoV-2 isolate Wuhan-Hu-1), alpha variant (B.1.1.7 England/MILK-9E05B3/2020), Beta variant (B.1.351 South Africa/KRISP-EC-K005299/2020), Gamma variant (P.1 Japan (Brazil) /IC-0564/2021) and Kappa variant (B.1.617.1 India/CT-ILSGS00361/2021), and heat inactivated SARSCoV-2 strain 2019nCoV/USAWA1/2020 (ATCC® VR1986HK™), and irradiated cell lysate from 2019-nCoV/USA-WA1/2020, and lyophilized cell lysates from BetaCoV/Berlin/ChVir1670/2020\_IsolatBER, BetaCoV/Munich/ChVir984/2020 and BetaCoV/Baden-Wuerttemberg/1/ChVir1577/2020\_IsolatBER, showing positive results.

The reactivity of VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System for **Influenza B** was evaluated against RNA extracted from the following strains: B/Phuket/3073/2013 virus, B/Brisbane/60/2008 virus, Influenza B/Florida/04/06 virus, B/Pennsylvania/7/2007 (Yamagata Lineage), B/Santiago/4364/2007 (Yamagata Lineage) virus, B/Brisbane/3/2007 (Yamagata Lineage) virus, B/Pennsylvania/5/2007 (Victoria Lineage), B/Victoria/304/2006 (Victoria Lineage) virus, B/Bangladesh/3333/2007 (Yamagata Lineage) virus, showing positive results.

The reactivity of VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System for **Influenza A** was evaluated against RNA extracted from the following strains: A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2) virus, A/Thüringen/5/2017 (H3N2) virus, A/DE-SH/Reiherente/AR8444/ 2016(H5N8) virus, A/Anhui/1/2013 (H7N9) virus,

A/Michigan/45/2015 (H1N1 pdm09) virus, A/California/7/2009 (H1N1) virus, A/California/7/2009 (H1N1pdm09) virus, A/South Australia/55/2014 virus, Switzerland/9715293/2013 (H3N2) IVR-175 virus, A/Singapore/GP1908/2015 IVR-180 virus, A/Hong Kong/4801/2014 NYMC X-263B virus, Influenza A/New Caledonia/20/99 (H1N1) virus, A/Brisbane/59/2007 (H1N1) virus, A/South Dakota/6/2007 (H1N1) virus, A/Hawaii/31/2007 (H1N1) virus, A/Qatar/1123/2007 (H1N1) virus, A/Cambodia/0371/2007 (H1N1) virus, Influenza A Virus, A/Brisbane/10/2007 (H3N2) virus, Influenza A Virus, A/Taiwan/760/2007 (H3N2) virus, Influenza A Virus, A/Texas/71/2007 (H3N2) virus, A/Brisbane/10/2007 (H3N2) IVR-147 virus, A/Brisbane/59/2007 (H1N1) IVR-148 virus, A/South Dakota/6/2007 (H1N1) X-173 virus, A/California/07/2009 (H1N1)pdm09 virus, A/California/08/2009 (H1N1)pdm09 virus, A/New York/18/2009 (H1N1)pdm09 virus, A/Mexico/4108/2009 (H1N1)pdm09 virus, A/California/07/2009 (H1N1 pdm09) NYMC X-179A virus, A/Victoria/2570/2019 IVR-215 virus and A/Cambodia/e0826360/2020 IVR-224 virus, showing positive results.

The reactivity of VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System for **RSV** was evaluated against RNA extracted from Respiratory Syncytial Virus A (strain A-2) and Respiratory Syncytial Virus B (strain 9320), showing positive results.

## NORSK

---

### 1. Tiltenkt bruk

VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System er en automatisert RT-PCR-test i sanntid, og den er utviklet for kvalitativ påvisning av RNA fra SARS-CoV-2, influensa B, influensa A og RSV (type A og B) i luftveisprøver (nasofaryngeale prøvempesler), tatt av helsepersonell, fra pasienter med mistenkt luftveisinfeksjon. Denne testen er ment som en hjelp ved identifisering av infeksjon med SARS-CoV-2, influensa B, influensa A og RSV (type A og B), i kombinasjon med pasientens kliniske tegn og symptomer samt epidemiologiske risikofaktorer. Analysen bruker BD MAX™ System til automatisert ekstraksjon av RNA og påfølgende sanntids RT-PCR ved bruk av de medfølgende reagensene kombinert med universale reagenser og forbruksmaterieell for BD MAX™-systemet. RNA ekstraheres fra prøver, og komplementært DNA (cDNA) syntetiseres og amplifiseres ved bruk av RT-PCR og påvises ved hjelp av fluorescerende reporterfargeprober som er spesifikke for SARS-CoV-2, influensa B, influensa A og RSV (type A og B).

### 2. Sammendrag og forklaring

Koronavirus er kappekledd, ikke-segmenterte RNA-virus med positiv polaritet og tilhører Coronaviridae-familien. Man kjenner til seks typer koronavirus som forårsaker sykdom hos mennesker. Fire av virusene (229E, OC43, NL63 og HKU1) gir vanlige forkjølelssymptomer, og de andre to (severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) og Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV)) er zoonotiske og gir mer alvorlige komplikasjoner. SARS-CoV og MERS-CoV har til sammen forårsaket mer enn 10 000 tilfeller i løpet av de siste to tiårene, med mortalitetsrater på 34 % for MERS-CoV og 10 % for SARS-CoV.

Flere personer som jobbet på eller bodde rundt Huanan sjømatmarked i Wuhan i den kinesiske provinsen Hubei fikk i desember 2019 pneumoni med ukjent årsak. Dypsekvenseringsanalyse av luftveisprøvene indikerte et nytt koronavirus, som først ble kalt "2019 nytt koronavirus" (2019-nCoV) og i den senere tid SARS-CoV-2.

Overføring av SARS-CoV-2 mellom mennesker har blitt bekreftet, til og med under den symptomfrie inkubasjonsperioden, og viruset gir alvorlig luftveissykdom i likhet med de SARS-CoV forårsaket. Selv om pneumoni er den sykdommen som hovedsakelig forbindes med viruset, har noen få pasienter utviklet alvorlig pneumoni, lungeødem, akutt lungesviktsyndrom (ARDS) eller flerorgansvikt og død. Sentre for sykdomskontroll og forebygging (Centers of Disease Control and Prevention, CDC) tror at symptomene på SARS-CoV-2 kan opptre etter så lite som 2 dager eller så lenge som 14 dager etter eksponering, der de vanligste symptomene er feber eller frostrier, hoste, tretthet, anoreksi, myalgi og dyspné. Mindre vanlige symptomer er sår hals, nese tetthet, hodepine, diaré, kvalme og oppkast. Tap av luktesans (anosmia) eller tap av smaksans (ageusia) forut for luftveissymptomene er også rapportert. Eldre voksne og mennesker med alvorlig underliggende sykdom som hjerte- eller lungesykdom eller diabetes, ser ut til å ha høyere risiko for å utvikle mer alvorlige komplikasjoner fra COVID-19 sykdom.

CDC anbefaler penselprøver fra øvre luftveier (nasopharyngeal (NP) og oropharyngeal (OP), nasal mid-turbinat-prøve, nasal prøve, prøver tatt ved nasopharyngeal skylling/aspirasjon eller nasal skylling/aspirasjon (NW), hovedsakelig tatt av en helsearbeider og/eller prøver fra nedre luftveier (ekspektorat, endotrakeal aspirasjon, eller bronko-alveolær lavage for pasienter med mer alvorlig luftveissykdom) for identifisering av SARS-CoV-2 og andre luftveissykdommer, som influensa og RSV.

