

Real Time PCR Detection Kit

Respiratory Virus Extended Mix for BD MAX™ System
Gebrauchsanweisung

CE IVD
2797

Die vorliegende Gebrauchsanweisung bezieht sich auf die folgenden Referenzen:

PRODUKT	REFERENZ
VIASURE <i>Respiratory Virus Extended Mix</i> Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	444221

Tabelle A1. Verweis auf das mit dem BD MAX™ System zu verwendende Produkt.

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

BG За да изтеглите IFUS на други езици, моля, отидете на **certest.es/viasure/labeling**. След това следвайте инструкциите, за да получите достъп до необходимия ви език. Ако имате нужда от допълнителна информация, моля, свържете се с: viasure@certest.es.

CS Chcete-li si stáhnout IFUS v jiných jazycích, přejděte na stránku **certest.es/viasure/labeling**. Jakmile se tam dostanete, postupujte podle pokynů pro přístup k požadovanému jazyku. Pokud potřebujete další informace, kontaktujte prosím: viasure@certest.es. www.certest.es

DA Hvis du vil downloade IFUS på andre sprog, kan du gå til **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, kan 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.

EL Για να κατεβάσετε το IFUS σε άλλες γλώσσες, μεταβείτε στη διεύθυνση **certest.es/viasure/labeling**. Μόλις φτάσετε εκεί, ακολουθήστε τις οδηγίες για να αποκτήσετε πρόσβαση στη γλώσσα που χρειάζεστε. Εάν χρειάζεστε πρόσθετες πληροφορίες, επικοινωνήστε με τη διεύθυνση: 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. www.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.

HR Za preuzimanje IFUS-a s drugih jezika unesite **certest.es/viasure/labeling**. Kada ste tamo, slijedite upute za pristup jeziku koji vam je potreban. Ako trebate dodatne informacije, obratite se na: viasure@certest.es.

HU Az IFUS más nyelveken történő letöltéséhez kérjük, látogasson el a **certest.es/viasure/labeling** weboldalra. Ha ott van, kövesse az utasításokat a kívánt nyelv eléréséhez. Ha további információra van szüksége, kérjük, forduljon a következő címre: 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.

LT Norėdami atsisiųsti IFUS kitomis kalbomis, eikite į **certest.es/viasure/labeling**. Ten atlikite nurodymus, kad pasiektumėte reikiamą kalbą. Jei reikia papildomos informacijos, kreipkitės adresu: viasure@certest.es.

LV Lai lejupielādētu IFUS citās valodās, lūdzu, apmeklējiet **certest.es/viasure/labeling**. Pēc tam izpildiet norādījumus, lai piekļūtu vajadzīgajai valodai. Ja nepieciešama papildu informācija, lūdzu, sazinieties ar: viasure@certest.es.

NB For å laste ned IFUS fra andre språk, gå inn på **certest.es/viasure/labeling**. Når du er der, kan du følge instruksjonene for å få tilgang til det språket du trenger. Hvis du trenger ytterligere informasjon, kan du kontakte: 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.

RO Pentru a descărca IFUS în alte limbi, vă rugăm să accesați **certest.es/viasure/labeling**. Accesat site-ul, urmați instrucțiunile pentru a selecta limba necesară. Pentru informații suplimentare, contactați: 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, vänligen kontakta: viasure@certest.es.

SK Ak si chcete stiahnuť IFUS v iných jazykoch, prejdite na stránku **certest.es/viasure/labeling**. Keď sa tam dostanete, postupujte podľa pokynov a získajte prístup k požadovanému jazyku. Ak potrebujete ďalšie informácie, obráťte sa na: 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.

FI Lataa suomeksi turvallinen käyttöopas osoitteesta **certest.es/viasure/labeling**. Kun olet siellä, seuraa ohjeita. Jos tarvitset lisätietoja, ota yhteyttä: viasure@certest.es.

Besuchen Sie **certest.es/viasure/labeling**, wenn Ihre Sprache nicht in der Liste enthalten ist. Wenden Sie sich an viasure@certest.es, wenn Ihre Sprache nicht auf der Website aufgeführt ist.

Hinweis: Der Anwender sollte den Hersteller und die zuständige Behörde des Mitgliedstaates, in dem er als Anwender und/oder Patient niedergelassen ist, über jeden schwerwiegenden Zwischenfall im Zusammenhang mit dem Produkt informieren.

Inhalt

1.	Zweckbestimmung	6
2.	Zusammenfassung und Erläuterung	6
3.	Verfahrensprinzip	9
4.	Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien	10
5.	Vom Benutzer bereitzustellende Reagenzien und Ausrüstung	11
6.	Transport-, Lagerungs- und Handhabungsbedingungen	11
7.	Sicherheitshinweise für Anwender	12
8.	Testverfahren	14
8.1.	Probenentnahme, -transport und -lagerung	14
8.2.	Probenvorbereitung und NA-Extraktion	16
8.3.	PCR-Protokoll	16
8.3.1.	Erstellung eines PCR-Test-Programms für das VIASURE <i>Respiratory Virus Extended Mix</i> Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	16
8.3.2.	Einrichten der BD MAX™ Rack	23
8.3.3.	Einrichten des BD MAX™	24
8.3.4.	BD MAX™-Ergebnisbericht	25
9.	Ergebnisinterpretation	25
10.	Grenzen des Tests	30
11.	Qualitätskontrolle	33
12.	Analytische Leistungsmerkmale	33
12.1.	Analytische Linearität	33
12.2.	Analytische Sensitivität Nachweisgrenze (LoD)	35
12.3.	Messbereich	37
12.4.	Genauigkeit	37
12.4.1.	Richtigkeit (Verlässlichkeit)	37
12.4.2.	Präzision	44
12.5.	Übertragung (Carry-over)	49
12.6.	Gesamtsystemausfallrate	49

12.7. Analytische Spezifität und Reaktivität	50
12.7.1. Analytische Spezifität	50
12.7.2. Analytische Reaktivität	55
12.8. Metrologische Rückführbarkeit	59
13. Merkmale der klinischen Leistung	59
Literaturverzeichnis	61
Symbole auf IVD-Komponenten und Reagenzien	63
Marken	63

DEUTSCH

1. Zweckbestimmung

Das VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System ist ein automatisierter RT-qPCR-Test, der für den gleichzeitigen qualitativen Nachweis von RNA/DNA aus SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (Typ A und B), Parainfluenza (Typ 1, 2, 3 und 4), humanem Coronavirus (229E, NL63, HKU1 und OC43), Metapneumovirus und Adenovirus in nasopharyngealen Abstrichen von Patienten mit Verdacht auf eine Atemwegsinfektion durch ihren Arzt bestimmt ist. Dieser Test soll die Diagnose einer Infektion mit den vorgenannten Mikroorganismen in Kombination mit den klinischen Anzeichen und Symptomen und/oder epidemiologischen Risikofaktoren des Patienten erleichtern. Positive Ergebnisse weisen auf das Vorhandensein der Ziel-Nukleinsäuren („Nucleic acids“, NA) hin, schließen jedoch das Vorhandensein anderer, nicht durch den Test nachgewiesener Pathogene nicht aus. Negative Ergebnisse schließen das Vorhandensein von Ziel-NA nicht aus und sollten nicht als alleinige Grundlage für die Behandlung oder andere Entscheidungen hinsichtlich der Patientenversorgung herangezogen werden. Bei dem Assay wird das BD MAX™ System zur automatisierten RNA-/DNA-Extraktion und anschließenden RT-qPCR durch Einsatz der mitgelieferten Reagenzien in Kombination mit universellen Reagenzien und Einwegartikeln zum BD MAX™ System verwendet. RNA/DNA wird aus Proben extrahiert. Komplementäre DNA (cDNA) wird synthetisiert und DNA/cDNA mittels RT-qPCR amplifiziert über spezifische Primer und Sonden mit einem fluoreszierenden Reporterfarbstoff nachgewiesen, die für SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (Typ A und B), Parainfluenza (Typ 1, 2, 3 und 4), humanes Coronavirus (229E, NL63, HKU1 und OC43), Metapneumovirus und Adenovirus spezifisch sind.

Das Produkt ist für die Verwendung durch qualifiziertes und geschultes klinisches Laborpersonal bestimmt, das speziell in den Techniken der Echtzeit-PCR und *In-vitro*-Diagnoseverfahren (einschließlich der Schulung am Echtzeit-PCR-Gerät (Thermocycler) und am Nukleinsäureextraktionssystem) eingewiesen und geschult wurde.

2. Zusammenfassung und Erläuterung

Das Schwere Akute Respiratorische Syndrom Coronavirus 2, oder SARS-CoV-2, wie es allgemein bekannt ist, ist das Ende 2019 aufgetretene Atemwegsvirus, das für die COVID-19-Erkrankung verantwortlich ist, die später von der WHO als globale Pandemie eingestuft wurde (Fernández-Pérez et al., 2021; Hu et al., 2021; WHO | World Health Organization, 2023a). Dieses neuartige Coronavirus ist ein einzelsträngiges RNA-Virus, das in die Familie der *Coronaviridae*, Gattung Beta, eingestuft wurde (Fernández-Pérez et al., 2021). Eine SARS-CoV-2-Infektion kann sowohl Erwachsene als auch Kinder betreffen, wobei Menschen über 60 Jahre und solche mit bestehenden Erkrankungen anfälliger für eine schwerere Form von COVID-19 sind (WHO | World Health Organization, 2023a). Die Infektion kann asymptomatisch verlaufen oder eine Reihe von

Symptomen mit niedriger bis hoher Intensität und Schwere hervorrufen, die der Influenza sehr ähnlich sind (CDC |, 2023; Safiabadi Tali et al., 2021).

Influenza ist die akute Atemwegsinfektion, die durch das Influenzavirus verursacht wird, die die Atemwege betrifft und weltweit im Umlauf ist (Uyeki et al., 2022; WHO | World Health Organization, 2023b). Saisonale Influenza wird insbesondere durch saisonale Influenza-A- und -B-Viren ausgelöst, die beide für die Epidemien verantwortlich sind, die normalerweise in den Wintermonaten in gemäßigten Klimazonen und das ganze Jahr über in tropischen Gebieten auftreten (Tyrrell et al., 2021; Uyeki et al., 2022; WHO | World Health Organization, 2023b). Influenzaviren, die zur Familie der *Orthomyxoviridae* gehören, sind achtsegmentierte, einzelsträngige RNA-Viren negativer Polarität, deren RNA zwölf virale Proteine codiert (Krammer et al., 2018; Uyeki et al., 2022). Die Virushülle, die aus der Plasmamembran des Wirts gebildet wird, besteht aus einer Lipiddoppelschicht, welche die Transmembranproteine Hämagglutinin (HA), Neuraminidase (NA), virales Nucleoprotein (NP), Matrixprotein (M1) und Membranprotein (M2) enthält (Krammer et al., 2018).

Das Respiratorische Synzytialvirus (RSV) ist ein weiterer respiratorisches und saisonales Virus, das die unteren Atemwege in allen Altersgruppen betrifft (WHO | World Health Organization, n.d.). Dieses einzelsträngige, nicht segmentierte RNA-Virus negativer Polarität aus der Familie der *Pneumoviridae* ist dafür bekannt, vor allem Kleinkinder unter 2 Jahren zu betreffen, kann aber auch Erwachsene über 65 Jahre und/oder Personen mit Immunschwäche oder bestimmten Komorbiditäten schwer beeinträchtigen (Abu-Raya et al., 2023; Bergeron & Tripp, 2021; WHO | World Health Organization, n.d.).

Die Diagnose der erwähnten Atemwegserkrankungen ist schwierig, da sie in der Regel gemeinsame Symptome aufweisen (Uyeki et al., 2022). Eine genaue Diagnose ist daher von entscheidender Bedeutung, nicht nur um die Ursache der Krankheit zu ermitteln, sondern auch um epidemische/pandemische Wellen vorherzusehen und die Kollateralwirkungen auf das Gesundheits- und Wirtschaftssystem abzumildern (Safiabadi Tali et al., 2021; Uyeki et al., 2022). Es gibt viele Arten von diagnostischen Tests (Point-of-Care- oder Antigen-Schnelltests), jedoch zeichnet sich die RT-PCR durch ihre hohe Sensitivität und Spezifität aus und ermöglicht den kombinierten Nachweis vieler gleichzeitig kursierender respiratorischer Viren, wodurch sich die Diagnosezeit verkürzt (Uyeki et al., 2022).

Erkrankungen der unteren Atemwege sind weltweit für etwa vier Millionen Todesfälle pro Jahr verantwortlich. Eine Vielzahl von Viren kann dafür verantwortlich gemacht werden, darunter Coronaviren, die zur Familie der *Coronaviridae* gehören (Friedman et al., 2018). Diese weltweit verbreiteten Viren sind große, umhüllte Viren, die ein einzelsträngiges RNA-Genom mit positiver Polarität enthalten (Lim et al., 2016; Zeng et al., 2018). Sie sind direkt mit Erkrankungen der Atemwege, des Magen-Darm-Trakts und des zentralen Nervensystems verbunden. Coronaviren zeichnen sich durch ihre Einteilung in drei Serotypen oder Gruppen aus. Die Gruppen 1 und 2 beziehen sich auf Coronaviren bei Säugetieren, während die Gruppe 3 aus Coronaviren bei Vögeln besteht. Häufig anzutreffende humane Coronaviren sind die Stämme HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 und HCoV-HKU1 (Zeng et al., 2018). HCoV sind über die üblichen Diagnosemethoden nur schwer

nachweisbar, da sie in der Regel zusammen mit anderen respiratorischen Viren wie HRSV oder Influenza nachgewiesen werden (Gaunt et al., 2010). Vor diesem Hintergrund ist die Echtzeit-PCR aufgrund ihrer Spezifität eine der bevorzugten Methoden zur Diagnose von Coronaviren. Konkret handelt es sich dabei um die Echtzeit-PCR, die das *N*-Gen für die Stämme 229E, OC43 und NL63 sowie das *rep*-Gen für den Stamm HKU1 als Ziel festlegt.

Parainfluenzaviren (PIV oder HPIV beim Menschen) gehören zur Familie der Paramyxoviridae und werden genetisch und antigenetisch in vier Typen unterteilt. Diese Viren können bei Säuglingen, Kindern und Erwachsenen zu Atemwegsinfektionen führen, wobei die Art der Infektion und die spezifischen Symptome je nach Typ variieren. HPIV-1 und HPIV-2 verursachen beide Erkrankungen der oberen und unteren Atemwege, wie z. B. Erkältungen und Krupp, wobei HPIV-1 am häufigsten bei Kindern festgestellt wird. HPIV-3 wird häufiger mit Erkrankungen der unteren Atemwege wie Bronchiolitis, Bronchitis und Lungenentzündung in Verbindung gebracht. HPIV-4 wird seltener erkannt, kann aber dennoch leichte bis schwere Atemwegserkrankungen verursachen (Henrickson, 2003). Parainfluenzaviren sind mittelgroße Viren mit Hülle, deren Genome auf einem einzelnen negativsträngigen RNA-Strang organisiert sind, der mindestens sechs gemeinsame Strukturproteine kodiert. Diese Viren tragen zwei Hüllenglykoproteine: HN, das sowohl Hämagglutinin- als auch Neuraminidaseaktivität enthält, und F, das Fusionsaktivität enthält (Henrickson, 2003).

Die traditionelle Methode zur Diagnose ist die Viruskultur in Kombination mit der Immunfluoreszenz, diese ist jedoch zeitaufwendig (Templeton et al., 2004). Antigennachweistests werden häufig eingesetzt, sind jedoch weniger empfindlich und spezifisch als andere diagnostische Hilfsmittel wie Echtzeit-PCR-Tests (Jansen et al., 2011; Templeton et al., 2004), die derzeit als eine der besten Methoden gelten, die zur Wahl stehen.

Adenoviren gehören zur Familie der *Adenoviridae*, die aus nicht umhüllten und doppelsträngigen (dsDNA-) Viren besteht (Datta, 2023; Ison & Hayden, 2016). Es gibt mehr als 50 immunologisch unterschiedliche humane Adenovirus-Serotypen (Lynch & Kajon, 2016), die in 7 Spezies (Adenovirus-A bis Adenovirus-G) eingeteilt werden und beim Menschen Infektionen verursachen können, die von Atemwegserkrankungen (Adenovirus-E, -C und einige B-Spezies) über Infektionen des Verdauungstrakts (vor allem Spezies Adenovirus-A und -F), Harnwegserkrankungen (weitere Adenovirus-B-Spezies) bis hin zu Konjunktivitis (Adenovirus-D) reichen (Buckwalter et al., 2012; Datta, 2023). Die Übertragung kann durch Einatmen von aerosolierten Tröpfchen, direkte konjunktivale Inokulation, fäkal-orale Verbreitung oder Kontakt mit infiziertem Gewebe oder Blut erfolgen (Ison & Hayden, 2016).

Humane Metapneumoviren gehören zur Familie der *Paramyxoviridae* (Schuster & Williams, 2013) und sind eine wichtige Ursache für Infektionen der oberen und unteren Atemwege. Metapneumoviren sind behüllte, einzelsträngige RNA-Viren negativer Polarität. Zu den klinischen Symptomen einer Infektion mit Metapneumoviren zählen Husten, Fieber, Nasenverstopfung und Atemnot. Die Erkrankung kann sich zu einer Bronchiolitis oder Lungenentzündung ausweiten (Uddin & Thomas, 2020). Metapneumoviren werden

hauptsächlich durch infektiöse Tröpfchen in der Luft übertragen und sind das zweithäufigste Virus bei Atemwegsinfektionen, wobei Kinder unter fünf Jahren am anfälligsten für eine Infektion sind (Schuster & Williams, 2013).

Die Diagnose kann problematisch sein, da eine Vielzahl pathogener Keime akute Atemwegsinfektionen mit ähnlichen klinischen Syndromen verursachen kann. Sie wurden zunächst anhand von Zellkulturen identifiziert, die Diagnose auf dem Wege dieses Verfahrens bis zum Auftreten zytopathischer Effekte ist jedoch zeitaufwändig. Serologische Tests können bei epidemiologischen Untersuchungen nützlich sein, sind jedoch von nur begrenztem praktischem Wert für den einzelnen Patienten (Datta, 2023; Ison & Hayden, 2016; Lynch & Kajon, 2016; Schuster & Williams, 2013). Aus diesem Grund ist die Echtzeit-(RT-)PCR aufgrund ihrer hohen Sensitivität und Spezifität derzeit das zur Identifizierung von Adenoviren und Metapneumoviren verwendete Verfahren.

3. Verfahrensprinzip

Das VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System ist für den gleichzeitigen qualitativen Nachweis von Nukleinsäure aus SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A, RSV (Typ A und B), Parainfluenza (Typ 1, 2, 3 und 4), humanem Coronavirus (229E, NL63, HKU1 und OC43), Metapneumovirus und Adenovirus in nasopharyngealen Abstrichen bestimmt. Der Nachweis erfolgt in einem einstufigen RT-qPCR-Verfahren, bei dem die reverse Transkription und die anschließende Amplifikation der spezifischen Zielsequenz in demselben Well stattfinden. Die isolierte RNA-Zielsequenz wird transkribiert, wobei durch reverse Transkriptase komplementäre DNA erzeugt wird. Nach der Synthese der cDNA oder der Isolierung der DNA erfolgt die Identifizierung dieser Mikroorganismen durch Amplifikation einer konservierten Region der Gene *N* und *ORF1ab* von SARS-CoV-2, des *M*-Gens (Matrixprotein 1 (M1)) von Influenza A/B, des *HA*-Gens von Influenza A Subtyp H1N1, des *N*-Gens von RSV (Typ A und B), des *HN*-Gens von Parainfluenza (Typ 1, 2 und 3), des *F*-Gens von Parainfluenza (Typ 4), des *N*-Gens von Coronavirus (229E, NL63, HKU1 und OC43), des *F*-Gens von Metapneumovirus und des *Hexon*-Gens von Adenovirus unter Verwendung spezifischer Primer und fluoreszenzmarkierter Sonden.

Das VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System nutzt die 5'-Exonuklease-Aktivität der DNA-Polymerase. Während der DNA-Amplifikation spaltet dieses Enzym die an die komplementäre DNA-Sequenz gebundene Sonde, wodurch der Quencher-Farbstoff vom Reporter getrennt wird. Diese Reaktion erzeugt eine zur Quantität des Ziel-Templates proportionale Steigerung des Fluoreszenzsignals. Diese Fluoreszenz wird vom BD MAX™ System gemessen.

Das VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System enthält in jedem Gefäß bereits die für den Echtzeit-PCR-Test erforderlichen Komponenten (spezifische Primer/Sonden,

dNTP, Puffer, Polymerase und Reverse Transkriptase) in stabilisierter¹ Form sowie eine **endogene interne Kontrolle (EIC)** (humanes *RNAse P*-Gen), um die Integrität der Probe zu überwachen, den Extraktionsprozess zu kontrollieren und/oder die Inhibition der Polymeraseaktivität auszuschließen. Humane Housekeeping-Gene sind an den grundlegenden Zellerhaltungsfunktionen beteiligt. Daher wird davon ausgegangen, dass sie in allen kernhaltigen menschlichen Zellen vorliegen und relativ konstante Expressionsniveaus zeigen.

	Zielsequenz	Kanal	Gen
<i>Respiratory Virus Mix I</i>	SARS-CoV-2	475/520	<i>N</i> - und <i>ORF1ab</i> -Gen
	Influenza B	530/565	<i>M1</i> -Gen
	Influenza A	585/630	<i>M1</i> - und <i>HA</i> -Gen
	RSV (A/B)	630/665	<i>N</i> -Gen
	Endogene interne Kontrolle (EIC)	680/715	Humanes <i>RNAse P</i> -Gen
<i>Respiratory Virus Mix II</i>	Parainfluenza (Typ 1, 2 und 3)	475/520	<i>HN</i> -Gen
	Parainfluenza (Typ 4)		<i>F</i> -Gen
	Coronavirus (229E, NL63, HKU1 und OC43)	530/565	<i>N</i> -Gen
	Metapneumovirus	585/630	<i>F</i> -Gen
	Adenovirus	630/665	<i>Hexon</i> -Gen
	Endogene interne Kontrolle (EIC)	680/715	Humanes <i>RNAse P</i> -Gen

Tabelle 1. Zielsequenz, Kanal und Gene.

4. Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System enthält die in Tabelle 2 aufgeführten Materialien und Reagenzien:

Reagenz/Material	Beschreibung	Konzentrationsbereich	Barcode	Menge
<i>Respiratory Virus Mix I</i> / reaction tube	Lyoprotektoren und Stabilisatoren	± 6 g/100 ml*	1K-Folie	2 Beutel mit je 12 transparenten Röhrchen
	Desoxyribonukleosidtriphosphat (dNTP)	± 1 mM*		
	Primer und Sonden	0,2–1 nMol/µl*		
	Enzyme	10–100 U/Reaktion*		
<i>Respiratory Virus Mix II</i> / reaction tube	Lyoprotektoren und Stabilisatoren	± 6 g/100 ml*	1M-Folie	2 Beutel mit je 12 transparenten Röhrchen
	Desoxyribonukleosidtriphosphat (dNTP)	± 1 mM*		
	Primer und Sonden	0,2–1 nMol/µl*		
	Enzyme	10–100 U/Reaktion*		
Rehydration Buffer tube	Kochsalzlösungsgemisch	± 13 mM	11-Folie	1 Beutel mit je 24 transparenten Röhrchen
	Puffer (TRIS, pH)	± 67 mM		

Tabelle 2. Reagenzien und Materialien im VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System mit der Kat.- Nr. 444221.

*Bei Komponenten in stabilisierter Form bezieht sich der Konzentrationsbereich auf Konzentrationen nach der Rehydrierung.

¹ Bitte beachten Sie, dass die Begriffe „stabilisiert“ und „lyophilisiert“ im gesamten Dokument nicht unterscheidbar und als Synonyme verwendet werden.

5. Vom Benutzer bereitzustellende Reagenzien und Ausrüstung

In der nachstehenden Liste sind die erforderlichen, jedoch nicht im Lieferumfang des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System enthaltenen Materialien aufgeführt.

- Echtzeit-PCR-Gerät: BD MAX™ System (Ref.-Nr.: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref.-Nr.:442827 oder 442828).
- BD MAX™ PCR Cartridges (Kartuschen) (Ref.-Nr.: 437519).
- Vortexmischer
- Mikropipetten (präzise zwischen 2 µl und 1000 µl)
- Nuklease-freies Wasser
- Filterspitzen
- Puderfreie Einweghandschuhe

Optional:

- Externe Kontrollmaterialien können im Rahmen des Qualitätskontrollverfahrens zur Beurteilung der Assay-Leistung eingesetzt werden. Handelsübliches Kontrollmaterial und/oder Proben, die zuvor als positiv oder negativ charakterisiert worden sind, können als externe Positivkontrolle (EPC) bzw. externe Negativkontrolle (ENC) verwendet werden. Die Auswahl und Validierung der EPC und ENC muss in Übereinstimmung mit den geltenden lokalen, staatlichen und/oder nationalen Vorschriften sowie den standardmäßigen Qualitätskontrollverfahren des Labors erfolgen. Darüber hinaus hat der Anwender bei der Verwendung von handelsüblichem Kontrollmaterial die entsprechenden Gebrauchsanweisungen zu befolgen.

Das VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System wurde mit ExK™ TNA-3 (Ref.-Nr. 442827 oder 442828) auf dem Echtzeit-PCR-Gerät BD MAX™ System validiert.

Bei den für die Bewertung des Produkts ausgewählten Proben handelte es sich um nasopharyngeale (NF-)Proben, die mit einem flexiblen, sterilen Nylon-Abstrichtupfer (im Folgenden als nasopharyngealer Abstrich bezeichnet) entnommen wurden. Anschließend wird der Abstrichtupfer in das Röhrchen des BD™ Universal Viral Transport System (UVT, SKU: 220220) oder Universal Transport Media® (UTM®) (Copan) gegeben.

6. Transport-, Lagerungs- und Handhabungsbedingungen

- Die Kits können bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfalldatum bei 2 °C bis 30 °C transportiert und gelagert werden.
- Erschütterungen beim Transport vermeiden, um das Auslaufen von Flüssigkeit zu verhindern.

- Nach dem Öffnen der Aluminiumbeutel können die darin enthaltenen Reaktionsgefäße bis zu 28 Tage bei 2 bis 30 °C verwendet werden. Das Fläschchen lichtgeschützt aufbewahren.

In folgender Tabelle sind die Transport-, Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für das Kit sowie für jede einzelne Komponente zusammengefasst:

Komponente	Transportbedingungen	Lagerungsbedingungen	Handhabungsbedingungen
Komplettes VIASURE <i>Respiratory Virus Extended Mix</i> Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	2 bis 30 °C über die auf dem Etikett des Kits angegebene Haltbarkeitsdauer.	Vor dem Gebrauch: 2 °C bis 30 °C über die auf dem Etikett des Kits angegebene Haltbarkeitsdauer.	<i>*Siehe Handhabungsbedingungen der einzelnen Komponenten.</i>
<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube (1K-Folie)		Vor dem Gebrauch: 2 °C bis 30 °C über die auf dem Etikett des Kits angegebene Haltbarkeitsdauer. Nach Öffnen des Beutels mit dem Trockenmittel: 2 bis 30 °C für bis zu 28 Tage.	Raumtemperatur.
<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube (1M-Folie)		Vor dem Gebrauch: 2 °C bis 30 °C über die auf dem Etikett des Kits angegebene Haltbarkeitsdauer. Nach Öffnen des Beutels mit dem Trockenmittel: 2 bis 30 °C für bis zu 28 Tage.	Raumtemperatur.
Rehydration Buffer tube		Vor dem Gebrauch: 2 °C bis 30 °C über die auf dem Etikett des Kits angegebene Haltbarkeitsdauer. Nach Öffnen des Beutels mit dem Trockenmittel: 2 bis 30 °C für bis zu 28 Tage.	Raumtemperatur.

Tabelle 3. Zusammenfassung der Bedingungen für Transport, Lagerung und Verwendung des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System und der einzelnen Komponenten.

7. Sicherheitshinweise für Anwender

- Das Produkt ist für die Verwendung durch qualifiziertes und geschultes klinisches Laborpersonal bestimmt, das speziell in den Techniken der Echtzeit-PCR, der Humangenetik und *In-vitro*-Diagnoseverfahren unterwiesen und geschult wurde.
- In-vitro*-Diagnostikum.
- Die Gebrauchsanweisung für das VIASURE Produkt und das Anwenderhandbuch für das BD MAX™ System sind vor der Verwendung des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System aufmerksam durchzulesen. Führen Sie den Test erst dann durch, wenn Sie sich mit den darin angegebenen Informationen über Verfahren, Sicherheitsvorkehrungen und Einschränkungen vertraut gemacht haben.
- Keine abgelaufenen Reagenzien und/oder Materialien verwenden.
- Das Kit nicht verwenden, wenn das Etikett, das die Außenverpackung versiegelt, aufgerissen ist.
- Reagenzien nicht verwenden, wenn der Schutzbehälter bei Ankunft bereits geöffnet oder beschädigt ist.
- Reagenzien nicht verwenden, wenn die Schutzbeutel bei Ankunft bereits geöffnet oder beschädigt sind.

- Reagenzien nicht verwenden, wenn sich in den Reagenzbeuteln kein Trockenmittel befindet oder dieses beschädigt ist.
- Trockenmittel nicht aus Reagenzbeuteln entfernen.
- Reagenzien nicht verwenden, wenn die Folie gerissen oder beschädigt ist.
- Reagenzien unterschiedlicher Beutel und/oder Kits und/oder Chargen nicht vermischen.
- Schutzbeutel von Reagenzien nach jedem Gebrauch sofort mit dem Zippverschluss schließen, um den Mastermix vor Sonneneinstrahlung zu schützen. Vor dem Verschließen überschüssige Luft aus den Beuteln entfernen.
- Reagenzien vor Feuchtigkeit schützen. Sollten diese für längere Zeit Feuchtigkeit ausgesetzt sein, wirkt sich dies nachteilig auf die Produktleistung aus.
- Zur Vermeidung von Beschädigungen des Etiketts das Produkt nicht in der Nähe von Lösemitteln verwenden.
- Zeigt das Reaktionsgemisch in stabilisierter Form, das sich in der Regel am Boden des Röhrchens befindet, ein anderes Erscheinungsbild als üblich (keine konische Form, Inhomogenität, kleineres/größeres Volumen und/oder eine andere Färbung als weißlich), so hat dies keinen Einfluss auf die Funktionsfähigkeit des Tests.
- Sicherstellen, dass das Reaktionsgefäß und das Rehydrationspuffer-Röhrchen bei der Einrichtung des BD MAX™ Racks sicher einrasten.
- In Fällen, in denen andere PCR-Tests im selben allgemeinen Laborbereich durchgeführt werden, ist Sorge dafür zu tragen, dass das VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, das BD MAX™ ExK™ TNA-3 Extraction Kit oder sonstige zusätzlich für den Test erforderliche Reagenzien und das BD MAX™ System nicht kontaminiert werden. Eine Kontamination der Reagenzien durch Mikroorganismen sowie Ribonuklease (RNase) und Desoxyribonuklease (DNase) ist unter allen Umständen zu vermeiden. Die Verwendung von RNase-/DNase-freien aerosolresistenten Einweg-Pipettenspitzen oder Direktverdrängungspipettenspitzen wird empfohlen. Verwenden Sie für jede Probe eine neue Spitze. Vor dem Umgang mit Reagenzien und Kartuschen (BD MAX™ PCR Cartridge) müssen die Handschuhe gewechselt werden.
- Um die Kontamination der Umgebung durch Amplikons zu vermeiden, zerbrechen Sie die BD MAX™ PCR Cartridge Kartusche nicht nach Gebrauch. Die Versiegelung der BD MAX™ PCR Cartridge Kartusche ist darauf ausgelegt, Kontaminationen zu verhindern.
- Einen Arbeitsfluss in eine Richtung einrichten. Der Arbeitsfluss sollte im „Extraction Area“ (Extraktionsbereich) beginnen und zum „Amplification and Detection Area“ (Amplifikations- und Detektionsbereich) übergehen. Bringen Sie Proben, Ausrüstungsgegenstände oder Reagenzien nicht in einen Bereich zurück, in dem ein vorheriger Schritt durchgeführt wurde.
- Die Grundsätze der guten Laborpraxis befolgen. Schutzkleidung, Einweghandschuhe, Schutzbrillen und Schutzmasken verwenden. Im Arbeitsbereich nicht essen, trinken, rauchen und keine Kosmetikprodukte anwenden. Nach Abschluss des Tests die Hände waschen.

- Proben sowie sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit den Proben in Berührung gekommen sind, immer als potenziell infektiös und/oder biologisch gefährlich betrachten und entsprechend den nationalen Sicherheitsrichtlinien behandeln. Während der Entnahme, des Transports, der Lagerung, Handhabung und Entsorgung von Proben die erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen befolgen.
- Proben und Reagenzien müssen in einer biologischen Sicherheitswerkbank gehandhabt werden. Persönliche Schutzausrüstung (PSA) verwenden, die den aktuellen Richtlinien für den Umgang mit potenziell infektiösen Proben entspricht. Abfall in Übereinstimmung mit den örtlichen und Landesvorschriften entsorgen.
- Eine regelmäßige Dekontaminierung von häufig genutzten Ausrüstungsgegenständen und Flächen, insbesondere Mikropipetten und Arbeitsoberflächen, wird empfohlen.
- Gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 (REACH) sind für die VIASURE Real Time PCR Detection Kits for BD MAX™ System aufgrund ihrer Einstufung als nicht gesundheits- und umweltgefährdend keine Sicherheitsdatenblätter erforderlich, da sie keine Substanzen und/oder Gemische enthalten, die die in der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 (CLP) festgelegten Kriterien für die Gefahreneinstufung erfüllen oder deren Konzentration den in der genannten Verordnung festgelegten Wert für die Deklaration überschreitet. Eine Erklärung, der zufolge kein Sicherheitsdatenblatt erforderlich ist, kann bei Certest Biotec S.L. angefordert werden.
- Vergewissern Sie sich, dass die Definition des PCR-Testprogramms auf dem BD MAX™ System entsprechend den Anweisungen im Abschnitt „PCR-Protokoll“ (Probenextraktionsparameter, benutzerdefinierte Barcodes, PCR-Einstellungen usw.) erfolgt.
- Weitere Warn-, Sicherheits- und Verfahrenshinweise finden Sie im Benutzerhandbuch zum BD MAX™ System.
- Das Analysezertifikat ist diesem Gerät nicht beigelegt, kann bei Bedarf jedoch über die Website von Certest Biotec S.L. (www.certest.es) heruntergeladen werden.

8. Testverfahren

8.1. Probenentnahme, -transport und -lagerung

Das VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System wurde an nasopharyngealen Abstrichen getestet, die mit einem flexiblen, sterilen Nylon-Abstrichtupfer entnommen und sofort in ein steriles Röhrchen mit 3 ml BD™ Universal Viral Transport System (UVT, SKU: 220220)² oder Universal Transport Media® (UTM®) (Copan)³ gegeben wurden. Andere Arten von Proben müssen vom Benutzer validiert werden.

² BD Universal Viral Transport System. <https://www.bd.com/en-us/products-and-solutions/products/product-families/bd-universal-viral-transport-system>

³ <https://www.copangroup.com/product-ranges/utm/>

Die Entnahme, die Lagerung und der Transport von Proben sollte unter den vom Benutzer validierten Bedingungen erfolgen. Klinische Proben sind grundsätzlich in geeigneter Weise in sauberen Behältern mit oder ohne Transportmedium (je nach Probentyp) aufzufangen und zu kennzeichnen. Nach der Gewinnung sollten die Proben in einem Beutel für biogefährliche Materialien gegeben und so schnell wie möglich weitertransportiert und verarbeitet werden, um eine gute Qualität des Tests zu gewährleisten. Die Proben sollten gemäß den lokalen und nationalen Bestimmungen für den Transport von pathogenem Material und nicht länger als 2 Stunden bei Raumtemperatur (RT) bzw. 5 Tage bei 4 °C transportiert werden. Für einen Langzeittransport (über mehr als 5 Tage) empfehlen wir eine Temperatur von -20 °C oder darunter⁴. Proben, die für molekulare Tests eingereicht wurden, müssen unter kontrollierten Bedingungen gelagert werden, damit die Nukleinsäuren während der Lagerung nicht abgebaut werden. Es wird empfohlen, frische Proben für den Test zu verwenden. Sollte dies nicht möglich sein oder im Fall einer retrospektiven Studie sind die Proben vorzugsweise bei -70 oder -80 °C oder alternativ bei -20 °C aufzubewahren⁵. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sollte vermieden werden, um eine Zersetzung der Proben und Nukleinsäuren zu vermeiden.

Die klinischen Proben müssen gemäß den entsprechenden Laborrichtlinien und/oder Verfahrensrichtlinien für Labore entnommen, transportiert, und gelagert werden. Beispiele finden sich in der IDSA-Leitlinie (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) oder Sánchez-Romero, M. I., García-Lechuz Moya, J. M., González López, J. J., & Orta Mira, N. (2019). Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 37(2), 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.12.002>.

Bitte beachten: Die oben angegebenen Bedingungen für die Entnahme, den Transport und die Lagerung von Proben basieren auf den Empfehlungen für nasopharyngeale Proben, die zum Nachweis von Nukleinsäuren verwendet werden sollen. Diese Empfehlungen sind im zitierten SEIMC-Empfehlungsbericht für allgemeine Entnahme- und Transportverfahren in der klinischen Mikrobiologie und in der maßgeblichen IDSA-Leitlinie enthalten. Darüber hinaus empfehlen wir, die Laborrichtlinien und/oder das entsprechende Handbuch zur Handhabung der Proben im Labor für den ordnungsgemäßen Transport und die Konservierung von Proben zu befolgen.

Es wurde eine interne Studie zur Probenstabilität mit dem VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System unter Verwendung von negativen nasopharyngealen Abstrichen durchgeführt, die im BD™ Universal Viral Transport System entnommen und mit den Zielerregern

⁴ IDSA-Leitlinie (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))

⁵ Sánchez-Romero, M. I., García-Lechuz Moya, J. M., González López, J. J. & Orta Mira, N. Collection, transport and general processing of clinical specimens in Microbiology laboratory. *Enfermedades Infecc. y Microbiol. Clin.* (English ed.) 37, 127–134 (2019).

des Produkts dotiert wurden, wobei jeder Stamm in einer Konzentration von 2–3xLoD vorlag. Die Stabilität wurde anhand von drei verschiedenen Assays analysiert: Primärstabilität (25 °C: 24 und 48 Stunden; 4 °C: 1, 2 und 7 Tage; -20 °C: 2, 3 und 6 Monate), Stabilität im Probenpufferröhrchen (3 und 7 Tage bei 25 °C und 4 °C) und verschachtelte Stabilität (Proben wurden 48 Stunden lang bei 4 °C und 25 °C inkubiert, danach wurden diese Proben dem SBT zugegeben und nach 3 und 7 Tagen bei 4 °C und 25 °C analysiert). Außerdem wurden die Proben nach fünfmaligem Einfrieren (bei -20 °C) und Auftauen (bei 25 °C) über eine Woche analysiert. Die Ergebnisse zeigten eine gute Leistung der unter allen Testbedingungen aufbewahrten Proben.

8.2. Probenvorbereitung und NA-Extraktion

Die Probenvorbereitung gemäß den in der Gebrauchsanweisung des verwendeten Extraktions-Kits BD MAX™ ExK™ TNA-3 aufgeführten Empfehlungen durchführen.

1. Pipettieren Sie 400 µl der Probe in ein BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube und verschließen Sie das Röhrchen mit einem Septumverschluss. Sorgen Sie für eine vollständige Vermischung, indem Sie die Probe bei hoher Geschwindigkeit 1 Minute vortexen. Achten Sie darauf, dass das Vortexen einige Minuten vor dem Start des Durchlaufs stattfindet. Führen Sie die Bearbeitung am BD MAX™ System Operation fort.

Beachten Sie, dass anwendungsspezifische Vorbereitungsmaßnahmen für die Extraktion entwickelt und vom Benutzer validiert werden sollten und dass andere Proben möglicherweise eine Vorbehandlung erfordern.

8.3. PCR-Protokoll

Hinweis: Ausführliche Anweisungen entnehmen Sie bitte dem Benutzerhandbuch des BD MAX™ Systems.

8.3.1. Erstellung eines PCR-Test-Programms für das VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System

Hinweis: Wenn Sie bereits den Test für das VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System angelegt haben, können Sie Schritt 8.3.1 auslassen und direkt mit Schritt 8.3.2 fortfahren.

- 1) Wählen Sie am Bildschirm „Run“ (Durchlauf) des BD MAX™ System die Registerkarte „Test Editor“ (Test-Assistent).
- 2) Klicken Sie auf die Schaltfläche „Create“ (Erstellen).

In der Registerkarte „Basic Information“ (Grundlegende Informationen):

- 3) Geben Sie im Feld „Test Name“ (Testbezeichnung) einen Namen für Ihren Test ein: z. B. VIASURE Resp Virus.

Hinweis: Die Testbezeichnung muss eindeutig sein und darf eine Länge von 20 Zeichen nicht überschreiten.

- 4) Wählen Sie im Dropdown-Menü „Extraction Type“ (Extraktionstyp) die Option „ExK TNA-3“.
- 5) Wählen Sie im Dropdown-Menü „Master Mix Format“ die Option „Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)“ (Dualer Mastermix konzentriert lyophilisiert MM mit Rehydrationspuffer (Typ 5)). Wenn „Dual Master Mix“ (Dualer Mastermix) ausgewählt ist, ändert sich die Reiterkonfiguration rechts in der Registerkarte „Test Editor“ (Test-Assistent). Es gibt zusätzliche Registerkarten für „PCR settings“ (PCR-Einstellungen), „Melt settings“ (Schmelzkurve-Einstellungen) und „Test Steps“ (Testschritte), die beide Snap-in-Röhrchen berücksichtigen.
- 6) Wählen Sie im Feld „Sample Extraction Parameters“ (Probenextraktionsparameter) die Option „User Defined“ (Benutzerdefiniert) und stellen Sie die folgenden Parameterwerte ein (Tabelle 4).

<i>Sample Extraction Parameters</i> (Probenextraktionsparameter)	<i>Value (units)</i> (Wert (Einheiten))
<i>Lysis Heat Time</i> (Lyse-Erhitzungsdauer)	10 Min.
<i>Lysis Temperature</i> (Lyse-Temperatur)	60 °C
<i>Sample Tip Height</i> (Höhe der Probenpipettenspitze)	1600 Schritte
<i>Sample Volume</i> (Probenvolumen)	950 µl
<i>Wash Volume</i> (Spülvolumen)	500 µl
<i>Neutralization Volume</i> (Neutralisierungsvolumen)	n. a.
<i>DNase Heat Time</i> (DNase-Erhitzungsdauer)	n. a.

Tabelle 4. Parameter der mit dem BD MAX™ ExK™ TNA-3 durchgeführten Probenextraktion.

- 7) Wählen Sie im Feld „Ct Calculation“ (Ct-Berechnung) die Option „Call Ct at Threshold Crossing“ (Ct bei Grenzwertüberschreitung abrufen) (Voreinstellung) aus.
- 8) Wenn Sie die Software-Version 5.00 oder höher verwenden und barcodierte Folien-Snap-in-Röhrchen einsetzen, wählen Sie im Feld „Custom Barcodes“ (Kundendefinierte Barcodes) die folgende Konfiguration:
 - a. Snap-In 2 Barcode (Barcode für Snap-In 2): 1K (betreffend *Respiratory Virus Mix I* reaction tube).
 - b. Snap-In 3 Barcode (Barcode für Snap-In 3): 11 (für das Rehydration Buffer Tube).
 - c. Snap-In 4 Barcode (Barcode für Snap-In 4): 1M (betreffend *Respiratory Virus Mix II* reaction tube).

In den Registerkarten „PCR Settings“ (PCR-Einstellungen):

- 9) Geben Sie im Feld „PCR Settings“ (PCR-Einstellungen) die folgenden Parameter ein, die in den Tabellen 5 und 6 für Snap-In 2 (grüne Farbcodierung am Rack) bzw. Snap-In 4 (blaue Farbcodierung

am Rack) beschrieben sind: „Alias“ (bis zu sieben alphanumerische Zeichen), „PCR Gain“ (PCR-Verstärkung), „Threshold“ (Schwellenwert), „Ct Min“ und „Ct Max“.

<i>Channel</i> (Kanal)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>PCR Gain</i> (PCR-Verstärkung)	<i>Threshold</i> (Schwellenwert)	<i>Ct Min</i> (Ct Min)	<i>Ct Max</i> (Ct Max)
475/520 (FAM)	SARS	80	150	0	40
530/565 (HEX)	FLUB	40	150	0	40
585/630 (ROX)	FLUA	80	150	0	40
630/665 (Cy5)	RSV	80	150	0	40
680/715 (Cy5.5)	EIC	80	150	0	35

Tabelle 5. „PCR settings“ (PCR-Einstellungen) für Snap-In 2.

