

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 / Bu kullanım talimatları aşağıdaki referans için geçerlidir:

PRODUCT / ÜRÜN	REFERENCE / REFERANS
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. / BD MAX™ System ile kullanılacak ürün için referans.

NOTE: Instructions for use (IFU) are included into the kit in English/Spanish version / Kullanım talimatları (IFU) kitin içinde İngilizce/İspanyolca olarak bulunmaktadır.

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.

Not: Kullanıcı, ürünle ilgili herhangi bir ciddi olayı üreticiye ve kullanıcı ve/veya hasta olarak ikamet ettiği Üye Devletin yetkili makamına bildirmelidir.

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

İçerik

1.	Kullanım amacı.....	21
2.	Özet ve Açıklama.....	21
3.	Prosedür ilkesi.....	22
4.	Verilen reaktifler	23
5.	Kullanıcı tarafından tedarik edilecek olan reaktifler ve ekipman	23
6.	Taşıma ve depolama koşulları	24
7.	Kullanıcılara uyarılar	24
8.	Test prosedürü.....	25
8.1.	Numunelerin toplanması, saklanması ve taşınması	25
8.2.	Numunelerin hazırlanması ve DNA ekstraksiyonu	25
8.3.	PCR protokolü.....	26

9.	Sonuçların yorumlanması	29
10.	Testin kısıtlamaları	31
11.	Kalite kontrol	32
12.	Performans özellikleri	32
12.1.	Klinik duyarlılık ve özgüllük	32
12.2.	Analitik hassasiyet.....	33
12.3.	Analitik özgüllük	35
12.4.	Analitik reaktivite	35
	Bibliography/ Bibliyografi.....	37
	Symbols for IVD components and reagents/ IVD bileşenlerinin ve reaktiflerin sembolleri	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.

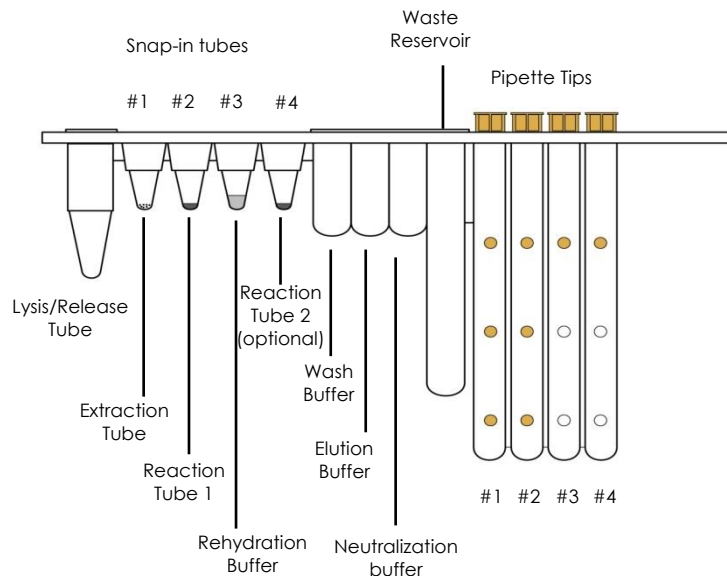
12) Click the "Save Test" button.

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).

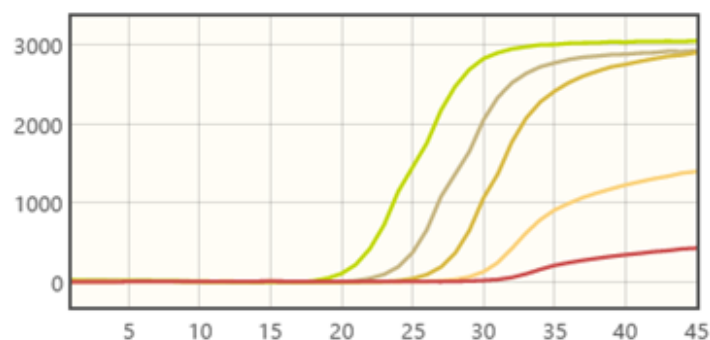


Figure 3. Dilution series of Influenza B (5×10^5 - 5×10^0 copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (530/565 (HEX) channel).

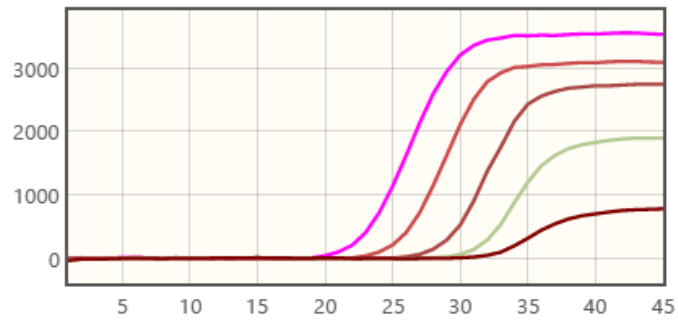


Figure 4. Dilution series of Influenza A (5×10^5 - 5×10^0 copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (585/630 (ROX) channel).

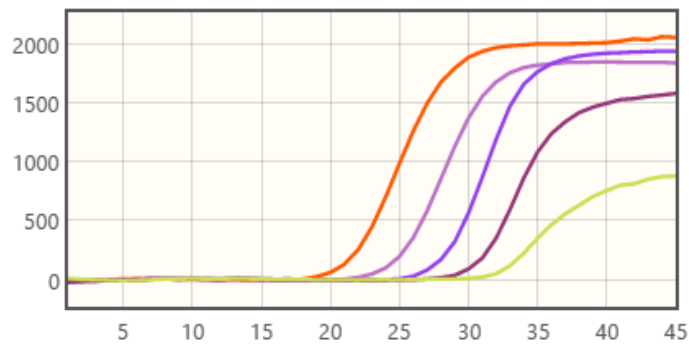


Figure 5. Dilution series of RSVA (5×10^5 - 5×10^0 genome copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (630/665 (CY5) channel).

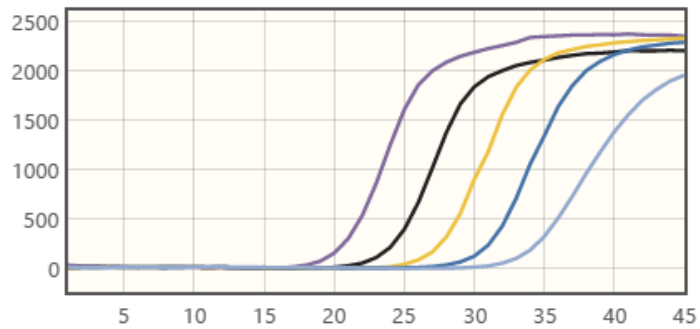
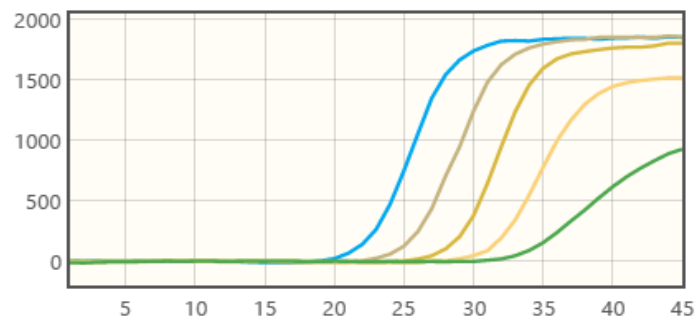


Figure 6. Dilution series of RSVB (5×10^5 - 5×10^0 genome copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (630/665 (CY5) channel).



