

Real Time PCR Detection Kit

Respiratory Virus Extended Mix for BD MAX™ System

Οδηγίες χρήσης

Αυτές οι οδηγίες χρήσης ισχύουν για τα εξής:

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

Πίνακας Α 1. Κωδικός προϊόντος προς χρήση με το BD MAX™ System.

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.

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.

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.

Επισκεφθείτε τη διεύθυνση **certest.es/viasure/labeling** εάν η γλώσσα σας δεν περιλαμβάνεται στη λίστα. Επικοινωνήστε στη διεύθυνση viasure@certest.es εάν η γλώσσα σας δεν περιλαμβάνεται στον ιστότοπο.

Σημείωση: Ο χρήστης πρέπει να ενημερώνει τον κατασκευαστή και την αρμόδια αρχή του Κράτους Μέλους στο οποίο δραστηριοποιείται ως χρήστης ή/και ασθενής για οποιοδήποτε σοβαρό περιστατικό που σχετίζεται με το προϊόν.

Περιεχόμενο

1.	Προβλεπόμενη χρήση	6
2.	Σύνοψη και επεξήγηση.....	6
3.	Αρχή της διαδικασίας	9
4.	Παρεχόμενα αντιδραστήρια.....	10
5.	Αντιδραστήρια και εξοπλισμός που παρέχονται από τον χρήστη	11
6.	Συνθήκες μεταφοράς, φύλαξης και χρήσης	11
7.	Προφυλάξεις για τους χρήστες	12
8.	Διαδικασία του τεστ	14
8.1.	Συλλογή, μεταφορά και φύλαξη δειγμάτων	14
8.2.	Προετοιμασία δείγματος και εκχύλιση NA	16
8.3.	Πρωτόκολλο PCR.....	16
8.3.1.	Δημιουργία προγράμματος τεστ PCR για το <i>VIASURE Respiratory Virus Extended Mix</i> Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	16
8.3.2.	Ρύθμιση στατώ BD MAX™	22
8.3.3.	Ρύθμιση οργάνου BD MAX™	24
8.3.4.	Αναφορά αποτελεσμάτων BD MAX™	25
9.	Ερμηνεία αποτελεσμάτων	25
10.	Περιορισμοί του τεστ	29
11.	Ποιοτικός έλεγχος.....	32
12.	Χαρακτηριστικά ναλυτικής απόδοσης	32
12.1.	Αναλυτική γραμμικότητα	32
12.2.	Αναλυτική ευαισθησία. Όριο ανίχνευσης (LoD).....	35
12.3.	Εύρος μέτρησης.....	36
12.4.	Ακρίβεια	36
12.4.1.	Ορθότητα	36
12.4.2.	Πιστότητα	43
12.5.	Μεταφερόμενη επιμόλυνση	48
12.6.	Ποσοστό αστοχίας ολόκληρου του συστήματος.....	49

12.7. Αναλυτική ειδικότητα και αντιδραστικότητα.....	49
12.7.1. Αναλυτική ειδικότητα.....	49
12.7.2. Αναλυτική αντιδραστικότητα	55
12.8. Μετρολογική ιχνηλασιμότητα.....	58
13. Χαρακτηριστικά κλινικών επιδόσεων	59
Βιβλιογραφία.....	61
Σύμβολα για IVD στοιχεία και αντιδραστήρια	63
Εμπορικά σήματα.....	63

ΕΛΛΗΝΙΚΑ

1. Προβλεπόμενη χρήση

Το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System είναι μια αυτοματοποιημένο τεστ RT-qPCR που έχει σχεδιαστεί για την ταυτόχρονη ποιοτική ανίχνευση RNA/DNA από SARS-CoV-2, γρίπη A, γρίπη B, RSV (τύποι A και B), παραγρίπη (τύποι 1, 2, 3 και 4), ανθρώπινο κορονοϊό (229E, NL63, HKU1 και OC43), μεταπνευμονοϊό και αδενοϊό σε ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα από ασθενείς με υποψία αναπνευστικής λοίμωξης από τον επαγγελματία υγείας (ΕΥ) που τους παρακολουθεί. Το τεστ αυτό προορίζεται για χρήση ως βοήθημα στη διάγνωση λοίμωξης από τους προαναφερθέντες μικροοργανισμούς σε συνδυασμό με τα κλινικά σημεία και συμπτώματα του ασθενούς ή/και τους παράγοντες επιδημιολογικούς κινδύνου. Τα θετικά αποτελέσματα είναι ενδεικτικά της παρουσίας των νουκλεϊκών οξέων (NA)-στόχων, αλλά δεν αποκλείουν την παρουσία άλλων παθογόνων που δεν ανιχνεύονται από το τεστ. Τα αρνητικά αποτελέσματα δεν αποκλείουν την παρουσία των NA-στόχων και δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ως η μοναδική βάση για τη θεραπεία ή για άλλες αποφάσεις διαχείρισης ασθενών. Η ανάλυση χρησιμοποιεί το BD MAX™ System για την αυτοματοποιημένη εκχύλιση RNA/DNA και την επακόλουθη RT-qPCR, χρησιμοποιώντας τα αντιδραστήρια που παρέχονται σε συνδυασμό με τα γενικά αντιδραστήρια και αναλώσιμα του BD MAX™ System. Το RNA/DNA εκχυλίζεται από δείγματα. Το συμπληρωματικό DNA (cDNA) συντίθεται και το DNA/cDNA ενισχύεται χρησιμοποιώντας RT-qPCR και ανιχνεύεται χρησιμοποιώντας ειδικούς εκκινητές και φθορίζοντες ανιχνευτές χρωστικής αναφοράς για SARS-CoV-2, γρίπη A, γρίπη B, RSV (τύποι A και B), παραγρίπη (τύποι 1, 2, 3 και 4), ανθρώπινο κορονοϊό (229E, NL63, HKU1 και OC43), μεταπνευμονοϊό και αδενοϊό.

Το προϊόν προορίζεται για χρήση από καταρτισμένο και εκπαιδευμένο κλινικό εργαστηριακό προσωπικό, το οποίο έχει λάβει εξειδικευμένες οδηγίες και εκπαίδευση αναφορικά με τις τεχνικές PCR πραγματικού χρόνου και τις *in vitro* διαγνωστικές διαδικασίες (περιλαμβανομένης της εκπαίδευσης για το όργανο PCR πραγματικού χρόνου (θερμικός κυκλοποιητής) και το σύστημα εκχύλισης νουκλεϊκού οξέος).

2. Σύνοψη και επεξήγηση

Ο κορονοϊός του σοβαρού οξέος αναπνευστικού συνδρόμου 2, ή SARS-CoV-2 όπως είναι ευρέως γνωστός, είναι ο αναπνευστικός ιός που εμφανίστηκε στα τέλη του 2019 και είναι υπεύθυνος για τη νόσο COVID-19, η οποία αργότερα χαρακτηρίστηκε ως παγκόσμια πανδημία από τον ΠΟΥ (Fernández-Pérez et al., 2021; Hu et al., 2021; WHO | World Health Organization, 2023a). Αυτός ο νέος κορονοϊός είναι ένας μονόκλωνος ιός RNA που έχει συμπεριληφθεί στην οικογένεια *Coronaviridae*, στο γένος β (Fernández-Pérez et al., 2021). Η λοίμωξη από SARS-CoV-2 μπορεί να επηρεάσει τόσο τους ενήλικες όσο και τα παιδιά, αν και τα άτομα άνω των 60 ετών και όσοι παρουσιάζουν προϋπάρχουσες ιατρικές παθήσεις είναι πιο επιρρεπή σε πιο σοβαρή μορφή της νόσου COVID-19 (WHO | World Health Organization, 2023a). Η λοίμωξη μπορεί να είναι ασυμπτωματική ή να προκαλέσει

διάφορα συμπτώματα από χαμηλό έως υψηλό βαθμό έντασης και βαρύτητας, πολύ παρόμοια με τη γρίπη (CDC |, 2023; Safiabadi Tali et al., 2021).

Η γρίπη είναι η οξεία λοίμωξη του αναπνευστικού συστήματος που προκαλείται από τον ιό της γρίπης, ο οποίος προσβάλλει την αναπνευστική οδό, και κυκλοφορεί σε παγκόσμιο επίπεδο (Uyeki et al., 2022; WHO | World Health Organization, 2023b). Η εποχική γρίπη, συγκεκριμένα, είναι αυτή που προκαλείται από τους εποχικούς ιούς γρίπης Α και Β, οι οποίοι ευθύνονται για τις εποχικές επιδημίες που συνήθως εμφανίζονται τους χειμερινούς μήνες σε εύκρατα κλίματα και καθ' όλη τη διάρκεια του έτους σε τροπικές περιοχές (Tyrrrell et al., 2021; Uyeki et al., 2022; WHO | World Health Organization, 2023b). Οι ιοί της γρίπης, οι οποίοι ανήκουν στην οικογένεια *Orthomyxoviridae*, είναι ιοί μονόκλωνου RNA αρνητικής πολικότητας με οκτώ τμήματα που κωδικοποιούν 12 ιικές πρωτεΐνες (Krammer et al., 2018; Uyeki et al., 2022). Το ιικό περίβλημα, το οποίο προέρχεται από την πλασματική μεμβράνη του ξενιστή, αποτελείται από μια διπλή στιβάδα λιπιδίων που περιέχει τις διαμεμβρανικές πρωτεΐνες αιμοσυγκολλητίνη (HA), νευραμινιδάση (NA), ιική νουκλεοπρωτεΐνη (NP), πρωτεΐνη μήτρας (M1) και πρωτεΐνη μεμβράνης (M2) (Krammer et al., 2018).

Ο αναπνευστικός συγκυτιακός ιός (RSV) είναι ένας άλλος αναπνευστικός και εποχικός ιός που προσβάλλει το κατώτερο αναπνευστικό σύστημα σε όλες τις ηλικιακές ομάδες (WHO | World Health Organization, n.d.). Αυτός ο μονόκλωνος μη κατακερματισμένος ιός RNA αρνητικής πολικότητας, μέλος της οικογένειας *Pneumoviridae*, είναι γνωστός για το γεγονός ότι προσβάλλει κυρίως τα νήπια κάτω των 2 ετών, αλλά μπορεί επίσης να επηρεάσει σοβαρά τους ενήλικες άνω των 65 ετών ή/και τα ανοσοκατεσταλμένα άτομα ή όσους πάσχουν από συγκεκριμένες συννοσηρότητες (Abu-Raya et al., 2023; Bergeron & Tripp, 2021; WHO | World Health Organization, n.d.).

Η διάγνωση των προαναφερθεισών αναπνευστικών νόσων είναι δύσκολη, επειδή συνήθως παρουσιάζουν κοινά συμπτώματα (Uyeki et al., 2022). Έτσι, η ακριβής διάγνωση είναι ζωτικής σημασίας όχι μόνο για να διαπιστωθεί η αιτία της νόσου, αλλά και για να προβλεφθούν επιδημικά/πανδημικά κύματα και να μετριαστεί ο παράπλευρος αντίκτυπος στα υγειονομικά και τα οικονομικά συστήματα (Safiabadi Tali et al., 2021; Uyeki et al., 2022). Διατίθενται πολλοί τύποι διαγνωστικών τεστ (παρακλίνια ανίχνευση ή με ταχεία ανίχνευσης αντιγόνου). Ωστόσο, η RT-PCR είναι πιο ευαίσθητη και ειδική και επιτρέπει την ανίχνευση πολλών συγκυκλοφορούντων αναπνευστικών ιών ταυτόχρονα, μειώνοντας τον χρόνο διάγνωσης (Uyeki et al., 2022).

Η νόσος της κατώτερης αναπνευστικής οδού ευθύνεται για περίπου τέσσερα εκατομμύρια θανάτους ετησίως παγκοσμίως. Μια μεγάλη ποικιλία ιών μπορεί να θεωρηθεί υπεύθυνη για αυτήν: Ένας από αυτούς είναι ο κορονοϊός, ο οποίος ανήκει στην οικογένεια *Coronaviridae* (Friedman et al., 2018). Αυτός οι παγκοσμίως κυκλοφορών ιός είναι μεγάλος ιός που φέρει περίβλημα και περιέχει ένα μονόκλωνο γονιδίωμα RNA θετικής πολικότητας (Lim et al., 2016; Zeng et al., 2018). Σχετίζεται άμεσα με νόσους του αναπνευστικού συστήματος, του γαστρεντερικού συστήματος και του κεντρικού νευρικού συστήματος. Οι κορονοϊοί χαρακτηρίζονται από τη διαίρεσή τους σε τρία ορότυπα ή ομάδες. Οι ομάδες 1 και 2 αφορούν κορονοϊούς θηλαστικών, ενώ η ομάδα 3 αποτελείται από κορονοϊούς πτηνών. Στον κοινό ανθρώπινο κορονοϊό συγκαταλέγονται τα στελέχη HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 και HCoV-HKU1 (Zeng et al., 2018). Οι HCoV είναι δύσκολο να ανιχνευθούν μέσω των συνήθων διαγνωστικών

μεθόδων, επειδή τυπικά ανιχνεύονται ταυτόχρονα με άλλους αναπνευστικούς ιούς, όπως ο HRSV ή οι ιοί της γρίπης (Gaunt et al., 2010). Λόγω όλων των παραπάνω, η PCR πραγματικού χρόνου είναι μία από τις προτιμώμενες μεθόδους για τη διάγνωση κορονοϊών λόγω της ειδικότητάς της. Πιο συγκεκριμένα, η PCR πραγματικού χρόνου που έχει ως στόχο το γονίδιο *N* για τα στελέχη 229E, OC43 και NL63, καθώς και το γονίδιο *rep* για το στέλεχος HKU1.