Influsavirus tilhører Orthomyxoviridae-familien og forårsaker majoriteten av virale sykdommer i nedre luftveier. Influenta A og B er en signifikant årsak til morbiditet og mortalitet over hele verden, med tanke på at eldre og utsatte personer har særlig høy risiko for å utvikle alvorlig sykdom og komplikasjoner som f.eks, pneumoni. Pasientene opplever noen eller alle disse symptomene: feber eller feberfølelse/frostrier, hoste, sår hals, tett og rennende nese, myalgi, hodepine og anoreksi. Influsavirus kan spres mellom mennesker på to ulike måter: gjennom luften (store dråper og små dråper ved nysing og hosting) og gjennom direkte eller indirekte kontakt.

Influenta A og B er kappekleddede, enkeltkjedede RNA-virus som inneholder åtte segmenterte kjeder av RNA-genom, som typisk koder 11 eller 12 virusproteiner. Virusets kappe, derivert fra vertens plasmamembran, består av et dobbelt lipidlag som inneholder transmembranproteiner, som hemagglutinin (HA) og neuraminidase (NA) og matriksproteinene M1 og M2. Influenta A-virus inndeles videre i undertyper, basert på antigenisiteten til deres HA- og NA-molekyler, og influenta B-virus inndeles i 2 antigenisk og genetisk ulike slekter, Victoria og Yamagata.

Humant respiratorisk syncytialt virus A og B (RSV) tilhører Paramyxoviridae-familien, og de er de viktigste årsakene til akutte virale luftveisinfeksjoner. RSV er et kappekledd, ikke-segmentert, negativt, enkeltkjedet lineært RNA-genomvirus. Respiratorisk syncytialt virus er en vanlig kontributør til luftveisinfeksjoner, som forårsaker bronkitt, pneumoni og kroniske obstruktive pulmonalinfeksjoner i mennesker i alle aldre. Pasientene opplever ofte noen alle disse symptomene: rhinoré, lav feber, hoste, sår hals, hodepine og hvesende pust. RSV overføres via store dråper av nasofaryngealt sekret fra smittede personer, nær kontakt eller selv-inokulasjon etter å ha berørt kontaminerte overflater.

Diagnostisering kan være problematisk, ettersom et stort utvalg av patogener kan forårsake akutte luftveisinfeksjoner med lignende kliniske syndromer. Samtidig PCR-analyser er dokumentert å være et sensitivt og spesifikt diagnostiseringsverktøy for SARS-CoV-2-, influenta A-, influenta B- og RSV-virus.

### 3. Grunnleggende prosedyre

VIASURE *Respiratory Virus Mix 1* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System er utviklet for kvalitativ påvisning av RNA fra SARS-CoV-2, influenta B, influenta A og RSV (type A og B) i nasofaryngeale prøvepensler. Påvisningen utføres i ettrinns, samtidig RT-PCR-format, der revers transkripsjon og påfølgende amplifikasjon av den spesifikke målsekvensen skjer i samme reaksjonsrør. Det isolerte RNA-målet transkriberes og genererer komplementært DNA via revers transkriptase. Deretter amplifiseres et konservert område av *N*- og *ORF1ab*-genene for SARS-CoV-2, *M1*-genet for influenta B, *M1*-genet for influenta A og *N*-genet for RSV (type A og B) ved hjelp av spesifikke primere og fluorescensmerkede prober.

VIASURE *Respiratory Virus Mix 1* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System er basert på 5'-eksonuklease-aktiviteten til DNA-polymerase. Under DNA-amplifikasjon kløver dette enzymet proben som er bundet til den komplementære DNA-sekvensen, og skiller quencher-fargen fra reporterfargen. Denne reaksjonen genererer en økning i fluorescenssignalet som er proporsjonal med kvantiteten av måltemplatet. Denne fluorescensen måles av BD MAX™ System.

Hvert rør i VIASURE *Respiratory Virus Mix 1* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System inneholder alle komponenter som behøves for samtidig PCR-analyse (spesifikke primere/prober, dNTP-er, buffer, polymerase og revers transkriptase) i et stabilisert format, samt en endogen intern kontroll til monitorering av ekstraksjonsprosessen og/eller hemming av polymeraseaktiviteten. Analysen benytter et humant housekeeping-gen som endogen intern

kontroll (EIC) (humant *RNase P*-gen). Humane housekeeping-gener er involvert i grunnleggende cellevedlikehold og er derfor forventet å være til stede i alle nukleære humane celler og opprettholde relativt konstante genuttryksnivå.

Mål	Kanal	Gen
SARS-CoV-2	475/520	<i>N</i> - og <i>ORF1ab</i> -gen
Influenza B	530/565	<i>Matrix</i> -gen ( <i>M1</i> )
Influenza A	585/630	<i>Matrix</i> -gen ( <i>M1</i> )
RSV (A/B)	630/665	<i>N</i> -gen
Endogen intern kontroll (EIC)	680/715	Humant <i>RNase P</i> -gen

Tabell 10. Mål, kanal og gener.

## 4. Reagenser som følger med

VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System inkluderer følgende materialer og reagenser, nærmere beskrevet i tabell 1:

Reagens/materiale	Beskrivelse	Strekkode	Mengde
<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube	En blanding av enzymer, primere, prober, buffer, dNTP-er, stabilisatorer og endogen intern kontroll i et stabilisert format	1K-folie	2 poser à 12 blanke rør
Rehydration Buffer tube	Løsning til rekonstituering av det stabiliserte produktet	11-folie	1 poser à 24 blanke rør

Tabell 11. Reagenser og materialer som følger med i VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System med katalognummer VS-SFR124 (444219).

## 5. Reagenser og utstyr som må skaffes av brukeren

Følgende liste inneholder materialene og utstyret som kreves til bruken, men som ikke er inkludert i VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

- Sanntids PCR-instrument: BD MAX™ System (Ref: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442828 eller 442827).
- BD MAX™ PCR Cartridges (ref: 437519).
- Vortex.
- Mikropipetter (nøyaktighet mellom 2 og 1000 µl)
- Nukleasefritt vann
- Filterspisser
- Pudderfrie engangshansker.

## 6. Transport- og lagringsforhold

- Settene kan sendes og oppbevares ved 2–40 °C inntil utløpsdatoen som er angitt på etiketten.
- Etter åpning av aluminiumsposene med reaksjonsrørene kan produktet brukes i opptil 28 dager.

