

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 / Denna bruksanvisning gäller för följande referens:

PRODUCT / PRODUKT	REFERENCE / REFERENS
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. / Referens för produkt som ska användas med BD MAX™ System.

NOTE: Instructions for use (IFU) are included into the kit in English/Spanish version / En engelsk/spansk bruksanvisning medföljer i kittet.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Obs! Användaren ska meddela tillverkaren och den behöriga myndigheten i användarens eller patientens medlemsstat i händelse av en allvarlig incident kopplad till produkten.

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

Innehåll

1.	Avsedd användning	21
2.	Sammanfattning och förklaring.....	21
3.	Procedurprincip.....	22
4.	Medföljande reagenser.....	23
5.	Reagenser och utrustning som ska tillhandahållas av användaren.....	23
6.	Transport- och förvaringsförhållanden	24
7.	Försiktighetsåtgärder.....	24
8.	Testprocedur.....	25
8.1.	Insamling, förvaring och transport av prover	25
8.2.	Provberedning och DNA-extraktion	26
8.3.	PCR-protokoll.....	26

9.	Resultatfolkning	29
10.	Testets begränsningar.....	31
11.	Kvalitetskontroll.....	32
12.	Prestandaegenskaper	32
12.1.	Klinisk sensitivitet och specificitet	32
12.2.	Analytisk sensitivitet	33
12.3.	Analytisk specificitet.....	35
12.4.	Analytisk reaktivitet	35
	Bibliography/Bibliografi.....	37
	Symbols for IVD components and reagents/ Symboler för IVD-komponenter och 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.

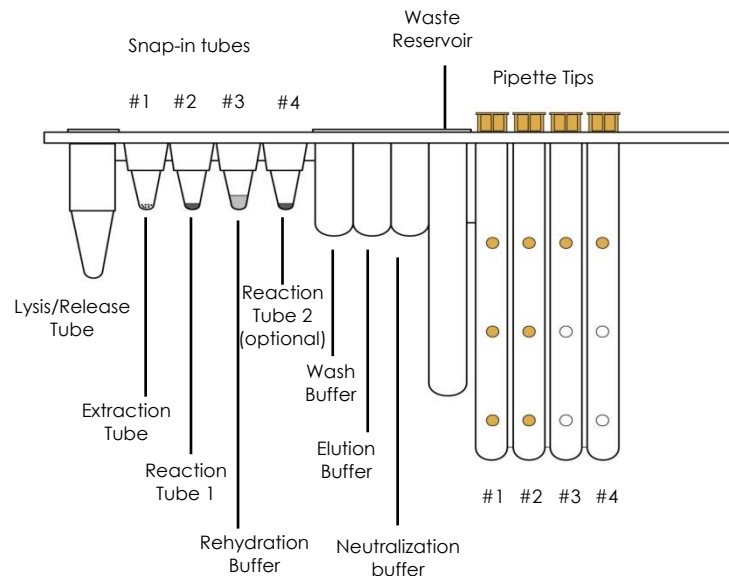
12) Click the "Save Test" button.

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 I* (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
+	+	+	+	+/- ¹	SARS-CoV-2, Flu B, Flu A and RSV (A/B) RNA detected ¹
-	+	+	+	+/- ¹	Flu B, Flu A, RSV (A/B) RNA detected and SARS-CoV-2 RNA not detected ¹
+	-	+	+	+/- ¹	SARS-CoV-2, Flu A, RSV (A/B) RNA detected and Flu B RNA not detected ¹
+	+	-	+	+/- ¹	SARS-CoV-2, Flu B, RSV (A/B) RNA detected and Flu A RNA not detected ¹
+	+	+	-	+/- ¹	SARS-CoV-2, Flu B, Flu A RNA detected and RSV (A/B) RNA not detected ¹
+	+	-	-	+/- ¹	SARS-CoV-2, Flu B RNA detected and Flu A, RSV (A/B) RNA not detected ¹
+	-	+	-	+/- ¹	SARS-CoV-2, Flu A RNA detected and Flu B, RSV (A/B) RNA not detected ¹
+	-	-	+	+/- ¹	SARS-CoV-2, RSV (A/B) RNA detected and Flu B, Flu A RNA not detected ¹
-	+	+	-	+/- ¹	Flu B, Flu A RNA detected and SARS-CoV-2, RSV (A/B) RNA not detected ¹
-	+	-	+	+/- ¹	Flu B, RSV (A/B) RNA detected and SARS-CoV-2, Flu A RNA not detected ¹
-	-	+	+	+/- ¹	Flu A, RSV (A/B) RNA detected and SARS-CoV-2, Flu B RNA not detected ¹
+	-	-	-	+/- ¹	SARS-CoV-2 RNA detected ¹
-	+	-	-	+/- ¹	Influenza B RNA detected ¹
-	-	+	-	+/- ¹	Influenza A RNA detected ¹
-	-	-	+	+/- ¹	RSV RNA detected ¹
-	-	-	-	+ ²	SARS-CoV-2, Flu B, Flu A and RSV (A/B) RNA not detected ²
-	-	-	-	- ²	Unresolved (UNR) Result obtained in the presence of inhibitors in the PCR reaction or when a general problem (not reported by an error code) with the sample processing and/or amplification steps occurs. ²
IND	IND	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)/ μl for SARS-CoV-2.
- VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System has a detection limit (LoD) of 1.8×10^2 CEID₅₀ (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 $10^{-0.5}$ TCID₅₀ (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/ μl for RSVA and RSVB.

Note: The detection limit was calculated using a sample volume of 400 μl .

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 (5×10^5 - 5×10^0 copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (475/520 (FAM) channel).