Οι ιοί της παραγρίπης (PIV ή HPIV στον άνθρωπο) αποτελούν μέρος της οικογένειας *Paramyxoviridae* και ταξινομούνται γενετικά και αντιγονικά σε τέσσερις τύπους. Αυτοί οι ιοί μπορεί να προκαλέσουν αναπνευστικές λοιμώξεις σε βρέφη, παιδιά και ενήλικες, με τον τύπο της λοίμωξης και τα ειδικά συμπτώματα να ποικίλλουν ανάλογα με τον τύπο. Ο HPIV-1 και ο HPIV-2 προκαλούν και οι δύο ασθένειες του ανώτερου και κατώτερου αναπνευστικού, όπως κρυολογήματα και λαρυγγίτιδα, με τον HPIV-1 να απαντά συχνότερα σε παιδιά. Ο HPIV-3 συνδέεται πιο συχνά με παθήσεις του κατώτερου αναπνευστικού, όπως η βρογχιολίτιδα, η βρογχίτιδα και η πνευμονία. Ο HPIV-4 αναγνωρίζεται λιγότερο συχνά, αλλά μπορεί επίσης να προκαλέσει ήπιες έως σοβαρές αναπνευστικές νόσους (Henrickson, 2003). Οι ιοί της παραγρίπης είναι ιοί μέσου μεγέθους με περίβλημα με γονιδίωμα οργανωμένο σε μία μόνο αρνητικής πολικότητας αλυσίδα RNA που κωδικοποιεί τουλάχιστον έξι κοινές δομικές πρωτεΐνες. Ο ιός αυτός φέρει δύο γλυκοπρωτεΐνες περιβλήματος: HN, που περιέχει τόσο αιμοσυγκολλητική όσο και νευραμινιδασική δραστηριότητα, και F, που φέρει δραστηριότητα σύντηξης (Henrickson, 2003).

Η ιική καλλιέργεια σε συνδυασμό με την ανοσοφθορισμό είναι η παραδοσιακή μέθοδος για τη διάγνωση, αλλά είναι χρονοβόρα (Templeton et al., 2004). Τα τεστ ανίχνευσης αντιγόνων χρησιμοποιούνται ευρέως, αλλά είναι λιγότερο ευαίσθητα και ειδικά από άλλα διαγνωστικά εργαλεία, όπως οι αναλύσεις PCR πραγματικού χρόνου (Jansen et al., 2011; Templeton et al., 2004), οι οποίες θεωρούνται σήμερα μία από τις καλύτερες μεθόδους επιλογής.

Ο αδενοϊός ανήκει στην οικογένεια *Adenoviridae* δίκλωνων (dsDNA) ιών χωρίς περίβλημα (Datta, 2023; Ison & Hayden, 2016). Υπάρχουν περισσότερα από 50 ανοσολογικά διακριτά ορότυπα ανθρώπινου αδενοϊού (Lynch & Kajon, 2016) που ταξινομούνται σε 7 είδη (αδενοϊός-A έως αδενοϊός-G) και μπορούν να προκαλέσουν λοιμώξεις στον άνθρωπο που κυμαίνονται από αναπνευστικές νόσους (είδη αδενοϊού-E, C και ορισμένα είδη B) έως λοιμώξεις του πεπτικού συστήματος (κυρίως τα είδη αδενοϊού-A και F), λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος (άλλα είδη αδενοϊού-B) και επιπεφυκίτιδα (αδενοϊός-D) (Buckwalter et al., 2012; Datta, 2023). Η μετάδοση γίνεται μέσω της εισπνοής αερομεταφερόμενων σταγονιδίων, του άμεσου ενοφθαλμισμού του επιπεφυκότα, της διασποράς μέσω κοπράνων-στόματος ή της έκθεσης σε μολυσμένο ιστό ή αίμα (Ison & Hayden, 2016).

Ο ανθρώπινος μεταπνευμονοϊός ανήκει στην οικογένεια *Paramyxoviridae* (Schuster & Williams, 2013) και αποτελεί σημαντική αιτία λοίμωξης του ανώτερου και κατώτερου αναπνευστικού συστήματος. Ο μεταπνευμονοϊός είναι ένας μονόκλωνος ιός RNA αρνητικής πολικότητας με περίβλημα. Τα κλινικά συμπτώματα του μεταπνευμονοϊού περιλαμβάνουν βήχα, πυρετό, ρινική συμφόρηση και δύσπνοια και μπορεί να εξελιχθούν σε βρογχιολίτιδα ή πνευμονία (Uddin & Thomas, 2020). Ο μεταπνευμονοϊός μεταδίδεται κυρίως μέσω μολυσματικών αερομεταφερόμενων σταγονιδίων και έχει αναφερθεί ως ο δεύτερος πιο συχνά ανευρισκόμενος ιός στις

αναπνευστικές λοιμώξεις, με τα παιδιά ηλικίας κάτω των πέντε ετών να είναι τα πιο ευάλωτα στη λοίμωξη (Schuster & Williams, 2013).

Η διάγνωση μπορεί να αποδειχθεί προβληματική, καθώς οι οξείες αναπνευστικές λοιμώξεις προκαλούνται από ένα ευρύ φάσμα παθογόνων μικροοργανισμών και εκδηλώνονται με παρόμοια κλινικά σύνδρομα. Αρχικά ταυτοποιούνταν με κυτταροκαλλιέργεια, αλλά η διάγνωση μέσω αυτής της διαδικασίας είναι χρονοβόρα μέχρι την εμφάνιση της κυτταροπαθογόνου επίδρασης. Οι ορολογικές εξετάσεις μπορεί να είναι χρήσιμες σε επιδημιολογικές έρευνες, αλλά έχουν περιορισμένη πρακτική αξία σε μεμονωμένους ασθενείς (Datta, 2023; Ison & Hayden, 2016; Lynch & Kajon, 2016; Schuster & Williams, 2013). Επομένως, η πραγματικού χρόνου (RT)-PCR είναι επί του παρόντος η μέθοδος που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση του αδενοϊού και του μεταπνευμονοϊού, λόγω της υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητάς της.

3. Αρχή της διαδικασίας

Το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System έχει σχεδιαστεί για την ταυτόχρονη ποιοτική ανίχνευση νουκλεϊκού οξέος από SARS-CoV-2, γρίπη A, γρίπη B, RSV (τύποι A και B), παραγρίπη (τύποι 1, 2, 3 και 4), ανθρώπινο κορονοϊό (229E, NL63, HKU1 και OC43), μεταπνευμονοϊό και αδενοϊό σε ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα. Η ανίχνευση γίνεται με μέθοδο RT-qPCR ενός βήματος, όπου η αντίστροφη μεταγραφή και η επακόλουθη ενίσχυση της ειδικής αλληλουχίας-στόχου λαμβάνουν χώρα στο ίδιο φρεάτιο αντίδρασης. Ο στόχος στο RNA που απομονώνεται μεταγράφεται με αντίστροφη μεταγραφή, δημιουργώντας συμπληρωματικό DNA. Αφού συντεθεί το cDNA ή απομονωθεί το DNA, η ταυτοποίηση αυτών των μικροοργανισμών πραγματοποιείται με την ενίσχυση μιας διατηρημένης περιοχής των γονιδίων *N* και *ORF1ab* του SARS-CoV-2, του γονιδίου *M* (πρωτεΐνη μήτρας 1 (M1)) για γρίπη A/B, του γονιδίου *HA* για γρίπη A υπότυπο H1N1, του γονιδίου *N* του RSV (τύποι A και B), του γονιδίου *HN* της παραγρίπης (τύποι 1, 2 και 3), του γονιδίου *F* της παραγρίπης (τύπος 4), του γονιδίου *N* του κορονοϊού (229E, NL63, HKU1 και OC43), του γονιδίου *F* του μεταπνευμονοϊού και του γονιδίου *hexon* του αδενοϊού, χρησιμοποιώντας ειδικούς εκκινητές και ανιχνευτές φθορίζουσας επισήμανσης.

Το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System βασίζεται στη δραστηριότητα εξωνουκλεάσης 5' της DNA πολυμεράσης. Κατά την ενίσχυση του DNA, αυτό το ένζυμο διασπά τον ανιχνευτή που συνδέεται με τη συμπληρωματική αλληλουχία DNA, διαχωρίζοντας τη χρωστική απόσβεσης από τον ανιχνευτή αναφοράς. Αυτή η αντίδραση δημιουργεί αύξηση στο σήμα φθορισμού που είναι ανάλογη με την ποσότητα της μήτρας-στόχου. Η μέτρηση του φθορισμού αυτού γίνεται στο BD MAX™ System.

Το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System περιέχει σε κάθε σωληνάριο όλα τα απαραίτητα στοιχεία για δοκιμασία PCR πραγματικού χρόνου (ειδικοί εκκινητές/ανιχνευτές, dNTP, ρυθμιστικό διάλυμα, πολυμεράση και αντίστροφη μεταγραφή) σε

σταθεροποιημένη¹ μορφή, καθώς και έναν **ενδογενή εσωτερικό μάρτυρα (EIC)** (ανθρώπινο γονίδιο *RNase P*) για την παρακολούθηση της ακεραιότητας του δείγματος και της διαδικασίας εκχύλισης ή/και για την αποφυγή της αναστολής της δραστηριότητας της πολυμεράσης. Τα ανθρώπινα housekeeping γονίδια εμπλέκονται στη βασική συντήρηση των κυττάρων και, συνεπώς, αναμένεται να υπάρχουν σε όλα τα εμπύρνηνα ανθρώπινα κύτταρα και να διατηρούν σχετικά σταθερά επίπεδα έκφρασης.

	Στόχος	Κανάλι	Γονίδιο
<i>Respiratory Virus Mix I</i>	SARS-CoV-2	475/520	Γονίδιο <i>N</i> και <i>ORF1ab</i>
	Γρίπη B	530/565	Γονίδιο <i>M1</i>
	Γρίπη A	585/630	Γονίδια <i>M1</i> και <i>HA</i>
	RSV (A/B)	630/665	Γονίδιο <i>N</i>
	Ενδογενής εσωτερικός μάρτυρας (EIC)	680/715	Ανθρώπινο γονίδιο <i>RNase P</i>
<i>Respiratory Virus Mix II</i>	Παραγρίπη (τύποι 1, 2 και 3)	475/520	Γονίδιο <i>HN</i>
	Παραγρίπη (τύπος 4)		Γονίδιο <i>F</i>
	Κορονοϊός (229E, NL63, HKU1 και OC43)	530/565	Γονίδιο <i>N</i>
	Μεταπνευμονοϊός	585/630	Γονίδιο <i>F</i>
	Αδενοϊός	630/665	Γονίδιο <i>Hexon</i>
	Ενδογενής εσωτερικός μάρτυρας (EIC)	680/715	Ανθρώπινο γονίδιο <i>RNase P</i>

Πίνακας 1. Στόχος, κανάλι και γονίδια.