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.

TÜRKÇE

1. Kullanım amacı

VIASURE *Respiratory Virus Mix I* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, sağlık uzmanlarının (HCP) enfeksiyon şüphesi bulunduğu solunum yolu örneklerinde (nazofaringeal sürüntüler) SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A ve RSV'den (tip A ve B) RNA'nın kalitatif tespiti için tasarlanmış otomatik bir gerçek zamanlı RT-PCR testidir. Bu testin, hastanın klinik belirti ve semptomları ve epidemiyolojik risk faktörleri ile birlikte SARS-CoV-2, İnfluenza B, İnfluenza A ve RSV (tip A ve B) enfeksiyonunun tanımlanmasına yardımcı olarak kullanılması amaçlanmıştır. Analiz, BD MAX™ System Sistemini, otomatik olarak RNA'nın ekstraksiyonu için kullanır ve ardından BD MAX™ System için evrensel reaktifler ve atılabilir maddeler ile birlikte sağlanan reaktiflerin kullanıldığı gerçek zamanlı RT-PCR'yi kullanır. RNA solunum numunelerinden ekstrakte edilir ve tamamlayıcı DNA'ya (cDNA); RT-PCR kullanılarak amplifikasyon uygulanır ve SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A ve RSV'ye (tip A ve B) özel floresan raportör boya problemleri kullanılarak tespit edilir.

2. Özet ve Açıklama

Koronavirüs, segmentlere ayrılmamış pozitif-duyarlı RNA virüsüdür ve Coronaviridae familyasına aittir. İnsan hastalıklarına neden olduğu bilinen altı koronavirüs türü vardır. Dört virüs (229E, OC43, NL63 ve HKU1) soğuk algınlığı semptomlarına neden olurken, diğer ikisi (ciddi akut solunum sendromu koronavirüs (SARS-CoV) ve Orta Doğu solunum sendromu koronavirüs (MERS-CoV) zoonotiktir ve daha ciddi komplikasyonlara neden olurlar. SARS-CoV ve MERS-CoV, son yirmi yılda 10.000'den fazla kümülatif vakaya neden olmuştur ve mortalite oranları MERS-CoV için %34 ve SARS-CoV için %10'dur.

Aralık 2019'da, Çin'in Hubei Eyaleti, Wuhan kentindeki Huanan deniz ürünleri pazarında çalışan veya yakınlarında yaşayan bazı insanlarda, nedeni bilinmeyen pnömoni görüldü. Solunum numunelerinin derin sekans analizi, ilk olarak 2019 yeni koronavirüs (2019-nCoV) ve son zamanlarda SARS-CoV-2 olarak adlandırılan yeni bir koronavirüsü ortaya koydu.

SARS-CoV-2'nin semptomların görülmediği kuluçka döneminde bile insandan insana bulaştığı doğrulanmıştır ve virüs, SARS-CoV virüsünün yol açtığına benzer ciddi bir solunum yolu hastalığına neden olmaktadır. Pnömoni virüsle bağlantılı başlıca hastalık olmasına rağmen, az sayıda hastada ciddi pnömoni, pulmoner ödem, akut solunum yetersizliği sendromu veya çoklu organ yetmezliği ve ölüm meydana gelmiştir. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (Centers of Disease Control and Prevention, CDC), SARS-CoV-2 semptomlarının ortaya çıkma süresinin virüse maruz kalımdan sonra 2 gün kadar kısa veya 14 gün kadar uzun olabileceğine ve en yaygın semptomların ateş veya öksürük, yorgunluk, anoreksi kas ağrısı ve nefes darlığı olduğuna inanmaktadır. Daha az görülen semptomlar boğaz ağrısı, burun tıkanması, baş ağrısı, ishal, bulantı ve kusmadır. Solunum semptomlarının başlangıcından önce koku kaybı (anosmi) veya tat kaybı (agüzi) da bildirilmiştir. İleri yaşta yetişkinler ve kalp veya akciğer hastalığı ya da diyabet gibi altta yatan ciddi tıbbi rahatsızlıkları olan kişiler, COVID-19 hastalığı nedeniyle daha ciddi komplikasyonlar geliştirme açısından daha yüksek risk altındadır.

CDC, SARS-CoV-2'nin ve influenza ve RSV gibi diğer respiratuvar virüslerin tanımlanması için üst solunum yolu örneklerinin (çoğunlukla bir sağlık kuruluşu tarafından toplanan nazofaringeal (NP) ve orofaringeal (OP) swablar, nazal orta tübinat swab, nazal swab, nazofaringeal yıkama/aspirat veya nazal yıkama/aspirat (NW) örnekleri)

ve/veya alt solunum yolu örneklerinin (balgam, endotrakeal aspirat veya daha şiddetli solunum hastalığı olan hastalarda bronkoalveolar lavaj) kullanılmasını önerir.

İnfluenza virüsleri Orthomyxoviridae ailesine aittir ve viral alt solunum yolu enfeksiyonlarının çoğuna neden olur. Yaşlı ve riskli bireylerin özellikle ağır hastalık ve pnömoni gibi komplikasyonlara yakalanma riski altında olduğu düşünüldüğünde, İnfluenza A ve B, dünya çapında önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. İnsanlar bu semptomların bir kısmını veya tamamını hissederler: ateş veya ateşimsi/titreme hissi, öksürük, boğaz ağrısı, burun tıkanıklığı ve akıntısı, miyalji, baş ağrısı ve iştahsızlık. İnfluenza virüsleri insandan insana iki farklı şekilde yayılabilir: hava yoluyla (hapşırma ve öksürme sonucu ortaya çıkan büyük damlacıklar ve aerosoller) ve doğrudan veya dolaylı temas yoluyla.

İnfluenza A ve B, tipik olarak 11 veya 12 viral proteini kodlayan sekiz bölümlü genom RNA ipliği içeren zarflı, tek sarmallı RNA virüsleridir. Konakçı plazma membranından türetilen viral zarf, hemaglutinin (HA) ve nöraminidaz (NA) gibi transmembran proteinleri ve matris proteinleri M1 ve M2'yi içeren bir lipit çift tabakasından oluşur. İnfluenza A virüsleri ayrıca "HA" ve "NA" moleküllerinin antijenitesine göre alt tiplere ayrılırken, İnfluenza B antijenik ve genetik olarak farklı 2 soy olan Victoria ve Yamagata'ya ayrılır.

Human Respiratory Syncytial Virus (RSV) A ve B (RSV), Paramyxoviridae ailesine aittir ve akut solunum yolu enfeksiyonlarının en önemli viral ajanlarıdır. RSV, zarflı, bölümlenmemiş, negatif, tek sarmallı doğrusal bir RNA genom virüsüdür. Respiratuvar sinsityal virüs, her yaşta insanda bronşit, pnömoni ve kronik obstrüktif akciğer enfeksiyonlarına neden olan, solunum yolu enfeksiyonlarının ortak bir nedenidir. İnsanlar genellikle bu semptomların bir kısmını veya tamamını hissederler: rinore, düşük dereceli ateş, öksürük, boğaz ağrısı, baş ağrısı ve hırıltı. RSV, enfekte kişilerden gelen büyük nazofaringeal sekresyon damlacıkları, yakın temas veya kontamine yüzeylere dokunduktan sonra kendi kendine aşılama yoluyla bulaşır.