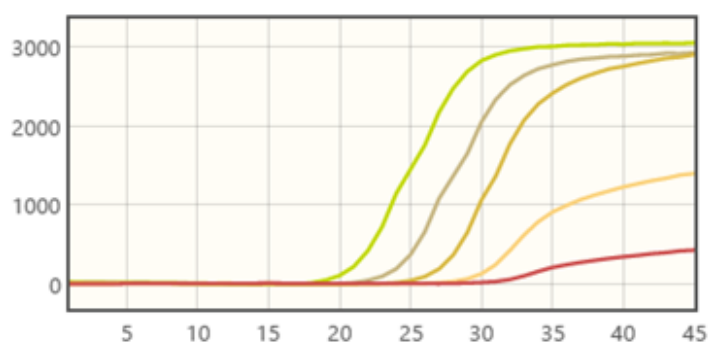


Figure 3. Dilution series of Influenza B (5×10^5 - 5×10^0 copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (530/565 (HEX) channel).

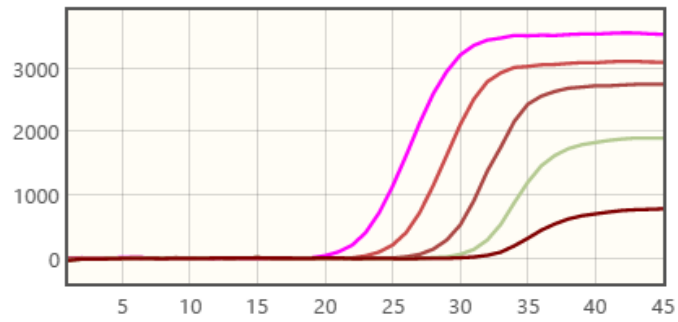


Figure 4. Dilution series of Influenza A (5×10^5 - 5×10^0 copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (585/630 (ROX) channel).

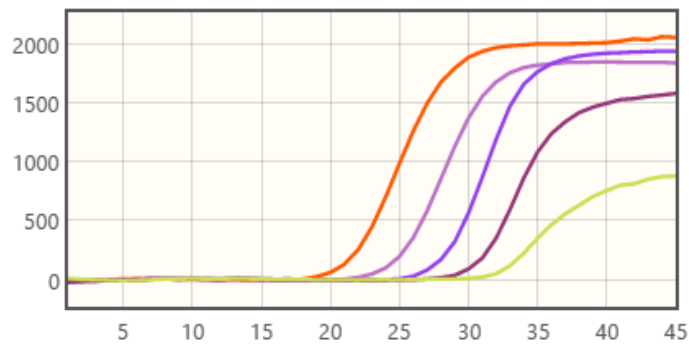


Figure 5. Dilution series of RSVA (5×10^5 - 5×10^0 genome copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (630/665 (CY5) channel).

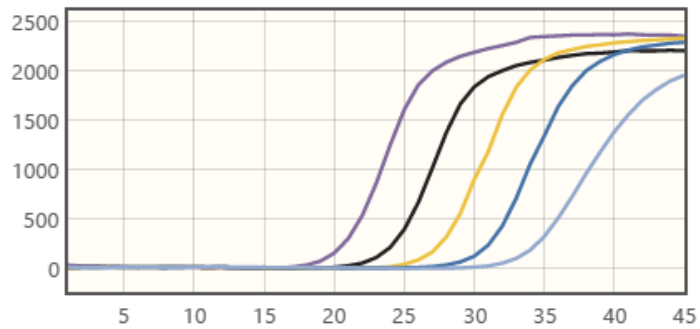
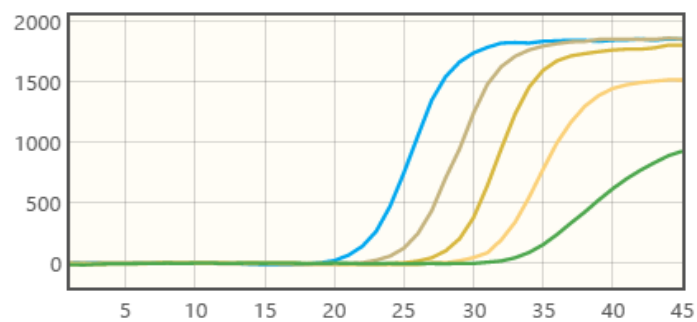


Figure 6. Dilution series of RSVB (5×10^5 - 5×10^0 genome copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (630/665 (CY5) channel).



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.

SVENSKA

1. Avsedd användning

VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System är ett automatiserat realtids-RT-PCR-test utformat för kvalitativ detektion av RNA från SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A och RSV (typerna A och B) i luftvägsprover (nasofaryngeala svabbar) från patienter som av sjukvårdspersonal misstänks ha luftvägsinfektion. Detta test är avsett att användas som en hjälp för identifiering av infektioner orsakade av SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A och RSV (typerna A och B) i kombination med patientens kliniska tecken och symtom samt epidemiologiska riskfaktorer. Analysen använder BD MAX™ System för automatiserad extraktion av RNA och efterföljande realtids-RT-PCR med medföljande reagenser kombinerade med universella reagenser och engångsartiklar för BD MAX™ System. RNA extraheras från prover, och kompletterande DNA (cDNA) syntetiseras och amplifieras med användning av RT-PCR och detekteras med fluorescerande rapportörfärgprober som är specifika för SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A och RSV (typerna A och B).

2. Sammanfattning och förklaring

Coronavirus är höljeförsedda och icke-segmenterade positiv sense-RNA-virus och tillhör familjen Coronaviridae. Det finns sex arter av coronavirus som är kända för att orsaka sjukdomar hos människa. Fyra virus (229E, OC43, NL63 och HKU1) orsakar vanliga förkylningssymtom och de andra två (svårt akut respiratoriskt syndrom (SARS-CoV)-coronavirus och respiratoriskt syndrom från Mellanöstern (MERS-CoV)-coronavirus) är zoonotiska och ger svårare komplikationer. SARS-CoV och MERS-CoV har orsakat fler än 10 000 kumulativa fall under de senaste två årtiondena med mortalitetsfrekvenser på 34 % för MERS-CoV och 10 % för SARS-CoV.