4. Παρεχόμενα αντιδραστήρια

Το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System περιλαμβάνει τα υλικά και τα αντιδραστήρια που παρατίθενται στον Πίνακα 2:

Αντιδραστήριο/Υλικό	Περιγραφή	Εύρος συγκεντρώσεων	Γραμωτός κώδικας	Ποσότητα
<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube	Λυοπροστατευτικά και σταθεροποιητές	±6 g/100 mL*	Σακουλάκι αλουμινίου 1K	2 σακούλες των 12 διάφανων σωληναρίων
	Τριφωσφορικό νουκλεοτίδιο (dNTPs)	±1 mM*		
	Εκκινητές και ανιχνευτές	0,2-1 nMol/μL*		
	Ένζυμα	10-100 U/αντίδραση*		
<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube	Λυοπροστατευτικά και σταθεροποιητές	±6 g/100 mL*	Σακουλάκι αλουμινίου 1M	2 σακούλες των 12 διάφανων σωληναρίων
	Τριφωσφορικό νουκλεοτίδιο (dNTPs)	±1 mM*		
	Εκκινητές και ανιχνευτές	0,2-1 nMol/μL*		
	Ένζυμα	10-100 U/αντίδραση*		
Rehydration Buffer tube	Μείγμα διαλύματος φυσιολογικού ορού	±13 mM	Σακουλάκι αλουμινίου 11	1 σακουλάκι των 24 διάφανων σωληναρίων
	Ρυθμιστικό διάλυμα (TRIS, pH)	±67 mM		

Πίνακας 2. Αντιδραστήρια και υλικά που παρέχονται στο VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System με Αρ. Κατ. 444221.

* Για τα στοιχεία σε σταθεροποιημένη μορφή, το εύρος συγκεντρώσεων είναι για μετά την επανυδάτωση.

¹ Σημειώσατε ότι οι όροι «σταθεροποιημένο» και «λυοφιλοποιημένο» χρησιμοποιούνται αδιακρίτως και ως συνώνυμα σε όλο το έγγραφο.

5. Αντιδραστήρια και εξοπλισμός που παρέχονται από τον χρήστη

Στην παρακάτω λίστα περιλαμβάνονται τα υλικά που απαιτούνται για τη χρήση, αλλά δεν περιλαμβάνονται στο VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

- Όργανο PCR σε πραγματικό χρόνο: BD MAX™ System (Κωδ.: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Κωδ.:442827 ή 442828).
- BD MAX™ PCR Cartridges (Κωδ.: 437519).
- Vortex.
- Μικροπιπέττες (ακρίβεια μεταξύ 2 και 1000 µL).
- Νερό χωρίς νουκλεάσες.
- Ρύγχη με φίλτρο.
- Γάντια μίας χρήσης χωρίς πούδρα.

Προαιρετικά:

- Τα υλικά εξωτερικού μάρτυρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μέρος της διαδικασίας ποιοτικού ελέγχου των επιδόσεων της δοκιμασίας. Τα εμπορικά διαθέσιμα υλικά ελέγχου ή/και τα δείγματα που έχουν προηγουμένως χαρακτηριστεί ως θετικά ή αρνητικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εξωτερικός θετικός μάρτυρας (EPC) ή εξωτερικός αρνητικός μάρτυρας (ENC), αντίστοιχα. Η επιλογή και η επικύρωση του EPC και του ENC πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους ισχύοντες τοπικούς, κρατικούς ή/και ομοσπονδιακούς κανονισμούς και τις τυπικές διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου του εργαστηρίου. Επιπλέον, κατά τη χρήση εμπορικά διαθέσιμου υλικού ελέγχου, ο χρήστης πρέπει να ακολουθεί τις αντίστοιχες οδηγίες χρήσης.

Το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System έχει επικυρωθεί χρησιμοποιώντας το ExK™ TNA-3 (Κωδ.: 442827 ή 442828) στο όργανο PCR πραγματικού χρόνου BD MAX™ System.

Τα δείγματα που επιλέχθηκαν για την αξιολόγηση του τεχνολογικού προϊόντος ήταν ρινοφαρυγγικά (NF) δείγματα που συλλέχθηκαν χρησιμοποιώντας εύκαμπτο, νάιλον, αποστειρωμένο στείλεό (εφεξής αναφερόμενα ως ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα). Στη συνέχεια, ο στείλεός τοποθετείται μέσα στο σωληνάριο του BD™ Universal Viral Transport System (UVT, SKU: 220220) ή Universal Transport Media® (UTM®) (Copan).

6. Συνθήκες μεταφοράς, φύλαξης και χρήσης

- Τα κιτ μπορούν να αποσταλούν και να φυλαχτούν σε θερμοκρασίες 2-30°C έως την ημερομηνία λήξης η οποία δηλώνεται στην ετικέτα του κιτ.
- Αποφύγετε τους κραδασμούς κατά τη διάρκεια της μεταφοράς για να μη σημειωθεί διαρροή υγρού.
- Αφού ανοίξετε τα σακουλάκια αλουμινίου που περιέχουν τα σωληνάρια αντίδρασης, το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για έως και 28 ημέρες στους 2-30°C. Φυλάσσετε το φιαλίδιο μακριά από το φως.

Στον ακόλουθο πίνακα συνοψίζονται οι συνθήκες μεταφοράς, φύλαξης και χρήσης του κιτ συνολικά και του κάθε στοιχείου ξεχωριστά:

Στοιχείο	Συνθήκες μεταφοράς	Συνθήκες φύλαξης	Συνθήκες κατά τη διάρκεια της χρήσης
Ολόκληρο το VIASURE <i>Respiratory Virus Extended Mix</i> Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	2-30°C για τη διάρκεια ζωής που αναγράφεται στην ετικέτα του κιτ.	Πριν από τη χρήση: 2-30°C για τη διάρκεια ζωής που αναγράφεται στην ετικέτα του κιτ.	* Δείτε τις συνθήκες κατά τη διάρκεια της χρήσης κάθε στοιχείου.
<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube (σακουλάκι αλουμινίου 1K)		Πριν από τη χρήση: 2-30°C για τη διάρκεια ζωής που αναγράφεται στην ετικέτα του κιτ. Αφού ανοίξετε το σακουλάκι με την πυριτική πηκτή: 2-30°C για έως και 28 ημέρες.	Θερμοκρασία δωματίου.
<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube (σακουλάκι αλουμινίου 1M)		Πριν από τη χρήση: 2-30°C για τη διάρκεια ζωής που αναγράφεται στην ετικέτα του κιτ. Αφού ανοίξετε το σακουλάκι με την πυριτική πηκτή: 2-30°C για έως και 28 ημέρες.	Θερμοκρασία δωματίου.
Rehydration Buffer tube		Πριν από τη χρήση: 2-30°C για τη διάρκεια ζωής που αναγράφεται στην ετικέτα του κιτ. Αφού ανοίξετε το σακουλάκι με την πυριτική πηκτή: 2-30°C για έως και 28 ημέρες.	Θερμοκρασία δωματίου.

Πίνακας 3. Σύνοψη των συνθηκών μεταφοράς, φύλαξης και χρήσης του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System και κάθε στοιχείου.

7. Προφυλάξεις για τους χρήστες

- Το προϊόν προορίζεται για χρήση από ειδικευμένο και εκπαιδευμένο κλινικό εργαστηριακό προσωπικό, το οποίο έχει λάβει εξειδικευμένες οδηγίες και εκπαίδευση στις τεχνικές PCR πραγματικού χρόνου και τις *in vitro* διαγνωστικές διαδικασίες.
- Για διαγνωστική χρήση *in vitro*.
- Οι οδηγίες χρήσης του προϊόντος VIASURE και το εγχειρίδιο χρήστη του BD MAX™ System πρέπει να διαβαστούν προσεκτικά πριν από τη χρήση του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Η δοκιμασία πρέπει να εκτελεστεί εφόσον έχουν διαβαστεί και έχουν γίνει κατανοητές οι διαδικασίες, οι προφυλάξεις ασφάλειας και οι περιορισμοί που περιγράφονται στο παρόν.
- Μην χρησιμοποιείτε ληγμένα αντιδραστήρια ή/και υλικά.
- Μην χρησιμοποιείτε το κιτ εάν έχει ανοιχτεί η ετικέτα που σφραγίζει το εξωτερικό κουτί.
- Μην χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια εάν το προστατευτικό κουτί είναι ανοιχτό ή σπασμένο κατά την άφιξη.
- Μην χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια εάν οι προστατευτικές θήκες είναι ανοιχτές ή σπασμένες κατά την άφιξη.
- Μην χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια εάν δεν υπάρχει το αποξηραντικό ή αν είναι σπασμένο μέσα στις θήκες των αντιδραστηρίων.
- Μην αφαιρείτε το αποξηραντικό από τα σακουλάκια αντιδραστηρίων.
- Μην χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια εάν το σακουλάκι αλουμινίου έχει ανοιχτεί ή έχει υποστεί ζημιά.
- Μην αναμιγνύετε αντιδραστήρια από διαφορετικά σακουλάκια ή/και κιτ ή/και παρτίδες.

- Να κλείνετε αμέσως τα προστατευτικά σακουλάκια των αντιδραστηρίων με τη σφράγιση μετά από κάθε χρήση, για να προστατεύσετε το κύριο μείγμα από το ηλιακό φως. Αφαιρέστε τυχόν πλεονάζοντα αέρα από τα σακουλάκια πριν από τη σφράγιση.
- Προστατεύετε τα αντιδραστήρια από την υγρασία. Η παρατεταμένη έκθεση σε υγρασία μπορεί να επηρεάσει τις επιδόσεις του προϊόντος.
- Για να αποφευχθεί η φθορά της ετικέτας, μην χρησιμοποιείτε το προϊόν κοντά σε διαλύτες.
- Η εμφάνιση του μείγματος της αντίδρασης σε σταθεροποιημένη μορφή, συνήθως στον πυθμένα του σωληναρίου, η οποία διαφέρει από τη συνήθη (χωρίς κωνικό σχήμα, ανομοιογενής, μικρότερο/μεγαλύτερο μέγεθος ή/και χρώμα που διαφέρει από το λευκωπό), δεν τροποποιεί τη λειτουργικότητα του τεστ.
- Βεβαιωθείτε ότι το σωληνάριο αντίδρασης και το σωληνάριο ρυθμιστικού διαλύματος επανυδάτωσης έχουν ασφαλίσει στη θέση τους κατά τη διάρκεια της φόρτωσης του στατώ BD MAX™.
- Σε περιπτώσεις κατά τις οποίες διεξάγονται άλλα τεστ PCR στην ίδια γενική περιοχή του εργαστηρίου, πρέπει να είστε ιδιαίτερα προσεκτικοί ώστε να εξασφαλίσετε ότι το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, το κιτ εκχύλισης BD MAX™ ExK™ TNA-3, τυχόν πρόσθετα αντιδραστήρια που απαιτούνται για τα τεστ και το BD MAX™ System δεν έχουν επιμολυνθεί. Να αποφεύγετε πάντα την επιμόλυνση των αντιδραστηρίων από μικρόβια και ριβονουκλεάση (RNase)/δεοξυριβονουκλεάση (DNase). Συνιστάται η χρήση στείρων ρυγχών πιπέτας μίας χρήσης χωρίς ριβονουκλεάση (RNase)/δεοξυριβονουκλεάση (DNase), ανθεκτικών σε αεροζόλ ή θετικής μετατόπισης. Χρησιμοποιήστε νέο ρύγχος για κάθε δείγμα. Θα πρέπει να αλλάζετε γάντια πριν από το χειρισμό των αντιδραστηρίων και των δοχείων) (BD MAX™ PCR Cartridge).
- Για την αποφυγή μόλυνσης του περιβάλλοντος από αμπλικόνια, μην αποσυναρμολογήσετε το δοχείο BD MAX™ PCR Cartridge μετά τη χρήση. Οι δακτύλιοι στεγανοποίησης του δοχείου BD MAX™ PCR Cartridge έχουν σχεδιαστεί για την αποφυγή της μόλυνσης.
- Σχεδιάστε μια μονόδρομη ροή εργασίας. Θα πρέπει να ξεκινά από την περιοχή εκχύλισης και να συνεχίζει στην περιοχή ενίσχυσης και ανίχνευσης. Μην επιστρέφετε δείγματα, εξοπλισμό και αντιδραστήρια στην περιοχή στην οποία πραγματοποιήθηκε το προηγούμενο βήμα.
- Τηρήστε τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές. Φοράτε προστατευτικά ρούχα, χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης, γυαλιά και μάσκα. Μην τρώτε, πίνετε, καπνίζετε ή χρησιμοποιείτε καλλυντικά προϊόντα στην περιοχή εργασίας. Πλένετε τα χέρια σας μετά την ολοκλήρωση του τεστ.
- Τα δείγματα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικά μολυσματικά ή/και βιολογικά επικίνδυνα υλικά, όπως επίσης και όλα τα αντιδραστήρια και τα υλικά που έχουν εκτεθεί στα δείγματα και ο χειρισμός τους πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους εθνικούς κανονισμούς ασφαλείας. Λάβετε τις απαραίτητες προφυλάξεις κατά τη συλλογή, τη μεταφορά, τη φύλαξη, τον χειρισμό και την απόρριψη των δειγμάτων.
- Ο χειρισμός των δειγμάτων και των αντιδραστηρίων πρέπει να γίνεται σε θάλαμο βιολογικής ασφάλειας. Χρησιμοποιείτε μέσα ατομικής προστασίας (ΜΑΠ) που συνάδουν με τις τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες, για τον χειρισμό των δυνητικά μολυσματικών δειγμάτων. Η απόρριψη των αποβλήτων πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους ισχύοντες τοπικούς και περιφερειακούς κανονισμούς.