Çok çeşitli patojenler benzer klinik sendromlarla ortaya çıkan akut solunum yolu enfeksiyonlarına neden olabileceğinden teşhisi sorunlu olabilir. Gerçek zamanlı PCR testlerinin, SARS-CoV-2, Flu A, Flu B ve RSV virüslerinin tespiti için hassas ve spesifik bir teşhis aracı olduğu gösterilmiştir.

3. Prosedür ilkesi

VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, nazofaringeal sürüntülerde SARS-CoV-2, İnfluenza B, İnfluenza A ve RSV'den (tip A ve B) RNA'nın kalitatif tespiti için tasarlanmıştır. Tespit, ters transkripsiyonun ve onu izleyen spesifik hedef sekans amplifikasyonunun aynı reaksiyon tüpünde meydana geldiği tek adımlı gerçek zamanlı RT-PCR formatında gerçekleştirilir. İzole edilmiş RNA hedefi, ters transkriptaz ile tamamlayıcı DNA oluşturularak kopyalanır; bunu spesifik primerler ve floresan etiketli bir prob kullanılarak SARS-CoV-2'nin N ve ORF1ab genlerinin, İnfluenza B'nin M1 geninin, İnfluenza A'nın M1 geninin ve RSV'nin N geninin (tip A ve B) korunan bir bölgesinin amplifikasyonu izler.

VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, DNA polimerazının 5' eksonükleaz aktivitesine dayanır. DNA amplifikasyonu sırasında, bu enzim tamamlayıcı DNA sekansına bağlı probu ayırarak; söndürücü boyanın raportörden ayırt edilmesini sağlar. Bu reaksiyon, hedef şablonun miktarıyla orantılı olan floresan sinyalinde bir artış meydana getirir. Bu floresans BD MAX™ System'de ölçülür.

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

Hedef	Kanal	Gen
SARS-CoV-2	475/520	<i>N</i> ve <i>ORF1ab</i> geni
Influenza B	530/565	<i>Matriks</i> geni (<i>M1</i>)
Influenza A	585/630	<i>Matriks</i> geni (<i>M1</i>)
RSV (A/B)	630/665	<i>N</i> geni
Endojen Dahili kontrol (EIC)	680/715	insan <i>RNase P</i> geni

Tablo 10. Hedef, kanal ve genler.

4. Verilen reaktifler

VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, Tablo 2'de ayrıntılı olarak verilen aşağıdaki maddeleri ve reaktifleri içerir:

Reaktif/Materyal	Açıklama	Barkod	Miktar
<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube	Enzimler, primer problar, tampon, dNTP'ler, stabilizatörler ve stabilize edilmiş formatta endojen dahili kontrol içeren bir karışım	1K folyo	12 şeffaf tüp içeren 2 poşet
Rehydration Buffer tube	Stabilize edilmiş ürünü sulandırmak için solüsyon	11 folyo	24 şeffaf tüp içeren 1 poşet

Tablo 11. VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System with Kat. N°. VS-SFR124 (444219) içinde sağlanan reaktif ve materyaller.

5. Kullanıcı tarafından tedarik edilecek olan reaktifler ve ekipman

Aşağıdaki liste, kullanım için gerekli olan ancak VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System içinde bulunmayan materyalleri ve ekipmanları içerir.

- Gerçek Zamanlı PCR cihazı: BD MAX™ System (Ref: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442828 veya 442827).
- BD MAX™ PCR Cartridges (Ref: 437519).
- Vorteks.
- Mikropipetler (2 ile 1000 µL arasında hatasız).
- Nükleaz içermeyen su.
- Filtre uçları.
- Pudrasız tek kullanımlık eldivenler.

6. Taşıma ve depolama koşulları

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

7. Kullanıcılara uyarılar

- Ürün yalnızca moleküler biyolojik teknikler konusunda eğitilmiş laboratuvar veya sağlık uzmanları ve teknisyenler gibi profesyonel kullanıcılar tarafından kullanılmak üzere tasarlanmıştır.
- *In vitro* tanısal kullanım içindir.
- Son kullanma tarihi geçmiş reaktifleri ve/veya materyalleri kullanmayın.
- Dış kutuyu mühürleyen etiket açılmışsa kiti kullanmayın.
- Koruyucu kutu ulaştığında açılmış veya kırılmışsa reaktifleri kullanmayın.
- Koruyucu poşetler ulaştığında açıkça veya kırılmışsa reaktifleri kullanmayın.
- Reaktif poşetler içinde kurutucu mevcut değilse veya parçalanmışsa reaktifleri kullanmayın.
- Kurutucu maddeyi reaktif poşetlerinden çıkarmayın.
- Her kullanımdan sonra hemen reaktif koruyucu poşetlerin fermuarını kapatın. Kapatmadan önce poşetlerdeki fazla havayı giderin.
- Folyo kırılmış veya hasar görmüşse reaktifleri kullanmayın.
- Farklı poşetlerden ve/veya kitlerden ve/veya partilerden reaktifleri karıştırmayın.
- Reaktifleri nemden koruyun. Neme uzun süre maruz kalmak ürün performansını etkileyebilir.
- Bileşenleri ışıktan koruyun.
- Laboratuvarın genel alanında başka PCR testlerinin yapıldığı durumlarda, VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, BD MAX™ ExK™ TNA-3 extraction kit, bunun için gerekli herhangi bir reaktif ile Test ve BD MAX™ Sisteminin kontamine olmamasına dikkat edilmelidir. Reaktiflerin mikrobiyal ve ribonükleaz (RNaz)/deoksiribonükleaz (DNaz) kontaminasyonundan daima kaçının. Steril RNaz/DNaz içermeyen, tek kullanımlık, aerosole dirençli veya pozitif deplasmanlı pipet uçlarının kullanılması önerilir. Her numune için yeni uç kullanın. Reaktifler ve kartuşlar (BD MAX™ PCR Cartridge) kullanılmadan önce eldivenler değiştirilmelidir.
- Ortamın amplikonlarla kontaminasyonunu önlemek için, BD MAX™ PCR Cartridge kullandıktan sonra parçalamayın. BD MAX™ PCR Cartridge contaları kontaminasyonu önleyecek şekilde tasarlanmıştır.
- Tek yönlü bir iş akışı tasarlayın. Ekstraksiyon Alanında başlanmalı ve Amplifikasyon ve Tespit Alanında devam edilmelidir. Numuneleri, ekipmanı ve reaktifleri önceki adımın gerçekleştirildiği alana geri götürmeyin.
- İyi Laboratuvar Uygulamalarına Uyun. Koruyucu kıyafet giyin, tek kullanımlık eldivenler, gözlükler ve maske kullanın. Çalışma alanında bir şey yemeyin, içmeyin, sigara kullanmayın veya kozmetik ürünler uygulamayın. Testi bitirdikten sonra ellerinizi yıkayın.
- Numuneler ile numunelere maruz kalan tüm reaktifler ve materyaller potansiyel olarak bulaşıcı ve/veya biyolojik risk taşıyan madde muamelesi görmeli ve ulusal güvenlik düzenlemelerine uygun olarak ele alınmalıdır. Numunelerin toplanması, taşınması, saklanması, kullanımı ve bertarafı sırasında gerekli önlemleri alın.
- Numuneler ve reaktifler biyolojik güvenlik kabininde kullanılmalıdır. Potansiyel olarak bulaşıcı numunelerin işlenmesine yönelik mevcut talimatlara uygun personal protective equipment (PPE) (kişisel koruyucu ekipman) kullanın. Atıkları yerel düzenlemelere ve eyalet düzenlemelerine uygun olarak atın.