I december 2019 fick vissa personer som arbetade på eller bodde i närheten av Huanans skaldjursmarknad i Wuhan, Hubei-provinsen i Kina, lunginflammation av okänd orsak. Djupsekvenseringsanalys av luftvägsprover påvisade ett nytt coronavirus som först fick namnet nytt 2019-coronavirus (2019-nCoV) och senare SARS-CoV-2.

Överföring mellan människor av SARS-CoV-2 har bekräftats, även under inkubationstiden utan symtom, och viruset orsakar svår respiratorisk sjukdom precis som SARS-CoV. Även om lunginflammationen är den huvudsakliga associerade sjukdomen har ett fåtal patienter utvecklat svår lunginflammation, lungödem, akut respiratoriskt stressyndrom eller flerorgansvikt och dödsfall. Den amerikanska myndigheten Centers of Disease Control and Prevention (CDC) tror att symtom på SARS-CoV-2 kan visa sig på så kort tid som 2 dagar eller så lång tid som 14 dagar efter exponering. Vanligaste symtom är feber eller frossa, hosta, trötthet, anorexi, myalgi och dyspné. Mindre vanliga symtom är halsont, nästäppa, huvudvärk, diarré, illamående och kräkningar. Förlust av luktsinne (anosmi) eller smaksinne (ageusi) efter debut av symtom i luftvägarna har också rapporterats. Äldre vuxna och personer med allvarlig underliggande sjukdom, t.ex. hjärt- eller lungsjukdom eller diabetes, verkar löpa större risk för att utveckla allvarligare komplikationer av COVID-19.

CDC rekommenderar prover från övre luftvägarna (nasofaryngeala (NP) och orofaryngeala (OP) svabbprover, svabbprover från mellersta näsmusslan, nasala svabbprover, prover med nasofaryngealt eller nasalt aspirat/sköljvätska (NW) som huvudsakligen tas av sjukvårdspersonal) och/eller prover från nedre luftvägarna (sputum, endotrakealt aspirat eller bronkoalveolär sköljvätska hos patienter med allvarligare luftvägssjukdom) för identifieringen av SARS-CoV-2 och andra luftvägsvirus, t.ex. influensa och RSV.

Influensavirus tillhör familjen Orthomyxoviridae och orsakar de flesta virusinfektioner i de nedre luftvägarna. Influensa A och B är en signifikant orsak till morbiditet och mortalitet över hela världen med tanke på att äldre och komprometterade individer särskilt löper risk för att utveckla svår sjukdom och komplikationer, t.ex. lunginflammation. Personer upplever vissa eller samtliga av dessa symtom: feber eller feberkänsla/frossa, hosta, halsont, nästäppa, rinnande näsa, myalgi, huvudvärk och minskad aptit. Influensavirus kan spridas från person till person på två olika sätt: via luften (stora droppar och aerosoler från nysningar och hosta) och via direkt eller indirekt kontakt.

Influensa A och B är höljeförsedda och enkelsträngade RNA-virus som innehåller åtta segmenterade strängar av genom-RNA vilka vanligtvis kodar för 11 eller 12 virusproteiner. Virushöljet, som kommer från värdens plasmamembran, består av ett dubbelt lipidlager innehållande transmembranproteiner, t.ex. hemagglutinin (HA), neuraminidas (NA) samt matrisproteiner M1 och M2. Influensa A-virus klassificeras vidare i undertyper baserat på antigeniciteten för "HA"- och "NA"-molekylerna, medan influensa B delas in i två antigenmässigt och genetiskt distinkta varianter, Victoria och Yamagata.

Humant respiratoriskt syncytialvirus A och B (RSV) tillhör familjen Paramyxoviridae och är de viktigaste orsakerna till akuta luftvägsinfektioner. RSV är ett höljeförsett, icke-segmenterat, negativt enkelsträngat och linjärt RNA-genomvirus. Respiratoriskt syncytialvirus är en vanlig orsak till luftvägsinfektioner som orsakar bronkit, lunginflammation och kroniskt obstruktiva lunginfektioner hos personer i alla åldrar. Personer upplever ofta vissa eller samtliga av dessa symtom: rinnande näsa, låggradig feber, hosta, halsont, huvudvärk och väsande andning. RSV överförs via stora nasofaryngeala sekret droppar från infekterade individer, nära kontakt eller självinokulering efter vidröring av kontaminerade ytor.

En diagnos kan vara problematisk eftersom flera olika patogener kan orsaka akuta luftvägsinfektioner med liknande kliniska symtom. Realtids-PCR-analyser har visat sig vara känsliga och specifika diagnostiska verktyg för detektionen av SARS-CoV-2-, Flu A-, Flu B- och RSV-virus.

3. Procedurprincip

VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System är utformat för kvalitativ detektion av RNA från SARS-CoV-2, Influensa B, Influensa A och RSV (typerna A och B) i nasofaryngeala svabbar. Detektionen utförs med reallids-RT-PCR i ett ettstegsformat, där omvänd transkription och efterföljande amplifiering av den specifika målsekvensen äger rum i samma reaktionsrör. Det isolerade RNA-målet transkriberas och ger komplementärt DNA genom omvänt transkriptas som följs av amplifieringen av en bevarad region i N och ORF1ab-generna i SARS-CoV-2, M1-genen i Influensa B, M1-genen i Influensa A och N-genen i RSV (typerna A och B) med användning av specifika primrar och fluorescensmärkta prober.

VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System is baseras på DNA-polymerasets 5'-exonukleasaktivitet. Under DNA-amplifieringen klyver detta enzym proben som är bunden till den komplementära DNA-sekvensen, vilket separerar quencher-färgen (släckare) från rapportören. Denna reaktion genererar en ökning av fluorescenssignalen som är proportionell mot mängden av målmall. Denna fluorescens mäts på BD MAX™ System.

Varje rör i VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System innehåller alla de komponenter som krävs för reallids-PCR-analys (specifika primrar/prober, dNTP, buffert, polymeras och omvänt

transkriptas) i stabiliserad form, samt en endogen intern kontroll för att övervaka extraktionsprocessen och/eller inhiberingen av polymerasaktiviteten. Analysen använder en hushållningsgen från människa som en endogen intern kontroll (EIC) (human *RNase P*-gen). Hushållningsgener från människa är involverade i grundläggande cellfunktioner och förväntas därför förekomma i alla kärnförsedda humanceller och bibehålls på relativt konstanta uttrycksnivåer.