<i>Channel</i> (Kanal)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>PCR Gain</i> (PCR-Verstärkung)	<i>Threshold</i> (Schwellenwert)	<i>Ct Min</i> (Ct Min)	<i>Ct Max</i> (Ct Max)
475/520 (FAM)	HPIV	60	150	0	40
530/565 (HEX)	HCOV	40	150	0	40
585/630 (ROX)	MPV	80	150	0	40
630/665 (Cy5)	HADV	80	150	0	40
680/715 (Cy5.5)	EIC	80	150	0	35

Tabelle 6. „PCR settings“ (PCR-Einstellungen) für Snap-In 4.

Hinweis: Es empfiehlt sich, die oben für die einzelnen Kanäle aufgelisteten Mindest-Schwellenwerte als Ausgangspunkt einzustellen. Die endgültigen Einstellungen müssen jedoch vom Endanwender bei der Ergebnisinterpretation festgelegt werden, um sicherzugehen, dass die Schwellenwerte in der exponentiellen Phase der Fluoreszenzkurven und über einem etwaigen Hintergrundsignal liegen. Der Schwellenwert für verschiedene Geräte kann aufgrund verschiedener Signalintensitäten variieren.

10) Geben Sie im Feld „Color compensation“ (Farbkompensation) die folgenden (in Tabelle 7 und 8 beschriebenen) Parameter ein:

		<i>False Receiving Channel</i> (Falsch-empfangender Kanal)				
<i>Excitation Channel</i> (Exzitationskanal)	<i>Channel</i> (Kanal)	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
	475/520	–	4	0	0	0
	530/565	1	–	0	0	0
	585/630	0	0	–	1	0
	630/665	0	0	3	–	18
	680/715	0	0	0	1,5	–

Tabelle 7. „Color compensation“ (Farbkompensation) – Parameter für Snap-In 2.

		<i>False Receiving Channel</i> (Falsch-empfangender Kanal)				
<i>Excitation Channel</i> (Exzitationskanal)	<i>Channel</i> (Kanal)	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
	475/520	–	0	0	0	0
	530/565	0	–	0	0	0
	585/630	0	0	–	3	0
	630/665	0	0	5	–	19
	680/715	0	0	0	3	–

Tabelle 8. „Color compensation“ (Farbkompensation) – Parameter für Snap-In 4.

In den Registerkarten „Melt Settings“ (Schmelzkurve-Einstellungen) sind keine Aktionen erforderlich, da es für dieses Produkt nicht relevant ist.

In der Registerkarte „Test Steps“ (Testschritte):

- 11) Geben Sie die Schritt-Bezeichnung (bis zu zwanzig Zeichen) ein und stellen Sie die folgenden Parameter ein, um die einzelnen Schritte des PCR-Protokolls zu definieren: „Profile Type“ (Profiltyp), „Cycles“ (Zyklen), „Time“ (Dauer) und „Temperature“ (Temperatur) und aktivieren Sie das Feld „Detect“ (Detektion), um den Detektionsschritt zu definieren (Tabelle 9). Klicken Sie auf die Schaltfläche „Add“ (Hinzufügen), um einen neuen Schritt hinzuzufügen, und wiederholen Sie dies, bis alle erforderlichen Schritte definiert sind.

Hinweis: Das Feld „Type“ (Typ) muss leer sein.

<i>Step</i> (Schritt)	<i>Step name</i> (Schritt-Bezeichnung)	<i>Profile Type</i> (Profiltyp)	<i>Cycles</i> (Zyklen)	<i>Time (s)</i> (Dauer (s))	<i>Temperature</i> (Temperatur)	<i>Detect</i> (Detektion)
Reverse transcription (Reverse Transkription)	RV-transcription	<i>Hold</i>	1	900	45 °C	–
Initial denaturation (Initiale Denaturierung)	IN-denaturation	<i>Hold</i>	1	120	98 °C	–
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Denaturierung und Hybridisierung/Extension (Datenerfassung))	Annealing/Extension	<i>2- Temperature</i>	45	10	95 °C	–
				61,1	63 °C	✓

Tabelle 9. PCR-Protokoll für Snap-In 2 und Snap-In 4.

In der Registerkarte „Result Logic“ (Ergebnislogik):

- 12) Geben Sie im Feld „Target“ (Ziel) einen Namen für Ihr Ziel ein: z. B. SARS (maximal sieben alphanumerische Zeichen). Wiederholen Sie die Schritte 12–15 für jedes Ziel (d. h. SARS, FLUB, FLUA und RSV für Snap-In 2 oder HPIV, HCOV, MPV und HADV für Snap-In 4) anhand der Tabellen, die für das zu definierende Ziel spezifisch sind.

Hinweis: Wählen Sie in der Dropdown-Liste „Master Mix“ (Mastermix) zunächst Snap-In 2 (grün) aus, um die Ergebnislogik für das erste Reaktionsgemisch festzulegen, und anschließend Snap-In 4 (blau) für das zweite Reaktionsgemisch. Die Namen für die Ziele in Snap-In 2 und Snap-In 4 müssen sich unterscheiden.

- 13) Klicken Sie auf das Kontrollkästchen „Analyze“ (Analysieren), um die gewünschten Wellenlängen (PCR-Kanäle) in die Zielergebnisanalyse einzubeziehen (Tabellen 10–13 für Snap-in 2 und Tabellen 14–17 für Snap-In 4).

Erster Mastermix (*Respiratory Virus Mix I* reaction tube): Snap-In 2 (grün)

<i>Wavelength</i> (Wellenlänge)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Typ)	<i>Analyze</i> (Analysieren)
475/520	SARS	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelle 10. Auswahl der PCR-Kanäle in der Registerkarte „Result logic“ (Ergebnislogik) zum SARS-Ziel (SARS-CoV-2).

<i>Wavelength</i> (Wellenlänge)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Typ)	<i>Analyze</i> (Analysieren)
530/565	FLUB	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelle 11. Auswahl der PCR-Kanäle in der Registerkarte „Result logic“ (Ergebnislogik) zum FLUB-Ziel (Influenza B).

<i>Wavelength</i> (Wellenlänge)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Typ)	<i>Analyze</i> (Analysieren)
585/630	FLUA	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelle 12. Auswahl der PCR-Kanäle in der Registerkarte „Result logic“ (Ergebnislogik) zum FLUA-Ziel (Influenza A).

<i>Wavelength</i> (Wellenlänge)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Typ)	<i>Analyze</i> (Analysieren)
630/665	RSV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelle 13. Auswahl der PCR-Kanäle in der Registerkarte „Result logic“ (Ergebnislogik) zum RSV-Ziel (Respiratorisches Synzytialvirus Typ A und B).

Zweiter Mastermix (*Respiratory Virus Mix II* reaction tube): Snap-In 4 (blau).

<i>Wavelength</i> (Wellenlänge)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Typ)	<i>Analyze</i> (Analysieren)
475/520	HPIV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelle 14. Auswahl der PCR-Kanäle in der Registerkarte „Result logic“ (Ergebnislogik) zum HPIV-Ziel (Parainfluenza Typ 1, 2, 3 und 4).

<i>Wavelength</i> (Wellenlänge)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Typ)	<i>Analyze</i> (Analysieren)
530/565	HCOV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelle 15. Auswahl der PCR-Kanäle in der Registerkarte „Result logic“ (Ergebnislogik) zum HCOV-Ziel (Coronavirus 229E, NL63, HKU1 und OC43).

<i>Wavelength</i> (Wellenlänge)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Typ)	<i>Analyze</i> (Analysieren)
585/630	MPV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelle 16. Auswahl der PCR-Kanäle in der Registerkarte „Result logic“ (Ergebnislogik) zum MPV-Ziel (Metapneumovirus).

<i>Wavelength</i> (Wellenlänge)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Typ)	<i>Analyze</i> (Analysieren)
630/665	HADV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelle 17. Auswahl der PCR-Kanäle in der Registerkarte „Result logic“ (Ergebnislogik) zum HADV-Ziel (Adenovirus).

14) Klicken Sie auf die Schaltfläche „Edit Logic“ (Logik bearbeiten).

15) Im Fenster „Edit Logic“ (Logik bearbeiten) sind alle Kombinationen von Ergebnistypen aufgelistet. Wählen Sie für jede Zeile in der Dropdown-Liste „Result“ (Ergebnis) das Ergebnis aus, das auftritt, wenn die Bedingungen in dieser Zeile erfüllt sind, und orientieren Sie sich dabei an den Tabellen 18–21 für Snap-In 2 und Tabellen 22–25 für Snap-In 4.

Erster Mastermix (*Respiratory Virus Mix* / reaction tube): Snap-In 2 (grün)

<i>Result</i> (Ergebnis)	SARS (475/ 520)	EIC (680/ 715)
POS	Valid (Gültig)	Valid (Gültig)
UNR	Valid (Gültig)	Invalid (Ungültig)
NEG	Invalid (Ungültig)	Valid (Gültig)
UNR	Invalid (Ungültig)	Invalid (Ungültig)

Tabelle 18. Liste der Kombinationen von Ergebnistypen und Ergebnislogik für das SARS-Ziel (SARS-CoV-2). Verfügbare Ergebnisse sind POS (positiv), NEG (negativ) und UNR (unklar).

<i>Result</i> (Ergebnis)	FLUB (530/ 565)	EIC (680/ 715)
POS	Valid (Gültig)	Valid (Gültig)
UNR	Valid (Gültig)	Invalid (Ungültig)
NEG	Invalid (Ungültig)	Valid (Gültig)
UNR	Invalid (Ungültig)	Invalid (Ungültig)

Tabelle 19. Liste der Kombinationen von Ergebnistypen und Ergebnislogik für das FLUB-Ziel (Influenza B). Verfügbare Ergebnisse sind POS (positiv), NEG (negativ) und UNR (unklar).

<i>Result</i> (Ergebnis)	FLUA (585/ 630)	EIC (680/ 715)
POS	Valid (Gültig)	Valid (Gültig)
UNR	Valid (Gültig)	Invalid (Ungültig)
NEG	Invalid (Ungültig)	Valid (Gültig)
UNR	Invalid (Ungültig)	Invalid (Ungültig)

Tabelle 20. Liste der Kombinationen von Ergebnistypen und Ergebnislogik für das FLUA-Ziel (Influenza A). Verfügbare Ergebnisse sind POS (positiv), NEG (negativ) und UNR (unklar).

<i>Result</i> (Ergebnis)	RSV (630/ 665)	EIC (680/ 715)
POS	Valid (Gültig)	Valid (Gültig)
UNR	Valid (Gültig)	Invalid (Ungültig)
NEG	Invalid (Ungültig)	Valid (Gültig)
UNR	Invalid (Ungültig)	Invalid (Ungültig)

Tabelle 21. Liste der Kombinationen von Ergebnistypen und Ergebnislogik für das RSV-Ziel (Respiratorisches Synzytialvirus Typ A und B). Verfügbare Ergebnisse sind POS (positiv), NEG (negativ) und UNR (unklar).

Hinweis: Gemäß dem zuvor definierten Wert Ct Max (Tabelle 5):

- i. Der Ergebnistyp für die Kanäle SARS (475/520), FLUB (530/565), FLUA (585/630) oder RSV (630/665) gilt als „Valid“ (Gültig), wenn der erhaltene Ct-Wert ≤ 40 beträgt, und als „Invalid“ (Ungültig), wenn der erhaltene Ct-Wert > 40 ist.
- ii. Der Ergebnistyp für den Kanal EIC (680/715) gilt als „Valid“ (Gültig), wenn der erhaltene Ct-Wert ≤ 35 beträgt, und als „Invalid“ (Ungültig), wenn der erhaltene Ct-Wert > 35 ist.

Zweiter Mastermix (*Respiratory Virus Mix II* reaction tube): Snap-In 4 (blau).

<i>Result</i> (Ergebnis)	HPIV (475/ 520)	EIC (680/ 715)
POS	Valid (Gültig)	Valid (Gültig)
UNR	Valid (Gültig)	Invalid (Ungültig)
NEG	Invalid (Ungültig)	Valid (Gültig)
UNR	Invalid (Ungültig)	Invalid (Ungültig)

Tabelle 22. Liste der Kombinationen von Ergebnistypen und Ergebnislogik für das HPIV-Ziel (Parainfluenza Typ 1, 2, 3 und 4). Verfügbare Ergebnisse sind POS (positiv), NEG (negativ) und UNR (unklar).

<i>Result</i> (Ergebnis)	HCOV (530/ 565)	EIC (680/ 715)
POS	Valid (Gültig)	Valid (Gültig)
UNR	Valid (Gültig)	Invalid (Ungültig)
NEG	Invalid (Ungültig)	Valid (Gültig)
UNR	Invalid (Ungültig)	Invalid (Ungültig)

Tabelle 23. Liste der Kombinationen von Ergebnistypen und Ergebnislogik für das HCOV-Ziel (Coronavirus 229E, NL63, HKU1 und OC43). Verfügbare Ergebnisse sind POS (positiv), NEG (negativ) und UNR (unklar).

<i>Result</i> (Ergebnis)	MPV (585/ 630)	EIC (680/ 715)
POS	Valid (Gültig)	Valid (Gültig)
UNR	Valid (Gültig)	Invalid (Ungültig)
NEG	Invalid (Ungültig)	Valid (Gültig)
UNR	Invalid (Ungültig)	Invalid (Ungültig)

Tabelle 24. Liste der Kombinationen von Ergebnistypen und Ergebnislogik für das MPV-Ziel (Metapneumovirus). Verfügbare Ergebnisse sind POS (positiv), NEG (negativ) und UNR (unklar).

<i>Result</i> (Ergebnis)	HADV (630/ 665)	EIC (680/ 715)
POS	Valid (Gültig)	Valid (Gültig)
UNR	Valid (Gültig)	Invalid (Ungültig)
NEG	Invalid (Ungültig)	Valid (Gültig)
UNR	Invalid (Ungültig)	Invalid (Ungültig)

Tabelle 25. Liste der Kombinationen von Ergebnistypen und Ergebnislogik für das HADV-Ziel (Adenovirus). Verfügbare Ergebnisse sind POS (positiv), NEG (negativ) und UNR (unklar).

Hinweis: Gemäß dem zuvor definierten Wert Ct Max (Tabelle 6):

- i. Der Ergebnistyp für die Kanäle HPIV (475/520), HCOV (530/565), MPV (585/630) oder HADV (630/665) gilt als „Valid“ (Gültig), wenn der erhaltene Ct-Wert ≤ 40 beträgt, und als „Invalid“ (Ungültig), wenn der erhaltene Ct-Wert > 40 ist.
- ii. Der Ergebnistyp für den Kanal EIC (680/715) gilt als „Valid“ (Gültig), wenn der erhaltene Ct-Wert ≤ 35 beträgt, und als „Invalid“ (Ungültig), wenn der erhaltene Ct-Wert > 35 ist.

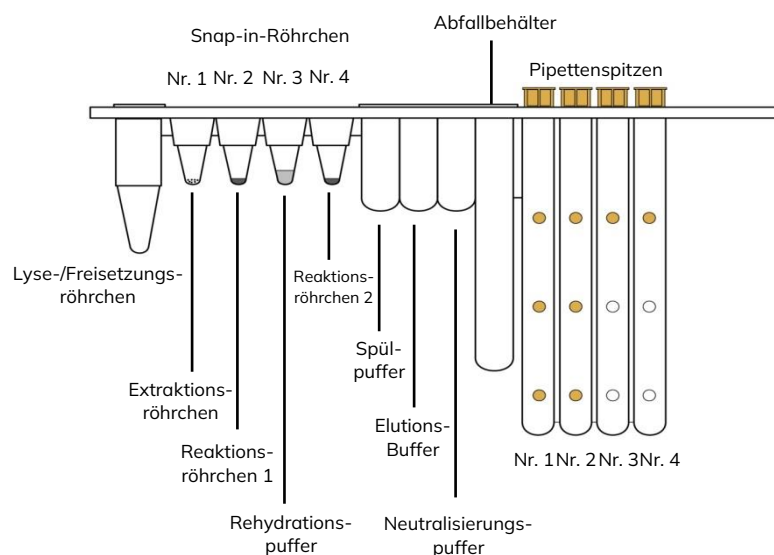
16) Klicken Sie auf die Schaltfläche „Save“ (Speichern), um den Test zu speichern.

8.3.2. Einrichten der BD MAX™ Rack

- 1) Nehmen Sie für jede zu testende Probe einen Unitized Reagent Strip (Einzel-Reagenzstreifen) aus dem BD MAX™ ExK™ TNA-3 Kit. Klopfen Sie jeden Streifen leicht auf eine harte Oberfläche, damit sich alle Flüssigkeiten am Boden der Röhrchen befinden, und laden Sie sie in die Probenracks des BD MAX™ Systems.
- 2) Nehmen Sie die benötigte Anzahl an BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (Extraktionsröhrchen, B4, weiße Folie) aus den Schutzbeuteln. Lassen Sie das bzw. die Extraction Tube(s) – weiße Folie – in ihre entsprechenden Positionen im TNA-Streifen einrasten (Einrastposition 1, weiße Farbkodierung am Rack; siehe Abbildung 1). Entfernen Sie überschüssige Luft, und verschließen Sie den Beutel mit dem Zippverschluss.
- 3) Bestimmen und separieren Sie die erforderliche Anzahl an *Respiratory Virus Mix I* reaction tubes (1K-Folie) und lassen Sie sie in ihre entsprechenden Positionen im Streifen einrasten (Einrastposition 2, grüne Farbkodierung am Rack; siehe Abbildung 1).
 - a. Entfernen Sie überschüssige Luft und verschließen Sie die Aluminiumbeutel mit dem Zippverschluss.
 - b. Stellen Sie zur Durchführung einer korrekten Rehydration bitte sicher, dass sich das lyophilisierte Produkt am Boden des Gefäßes befindet und nicht im oberen Bereich des Gefäßes oder an der Siegelfolie anhaftet. Klopfen Sie jedes Röhrchen leicht auf eine harte Oberfläche, damit sich das gesamte Produkt am Boden des Röhrchens befindet.
- 4) Entnehmen Sie die benötigte Anzahl an Rehydration Buffer tubes (11-Folie), und lassen Sie sie in ihre entsprechenden Positionen im Streifen einrasten (Einrastposition 3, ohne Farbkodierung am Rack; siehe Abbildung 1).
 - a. Entfernen Sie überschüssige Luft und verschließen Sie den Beutel mit dem Zippverschluss.
 - b. Achten Sie für eine korrekte Überführung bitte darauf, dass sich die Flüssigkeit am Boden des Gefäßes befindet und nicht im oberen Bereich des Gefäßes oder an der Siegelfolie anhaftet. Klopfen Sie jedes Röhrchen leicht auf eine harte Oberfläche, damit sich der gesamte Puffer am Boden des Röhrchens befindet.

- 5) Bestimmen und separieren Sie die erforderliche Anzahl an *Respiratory Virus Mix II* reaction tubes (1M-Folie) und lassen Sie sie in ihre entsprechenden Positionen im Streifen einrasten (Einrastposition 4, blaue Farbkodierung am Rack; siehe Abbildung 1).
- Entfernen Sie überschüssige Luft und verschließen Sie die Aluminiumbeutel mit dem Zippverschluss.
 - Stellen Sie zur Durchführung einer korrekten Rehydratation bitte sicher, dass sich das lyophilisierte Produkt am Boden des Gefäßes befindet und nicht im oberen Bereich des Gefäßes oder an der Siegelfolie anhaftet. Klopfen Sie jedes Röhrchen leicht auf eine harte Oberfläche, damit sich das gesamte Produkt am Boden des Röhrchens befindet

Abbildung 1. BD MAX™ TNA Reagent Strip (TNA) aus dem BD MAX™ ExK™ TNA-3 Kit.



8.3.3. Einrichten des BD MAX™

- Wählen Sie im Bildschirm „Run“ (Durchlauf) des Systems BD MAX™ (Software v4.50A oder höher) die Registerkarte „Worklist“ (Arbeitsliste).
- Wählen Sie im Dropdown-Menü „Test“ den gewünschten Test, d. h. VIASURE Resp Virus (falls nicht bereits erstellt, siehe Abschnitt 8.3.1).
- Wählen Sie im Dropdown-Menü „Kit Lot Number“ (Kit-Losnummer) die entsprechende Losnummer zum Kit aus (diese ist der Außenverpackung des verwendeten Extraktions-Kits zu entnehmen) (optional).

Hinweis: Losnummern müssen im Bildschirm „Inventory“ (Bestand) definiert werden, bevor sie an dieser Stelle ausgewählt werden können.

- Geben Sie die Identifikationsnummer des Probenpufferröhrchens im Feld „Sample tube“ (Probenröhrchen) durch Scannen des Barcodes mit dem Scanner oder durch manuelle Eingabe ein.
- Füllen Sie das Feld „Patient ID“ (Patienten-ID) und/oder „Accession“ (Zugangsnummer) aus, und klicken Sie auf die Tabulator- oder die Eingabetaste. Wiederholen Sie das beschriebene Verfahren,

bis alle Sample-Buffer-Tube-(Probenpufferröhrchen-)Strichcodes erfasst sind. Vergewissern Sie sich, dass die „Specimen/patient ID“ (Proben/Patienten-ID) und die „Sample Buffer Tubes“ (Probenpufferröhrchen) genau zugehörig sind.

- 6) Setzen Sie das/die vorbereitete(n) Sample-Buffer-Tube-Probenpufferröhrchen in das/die BD MAX™-Rack(s) ein.
- 7) Laden Sie das/die Rack(s) in das BD MAX™ System (Rack A befindet sich auf der linken Seite des BD MAX™ Systems und Rack B auf der rechten Seite).
- 8) Setzen Sie die erforderliche Anzahl an BD MAX™ PCR Cartridge(s) in das BD MAX™ System ein.
- 9) Schließen Sie die Tür des BD MAX™ Systems.
- 10) Klicken Sie auf „Start“ (Starten), um den Vorgang zu starten.

8.3.4. BD MAX™-Ergebnisbericht

- 1) Klicken Sie in der Menüleiste auf die Schaltfläche „Results“ (Ergebnisse).
- 2) Doppelklicken Sie auf Ihren Durchlauf in der Liste oder betätigen Sie die Schaltfläche „View“ (Ansicht).
- 3) Die Schaltflächen „Print“ (Drucken) und „Export“ (Exportieren) am unteren Rand des Bildschirms werden aktiviert.

Zum Drucken der Ergebnisse:

1. Klicken Sie auf „Print“ (Drucken).
2. Wählen Sie in der Druckvorschau des Durchlaufberichts die Optionen: „Run Details“ (Durchlaufdetails), „Test Details“ (Testdetails) und „Plots“ (Graphiken).
3. Klicken Sie auf „Print“ (Drucken), um den Bericht zu drucken, oder klicken Sie auf „Export“ (Exportieren), um eine PDF-Datei des Berichts auf einen USB-Stick zu exportieren.