- Συνιστάται η τακτική απολύμανση του συνήθως χρησιμοποιούμενου εξοπλισμού, ειδικά στις μικροπιπέτες και τις επιφάνειες εργασίας.
- Σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1907/2006 (REACH), για τα VIASURE Real Time PCR Detection Kits for BD MAX™ System δεν απαιτούνται δελτία δεδομένων ασφάλειας υλικού λόγω της ταξινόμησής τους ως μη επικίνδυνα για την υγεία και το περιβάλλον, επειδή δεν περιέχουν ουσίες ή/και μείγματα που πληρούν τα κριτήρια ταξινόμησης κινδύνων που ισχύουν στον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1272/2008 (CLP) ή που βρίσκονται σε συγκεντρώσεις υψηλότερες από την τιμή που έχει καθοριστεί στον εν λόγω κανονισμό για τη δήλωσή τους. Μια δήλωση που αναφέρει ότι δεν απαιτείται δελτίο δεδομένων ασφάλειας υλικού μπορεί να ζητηθεί από τη Certest Biotec S.L.
- Βεβαιωθείτε ότι ο ορισμός του προγράμματος τεστ PCR στο BD MAX™ System έχει γίνει ακολουθώντας τις οδηγίες της ενότητας «Πρωτόκολλο PCR» (παράμετροι εκχύλισης δειγμάτων, προσαρμοσμένοι ραβδοκωδικοί, ρυθμίσεις PCR κ.λπ.).
- Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήστη του BD MAX™ System για πρόσθετες προειδοποιήσεις, προφυλάξεις και διαδικασίες.
- Το πιστοποιητικό ανάλυσης δεν παρέχεται μαζί με το τεχνολογικό προϊόν. Ωστόσο, μπορεί να ληφθεί από τον ιστότοπο της Certest Biotec S.L. (www.certest.es) εάν χρειαστεί.

8. Διαδικασία του τεστ

8.1. Συλλογή, μεταφορά και φύλαξη δειγμάτων

Το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System έχει δοκιμαστεί σε ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα που συλλέχθηκαν με αποστειρωμένο, εύκαμπτο νάιλον στείλειό και τοποθετήθηκαν αμέσως σε αποστειρωμένο σωληνάριο που περιείχε 3 mL BD™ Universal Viral Transport System (UVT, SKU: 220220)² ή Universal Transport Media® (UTM®) (Copan)³. Οι διαφορετικοί τύποι δειγμάτων θα πρέπει να επικυρωθούν από τον χρήστη.

Η συλλογή, φύλαξη και μεταφορά των δειγμάτων πρέπει να γίνεται σύμφωνα με συνθήκες που έχουν επικυρωθεί από τον χρήστη. Συνολικά, τα κλινικά δείγματα πρέπει να συλλέγονται και να επισημαίνονται κατάλληλα σε καθαρούς περιέκτες με ή χωρίς μέσο μεταφοράς (ανάλογα με τον τύπο του δείγματος). Μετά τη συλλογή, τα δείγματα πρέπει να τοποθετούνται σε σακούλα βιολογικού κινδύνου και να μεταφέρονται και να υποβάλλονται σε επεξεργασία το συντομότερο δυνατό, για να διασφαλίζεται η ποιότητα του τεστ. Τα δείγματα πρέπει να μεταφέρονται σε θερμοκρασία δωματίου (RT) για έως και 2 ώρες ή σε θερμοκρασία 4°C για έως και 5 ημέρες, σύμφωνα με τους τοπικούς και εθνικούς κανονισμούς για τη μεταφορά παθογόνου υλικού. Για μακροπρόθεσμη

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/>

μεταφορά (περισσότερες από 5 ημέρες), συνιστούμε την αποστολή σε θερμοκρασία -20°C ή χαμηλότερη⁴. Τα δείγματα που υποβάλλονται σε μοριακά τεστ πρέπει να φυλάσσονται υπό ελεγχόμενες συνθήκες, έτσι ώστε να μην αποδομούνται τα νουκλεϊκά οξέα κατά τη διάρκεια της φύλαξης. Συνιστάται η χρήση φρέσκων δειγμάτων για το τεστ, αλλά σε περίπτωση που αυτό δεν είναι δυνατό ή σε περίπτωση αναδρομικής μελέτης, τα δείγματα πρέπει να φυλάσσονται κατά προτίμηση σε θερμοκρασία -70 ή -80 °C και, ως δεύτερη επιλογή, σε θερμοκρασία -20 °C⁵. Πρέπει να αποφεύγονται οι επαναλαμβανόμενοι κύκλοι κατάψυξης-απόψυξης, για την αποφυγή αποδόμησης του δείγματος και των νουκλεϊκών οξέων.

Τα κλινικά δείγματα πρέπει να συλλέγονται, να μεταφέρονται και να φυλάσσονται σύμφωνα με τις κατάλληλες εργαστηριακές κατευθυντήριες οδηγίες ή/και τα εγχειρίδια πολιτικής του εργαστηρίου. Για παραδείγματα, ανατρέξτε στην κατευθυντήρια οδηγία IDSA (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) ή 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>.

Σημείωση: Οι συνθήκες συλλογής, μεταφοράς και φύλαξης των δειγμάτων που υποδεικνύονται παραπάνω προτείνονται με βάση τις συστάσεις για τα ρινοφαρυγγικά δείγματα που προορίζονται για την ανίχνευση νουκλεϊκού οξέος, όπως εμφανίζονται στην αναφερόμενη έκθεση συστάσεων της SEIMC για τις γενικές διαδικασίες συλλογής και μεταφοράς στην κλινική μικροβιολογία και στην έγκυρη καθοδηγητική έκθεση της IDSA. Ωστόσο, συνιστούμε να ακολουθείτε τις εργαστηριακές κατευθυντήριες οδηγίες ή/και το εγχειρίδιο πολιτικής εργαστηρίου για την ορθή μεταφορά και συντήρηση των δειγμάτων.

Διεξήχθη μια εσωτερική μελέτη σταθερότητας δειγμάτων με το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System χρησιμοποιώντας αρνητικά ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα που συλλέχθηκαν στο BD™ Universal Viral Transport System θετικά για τους στόχους του προϊόντος, κάθε στέλεχος σε συγκέντρωση 2-3 x LoD. Η σταθερότητα αναλύθηκε με τη βοήθεια τριών διαφορετικών δοκιμασιών: αρχική σταθερότητα (25°C: 24 και 48 ώρες, 4°C: 1, 2 και 7 ημέρες, -20°C: 2, 3 και 6 μήνες), σταθερότητα στο σωληνάριο ρυθμιστικού διαλύματος δείγματος (3 και 7 ημέρες στους 25° και 4°C) και πολυσταδιακή σταθερότητα (τα δείγματα επωάστηκαν στους 4°C και 25°C για 48 ώρες και στη συνέχεια αυτά τα δείγματα προστέθηκαν στο SBT και αναλύθηκαν μετά από 3 και 7 ημέρες στους 4°C και 25°C). Επιπλέον, τα δείγματα αναλύθηκαν αφού

⁴ IDSA guideline (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt, B. S. (2018). A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94))

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).

υποβλήθηκαν σε πέντε κύκλους κατάψυξης (στους -20°C) και απόψυξης (στους 25°C) για μία εβδομάδα. Τα αποτελέσματα έδειξαν καλές επιδόσεις των δειγμάτων που φυλάσσονταν σε όλες τις συνθήκες που δοκιμάστηκαν.

8.2. Προετοιμασία δείγματος και εκχύλιση NA

Εκτελέστε την προετοιμασία του δείγματος σύμφωνα με τις συστάσεις στις οδηγίες χρήσης του κιτ εκχύλισης που χρησιμοποιείται, BD MAX™ ExK™ TNA-3.

1. Χρησιμοποιώντας πιπέττα, μεταφέρετε 400 μL δείγματος σε BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube και κλείστε το σωληνάριο με πώμα διαφράγματος. Εξασφαλίστε την πλήρη ανάμειξη αναδεύοντας σε vortex το δείγμα σε υψηλή ταχύτητα για 1 λεπτό. Βεβαιωθείτε ότι έχετε αναδεύσει το δείγμα σε vortex για μερικά λεπτά πριν από την έναρξη της εκτέλεσης. Προχωρήστε στη λειτουργία του BD MAX™ System.

Σημειώστε ότι οι διαδικασίες προετοιμασίας εκχύλισης που αφορούν συγκεκριμένες εφαρμογές πρέπει να αναπτυχθούν και να επικυρωθούν από τον χρήστη και ότι άλλα δείγματα μπορεί να απαιτούν προκατεργασία.

8.3. Πρωτόκολλο PCR

Σημείωση: Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήστη του BD MAX™ System για αναλυτικές οδηγίες.

8.3.1. Δημιουργία προγράμματος τεστ PCR για το *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System

Σημείωση: Εάν έχετε ήδη δημιουργήσει το τεστ για το *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, μπορείτε να παραλείψετε το βήμα 8.3.1 και να μεταβείτε απευθείας στο βήμα 8.3.2.

- 1) Στην οθόνη «Run» (Εκτέλεση) του BD MAX™ System, επιλέξτε την καρτέλα «Test Editor» (Επεξεργασία τεστ).
- 2) Κάντε κλικ στο κουμπί «Create» (Δημιουργία).

Στην καρτέλα «Basic Information» (Βασικές πληροφορίες):

- 3) Στο πεδίο «Test Name» (Όνομα τεστ), δώστε ένα όνομα στο τεστ σας, π.χ. VIASURE Resp Virus.

Σημείωση: Το όνομα του τεστ πρέπει να είναι μοναδικό και να έχει μέγιστο αριθμό είκοσι χαρακτήρων.

- 4) Στο αναπτυσσόμενο μενού «Extraction Type» (Τύπος εκχύλισης), επιλέξτε «ExK TNA-3».
- 5) Στο αναπτυσσόμενο μενού «Master Mix Format» (Μορφή κύριου μείγματος), επιλέξτε «Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)» (Διπλό συμπυκνωμένο λυοφιλοποιημένο κύριο μείγμα με ρυθμιστικό διάλυμα επανυδάτωσης (Τύπος 5)). Όταν επιλέγεται το «Dual Master Mix», η διαμόρφωση της καρτέλας στα δεξιά της καρτέλας «Test Editor» (Επεξεργασία τεστ)

αλλάζει. Υπάρχουν επιπλέον καρτέλες για «PCR settings» (Ρυθμίσεις PCR), «Melt settings» (Ρυθμίσεις τήξης) και «Test Steps» (Βήματα τεστ) που αφορούν και τα δύο σωληνάρια για υποδοχές.

- 6) Στο πεδίο «Sample Extraction Parameters» (Παράμετροι εκχύλισης δείγματος) επιλέξτε «User Defined» (Ορισμός από τον χρήστη) και προσαρμόστε τις τιμές των ακόλουθων παραμέτρων (Πίνακας 4).

<i>Sample Extraction Parameters</i> (Παράμετροι εκχύλισης δείγματος)	<i>Value (units)</i> (Τιμή (μονάδες))
<i>Lysis Heat Time</i> (Χρόνος θέρμανσης λύσης)	10 min
<i>Lysis Temperature</i> (Θερμοκρασία λύσης)	60°C
<i>Sample Tip Height</i> (Ύψος άκρου δείγματος)	1600 βήματα
<i>Sample Volume</i> (Όγκος δείγματος)	950 µL
<i>Wash Volume</i> (Όγκος πλύσης)	500 µL
<i>Neutralization Volume</i> (Όγκος εξουδετέρωσης)	Δ/Ι
<i>DNase Heat Time</i> (Χρόνος θέρμανσης DNase)	Δ/Ι

Πίνακας 4. Παράμετροι εκχύλισης δείγματος που πραγματοποιείται με το BD MAX™ ExC™ TNA-3.