## 7. Forholdsregler for brukere

- Produktet er kun ment å brukes av fagpersonell, f.eks. laboratorie- eller helsepersonell og teknikere, som er opplært i molekylære biologiske teknikker.
- Til diagnostisk bruk *in vitro*.
- Ikke bruk reagenser og/eller materialer som er gått ut på dato.
- Ikke bruk settet hvis etiketten som forseglar ytteresken er brutt.
- Ikke bruk reagenser hvis beskyttelsesesken er åpen eller revnet ved levering.
- Ikke bruk reagenser hvis beskyttelsesposene er åpne eller revnet ved levering.
- Ikke bruk reagenser hvis reagensposene ikke har tørkemiddel eller hvis tørkemiddelet er ødelagt.
- Ikke fjern tørkemiddelet fra reagensposene.
- Beskyttelsesposene til reagensene skal lukkes med lynlåsen umiddelbart etter hver bruk. Fjern all overflødig luft i posene før de forsegles.
- Må ikke brukes hvis folien er revnet eller ødelagt.
- Ikke bland reagenser fra forskjellige poser og/eller sett og/eller loter.
- Beskytt reagenser fra fuktighet. Langvarig eksponering for fuktighet kan påvirke produktytelsen.
- Oppbevar komponentene beskyttet mot lys.
- I tilfeller der andre PCR-tester utføres i det samme generelle området av laboratoriet, må det utvises forsiktighet for å unngå kontaminering av VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, ekstraksjonssettet BD MAX™ ExK™ TNA-3, eventuelle andre reagenser som kreves for testing samt BD MAX™ System. Unngå alltid at reagenser kontamineres med mikrober og ribonuklease (RNase)/deoksyribonuklease (DNase). Det anbefales bruk av sterile RNase/DNase-frie aerosolresistente eller "positive displacement"-pipettespisser til engangsbruk. Bruk en ny pipettespiss for hver prøve. Du må skifte hansker før du håndterer reagenser og kassetter (BD MAX™ PCR Cartridge).
- For å unngå miljøkontaminering med amplikoner må du ikke brette åpen BD MAX™ PCR Cartridge etter bruk. Forseglingene på BD MAX™ PCR Cartridge er designet for å unngå kontaminering.
- Benytt en enveis arbeidsflyt. Den skal starte i ekstraksjonsområdet og deretter gå videre til amplifikasjons- og påvisningsområdet. Prøver, utstyr og reagenser må ikke returneres til området der det forrige trinnet ble utført.
- Følg god laboratoriepraksis. Bruk verneklær, engangshansker, vernebriller og maske. Ikke spis, drikk, røyk eller påfør kosmetiske produkter i arbeidsområdet. Vask hendene når testen er utført.
- Prøvene må behandles som potensielt smittefarlige og/eller biologisk farlige, i likhet med alle reagenser og materialer som har blitt eksponert for prøvene, og de må håndteres i henhold til nasjonale sikkerhetsregler. Ta nødvendige forholdsregler under innsamling, oppbevaring, håndtering og kassering av prøver.
- Prøver og reagenser må håndteres i et biologisk sikkerhetsskap. Bruk personlig verneutstyr (PU) i tråd med de relevante retningslinjene for håndtering av potensielt smittefarlige prøver. Avfall skal kastes i henhold til lokale og delstatlige forskrifter.
- Regelmessig dekontaminering av annet vanlig utstyr som brukes er anbefalt, spesielt mikropipetter og arbeidsflater.
- I henhold til forordning (EF) nr. 1907/2006 (REACH), kreves det ikke sikkerhetsdatablad (Safety Data Sheets) for VIASURE Real Time PCR Detection Kits ettersom de er klassifisert som ikke helse- eller miljøskadelige fordi de ikke inneholder farlige stoffer og/eller blandinger som oppfyller fareklassifiseringskriteriene tilgjengelig i forordning (EF) nr. 1272/2008 (CLP), eller som har konsentrasjoner høyere enn verdien fastsatt i nevnte forordning i sin deklarasjon.



- Konsulter brukerhåndboken for BD MAX™ System for ytterligere advarsler, forsiktighetsregler og prosedyrer.

## 8. Testprosedyre

### 8.1. Innsamling, oppbevaring og transport av prøver

VIASURE *Respiratory Virus Mix 1* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System har blitt testet på nasofaryngeale prøvepensler samlet inn i sterilt Vircell® transportmedium eller i sterile virustransport og -preserveringsmedium (Biocomma®) og i universalt transportmedium, avhengig av prøven. Andre typer prøver må valideres av brukeren.

Innsamling, oppbevaring og transport av prøver skal utføres under de forhold som valideres av brukeren. Generelt skal luftveisprøver samles inn og merkes på egnet måte i rene beholdere med eller uten transportmedium (avhengig av prøvetypen) og behandles snarest mulig for å garantere kvaliteten av testen. Prøvene skal transporteres ved 2 til 8 °C i opptil 72 timer, i henhold til lokale og nasjonale regler for transport av patogen materiale. For langvarig transport (over 72 timer) anbefaler vi forsendelse ved ≤-20 °C eller lavere. Det anbefales å bruke ferske prøver til testen. Prøvene kan oppbevares ved 2 til 8 °C i opptil 72 timer eller fryses ved -20 °C eller ideelt sett ved -70 °C for konservering. Gjentatte sykluser med frysing/tining bør unngås for å forhindre forringelse av prøven og nukleinsyrene.

De kliniske prøvene skal samles inn, transporteres og oppbevares i tråd med relevante retningslinjer for laboratoriet. For mer informasjon, se retningslinjene til CDC (Specimen collection guidelines), Nettstedet <https://www.cdc.gov/urdo/downloads/SpecCollectionGuidelines.pdf>, the IDSA guideline (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt, B. S. (2018), og artikkelen 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) and García-Lechuz Moya, J.M., González López, J.J., Orta Mira, N., Sánchez Romero, M.I. (2017). Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el Laboratorio de Microbiología. 2017. 1b. Sánchez Romero, M.I., (koordinator). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla, E., Cantón Moreno, R., (redaktører). *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)*.

### 8.2. Klargjøring av prøver og DNA-ekstraksjon

Klargjør prøven i henhold til anbefalingene i bruksanvisningen for ekstraksjonssettet som brukes; BD MAX™ ExK™ TNA-3. Merk at enkelte andre prøver kan kreve forbehandling. Prosedyrer for klargjøring til ekstraksjon i samsvar med den spesifikke anvendelsen skal utvikles og valideres av brukeren.

1. Pipetter 400–750 µl av nasofaryngeale prøver i et BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube (prøvebufferrør) og lukk røret med en membranhet. Pass på å blande godt ved å bruke virvelblanding med høy hastighet i 1 minutt. Fortsett til betjening av BD MAX™ System Operation.

### 8.3. PCR-protokoll

Merk: Se brukerhåndboken for BD MAX™ System for detaljerte instruksjoner.

### 8.3.1. Opprette PCR-testprogram for VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System

Merk: Hvis du allerede har opprettet testen for VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, kan du hoppe over trinn 8.3.1 og gå direkte til 8.3.2.

- 1) Velg fanen "Test Editor" (Testredigering) på skjermbildet "Run" (Kjør) på BD MAX™ System.
- 2) Klikk på knappen "Create" (Opprett).
- 3) Skriv navnet på testen din i fanen "Basic Information" (Grunnleggende info), i vinduet "Test Name" (Testens navn): f.eks. VIASURE Respiratory Virus Mix I.
- 4) Fra nedtrekksmenyen "Extraction Type" (Ekstraksjonstype), velg "ExK TNA-3".
- 5) Fra nedtrekksmenyen "Master Mix Format", velg "Type 5".
  - a. Merk: Produktet kan brukes i kombinasjon med en ytterligere VIASURE for BD MAX-test. I så fall må du velge "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Dobbel mastermix konsentrert lyofilisert MM med rehydreringsbuffer (type 5)).
- 6) Under "Sample extraction parameters" (Prøveekstraksjonsparametere), velg "User defined" (Brukerdefinert) og tilpass prøvevolumet til 950 µl.
- 7) Under "Ct Calculation" (Ct-beregning), velg "Call Ct at Threshold Crossing" (Angi Ct ved terskelkryssing).
- 8) Hvis du kjører versjon 5.00 av programvaren eller høyere og har merket de foliebelagte innklikningsrørene med strekkoder under "Custom Barcodes" (Egendefinerte strekkoder), velger du følgende konfigurasjon:
  - a. "Snap-In 2 Barcode" (Strekkode for innklikningsrør 2): 1K (for Respiratory Virus Mix I reaction tube (reaksjonsrør)).
  - b. "Snap-In 3 Barcode" (Strekkode for innklikningsrør 3): 11 (vedrørende Rehydration Buffer tube).
  - c. "Snap-In 4 Barcode" (Strekkode for Snap-In 4): et annet reaction tube (reaksjonsrør) (forskjellig folie) hvis du velger formatet "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Dobbel mastermix konsentrert lyofilisert MM med rehydreringsbuffer (type 5)) (avsnitt 8.3.1).
- 9) Oppgi følgende parametere i fanen "PCR settings" (PCR-innstillinger): "Channel Settings" (Kanalinnstillinger), "Gains" (Forsterkning) og "Threshold" (Terskel) (tabell 3).
  - a. Merk: Produktet kan brukes i kombinasjon med en ytterligere VIASURE for BD MAX™-test. I så fall må "PCR settings" (PCR-innstillinger) og "Test Steps" (Testtrinn) fylles ut for posisjon 2 (grønn) og posisjon 4 (blå).