Zum Exportieren der Ergebnisse:

1. Klicken Sie auf die Schaltfläche „Export“ (Exportieren), um den Bericht (PDF- und CSV-Datei) auf einen USB-Stick zu übertragen.
2. Nach Abschluss des Exports wird im Fenster „Results Export“ (Ergebnisse Export) ein Symbol für Erfolg/Misserfolg angezeigt.

9. Ergebnisinterpretation

Nähere Angaben zur Auswertung von Daten erhalten Sie im Benutzerhandbuch des BD MAX™ Systems.

Die Datenanalyse durch die BD MAX™ Software erfolgt entsprechend den Herstelleranweisungen. Die BD MAX™ Software gibt die Ct-Werte und Amplifikationskurven für jeden Detektionskanal aller getesteten Proben auf folgende Weise an:

- Ein Ct-Wert von 0 gibt an, dass kein Ct-Wert mit dem spezifizierten Schwellenwert von der Software berechnet wurde (siehe Tabelle 5). Eine Amplifikationskurve einer Probe mit einem Ct-Wert von „0“ muss manuell geprüft werden.
- Ein Ct-Wert von -1 zeigt an, dass kein Amplifikationsprozess stattgefunden hat, dass kein Ct-Wert von der Software berechnet worden ist oder dass der berechnete Ct-Wert unter dem festgelegten Schwellenwert oder über dem festgelegten Ct-Max-Wert (Cutoff) liegt.
- Jeder andere Ct-Wert ist in Übereinstimmung mit der Amplifikationskurve und entsprechend der definierten Ergebnislogik in Einklang mit den Leitlinien für die Probenauswertung in Tabelle 26 und 27 auszuwerten.

Überprüfen Sie das Signal der endogenen internen Kontrolle, um die korrekte Funktionsweise der Amplifikationsmischung sicherzustellen. Überprüfen Sie zusätzlich, dass keine Störungsmeldung zum BD MAX™ System vorliegt.

Die Ergebnisse sind anhand folgender Tabellen abzulesen und auszuwerten:

Erster Mastermix (<i>Respiratory Virus Mix</i> / reaction tube): Snap-In 2				
SARS-CoV-2 (Name des Ziels: SARS)	Influenza B (Name des Ziels: FLUB)	Influenza A (Name des Ziels: FLUA)	Respiratorisches Synzytialvirus (Name des Ziels: RSV)	Interpretation bei Patienteneinzelpuben
POS	POS	POS	POS	SARS-CoV-2-, Influenza-B-, Influenza-A und RSV-RNA nachgewiesen
POS	POS	POS	NEG	SARS-CoV-2-, Influenza-B- und Influenza-A-RNA nachgewiesen, RSV-RNA nicht nachgewiesen
POS	POS	NEG	POS	SARS-CoV-2-, Influenza-B- und RSV-RNA nachgewiesen, Influenza-A-RNA nicht nachgewiesen
POS	NEG	POS	POS	SARS-CoV-2-, Influenza-A und RSV-RNA nachgewiesen, Influenza-B-RNA nicht nachgewiesen
NEG	POS	POS	POS	Influenza-B-, Influenza-A- und RSV-RNA nachgewiesen, SARS-CoV-2-RNA nicht nachgewiesen
POS	POS	NEG	NEG	SARS-CoV-2- und Influenza-B-RNA nachgewiesen, Influenza-A- und RSV-RNA nicht nachgewiesen
POS	NEG	POS	NEG	SARS-CoV-2- und Influenza-A-RNA nachgewiesen, Influenza-B- und RSV-RNA nicht nachgewiesen
POS	NEG	NEG	POS	SARS-CoV-2- und RSV-RNA nachgewiesen, Influenza-B- und Influenza-A-RNA nicht nachgewiesen

NEG	POS	POS	NEG	Influenza-B- und Influenza-A-RNA nachgewiesen, SARS-CoV-2- und RSV-RNA nicht nachgewiesen
NEG	POS	NEG	POS	Influenza-B- und RSV-RNA nachgewiesen, SARS-CoV-2- und Influenza-A-RNA nicht nachgewiesen
NEG	NEG	POS	POS	Influenza-A- und RSV-RNA nachgewiesen, SARS-CoV-2- und Influenza-B-RNA nicht nachgewiesen
POS	NEG	NEG	NEG	SARS-CoV-2-RNA nachgewiesen, Influenza-B-, Influenza-A- und RSV-RNA nicht nachgewiesen
NEG	POS	NEG	NEG	Influenza-B-RNA nachgewiesen, SARS-CoV-2-, Influenza-A- und RSV-RNA nicht nachgewiesen
NEG	NEG	POS	NEG	Influenza-A-RNA nachgewiesen, SARS-CoV-2-, Influenza-B- und RSV-RNA nicht nachgewiesen
NEG	NEG	NEG	POS	RSV-RNA nachgewiesen, SARS-CoV-2-, Influenza-B- und Influenza-A-RNA nicht nachgewiesen
NEG	NEG	NEG	NEG	Ziel-RNA nicht nachgewiesen
UNR	UNR	UNR	UNR	Unresolved (UNR): Ungelöstes Testergebnis aufgrund der Gegenwart von Hemmsubstanzen in der PCR-Reaktion oder eines allgemeinen (nicht durch einen Fehlercode angezeigten) Problems bei der Probenverarbeitung und/oder den Amplifikationsschritten. ¹
IND	IND	IND	IND	Indeterminate assay result (IND). Nicht bestimmtes Testergebnis. Aufgrund einer Störung im BD MAX™ System. Das Testergebnis wird im Falle eines mit einem Fehlercode verbundenen Gerätefehlers angezeigt. ²
INC	INC	INC	INC	Incomplete assay result (INC). Unvollständiges Testergebnis. Aufgrund einer Störung im BD MAX™ System. Das Testergebnis wird im Falle eines nicht vollständig durchgeführten Durchlaufs angezeigt. ²

Tabelle 26. Probenauswertung.

1 Die endogene interne Kontrolle (EIC) muss ein Amplifikationssignal mit einem Ct-Wert ≤ 35 aufweisen, um berücksichtigt zu werden. Wenn zu EIC kein Signal vorhanden ist oder der Ct-Wert > 35 beträgt, gilt das Ergebnis als Unresolved (UNR, unklar), und der Test muss wiederholt werden. Überprüfen Sie den Ergebnisbericht und die Ct-Werte der ausgewählten Zielsequenzen, und ergreifen Sie geeignete Maßnahmen unter Berücksichtigung der folgenden Punkte:

- I. Wenn die Ergebnisse für die Zielgene ungültig sind (Ct > 40 , was durch die Software mit dem Ergebnis „-1“ dargestellt wird), muss der Test aus der Primärprobe erneut durchgeführt werden, wozu das Sample Buffer Tube (SBT,

Probenpufferröhrchen) neu vorzubereiten ist, sofern genügend Probenvolumen vorhanden ist. Befolgen Sie die Laborrichtlinien und/oder die Handbücher mit den Laborrichtlinien für die Mikrobiologie.

- II. Wenn die Ergebnisse für die Zielgene gültig sind ($Ct \leq 40$), ist es möglich, dass aufgrund einer präferenziellen Amplifikation der Zielgen-spezifischen Nukleinsäuren keine Amplifikation oder eine Amplifikation aus der EIC mit einem Ct-Wert > 35 (was durch die Software mit dem Ergebnis „-1“ dargestellt wird) beim Testen hochkonzentrierter Proben zu sehen ist. Falls dies für notwendig erachtet wird, verdünnen Sie diese Proben im Verhältnis 1:10, bereiten Sie das Probenpufferröhrchen (SBT) erneut vor, und wiederholen Sie den Test. Befolgen Sie die Laborrichtlinien und/oder die Handbücher mit den Laborrichtlinien für die Mikrobiologie.

HINWEIS: Nasopharyngeale Abstriche können ohne Überführung in das SBT bis zu 2 Tage bei 25 °C bzw. bis zu 7 Tage bei 4 °C aufbewahrt werden.

2 Infolge eines Systemausfalls können indeterminierte (IND) oder unvollständige (INC) Ergebnisse erzielt werden, woraufhin dann eine erneute Testung erforderlich ist. Informationen zur Interpretation von Warn- und Fehlercodes finden Sie im Benutzerhandbuch zum BD MAX™ System.

Zweiter Mastermix (<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube): Snap-In 4				
Parainfluenza (Name des Ziels: HPIV)	Coronavirus (Name des Ziels: HCOV)	Metapneumovirus (Name des Ziels: MPV)	Adenovirus (Name des Ziels: HADV)	Interpretation bei Patienteneinzelproben
POS	POS	POS	POS	Parainfluenza-, Coronavirus-, Metapneumovirus- und Adenovirus-RNA/-DNA nachgewiesen
POS	POS	POS	NEG	Parainfluenza-, Coronavirus- und Metapneumovirus-RNA nachgewiesen, Adenovirus-DNA nicht nachgewiesen
POS	POS	NEG	POS	Parainfluenza-, Coronavirus- und Adenovirus-RNA/-DNA nachgewiesen, Metapneumovirus-RNA nicht nachgewiesen
POS	NEG	POS	POS	Parainfluenza-, Metapneumovirus- und Adenovirus-RNA/-DNA nachgewiesen, Coronavirus-RNA nicht nachgewiesen
NEG	POS	POS	POS	Coronavirus-, Metapneumovirus- und Adenovirus-RNA/-DNA nachgewiesen, Parainfluenza-RNA nicht nachgewiesen
POS	POS	NEG	NEG	Parainfluenza- und Coronavirus-RNA nachgewiesen, Metapneumovirus- und Adenovirus-RNA/-DNA nicht nachgewiesen
POS	NEG	POS	NEG	Parainfluenza- und Metapneumovirus-RNA nachgewiesen, Coronavirus- und Adenovirus-RNA/-DNA nicht nachgewiesen
POS	NEG	NEG	POS	Parainfluenza- und Adenovirus-RNA/-DNA nachgewiesen, Coronavirus- und Metapneumovirus-RNA nicht nachgewiesen

NEG	POS	POS	NEG	Coronavirus- und Metapneumovirus-RNA nachgewiesen, Parainfluenza- und Adenovirus-RNA/-DNA nicht nachgewiesen
NEG	POS	NEG	POS	Coronavirus- und Adenovirus-RNA/-DNA nachgewiesen, Parainfluenza- und Metapneumovirus-RNA nicht nachgewiesen
NEG	NEG	POS	POS	Metapneumovirus- und Adenovirus-RNA/-DNA nachgewiesen, Parainfluenza- und Coronavirus-RNA nicht nachgewiesen
POS	NEG	NEG	NEG	Parainfluenza-RNA nachgewiesen, Coronavirus-, Metapneumovirus- und Adenovirus-RNA/DNA nicht nachgewiesen
NEG	POS	NEG	NEG	Coronavirus-RNA nachgewiesen, Parainfluenza-, Metapneumovirus- und Adenovirus-RNA/-DNA nicht nachgewiesen
NEG	NEG	POS	NEG	Metapneumovirus-RNA nachgewiesen, Parainfluenza-, Coronavirus- und Adenovirus-RNA/-DNA nicht nachgewiesen
NEG	NEG	NEG	POS	Adenovirus-DNA nachgewiesen, Parainfluenza-, Coronavirus- und Metapneumovirus-RNA nicht nachgewiesen
NEG	NEG	NEG	NEG	Ziel-RNA nicht nachgewiesen
UNR	UNR	UNR	UNR	Unresolved (UNR): Ungelöstes Testergebnis aufgrund der Gegenwart von Hemmsubstanzen in der PCR-Reaktion oder eines allgemeinen (nicht durch einen Fehlercode angezeigten) Problems bei der Probenverarbeitung und/oder den Amplifikationsschritten. ¹
IND	IND	IND	IND	Indeterminate assay result (IND). Nicht bestimmbares Testergebnis. Aufgrund einer Störung im BD MAX™ System. Das Testergebnis wird im Falle eines mit einem Fehlercode verbundenen Gerätefehlers angezeigt. ²
INC	INC	INC	INC	Incomplete assay result (INC). Unvollständiges Testergebnis. Aufgrund einer Störung im BD MAX™ System. Das Testergebnis wird im Falle eines nicht vollständig durchgeführten Durchlaufs angezeigt. ²

Tabelle 27. Probenauswertung.

1 Die endogene interne Kontrolle (EIC) muss ein Amplifikationssignal mit einem Ct-Wert ≤ 35 aufweisen, um berücksichtigt zu werden. Wenn zu EIC kein Signal vorhanden ist oder der Ct-Wert > 35 beträgt, gilt das Ergebnis als Unresolved (UNR, unklar), und der Test muss wiederholt werden. Überprüfen Sie den Ergebnisbericht und die Ct-Werte der ausgewählten Zielsequenzen, und ergreifen Sie geeignete Maßnahmen unter Berücksichtigung der folgenden Punkte:

- I. Wenn die Ergebnisse für die Zielgene ungültig sind (Ct > 40 , was durch die Software mit dem Ergebnis „-1“ dargestellt wird), muss der Test aus der Primärprobe erneut durchgeführt werden, wozu das Sample Buffer Tube (SBT,

Probenpufferröhrchen) neu vorzubereiten ist, sofern genügend Probenvolumen vorhanden ist. Befolgen Sie die Laborrichtlinien und/oder die Handbücher mit den Laborrichtlinien für die Mikrobiologie.

- II. Wenn die Ergebnisse für die Zielgene gültig sind ($Ct \leq 40$), ist es möglich, dass aufgrund einer präferenziellen Amplifikation der Zielgen-spezifischen Nukleinsäuren keine Amplifikation oder eine Amplifikation aus der EIC mit einem Ct-Wert > 35 (was durch die Software mit dem Ergebnis „-1“ dargestellt wird) beim Testen hochkonzentrierter Proben zu sehen ist. Falls dies für notwendig erachtet wird, verdünnen Sie diese Proben im Verhältnis 1:10, bereiten Sie das Probenpufferröhrchen (SBT) erneut vor, und wiederholen Sie den Test. Befolgen Sie die Laborrichtlinien und/oder die Handbücher mit den Laborrichtlinien für die Mikrobiologie.

HINWEIS: Nasopharyngeale Abstriche können ohne Überführung in das SBT bis zu 2 Tage bei 25 °C bzw. bis zu 7 Tage bei 4 °C aufbewahrt werden.

2 Infolge eines Systemausfalls können indeterminierte (IND) oder unvollständige (INC) Ergebnisse erzielt werden, woraufhin dann eine erneute Testung erforderlich ist. Informationen zur Interpretation von Warn- und Fehlercodes finden Sie im Benutzerhandbuch zum BD MAX™ System.

Hinweis: Bei Verwendung externer Kontrollen sollten diese die folgenden erwarteten Ergebnisse liefern: negativ für ENC und positiv für EPC (es wird erwartet, dass bekannte positive Proben nur für den/die in der Probe vorhandenen Mikroorganismus/Mikroorganismen positiv sind). Eine ENC, die ein positives Testergebnis liefert, deutet auf ein Kontaminationsereignis oder einen Fehler bei der Handhabung der Probe hin. Eine EPC, die ein negatives Ergebnis liefert, deutet auf ein Problem bei der Handhabung/Vorbereitung der Probe hin. Überprüfen Sie die Technik zur Handhabung/Vorbereitung der Proben. Wenn es zu einem Ausfall einer externen Kontrolle kommt, ist eine erneute Testung erforderlich.

Im Falle eines weiterhin zweifelhaften Ergebnisses wird empfohlen, die Gebrauchsanweisung und das vom Benutzer verwendete Extraktionsverfahren zu prüfen, die ordnungsgemäße Ausführung aller PCR-Schritte sowie die Korrektheit der Parameter zu verifizieren und die Sigmoidität der Kurvenform und die Intensität der Fluoreszenz zu kontrollieren.

Das Testergebnis muss vor dem Hintergrund der Anamnese, der klinischen Symptome und anderer diagnostischer Tests von einem Arzt/einer medizinischen Fachkraft bewertet werden.

10. Grenzen des Tests

- Das Testergebnis muss vor dem Hintergrund der Anamnese, der klinischen Symptome und anderer diagnostischer Tests von einem Arzt/einer medizinischen Fachkraft bewertet werden.
- Dieser Assay kann zwar mit verschiedenen Arten von Proben durchgeführt werden, jedoch wurde er bisher nur für nasopharyngeale Abstriche validiert.
- Um einen optimalen Ablauf des Tests zu gewährleisten, sollte sich das lyophilisierte Produkt am Boden des Röhrchens befinden und nicht im oberen Bereich des Röhrchens oder an der Verschlussfolie haften. Klopfen Sie jedes Röhrchen leicht auf eine harte Oberfläche, damit sich das gesamte Produkt am Boden des Röhrchens befindet.

- Die Qualität des Tests hängt von der Qualität der Probe ab; die Nukleinsäure muss auf geeignete Weise aus den klinischen Proben extrahiert werden.
- Bei diesem Test handelt es sich um einen qualitativen Test, der weder quantitative Werte liefert noch die Anzahl vorliegender Keime angibt. Es ist nicht möglich, die durch PCR erhaltenen Ct-Werte mit der Konzentration der Probe zu korrelieren, da sie von dem verwendeten Thermocycler und dem Durchlauf selbst abhängen.
- Unter Umständen können extrem niedrige, unterhalb der Nachweisgrenze liegende Kopienzahlen der Zielsequenz nachgewiesen werden, wobei die Ergebnisse eventuell nicht reproduzierbar sind.
- Bitte beachten Sie den vorgesehenen Messbereich des Tests, da Proben mit Konzentrationen oberhalb oder unterhalb dieses Bereichs zu falschen Ergebnissen führen können.
- Es besteht die Möglichkeit von falsch positiven Ergebnissen aufgrund einer Kreuzkontamination durch Proben mit SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (Typ A und B), Parainfluenza (Typ 1, 2, 3 und 4), humanem Coronavirus (229E, NL63, HKU1 und OC43), Metapneumovirus und Adenovirus, die hohe Konzentrationen der Ziel-RNA/DNA enthalten, oder durch Kontamination, die durch PCR-Produkte früherer Reaktionen verursacht wird.
- Die spezifischen Primer-Sonden-Kombinationen zum Nachweis der Gene *N* und *ORF1ab* von SARS-CoV-2, des *M*-Gens (Matrixprotein 1 (M1)) von Influenza A/B, des *HA*-Gens von Influenza A Subtyp H1N1, des *N*-Gens von RSV (Typ A und B), des *HN*-Gens von Parainfluenza (Typ 1, 2 und 3), des *F*-Gens von Parainfluenza (Typ 4), des *N*-Gens von Coronavirus (229E, NL63, HKU1 und OC43), des *F*-Gens von Metapneumovirus und des *Hexon*-Gens von Adenovirus, die im VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System verwendet werden, weisen keine signifikanten kombinierten Homologien mit dem menschlichen Genom, der menschlichen Mikroflora oder anderen Atemwegskeimen auf, die zu vorhersehbaren falsch-positiven Ergebnissen führen könnten.
- Falsch negative Resultate können sich durch verschiedene Faktoren (auch in Kombinationen) wie die folgenden ergeben:
 - unsachgemäße Methoden der Entnahme, des Transports, der Lagerung und/oder der Handhabung von Proben;
 - unsachgemäße Verfahren der Verarbeitung (einschließlich RNA-/DNA-Extraktion);
 - Abbau der RNA/DNA während des Transports/der Lagerung und/oder der Verarbeitung von Proben;
 - Mutationen oder Polymorphismen in Primer- oder Sondenbindungsregionen können den Nachweis neuer oder unbekannter Stämme von SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (Typ A und B), Parainfluenza (Typ 1, 2, 3 und 4), humanem Coronavirus (229E, NL63, HKU1 und OC43), Metapneumovirus und/oder Adenovirus beeinträchtigen.
 - eine Viruslast in der Probe, die unter der Nachweisgrenze des Assays liegt;
 - das Vorliegen von RT-qPCR-Inhibitoren oder anderer Arten von Störsubstanzen. Der Einfluss von Impfstoffen, bestimmten antiviralen Therapeutika, Antibiotika, Chemotherapeutika,

Immunsuppressiva oder auch Antimykotika, die zur Prävention der Infektion oder zur Behandlung eines solchen eingesetzt werden, wurde nicht untersucht.

- Die Wirkung von Störsubstanzen wurde nur für die in Abschnitt 12.7.1 (Untersuchung von Störsubstanzen) der vorliegenden Gebrauchsanweisung genannten Substanzen beurteilt. Störungen wurden beim Testen von Fluticason (1,26E-06 mg/ml) und Nikotin (3,00E-02 mg/ml) sowohl im *Respiratory Virus Mix I* reaction tube als auch im *Respiratory Virus Mix II* reaction tube festgestellt. In diesem Abschnitt finden Sie die häufigsten endogenen und exogenen Substanzen, die zu einer vollständigen oder partielle Störung der RT-qPCR-Reaktion führen. Andere, nicht in diesem Abschnitt genannte Substanzen könnten falsche Ergebnisse hervorrufen.
- Nichtbefolgen der Gebrauchsanweisung und des Assay-Protokolls.
- Ein positives Testergebnis zeigt nicht unbedingt an, dass lebensfähige Viren vorliegen oder dass diese Viren infektiös oder der Auslöser klinischer Symptome sind. Ein positives Ergebnis weist jedoch auf die Anwesenheit viraler Zielsequenzen hin.
- Negative Ergebnisse schließen das Vorliegen von SARS-CoV-2-, Influenza-A-, Influenza-B-, RSV- (Typ A und B), Parainfluenza- (Typ 1, 2, 3 und 4), humaner Coronavirus- (229E, NL63, HKU1 und OC43), Metapneumovirus- und/oder Adenovirus-RNA/-DNA in einer klinischen Probe nicht aus und sollten nicht als alleinige Grundlage für die Einleitung einer Behandlung oder andere Entscheidungen im Zusammenhang mit der Patientenversorgung herangezogen werden. Die optimalen Probentypen und das Zeitfenster für das Auftreten von Spitzenviruswerten bei Infektionen durch diese Mikroorganismen wurden nicht ermittelt. Zum Nachweis des Erregers kann die Entnahme mehrerer Proben (unterschiedlich nach Art und Zeitpunkt) desselben Patienten erforderlich sein.
- Es ist möglich, dass der Nachweis einiger aus dem Jahr 2019 zirkulierender Stämme der Victoria-Linie von Influenza B aufgrund von Punktmutationen in diesen neuen Stämmen beeinträchtigt sein könnte. Die Inklusivität für Influenza B wurde nur für Varianten mit den Mutationen C54T, C55T und C120T getestet (Referenzsequenz NC002210.1).
- Wenn diagnostische Tests auf andere Atemwegserkrankungen negativ sind und klinische Beobachtungen, die Anamnese des Patienten und epidemiologische Informationen nahelegen, dass eine Infektion mit SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (Typ A und B), Parainfluenza (Typ 1, 2, 3 und 4), humanem Coronavirus (229E, NL63, HKU1 und OC43), Metapneumovirus und/oder Adenovirus möglich ist, sollte ein falsch negatives Ergebnis in Betracht gezogen und ein erneuter Test des Patienten besprochen werden.
- Die Fluoreszenzwerte können aufgrund verschiedener Faktoren variieren, wie z. B.: PCR-Gerät (auch bei gleichem Modell), Extraktionssystem, Art der Probe, vorherige Behandlung der Probe usw.
- Das Gerät enthält Primer und Sonden für den spezifischen Nachweis des Stammes Influenza A H1N1pdm09. Ein pandemischer Influenzastamm kann nicht ausgeschlossen werden, und im Falle eines positiven Influenza-Ergebnisses sollten zusätzliche Tests in Betracht gezogen werden.