- 7) Στο πεδίο «Ct Calculation» (Υπολογισμός Ct) επιλέξτε «Call Ct at Threshold Crossing» (Ορισμός Ct στην τομή με το κατώφλιο) (προεπιλογή).
- 8) Εάν εκτελείτε λογισμικό έκδοσης 5.00 ή νεότερης και έχετε σωληνάρια για υποδοχές με ραβδοκωδικό, στο πεδίο «Custom Barcodes» (Προσαρμοσμένοι ραβδοκωδικοί) επιλέξτε την ακόλουθη διαμόρφωση:
- «Snap-In 2 Barcode» (Ραβδοκωδικός υποδοχής 2): 1K (σχετικά με το *Respiratory Virus Mix I* reaction tube).
 - «Snap-In 3 Barcode» (Ραβδοκωδικός υποδοχής 3): 11 (αφορά Rehydration Buffer tube).
 - «Snap-In 4 Barcode» (Ραβδοκωδικός υποδοχής 4): 1M (αφορά το *Respiratory Virus Mix II* reaction tube).

Στην καρτέλα «PCR Settings» (Ρυθμίσεις PCR):

- 9) Στο πεδίο «PCR Settings» (Ρυθμίσεις PCR) εισαγάγετε τις ακόλουθες παραμέτρους που περιγράφονται στους Πίνακες 5 και 6 για την υποδοχή 2 («Snap-In 2») (πράσινη χρωματική κωδικοποίηση στο στατώ) και την υποδοχή 4 («Snap-In 4») (μπλε χρωματική κωδικοποίηση στο στατώ), αντίστοιχα: «Alias» (Ψευδώνυμο) (έως επτά αλφαριθμητικοί χαρακτήρες), «PCR Gain» (Απόδοση PCR), «Threshold» (Κατώφλιο), «Ct Min» (Ελάχ. Ct) και «Ct Max» (Μέγ. Ct).

<i>Channel</i> (Κανάλι)	<i>Alias</i> (Ψευδώνυμο)	<i>PCR Gain</i> (Απόδοση PCR)	<i>Threshold</i> (Κατώφλιο)	<i>Ct Min</i> (Ct, ελάχ.)	<i>Ct Max</i> (Ct, μέγ.)
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

Πίνακας 5. «PCR Settings» (Ρυθμίσεις PCR) για την υποδοχή 2.

<i>Channel</i> (Κανάλι)	<i>Alias</i> (Ψευδώνυμο)	<i>PCR Gain</i> (Απόδοση PCR)	<i>Threshold</i> (Κατώφλιο)	<i>Ct Min</i> (Ct, ελάχ.)	<i>Ct Max</i> (Ct, μέγ.)
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

Πίνακας 6. «PCR Settings» (Ρυθμίσεις PCR) για την υποδοχή 4.

Σημείωση: Συνιστάται να ορίσετε τις ελάχιστες τιμές κατωφλίου που αναφέρονται παραπάνω για κάθε κανάλι ως σημείο εκκίνησης, αλλά οι τελικές ρυθμίσεις πρέπει να καθορίζονται από τον τελικό χρήστη κατά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, προκειμένου να διασφαλιστεί ότι τα κατώφλια εμπίπτουν εντός της εκθετικής φάσης των καμπυλών φθορισμού και πάνω από οποιοδήποτε σήμα υποβάθρου. Η τιμή κατωφλίου μπορεί να διαφέρει για διαφορετικά όργανα λόγω των διαφορετικών εντάσεων σήματος.

10) Στο πεδίο «Color compensation» (Χρωματική αντιστάθμιση) εισαγάγετε τις ακόλουθες παραμέτρους (Πίνακες 7 και 8).

		False Receiving Channel (Κανάλι ψευδούς λήψης)				
Channel (Κανάλι)		475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Κανάλι διέγερσης)	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	-

Πίνακας 7. Παράμετροι «Color compensation» (Χρωματική αντιστάθμιση) για την υποδοχή 2 (snap-in 2).

		False Receiving Channel (Κανάλι ψευδούς λήψης)				
Channel (Κανάλι)		475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Κανάλι διέγερσης)	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	-

Πίνακας 8. Παράμετροι «Color compensation» (Χρωματική αντιστάθμιση) για την υποδοχή 4 (snap-in 4).

Στις καρτέλες «Melt Settings» (Ρυθμίσεις τήξης) δεν χρειάζεται καμία ενέργεια, καθώς δεν ισχύει για αυτό το προϊόν.

Στην καρτέλα «Test Steps» (Βήματα τεστ):

- 11) Εισαγάγετε το όνομα του βήματος (έως είκοσι χαρακτήρες) και ορίστε τις ακόλουθες παραμέτρους για να καθορίσετε κάθε βήμα του πρωτοκόλλου PCR: «Profile Type» (Τύπος προφίλ), «Cycles» (Κύκλοι), «Time» (Χρόνος) και «Temperature» (Θερμοκρασία) και επιλέξτε το πεδίο «Detect» (Ανίχνευση) για να καθορίσετε το βήμα ανίχνευσης (Πίνακας 9). Κάντε κλικ στο κουμπί «Add» (Προσθήκη) για να προσθέσετε ένα νέο βήμα και επαναλάβετε τη διαδικασία μέχρι να ορίσετε όλα τα απαραίτητα βήματα.

Σημείωση: Το πεδίο «Type» (Τύπος) πρέπει να είναι κενό.

Step (Βήμα)	Step name (Όνομα βήματος)	Profile Type (Τύπος προφίλ)	Cycles (Κύκλοι)	Time (s) (Χρόνος (δευτ.))	Temperature (Θερμοκρασία)	Detect (Ανίχνευση)
Reverse transcription (Αντίστροφη μεταγραφή)	RV-transcription	Hold	1	900	45°C	-
Initial denaturation (Αρχική αποδιάταξη)	IN-denaturation	Hold	1	120	98°C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Αποδιάταξη και υβριδισμός/επιμήκυνση (συλλογή δεδομένων))	Annealing/Extension	2-Temperature	45	10	95°C	-
				61,1	63°C	✓

Πίνακας 9. Πρωτόκολλο PCR για την υποδοχή 2 (snap-in 2) και την υποδοχή 4 (snap-in 4).

Στην καρτέλα «Result Logic» (Λογική αποτελεσμάτων):

- 12) Στο πεδίο «Target» (Στόχος) δώστε ένα όνομα στον στόχο σας, π.χ. SARS (έως επτά αλφαριθμητικοί χαρακτήρες). Επαναλάβετε τα βήματα 12-15 για κάθε στόχο (δηλ. SARS, FLUB, FLUA και RSV για το προσάρτημα 2 (snap-in 2) ή HPIV, HCOV, MPV και HADV για το προσάρτημα 4 (snap-in 4)) ακολουθώντας τους πίνακες που είναι ειδικοί για τον στόχο που ορίζεται.

Σημείωση: Επιλέξτε την υποδοχή 2 (πράσινο) (snap-in 2 (green)) στο αναπτυσσόμενο μενού «Master Mix» (Κύριο μείγμα) για να ορίσετε τη λογική αποτελεσμάτων για το πρώτο μείγμα αντίδρασης και την υποδοχή 4 (μπλε) (snap-in 4 (blue)) για το δεύτερο μείγμα αντίδρασης. Τα ονόματα των στόχων πρέπει να είναι διαφορετικά για την υποδοχή 2 και την υποδοχή 4.

- 13) Κάντε κλικ στο πλαίσιο ελέγχου «Analyze» (Ανάλυση) για να συμπεριλάβετε τα επιθυμητά μήκη κύματος (κανάλια PCR) στην ανάλυση των αποτελεσμάτων του στόχου (Πίνακες 10-13 για την υποδοχή 2 και Πίνακες 14-17 για την υποδοχή 4).

Πρώτο κύριο μείγμα (Respiratory Virus Mix / reaction tube): Υποδοχή 2 (πράσινο) (Snap-in 2 (green))

Wavelength (Μήκος κύματος)	Alias (Ψευδώνυμο)	Type (Τύπος)	Analyze (Ανάλυση)
475/520	SARS	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Πίνακας 10. Επιλογή καναλιών PCR στην καρτέλα «Result logic» (Λογική αποτελεσμάτων) για στόχο SARS (SARS-CoV-2).

<i>Wavelength</i> (Μήκος κύματος)	<i>Alias</i> (Ψευδώνυμο)	<i>Type</i> (Τύπος)	<i>Analyze</i> (Ανάλυση)
530/565	FLUB	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Πίνακας 11. Επιλογή καναλιών PCR στην καρτέλα «Result logic» (Λογική αποτελεσμάτων) για στόχο FLUB (γρίπη Β).

<i>Wavelength</i> (Μήκος κύματος)	<i>Alias</i> (Ψευδώνυμο)	<i>Type</i> (Τύπος)	<i>Analyze</i> (Ανάλυση)
585/630	FLUA	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Πίνακας 12. Επιλογή καναλιών PCR στην καρτέλα «Result logic» (Λογική αποτελεσμάτων) για στόχο FLUA (γρίπη Α).

<i>Wavelength</i> (Μήκος κύματος)	<i>Alias</i> (Ψευδώνυμο)	<i>Type</i> (Τύπος)	<i>Analyze</i> (Ανάλυση)
630/665	RSV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Πίνακας 13. Επιλογή καναλιών PCR στην καρτέλα «Result logic» (Λογική αποτελεσμάτων) για στόχο RSV (αναπνευστικός συγκυτιακός ιός τύποι Α και Β).

Δεύτερο κύριο μείγμα (Respiratory Virus Mix II reaction tube): Υποδοχή 4 (μπλε) (Snap-in 4 (blue))

<i>Wavelength</i> (Μήκος κύματος)	<i>Alias</i> (Ψευδώνυμο)	<i>Type</i> (Τύπος)	<i>Analyze</i> (Ανάλυση)
475/520	HPIV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Πίνακας 14. Επιλογή καναλιών PCR στην καρτέλα «Result logic» (Λογική αποτελεσμάτων) για στόχο HPIV (παραγρίπη τύποι 1, 2, 3 και 4).

<i>Wavelength</i> (Μήκος κύματος)	<i>Alias</i> (Ψευδώνυμο)	<i>Type</i> (Τύπος)	<i>Analyze</i> (Ανάλυση)
530/565	HCOV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Πίνακας 15. Επιλογή καναλιών PCR στην καρτέλα «Result logic» (Λογική αποτελεσμάτων) για στόχο HCOV (κορονοϊός 229E, NL63, HKU1 και OC43).

<i>Wavelength</i> (Μήκος κύματος)	<i>Alias</i> (Ψευδώνυμο)	<i>Type</i> (Τύπος)	<i>Analyze</i> (Ανάλυση)
585/630	MPV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Πίνακας 16. Επιλογή καναλιών PCR στην καρτέλα «Result logic» (Λογική αποτελεσμάτων) για στόχο MPV (μεταπνευμονοϊός).

<i>Wavelength</i> (Μήκος κύματος)	<i>Alias</i> (Ψευδώνυμο)	<i>Type</i> (Τύπος)	<i>Analyze</i> (Ανάλυση)
630/665	HADV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Πίνακας 17. Επιλογή καναλιών PCR στην καρτέλα «Result logic» (Λογική αποτελεσμάτων) για στόχο HADV (αδενοϊός).

14) Κάντε κλικ στο κουμπί «Edit Logic» (Επεξεργασία λογικής).

15) Στο παράθυρο «Edit Logic» (Επεξεργασία λογικής) εμφανίζονται όλες οι συνδυασμοί τύπων αποτελεσμάτων. Για κάθε γραμμή, από το αναπτυσσόμενο μενού «Result» (Αποτέλεσμα) επιλέξτε το αποτέλεσμα που εμφανίζεται όταν πληρούνται οι συνθήκες σε αυτήν τη γραμμή, ακολουθώντας τους Πίνακες 18-21 για την υποδοχή 2 και τους Πίνακες 22-25 για την υποδοχή 4.

Πρώτο κύριο μείγμα (*Respiratory Virus Mix I* reaction tube): Υποδοχή 2 (πράσινο) (snap-in 2 (green))

<i>Result</i> (Αποτέλεσμα)	SARS (475/520)	EIC (680/715)
POS	Valid (Έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Valid (Έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)
NEG	Invalid (Μη έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Invalid (Μη έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)

Πίνακας 18. Λίστα με τους συνδυασμούς τύπων αποτελεσμάτων και λογικής αποτελεσμάτων για στόχο SARS (SARS-CoV-2). Τα διαθέσιμα αποτελέσματα είναι POS (Θετικό), NEG (Αρνητικό) και UNR (Ανεπίλυτο).

<i>Result</i> (Αποτέλεσμα)	FLUB (530/565)	EIC (680/715)
POS	Valid (Έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Valid (Έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)
NEG	Invalid (Μη έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Invalid (Μη έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)

Πίνακας 19. Λίστα με τους συνδυασμούς τύπων αποτελεσμάτων και λογικής αποτελεσμάτων για στόχο FLUB (γρίπη Β). Τα διαθέσιμα αποτελέσματα είναι POS (Θετικό), NEG (Αρνητικό) και UNR (Ανεπίλυτο).