Channel (Kanal)	Alias (Alias)	Gain (Forsterkning)	Threshold (Terskel)	Ct Min (Ct Min)	Ct Max (Ct Max)
475/520 (FAM)	SARS-CoV-2	80	150	0	40
530/565 (HEX)	Influenza B	80	150	0	40
585/630 (ROX)	Influenza A	80	150	0	40
630/665 (Cy5)	RSV (A/B)	80	150	0	40
680/715 (Cy5.5)	EIC	80	150	0	35

Tabell 12. "PCR settings" (PCR-innstillinger).

Merk: Det anbefales at man først stiller inn minimum terskelverdiene som er listet opp ovenfor for hver kanal, men de endelige innstillingene må bestemmes av sluttbrukeren under tolkningen av resultatene for å sikre at tersklene faller innenfor den eksponentielle fasen av fluorescenskurvene og over et eventuelt bakgrunnssignal. Terskelverdien for forskjellige instrumenter kan variere grunnet forskjellige signalintensiteter.

- 10) I fanen "PCR settings" (PCR-innstillinger) oppgir du i tillegg følgende parametere "Spectral Cross Talk" (Spektral kryssstale) (tabell 4)

		False Receiving Channel (Kanal som mottar falske data)				
Channel (Kanal)		475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Eksitasjonskanal)	475/520	-	4,0	0,0	0,0	0,0
	530/565	1,0	-	0,0	0,0	0,0
	585/630	0,0	0,0	-	1,0	0,0
	630/665	0,0	0,0	3,0	-	18,0
	680/715	0,0	0,0	0,0	1,5	-

Tabell 13. Parametere for "Spectral Cross Talk" (spektral kryssstale).

- 11) I fanen "Test Steps" (Testtrinn) oppgir du PCR-protokollen (tabell 5).

Step Name (Navn på trinn)	Profile Type (Profiltype)	Cycles (Sykluser)	Time (s) (Tid (s))	Temperature (Temperatur)	Detect (Påvis)
Reverse transcription (Revers transkripsjon)	Vent	1	900	45 °C	-
Initial denaturation (Innledende denaturering)	Vent	1	120	98 °C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Denaturering og herding/forlengelse (datainnsamling))	2 - Temperatur	45	10	95 °C	-
			61,1	63 °C	✓

Tabell 14. PCR-protokoll

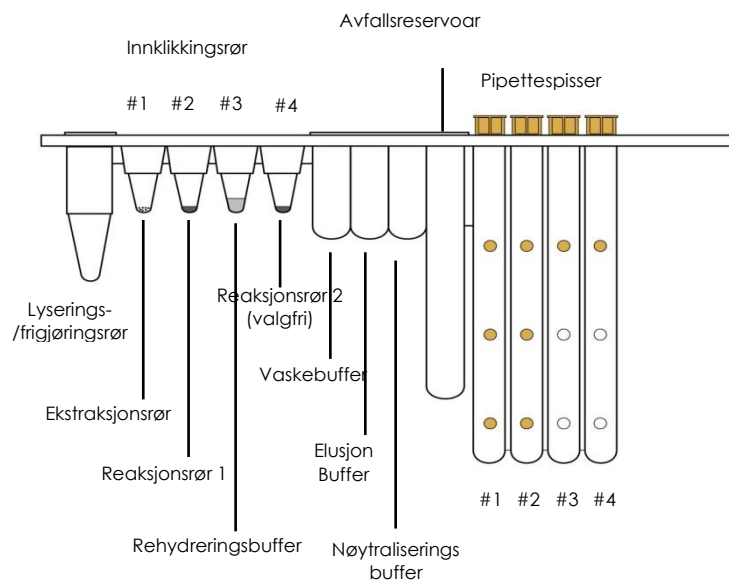
- 12) Klikk på knappen "Save test" (Lagre test).

### 8.3.2. Sette opp BD MAX™-stativet

- 1) Ta ut en separat modulareagensstrimmel fra BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit for hver prøve som skal testes. Dunk forsiktig hver strimmel mot en hard overflate for å sikre at alle væskene ligger i bunnen av rørene, og sett dem inn i BD MAX™ System prøvestativ.
- 2) Ta ut nødvendig antall BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (ekstraksjonsrør) (B4) (hvit folie) fra beskyttelsesposen. Klikk Extraction Tube(s) (ekstraksjonsrøret(ene)) (hvit folie) på plass i deres respektive posisjoner i TNA-strimmelen (posisjon 1, hvit fargekode på stativet. Se figur 1.) Fjern overflødig luft og lukk posen med lynlåsen.
- 3) Fastslå og adskill egnet antall *Respiratory Virus Mix 1* reaction tubes (reaksjonsrør) (1K-folie), og klikk dem på plass i deres respektive posisjoner i strimmelen (klemmeposisjon 2, grønn fargekode på stativet. Se figur 1.)
  - a. Fjern overflødig luft og lukk aluminiumsposen med lynlåsen.

- b. For riktig rehydrering må du passe på at det frysetørkede produktet er i bunnen av røret og ikke har festet seg til det øverste området av røret eller til folietetningen. Dunk forsiktig hvert rør mot en hard overflate for å sikre at alt produktet ligger i bunnen av røret.
- i. Merk: Hvis du velger formatet "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Dobbel mastermix konsentrert lyofilisert MM med rehydreringsbuffer (type 5)) (avsnitt 8.3.1), må du fastslå og adskille egnet antall ekstra VIASURE-reaksjonsrør (forskjellig folie) og klikke dem på plass i deres respektive posisjoner i strimmelen (klemmeposisjon 4, blå fargekode på stativet. Se figur 1.) Fjern overflødig luft og lukk aluminiumsposen med lynlåsen.
- 4) Ta ut nødvendig antall Rehydration Buffer tubes (rehydreringsbufferrør) (11-folie) og klikk dem på plass i deres respektive posisjoner i strimmelen (posisjon 3, uten fargekode på stativet. Se figur 1.) Fjern overflødig luft og lukk posen med lynlåsen.
- a. For å sikre riktig overføring må du passe på at væsken er i bunnen av røret og ikke har festet seg øverst i røret eller til folietetningen. Dunk forsiktig hvert rør mot en hard overflate for å sikre at hele bufferen er i bunnen av røret.

Figur 1. BD MAX™ TNA reagensstrimmel (TNA) fra BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit.



### 8.3.3. Sette opp BD MAX™-instrumentet

- 1) Velg fanen "Work List" (Arbeidsliste) på skjermen "Run" (Kjør) i BD MAX™ System programvare v4.50A eller nyere.
- 2) I nedtrekksmenyen "Test", velg VIASURE Respiratory Virus Mix I (hvis den ikke allerede er opprettet, se avsnitt 8.3.1).
- 3) Velg riktig lotnummer for settet (du finner det på ytteresken til ekstraksjonssettet som brukes) fra nedtrekksmenyen (valgfritt).
- 4) Oppgi ID-nummeret til prøvebufferrøret i vinduet "Sample Tube" (Prøverør) i "Work List" (Arbeidsliste), enten ved å skanne strekkoden eller ved å skrive det inn manuelt.
- 5) Fyll ut prøve-/pasient-ID og/eller vinduet "Accession" (Tilgang) i "Work List" (Arbeidsliste) og klikk på knappen "Save" (Lagre). Fortsett helt til du har lagt inn alle prøvebufferrørene. Sørg for at prøve-/pasient-ID og prøvebufferrørene samsvarer.