Mål	Kanal	Gen
SARS-CoV-2	475/520	<i>N</i> och <i>ORF1ab</i> -gen
Influensa B	530/565	<i>Matrix</i> -gen (<i>M1</i>)
Influensa 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	Human <i>RNase P</i> -gen

Tabell 10. Mål, kanal och gener.

4. Medföljande reagenser

VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System omfattar följande material och reagenser som anges i tabell 2:

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

Tabell 11. Reagenser och material som medföljer VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System med kat. nr VS-SFR124 (444219).

5. Reagenser och utrustning som ska tillhandahållas av användaren

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

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

6. Transport- och förvaringsförhållanden

- Satserna kan transporteras och förvaras vid 2–40 °C fram till utgångsdatumet som anges på etiketten.
- Efter att ha öppnat de aluminiumpåsar som innehåller reaktionsrören kan produkten användas i upp till 28 dagar.

7. Försiktighetsåtgärder

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

- Prover och reagenser måste hanteras i ett biologiskt säkerhetskåp. Använd personlig skyddsutrustning som uppfyller gällande riktlinjer för hantering av potentiellt smittsamma prover. Kassera avfall enligt lokala och nationella bestämmelser.
- Regelbunden dekontaminering av den utrustning som används ofta rekommenderas, särskilt mikropipetter och arbetsytor.
- I enlighet med direktiv (EG) nr 1907/2006 (REACH) krävs inte materialsäkerhetsdatablad (Safety Data Sheets) för "VIASURE Real Time PCR Detection Kit", pga. dess klassificering som ofarlig för hälsa och miljö, eftersom den inte innehåller ämnen och/eller blandningar som uppfyller kriterierna i direktiv (EG) nr 1272/2008 (CLP), eller förekommer i koncentrationer högre än det värde som fastställts för deklaration enligt nämnda direktiv.
- Se användarhandboken för BD MAX™ System för ytterligare varningar, försiktighetsåtgärder och procedurer.

8. Testprocedur

8.1. Insamling, förvaring och transport av prover

VIASURE *Respiratory Virus Mix 1* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System har testats på nasofaryngeala/orofaryngeala svabbar insamlade i ett sterilt Vircell®-transportmedium eller i ett sterilt virustransport- och konserveringsmedium (Biocomma®) och i ett universellt transportmedium, beroende på provet. Andra typer av prover måste valideras av användaren.

Insamling, förvaring och transport av prover ska utföras enligt de villkor som validerats av användaren. I allmänhet ska luftvägsprover samlas in och märkas på lämpligt sätt i rena behållare med eller utan transportmedia (beroende på provtyp) och bearbetas så snart som möjligt för att garantera testets kvalitet. Proverna får transporteras vid 2 till 8 °C i upp till 72 timmar enligt lokala och nationella bestämmelser för transport av patogent material. För långvarig transport (mer än 72 timmar) rekommenderar vi transport vid -20 °C eller lägre. Användning av färska prover rekommenderas för testet. Proverna kan förvaras vid 2 till 8 °C i upp till 72 timmar eller frysta vid -20 °C eller helst vid -70 °C för bevarande. Upprepade nedfrysningar och upptiningar bör undvikas för att förhindra nedbrytning av provet och nukleinsyror.

De kliniska proverna måste samlas in, transporteras och förvaras enligt lämpliga laboratorieriktlinjer. Se CDC:s riktlinje för mer information ([Specimen collection guidelines](https://www.cdc.gov/urdo/downloads/SpecCollectionGuidelines.pdf)). Webbplats <https://www.cdc.gov/urdo/downloads/SpecCollectionGuidelines.pdf>), IDSA-riktlinjen (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt, B. S. (2018). A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: uppdaterad 2018 av Infectious Diseases Society of America och American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94) 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. Provberedning och DNA-extraktion

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

1. Pipettera 400–750 µl av nasofaryngealprover i ett BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube och stäng röret med ett membranlock. Säkerställ fullständig blandning genom att vortexa provet vid hög hastighet i 1 minut. Fortsätt till drift av BD MAX™ System.

8.3. PCR-protokoll

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

8.3.1. Skapa PCR-testprogram för IASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System

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

- 1) Välj fliken "Test Editor" (Testredigerare) på skärmen "Run" (Kör) på BD MAX™ System.
- 2) Klicka på knappen "Create" (Skapa).
- 3) Döp testet, dvs. VIASURE Respiratory Virus Mix I, i fönstret "Test Name" (Testnamn) på fliken för grundläggande information.
- 4) Välj "ExK TNA-3" i listrutan "Extraction Type" (Extraktionstyp).
- 5) Välj "Type 5" (Typ 5) i listrutan "Master Mix Format" (Masterblandningsform).
 - a. Obs! Produkten kan användas i kombination med ett ytterligare VIASURE for BD MAX-test och välj då "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Dubbel masterblandning – koncentrerad frystorkad masterblandning med rehydreringsbuffert (typ 5)).
- 6) Välj "User defined" (Användardefinierad) i "Sample extraction parameters" (Provextraktionsparametrar) och justera provvolymen till 950 µl.
- 7) Välj "Call Ct at Threshold Crossing" (Hämta Ct vid tröskelvärdesgräns) i "Ct Calculation" (Ct-beräkning).
- 8) Välj följande konfiguration i "Custom Barcodes" (Anpassa streckkoder) om du kör programvaruversion 5.00 eller senare och använder streckkodade och folieförsedda rör som ska knäppas fast:
 - a. Snap-In 2 Barcode (Streckkod för rör 2): 1K (beträffande Respiratory Virus Mix I reaction tube).
 - b. Snap-In 3 Barcode (Streckkod för rör 3): 11 (gällande Rehydration Buffer tube).
 - c. Snap-In 4 Barcode (Streckkod för rör 4): ett annat reaktionsrör (annan folie) om du väljer formen "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Dubbel masterblandning – koncentrerad frystorkad masterblandning med Rehydration Buffer (typ 5)) (avsnitt 8.3.1).