- Yaygın olarak kullanılan ekipmanın, özellikle mikropipetler ve çalışma yüzeylerinin düzenli olarak dekontamine edilmesi önerilir.
- "1907/2006 (REACH) sayılı Yönetmelik (AK) uyarınca, "VIASURE Real Time PCR Detection Kits"; Yönetmelik (AK) No 1272/2008'de (CLP) yer alan tehlike sınıfı kriterlerini karşılayan veya söz konusu yönetmelikte beyan için belirlenen değerden daha yüksek konsantrasyonlarda bulunan maddeler ve/veya karışımlar "içermediklerinden sağlığa ve çevreye zararsız olarak sınıflandırılmaları nedeniyle Malzeme Güvenlik Bilgi Formları (Safety Data Sheets) gerektirmezler.
- Ek uyarılar, önlemler ve prosedürler için BD MAX™ System Kullanıcı El Kitabına bakın.

8. Test prosedürü

8.1. Numunelerin toplanması, saklanması ve taşınması

VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, numuneye bağlı olarak steril Vircell® taşıma ortamında veya steril Virüs taşıma ve koruma ortamında (Biocomma®) toplanan nazofaringeal sürüntüler üzerinde test edilmiştir. Diğer numune türleri kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Toplanan, saklanan ve taşınan numuneler, kullanıcı tarafından doğrulanan şartlarda muhafaza edilmelidir. Genel olarak, solunum numuneleri taşıma ortamı içeren veya içermeyen (numune türüne göre) temiz kaplarda uygun şekilde toplanmalı ve etiketlenmeli ve testin kalitesini garanti etmek için en kısa sürede işleme konmalıdır. Numuneler patojen materyalin taşınması ile ilgili yerel ve ulusal düzenlemelere uyularak, 72 saate kadar 2 - 8°C sıcaklıkta taşınmalıdır. Uzun süreli taşımalar için (72 saatten fazla), sevkiyatın °-20°C veya daha düşük sıcaklıkta yapılması önerilir. Test için taze örneklerin kullanılması tavsiye edilir. Örnekler 2 ila 8 °C'de 72 saate kadar saklanabilir veya -20 °C'de dondurulabilir ya da koruma için ideal olarak -70 °C'de saklanabilir. Numune ve nükleik asitlerin bozulmasını önlemek için tekrarlanan donma-çözülme döngülerinden kaçınılmalıdır.

Klinik örnekler uygun laboratuvar talimatlarına uygun şekilde toplanmalı, taşınmalı ve saklanmalıdır. Ayrıntılı bilgi için CED guideline (CDC kılavuzu) belgesine bakın (Specimen collection guidelines (Numune toplama talimatları)). Web sitesi <https://www.cdc.gov/urdo/downloads/SpecCollectionGuidelines.pdf>, the IDSA guideline (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt, B. S. (2018). Enfeksiyon hastalıklarının teşhisi için mikrobiyoloji laboratuvarını kullanma rehberi: Infectious Diseases Society of America ve American Society for Microbiology (Amerika Bulaşıcı Hastalıklar Derneği ve Amerikan Mikrobiyoloji Derneği) 2018 güncellemesi. *Clinical Infectious Diseases*, 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. Numunelerin hazırlanması ve DNA ekstraksiyonu

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

1. Bir BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube içine 400- 750 µL nazofaringeal örnekleri pipetleyin ve tüpü bir septum başlığıyla kapatın. Numuneyi 1 dakika boyunca yüksek hızda vorteksleyerek tamamen karıştırın. BD MAX™ System Operation'a (Kullanımına) geçin.

8.3. PCR protokolü

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

8.3.1. VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System için PCR test programı oluşturma

Not: VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System için testi zaten oluşturduysanız, 8.3.1 adımı atlayabilir ve doğrudan 8.3.2'ye gidebilirsiniz.

- 1) BD MAX™ System'in "Run" (Çalıştır) ekranında, "Test Editor" (Test Düzenleyici) sekmesini seçin.
- 2) "Create" (Oluştur) düğmesine tıklayın.
- 3) "Test Name" (Test Adı) penceresindeki Basic Information (Temel Bilgi) sekmesinde, testinize bir ad verin: örneğin VIASURE Respiratory Virus Mix I.
- 4) "Extraction Type" (Ekstraksiyon Tipi) açılır menüsünde, "ExK TNA-3"yi seçin.
- 5) "Master Mix Format" (Master Karışım Formatı) açılır menüsünde, "Type 5"i (Tip 5) seçin.
 - a. Not: Ürün BD MAX™ testi için ek bir VIASURE ile birlikte kullanılabilir, ardından "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Rehidrasyon Tamponlu (Tip 5) Çift Master Karışım Konsantre Liyofilize MM) ögesini seçin.
- 6) "Sample extraction parameters" (Numune ekstraksiyon parametreleri) içinde "User defined" (Kullanıcı tanımlı) seçeneğini seçin ve numune hacmini 950 µL olarak ayarlayın.
- 7) "Ct Calculation" (Ct Hesaplaması)'nda "Call Ct at Threshold Crossing" (Eşiğin Geçilmesi Halinde Ct'yi Ara)'yı seçin.
- 8) Yazılım sürümü 5.00 veya üzeri ise ve barkodlu folyolu takma tüpleri varsa, "Custom Barcodes" (Özel Barkodlar)' kısmında aşağıdaki yapılandırmayı seçin:
 - a. "Snap-In 2 Barcode" (Snap-In 2 Barkodu): 1K (*Respiratory Virus Mix I* reaction tube (reaksiyon tüpü) ile ilgili).
 - b. "Snap-In 3 Barcode" (Snap-In 3 Barkodu): 11 (Rehydration Buffer tube için)
 - c. "Snap-In 4 Barcode" (Snap-In 4 Barkodu): "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Bölüm 8.3.1) seçmeniz halinde, başka bir reaksiyon tüpü (farklı folyo).
- 9) "PCR settings" (PCR ayarları) sekmesinde aşağıdaki parametreleri girin: "Channel Settings" (Kanal Ayarları), "Gains" (Kazanımlar) ve "Threshold" (Eşik) (Tablo 3).
 - a. Not: Ürün BD MAX™ testi için ek bir VIASURE ile birlikte kullanılabilir, snap 2 (yeşil) ve snap 4 (mavi) konumları için PCR Ayarları ve Test Adımları tamamlanmalıdır.

Channel (Kanal)	Alias (Takma İsim)	Gain (Kazanım)	Threshold (Eşik)	Ct Min (Ct Asgari)	Ct Max (Ct Azami)
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

Tablo 12. "PCR settings" (PCR ayarları).

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

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

		False Receiving Channel (Yanlış Alıcı Kanal)					
		Channel (Kanal)	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Eksitasyon Kanalı)	475/520	-	4,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	530/565	1,0	-	0,0	0,0	0,0	0,0
	585/630	0,0	0,0	-	1,0	0,0	0,0
	630/665	0,0	0,0	3,0	-	18,0	0,0
	680/715	0,0	0,0	0,0	1,5	-	0,0

Tablo 13. "Spectral Cross Talk" (Spektral tartışma) parametreleri.

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

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

Tablo 14. PCR protokolü.