- 6) Plasser det klargjorte prøvebufferrøret i BD MAX™-stativet(-ene).
- 7) Plasser stativet(ene) i BD MAX™ System (stativ A settes på venstre side av BD MAX™ System og stativ B settes på høyre side).
- 8) Plasser nødvendig antall BD MAX™ PCR Cartridge(s) i BD MAX™ System.
- 9) Lukk døren på BD MAX™ System.
- 10) Klikk på "Start Run" (Start kjøring) for å begynne prosedyren.

### 8.3.4. BD MAX™-rapport

- 1) Gå til hovedmenyen og klikk på knappen "Results" (Resultater).
- 2) Enten dobbeltklikk på kjøringen din i listen eller trykk på knappen "View" (Vis).
- 3) Klikk på "Print" (Skriv ut), og velg: "Run Details, Test Details and Plot..." (Kjøringsdetaljer, testdetaljer og plott ...).
- 4) Klikk på knappen "Print or Export" (Skriv ut eller eksporter) på skjermbildet "Run Reports" (Kjøringsrapporter).

## 9. Tolkning av resultater

For en detaljert beskrivelse av hvordan du analyserer dataene, se brukerhåndboken for BD MAX™ System.

Dataanalysen utføres av BD MAX™-programvaren i henhold til produsentens instruksjoner. BD MAX™-programvaren rapporterer Ct-verdier og amplifikasjonskurver for hver detektorkanal for hver prøve som testes, på følgende måte:

- En Ct-verdi på 0 indikerer at programvaren ikke beregnet noen Ct-verdi med den angitte terskelen (se tabell 3). En amplifikasjonskurve av prøven som viser en Ct-verdi på 0, må sjekkes manuelt.
- En Ct-verdi på -1 indikerer at det ikke har funnet sted noen amplifikasjonsprosess som oppfyller kravene.

Alle andre Ct-verdier må tolkes i sammenheng med amplifikasjonskurven og i henhold til retningslinjene for tolkning av prøver som er angitt i tabell 6.

Sjekk det interne kontrollsignalet for å kontrollere at amplifikasjonsblandingen fungerer som den skal. Sjekk også at det ikke finnes noen rapport om systemfeil i BD MAX™ System.

Bruk tabellen under til å lese av og analysere resultatene:

SARS-CoV-2 (475/520)	Influenza B (530/565)	Influenza A (585/630)	RSV (A/B) (630/655)	Endogen Intern kontroll (680/715)	Tolkning
+	+	+	+	+/-1	RNA fra SARS-CoV-2, influensa B, influensa A og RSV (A/B) påvist <sup>1</sup>
-	+	+	+	+/-1	RNA fra influensa B, influensa A og RSV (A/B) påvist, RNA fra SARS-CoV-2 ikke påvist <sup>1</sup>
+	-	+	+	+/-1	RNA fra SARS-CoV-2, influensa A og RSV (A/B) påvist, RNA fra influensa B ikke påvist <sup>1</sup>
+	+	-	+	+/-1	RNA fra SARS-CoV-2, influensa B og RSV (A/B) påvist, RNA fra influensa A ikke påvist <sup>1</sup>
+	+	+	-	+/-1	RNA fra SARS-CoV-2, influensa B og influensa A påvist, RNA fra RSV (A/B) ikke påvist <sup>1</sup>
+	+	-	-	+/-1	RNA fra SARS-CoV-2 og influensa B påvist, RNA fra influensa A og RSV (A/B) ikke påvist <sup>1</sup>
+	-	+	-	+/-1	RNA fra SARS-CoV-2 og influensa A påvist, RNA fra influensa B og RSV (A/B) ikke påvist <sup>1</sup>
+	-	-	+	+/-1	RNA fra SARS-CoV-2 og RSV (A/B) påvist, RNA fra influensa B og influensa A ikke påvist <sup>1</sup>
-	+	+	-	+/-1	RNA fra influensa B og influensa A påvist, RNA fra SARS-CoV-2 og RSV (A/B) ikke påvist <sup>1</sup>
-	+	-	+	+/-1	RNA fra influensa B og RSV (A/B) påvist, RNA fra SARS-CoV-2 og influensa A ikke påvist <sup>1</sup>
-	-	+	+	+/-1	RNA fra influensa A og RSV (A/B) påvist, og RNA fra SARS-CoV-2 og influensa B ikke påvist <sup>1</sup>
+	-	-	-	+/-1	RNA fra SARS-CoV-2 påvist <sup>1</sup>
-	+	-	-	+/-1	RNA fra influensa B påvist <sup>1</sup>
-	-	+	-	+/-1	RNA fra influensa A påvist <sup>1</sup>
-	-	-	+	+/-1	RNA fra RSV påvist <sup>1</sup>
-	-	-	-	+2	RNA fra SARS-CoV-2, influensa B, influensa A, og RSV (A/B) ikke påvist <sup>2</sup>
-	-	-	-	-2	UNR = Uavklart resultat oppnådd på grunn av hemmere i PCR-reaksjonen eller når det oppstår et generelt problem (ikke rapportert av en feilkode) med prøvebehandlings- og/eller amplifikasjonsstrinn. <sup>2</sup>
IND	IND	IND	IND	IND	IND = Ubestemmelig analyseresultat. Skyldes systemfeil i BD MAX™ System. Analyseresultatet vises i tilfeller med instrumentfeil knyttet til en feilkode.
INC	INC	INC	INC	INC	INC = Ufullstendig analyseresultat. Skyldes systemfeil i BD MAX™ System. Analyseresultatet vises i tilfeller med ikke fullført kjøring.

Tabell 15. Tolkning av prøve.

+: Amplifikasjon fant sted.

-: Ingen amplifikasjon fant sted.

**1** En prøve anses som positiv hvis oppnådd Ct-verdi er under 40. Den endogene interne kontrollen (EIC) kan i noen tilfeller gi et amplifikasjonssignal. EIC-påvisningen er ikke alltid nødvendig fordi et høyt antall kopieringer av målet kan gi preferensiell amplifikasjon av målspesifikke nukleinsyrer.

**2** En prøve anses som negativ hvis prøven ikke viser noe amplifikasjonssignal i påvisningssystemet og den endogene interne kontrollen er positiv (Ct er under 35). Hemming av PCR-reaksjonen kan utelukkes hvis den interne kontrollen amplifiseres. I tilfelle av uavklarte resultater (UNR), fravær av signal for intern kontroll i en negativ prøve, anbefales det å gjenta analysen i henhold til indikasjonene nedenfor.

Ved vedvarende uklare resultat anbefales det å lese gjennom bruksanvisningen og gjennomgå ekstraksjonsprosessen som benyttes av brukeren; å bekrefte riktig bruk av hvert PCR-trinn og revidere parametrene; samt kontrollere sigdformen på kurven og fluoriseringens intensitet.

MERK: Nye prøver kan testes i samme kjøring som repetisjonsprøver.

Testresultatene skal evalueres av helsepersonell i sammenheng med sykehistorikk, kliniske symptomer og andre diagnostiske tester.