<i>Result</i> (Αποτέλεσμα)	FLUA (585/630)	EIC (680/715)
POS	Valid (Έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Valid (Έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)
NEG	Invalid (Μη έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Invalid (Μη έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)

Πίνακας 20. Λίστα με τους συνδυασμούς τύπων αποτελεσμάτων και λογικής αποτελεσμάτων για στόχο FLUA (γρίπη Β). Τα διαθέσιμα αποτελέσματα είναι POS (Θετικό), NEG (Αρνητικό) και UNR (Ανεπίλυτο).

<i>Result</i> (Αποτέλεσμα)	RSV (630/665)	EIC (680/715)
POS	Valid (Έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Valid (Έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)
NEG	Invalid (Μη έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Invalid (Μη έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)

Πίνακας 21. Λίστα με τους συνδυασμούς τύπων αποτελεσμάτων και λογικής αποτελεσμάτων για στόχο RSV (αναπνευστικός συγκυτιακός ιός τύποι Α και Β). Τα διαθέσιμα αποτελέσματα είναι POS (Θετικό), NEG (Αρνητικό) και UNR (Ανεπίλυτο).

Σημείωση: Σύμφωνα με την προηγουμένως καθορισμένη τιμή Ct Max (πίνακας 5):

- Τύπος αποτελέσματος για τα κανάλια SARS (475/520), FLUB (530/565), FLUA (585/630) ή RSV (630/665): «Valid» (Έγκυρο) όταν η τιμή Ct που λαμβάνεται είναι ≤ 40 και «Invalid» (Μη έγκυρο) όταν η τιμή Ct που λαμβάνεται είναι > 40 .
- Τύπος αποτελέσματος για το κανάλι EIC (680/715): «Valid» (Έγκυρο) όταν η τιμή Ct που λαμβάνεται είναι ≤ 35 και «Invalid» (Μη έγκυρο) όταν η τιμή Ct που λαμβάνεται είναι > 35 .

Δεύτερο κύριο μείγμα (*Respiratory Virus Mix II* reaction tube): Υποδοχή 4 (snap-in 4 (blue))

<i>Result</i> (Αποτέλεσμα)	HPIV (475/520)	EIC (680/715)
POS	Valid (Έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Valid (Έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)
NEG	Invalid (Μη έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Invalid (Μη έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)

Πίνακας 22. Λίστα με τους συνδυασμούς τύπων αποτελεσμάτων και λογικής αποτελεσμάτων για στόχο HPIV (παραγρίπη τύποι 1, 2, 3 και 4). Τα διαθέσιμα αποτελέσματα είναι POS (Θετικό), NEG (Αρνητικό) και UNR (Ανεπίλυτο).

<i>Result</i> (Αποτέλεσμα)	HCOV (530/565)	EIC (680/715)
POS	Valid (Έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Valid (Έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)
NEG	Invalid (Μη έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Invalid (Μη έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)

Πίνακας 23. Λίστα με τους συνδυασμούς τύπων αποτελεσμάτων και λογικής αποτελεσμάτων για στόχο HCOV (κορονοϊός 229E, NL63, HKU1 και OC43). Τα διαθέσιμα αποτελέσματα είναι POS (Θετικό), NEG (Αρνητικό) και UNR (Ανεπίλυτο).

<i>Result</i> (Αποτέλεσμα)	MPV (585/630)	EIC (680/715)
POS	Valid (Έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Valid (Έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)
NEG	Invalid (Μη έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Invalid (Μη έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)

Πίνακας 24. Λίστα με τους συνδυασμούς τύπων αποτελεσμάτων και λογικής αποτελεσμάτων για στόχο MPV (μεταπνευμονοϊός). Τα διαθέσιμα αποτελέσματα είναι POS (Θετικό), NEG (Αρνητικό) και UNR (Ανεπίλυτο).

<i>Result</i> (Αποτέλεσμα)	HADV (630/665)	EIC (680/715)
POS	Valid (Έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Valid (Έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)
NEG	Invalid (Μη έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Invalid (Μη έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)

Πίνακας 25. Λίστα με τους συνδυασμούς τύπων αποτελεσμάτων και λογικής αποτελεσμάτων για στόχο HADV (αδενοϊός). Τα διαθέσιμα αποτελέσματα είναι POS (Θετικό), NEG (Αρνητικό) και UNR (Ανεπίλυτο).

Σημείωση: Σύμφωνα με την προηγούμενως καθορισμένη τιμή Ct Max (πίνακας 6):

- i. Τύπος αποτελέσματος για τα κανάλια HPIV (475/520), HCOV (530/565), MPV (585/630) ή HADV (630/665): «Valid» (Έγκυρο) όταν η τιμή Ct που λαμβάνεται είναι ≤ 40 και «Invalid» (Μη έγκυρο) όταν η τιμή Ct που λαμβάνεται είναι > 40 .
- ii. Τύπος αποτελέσματος για το κανάλι EIC (680/715): «Valid» (Έγκυρο) όταν η τιμή Ct που λαμβάνεται είναι ≤ 35 και «Invalid» (Μη έγκυρο) όταν η τιμή Ct που λαμβάνεται είναι > 35 .

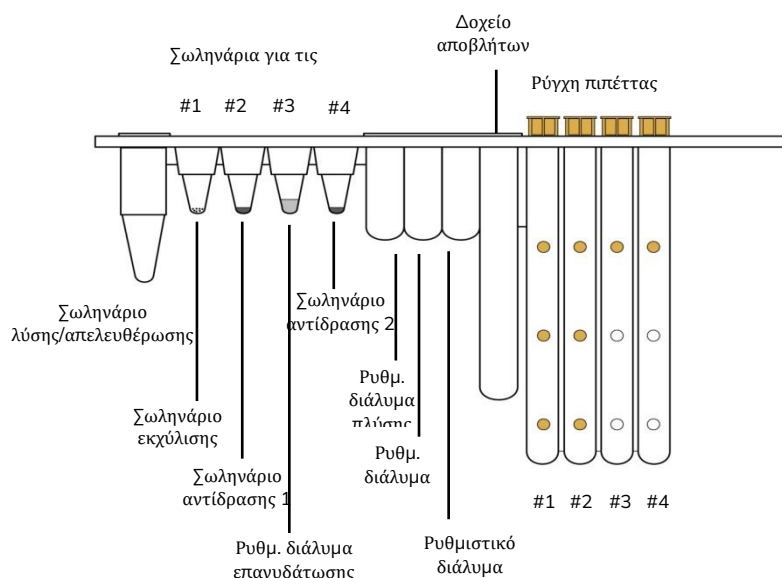
16) Κάντε κλικ στο «Save» (Αποθήκευση) για να αποθηκεύσετε το τεστ.

8.3.2. Ρύθμιση στατώ BD MAX™

- 1) Για κάθε δείγμα προς έλεγχο, αφαιρέστε ένα Unitized Reagent Strips από το BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit. Χτυπήστε απαλά κάθε λωρίδα σε μια σκληρή επιφάνεια για να βεβαιωθείτε ότι όλα τα υγρά βρίσκονται στο κάτω μέρος των σωληναρίων και φορτώστε στα στατώ δειγμάτων του BD MAX™ System.
- 2) Αφαιρέστε τον απαιτούμενο αριθμό BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (B4) (λευκό σακουλάκι αλουμινίου) από το προστατευτικό σακουλάκι. Τοποθετήστε τα Extraction Tube(s) (λευκό αλουμινόχαρτο) στις αντίστοιχες (υποδοχή 1, χρωματική κωδικοποίηση με λευκό στο στατώ. Βλ. Εικόνα 1). Αφαιρέστε τον πλεονάζοντα αέρα και κλείστε το σακουλάκι με φερμουάρ σφράγισης.

- 3) Προσδιορίστε και διαχωρίστε τον κατάλληλο αριθμό σωληναρίων *Respiratory Virus Mix I* reaction tubes (σακουλάκι αλουμινίου 1K) και τοποθετήστε τα στις αντίστοιχες θέσεις στη λωρίδα (υποδοχή 2, πράσινη χρωματική κωδικοποίηση στο στατώ. Βλ. Εικόνα 1).
- Αφαιρέστε τον πλεονάζοντα αέρα και σφραγίστε τα σακουλάκια αλουμινίου.
 - Για τη διεξαγωγή της σωστής επανυδάτωσης, βεβαιωθείτε ότι το λυοφιλοποιημένο προϊόν βρίσκεται στο κάτω μέρος του σωληναρίου και δεν είναι προσκολλημένο στην επάνω περιοχή του σωληναρίου ή στη σφράγιση στο σακουλάκι αλουμινίου. Χτυπήστε απαλά κάθε σωληνάριο σε μια σκληρή επιφάνεια για να βεβαιωθείτε ότι όλο το προϊόν βρίσκεται στον πυθμένα του σωληναρίου.
- 4) Αφαιρέστε τον απαιτούμενο αριθμό Rehydration Buffer tubes (σακουλάκι αλουμινίου 11) και τοποθετήστε στις αντίστοιχες θέσεις στη λωρίδα (υποδοχή 3, χωρίς χρωματική κωδικοποίηση χωρίς χρώμα στο στατώ. Βλ. Εικόνα 1).
- Αφαιρέστε τον πλεονάζοντα αέρα και κλείστε το σακουλάκι με φερμουάρ σφράγισης.
 - Για να εξασφαλιστεί η σωστή μεταφορά, βεβαιωθείτε ότι το υγρό βρίσκεται στον πυθμένα του σωληναρίου και δεν είναι προσκολλημένο στην επάνω περιοχή του σωληναρίου ή στη σφράγιση στο σακουλάκι αλουμινίου. Χτυπήστε απαλά κάθε σωληνάριο σε μια σκληρή επιφάνεια για να βεβαιωθείτε ότι όλο το ρυθμιστικό διάλυμα βρίσκεται στον πυθμένα του σωληναρίου.
- 5) Προσδιορίστε και διαχωρίστε τον κατάλληλο αριθμό σωληναρίων *Respiratory Virus Mix II* reaction tubes (σακουλάκι αλουμινίου 1M) και τοποθετήστε τα στις αντίστοιχες θέσεις στη λωρίδα (υποδοχή 4, μπλε χρωματική κωδικοποίηση στο στατώ. Βλ. Εικόνα 1).
- Αφαιρέστε τον πλεονάζοντα αέρα και κλείστε τα αλουμινένια σακουλάκια με το φερμουάρ σφράγισης.
 - Για τη διεξαγωγή της σωστής επανυδάτωσης, βεβαιωθείτε ότι το λυοφιλοποιημένο προϊόν βρίσκεται στο κάτω μέρος του σωληναρίου και δεν είναι προσκολλημένο στην επάνω περιοχή του σωληναρίου ή στη σφράγιση στο σακουλάκι αλουμινίου. Χτυπήστε απαλά κάθε σωληνάριο σε μια σκληρή επιφάνεια για να βεβαιωθείτε ότι όλο το προϊόν βρίσκεται στον πυθμένα του σωληναρίου.

Εικόνα 1. BD MAX™ TNA Reagent Strip (TNA) από BD MAX™ ExC™ TNA-3 kit.



8.3.3. Ρύθμιση οργάνου BD MAX™

- 1) Επιλέξτε την καρτέλα «Worklist» (Λίστα εργασιών) στην οθόνη «Run» (Εκτέλεση) στο λογισμικό BD MAX™ System, έκδ. 4.50A ή μεταγενέστερη.
- 2) Από το αναπτυσσόμενο μενού «Test» (Τεστ), επιλέξτε το επιθυμητό τεστ: π.χ. VIASURE Resp virus (εάν δεν έχει ήδη δημιουργηθεί, βλ. Ενότητα 8.3.1).
- 3) Από το αναπτυσσόμενο μενού «Kit Lot Number» (Αριθμός παρτίδας κιτ), επιλέξτε τον κατάλληλο αριθμό παρτίδας για το κιτ (βρίσκεται στο εξωτερικό κουτί του κιτ εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκε) (προαιρετικά).

Σημείωση: Οι αριθμοί παρτίδας πρέπει να έχουν οριστεί στην οθόνη «Inventory» (Απόθεμα) πριν μπορέσουν να επιλεγούν εδώ.