- Positive und negative Vorhersagewerte sind bei allen in-vitro-Diagnostiktests stark von der Prävalenz abhängig. Die Leistung des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System kann je nach Prävalenz und untersuchter Population variieren.
- Im Fall von unklaren, nicht bestimmbar oder unvollständigen Ergebnissen bei Verwendung des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System ist eine Testwiederholung erforderlich. Unklare Ergebnisse (UNR) können durch Hemmsubstanzen in der Probe oder eine nicht korrekte Rehydratation des lyophilisierten Reaktionsmix-Gefäßes entstehen. Nicht bestimmbar oder unvollständige Ergebnisse sind auf eine Geräte störung zurückzuführen.

11. Qualitätskontrolle

Das VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System enthält in jedem Reaktionsgefäß eine endogene interne Kontrolle (EIC), mit der die korrekte Funktionsweise des Tests bestätigt wird. Darüber hinaus lässt sich die Assay-Leistung anhand von externen Kontrollen (EPC und ENC) bestätigen. Externe Kontrollen werden vom BD MAX™ System nicht zur Ergebnisauswertung verwendet, sondern als Proben betrachtet. Die externe Positivkontrolle (EPC) dient zur Überwachung eines möglichen Ausfalls der Testreagenzien, während die externe Negativkontrolle (ENC) zum Nachweis einer Kontamination der Umgebung oder der Reagenzien durch Ziel-Nukleinsäuren vorgesehen ist.

12. Analytische Leistungsmerkmale

12.1. Analytische Linearität

Die Linearität des Assays wurde durch Testung einer Reihe von zehnfachen Verdünnungen von nasopharyngealen Abstrichproben mit einer bekannten Konzentration an spezifischer und synthetischer SARS-CoV-2-, Influenza-A-Virus-, Influenza-B-Virus-, humaner respiratorischer Synzytialvirus-, Parainfluenza-Virus-, Coronavirus-, Metapneumovirus- und Adenovirus-RNA/DNA (im Bereich von 2×10^7 bis 2×10^0 Kopien pro μl) bestimmt und bestätigt. Nachfolgend finden Sie ein Beispiel für die Amplifikationskurven, die sich aus einem Assay ergeben:

Abbildung 2. Verdünnungsreihe eines SARS-CoV-2-Templates (2×10^7 bis 2×10^0 Kopien/ μl) analysiert auf dem BD MAX™ System (Kanal 475/520 (FAM)).

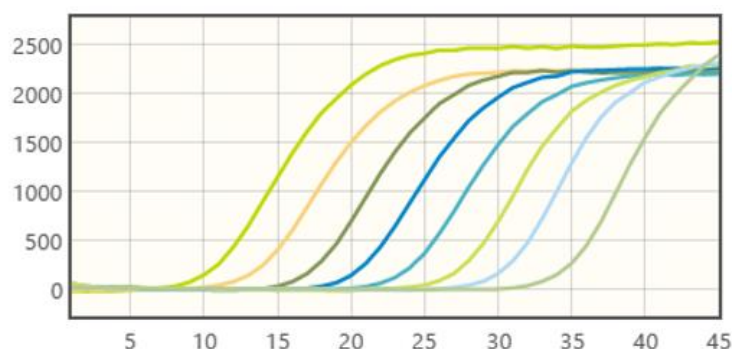


Abbildung 3. Verdünnungsreihe eines Influenza-B-Templates ($2E+07$ bis $2E+00$ Kopien/ μ l), analysiert auf dem BD MAX™ System (Kanal 530/565 (HEX)).

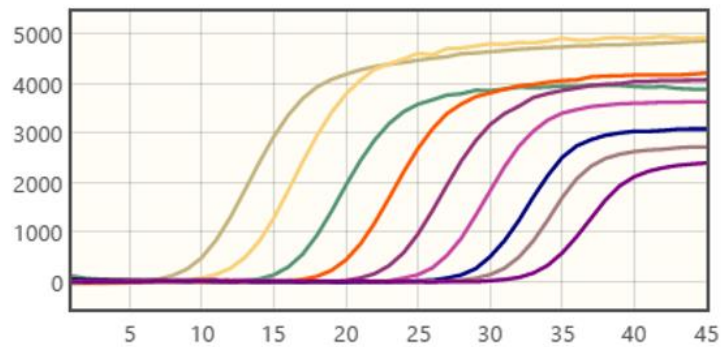


Abbildung 4. Verdünnungsreihe eines Influenza-A-Templates ($2E+07$ bis $2E+00$ Kopien/ μ l), analysiert auf dem BD MAX™ System (Kanal 585/630 (ROX)).

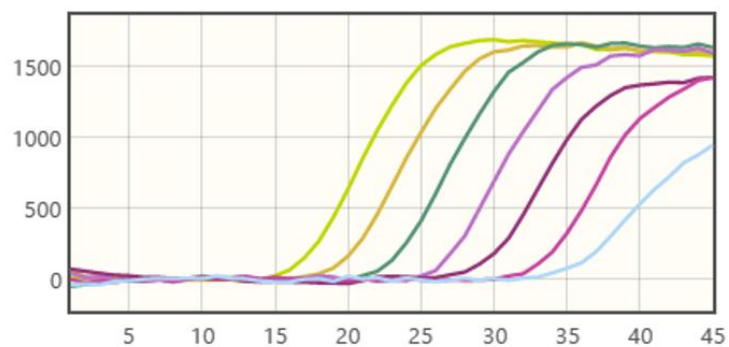


Abbildung 5. Verdünnungsreihe eines RSV-Templates ($2E+07$ bis $2E+00$ Kopien/ μ l), analysiert auf dem BD MAX™ System (Kanal 630/665 (Cy5)).

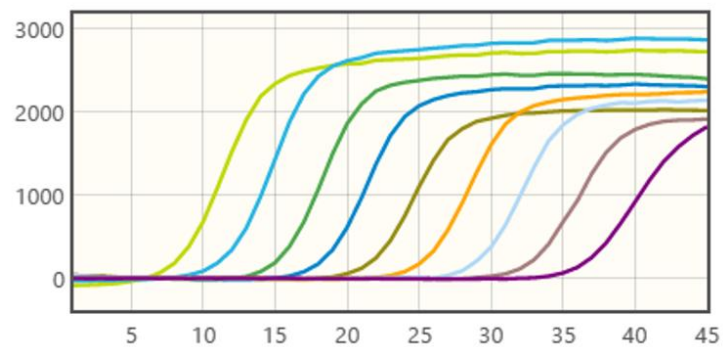


Abbildung 6. Verdünnungsreihe eines Parainfluenza-Templates ($2E+07$ bis $2E+00$ Kopien/ μ l), analysiert auf dem BD MAX™ System (Kanal 475/520 (FAM)).

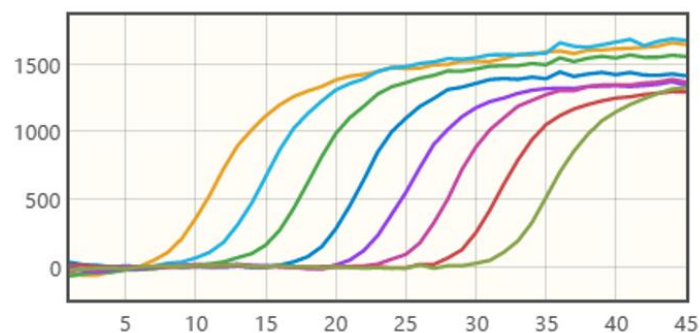


Abbildung 7. Verdünnungsreihe eines Coronavirus-Templates ($2E+07$ bis $2E+00$ Kopien/ μ l), analysiert auf dem BD MAX™ System (Kanal 530/565 (HEX)).

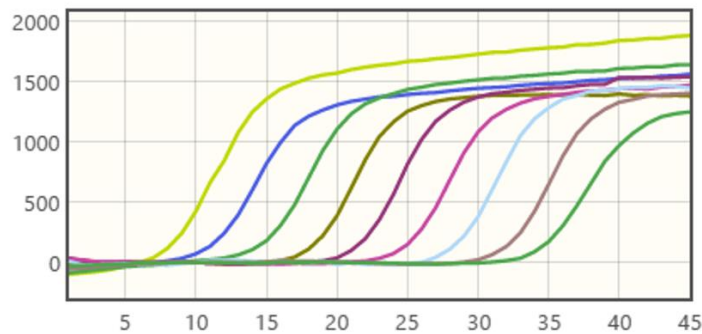


Abbildung 8. Verdünnungsreihe eines Metapneumovirus-Templates ($2E+07$ bis $2E+00$ Kopien/ μ l), analysiert auf dem BD MAX™ System (Kanal 585/630 (ROX)).

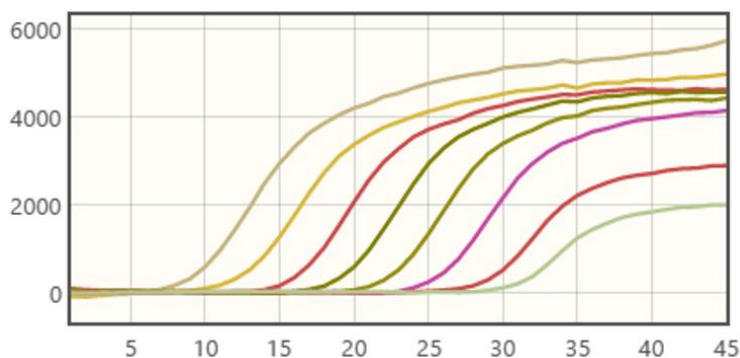
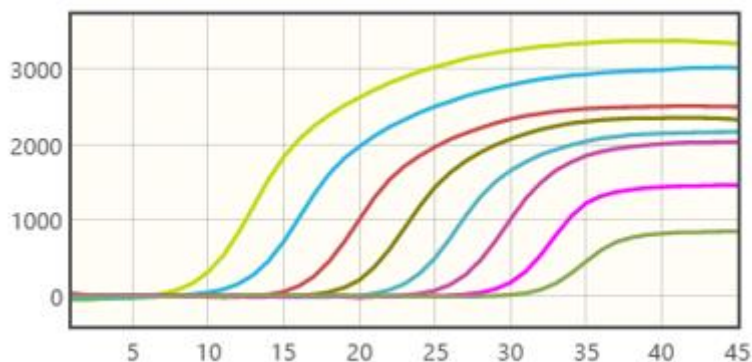


Abbildung 9. Verdünnungsreihe eines Adenovirus-Templates ($2E+07$ bis $2E+00$ Kopien/ μ l), analysiert auf dem BD MAX™ System (Kanal 630/665 (Cy5)).



12.2. Analytische Sensitivität Nachweisgrenze (LoD)

Die analytische Sensitivität oder die Nachweisgrenze (LoD) des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System wurde anhand dreier Chargen von negativen nasopharyngealen Proben analysiert, die im BD™ Universal Viral Transport System entnommen und mit Referenzstämmen oder synthetischer RNA aus folgender Tabelle dotiert wurden:

Virus	Stamm/Synthetische RNA	Externe referenz
SARS-CoV-2	Hitzeinaktiviertes SARS-CoV-2 Stamm 2019-n-CoV/USA-WA1/2020	VR-1986HK
Influenza A	Influenza-A-Virus (H1N1) Stamm A/PR/8/34	VR-95PQ
Influenza B	Influenza-B-Virus (Yamagata-Linie) Stamm B/Florida/4/2006	VR-1804PQ
RSV A	Humanes respiratorisches Synzytialvirus Typ A, Stamm Long	VR-26PQ
RSV B	Humanes respiratorisches Synzytialvirus Typ B Stamm 9320	FR-293
Parainfluenza virus typ 1	Humanes Parainfluenza-Virus Typ 1 Stamm C35	VR-94
Parainfluenza virus typ 2	Humanes Parainfluenza-Virus Typ 2 Stamm Greer	VR-92
Parainfluenza virus typ 3	Humanes Parainfluenza-Virus Typ 3 Stamm C 243	VR-93
Parainfluenza virus typ 4	Humanes Parainfluenza-Virus Typ 4b Stamm CH 19503	VR-1377
Coronavirus OC43	Betacoronavirus 1	VR-1558
Coronavirus 229E	Humanes Coronavirus 229E	VR-740
Coronavirus NL63	Humanes Coronavirus, Stamm NL63	FR-304
Coronavirus HKU1	Quantitative synthetische RNA des humanen Coronavirus HKU1	ATCC-VR3262SD
Metapneumovirus	Humanes Metapneumovirus 8 (hMPV-8) Typ-B2-Kulturflüssigkeit (hitzeinaktiviert)	0810159CF
Adenovirus	Humanes Adenovirus Typ 1 Stamm Adenoid 71	VR-1

Tabelle 28. Referenzstämme und synthetische RNA, die für die Leistungsbewertung (LoD-Assay) des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System verwendet wurden.

Außerdem wurde im Fall des SARS-CoV-2-Ziels die LoD (IE/μl) unter Verwendung von 1st WHO International Standard SARS-CoV-2 RNA (NIBSC-Code 20/146) analysiert. Die für das VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System erzielten LoD-Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt:

Nasopharyngealer Abstrich			
<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube			
SARS	FLUA	FLUB	RSV
4,5E+00 IE/μl	6,7E-01 Kopien/μl	7,29E+00 Kopien/μl	1,35E+00 Kopien/μl RSV A 2,52E+01 TCID50/ml RSV B
<i>Respiratory virus Mix II</i> reaction tube			
HPIV	HCOV	MPV	HADV
5,33E+00 TCID50/ml HPIV 1 4,80E+00 TCID50/ml HPIV 2 9,00E+02 TCID50/ml HPIV 3 1,44E+01 TCID50/ml HPIV 4	4,80E-02 TCID50/ml HCOV OC43 1,60E-01 TCID50/ml HCOV 229E 4,80E-03 TCID50/ml HCOV NL63 6,00E+00 Kopien/μl HCOV HKU1	5,10E-02 TCID50/ml	6,00E+00 TCID50/ml

Tabelle 29. Ergebnisse zur Nachweisgrenze des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. IE = Internationale Einheit, TCID50 = Mediane infektiöse Dosis in der Gewebekultur.

12.3. Messbereich

Der Messbereich des Assays wurde durch Testung einer Reihe von zehnfachen Verdünnungen mit einer bekannten Konzentration an spezifischer und synthetischer SARS-CoV-2-, Influenza-A-, Influenza-B-, RSV- (Typ A und B), Parainfluenza- (Typ 1, 2, 3 und 4), humaner Coronavirus- (229E, NL63, HKU1 und OC43), Metapneumovirus- und Adenovirus-RNA/DNA bestimmt. Die Ergebnisse ermöglichten die Bestätigung des korrekten Nachweises der Zielsequenzen aus $2E+07$ bis $2E+00$ Kopien/ μ l, mit Ausnahme von HCoV-HKU1, dessen Messbereich von $2E+06$ bis $2E+00$ Kopien/ μ l reicht.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Messbereich des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System erfolgreich bestimmt wurde, was zuverlässige, genaue und reproduzierbare Ergebnisse über ein breites Spektrum von Viruslasten hinweg sicherstellt und dessen Nutzen in verschiedenen klinischen Diagnoseszenarien bestätigt.

12.4. Genauigkeit

12.4.1. Richtigkeit (Verlässlichkeit)

Die Verlässlichkeit des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System wurde durch Testung des unten aufgeführten Referenzmaterials bewertet, das in negative nasopharyngealen Proben, die im BD™ Universal Viral Transport System entnommen wurden, dotiert wurde.

1. Synthetische DNA-Fragmente

- Synthetisches DNA-Fragment für das *ORF1*-Gen von SARS-CoV-2: NCOXPC, FAM-Kanal.
- Synthetisches DNA-Fragment für das *N*-Gen von SARS-CoV-2: NCOXPC, FAM-Kanal.
- Synthetisches DNA-Fragment für das *M1*-Gen von Flu A: YIAXPC, ROX-Kanal.
- Synthetisches DNA-Fragment für das *HA*-Gen von Flu A: HNVXPC, ROX-Kanal.
- Synthetisches DNA-Fragment für das *M1*-Gen von Flu B: YIBXPC, HEX-Kanal.
- Synthetisches DNA-Fragment für das *N*-Gen von RSV A: RSAXPC, Cy5-Kanal.
- Synthetisches DNA-Fragment für das *N*-Gen von RSV B: RSBXPC, Cy5-Kanal.
- Synthetisches DNA-Fragment für das *HN*-Gen von Parainfluenza 1: PIXPC, FAM-Kanal.
- Synthetisches DNA-Fragment für das *HN*-Gen von Parainfluenza 2: PIXPC, FAM-Kanal.
- Synthetisches DNA-Fragment für das *HN*-Gen von Parainfluenza 3: PIXPC, FAM-Kanal.
- Synthetisches DNA-Fragment für das *F*-Gen von Parainfluenza 4: PIXPC, FAM-Kanal.
- Synthetisches DNA-Fragment für das *N*-Gen von Coronavirus OC43: CORXPC, HEX-Kanal.
- Synthetisches DNA-Fragment für das *N*-Gen von Coronavirus-229E: CORXPC, HEX-Kanal.
- Synthetisches DNA-Fragment für das *N*-Gen von Coronavirus-NL63: CORXPC, HEX-Kanal.
- Synthetisches DNA-Fragment für das *N*-Gen von Coronavirus HKU1: CORXPC, HEX-Kanal.
- Synthetisches DNA-Fragment für das *F*-Gen von Metapneumovirus: MPVXPC, ROX-Kanal.
- Synthetisches DNA-Fragment für das *Hexon*-Gen von Adenovirus: ADVXPC, Cy5-Kanal.

Alle synthetischen DNA-Fragmente wurden korrekt im entsprechenden Kanal nachgewiesen.

2. American Type Culture Collection („ATCC®“)

Externe Referenz	Mikroorganismus	Produktname	Varianten	Ergebnis
VR-1986HK	SARS-CoV-2	Heat-inactivated SARS-CoV-2	2019-nCoV/USA-WA1/2020	Nachgewiesen
VR-3276SD	SARS-CoV-2	Quantitative Synthetic SARS-CoV-2 RNA: ORF, E, N	n. a.	Nachgewiesen
VR-1986D	SARS-CoV-2	Genomic RNA from 2019 Novel Coronavirus	SARS-Related Coronavirus 2, Isolat USA-WA1/2020	Nachgewiesen
VR-95PQ	Flu A	Influenza A virus (H1N1), Purified	A/PR/8/34	Nachgewiesen
VR-1804PQ	Flu B	Influenza B virus (Yamagata Lineage), Purified	B/Florida/4/2006	Nachgewiesen
VR-26PQ	RSV-A	Human respiratory syncytial virus, High titer	Stamm Long	Nachgewiesen
VR-94	Parainfluenza-Virus 1	Human parainfluenza virus 1 (HPIV-1)	Stamm C35	Nachgewiesen
VR-92	Parainfluenza-Virus 2	Human parainfluenza virus 2 (HPIV-2)	Stamm Greer	Nachgewiesen
VR-93	Parainfluenza-Virus 3	Human parainfluenza virus 3 (HPIV-3)	Stamm C 243	Nachgewiesen
VR-1377	Parainfluenza-Virus 4	Human parainfluenza virus 4 (HPIV-4b)	Stamm CH 19503	Nachgewiesen
VR-1558	Coronavirus OC43	Betacoronavirus 1	Stamm OC43	Nachgewiesen
VR-740	Coronavirus 229E	Humanes Coronavirus 229E	Stamm 229E	Nachgewiesen
VR-3262SD	Coronavirus HKU1	Quantitative Synthetic Human Coronavirus Strain HKU1 RNA	Stamm HKU1	Nachgewiesen
VR-3263SD	Coronavirus NL63	Quantitative Synthetic Human coronavirus Strain NL63 RNA	Stamm NL63	Nachgewiesen
VR-3250SD	Metapneumovirus	Synthetic Human metapneumovirus RNA	n. a.	Nachgewiesen
VR-1	Adenovirus	Human adenovirus 1	Stamm Adenoid 71	Nachgewiesen

VR-6	Adenovirus	Human Adenovirus 6	Typ 6 (Spezies C) Stamm Tonsil 99	Nachgewiesen
VR-16	Adenovirus	Human Adenovirus 15	Typ 15 (Spezies D) Stamm 305 [955, CH. 38]	Nachgewiesen
VR-3343	Adenovirus	Human adenovirus 31	Typ 31 (Spezies A) Stamm 1315/63	Nachgewiesen

Tabelle 30. Referenzmaterial von der American Type Culture Collection (ATCC®).

Alle Stämme von der ATCC wurden korrekt im entsprechenden Kanal nachgewiesen, wobei die EIC eine Amplifikation mit einem Ct-Wert ≤ 35 zeigte.