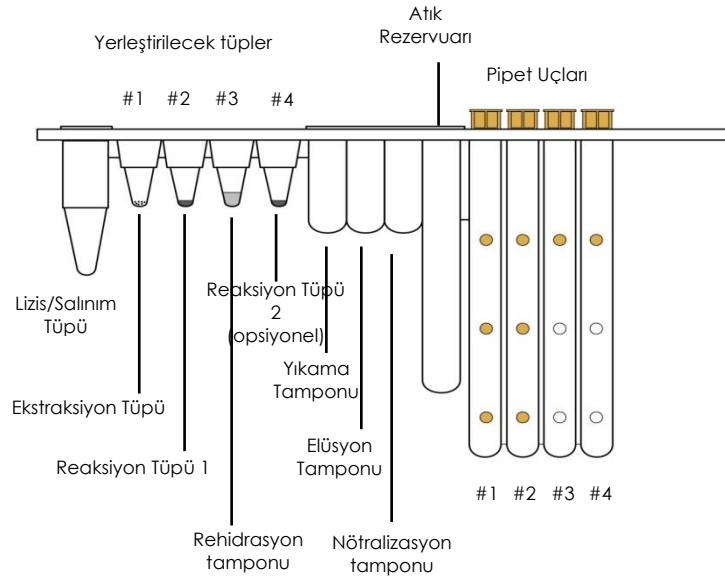
12) "Save Test" (Testi Kaydet) düğmesine tıklayın.

8.3.2. BD MAX™ Raf kurulumu.

- 1) Test edilecek her bir numune için, BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit içinden bir adet Unitized Reagent Strips çıkarın. Tüm sıvıların tüplerin alt kısmında olduğundan ve BD MAX™ System numune raflarına yüklendiğinden emin olmak için her bir şeridi hafifçe sert bir yüzeye vurun.
- 2) Gerekli sayıda BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes Ekstraksiyon Tüpü'nü (B4) (beyaz folyo) koruyucu poşetlerinden çıkarın. Ekstraksiyon Tüpünü/Tüplerini (beyaz folyo) TNA şeridindeki ilgili pozisyonlara yerleştirin

- (1. Yerleştirme pozisyonu, raftaki beyaz renkli kodlama. Şekil 1'e bakın). Fazla havayı çıkartın ve poşeti fermuar ile kapatın.
- 3) Uygun sayıda *Respiratory Virus Mix I* reaction tube (reaksiyon tüpünü) (1K folyo) belirleyip ayırın ve şeritteki karşılık gelen konumlarına oturtun (Snap 2 konumu, rafta yeşil renk kodlaması. Şekil 1'e bakın).
- Fazla havayı çıkartın ve alüminyum poşetleri fermuar ile kapatın.
 - Rehidrasyonu doğru şekilde gerçekleştirebilmek için, lütfen liyofilize ürünün tüpün dibinde olduğundan ve tüpün üst kısmına veya folyo kapamasına yapışmadığından emin olun. Tüm ürünün tüpün altında olduğundan emin olmak için her bir tüpü sert bir yüzeye hafifçe vurun.
 - Not: "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Rehidrasyon Tamponlu Çift Master Karışimli Konsantre Liyofilize MM (Tip 5)) (Bölüm 8.3.1) formatını seçtiyseniz, uygun sayıda ilave VIASURE reaksiyon tüpünü (farklı folyo) belirleyin ve ayırın ve şeritteki konumlarına yerleştirin (4. Yerleştirme pozisyonu, raftaki mavi renkli kodlama. Şekil 1'e bakın). Fazla havayı çıkartın ve alüminyum poşetleri fermuar ile kapatın.
- 4) Gerekli sayıda Rehydration Buffer tubes (11 folyo) çıkarın ve şeritteki konumlarına yerleştirin (3. Yerleştirme pozisyonu, raftaki renksiz kodlama. Şekil 1'e bakın). Fazla havayı çıkartın ve poşeti fermuar ile kapatın.
- Aktarımı doğru şekilde gerçekleştirebilmek için, sıvının tüpün dibinde olduğundan ve tüpün üst kısmına veya folyo kapamasına yapışmadığından emin olun. Tüm tamponun tüpün altında olduğundan emin olmak için her tüpü sert bir yüzeye hafifçe vurun.

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



8.3.3. BD MAX™ Cihaz kurulumu.

- BD MAX™ System yazılımı v4.50A veya daha üstü sürümünde "Run" (Çalıştır) ekranında "Work List" (İş Listesi) sekmesini seçin.
- "Test" aşağı açılır menüsünde VIASURE *Respiratory Virus Mix I* ögesini seçin (daha önce oluşturulmadıysa, Bölüm 8.3.1'e bakın).
- Aşağı açılır menüden uygun kit parti numarasını (kullanılan ekstraksiyon kitinin dış kutusunda bulunur) seçin (isteğe bağlı).
- Barkod tarayıcı ile tarayarak veya elle girerek İş Listesinin (Worklist) Numune tüpü (Sample tube) penceresine Sample Buffer Tube (Numune Tampon Tüpü) kimlik numarasını girin.

- 5) İş Listesinin (Worklist) Numune/Hasta Kimliği ve/veya Erişim (Specimen/Patient ID and/or Accession) penceresini doldurun ve "Save" (Kaydet) düğmesine tıklayın. Tüm Sample Buffer Tube ögeleri (Numune Tampon Tüpleri) girilene kadar devam edin. Numune/hasta kimliğinin ve Sample Buffer Tube ögesinin (Numune Tampon Tüplerinin) doğru şekilde eşleştiğinden emin olun.
- 6) Hazırlanan Sample Buffer Tube ögesini (Numune Tampon Tüpünü) BD MAX™ Racks'a yerleştirin.
- 7) Rafları BD MAX™ System'e yükleyin (A Rafı, BD MAX™ System'in sol tarafında ve B Rafı sağ tarafta yer alır).
- 8) BD MAX™ System'e gerekli sayıda BD MAX™ PCR Cartridges yerleştirin.
- 9) BD MAX™ System'in kapağını kapatın.
- 10) Prosedüre başlamak için "Start Run" (Çalıştırmaya Başla) düğmesine tıklayın.

8.3.4. BD MAX™ raporu

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

9. Sonuçların yorumlanması

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

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

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

- -1'in Ct değeri, ayar kriterlerini karşılayan amplifikasyon işleminin gerçekleşmediğini gösterir.

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

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

Sonuçlar aşağıdaki tabloyu kullanarak okunmalı ve analiz edilmelidir:

SARS-CoV-2 (475/520)	Flu B (530/565)	Flu A (585/630)	RSV (A/B) (630/655)	Endojen Dahili kontrol (680/715)	Yorumlama
+	+	+	+	+/-1	SARS-CoV-2, Flu B, Flu A ve RSV (A/B) RNA tespit edildi ¹
-	+	+	+	+/-1	Flu B, Flu A, RSV (A/B) RNA tespit edildi, SARS-CoV-2 RNA tespit edilmedi ¹
+	-	+	+	+/-1	SARS-CoV-2, Flu A, RSV (A/B) RNA tespit edildi, Flu B RNA tespit edilmedi ¹
+	+	-	+	+/-1	SARS-CoV-2, Flu B, RSV (A/B) RNA tespit edildi, Flu A RNA tespit edilmedi ¹
+	+	+	-	+/-1	SARS-CoV-2, Flu B, Flu A RNA tespit edildi, RSV (A/B) RNA tespit edilmedi ¹
+	+	-	-	+/-1	SARS-CoV-2, Flu B RNA tespit edildi, Flu A, RSV (A/B) RNA tespit edilmedi ¹
+	-	+	-	+/-1	SARS-CoV-2, Flu A RNA tespit edildi, Flu B, RSV (A/B) RNA tespit edilmedi ¹
+	-	-	+	+/-1	SARS-CoV-2, RSV (A/B) RNA tespit edildi, Flu B, Flu A RNA tespit edilmedi ¹
-	+	+	-	+/-1	Flu B, Flu A RNA tespit edildi, SARS-CoV-2, RSV (A/B) RNA tespit edilmedi ¹
-	+	-	+	+/-1	Flu B, RSV (A/B) RNA tespit edildi, SARS-CoV-2, Flu A RNA tespit edilmedi ¹
-	-	+	+	+/-1	Flu A, RSV (A/B) RNA tespit edildi, SARS-CoV-2, Flu B RNA tespit edilmedi ¹
+	-	-	-	+/-1	SARS-CoV-2 RNA tespit edildi ¹
-	+	-	-	+/-1	Influenza B RNA tespit edildi ¹
-	-	+	-	+/-1	Influenza A RNA tespit edildi ¹
-	-	-	+	+/-1	RSV RNA tespit edildi ¹
-	-	-	-	+2	SARS-CoV-2, Flu B, Flu A ve RSV (A/B) RNA tespit edilmedi ²
-	-	-	-	_2	PCR reaksiyonunda inhibitörlerin olması ya da numune işleme ve/veya amplifikasyon adımlarında genel bir sorun (hata kodu ile rapor edilmemiş) meydana gelmesi durumunda Çözümlememiş (UNR) Sonuç elde edilir. ²
IND	IND	IND	IND	IND	Belirsiz tahlil sonucu (IND). BD MAX™ System arızası nedeniyle. Bir hata koduna bağlı cihaz arızası durumunda gösterilen tahlil sonucu.
INC	INC	INC	INC	INC	Eksik tahlil sonucu (INC). BD MAX™ System arızası nedeniyle. Çalışmanın tamamlanamaması durumunda gösterilen tahlil sonucu.

Tablo 15. Numunelerin yorumlanması.

+: Amplifikasyon meydana geldi.

-: Amplifikasyon meydana gelmedi.

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

2 Tespit sisteminde numune amplifikasyon sinyali göstermiyorsa, ancak endojen dahili kontrol pozitifse (Ct 35'ten az), numune negatif kabul edilir. PCR reaksiyonunun inhibisyonu, dahili kontrolün amplifikasyonu ile hariç tutulabilir.

Çözümlememiş sonuçlarda (UNR), negatif numunede dahili kontrol sinyalinin olmaması durumunda aşağıdaki belirtileri izleyerek testi tekrarlamamız önerilir:

Devam eden bir belirsiz sonuç durumunda, kullanım talimatlarının, kullanıcı tarafından kullanılan ekstraksiyon işleminin gözden geçirilmesi; her bir PCR adımının doğru uygulandığının teyidi ve parametrelerin gözden geçirilmesi; ve eğrinin sigmoid şekilde olduğunun ve floresan yoğunluğunun kontrol edilmesi önerilir.

NOT: Yeni numuneler aynı çalışmada tekrarlanan numunelerle birlikte test edilebilir.

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

10. Testin kısıtlamaları

- Test sonuçları tıbbi geçmiş, klinik semptomlar ve diğer tanı testleri baz alınarak, bir sağlık uzmanı tarafından değerlendirilmelidir.
- Bu tahlil diğer numune türleri ile kullanılabilmesine rağmen, nazofaringeal sürüntülerle doğrulanmıştır.
- İyi bir test performansı için liyofilize ürün, tüpün altında olmalı ve tüpün üst alanına veya folyo kapamaya yapışmamalıdır. Tüm ürünün tüpün altında olduğundan emin olmak için her bir tüpü sert bir yüzeye hafifçe vurun.
- Reaksiyon karışımının, normalde tüpün altında, normalden farklı (konik şekil olmayan, homojen olmayan, boyut olarak daha küçük/daha büyük ve/veya beyazımsı renkten farklı) stabilize formatta görünümü, testin işlevini değiştirmez.
- Testin kalitesi numunenin kalitesine bağlıdır; solunum numunelerinden uygun şekilde ekstrakte edilmiş nükleik asitlerin varlığı önemlidir.
- Bu test kalitatif bir testtir ve kantitatif değerler sağlamaz veya mevcut organizma sayısını göstermez.
- Bu gibi durumlarda, tespit sınırının altında son derece düşük hedef seviyeleri tespit edilebilir, ancak sonuçlar tekrarlanamayabilir.
- SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A veya RSV (A/B) ile çapraz kontaminasyon, yüksek konsantrasyonlarda hedef RNA içeren numuneler veya önceki reaksiyonlardan PCR ürünlerine bağlı kontaminasyon nedeniyle yalancı pozitif sonuç olasılığı vardır.
- SARS-CoV-2'nin N ve ORF1ab genlerinin, Influenza B'nin M1 geninin, Influenza A'nın M1 geninin ve VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit'de kullanılan RSV'nin N geninin (tip A ve B) tespiti için spesifik primer ve prob kombinasyonları, insan genomu, insan mikroflorası veya diğer solunum yolu mikroorganizmaları ile tahmin edilebilir yalancı pozitif sonuçlanabilecek önemli kombine homologiler göstermez.
- Yalancı Negatif sonuçlar, aşağıdakiler dahil çeşitli faktörlerden ve bunların kombinasyonlarından kaynaklanabilir:
 - Uygun olmayan örneklerin toplanması, taşınması, depolanması ve/veya muamele yöntemleri.
 - Uygun olmayan işleme prosedürleri (RNA ekstraksiyonu dahil).
 - Numunelerin taşınması/depolanması ve/veya işlenmesi sırasında RNA'nın bozulması.
 - Primer veya prob bağlama bölgelerindeki mutasyonlar veya polimorfizmler, yeni veya bilinmeyen SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A veya RSV (A/B) suşlarının tespitini etkileyebilir.
 - Numunedeki organizma seviyeleri, tahlil için saptama veya kesme sınırının altında.

- o qPCR inhibitörlerinin veya diğer türden müdahale edici maddelerin varlığı. COVID-19, grip ve RVS'yi önlemek için kullanılan veya enfeksiyonun tedavisi sırasında kullanılan aşuların, antiviral terapötik ajanların, antibiyotiklerin, kemoterapötik ajanların veya immünoşüpresan ilaçların etkileri değerlendirilmemiştir.
- o Kullanım talimatlarına ve test prosedürüne uyulmaması.
- Orijinal klinik numunedeki düşük insan hücre sayısı nedeniyle bazı numuneler *RNase P* amplifikasyon eğrilerini gösteremeyebilir. Negatif bir IC sinyali, klinik bir numunede SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A veya RSV (A/B) varlığını engellemez.
- Pozitif test sonucu, mutlaka canlı virüs varlığını göstermez ve bu virüsün bulaşıcı olduğu veya klinik semptomlara neden olan ajanlar olduğu anlamına gelmez. Ancak pozitif sonuç, hedef viral dizilerin varlığının göstergesidir.
- Diğer solunum yolu hastalıkları için tanisal testler negatifse ve hastanın klinik sunumu ve epidemiyolojik bilgileri SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A veya RSV (A/B) enfeksiyonunun mümkün olduğunu gösteriyorsa, sonucun yalancı negatif olabileceği düşünülmeli ve hastanın yeniden test edilmesi tartışılmalıdır.
- Negatif sonuç, klinik bir numunede hedef RNA'sının varlığını dışlamaz. Klinik gözlemler, hasta öyküsü ve epidemiyolojik bilgiler SARS-CoV-2, İnfluenza B, İnfluenza A veya RSV (A/B) enfeksiyonunu düşündürürse, numune hacminin yeniden test edilmesi düşünülmelidir.
- VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System kullanılarak Çözümlememiş, Belirsiz veya Eksik sonuçların alınması durumunda, yeniden test yapılması gerekecektir. Çözümlememiş sonuçlar, numunede inhibitörlerin varlığından veya liyofilize edilmiş reaksiyon karışımı tüpünün yanlış rehidrasyonundan kaynaklanabilir. Bir cihaz arızası varsa, Belirsiz veya Eksik sonuçlar elde edilecektir.