9) Ange följande parametrar på fliken "PCR settings" (PCR-inställningar): "Channel Settings" (Kanalinställningar), "Gains" (Förstärkningar) och "Threshold" (Tröskelvärde) (tabell 3).

- a. Obs! Produkten kan användas i kombination med ett ytterligare VIASURE för BD MAX™-test och PCR-inställningar och teststeg ska slutföras för positionerna för rör 2 (grön) och rör 4 (blå).

Channel (Kanal)	Alias (Alias)	Gain (Förstärkning)	Threshold (Tröskelvärde)	Ct Min (Ct min)	Ct Max (Ct max)
475/520 (FAM)	SARS-CoV-2	80	150	0	40
530/565 (HEX)	Influensa B	80	150	0	40
585/630 (ROX)	Influensa 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-inställningar).

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

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

		False Receiving Channel (Falsk mottagarkanal)					
		Channel (Kanal)	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Excitationskanal)	475/520	-	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. Parametrar för "Spectral Cross Talk" (spektral överhörning).

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

Step Name (Stegnamn)	Profile Type (Profiltyp)	Cycles (Cykler)	Time (s) (Tid (s))	Temperature (Temperatur)	Detect (Detektion)
Reverse transcription (Omvänd transkription)	Uppehåll	1	900	45 °C	-
Initial denaturation (Inledande denaturering)	Uppehåll	1	120	98 °C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Denaturering och hybridisering/förlängning (datainsamling))	2-temperatur	45	10	95 °C	-
			61,1	63 °C	✓

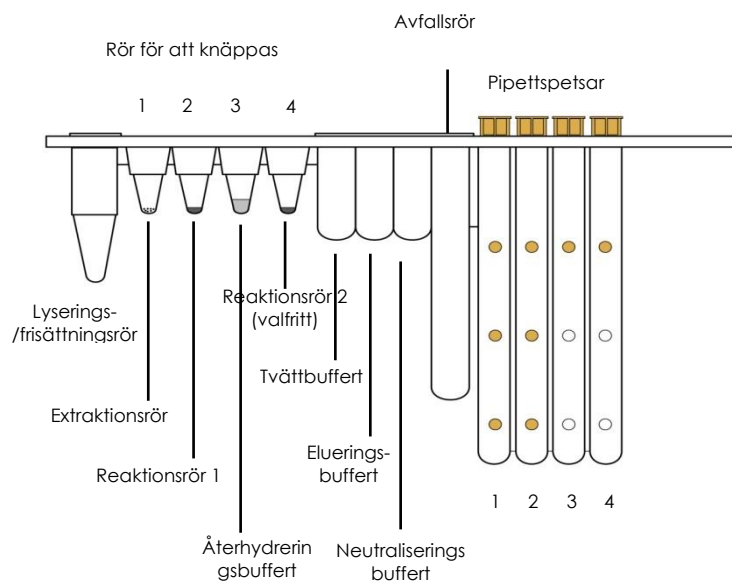
Tabell 14. PCR-protokoll.

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

8.3.2. Installation av BD MAX™-ställ

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

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



8.3.3. Inställning av BD MAX™-instrument

- 1) Välj fliken "Work List" (Arbetslista) på skärmen "Run" (Kör) i programvara v4.50A eller senare för BD MAX™ System.
- 2) I listrutan "Test" (Test) väljer du VIASURE Respiratory Virus Mix I (se avsnitt 8.3.1 om det inte redan har skapats).
- 3) Välj lämpligt satslotnummer (finns angivet på den använda extraktionssatsens ytterlåda) från listrutan (valfritt).
- 4) Ange Sample Buffer Tube-identifikationsnumret i fönstret för provrör i arbetslistan, antingen genom att läsa av streckkoden med en streckkodsläsare eller genom manuell inmatning.
- 5) Fyll i fönstret för prov-/patient-ID och/eller accession i arbetslistan och klicka på knappen "Save" (Spara). Fortsätt tills alla Sample Buffer Tubes har angivits. Säkerställ att prov-/patient-ID och Sample Buffer Tubes nogga överensstämmer.
- 6) Placera det förberedda Sample Buffer Tube i BD MAX™ Rack(s).
- 7) Ladda stället/ställen i BD MAX™ System (ställ A är positionerat på den vänstra sidan av BD MAX™ System och ställ B på dess högra sida).
- 8) Placera lämpligt antal BD MAX™ PCR Cartridge i BD MAX™ System.
- 9) Stäng luckan på BD MAX™ System.
- 10) Klicka på "Start Run" (Starta körning) för att påbörja proceduren.

8.3.4. BD MAX™-rapport

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

9. Resultattolkning

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

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

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

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

Resultat bör avläsas och analyseras med hjälp av följande tabell:

SARS-CoV-2 (475/520)	Flu B (530/565)	Flu A (585/630)	RSV (A/B) (630/655)	Endogen intern kontroll (680/715)	Tolkning
+	+	+	+	+/- ¹	SARS-CoV-2, Flu B, Flu A och RSV (A/B) RNA detekterade ¹
-	+	+	+	+/- ¹	Flu B, Flu A, RSV (A/B) RNA detekterad och SARS-CoV-2 RNA inte detekterad ¹
+	-	+	+	+/- ¹	SARS-CoV-2, Flu A, RSV (A/B) RNA detekterad och Flu B RNA inte detekterad ¹
+	+	-	+	+/- ¹	SARS-CoV-2, Flu B, RSV (A/B) RNA detekterad och Flu A RNA inte detekterad ¹
+	+	+	-	+/- ¹	SARS-CoV-2, Flu B, Flu A RNA detekterad och RSV (A/B) RNA inte detekterad ¹
+	+	-	-	+/- ¹	SARS-CoV-2, Flu B RNA detekterad och Flu A, RSV (A/B) RNA inte detekterad ¹
+	-	+	-	+/- ¹	SARS-CoV-2, Flu A RNA detekterad och Flu B, RSV (A/B) RNA inte detekterad ¹
+	-	-	+	+/- ¹	SARS-CoV-2, RSV (A/B) RNA detekterad och Flu B, Flu A RNA inte detekterad ¹
-	+	+	-	+/- ¹	Flu B, Flu A RNA detekterad och SARS-CoV-2, RSV (A/B) RNA inte detekterad ¹
-	+	-	+	+/- ¹	Flu B, RSV (A/B) RNA detekterad och SARS-CoV-2, Flu A RNA inte detekterad ¹
-	-	+	+	+/- ¹	Flu A, RSV (A/B) RNA detekterad och SARS-CoV-2, Flu B RNA inte detekterad ¹
+	-	-	-	+/- ¹	SARS-CoV-2 RNA detekterad ¹
-	+	-	-	+/- ¹	Influenza B RNA detekterad ¹
-	-	+	-	+/- ¹	Influenza A RNA detekterad ¹
-	-	-	+	+/- ¹	RSV RNA detekterad ¹
-	-	-	-	+ ²	SARS-CoV-2, Flu B, Flu A och RSV (A/B) RNA inte detekterade ²
-	-	-	-	- ²	Olösta resultat (UNR) erhålls när det förekommer inhibitorer i PCR-reaktionen eller när ett allmänt problem (som inte rapporterats av en felkod) inträffar under bearbetningen av provet och/eller amplifieringen. ²
IND	IND	IND	IND	IND	Obestämt analysresultat (IND). Beror på systemfel i BD MAX™. Analysresultat som visas vid instrumentfel som är kopplade till en felkod.
INC	INC	INC	INC	INC	Ofullständigt analysresultat (INC). Beror på fel på BD MAX™ System. Analysresultat som visas om körningen inte kan slutföras.

Tabell 15. Provtolkning.

+: Amplifiering inträffade.

-: Ingen amplifiering inträffade.

¹ Ett prov anses vara positivt om Ct-värdet som erhålls är lägre än 40. Den endogena interna kontrollen (EIC) kan eller kan inte uppvisa en amplifieringssignal. Ibland är EIC-detektion inte nödvändig eftersom ett stort antal kopior av målsekvensen kan orsaka föredragen amplifiering av målspecifika nukleinsyror.

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

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

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

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

10. Testets begränsningar

- Resultat av testet bör utvärderas av sjukvårdspersonal med beaktande av medicinsk anamnes, kliniska symtom och andra diagnostiska tester.
- Även om denna analys kan användas med andra typer av prover, har den validerats med nasofaryngeala svabbar.
- Den frystorkade produkten ska finnas i botten av röret för god testprestanda och inte häfta fast vid rörets överdel eller folieförseglingen. Knacka försiktigt varje rör mot en hård yta för att se till att all produkt hamnar på botten av röret.
- Testets funktion påverkas inte om reaktionsblandningen i stabiliserad form, vanligtvis i botten av röret, inte ser ut som vanligt (utan konisk form, icke-homogen, mindre/större i storlek och/eller annan färg än vit).
- Testets kvalitet beror av provets kvalitet. Extraktion av nukleinsyra från luftvägsprover måste ske på lämpligt sätt.
- Detta test är kvalitativt och ger inga kvantitativa värden och anger inte antalet förekommande organismer.
- Extremt låga nivåer av mål under detektionsgränsen kan detekteras, men resultaten är kanske inte reproducerbara.
- Det finns en risk för falska positiva resultat på grund av korskontamination av prover som antingen innehåller höga koncentrationer av mål-RNA från SARS-CoV-2, Influensa B, Influensa A eller RSV (A/B) eller kontamination på grund av PCR-produkter från tidigare reaktioner.
- Den specifika kombinationen av primer/prob för detektion av *N* och *ORF1ab*-gener i SARS-CoV-2, *M1*-gen i Influensa B, *M1*-gen i Influensa A och *N*-neg i RSV (typer A och B) som används i VIASURE Respiratory Virus Mix / Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System uppvisar inte signifikanta kombinerade homologier med humangenom, humanmikroflora eller andra luftvägsmikroorganismer, vilket kan resultera i förutsägbart falskt positivt resultat.
- Falskt negativa resultat kan inträffa på grund av flera faktorer och kombinationer av dessa, inklusive:
 - Olämplig insamling, transport, förvaring och/eller hantering av prover.
 - Olämpliga processförfaranden (inklusive RNA-extraktion).
 - Nedbrytning av RNA under provtransport-/förvaring och/eller bearbetning.
 - Mutationer eller polymorfismer i primer- eller probbindande regioner kan påverka detektion av nya eller okända stammar av SARS-CoV-2, Influensa B, Influensa A eller RSV (A/B).

- Organismnivåer i prøvet under analysens detektionsgräns eller brytvärde.
- Förekomsten av qPCR-inhibitorer eller andra typer av störande ämnen. Inverkan av vacciner, antivirala läkemedel, antibiotika, cellgifter eller immunsänkande läkemedel som används för att förhindra influensan covid-19 och RSV eller som används under behandlingen av infektionen har inte utvärderats.
- Underlåtelse att följa bruksanvisningar och analysförfarandet.
- Vissa prover uppvisar kanske inte *RNase P*-amplifieringskurvor på grund av lågt humancellantal i det ursprungliga kliniska prøvet. Ett negativt IC-resultat utesluter inte förekomsten av SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A eller RSV (A/B) i ett kliniskt prov.
- Ett positivt testresultat anger inte nödvändigtvis förekomsten av livskraftiga virus och antyder inte att dessa virus är smittsamma eller orsakar kliniska symtom. Ett positivt resultat anger dock förekomsten av virusmålekvenser.
- Om diagnostiska tester för andra luftvägssjukdomar är negativa och patientens kliniska presentation och epidemiologisk information antyder att infektion av SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A eller RSV (A/B) är möjlig, ska förekomsten av ett falskt negativt resultat övervägas och en omtestning av patienten bör diskuteras.
- Ett negativt resultat utesluter inte förekomsten av mål-RNA i ett kliniskt prov. Om kliniska observationer, patientens anamnes och epidemiologisk information antyder att infektion av SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A eller RSV (A/B) föreligger, bör omtestning övervägas med ökad provvolym.
- Om resultaten blir olösta, obestämda eller ofullständiga med användning av VIASURE *Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System* krävs omtestning. Olösta prover kan orsakas av förekomsten av inhibitorer i prøvet eller en inkorrekt återhydrering av röret med frystorkad reaktionsblandning. Om det föreligger ett instrumentfel kommer obestämda eller ofullständiga resultat att erhållas.