- 4) Εισαγάγετε τον αριθμό αναγνώρισης του Sample Buffer Tube στο πεδίο «Sample tube» (Σωληνάριο δείγματος), είτε σαρώνοντας τον ραβδοκωδικό με τον σαρωτή είτε με χειροκίνητη καταχώριση.
- 5) Συμπληρώστε το πεδίο «Patient ID» (Αναγνωριστικό ασθενούς) ή/και «Accession» (Πρόσβαση) και πατήστε το πλήκτρο «Tab» ή «Enter». Συνεχίστε μέχρι να καταχωριστούν όλοι οι ραβδοκωδικοί Sample Buffer Tubes. Βεβαιωθείτε ότι υπάρχει ακριβής αντιστοιχία μεταξύ του αναγνωριστικού δείγματος/ασθενούς και Sample Buffer Tubes.
- 6) Τοποθετήστε τα προετοιμασμένα Sample Buffer Tube στα στατώ BD MAX™.
- 7) Φορτώστε τα στατώ στο BD MAX™ System (Το στατώ A τοποθετείται στην αριστερή πλευρά του BD MAX™ System και το στατώ B στη δεξιά πλευρά).
- 8) Τοποθετήστε τον απαιτούμενο αριθμό BD MAX™ PCR Cartridges στο BD MAX™ System.
- 9) Κλείστε τη θύρα του BD MAX™ System.
- 10) Κάντε κλικ στο «Start» (Έναρξη εκτέλεσης) για να ξεκινήσει η διαδικασία.

8.3.4. Αναφορά αποτελεσμάτων BD MAX™

- 1) Από τη γραμμή μενού, κάντε κλικ στο κουμπί «Results» (Αποτελέσματα).
- 2) Κάντε διπλό κλικ στην εκτέλεση που σας ενδιαφέρει στη λίστα ή πατήστε το κουμπί «View» (Προβολή).
- 3) Τα κουμπιά «Print» (Εκτύπωση) και «Export» (Εξαγωγή) στο κάτω μέρος της οθόνης θα ενεργοποιηθούν.

Για να εκτυπώσετε τα αποτελέσματα:

1. Κάντε κλικ στο κουμπί «Print» (Εκτύπωση).
2. Στο παράθυρο προεπισκόπησης «Print» (Εκτύπωση) της αναφοράς της εκτέλεσης, επιλέξτε: «Run Details» (Λεπτομέρειες εκτέλεσης), «Test Details» (Λεπτομέρειες τεστ) και «Plots» (Γραφήματα).
3. Κάντε κλικ στο «Print» (Εκτύπωση) για να εκτυπώσετε την αναφορά ή κάντε κλικ στο «Export» (Εξαγωγή) για να εξαγάγετε την αναφορά σε PDF σε USB.

Για να εξαγάγετε τα αποτελέσματα:

1. Κάντε κλικ στο κουμπί «Export» (Εξαγωγή) για να μεταφέρετε την αναφορά (αρχείο PDF και CSV) σε USB.
2. Όταν ολοκληρωθεί η εξαγωγή, εμφανίζεται το εικονίδιο επιτυχίας/αποτυχίας στο παράθυρο «Results Export» (Εξαγωγή αποτελεσμάτων).

9. Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Για λεπτομερή περιγραφή του τρόπου ανάλυσης δεδομένων, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήστη του BD MAX™ System.

Η ανάλυση των δεδομένων γίνεται από το λογισμικό BD MAX™ σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Το λογισμικό BD MAX™ αναφέρει τιμές Ct και καμπύλες ενίσχυσης για κάθε κανάλι ανιχνευτή κάθε δείγματος που ελέγχεται με τον ακόλουθο τρόπο:

- Η τιμή Ct 0 υποδεικνύει ότι δεν υπολογίστηκε τιμή Ct από το λογισμικό με το καθορισμένο κατώφλιο (βλ. Πίνακα 5). Η καμπύλη ενίσχυσης του δείγματος που εμφανίζει την τιμή Ct "0" πρέπει να ελεγχθεί χειροκίνητα.
- Τιμή Ct -1 υποδηλώνει ότι δεν έχει συμβεί καμία διεργασία ενίσχυσης, ότι δεν υπολογίστηκε καμία τιμή Ct από το λογισμικό ή ότι η υπολογιζόμενη τιμή Ct είναι κάτω από το καθορισμένο κατώφλιο ή πάνω από την καθορισμένη μέγιστη τιμή Ct (τιμή αποκοπής).
- Οποιαδήποτε άλλη τιμή Ct πρέπει να ερμηνεύεται σε συσχέτιση με την καμπύλη ενίσχυσης και σύμφωνα με τη λογική αποτελεσμάτων που έχει οριστεί, ακολουθώντας τις οδηγίες ερμηνείας που περιγράφονται στους Πίνακες 26 και 27.

Ελέγξτε το σήμα ενδογενούς εσωτερικού μάρτυρα για να επαληθεύσετε τη σωστή λειτουργία του μείγματος ενίσχυσης. Επιπλέον, ελέγξτε ότι δεν υπάρχει αναφορά για αστοχία του BD MAX™ System.

Τα αποτελέσματα πρέπει να διαβάζονται και να αναλύονται χρησιμοποιώντας τους ακόλουθους πίνακες:

Πρώτο κύριο μείγμα (<i>Respiratory Virus Mix</i> / reaction tube): Υποδοχή 2 (Snap-In 2)				
SARS-CoV-2 (όνομα στόχου: SARS)	Γρίπη Β (όνομα στόχου: FLUB)	Γρίπη Α (όνομα στόχου: FLUA)	Αναπνευστικός συγκυτιακός ιός (όνομα στόχου: RSV)	Ερμηνεία αποτελεσμάτων δειγμάτων μεμονωμένου ασθενούς
POS	POS	POS	POS	Ανιχνεύθηκε RNA SARS-CoV-2, γρίπης Β, γρίπης Α και RSV
POS	POS	POS	NEG	Ανιχνεύθηκε RNA SARS-CoV-2, γρίπης Β και γρίπης Α, δεν ανιχνεύθηκε RNA RSV
POS	POS	NEG	POS	Ανιχνεύθηκε RNA SARS-CoV-2, γρίπης Β και RSV, δεν ανιχνεύθηκε RNA γρίπης Α
POS	NEG	POS	POS	Ανιχνεύθηκε RNA SARS-CoV-2, γρίπης Α και RSV, δεν ανιχνεύθηκε RNA γρίπης Β
NEG	POS	POS	POS	Ανιχνεύθηκε RNA γρίπης Β, γρίπης Α και RSV, δεν ανιχνεύθηκε RNA SARS-CoV-2
POS	POS	NEG	NEG	Ανιχνεύθηκε RNA SARS-CoV-2 και γρίπης Β, δεν ανιχνεύθηκε RNA γρίπης Α και RSV
POS	NEG	POS	NEG	Ανιχνεύθηκε RNA SARS-CoV-2 και γρίπης Α, δεν ανιχνεύθηκε RNA γρίπης Β και RSV
POS	NEG	NEG	POS	Ανιχνεύθηκε RNA SARS-CoV-2 και RSV, δεν ανιχνεύθηκε RNA γρίπης Β και γρίπης Α
NEG	POS	POS	NEG	Ανιχνεύθηκε RNA γρίπης Β και γρίπης Α, δεν ανιχνεύθηκε RNA SARS-CoV-2 και RSV
NEG	POS	NEG	POS	Ανιχνεύθηκε RNA γρίπης Β και RSV, δεν ανιχνεύθηκε RNA SARS-CoV-2 και γρίπης Α
NEG	NEG	POS	POS	Ανιχνεύθηκε RNA γρίπης Α και RSV, δεν ανιχνεύθηκε RNA SARS-CoV-2 και γρίπης Β
POS	NEG	NEG	NEG	Ανιχνεύθηκε RNA SARS-CoV-2, δεν ανιχνεύθηκε RNA γρίπης Β, γρίπης Α και RSV
NEG	POS	NEG	NEG	Ανιχνεύθηκε RNA γρίπης Β, δεν ανιχνεύθηκε RNA SARS-CoV-2, γρίπης Α και RSV
NEG	NEG	POS	NEG	Ανιχνεύθηκε RNA γρίπης Α, δεν ανιχνεύθηκε RNA SARS-CoV-2, γρίπης Β και RSV
NEG	NEG	NEG	POS	Ανιχνεύθηκε RNA RSV, δεν ανιχνεύθηκε RNA SARS-CoV-2, γρίπης Β και γρίπης Α
NEG	NEG	NEG	NEG	Δεν ανιχνεύτηκε στόχος RNA
UNR	UNR	UNR	UNR	Ανεπίλυτο (UNR) αποτέλεσμα που λαμβάνεται παρουσία αναστολέων στην αντίδραση PCR ή όταν παρουσιαστεί κάποιο γενικό πρόβλημα (που δεν αναφέρεται από κωδικό σφάλματος) κατά τη φάση επεξεργασίας δείγματος ή/και ενίσχυσης. ¹
IND	IND	IND	IND	Ασαφές αποτέλεσμα δοκιμασίας (IND). Λόγω αστοχίας του BD MAX™ System. Αποτέλεσμα της δοκιμασίας που εμφανίζεται σε περίπτωση αστοχίας του οργάνου που συνδέεται με κωδικό σφάλματος. ²

INC	INC	INC	INC	Ατελές αποτέλεσμα ανάλυσης (INC). Οφείλεται σε αστοχία του BD MAX™ System. Αποτέλεσμα δοκιμασίας που εμφανίζεται σε περίπτωση μη ολοκλήρωσης της εκτέλεσης. ²
-----	-----	-----	-----	--

Πίνακας 26. Ερμηνεία δείγματος.

1 Ο ενδογενής εσωτερικός μάρτυρας (EIC) πρέπει να εμφανίζει σήμα ενίσχυσης με τιμή $Ct \leq 35$ για να θεωρηθεί ότι πληροί τις προϋποθέσεις. Εάν απουσιάζει το σήμα για EIC ή η τιμή Ct είναι > 35 , το αποτέλεσμα θεωρείται ως Ανεπίλυτο (UNR) και απαιτείται επανάληψη του τεστ. Ελέγξτε την αναφορά αποτελεσμάτων και τις τιμές Ct των επιλεγμένων στόχων και προβείτε στην κατάλληλη ενέργεια λαμβάνοντας υπόψη τα εξής:

- I. Όταν τα αποτελέσματα των γονιδίων-στόχων είναι μη έγκυρα ($Ct > 40$, το οποίο εμφανίζεται από το λογισμικό ως αποτέλεσμα «-1»), απαιτείται επανάληψη της δοκιμασίας από το αρχικό δείγμα, προετοιμάζοντας εκ νέου Sample Buffer Tube (SBT), εάν υπάρχει διαθέσιμος επαρκής όγκος δείγματος. Ακολουθήστε τις εργαστηριακές κατευθυντήριες οδηγίες ή/και τα εγχειρίδια πολιτικής μικροβιολογικού εργαστηρίου.
- II. Όταν τα αποτελέσματα των γονιδίων-στόχων είναι έγκυρα ($Ct \leq 40$), είναι πιθανό να μην παρατηρηθεί ενίσχυση ή να παρατηρηθεί ενίσχυση από τον EIC με τιμή $Ct > 35$ (το οποίο εμφανίζεται από το λογισμικό ως αποτέλεσμα «-1») κατά τη δοκιμή δειγμάτων με υψηλή συγκέντρωση, λόγω της προτιμησιακής ενίσχυσης ειδικών νουκλεϊκών οξέων για τον στόχο. Εάν κριθεί απαραίτητο, αραιώστε αυτά τα δείγματα σε αναλογία 1/10, προετοιμάστε ξανά Sample Buffer Tube (SBT) και επαναλάβετε το τεστ. Ακολουθήστε τις εργαστηριακές κατευθυντήριες οδηγίες ή/και τα εγχειρίδια πολιτικής μικροβιολογικού εργαστηρίου.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Οι ρινοφαρυγγικοί στειλικοί μπορούν να φυλαχθούν χωρίς μεταφορά στο SBT έως και 2 ημέρες εάν φυλαχθούν σε θερμοκρασία 25°C ή έως και 7 ημέρες εάν φυλαχθούν σε θερμοκρασία 4°C.

2 Ενδέχεται να προκύψουν ασαφή (IND) ή ατελή (INC) αποτελέσματα λόγω αστοχίας του συστήματος και να απαιτηθεί επανάληψη του τεστ. Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήστη του συστήματος BD MAX™ System για την ερμηνεία των κωδικών προειδοποίησης και σφαλμάτων.