3. International Reagent Resource (IRR™)

Externe referenz	Mikroorganismus	Produktname	Varianten	Ergebnis
FR-293	RSV-B	Human Respiratory Syncytial Virus B	Stamm 9320	Nachgewiesen
FR-304	Coronavirus NL63	Human Coronavirus, Strain NL63	Stamm NL63	Nachgewiesen
FR-1	Flu A	Influenza A virus	A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	Nachgewiesen
FR-3	Flu A	Influenza A virus	A/South Dakota/6/2007 (H1N1)	Nachgewiesen
FR-5	Flu A	Influenza A virus	A/Hawaii/31/2007 (H1N1)	Nachgewiesen
FR-6	Flu A	Influenza A virus	A/Qatar/1123/2007 (H1N1)	Nachgewiesen
FR-7	Flu A	Influenza A virus	A/Cambodia/0371/2007 (H1N1)	Nachgewiesen
FR-8	Flu A	Influenza A virus	A/Brisbane/10/2007 (H3N2)	Nachgewiesen
FR-12	Flu A	Influenza A virus	A/Taiwan/760/2007 (H3N2)	Nachgewiesen
FR-13	Flu A	Influenza A virus	A/Texas/71/2007 (H3N2)	Nachgewiesen
FR-27	Flu A	Influenza A virus	A/Brisbane/10/2007 IVR-147 (H3N2)	Nachgewiesen
FR-28	Flu A	Influenza A virus	A/Brisbane/59/2007 IVR-148 (H1N1)	Nachgewiesen
FR-29	Flu A	Influenza A virus	A/South Dakota/6/2007 X-173 (H1N1)	Nachgewiesen
FR-201	Flu A	Influenza A virus	A/California/07/2009 (H1N1)pdm09	Nachgewiesen

FR-202	Flu A	Influenza A virus	A/California/08/2009 (H1N1)pdm09	Nachgewiesen
FR-203	Flu A	Influenza A virus	A/New York/18/2009 (H1N1)pdm09	Nachgewiesen
FR-245	Flu A	Influenza A virus	A/Mexico/4108/2009 (H1N1)pdm09	Nachgewiesen
FR-246	Flu A	Influenza A virus	A/California/07/2009 NYMC X-179A (H1N1)pdm09	Nachgewiesen
FR-16	Flu B	Influenza-B-Virus	B/Pennsylvania/7/2007 (Yamagata-Linie)	Nachgewiesen
FR-17	Flu B	Influenza-B-Virus	B/Santiago/4364/2007 (Yamagata-Linie)	Nachgewiesen
FR-18	Flu B	Influenza-B-Virus	B/Brisbane/3/2007 (Yamagata-Linie)	Nachgewiesen
FR-19	Flu B	Influenza-B-Virus	B/Pennsylvania/5/2007 (Victoria-Linie)	Nachgewiesen
FR-20	Flu B	Influenza-B-Virus	B/Victoria/304/2006 (Victoria-Linie)	Nachgewiesen
FR-183	Flu B	Influenza-B-Virus	B/Bangladesh/3333/2007 (Yamagata-Linie)	Nachgewiesen
FR-294	RSV A	Human Respiratory Syncytial Virus	Stamm A-2	Nachgewiesen

Tabelle 31. Referenzmaterial von der International Reagent Resource (IRR™).

Alle Stämme von der IRR wurden korrekt im entsprechenden Kanal nachgewiesen, wobei die EIC eine Amplifikation mit einem Ct-Wert ≤ 35 zeigte.

4. National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC)

Externe Referenz	Mikroorganismus	Produktname	Varianten	Ergebnis
20/146	SARS-CoV-2	First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA	England/02/2020, Isolat	Nachgewiesen
20/110	SARS-CoV-2	2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) Working Reagent for NAT	n. a.	Nachgewiesen
19/304	SARS-CoV-2	Research Reagent for SARS-CoV-2 RNA	n. a.	Nachgewiesen
08/176	Parainfluenza-Virus 1	Parainfluenza Virus Serotype 1	n. a.	Nachgewiesen
08/178	Parainfluenza-Virus 2	Parainfluenza Virus Serotype 2	n. a.	Nachgewiesen

08/180	Parainfluenza-Virus 4	Parainfluenza Virus Serotype 1	n. a.	Nachgewiesen
08/320	Metapneumovirus	Human Metapneumovirus Working Reagent for NAT	n. a.	Nachgewiesen
16/324	Adenovirus	First WHO International Standard for Human Adenovirus DNA	Typ 2	Nachgewiesen

Tabelle 32. Referenzmaterial vom National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC).

Alle Stämme von der NIBSC wurden korrekt im entsprechenden Kanal nachgewiesen, wobei die EIC eine Amplifikation mit einem Ct-Wert ≤ 35 zeigte.

5. BEI Resources

Externe Referenz	Mikroorganismus	Produktname	Varianten	Ergebnis
NR-52287	SARS-CoV-2	SARS-Related Coronavirus 2	Isolat USA-WA1/2020, Gammabestrahlte	Nachgewiesen
NR-28530	RSV	Human Respiratory Syncytial Virus, A2000/3-4	Stamm A2000/3-4	Nachgewiesen
NR-22227	Metapneumovirus	Human metapneumovirus	TN/83-1211	Nachgewiesen

Tabelle 33. Referenzmaterial von BEI Resources.

Alle Stämme von BEI Resources wurden korrekt im entsprechenden Kanal nachgewiesen, wobei die EIC eine Amplifikation mit einem Ct-Wert ≤ 35 zeigte.

6. Kontrollmaterial

Externe Referenz	Mikroorganismus	Produktname	Varianten	Ergebnis
Fluarix Tetra 2022/2023	Flu A, Flu B	Influenza vaccine Fluarix Tetra 2022/2023	Flu A/Victoria/2570/2019 Flu A/Darwin/6/2021 Flu B/Austria/1359417/2021 Flu B/Phuket/3073/2013	Nachgewiesen
Fluarix Tetra 2023/2024	Flu A, Flu B & RSV	Influenza vaccine Fluarix Tetra 2023/2024	Flu A/Victoria/4897/2022 Flu A/Darwin/6/2021 Flu B/Austria/1359417/2021 Flu B/Phuket/3073/2013	Nachgewiesen
102019	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 1	SARS-CoV-2 Isolat Australia/VIC01/2020	Nachgewiesen
102024	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 2	SARS-CoV-2 Isolat Wuhan-Hu-1	Nachgewiesen
103907	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 14	UK-Variante (B.1.1.7_710528)	Nachgewiesen
103909	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 15	UK-Variante (B.1.1.7_601443)	Nachgewiesen

104043	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 16	Südafrikanische Variante	Nachgewiesen
104044	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 17	Japanische/Brasilianische Variante	Nachgewiesen
0505-0129	SARS-CoV-2	Accuplex™ SARS-CoV-2 Verification Panel	n. a.	Nachgewiesen
MBC139-R	SARS-CoV-2	AMPLIRUN® SARS-CoV-2 B.1.351 RNA CONTROL	Linie B.1.351	Nachgewiesen
MBTC030-R	SARS-CoV-2	AMPLIRUN® TOTAL SARS-CoV-2 CONTROL	Linie B.1.351	Nachgewiesen
MBTC031-R	SARS-CoV-2, Flu A, Flu B und RSV	AMPLIRUN® TOTAL SARS-CoV-2/FLUA/FLUB/RSV CONTROL	Influenza A H3N2 (A/Perth/16/2009), Influenza B (B/Brisbane/60/2008), RSV (9320)	Nachgewiesen
MBC144-R	MPV	AMPLIRUN® METAPNEUMOVIRUS RNA CONTROL	Linie B1	Nachgewiesen
SCV2_24C1B-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Delta variant	Delta-Variante B.1.617.2	Nachgewiesen
SCV2_23C1D-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Unterlinie XBB	Nachgewiesen
SCV2_23C1D-02	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Unterlinie BQ1.1	Nachgewiesen
SCV2_23C1D-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Unterlinie BA.2.75	Nachgewiesen
SCV2_23C1D-04	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Unterlinie BA.5	Nachgewiesen
SCV2_23C1D-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Unterlinie BQ.1	Nachgewiesen
SCV2_23C1B-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Unterlinie BA.4	Nachgewiesen
SCV2_23C1B-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Unterlinie BA.5	Nachgewiesen
SCV2_23C1B-04	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Unterlinie BA.4	Nachgewiesen
SCV2_23C1B-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Unterlinie BA.2	Nachgewiesen
SCV2_23C1C-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Unterlinie BA.2.75	Nachgewiesen
SCV2_23C1C-02	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Unterlinie BQ.1	Nachgewiesen
SCV2_23C1C-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Unterlinie BQ1.1	Nachgewiesen
SCV2_23C1C-04	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Unterlinie XBB	Nachgewiesen

SCV2_23C1C-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Unterlinie BA.2	Nachgewiesen
SCV2_23C1A-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Unterlinie BA.5	Nachgewiesen
SCV2_23C1A-02	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Unterlinie BA.2	Nachgewiesen
SCV2_23C1A-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Unterlinie BA.5	Nachgewiesen
SCV2_23C1A-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Unterlinie BA.4	Nachgewiesen
ID3-09 2023	RSV	Influenza A virus	Stamm A/Cambodia/e0826360/2020 (H3N2)	Nachgewiesen
359043	RSV	Human Respiratory Syncytial Virus, B	n. a.	Nachgewiesen
PINFRNA101S-06	Parainfluenza virus type 2	PIV-2	n. a.	Nachgewiesen
PINFRNA22S-02	Parainfluenza virus type 3	PIV-3	n. a.	Nachgewiesen
CVRNA22S-04	Coronavirus	Coronavirus HKU	Stamm HKU	Nachgewiesen
0810110CF	Adenovirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 2	Typ 2 (Spezies C)	Nachgewiesen
0810062CFHI	Adenovirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 3	Typ 3 (Spezies B)	Nachgewiesen
0810070CFHI	Adenovirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 4	Typ 4 (Spezies E)	Nachgewiesen
0810020CF	Adenovirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 5	Typ 5 (Spezies C)	Nachgewiesen
0810021CFHI	Adenovirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 7A	Typ 7A (Spezies B)	Nachgewiesen
0810119CFHI	Adenovirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 37	Typ 37	Nachgewiesen
0810084CFHI	Adenovirus	Adenovirus Type 40 Culture Fluid (Heat Inactivated) Strain Dugan	Typ 40, Stamm Dugan	Nachgewiesen
0810085CFHI	Adenovirus	Adenovirus Type 41 Culture Fluid (Heat Inactivated) Strain Tak	Typ 41 (Spezies F), Stamm Tak	Nachgewiesen
0810159CF	MPV	Human Metapneumovirus 8	Typ B2	Nachgewiesen

Tabelle 34. Kontrollmaterial für SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV, Parainfluenza, Coronavirus, Metapneumovirus und Adenovirus.

Alle Stämme wurden korrekt im entsprechenden Kanal nachgewiesen, wobei die EIC eine Amplifikation mit einem Ct-Wert ≤ 35 zeigte.

7. Programme zur externen Qualitätsbewertung (EQA)

Insgesamt 85 Proben mit SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV, Parainfluenza-Virus, Coronavirus, Metapneumovirus und/oder Adenovirus sowie anderen nicht im Fokus der Testung stehenden Mikroorganismen wurden aus QCMD-, INSTAND-, CAP- und RCPA-Programmen analysiert und zeigten eine hohe Übereinstimmung.

12.4.2. Präzision

Zur Bestimmung der Präzision des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System wurden Intra-Assay- (Wiederholbarkeit), Inter-Assay-, Inter-Batch- und Inter-Thermocycler-Tests (Reproduzierbarkeit) mit nasopharyngealen Abstrichen durchgeführt, die mit dem BD™ Universal Viral Transport System entnommen und mit den Referenzstämmen aus Tabelle 28 für die repräsentativen Ziele, die für jeden Fluoreszenzkanal ausgewählt wurden, dotiert wurden: SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV B, Parainfluenza-Virus Typ 3, Coronavirus OC43, Metapneumovirus und Adenovirus.

Intra-Assay

Der Intra-Assay wurde durch Analyse von sechs Replikaten sämtlicher Proben desselben Durchlaufs unter Verwendung des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System geprüft. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse ist in nachstehender Tabelle aufgeführt.

<i>Respiratory Virus Mix I reaction tube</i>					
Zielsequenz	Proben	Kanal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
SARS-CoV-2	2xLoD	475/520 (FAM)	30,30	0,31	1,02
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,15	0,45	1,53
	Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
Influenza B	2xLoD	530/565 (HEX)	32,98	0,53	1,62
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,32	0,52	1,68
	Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
Influenza A	2xLoD	585/630 (ROX)	33,45	1,35	4,03
	5xLoD	585/630 (ROX)	31,37	0,67	2,15
	Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
RSV	2xLoD	630/665 (CY5)	32,18	1,49	4,64
	5xLoD	630/665 (CY5)	31,02	0,56	1,79
	Negativkontrolle	630/665 (CY5)	Neg	n. a.	n. a.
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	26,17	0,38	1,46
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,97	0,50	1,93
	Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	26,37	0,91	3,46

Tabelle 35. Intra-Assay-Ergebnisse des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = Schwellenwertzyklus. ($\bar{x}$) = arithmetisch gemittelter Ct-Wert, (σ) = Standardabweichung, (CV %) = Variationskoeffizient, Neg = negativ, n. a. = entfällt.

<i>Respiratory Virus Mix II reaction tube</i>					
Zielsequenz	Proben	Kanal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Parainfluenzavirus	2xLoD	475/520 (FAM)	32,13	0,56	1,76
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,97	1,16	3,88
	Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
Coronavirus	2xLoD	530/565 (HEX)	34,23	0,73	2,14
	5xLoD	530/565 (HEX)	32,03	0,85	2,65
	Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
Metapneumovirus	2xLoD	585/630 (ROX)	31,53	0,66	2,09
	5xLoD	585/630 (ROX)	29,63	0,77	2,61
	Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
Adenovirus	2xLoD	630/665 (CY5)	34,35	0,10	0,31
	5xLoD	630/665 (CY5)	33,55	1,39	4,15
	Negativkontrolle	630/665 (CY5)	Neg	n. a.	n. a.
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,72	0,53	2,08
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,57	0,61	2,39
	Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	25,63	0,23	0,91

Tabelle 36. Intra-Assay-Ergebnisse des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = Schwellenwertzyklus. ($\bar{x}$) = arithmetisch gemittelter Ct-Wert, (σ) = Standardabweichung, (CV %) = Variationskoeffizient, Neg = negativ, n. a. = entfällt.

Inter-Assay

Zur Bestimmung des Inter-Assay wurden vier Replikate der verschiedenen Proben an drei verschiedenen Tagen von drei verschiedenen Bedienpersonen mit dem VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System getestet. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse ist in nachstehender Tabelle aufgeführt.

<i>Respiratory Virus Mix I reaction tube</i>					
Zielsequenz	Proben	Kanal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
SARS-CoV-2	2xLoD	475/520 (FAM)	30,33	0,38	1,27
	5xLoD	475/520 (FAM)	28,93	0,28	0,97
	Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
Influenza B	2xLoD	530/565 (HEX)	32,61	0,66	2,03
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,55	0,46	1,45
	Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
Influenza A	2xLoD	585/630 (ROX)	32,94	0,99	2,99
	5xLoD	585/630 (ROX)	31,95	0,76	2,37
	Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
RSV	2xLoD	630/665 (CY5)	32,80	0,74	2,27
	5xLoD	630/665 (CY5)	31,67	0,53	1,68
	Negativkontrolle	630/665 (CY5)	Neg	n. a.	n. a.

EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,90	0,25	0,95
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,99	0,40	1,55
	Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	25,84	0,31	1,21

Tabelle 37. Inter-Assay-Ergebnisse des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = Schwellenwertzyklus. ($\bar{x}$) = arithmetisch gemittelter Ct-Wert, (σ) = Standardabweichung, (CV %) = Variationskoeffizient, Neg = negativ, n. a. = entfällt.

<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube					
Zielsequenz	Proben	Kanal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Parainfluenzavirus	2xLoD	475/520 (FAM)	31,86	0,71	2,22
	5xLoD	475/520 (FAM)	30,18	0,82	2,72
	Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
Coronavirus	2xLoD	530/565 (HEX)	33,45	0,76	2,27
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,56	0,96	3,04
	Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
Metapneumovirus	2xLoD	585/630 (ROX)	30,79	0,93	3,01
	5xLoD	585/630 (ROX)	29,68	0,88	2,97
	Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
Adenovirus	2xLoD	630/665 (CY5)	35,08	1,62	4,61
	5xLoD	630/665 (CY5)	33,20	0,77	2,33
	Negativkontrolle	630/665 (CY5)	Neg	n. a.	n. a.
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,49	0,31	1,21
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,65	0,33	1,30
	Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	25,52	0,31	1,21

Tabelle 38. Inter-Assay-Ergebnisse des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = Schwellenwertzyklus. ($\bar{x}$) = arithmetisch gemittelter Ct-Wert, (σ) = Standardabweichung, (CV %) = Variationskoeffizient, Neg = negativ, n. a. = entfällt.

Inter-Batch

Die Inter-Batch-Werte wurden anhand von sechs Replikaten der verschiedenen Proben unter Verwendung von drei Chargen des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System bestimmt. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse ist in nachstehender Tabelle aufgeführt.

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube					
Zielsequenz	Proben	Kanal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
SARS-CoV-2	2xLoD	475/520 (FAM)	29,07	0,45	1,53
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,14	0,59	2,01
	Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
Influenza B	2xLoD	530/565 (HEX)	32,58	0,64	1,95
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,01	1,03	3,31
	Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.

Influenza A	2xLoD	585/630 (ROX)	32,75	1,7	5,33
	5xLoD	585/630 (ROX)	31,61	1,14	3,62
	Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
RSV	2xLoD	630/665 (CY5)	31,72	1,90	5,99
	5xLoD	630/665 (CY5)	30,21	1,35	4,46
	Negativkontrolle	630/665 (CY5)	Neg	n. a.	n. a.
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,40	0,31	1,23
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,61	0,53	2,06
	Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	25,54	0,37	1,45

Tabelle 39. Inter-Batch-Ergebnisse des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = Schwellenwertzyklus. ($\bar{x}$) = arithmetisch gemittelter Ct-Wert, (σ) = Standardabweichung, (CV %) = Variationskoeffizient, Neg = negativ, n. a. = entfällt.

Respiratory Virus Mix II reaction tube					
Zielsequenz	Proben	Kanal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Parainfluenzavirus	2xLoD	475/520 (FAM)	31,45	1,20	3,82
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,53	0,59	1,99
	Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
Coronavirus	2xLoD	530/565 (HEX)	32,35	0,71	2,20
	5xLoD	530/565 (HEX)	30,18	1,33	4,39
	Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
Metapneumovirus	2xLoD	585/630 (ROX)	31,66	1,00	3,16
	5xLoD	585/630 (ROX)	29,16	1,25	4,29
	Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
Adenovirus	2xLoD	630/665 (CY5)	33,23	0,70	2,12
	5xLoD	630/665 (CY5)	32,83	1,06	3,23
	Negativkontrolle	630/665 (CY5)	Neg	n. a.	n. a.
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	24,82	0,43	1,73
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,57	0,42	1,64
	Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	25,03	0,36	1,43

Tabelle 40. Inter-Batch-Ergebnisse des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = Schwellenwertzyklus. ($\bar{x}$) = arithmetisch gemittelter Ct-Wert, (σ) = Standardabweichung, (CV %) = Variationskoeffizient, Neg = negativ, n. a. = entfällt.

Inter-Thermocycler

Die Inter-Thermocycler-Werte wurden anhand von sechs Replikaten derselben Proben, die bei den Intra-Assay-, Inter-Assay- und Inter-Batch-Assays verwendet wurden, mit dem VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System bestimmt. Diese Tests wurden an zwei Laborstandorten mit zwei verschiedenen BD-MAX™-Systemen durchgeführt. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse ist in nachstehender Tabelle aufgeführt.

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube					
Zielsequenz	Proben	Kanal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
SARS-CoV-2	2xLoD	475/520 (FAM)	30,30	0,29	0,96
	5xLoD	475/520 (FAM)	28,93	0,24	0,82
	Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
Influenza B	2xLoD	530/565 (HEX)	32,70	0,42	1,29
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,26	0,45	1,43
	Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
Influenza A	2xLoD	585/630 (ROX)	33,33	1,47	4,42
	5xLoD	585/630 (ROX)	31,52	0,61	1,92
	Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
RSV	2xLoD	630/665 (CY5)	32,80	0,76	2,33
	5xLoD	630/665 (CY5)	30,88	1,30	4,20
	Negativkontrolle	630/665 (CY5)	Neg	n. a.	n. a.
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	35,97	0,32	1,24
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,71	0,33	1,28
	Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	25,96	0,37	1,44

Tabelle 41. Inter-Thermocycler-Ergebnisse des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = Schwellenwertzyklus. ($\bar{x}$) = arithmetisch gemittelter Ct-Wert, (σ) = Standardabweichung, (CV %) = Variationskoeffizient, Neg = negativ, n. a. = entfällt.

<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube					
Zielsequenz	Proben	Kanal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Parainfluenzavirus	2xLoD	475/520 (FAM)	31,95	0,83	2,61
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,79	0,95	3,18
	Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
Coronavirus	2xLoD	530/565 (HEX)	34,26	0,74	2,15
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,95	0,61	1,91
	Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
Metapneumovirus	2xLoD	585/630 (ROX)	31,59	0,50	1,58
	5xLoD	585/630 (ROX)	29,51	1,03	3,48
	Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
Adenovirus	2xLoD	630/665 (CY5)	34,14	0,72	2,12
	5xLoD	630/665 (CY5)	32,31	0,36	1,13
	Negativkontrolle	630/665 (CY5)	Neg	n. a.	n. a.
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,35	0,22	0,85
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,10	0,22	0,87
	Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	25,73	0,28	1,11

Tabelle 42. Inter-Thermocycler-Ergebnisse des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = Schwellenwertzyklus. ($\bar{x}$) = arithmetisch gemittelter Ct-Wert, (σ) = Standardabweichung, (CV %) = Variationskoeffizient, Neg = negativ, n. a. = entfällt.

Die Ergebnisse der Präzisionsstudie bestätigten die zuverlässige Leistung und die Konsistenz des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

12.5. Übertragung (Carry-over)

Die Robustheit (Carry-over-Parameter) wurde gemäß den gemeinsamen Spezifikationen für bestimmte IVD-Produkte der Klasse D in Übereinstimmung mit der Verordnung (EU) 2017/746 analysiert, insbesondere mit Anhang XIII, der die gemeinsamen Spezifikationen für Produkte festlegt, die zum Nachweis oder zur Quantifizierung von Markern einer Infektion mit dem SARS-CoV-2-Virus vorgesehen sind. Diese Empfehlungen gelten nur für das SARS-CoV-2-Virusziel; die übrigen Zielsequenzen des *Respiratory Virus Mix I* reaction tube wurden in diesem Test nicht analysiert. Jedoch wurde auch Parainfluenza-Virus Typ 3 als Zielsequenz des *Respiratory Virus Mix II* reaction tube analysiert, um den Test mit beiden Mastermischen durchzuführen.

Die Rate der Carry-over-Kontamination wurde durch Testung von 60 Replikaten von negativen nasopharyngealen Abstrichproben und 60 Replikaten einer SARS-CoV-2-Probe mit einem hohen Titer an viraler SARS-CoV-2-RNA (First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA (NIBSC-Code: 20/146) bei 1E+02 IE/ml) und einer humanen Parainfluenza-Virus-Typ-3-Probe mit einem hohen Titer an viraler HPIV-3-RNA (Human parainfluenza virus 3 (ATCC-Code: VR-93™) bei 1E+05 TCID₅₀/ml) bestimmt. Insgesamt wurden fünf Durchläufe mit positiven und negativen Proben durchgeführt, wobei ein Assay-Verfahren verwendet wurde, das auf einem Schachbrettmuster basiert, das eine abwechselnde Anordnung der Proben ermöglicht.