11. Kalite kontrol

VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System , her reaksiyon tüpünde tekniğin doğru biçimde uygulandığını onaylayan Endojen Dahili bir Kontrol (EIC) içerir.

12. Performans özellikleri

12.1. Klinik duyarlılık ve özgüllük

VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System'in klinik performansı, klinik SARS-CoV-2, Flu A/B ve/B veya RSV A/B enfeksiyonu şüphesi olan hastalardan alınan klinik numuneler (nazofaringeal sürüntüler) kullanılarak test edilmiştir. Sonuçlar aşağıdaki gibiydi:

	Saha	Numune türü	İş akışı	Hedef
1	CerTest Biotec S.L. Sistema de Salud de Aragón Biobankası (BSSA) ve Hospital Universitario Central de Asturias Mikrobiyoloji ve Parazitoloji Bölümü ile işbirliği içinde	Nazofaringeal sürüntüler	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	SARS-CoV-2
				Influenza B
				Influenza A
				RSV (A/B)

Tablo 16. Saha, numune türü, iş akışı ve hedef.

VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System için gerçek pozitif ve negatif değerler, yalancı pozitif ve negatif değerler, duyarlılık ve özgüllük, aşağıdaki tabloda gösterildiği gibi her bir karşılaştırmalı test ile bağlantılı olarak hesaplanmıştır:

Saha	Karşılaştırma testi	Hedef	TP	TN	FP	FN	Hassasiyet	Özgüllük
1	TaqPath COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kit (Thermo Fisher Scientific) veya VIASURE SARS-CoV-2 Real time PCR Detection Kit, + izleyen tüm genom dizilimi	SARS-CoV-2	127	625	1	3	0,977 (0,934-0,995)	0,998 (0,991-1)
	cobas® Liat® System (cobas® Influenza A/B & RSV) ile kullanım için Cobas® Influenza A/B & RSV Nucleic acid test	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)

Tablo 17. VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System için gerçek pozitif (TP) ve negatif (TN) değerler, yalancı pozitif (FP) ve negatif (FN) değerler, duyarlılık, özgüllük.

Sonuçlar, BD MAX™ System için VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit kullanılarak SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A ve RSV'yi (A/B) tespit etmede anlaşma gösterir.

12.2. Analitik hassasiyet

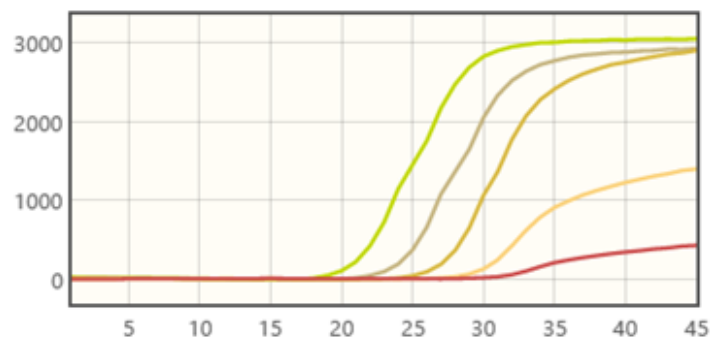
VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System tespit limiti (LoD) sonuçları, pozitif oranı \geq %95 olan nazofaringeal numunelerde aşağıdaki gibidir:

- VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, SARS-CoV-2 için 5,01 IU (Uluslararası Birimler)/ μ l'lik bir tespit limitine (LoD) sahiptir.
- VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, İnfluenza B için $1,8 \times 10^2$ CEID50 (Medyan Tavuk Embriyo Enfeksiyöz Dozu)/ml'lik bir tespit limitine (LoD) sahiptir.
- VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, Influenza A için 10-0.5 TCID50 (Medyan Doku Kültürü Bulaşıcı Doz) /ml'lik bir tespit limitine (LoD) sahiptir.
- VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, RSV A ve RSV B için 4 genom kopyası/ μ l tespit limitine (LoD) sahiptir.

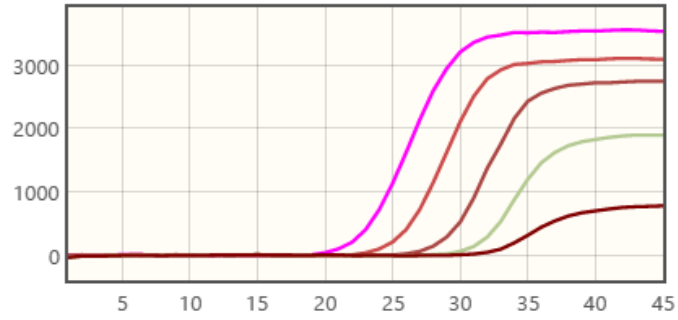
Not: Tespit limiti, 400 μ l'lik bir numune hacmi kullanılarak hesaplandı.

BD MAX™ Sisteminde bir tahlilin çalışılmasından elde edilen amplifikasyon grafiklerinin örnekleri aşağıda gösterilmiştir.

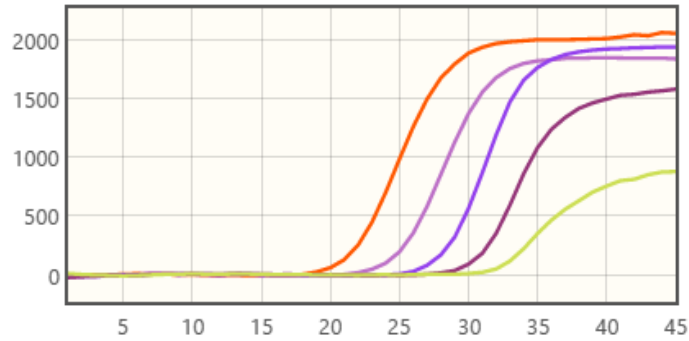
Şekil 2. BD MAX™ System (475/520 (FAM) kanalında) çalışılan SARS-CoV-2 (reaksiyon başına 5×10^5 - 5×10^9 kopya) şablonunun dilüsyon serisi.



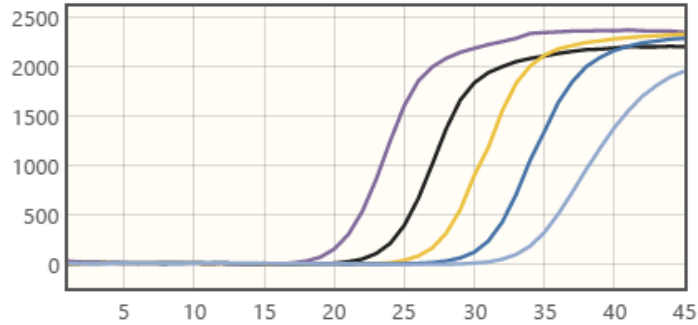
Şekil 3. BD MAX™ System (530/565 (HEX) kanalında) çalışılan (reaksiyon başına 5×10^5 - 5×10^0 kopya) Influenza B şablonunun dilüsyon serisi.