## 10. Testens begrensninger

- Testresultatene skal evalueres av helsepersonell i sammenheng med sykehistorikk, kliniske symptomer og andre diagnostiske tester.
- Selv om denne analysen kan brukes med andre typer prøver, har den blitt validert med nasofaryngeale prøvepensler.
- Det lyofiliserte produktet må være i bunnen av røret og ikke klebet til toppområdet eller folietetningen for en vellykket utførelse. Dunk forsiktig hvert rør mot en hard overflate for å sikre at alt produktet ligger i bunnen av røret.
- Om reagensmiksturen har et stabilisert format – vanligvis lokalisert i bunnen av røret – og et utseende som er ulikt det vanlige utseendet (uten konisk form, ikke homogen, mindre/større i størrelse og/eller har en annen farge enn hvitaktig), endrer ikke dette prøvens funksjonalitet.
- Kvaliteten på testen avhenger av kvaliteten på prøven; nukleinsyre må ekstraheres på riktig måte fra luftveisprøver.
- Prøven er en kvalitativ test og gir ingen kvantitative verdier eller indikerer mengden av organismer i prøven.
- Ekstremt lave målenivåer som ligger under påvisningsgrensen vil muligens bli påvist, men resultatene vil ikke kunne reproduseres.
- Det finnes en mulighet for falske positive resultater grunnet krysskontaminering av SARS-CoV-2, influensa B, influensa A eller RSV (A/B), enten prøver som inneholder høye konsentrasjoner av mål-RNA eller kontaminering grunnet PCR-produkter fra tidligere reaksjoner.
- De spesifikke kombinasjonene av primer og probe for påvisning av *N*- og *ORF1ab*-genene for SARS-CoV-2, *M1*-genet for influensa B, *M1*-genet for influensa A og *N*-genet for RSV (type A og B) brukt i VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, viser ikke signifikante kombinerte homologier med det humane genomet, human mikroflora eller andre mikroorganismer i luftveiene, som kunne resultere i forutsigbare falske positive resultater.
- Falske negative resultat kan komme av flere faktorer og kombinasjoner av disse faktorene, inkludert:

- Feilaktig innsamling, transport, oppbevaring, og/eller håndtering av prøvematerialet.
  - Feilaktig prosedyrebehandling (inkludert RNA ekstraksjon).
  - Nedbrytning av RNA gjennom transport/oppbevaring og/eller behandling av prøvematerialet.
  - Mutasjon eller polymorfisme i primer- eller probebindingsområder kan ha en innvirkning på påvisningen av nye eller ukjente stammer av SARS-CoV-2, influensa B, influensa A eller RSV (A/B).
  - Organismemengden i prøvematerialet er under grensen for påvisning eller cutoff i analysen.
  - Forekomst av qPCR-hemmere eller andre typer forstyrrende substanser. Påvirkning fra vaksiner, antivirale legemidler, antibiotika, kjemoterapeutika og immunsuppressive legemidler brukt til å forhindre COVID-19, influensa og RSV eller brukt til behandling av infeksjonen, har ikke blitt evaluert.
  - Instruksjonene for bruk og analyseprosedyren blir ikke fulgt.
- Noen prøver vil ikke vise amplifikasjonskurver for *Rnase P* på grunn av lav mengde humane celler i den opprinnelige kliniske prøven. Et negativt IC-signal utelukker ikke tilstedeværelse av RNA fra SARS-CoV-2, influensa B, influensa A eller RSV (A/B) i en klinisk prøve.
  - En positiv test indikerer ikke nødvendigvis levedyktige virus og antyder ikke at virusene er infeksjose eller er den bakenforliggende årsaken til kliniske symptomer. Men en positiv test indikerer tilstedeværelsen av målets virussekvenser.
  - Dersom diagnostiske tester for andre luftveissykdommer er negative og pasientens kliniske symptomer og epidemiologiske informasjon antyder en mulighet for infeksjon med SARS-CoV-2, influensa B, influensa A eller RSV (A/B), bør et falskt negativ resultat vurderes og en ny testing av pasienten bør diskuteres.
  - Et negativt resultat utelukker ikke tilstedeværelse av mål-RNA i en klinisk prøve. Dersom kliniske observasjoner, pasienthistorikk og epidemiologisk informasjon antyder en infeksjon med SARS-CoV-2, influensa B, influensa A eller RSV (A/B), bør det vurderes å utføre en ny test med økt mengde prøvevolum.
  - I tilfelle av uavklarte, ubestemte eller ufullstendige resultater ved bruk av VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, må testen gjentas. Uavklarte resultater kan skyldes tilstedeværelse av hemmere i prøven eller en ukorrekt rehydrering av røret med lyofilisert reaksjonsblanding. Hvis det oppstår instrumentsvikt, vil resultatene som oppnås være ubestemte eller ufullstendige.

## 11. Kvalitetskontroll

VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System inneholder en endogen intern kontroll (EIC) i hvert reaksjonsrør som bekrefter at teknikken fungerer som den skal.

## 12. Ytelseegenskaper

### 12.1. Klinisk sensitivitet og spesifisitet

Den kliniske ytelsen til VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System ble testet med kliniske luftveisprøver (nasofaryngeale prøvepensler) fra pasienter med klinisk mistanke om infeksjon med SARS-CoV-2, influensa A/B eller RSV A/B. Resultatene var som følger:



	Sted	Prøvetype	Arbeidsflyt	Mål
1	CerTest Biotec S.L. i samarbeid med Biobanco del Sistema de Salud de Aragón (BSSA) (Biobanken til helsevesenet i Aragón) og departementet for mikrobiologi og parasittologi i Asturias' sentrale universitetssykehus	Nasofaryngeale prøvepensler	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	SARS-CoV-2
				Influenza B
				Influenza A
				RSV (A/B)

Tabell 16. Sted, prøvetype, arbeidsflyt og mål.

Sanne positive og negative verdier, falske positive og negative verdier, samt verdier for sensitivitet og spesifisitet for VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System ble regnet ut i forhold til hver komparatoranalyse som vist i tabellen nedenfor:

Sted	Komparatoranalyse	Mål	TP	TN	FP	FN	Sensitivitet	Spesifisitet
1	TaqPath COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kit (Thermo Fisher Scientific) eller VIASURE SARS-CoV-2 Real Time PCR Detection Kit, + etterfølgende helgenomsekvensering	SARS-CoV-2	127	625	1	3	0,977 (0,934–0,995)	0,998 (0,991–1)
	Cobas® Influenza A/B & RSV Nucleic acid test for bruk på cobas® Liat® System (cobas® Influenza A/B & RSV)	Influenza B	18	738	0	0	1 (0,815–1)	1 (0,995–1)
		Influenza A	49	704	1	2	0,961 (0,865–0,995)	0,999 (0,992–1)
		RSV (A/B)	50	706	0	0	1 (0,929–1)	1 (0,995–1)

Tabell 17. TP (Sanne positive) og TN (negative) verdier, FP (falske positive) og FN (negative verdier), sensitivitet, spesifisitet for VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Resultatet viser samsvar for påvisning av SARS-CoV-2-, influensa B-, influensa A- og RSV-virus ved bruk av VIASURE *Respiratory Virus Mix I* ) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