Beim *Respiratory Virus Mix I* reaction tube wurden alle 60 positiven Proben korrekt nachgewiesen, wobei 59 der 60 negativen Proben ein negatives Ergebnis ergaben, was einer Übereinstimmungsrate von 98,33 % entspricht. Beim *Respiratory Virus Mix II* reaction tube wurden alle positiven Proben korrekt nachgewiesen, und alle negativen Proben ergaben ein negatives Ergebnis. Gemäß den Ergebnissen beider Reaktionsgefäße lag die Kreuzkontaminationsrate bei fast 0 %.

12.6. Gesamtsystemausfallrate

Die Robustheit (Parameter Gesamtsystemausfallrate) wurde gemäß den Angaben in den gemeinsamen Spezifikationen für Produkte, die zum Nachweis oder zur Quantifizierung von Markern einer Infektion mit dem SARS-CoV-2-Virus vorgesehen sind, analysiert. Da diese Empfehlungen nur für das SARS-CoV-2-Zielvirus gelten, wurden die übrigen Ziele in diesem Test nicht analysiert.

Um zu zeigen, dass niedrig-positive SARS-CoV-2-RNA-Proben vom VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System nachgewiesen werden, wurden 119 negative nasopharyngeale Abstrichproben, die mit First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA (NIBSC-Code: 20/146) bei einer Viruskonzentration, die dem Dreifachen der LoD (3xLoD) entspricht, dotiert waren, mit dem VIASURE-Assay getestet.

Die Ergebnisse der Studie zeigen, dass alle Replikate für das SARS-CoV-2-RNA-Ziel reaktiv waren, was einer Übereinstimmungsrate von 100 % entspricht. Die Gesamtsystemausfallrate beträgt somit 0 %.

12.7. Analytische Spezifität und Reaktivität

Die analytische Spezifität und Reaktivität wurden für das VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System *in silico* und experimentell unter Verwendung von unterschiedlichem Ausgangsmaterial wie zertifizierten Referenzstämmen, zertifizierter Referenz-RNA/DNA und Material aus Ringversuchsprogrammen bewertet.

12.7.1. Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität bezeichnet das Vermögen des Assays, das beabsichtigte Ziel zu erkennen. Hinsichtlich der analytischen Spezifität sind zwei Komponenten zu berücksichtigen: Kreuzreaktivität und Interferenz. Kreuzreaktivität kann auftreten, wenn genetisch verwandte Sequenzen in einer Patientenprobe vorhanden sind, während Interferenzen auftreten können, wenn die Anwesenheit spezifischer Substanzen, die möglicherweise in den Probenmatrices vorhanden sind, die Leistung der RT-qPCR beeinträchtigt.

In-silico-Analyse der Kreuzreaktivität

Die Kreuzreaktivität wurde anhand von Referenzsequenzen der Erreger aus der NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) und einer internen bioinformatischen Analysesoftware beurteilt. Es wurde eine BLAST-Analyse für jeden Primer und jede Sonde in der NCBI Genbank Nucleotide Database sowie eine interne bioinformatische Analyse durchgeführt.

Der Nachweis von alignierten Sequenzen mit einer prozentualen Homologie von weniger als 80 % wurde als unwahrscheinlich eingestuft. Die Ergebnisse zeigten, dass **alle analysierten Sequenzen unter einer 80%igen Homologie mit den für das *Respiratory Virus Mix I* reaction tube verwendeten Primer- und Sondensets für SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B und RSV (Typ A und B) sowie den für das *Respiratory Virus Mix II* reaction tube verwendeten Primer- und Sondensets für Parainfluenza (Typ 1, 2, 3 und 4), humanes Coronavirus (229E, NL63 und HKU1), Metapneumovirus und Adenovirus lagen.**

Im Fall von Coronavirus OC43 wurden folgende Ergebnisse erzielt:

Coronavirus OC43

Die BLAST-Analyse, gefiltert nach Coronavirus OC43 (ohne OC43-Taxonomie-ID 31631), zeigt eine hohe Homologie zwischen den Primern und Sonden sowie Betacoronavirus 1 aus Stämmen von Rindern, Büffeln, Oryxantilopen, Giraffen, Kamelen, Hunden, Pferden, Schweinen, Kaninchen, Rappenantilopen, Sambarhirschen, Tapiren, Wasserrehen, Watussi-Rindern, Weißwedelhirschen und Yaks. Diese Viren wurden jedoch nicht beim Menschen nachgewiesen und gelten vorläufig nicht als zoonotische Viren, sodass sie den Nachweis von Coronavirus OC43 nicht beeinträchtigen.

Keine der analysierten Sequenzen, einschließlich derjenigen mit einer Homologie von über 80 %, konnte daher die korrekte Erkennung des Coronavirus OC43 beeinträchtigen.

Daher sollten die Zielkonstrukte für SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (Typ A und B), Parainfluenza (Typ 1, 2, 3 und 4), humanes Coronavirus (229E, NL63, HKU1 und OC43), Metapneumovirus und Adenovirus des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System keine falsch positiven Ergebnisse beim Nachweis dieser Mikroorganismen verursachen, wenn andere Organismen vorhanden sind.

Analytische Spezifität: experimentelle Tests

Kreuzreaktivität: experimentelle Tests

Die Kreuzreaktivität des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System wurde durch Testung eines Panels verschiedener Mikroorganismen bestätigt, die mit Atemwegsinfektionen assoziiert sind und in nasopharyngeale Abstriche, die mit dem BD™ Universal Viral Transport System entnommen wurden, dotiert wurden. Nach Möglichkeit und bei Verfügbarkeit von Konzentrationsdaten wurden die störenden Viren und Bakterien auf medizinisch relevanten Niveaus bewertet (in der Regel 1E+05–1E+06 KBE (koloniebildende Einheiten)/ml für Bakterien und 1E+04–1E+05 PFU (Plaque-bildende Einheiten)/ml für Viren). Mit Ausnahme der anvisierten Mikroorganismen wurde zwischen keinem der nachfolgenden untersuchten Mikroorganismen eine Kreuzreaktivität festgestellt.

Test auf Kreuzreaktionen					
Adenovirus Typ 15 (Spezies D), Stamm 35 [955, CH.38]	±	Influenza-A-virus A/Cambodia/e0826360/2020 (H3N2)	±	SARS-CoV-2	±
Adenovirus Typ 2, Spezies C	±	Influenza-A-Virus A/Hawaii/31/2007 (H1N1)	±	SARS-CoV-2	±
Adenovirus Typ 3, Spezies B	±	Influenza-A -Virus A/Mexico/4108/2009 (H1N1)pdm09	±	SARS-CoV-2 B.1.1.7_601443, UK-Variante	±
Adenovirus Typ 31 (Spezies A), Stamm 1315/63	±	Influenza-A-Virus A/New York/18/2009 (H1N1)pdm09	±	SARS-CoV-2 B.1.1.7_710528, UK-Variante	±
Adenovirus Typ 37	±	Influenza-A-Virus A/Qatar/1123/2007 (H1N1)	±	SARS-CoV-2 B.1.351	±
Adenovirus Typ 4, Spezies E	±	Influenza-A-Virus A/South Dakota/6/2007 (H1N1)	±	SARS-CoV-2 Coronavirus 2 Stamm 2019-nCoV/USA-WA1/2020	±
Adenovirus Typ 40, Stamm Dugan	±	Influenza-A-Virus A/South Dakota/6/2007 X-173 (H1N1)	±	SARS-CoV-2 Delta-Variante B.1.617.2	±
Adenovirus Typ 41 (Spezies F), Stamm Tak	±	Influenza-A-Virus A/Taiwan/760/2007 (H3N2)	±	SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.2	±
Adenovirus Typ 5, Spezies C	±	Influenza-A-Virus A/Texas/71/2007 (H3N2)	±	SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.2	±
Adenovirus Typ 6 (Spezies C), Stamm Tonsil 99	±	Influenza-B-Virus B/Bangladesh/3333/2007 (Yamagata-Linie)	±	SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.2	±
Adenovirus Typ 7A, Spezies B	±	Influenza-B-Virus B/Brisbane/3/2007 (Yamagata-Linie)	±	SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.2.75	±
Adenovirus Humane Adenoviren-DNA Typ 2	±	Influenza-B-Virus Pennsylvania/5/2007 (Victoria-Linie)	±	SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.2.75	±

Test auf Kreuzreaktionen					
<i>Bordetella holmesii</i>	–	Influenza-B-Virus B/Pennsylvania/7/2007(Yamagata- Linie)	±	SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.4	±
<i>Bordetella parapertussis</i>	–	Influenza-B-Virus B/Santiago/4364/2007(Yamagata- Linie)	±	SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.4	±
<i>Bordetella pertussis</i>	–	Influenza-B-Virus B/Victoria/304/2006 (Victoria-Linie)	±	SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.4	±
<i>Bordetella pertussis</i> Typ Stamm	–	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Subsp. <i>Pneumoniae</i> Stamm PCI 602	–	SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.5	±
<i>Candida albicans</i>	–	<i>Legionella Pneumophila</i> Sg1 (ST47)	–	SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.5	±
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> Stamm CM-1	–	<i>Legionella Pneumophila</i> Sg1 (ST62)	–	SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.5	±
Coronavirus HKU	±	<i>Legionella pneumophila</i> Subsp. <i>Pneumophila</i> Stamm Philadelphia-1	–	SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.5	±
Coronavirus Stamm NL63	±	MERS-CoV Stamm Florida/USA- 2_Saudi Arabia_2014	–	SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BQ.1	±
Enterovirus D58 US/MO/14- 18949	–	<i>Moraxella catarrhalis</i> Stamm 59632	–	SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BQ.1	±
<i>Haemophilus influenzae</i>	–	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	–	SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BQ1.1	±
<i>Haemophilus influenzae</i>	–	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> Stamm PI 1428	–	SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BQ1.1	±
<i>Haemophilus influenzae</i> Stamm L-378	–	Parainfluenza virus type 2	±	SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie XBB	±
Humanes Rhinovirus 17 Stamm 33342	–	Parainfluenza virus type 3	– ±	SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie XBB	±
Influenza-A-Virus A/Brisbane/10/2007 (H3N2)	±	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	–	SARS-CoV-2 SARS-CoV-2 Isolat Australia/VIC01/2020	±
Influenza-A-Virus A/Brisbane/10/2007 IVR-147 (H3N2)	±	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Stamm RH 815	–	SARS-CoV-2 SARS-CoV-2 Isolat Wuhan-Hu-1	±
Influenza-A-Virus A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	±	RSV A 2000/3-4	±	SARS-CoV-2	±
Influenza-A-Virus A/Brisbane/59/2007 IVR-148 (H1N1)	±	RSV Stamm A-2	±	<i>Staphylococcus epidermis</i> Stamm PCI 1200	–
Influenza-A-Virus A/California/07/2009 (H1N1)pdm09	±	RSV Typ B	±	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	–
Influenza-A-Virus A/California/07/2009 NYMC X- 179A (H1N1)pdm09	±	SARS-CoV-1 Stamm Frankfurt 1	±	<i>Streptococcus pneumoniae</i> Stamm [CIP 104225]	–
Influenza-A-Virus A/Cambodia/0371/2007 (H1N1)	±				

Tabelle 43. Referenz pathogene Mikroorganismen, die in den Kreuzreaktivitätstest einbezogen wurden. Das Ergebnis +/- bezieht sich auf das positive oder negative Ergebnis, das in den verschiedenen Kanälen abhängig von der nachgewiesenen Zielsequenz ermittelt wird. Handelt es sich bei einem getesteten Mikroorganismus um eine der durch das Gerät erfassten Zielsequenzen, wird ein positives Ergebnis in dem entsprechenden Kanal ermittelt, während in den anderen Kanälen ein negatives Ergebnis ermittelt wird.

Zusammenfassend weisen die Ergebnisse der Kreuzreaktivitätstests auf eine hohe Spezifität des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System für den Nachweis der anvisierten Mikroorganismen hin, wodurch das Risiko von falsch-positiven Ergebnissen minimiert wird. Da bei anderen verwandten Mikroorganismen keine unspezifischen Amplifikationen beobachtet wurden, deutet dies darauf hin, dass das Produkt in der Lage ist, die Zielsequenzen präzise zu unterscheiden.

Koinfektionsstudie

Eine Koinfektionsstudie wurde unter Verwendung der in Tabelle 28 aufgeführten Referenzstämme für die repräsentativen Ziele durchgeführt, die für jeden Fluoreszenzkanal ausgewählt wurden (SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV B, Parainfluenza-Virus Typ 3, Coronavirus OC43, Metapneumovirus und Adenovirus; in verschiedenen Konzentrationen), um zu bestätigen, dass das Vorliegen einer dieser Ziele, unabhängig von der Konzentration, den Nachweis zwischen ihnen nicht verändert. Es wurden neun nasopharyngeale, mit dem Referenzmaterial dotierte Proben analysiert, wobei eine Zielsequenz in niedriger Konzentration (3xLoD) und die übrigen Zielsequenzen in sehr hoher Konzentration, in der Regel 1E+04–1E+05 Einheiten/ml, vorlagen.

Die Ergebnisse bestätigen, dass die Erkennung der Zielmikroorganismen keinen Änderungen unterliegt, wenn sie bei einer Koinfektion in verschiedenen Konzentrationen mit dem VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System analysiert werden.

Untersuchung von interferierenden mikrobiellen Agenzien

Zur Analyse potentiell interferierender mikrobiellen Agenzien für das VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System wurde eine Untersuchung mit solchen Agenzien durchgeführt. Ein Panel von verschiedenen Mikroorganismen, die mit Atemwegserkrankungen assoziiert sind, wurde in Gegenwart von SARS-CoV-2, Influenza A und B, RSV B, Parainfluenza-Virus Typ 3, Coronavirus OC43, Metapneumovirus und Adenovirus (mit den in Tabelle 28 aufgeführten Referenzstämmen) bei 3xLoD getestet. Nach Möglichkeit und bei Verfügbarkeit von Konzentrationsdaten wurden die störenden Viren und Bakterien auf medizinisch relevanten Niveaus bewertet (in der Regel 1E+05–1E+06 KBE (koloniebildende Einheiten)/ml für Bakterien und 1E+04–1E+05 PFU (Plaque-bildende Einheiten)/ml für Viren). Jede Punktanalyse wurde pro Probe zweimal durchgeführt.

Eine positive (Positive Matrix Control, PMC) und eine negative Matrixkontrolle (Negative Matrix Control, NMC) wurden zur Überprüfung in den Test aufgenommen. Die PMC entspricht der negativen nasopharyngealen Matrix, die mit spezifischen Zielstämmen dotiert ist, ohne dass eine interferierende mikrobielle Substanz vorliegt, während die NMC der negativen nasopharyngealen Matrix ohne eine interferierende mikrobielle Substanz entspricht.

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube und <i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube		
Bezeichnung des Mikroorganismus	Getestete Konzentration	Ergebnis
PMC	n. a.	K. Int.
NMC	n. a.	K. Int.
Humanes Rhinovirus 17	1,60E+04 TCID50/ml	K. Int.
Enterovirus D58	4,00E+04 TCID50/ml	K. Int.
MERS-CoV	3,55E+03 TCID50/ml	K. Int.
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	3,16E+04 TCID50/ml	K. Int.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,80E+03 KBE/μl	K. Int.
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+05 KBE/ml	K. Int.
<i>Candida albicans</i>	4,18E+06 KBE/ml	K. Int.
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3,60E+06 KBE/ml	K. Int.
SARS-CoV 1	5,20E+02 Kopien/ml	K. Int.
<i>Bordetella pertussis</i>	1,20E+05 KBE/ml	K. Int.
<i>Bordetella holmesii</i>	4,10E+04 KBE/ml	K. Int.
<i>Bordetella parapertussis</i>	1,20E+05 KBE/ml	K. Int.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3,65E+04 KBE/μl	K. Int.
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,00E+06 KBE/ml	K. Int.
<i>Legionella pneumophila</i> Subsp. <i>pneumophila</i>	5,60E+04 KBE/μl	K. Int.
<i>Haemophilus influenzae</i>	5,20E+03 KBE/μl	K. Int.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,90E+06 KBE/ml	K. Int.
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	1,00E+03 Kopien/μl	K. Int.

Tabelle 44. Test auf störende mikrobielle Agenzien. K. Int. = Keine Interferenz

Es wurden somit bei keinem der getesteten Mikroorganismen Störungen beim Nachweis der Ziel-Nukleinsäure beobachtet.

Studie zu Störsubstanzen

Eine Studie zu Störsubstanzen wurde durchgeführt, um eine potentielle störende Wirkung von endogenen und exogenen Substanzen auf das VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System zu testen. Insgesamt wurden zwanzig potenzielle Störsubstanzen zu der negativen nasopharyngealen Matrix, die mit den in Tabelle 28 zu SARS-CoV-2, Influenza A Influenza B, RSV B, Parainfluenza-Virus Type 3, Coronavirus OC43, Metapneumovirus und Adenovirus aufgeführten Referenzstämmen dotiert war, hinzugegeben und in sechs Replikaten ausgewertet.

Eine Positive (Positive Matrix Control, PMC) und Negative Matrixkontrolle (Negative Matrix Control, NMC) wurden zur Überprüfung in den Test aufgenommen. Die PMC entspricht der negativen nasopharyngealen Matrix, die mit spezifischen Zielstämmen dotiert ist, ohne dass eine Störsubstanz vorliegt, während die NMC der negativen nasopharyngealen Matrix ohne Störsubstanz noch Mikroorganismus-/Referenzmaterial-Zugabe entspricht. Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube und <i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube		
Bezeichnung der Substanz	Getestete Konzentration	Ergebnis
PMC	n. a.	K. Int.
NMC	n. a.	K. Int.
Oseltamivir	3,99E-04 mg/ml	K. Int.
Zanamivir	3,30 mg/ml	K. Int.
Azithromycin	1,10E-02 mg/ml	K. Int.
Mupirocin	1,50E-03 mg/ml	K. Int.
Tobramycin	3,30E-02 mg/ml	K. Int.
Albumin	1,00E+01 mg/ml	K. Int.
Genomische DNA	3,50E-03 mg/ml	K. Int.
Menschlicher Auswurf	1,00 % (v/v)	K. Int.
Mucin	2,50E+00 mg/ml	K. Int.
Triglyceride	1,50E+01 mg/ml	K. Int.
Vollblut	1,00 % (v/v)	K. Int.
Carbocystein	5,00 mg/ml	K. Int.
N-Acetylcystein	1,50E-01 mg/ml	K. Int.
Phenylephrin	3,00E-05mg/ml	K. Int.
Fluticason	1,26E-06 mg/ml	I
	3,15E-07 mg/ml	K. Int.
Galphimia glauca, luffa operculata	12,5 mg/ml	K. Int.
Oxymetazolinhydrochlorid	0,1 mg/ml	K. Int.
Natriumchlorid	0,90 mg/ml	K. Int.
Nicotin	3,00E-02 mg/ml	I
	7,50E-04 mg/ml	K. Int.
Benzocain	3,00 mg/ml	K. Int.

Tabelle 45. Potenzielle Störsubstanzen. N.I.: (No reportable interference), Keine meldepflichtige Interferenz, I: Interferenz.

Verschiedene potenzielle Störsubstanzen, endogene wie exogene, wurden auf dem VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System getestet. Störungen wurden beim Testen von Fluticason (1,26E-06 mg/ml) und Nikotin (3,00E-02 mg/ml) sowohl im *Respiratory Virus Mix I* reaction tube als auch im *Respiratory Virus Mix II* reaction tube festgestellt, und es wurde eine Verdünnung im Verhältnis 1:4 vorgenommen, um sicherzustellen, dass dieser Störeffekt bei niedrigeren Konzentrationen nicht auftritt. Die Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass bei den getesteten Endkonzentrationen keine Störung durch die beurteilten Substanzen festgestellt werden kann.

12.7.2. Analytische Reaktivität

Die analytische Reaktivität kann als Prozentsatz der mikrobiellen Zielstämme oder DNA/RNA-Proben definiert werden, die das richtige positive Ergebnis liefern. Die analytische Reaktivität wurde *in silico* und anhand von Nassanalysen untersucht.

In-silico-Analyse der analytischen Reaktivität

Die analytische Reaktivität des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System wurde unter Verwendung einer öffentlich zugänglichen Nukleotidsequenzdatenbank wie der NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), der Global Initiative on Sharing All SARS-CoV-2 Data (GISAID EpiCoV-Datenbank (<https://www.gisaid.org/>), der Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID EpiFlu-Datenbank (<https://www.gisaid.org/>), der Global Initiative on Sharing All RSV Data (GISAID EpiRSV-Datenbank (<https://www.gisaid.org/>) und einer internen bioinformatischen Analysesoftware bewertet, um zu zeigen, dass die Zielgene durch das zu untersuchende Produkt korrekt nachgewiesen werden können. Die *In-silico*-Analyse des Primer- und des Sondendesigns wurde durch ein Alignment mit Sequenzen durchgeführt, die in der Datenbank „Nucleotide collection (nr/nt)“ verfügbar sind. Die nach der Analyse der eingeschlossenen Sequenzen erhaltenen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt:

Mikroorganismus	Gen	% der Sequenzen, die ohne Fehlpaarung experimentell nachgewiesen wurden	% der Sequenzen, die mit Fehlpaarung experimentell nachgewiesen wurden	Anzahl der alignierten Sequenzen
SARS-CoV-2	<i>N</i> -Gen, Region N1 und Region N2	98,08 %	–	22.404
Influenza A	<i>HA</i> -Gen + <i>M1</i> -Gen	0,88 %	32,92 %	99.326
Influenza B	<i>M1</i> -Gen	21,63 %	70,58 %	24.369
RSV A	<i>N</i> -Gen	2,32 %	80,83 %	4.002
RSV B	<i>N</i> -Gen	2,61 %	80,11 %	4.172
Parainfluenza 1 Parainfluenza 2 Parainfluenza 3 Parainfluenza 4	<i>HN</i> -Gen <i>HN</i> -Gen <i>HN</i> -Gen <i>F</i> -Gen	19,23 %	–	1451
Coronavirus OC43	<i>N</i> -Gen	76,32 %	–	380
Coronavirus 229E	<i>N</i> -Gen	0,00 %*	–	266
Coronavirus NL63	<i>N</i> -Gen	48,12 %	–	293
Coronavirus HKU1	<i>N</i> -Gen	46,51 %	–	215
Metapneumovirus	<i>F</i> -Gen	93,7 %	–	2.144
Adenovirus A	<i>Hexon</i> -Gen	98,7 %	–	154
Adenovirus B	<i>Hexon</i> -Gen	98,75 %	–	718
Adenovirus C	<i>Hexon</i> -Gen	96,17 %	–	392
Adenovirus D	<i>Hexon</i> -Gen	97,74 %	–	310
Adenovirus E	<i>Hexon</i> -Gen	89,53 %	–	172
Adenovirus F	<i>Hexon</i> -Gen	96,40 %	–	250
Adenovirus G	<i>Hexon</i> -Gen	90,48%	–	21

Tabelle 46. *In-silico*-Tests der analytische Reaktivität

*Die meisten Coronavirus-229E-Sequenzen aus der NCBI GenBank, die in die *In-silico*-Analyse einbezogen wurden, weisen 1 oder 2 Fehlpaarungen auf, die den korrekten Nachweis der Zielsequenz nicht beeinträchtigen. Darüber hinaus zeigt die synthetische DNA des Coronavirus 229E, die während der analytischen Validierung des Produkts verwendet wurde, eine 100%ige Homologie mit dem Primer- und Sonden-Set, womit die korrekte Detektion experimentell nachgewiesen wurde.