11. Kvalitetskontroll

VIASURE *Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System* innehåller en endogen intern kontroll (EIC) i varje reaktionsrör som bekräftar korrekt prestanda för tekniken.

12. Prestandaegenskaper

12.1. Klinisk sensitivitet och specificitet

Den kliniska prestandan hos VIASURE *Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System* har testats med kliniska prover (nasofaryngeala svabbar) från patienter med klinisk misstanke om infektion av influensan SARS-CoV-2, A/B och/eller RSV A/B. Resultaten var enligt följande:

	Plats	Provtyp	Arbetsflöde	Mål
1	CerTest Biotec S.L. i samarbete med Biobank of the Sistema de Salud de Aragón (BSSA) och Microbiology and Parasitology Department of Hospital Universitario Central de Asturias	Nasofaryngeala svabbar	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	SARS-CoV-2
				Influenza B
				Influenza A
				RSV (A/B)

Tabell 16. Plats, provtyp, arbetsflöde och mål.

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

Plats	Jämförelseanalys	Mål	TP	TN	FP	FN	Sensitivitet	Specificitet
1	TaqPath COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kit (Thermo Fisher Scientific) eller VIASURE SARS-CoV-2 Real time PCR Detection Kit, + efterföljande helgenomsekvensering.	SARS-CoV-2	127	625	1	3	0,977 (0,934-0,995)	0,998 (0,991-1)
	Cobas® Influenta A/B & RSV nukleinsyratest för användning på cobas® Liat® System (cobas® Influenta A/B & RSV)	Influenta B	18	738	0	0	1 (0,815-1)	1 (0,995-1)
		Influenta 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. Sanna positiva (TP) och negativa (TN) värden, falskt positiva (FP) och negativa (FN) värden, sensitivitet, specificitet för VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Resultaten uppvisar överensstämmelse för att detektera SARS-CoV-2, Influenta B, Influenta A och RSV (A/B) med användning av VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

12.2. Analytisk sensitivitet

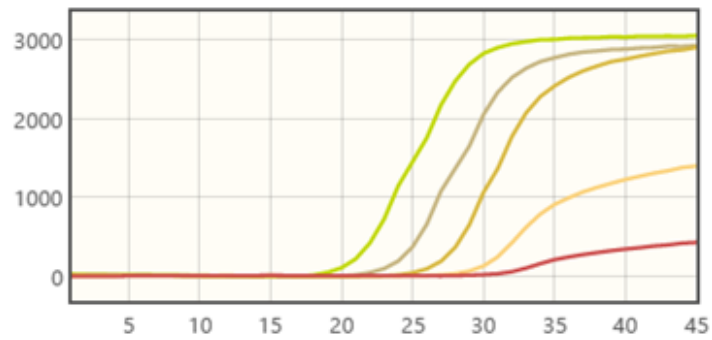
Detektionsgränsresultaten (LoD) för VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System på nasofaryngeala prover med andel positiva på $\geq 95\%$ är följande:

- VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System har en detektionsgräns (LoD) på 5,01 IU (internationella enheter)/ μ l för SARS-CoV-2.
- VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System har en detektionsgräns (LoD) på $1,8 \times 10^2$ CEID₅₀ (median infektionsdos för kycklingembryo)/ml för Influenta B.
- VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System har en detektionsgräns (LoD) på $10^{-0.5}$ TCID₅₀ (median infektionsdos för vävnadskultur) /ml för Influenta A.
- VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System har en detektionsgräns (LoD) på 4 genomkopior/ μ l för RSVA och RSVB.

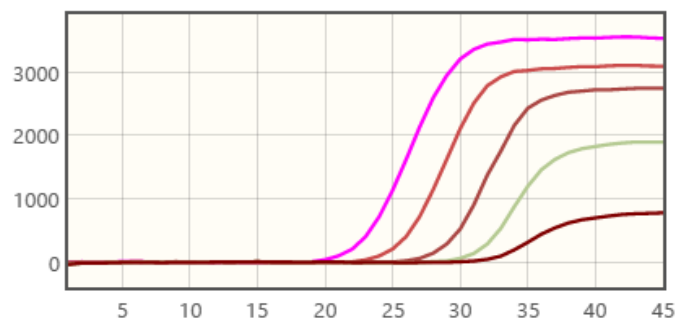
Obs! Detektionsgränsen beräknades med en provvolym på 400 μ l.

Nedan visas exempel på amplifieringsdiagram från en analys på BD MAX™ System

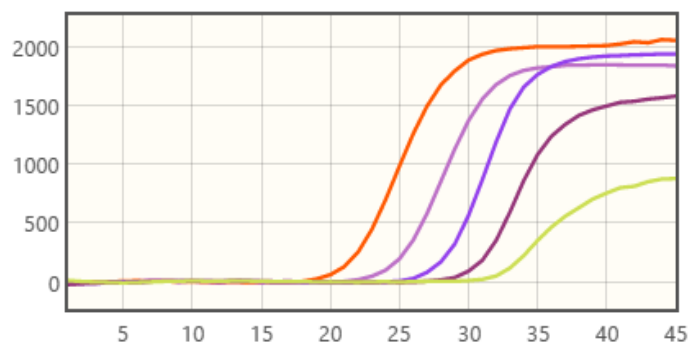
Figur 2. Spädningsserier för en mallkörning av SARS-CoV-2 (5×10^5 - 5×10^0 kopior per reaktion) på BD MAX™ System (475/520 (FAM)-kanal).