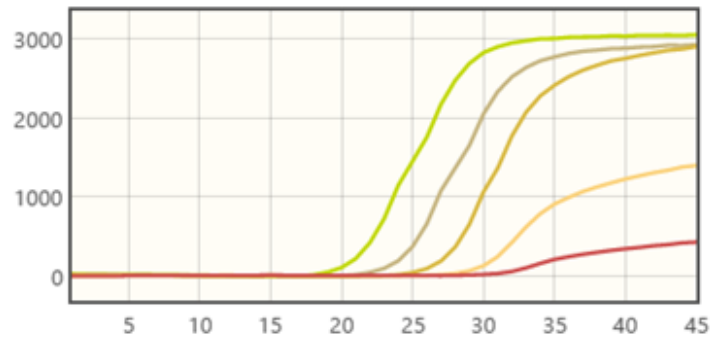
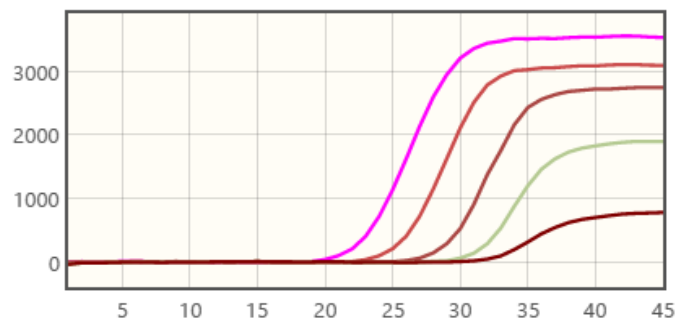
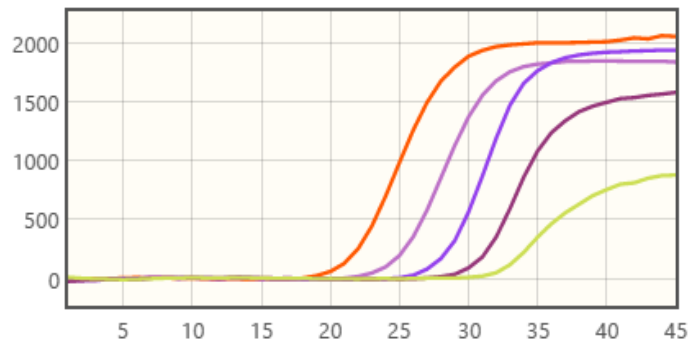
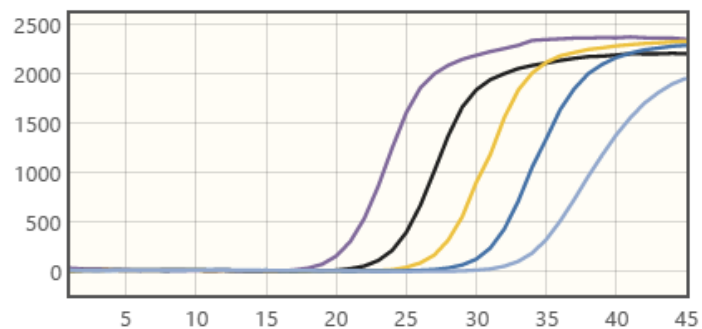
## 12.2. Analytisk sensitivitet

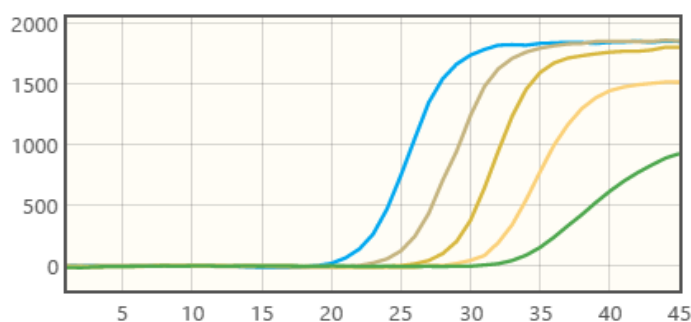
VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System har følgende resultater for påvisningsgrense (LoD) med nasofaryngeale prøver med en positiv andel på  $\geq 95\%$ :

- VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System har en påvisningsgrense (LoD) på 5,01 IU (internasjonale enheter)/ $\mu$ l for SARS-CoV-2.
- VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System har en påvisningsgrense (LoD) på  $1,8 \times 10^2$  CEID<sub>50</sub> (Median Chicken Embryo Infectious Dose)/ml for Influenza B.
- VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System har en påvisningsgrense (LoD) på  $10^{-0.5}$  TCID<sub>50</sub> (Median Tissue Culture Infectious Dose) /ml for Influenza A.
- VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System har en påvisningsgrense (LoD) på 4 genomkopier/ $\mu$ l for RSVA og RSVB.

Merk: Påvisningsgrensen ble beregnet ved bruk av et prøvevolum på 400  $\mu$ l.

Eksempler på amplifikasjonsdiagrammer fra analyser kjørt på BD MAX™ System er vist nedenfor.

Figur 2. Fortynningsserie av SARS-CoV-2-templat ( $5 \times 10^5$ - $5 \times 10^0$  kopier per reaksjon) kjørt på BD MAX™ System (kanal 475/520 (FAM)).Figur 3. Fortynningsserie av influensa B-templat ( $5 \times 10^5$ - $5 \times 10^0$  kopier per reaksjon) kjørt på BD MAX™ System (kanal 530/565 (HEX)).Figur 4. Fortynningsserie av influensa A-templat ( $5 \times 10^5$ - $5 \times 10^0$  kopier per reaksjon) kjørt på BD MAX™ System (kanal 585/630 (ROX)).Figur 5. Fortynningsserie av RSVA-templat ( $5 \times 10^5$ - $5 \times 10^0$  genomkopier per reaksjon) kjørt på BD MAX™ System (kanal 630/665 (CY5)).

Figur 6. Fortynningsserie av RSVB-templat ( $5 \times 10^5$ - $5 \times 10^0$  genomkopier per reaksjon) kjørt på BD MAX™ System (kanal 630/665 (CY5)).

### 12.3. Analytisk spesifisitet

Spesifisitet for analyse av *Respiratory Virus Mix I* ble bekreftet ved testing av et panel bestående av forskjellige mikroorganismer som representerte de vanligste luftveispatogenene. Ingen kryssreaktivitet ble påvist mellom noen av de følgende testede mikroorganismene:

Test av kryssreaktivitet					
Humant adenovirus, type 1–5, 8, 15, 31, 40 og 41	-	Enterovirus Coxsackievirus A24, A9 og B3	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
Bocavirus	-	Enterovirus Echovirus 30	-	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	-	Enterovirus 68, 71	-	Humant parainfluenzavirus 1, 2, 3 og 4	-
<i>Bordetella holmesii</i>	-	<i>Haemophilus influenzae</i> MinnA	-	<i>Pneumocytis jirovecii</i> Type A1 og g885652	-
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	<i>Legionella bozemanii</i>	-	Humant rhinovirus	-
<i>Bordetella pertussis</i>	-	<i>Legionella dumoffii</i>	-	SARS Coronavirus stamme Frankfurt 1	-
<i>Chlamydia caviae</i>	-	<i>Legionella longbeachae</i>	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
<i>Chlamydia psittaci</i> genotype A og C	-	<i>Legionella micdadei</i>	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> CM-1	-	<i>Legionella pneumophila</i>	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Humant coronavirus 229E, OC43, NL63 og HKU1	-	Humant metapneumovirus A og B	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
MERS koronavirus	-	<i>Moraxella catarrhalis</i>	-	<i>Streptococcus salivarius</i>	-

Tabell 18. Patogene mikroorganismer benyttet som referanse i denne studien.