Die Inklusivitätsanalyse belegt damit den korrekten Nachweis von SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (Typ A und B), Parainfluenza (Typ 1, 2, 3 und 4), Coronavirus (NL63, 229E, HKU1 und OC43), Metapneumovirus und Adenovirus mit dem VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Analytischen Reaktivität: experimentelle Tests

Die analytische Reaktivität des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System für SARS-CoV-2 wurde anhand der RNA der nachfolgenden, in die mit dem BD™ Universal Viral Transport System entnommenen nasopharyngealen Abstriche dotierten Stämme bewertet, wobei positive Ergebnisse erzielt wurden:

SARS-Related Coronavirus 2, Isolat USA-WA1/2020, Gamma-Irradiated (NR-52287), Quantitative Synthetic SARS-CoV-2 RNA: ORF, E, N (VR-3276SD), Genomic RNA from 2019 Novel Coronavirus (VR-1986D), 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) Working Reagent for Nucleic Acid Amplification Testing (NAT) (NIBSC 20/110), Research Reagent for SARS-CoV-2 RNA (NIBSC 19/304), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 1 (MT007544.1): SARS-CoV-2 Isolat Australia/VIC01/2020 (Twist Bioscience 102019), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 2 (MN908947.3): SARS-CoV-2 Isolat Wuhan-Hu-1 (Twist Bioscience 102024), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 14 (B.1.1.7_710528), UK-Variante (Twist Bioscience 103907), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 15 (B.1.1.7_601443), UK-Variante (Twist Bioscience 103909), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 16 (EPI_ISL_678597), Südafrikanische Variante (Twist Bioscience 104043), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 17 (EPI_ISL_792683), Japanische/Brasilianische Variante (Twist Bioscience 104044), Accuplex™ SARS-CoV-2 Verification Panel (SeraCare c0505-0129), AMPLIRUN® SARS-CoV-2 B.1.351 RNA CONTROL (MBC139-R), AMPLIRUN® TOTAL SARS-CoV-2 CONTROL (SWAB) (MBTC030-R), AMPLIRUN TOTAL SARS-CoV-2-FluA-FluB-RSV CONTROL (MBTC031-R), SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.5 (SCV2_23C1A-01), SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.2 (SCV2_23C1A-02), SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.5 (SCV2_23C1A-03), SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.4 (SCV2_23C1A-05), SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.4 (SCV2_23C1B-01), SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.5 (SCV2_23C1B-03), SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.4 (SCV2_23C1B-04), SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.2 (SCV2_23C1B-05), SARS-CoV-2 Delta-Variante B.1.617.2 (SCV2_24C1B-01), SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.2.75 (SCV2_23C1C-01), SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BQ.1 (SCV2_23C1C-02), SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BQ1.1 (SCV2_23C1C-03), SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie XBB (SCV2_23C1C-04), SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.2 (SCV2_23C1C-05), SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie XBB (SCV2_23C1D-01), SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BQ1.1 (SCV2_23C1D-02), SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.2.75 (SCV2_23C1D-03), SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BQ.1 (SCV2_23C1D-04) und SARS-CoV-2 Omicron-Variante, Unterlinie BA.5 (SCV2_23C1D-05).

Die analytische Reaktivität des VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System für Influenza A wurde anhand der RNA der folgenden Stämme bewertet, wobei positive Ergebnisse erzielt wurden:

Influenza A Virus, A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (FR-1), Influenza A Virus, A/South Dakota/6/2007 (H1N1) (FR-3), Influenza A Virus, A/Hawaii/31/2007 (H1N1) (FR-5), Influenza A Virus, A/Qatar/1123/2007 (H1N1) (FR-6), Influenza A Virus, A/Cambodia/0371/2007 (H1N1) (FR-7), Influenza A Virus, A/Brisbane/10/2007 (H3N2) (FR-8), Influenza A Virus, A/Taiwan/760/2007 (H3N2) (FR-12), Influenza A Virus, A/Texas/71/2007 (H3N2) (FR-13), Influenza A Virus, A/Brisbane/10/2007 IVR-147 (H3N2) (FR-27), Influenza A Virus, A/Brisbane/59/2007 IVR-148 (H1N1) (FR-28), Influenza A Virus, A/South Dakota/6/2007 X-173 (H1N1) (FR-29), Influenza A Virus, A/California/07/2009 (H1N1)pdm09 (FR-201), Influenza A Virus, A/California/08/2009 (H1N1)pdm09 (FR-202), Influenza A Virus, A/New York/18/2009 (H1N1)pdm09 (FR-203), Influenza A Virus, A/Mexico/4108/2009 (H1N1)pdm09 (FR-245), Influenza A Virus, A/California/07/2009 NYMC X-179A (H1N1)pdm09 (FR-246), Influenza A/Victoria/2570/2019 (H1N1) und/oder Influenza A/Darwin/6/2021 (H3N2) (Vaccine Fluarix Tetra 2022/2023), Influenza A/Victoria/4897/2022 (H1N1) und/oder Influenza A/Darwin/6/2021 (H3N2) (Vaccine Fluarix Tetra 2023/2024), AMPLIRUN TOTAL SARS-CoV-2-FluA-FluB-RSV CONTROL (Viracell MBTC031-R) und Influenza A Virus, H3/H2N2 (CAP ID3-09 2023).

Die analytische Reaktivität des *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System für Influenza B wurde anhand der RNA der folgenden Stämme bewertet, wobei positive Ergebnisse erzielt wurden:

Influenza B Virus, B/Pennsylvania/7/2007 (Yamagata-Linie) (FR-16), Influenza B Virus, B/Santiago/4364/2007 (Yamagata-Linie) (FR-17), Influenza B Virus, B/Brisbane/3/2007 (Yamagata-Linie) (FR-18), Influenza B Virus, B/Pennsylvania/5/2007 (Victoria-Linie) (FR-19), Influenza B Virus, B/Victoria/304/2006 (Victoria-Linie) (FR-20), Influenza B Virus, B/Bangladesh/3333/2007 (Yamagata-Linie) (FR-183), AMPLIRUN TOTAL SARS-CoV-2-FluA-FluB-RSV CONTROL (MBTC031-R), Influenza B/Austria/1359417/2021 und/oder Influenza B/Phuket/3073/2013 (Vaccine Fluarix Tetra 2022/2023), Influenza B/Austria/1359417/2021 und/oder Influenza B/Phuket/3073/2013 (Vaccine Fluarix Tetra 2023/2024).

Die analytische Reaktivität des *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System für RSV wurde anhand der RNA von Human Respiratory Syncytial Virus A (Stamm A-2) (FR-294), Human Respiratory Syncytial Virus, A 2000/3-4 (NR-28530), AMPLIRUN TOTAL SARS-CoV-2-FluA-FluB-RSV CONTROL (MBTC031-R) und Human Respiratory Syncytial Virus, B (INSTAND 359043) bewertet, wobei positive Ergebnisse erzielt wurden.

Die analytische Reaktivität des *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System für Parainfluenza wurde anhand der RNA von Parainfluenza Virus Serotyp 1 (NIBSC 08/176), Parainfluenza Virus Serotyp 2 (NIBSC 08/178), Parainfluenza Virus Serotyp 4 (NIBSC 08/180), Parainfluenza Virus 2 (PINFRNA101S-06) und Parainfluenza Virus 3 (PINFRNA22S-02) bewertet, wobei positive Ergebnisse erzielt wurden.

Die analytische Reaktivität des *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System für Coronavirus wurde anhand der RNA von Quantitative Synthetic Human coronavirus Stamm NL63 RNA (VR-3263SD) und Coronavirus HKU (CVRNA22S-04) bewertet, wobei positive Ergebnisse erzielt wurden.

Die analytische Reaktivität des *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System für Metapneumovirus wurde anhand der RNA von AMPLIRUN® METAPNEUMOVIRUS RNA CONTROL (MBC144-R), Human Metapneumovirus (NIBSC 08/320) und Quantitative Synthetic Human Metapneumovirus hMPV RNA (VR-3250SD) bewertet, wobei positive Ergebnisse erzielt wurden.

Die analytische Reaktivität des *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System für Adenovirus wurde anhand der DNA aus folgenden Stämmen bewertet, wobei positive Ergebnisse erzielt wurden:

Adenovirus Typ 2, Spezies C (0810110CF), Adenovirus Typ 3, Spezies B (0810062CFHI), Adenovirus Typ 4, Spezies E (0810070CFHI), Adenovirus Typ 5, Spezies C (0810020CF), Adenovirus Typ 6 (Spezies C), Stamm Tonsil 99 (VR-6), Adenovirus Typ 7A, Spezies B (0810021CFHI), Adenovirus Typ 15 (Spezies D), Stamm 35 [955, CH.38] (VR-16), Adenovirus Typ 31 (Spezies A) Stamm 1315/63 (VR-3343), Adenovirus Typ 37 (0810119CFHI), Adenovirus Typ 40, Stamm Dugan (0810084CFHI), Adenovirus Typ 41 (Spezies F), Stamm Tak (0810085CFHI) und First WHO International Standard for Human Adenovirus DNA (NIBSC-Code: 16/324).

12.8. Metrologische Rückführbarkeit

Dieser Assay ist nicht zu Messzwecken ausgelegt.

13. Merkmale der klinischen Leistung

Die klinische Leistung des *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System wurde unter Verwendung von nasopharyngealen Abstrichen getestet, die vom Pflegepersonal mit einem flexiblen, sterilen Nylon-Abstrichtupfer entnommen und in das sterile Röhrchen mit 3 ml Universal Transport Media® (UTM®) (Copan) gegeben wurden. Als Ergebnisse wurden dabei erhalten:

	Standort	Probentyp	Arbeitsablauf	Zielsequenz
1	Hospital Universitario Miguel Servet (Saragossa, Spanien)	Nasopharyngeale Abstriche (Retrospektive Studie)	BD MAX™ ExK™ TNA-3 Kit + BD MAX™ System	SARS-CoV-2
				Influenza A
				Influenza B
				RSV (Typ A und B)
				Parainfluenza (Typ 1, 2, 3 und 4)
				Coronavirus (OC43, NL63, 229 und HKU1)
				Metapneumovirus
				Adenovirus

Tabelle 47. Standort, Probentyp, Arbeitsablauf und Zielsequenzen.

Richtig positive und richtig negative Werte, falsch positive und falsch negative Werte sowie Sensitivität, Spezifität, positive prädiktive Werte (PPV) und negative prädiktive Werte (NPV) sowie Likelihood-Verhältnisse (LR) zum VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System wurden in Relation zu verschiedenen Vergleichs-Assays berechnet, wie in der folgenden Tabelle dargestellt ist:

Standort	Vergleichstest	Zielsequenz	TP	TN	FP	FN	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV	LR+	LR-
1	Cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B Assay (Roche)	SARS-CoV-2	110	733	7	6	0,95 (0,89–0,98)	0,99 (0,98–0,99)	0,94 (0,88–0,97)	0,99 (0,98–0,99)	100,3 (47,9–209,8)	0,052 (0,02–0,11)
		Flu A	143	699	4	10	0,94 (0,88–0,97)	0,99 (0,98–0,99)	0,97 (0,93–0,99)	0,99 (0,97–0,99)	164,3 (61,8–436,8)	0,066 (0,04–0,12)
		Flu B	29	826	0	1	0,97 (0,83–0,99)	1 (0,99–1)	1 (0,88–1)	0,99 (0,99–1)	1574 (98,4–25172)	0,048 (0,01–0,23)
	Allplex™ RV Essential Assay (Seegene)	Influenza A	143	699	4	10	0,94 (0,88–0,97)	0,99 (0,98–0,99)	0,97 (0,93–0,99)	0,99 (0,97–0,99)	164,3 (61,8–436,8)	0,066 (0,04–0,12)
		Influenza B	29	826	0	1	0,97 (0,83–0,99)	1 (0,99–1)	1 (0,88–1)	0,99 (0,99–1)	1574 (98,4–25172)	0,048 (0,01–0,23)
		RSV (Typ A und B)	60	787	6	3	0,95 (0,87–0,99)	0,99 (0,98–0,99)	0,91 (0,82–0,96)	0,99 (0,98–0,99)	125,9 (56,61–279,9)	0,048 (0,01–0,15)
		Parainfluenza (Typ 1, 2, 3 und 4)	74	765	9	8	0,90 (0,82–0,96)	0,99 (0,98–0,99)	0,90 (0,82–0,95)	0,99 (0,98–0,99)	77,61 (40,38–149,2)	0,099 (0,05–0,19)
		Metapneumo virus	73	778	1	4	0,95 (0,87–0,99)	0,99 (0,99–1)	0,99 (0,93–0,99)	0,99 (0,98–0,99)	738,5 (104,1–5240)	0,052 (0,02–0,14)
		Adenovirus	64	786	5	1	0,99 (0,92–1)	0,99 (0,98–0,99)	0,93 (0,84–0,97)	0,99 (0,99–1)	155,8 (65–373,4)	0,015 (0,002–0,11)
	Allplex™ Respiratory Panel 3 (Seegene) + Sequenzierung	Coronavirus (OC43, NL63, 229 und HKU1)	39	813	2	2	0,95 (0,84–0,99)	0,99 (0,99–1)	0,95 (0,84–0,99)	0,99 (0,99–1)	387,6 (96,9–1549,9)	0,049 (0,013–0,189)

Tabelle 48. Richtig positiver (TP) und richtig negativer Wert (TN), falsch positiver (FP) und falsch negativer (FN) Wert, Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert (PPV), negativer prädiktiver Wert (NPV) und Likelihood-Verhältnisse (LR) zum VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Die Ergebnisse belegen damit eine hohe Übereinstimmung beim Nachweis von SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (Typ A und B), Parainfluenza (Typ 1, 2, 3 und 4), Coronavirus (OC43, NL63, 229E und HKU1), Metapneumovirus und Adenovirus mit dem VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Literaturverzeichnis

- Abu-Raya, B., Viñeta Paramo, M., Reicherz, F., & Lavoie, P. M. (2023). Why has the epidemiology of RSV changed during the COVID-19 pandemic? *EClinicalMedicine*, 61, 102089. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2023.102089>
- Bergeron, H. C., & Tripp, R. A. (2021). Immunopathology of RSV: An Updated Review. *Viruses*, 13, 2478. <https://doi.org/10.3390/v13122478>
- Buckwalter, S. P., Teo, R., Espy, M. J., Sloan, L. M., Smith, T. F., & Pritt, B. S. (2012). Real-time qualitative PCR for 57 human adenovirus types from multiple specimen sources. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(3), 766–771. <https://doi.org/10.1128/JCM.05629-11>
- CDC |. (2023). *COVID-19*. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/your-health/about-covid-19.html>
- Datta, N. (2023). A review of molecular biology detection methods for human adenovirus. *AIMS Biophysics*, 10(1), 95–120. <https://doi.org/10.3934/BIOPHY.2023008>
- Fernández-Pérez, G. C., Oñate Miranda, M., Fernández-Rodríguez, P., Velasco Casares, M., Corral de la Calle, M., Franco López, Díez Blanco, M., & Cuchat, J. M. O. (2021). SARS-CoV-2: cómo es, cómo actúa y cómo se expresa en la imagen. *Radiología*, 63, 115–126. <https://doi.org/10.1016/j.rx.2020.10.006>
- Friedman, N., Alter, H., Hindiyeh, M., Mendelson, E., Avni, Y. S., & Mandelboim, M. (2018). Human Coronavirus Infections in Israel: Epidemiology, Clinical Symptoms and Summer Seasonality of HCoV-HKU1. *Viruses*, 10. <https://doi.org/10.3390/v10100515>
- Gaunt, E. R., Hardie, A., Claas, E. C. J., Simmonds, P., & Templeton, K. E. (2010). Epidemiology and Clinical Presentations of the Four Human Coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 Detected over 3 Years Using a Novel Multiplex Real-Time PCR Method. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, 48(8), 2940–2947. <https://doi.org/10.1128/JCM.00636-10>
- Henrickson, K. J. (2003). Parainfluenza Viruses. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*, 16(2), 242–264. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.2.242-264.2003>
- Hu, B., Guo, H., Zhou, P., & Shi, Z. L. (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*, 19, 141–154. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
- Ison, M. G., & Hayden, R. T. (2016). Adenovirus. *Microbiology Spectrum*, 4(4), DMIH2-0020–2015. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec>
- Jansen, R. R., Schinkel, J., Koekkoek, S., Pajkrt, D., Beld, M., De Jong, M. D., & Molenkamp, R. (2011). Development and evaluation of a four-tube real time multiplex PCR assay covering fourteen respiratory viruses, and comparison to its corresponding single target counterparts. *Journal of Clinical Virology*, 51, 179–

185. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2011.04.010>

Krammer, F., Smith, G. J. D., Fouchier, R. A. M., Peiris, M., Kedzierska, K., Doherty, P. C., Palese, P., Shaw, M. L., Treanor, J., Webster, R. G., & García-Sastre, A. (2018). Influenza. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(3), 1–21. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0002-y>

Lim, Y. X., Ng, Y. L., Tam, J. P., & Liu, D. X. (2016). Human Coronaviruses: A Review of Virus-Host Interactions. *Diseases*, 4(26), 1–28. <https://doi.org/10.3390/diseases4030026>

Lynch, J. P., & Kajon, A. E. (2016). Adenovirus: Epidemiology, Global Spread of Novel Serotypes, and Advances in Treatment and Prevention. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 37, 586–602. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1584923>

Safiabadi Tali, S. H., LeBlance, J. J., Sadiq, Z., Oyewunmi, O. D., Camargo, C., Nikpuor, B., Armanfard, N., Sagan, S. M., & Jahanshahi-Anbuhi, S. (2021). Tools and Techniques for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 Detection. *Clinical Microbiology Reviews*, 34(3), e00228–20.

Schuster, J. E., & Williams, J. V. (2013). Human Metapneumovirus. *Pediatrics in Review*, 34(12), 558–565.

Templeton, K. E., Scheltinga, S. A., Beersma, M. F. C., Kroes, A. C. M., & Claas, E. C. J. (2004). Rapid and Sensitive Method Using Multiplex Real-Time PCR for Diagnosis of Infections by Influenza A and Influenza B Viruses, Respiratory Syncytial Virus, and Parainfluenza Viruses 1, 2, 3, and 4. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, 42(4), 1564–1569. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.4.1564-1569.2004>

Tyrrell, carina S., Allen, J. L. Y., & Gkrania-Klotsas, E. (2021). Influenza: epidemiology and hospital management. *Medicine (Abingdon, England: UK Ed.)*, 49(12), 797–804.

Uddin, S., & Thomas, M. (2020). Human Metapneumovirus. In *StatsPearls*. StatPearls Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-40181-4.00226-7>

Uyeki, T. M., Hui, D. S., Zambon, M., Wentworth, D. E., & Monto, A. S. (2022). Influenza. *The Lancet*, 400, 693–706. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00982-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00982-5)

WHO | World Health Organization. (n.d.). *Respiratory Syncytial Virus (RSV) disease*. Retrieved August 10, 2023, from <https://www.who.int/teams/health-product-policy-and-standards/standards-and-specifications/vaccine-standardization/respiratory-syncytial-virus-disease>

WHO | World Health Organization. (2023a). *Coronavirus disease (COVID-19)*. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/coronavirus-disease-\(covid-19\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/coronavirus-disease-(covid-19))

WHO | World Health Organization. (2023b). *Influenza (Seasonal)*. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal))

Zeng, Z.-Q., Chen, D.-H., Tan, W.-P., Qiu, S.-Y., Xu, D., Liang, H.-X., Chen, M.-X., Li, X., Lin, Z.-S., Liu, W.-K., & Zhou, R. (2018). Epidemiology and clinical characteristics of human coronaviruses OC43, 229E, NL63, and HKU1: a study of hospitalized children with acute respiratory tract infection in Guangzhou, China. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 37, 363–369. <https://doi.org/10.1007/s10096-017-3144-z>

Symbole auf IVD-Komponenten und Reagenzien

In-vitro-Diagnostikum

Trocken halten

Verfallsdatum

Hersteller

Chargennummer

Siehe Gebrauchsanweisung

Temperaturbegrenzung

Ausreichend für <n> Test(s)

Eindeutige Gerätekennung

Bestell-Nr.

CE-Kennzeichen

Vor Sonnenlicht schützen

Marken

BD MAX™ ist eine eingetragene Marke von Becton, Dickinson and Company.

Änderungsrechte vorbehalten. Alle Rechte vorbehalten. © Certest Biotec, S.L.

Alle anderen Marken, die möglicherweise in dieser Packungsbeilage erscheinen, sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.

Certest Biotec, S.L.
Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, N° 1, 50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spanien)
Tel. (+34) 976 520 354 | viasure@certest.es | www.certest.es

- Australischer Sponsor, Kontakt**

Becton Dickinson Pty Ltd., 66 Waterloo Road.
Macquarie Park NSW 2113, Australien
- Neuseeländischer Sponsor, Kontakt**

Becton Dickinson Limited, 14B George Bourke Drive.
Mt. Wellington Auckland 1060, Neuseeland

Änderungshistorie		
Versionsnr.	Änderungen	Datum
00	Ursprüngliche Version. Diese Version ist eine Übersetzung des englischen Originaldokuments: IUo-444221en0825.00.	01.08.2025

Tabelle A2. Tabelle Änderungshistorie.

Revision: 1. August 2025

VIASURE

by **certest**



Certest Biotec, S.L.

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



(+34) 976 520 354



viasure@certest.es



www.certest.es

certest

F-566 rev.03

Modification rights reserved. All rights reserved. © Certest Biotec, S.L.
The products, services and data set out in this document may suffer changes
and/or variations on the texts and pictures shown.