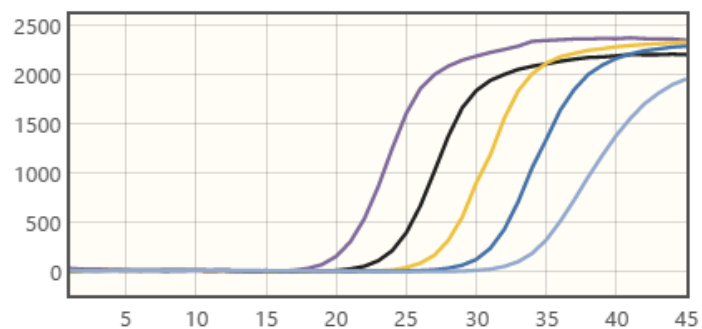
Figur 3. Spädningsserier för en mallkörning av Influenta B (5×10^5 - 5×10^0 kopior per reaktion) på BD MAX™ System (530/565 (HEX)-kanal).

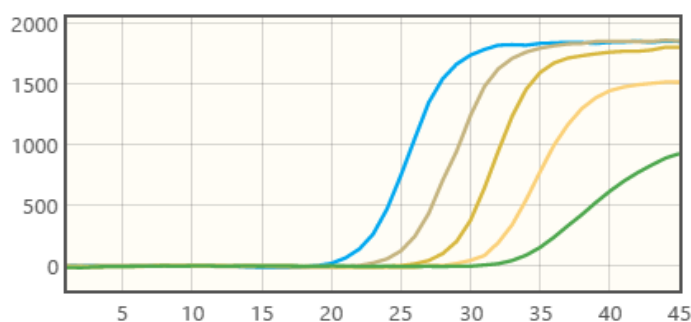


Figur 4. Spädningsserier för en mallkörning av A (5×10^5 - 5×10^0 kopior per reaktion) på BD MAX™ System (585/630 (ROX)-kanal).



Figur 5. Spädningsserier för en mallkörning av RSVA (5×10^5 - 5×10^0 genomkopior per reaktion) på BD MAX™ System (630/665 (CY5)-kanal).



Figur 6. Spädningsserier för en mallkörning av RSVB (5×10^5 - 5×10^0 genomkopior per reaktion) på BD MAX™ System (630/665 (CY5)-kanal).

12.3. Analytisk specificitet

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

Test av korsreaktivitet					
Typer av humant adenovirus 1–5, 8, 15, 31, 40 och 41	-	Enterovirus Coxsackievirus A24, A9 och 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 och 4	-
<i>Bordetella holmesii</i>	-	<i>Haemophilus influenzae</i> MinnA	-	<i>Pneumocytis jirovecii</i> typ A1 och g885652	-
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	<i>Legionella bozemanii</i>	-	Humant rhinovirus	-
<i>Bordetella pertussis</i>	-	<i>Legionella dumoffii</i>	-	SARS coronavirusstam Frankfurt 1	-
<i>Chlamydia caviae</i>	-	<i>Legionella longbeachae</i>	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
<i>Chlamydia psittaci</i> genotyp A och 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 och HKU1	-	Humant metapneumovirus A och B	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
MERS coronavirus	-	<i>Moraxella catarrhalis</i>	-	<i>Streptococcus salivarius</i>	-

Tabell 18. Patogena referensmikroorganismer som använts i denna studie.

12.4. Analytisk reaktivitet

Reaktiviteten för VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System för **SARS-CoV-2** utvärderades mot RNA extraherad från human 2019-nCoV-stam BetaCoV/Germany/BavPat1/2020 p.1, human 2019-nCoV-stam 2019-nCoV/Italy-INMI1, kontroller med syntetiskt RNA för MT007544.1 variant (SARSCoV2 isolate Australia/VIC01/2020), MN908947.3 variant (SARS-CoV-2 isolate Wuhan-Hu-1), alfavariant (B.1.1.7 England/MILK-9E05B3/2020), betavariant (B.1.351 South Africa/KRISP-EC-K005299/2020), gammavariant (P.1 Japan (Brazil) /IC-0564/2021) och kappavariant (B.1.617.1 India/CT-ILSGS00361/2021), och värmeinaktiverad SARSCoV-2-stam 2019nCoV/USAWA1/2020 (ATCC® VR1986HK™) och bestrålat celllysats från 2019-nCoV/USA-WA1/2020, och frystorkade celllysats från BetaCoV/Berlin/ChVir1670/2020_IsolatBER, BetaCoV/Munich/ChVir984/2020 och BetaCoV/Baden-Wuerttemberg/1/ChVir1577/2020_IsolatBER och uppvisade positiva resultat.

Reaktiviteten för VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System för **influenza B** utvärderades med RNA extraherad från följande stammar: 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 och uppvisade positiva resultat.

Reaktiviteten för VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System för **influenza A** utvärderades med RNA extraherad från följande stammar: 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 och A/Cambodia/e0826360/2020 IVR-224 virus och uppvisade positiva resultat.











Reaktiviteten för VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System för **RSV** bekräftades med RNA extraherad från respiratoriskt syncytialvirus A (stam A-2) och respiratoriskt syncytialvirus (stam 9320) och uppvisade positiva resultat.

Bibliography/Bibliografi

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/
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 för IVD-komponenter och reagenser

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

Trademarks

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

Change Control / Ändringskontroll		
Version No. / Versionsnr	Changes / Ändringar	Date / Datum
00	Original version / Originalversion.	25/07/2022
01	"Spectral Cross Talk" values of table 4 have been updated / Värden för "Spectral Cross Talk" i tabell 4 har uppdaterats	02/08/2022

Table A 2. Control change table/ Kontrolländringstabell.

Revision: 02nd 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

One step ahead



F-566 rev02