### 12.4. Analytisk reaktivitet

Reaktiviteten til VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System for **SARS-CoV-2** ble evaluert mot RNA ekstrahert fra Human 2019-nCoV-stamme BetaCoV/Germany/BavPat1/2020 p.1, Human 2019-nCoV-stamme 2019-nCoV/Italy-INMI1, syntetiske RNA-kontroller for variant MT007544.1 (SARSCoV2-isolat Australia/VIC01/2020), variant MN908947.3 (SARS-CoV-2 isolate Wuhan-Hu-1), Alpha-variant (B.1.1.7 England/MILK-9E05B3/2020), Beta-variant (B.1.351 South Africa/KRISP-EC-K005299/2020), Gamma-variant (P.1 Japan (Brazil) /IC-0564/2021) og Kappa-variant (B.1.617.1 India/CT-ILSGS00361/2021), og varmeinaktivert SARSCoV-2-stamme 2019nCoV/USAWA1/2020 (ATCC® VR1986HK™), og bestrålt cellelysatsat fra 2019-nCoV/USA-WA1/2020, og

frystetørkede cellelysater fra BetaCoV/Berlin/ChVir1670/2020\_IsolatBER, BetaCoV/Munich/ChVir984/2020 og BetaCoV/Baden-Wuerttemberg/1/ChVir1577/2020\_IsolatBER, med positive resultater..

Reaktiviteten til VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System for **influenza B** ble evaluert mot RNA ekstrahert fra følgende stammer: B/Phuket/3073/2013, B/Brisbane/60/2008, Influenzavirus B/Florida/04/06, B/Pennsylvania/7/2007 (Yamagata-linje), B/Santiago/4364/2007 (Yamagata-linje), B/Brisbane/3/2007 (Yamagata-linje), B/Pennsylvania/5/2007 (Victoria-linje), B/Victoria/304/2006 (Victoria-linje), B/Bangladesh/3333/2007 (Yamagata-linje), som viste positive resultater.

Reaktiviteten til VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System for **influenza A** ble evaluert mot RNA ekstrahert fra følgende stammer: A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2), A/Thüringen/5/2017 (H3N2), A/DE-SH/Reiherente/AR8444/ 2016(H5N8), A/Anhui/1/2013 (H7N9), A/Michigan/45/2015 (H1N1 pdm09), A/California/7/2009 (H1N1), A/California/7/2009 (H1N1pdm09), A/South Australia/55/2014, Switzerland/9715293/2013 (H3N2) IVR-175, A/Singapore/GP1908/2015 IVR-180, A/Hong Kong/4801/2014 NYMC X-263B, Influenzavirus A/New Caledonia/20/99 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/South Dakota/6/2007 (H1N1), A/Hawaii/31/2007 (H1N1), A/Qatar/1123/2007 (H1N1), A/Cambodia/0371/2007 (H1N1), Influenzavirus A, A/Brisbane/10/2007 (H3N2), Influenzavirus A, A/Taiwan/760/2007 (H3N2), Influenzavirus A, A/Texas/71/2007 (H3N2), A/Brisbane/10/2007 (H3N2) IVR-147, A/Brisbane/59/2007 (H1N1) IVR-148, A/South Dakota/6/2007 (H1N1) X-173, A/California/07/2009 (H1N1)pdm09, A/California/08/2009 (H1N1)pdm09, A/New York/18/2009 (H1N1)pdm09, A/Mexico/4108/2009 (H1N1)pdm09, A/California/07/2009 (H1N1 pdm09) NYMC X-179A, A/Victoria/2570/2019 IVR-215 og A/Cambodia/e0826360/2020 IVR-224, som viste positive resultater.











Reaktiviteten til VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System for **RSV** ble evaluert mot RNA ekstrahert fra respiratorisk syncytialt virus A (stamme A-2) og respiratorisk syncytialt virus B (stamme 9320), med positivt resultat.

## Bibliography/ Litteratur

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/NEJMod2001017.
3. World Health Organization. MERS situation update. January 2020. Available from <https://applications.emro.who.int/docs/EMCSR254E.pdf?ua=1>
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>
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), Symptoms of Coronavirus. Available from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/about/symptoms.html>
10. 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>
11. 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>
12. 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.
13. 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-primerprobes.pdf>
14. 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.
15. Corman V.M. et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *European communicable disease bulletin* 2020;25(3).
16. 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>
17. 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.
18. McBride R. et al. The coronavirus nucleocapsid is a multifunctional protein. *Viruses* 2014; 6(8):2991-3018.
19. 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.

20. World Health Organization. Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19: interim guidance Interim guidance. 21 March 2020. Available from <https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-testingstrategy-recommendations-for-covid-19-interim-guidance>
21. G. Neumann et al. Transmission of Influenza A viruses. *Virology* 2015; 234-246.
22. Y. Yang et al. Simultaneous typing and HA/NA subtyping of influenza A and B viruses including the pandemic influenza A/H1N1 2009 by multiplex real-time RT-PCR. *Journal of Virological Methods* 2010; 167(1): 37-44.
23. R.L. Kuo et al. Influenza A/B virus detection and influenza A virus subtyping with emphasis on the novel H7N9 virus by using multiplex real-time RT-PCR. *Journal of Virological Methods* 2014; 208:41-46.
24. World Health Organization. WHO information for molecular diagnosis of influenza virus—update. Available from: [https://www.who.int/influenza/gisrs\\_laboratory/molecular\\_diagnosis/en/](https://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/molecular_diagnosis/en/)
25. S. Subhash Bawage et al. Recent Advances in Diagnosis, Prevention, and Treatment of Human Respiratory Syncytial Virus. *Advances in Virology* 2013.
26. French, et al. Risk of nosocomial respiratory syncytial virus infection and effectiveness of control measures to prevent transmission events: a systematic review. *Influenza and Other Respiratory Viruses* 2016.
27. X. Yu et al. Human respiratory syncytial virus in children with lower respiratory tract infections or influenza-like illness and its co-infection characteristics with viruses and atypical bacteria in Hangzhou, China. *Journal of Clinical Virology* 2015; 69:1-6.
28. N. Mazur et al. Lower respiratory tract infection caused by respiratory syncytial virus: current management and new therapeutics. *The Lancet Respiratory Medicine* 2015; 3: 888-900.
29. F. de-Paris et al. Optimization of one-step duplex real-time RT-PCR for detection of influenza and respiratory syncytial virus in nasopharyngeal aspirates. *Journal of Virological Methods* 2012; 186(1-2): 189-192.
30. A. Hu et al. Simultaneous detection, subgrouping, and quantitation of respiratory syncytial virus A and B by real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 2003; 41(1): 149-154.
31. M. Hindiyeh et al. Evaluation of Simplexa Flu A/B & RSV for direct detection of influenza viruses (A and B) and respiratory syncytial virus in patient respiratory samples. *Journal of Clinical Microbiology* 2013; 51(7): 2421-2424.

## Symbols for IVD components and reagents/ Symboler for IVD-komponenter og reagenser

 <p><i>In vitro</i> diagnostic device <i>In vitro</i>-diagnostisk enhet</p>	 <p>Keep dry Holdes tørr</p>	 <p>Use by Brukes innen</p>	 <p>Manufacturer Produsent</p>	 <p>Batch code (Lot) Partikode (lot)</p>
 <p>Consult instructions for use Les bruksanvisningen</p>	 <p>Temperature limitation Temperaturgrenser</p>	 <p>Contains sufficient for &lt;n&gt; test Inneholder nok til &lt;n&gt; tester</p>	 <p>Unique Device Identification Unik enhetsidentifikasjon</p>	 <p>Catalognumber Katalognummer</p>

## Trademarks

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

<b>Change Control / Endringskontroll</b>		
<b>Version No. / Versjon nr.</b>	<b>Changes / Endringer</b>	<b>Date / Dato</b>
00	Original version / Original versjon.	25/07/2022
01	"Spectral Cross Talk" values of table 4 have been updated / Verdiene for "Spectral Cross Talk" i tabell 4 er oppdatert	02/08/2022

Table A 2. Control change table/ Tabell over endringskontroller.

Revision: 02<sup>nd</sup> August 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](http://www.certest.es)

*One step ahead*



F-566 rev02