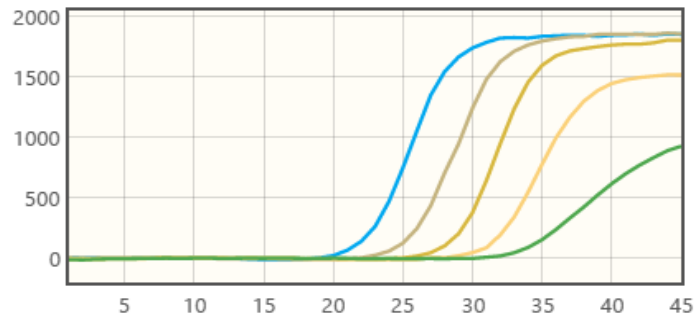
Şekil 4. BD MAX™ System (585/630 (ROX) kanalında) çalışılan Influenza A (reaksiyon başına 5×10^5 - 5×10^0 kopya) şablonunun dilüsyon serisi.



Şekil 5. BD MAX™ System (630/665 (CY5) kanalında) çalışılan RSVA (reaksiyon başına 5×10^5 - 5×10^0 genom kopyası) şablonunun dilüsyon serisi.



Şekil 6. BD MAX™ System (630/665 (CY5) kanalında) çalışılan RSVB (reaksiyon başına 5×10^5 - 5×10^0 genom kopyası) şablonunun dilüsyon serisi.



12.3. Analitik özgüllük

Respiratory Virus Mix I testinin özgüllüğü, en yaygın solunum patojenlerini temsil eden farklı mikroorganizmalardan oluşan bir panel test edilerek doğrulanmıştır. Test edilen aşağıdaki mikroorganizmaların hiçbiri arasında çapraz reaktivite tespit edilmemiştir:

Çapraz reaktivite testi					
İnsan Adenovirus tipleri 1-5, 8, 15, 31, 40 ve 41	-	Enterovirüs Coxsackievirus A24, A9 ve B3	-	Mycoplasma pneumoniae	-
Bocavirus	-	Enterovirüs Echovirüs 30	-	Mycobacterium tuberculosis	-
Bordetella bronchiseptica	-	Enterovirüs 68, 71	-	İnsan parainfluenza 1, 2, 3 ve 4 virüsleri	-
Bordetella holmesii	-	Haemophilus influenzae MinnA	-	Pneumocytis jirovecii Tip A1 ve g885652	-
Bordetella parapertussis	-	Legionella bozemanii	-	İnsan rinovirus	-
Bordetella pertussis	-	Legionella dumoffii	-	SARS Koronavirüs Suş Frankfurt 1	-
Chlamydia caviae	-	Legionella longbeachae	-	Staphylococcus aureus	-
Chlamydia psittaci genotip A ve C	-	Legionella micdadei	-	Staphylococcus epidermidis	-
Chlamydophila pneumoniae CM-1	-	Legionella pneumophila	-	Streptococcus pneumoniae	-
İnsan koronavirüs 229E, OC43, NL63 ve HKU1	-	İnsan metapnömonovirüs A ve B	-	Streptococcus pyogenes	-
MERS Koronavirüs	-	Moraxella catarrhalis	-	Streptococcus salivarius	-

Tablo 18. Bu çalışmada kullanılan referans patojenik mikroorganizmalar.

12.4. Analitik reaktivite

VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System for **SARS-CoV-2'nin** reaktivitesi, pozitif sonuçlar gösteren BetaCoV/Germany/BavPat1/2020 p 1, İnsan 2019-nCoV suşundan ekstrakte edilen RNA, İnsan 2019-nCoV suşu 2019-nCoV/Italy-INMI1, MT007544.1 varyantı için sentetik RNA kontrolleri (SARSCoV2 izolati Australia/VIC01/2020), MN908947.3 varyantı (SARS-CoV-2 izolati Wuhan-Hu-1), alfa varyantı (B. 1.1.7 England/MILK-9E05B3/2020), Beta varyantı (B.1.351 South Africa/KRISP-EC-K005299/2020), Gama varyantı (P.1 Japan (Brazil)/IC-0564/2021) ve Kappa varyantı (B.1.617.1 India/CT-ILSGS00361/2021) ve ısıyla inaktive edilmiş SARSCoV-2 suşu 2019nCoV/USAWA1/2020 (ATCC® VR1986HK™) ve 2019-nCoV/USA-WA1/2020'den ışınlanmış hücre lizatı ve BetaCoV/Berlin/ChVir1670/2020_IsolatBER, BetaCoV/Munich/ChVir984/2020 ve BetaCoV/Baden-Wuerttemberg/1/ChVir1577/2020_IsolatBER kaynaklı liyofilize hücre lizatlarına karşı değerlendirildi.

VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System for **Influenza B'nin** reaktivitesi, aşağıdaki suşlardan ekstrakte edilen RNA'ya karşı değerlendirildi: B/Phuket/3073/2013 virüsü, B/Brisbane/60/2008 virüsü, Influenza B/Florida/04/06 virüsü, B/Pennsylvania/7/2007 (Yamagata Lineage), B/Santiago/4364/2007 (Yamagata Lineage) virüsü, B/Brisbane/3/2007 (Yamagata Lineage) virüsü, B/Pennsylvania/5/2007 (Victoria Lineage), B/Victoria/304/2006 (Victoria Lineage) virüsü, B/Bangladesh/3333/2007 (Yamagata) Lineage) virüsü, pozitif sonuçlar göstermektedir.

VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System for **Influenza A'nin** reaktivitesi, aşağıdaki suşlardan ekstrakte edilen RNA'ya karşı değerlendirildi: A/İsviçre/9715293/2013 (H3N2) virüsü, A/Thüringen/5/2017 (H3N2) virüsü, A/DE-SH/Reiherente/AR8444/ 2016(H5N8) virüsü, A/Anhui/1/2013 (H7N9) virüsü, A/Michigan/45/2015 (H1N1 pdm09) virüsü, A/California/7/2009 (H1N1) virüsü, A/California/7/2009 (H1N1pdm09)

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











VIASURE Respiratory Virus Mix I Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System for **RSV**'nin reaktivitesi, Respiratory Syncytial Virus A (suş A-2) ve Respiratory Syncytial Virus B'den (suş 9320) ekstrakte edilen RNA'ya karşı değerlendirildi ve pozitif sonuçlar verdi.

Bibliography/ Bibliyografi

1. Huang, C. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 2020. DOI : 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
2. Zhu N. et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine.*, 2020. DOI : 10.1056/NEJMoA2001017.
3. World Health Organization. MERS situation update. January 2020. Available from <https://applications.emro.who.int/docs/EMCSR254E.pdf?ua=1>
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/ IVD bileşenlerinin ve reaktiflerin sembolleri

 <i>In vitro</i> diagnostic device <i>In vitro</i> tanı cihazı	 Keep dry Kuru halde tutun	 Use by Son kullanma tarihi	 Manufacturer üretici	 Batch code (Lot) Parti kodu (Lot)
 Consult instructions for use Kullanım talimatlarına bakın	 Temperature limitation Sıcaklık sınırlaması	 Contains sufficient for <n> test <n> testi için yeterli içerik	 Unique Device Identification Benzersiz Cihaz Kimliği	 Catalog number Katalog numarası

Trademarks

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

Change Control / Kontrol Değişimi		
Version No. / Versiyon No.	Changes / Değişiklikler	Date / Tarih
00	Original version / Orijinal versiyon.	25/07/2022
01	"Spectral Cross Talk" values of table 4 have been updated / Tablo 4'teki "Spektral Çapraz Konuşma" değerleri güncellendi	02/08/2022

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

Revision: 2nd 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