Δεύτερο κύριο μείγμα (<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube): Υποδοχή 4 (Snap-In 4)				
Παραγρίπη (όνομα στόχου: HPIV)	Κορονοϊός (όνομα στόχου: HCoV)	Μεταπνευμονοϊός (όνομα στόχου: MPV)	Αδενοϊός (όνομα στόχου: HADV)	Ερμηνεία αποτελεσμάτων δειγμάτων μεμονωμένου ασθενούς
POS	POS	POS	POS	Ανιχνεύθηκε RNA/DNA παραγρίπης, κορονοϊού, μεταπνευμονοϊού και αδενοϊού
POS	POS	POS	NEG	Ανιχνεύθηκε RNA παραγρίπης, κορονοϊού και μεταπνευμονοϊού, δεν ανιχνεύθηκε DNA αδενοϊού
POS	POS	NEG	POS	Ανιχνεύθηκε RNA/DNA παραγρίπης, κορονοϊού και αδενοϊού, δεν ανιχνεύθηκε RNA μεταπνευμονοϊού
POS	NEG	POS	POS	Ανιχνεύθηκε RNA/DNA παραγρίπης, μεταπνευμονοϊού και αδενοϊού δεν ανιχνεύθηκε RNA κορονοϊού
NEG	POS	POS	POS	Ανιχνεύθηκε RNA/DNA κορονοϊού, μεταπνευμονοϊού και αδενοϊού δεν ανιχνεύθηκε RNA παραγρίπης

POS	POS	NEG	NEG	Ανιχνεύθηκε RNA παραγρίτης και κορονοϊού, δεν ανιχνεύθηκε RNA/DNA μεταπνευμονοϊού και αδενοϊού
POS	NEG	POS	NEG	Ανιχνεύθηκε RNA παραγρίτης και μεταπνευμονοϊού, δεν ανιχνεύθηκε RNA/DNA κορονοϊού και αδενοϊού
POS	NEG	NEG	POS	Ανιχνεύθηκε RNA/DNA παραγρίτης και αδενοϊού, δεν ανιχνεύθηκε RNA κορονοϊού και μεταπνευμονοϊού
NEG	POS	POS	NEG	Ανιχνεύθηκε RNA κορονοϊού και μεταπνευμονοϊού, δεν ανιχνεύθηκε RNA/DNA παραγρίτης και αδενοϊού
NEG	POS	NEG	POS	Ανιχνεύθηκε RNA/DNA κορονοϊού και αδενοϊού, δεν ανιχνεύθηκε RNA παραγρίτης και μεταπνευμονοϊού
NEG	NEG	POS	POS	Ανιχνεύθηκε RNA/DNA μεταπνευμονοϊού και αδενοϊού, δεν ανιχνεύθηκε RNA παραγρίτης και κορονοϊού
POS	NEG	NEG	NEG	Ανιχνεύθηκε RNA παραγρίτης, δεν ανιχνεύθηκε RNA/DNA κορονοϊού, μεταπνευμονοϊού και αδενοϊού
NEG	POS	NEG	NEG	Ανιχνεύθηκε RNA κορονοϊού, δεν ανιχνεύθηκε RNA/DNA παραγρίτης, μεταπνευμονοϊού και αδενοϊού
NEG	NEG	POS	NEG	Ανιχνεύθηκε RNA μεταπνευμονοϊού, δεν ανιχνεύθηκε RNA/DNA παραγρίτης, κορονοϊού και αδενοϊού
NEG	NEG	NEG	POS	Ανιχνεύθηκε DNA αδενοϊού, δεν ανιχνεύθηκε RNA παραγρίτης, κορονοϊού και μεταπνευμονοϊού
NEG	NEG	NEG	NEG	Δεν ανιχνεύτηκε στόχος RNA
UNR	UNR	UNR	UNR	Ανεπίλυτο (UNR) αποτέλεσμα που λαμβάνεται παρουσία αναστολέων στην αντίδραση PCR ή όταν παρουσιαστεί κάποιο γενικό πρόβλημα (που δεν αναφέρεται από κωδικό σφάλματος) κατά τη φάση επεξεργασίας δείγματος ή/και ενίσχυσης. ¹
IND	IND	IND	IND	Ασαφές αποτέλεσμα ανάλυσης (IND). Λόγω αστοχίας του BD MAX™ System. Αποτέλεσμα της δοκιμασίας που εμφανίζεται σε περίπτωση αστοχίας του οργάνου που συνδέεται με κωδικό σφάλματος. ²
INC	INC	INC	INC	Ατελές αποτέλεσμα ανάλυσης (INC). Οφείλεται σε αστοχία του BD MAX™ System. Αποτέλεσμα δοκιμασίας που εμφανίζεται σε περίπτωση μη ολοκλήρωσης της εκτέλεσης. ²

Πίνακας 27. Ερμηνεία δείγματος.

1 Ο ενδογενής εσωτερικός μάρτυρας (EIC) πρέπει να εμφανίζει σήμα ενίσχυσης με τιμή Ct ≤ 35 για να θεωρηθεί ότι πληροί τις προϋποθέσεις. Εάν απουσιάζει το σήμα για EIC ή η τιμή Ct είναι > 35, το αποτέλεσμα θεωρείται ως Ανεπίλυτο (UNR) και απαιτείται

επανάληψη του τεστ. Ελέγξτε την αναφορά αποτελεσμάτων και τις τιμές Ct των επιλεγμένων στόχων και προβείτε στην κατάλληλη ενέργεια λαμβάνοντας υπόψη τα εξής:

- I. Όταν τα αποτελέσματα των γονιδίων-στόχων είναι μη έγκυρα ($Ct > 40$), το οποίο εμφανίζεται από το λογισμικό ως αποτέλεσμα «-1»), απαιτείται επανάληψη της δοκιμασίας από το αρχικό δείγμα, προετοιμάζοντας εκ νέου Sample Buffer Tube (SBT), εάν υπάρχει διαθέσιμος επαρκής όγκος δείγματος. Ακολουθήστε τις εργαστηριακές κατευθυντήριες οδηγίες ή/και τα εγχειρίδια πολιτικής μικροβιολογικού εργαστηρίου.
- II. Όταν τα αποτελέσματα των γονιδίων-στόχων είναι έγκυρα ($Ct \leq 40$), είναι πιθανό να μην παρατηρηθεί ενίσχυση ή να παρατηρηθεί ενίσχυση από τον EIC με τιμή $Ct > 35$ (το οποίο εμφανίζεται από το λογισμικό ως αποτέλεσμα «-1») κατά τη δοκιμή δειγμάτων με υψηλή συγκέντρωση, λόγω της προτιμησιακής ενίσχυσης ειδικών νουκλεϊκών οξέων για τον στόχο. Εάν κριθεί απαραίτητο, αραιώστε αυτά τα δείγματα σε αναλογία 1/10, προετοιμάστε ξανά Sample Buffer Tube (SBT) και επαναλάβετε το τεστ. Ακολουθήστε τις εργαστηριακές κατευθυντήριες οδηγίες ή/και τα εγχειρίδια πολιτικής μικροβιολογικού εργαστηρίου.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Οι ρινοφαρυγγικοί στελεχοί μπορούν να φυλαχθούν χωρίς μεταφορά στο SBT έως και 2 ημέρες εάν φυλαχθούν σε θερμοκρασία 25°C ή έως και 7 ημέρες εάν φυλαχθούν σε θερμοκρασία 4°C.

2 Ενδέχεται να προκύψουν ασαφή (IND) ή ατελή (INC) αποτελέσματα λόγω αστοχίας του συστήματος και να απαιτηθεί επανάληψη του τεστ. Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήστη του συστήματος BD MAX™ System για την ερμηνεία των κωδικών προειδοποίησης και σφαλμάτων.

Σημείωση: Κατά τη χρήση εξωτερικών μαρτύρων, τα αναμενόμενα αποτελέσματα είναι τα εξής: αρνητικό για ENC και θετικό για EPC (τα γνωστά θετικά δείγματα αναμένεται να είναι θετικά μόνο για τον ή τους μικροοργανισμούς που υπάρχουν στο δείγμα). ENC που δίνει θετικό αποτέλεσμα τεστ υποδεικνύει συμβάν επιμόλυνσης ή σφάλμα στον χειρισμό του δείγματος. EPC που δίνει αρνητικό αποτέλεσμα υποδεικνύει πρόβλημα στον χειρισμό/την προετοιμασία του δείγματος. Ελέγξτε την τεχνική χειρισμού/προετοιμασίας του δείγματος. Όταν παρουσιαστεί αποτυχία του εξωτερικού μάρτυρα, απαιτείται επανάληψη του τεστ.

Σε περίπτωση συνεχών αμφίσημων αποτελεσμάτων, συνιστάται να ελέγξετε τις οδηγίες χρήσης και τη διαδικασία εκχύλισης που χρησιμοποιεί ο χρήστης, για να επιβεβαιώσετε την ορθή εκτέλεση κάθε βήματος qPCR και των αντίστοιχων παραμέτρων, καθώς και να ελέγξετε το σιγμοειδές σχήμα της καμπύλης και την ένταση του φθορισμού.

Τα αποτελέσματα του τεστ θα πρέπει να αξιολογούνται από έναν επαγγελματία υγείας στο πλαίσιο του ιατρικού ιστορικού, των κλινικών συμπτωμάτων και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων.

10. Περιορισμοί του τεστ

- Τα αποτελέσματα του τεστ θα πρέπει να αξιολογούνται από έναν επαγγελματία υγείας στο πλαίσιο του ιατρικού ιστορικού, των κλινικών συμπτωμάτων και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων.
- Παρόλο που αυτή η δοκιμασία μπορεί να χρησιμοποιηθεί με άλλους τύπους δειγμάτων, έχει επικυρωθεί μόνο με ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα.

- Για την ορθή εκτέλεση του τεστ, το λυοφιλοποιημένο προϊόν πρέπει να βρίσκεται στο κάτω μέρος του σωληναρίου και να μην είναι προσκολλημένο στην επάνω περιοχή του σωληναρίου ή στη σφράγιση στο σακουλάκι αλουμινίου. Χτυπήστε απαλά κάθε σωληνάριο σε μια σκληρή επιφάνεια για να βεβαιωθείτε ότι όλο το προϊόν βρίσκεται στον πυθμένα του σωληναρίου.
- Η ποιότητα του τεστ εξαρτάται από την ποιότητα του δείγματος: το νουκλεϊκό οξύ πρέπει να εκχυλίζεται σωστά από τα κλινικά δείγματα.
- Το τεστ αυτό είναι ποιοτικό, δηλαδή δεν παρέχει ποσοτικές τιμές και δεν υποδεικνύει τον αριθμό των υπαρχόντων μικροοργανισμών. Δεν είναι δυνατόν να συσχετιστούν οι τιμές Ct που λαμβάνονται με PCR με τη συγκέντρωση του δείγματος, καθώς εξαρτώνται από τον θερμικό κυκλοποιητή που χρησιμοποιείται και από την ίδια την εκτέλεση.
- Ενδέχεται να εντοπιστούν εξαιρετικά χαμηλά επίπεδα στόχου, κάτω από το όριο ανίχνευσης, αλλά τα αποτελέσματα ενδέχεται να μην είναι δυνατόν να αναπαραχθούν.
- Πρέπει να λαμβάνεται υπόψη το επιδιωκόμενο εύρος μετρήσεων της δοκιμασίας, καθώς τα δείγματα με συγκεντρώσεις πάνω ή κάτω από αυτό το εύρος μπορεί να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα.
- Υπάρχει πιθανότητα για ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω διασταυρούμενης επιμόλυνσης από SARS-CoV-2, γρίπη A, γρίπη B, RSV (τύποι A και B), παραγρίπη (τύποι 1, 2, 3 και 4), ανθρώπινο κορονοϊό (229E, NL63, HKU1 και OC43), μεταπνευμονοϊό και αδενοϊό, σε δείγματα που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις RNA/DNA στόχου ή επιμόλυνση εξαιτίας προϊόντων PCR από προηγούμενες αντιδράσεις.
- Οι συνδυασμοί ειδικών εκκινητών και ανιχνευτών για την ανίχνευση των γονιδίων *N* και *ORF1ab* του SARS-CoV-2, του γονιδίου *M* (πρωτεΐνη μήτρας (M1)) για γρίπη A/B, του γονιδίου *HA* για γρίπη A υπότυπο H1N1, του γονιδίου *N* για RSV (τύποι A και B), του γονιδίου *HN* για παραγρίπη (τύποι 1, 2 και 3), του γονιδίου *F* για παραγρίπη (τύπος 4), του γονιδίου *N* για κορονοϊό (229E, NL63, HKU1 και OC43), του γονιδίου *F* για μεταπνευμονοϊό και του γονιδίου *hexon* για αδενοϊό, που χρησιμοποιούνται στο Viasure Respiratory Virus Extended Mix Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, δεν παρουσιάζουν σημαντικές συνδυασμένες ομολογίες με το ανθρώπινο γονιδίωμα, την ανθρώπινη μικροχλωρίδα ή άλλους αναπνευστικούς μικροοργανισμούς, που μπορεί να επιφέρει προβλέψιμα ψευδώς θετικά αποτελέσματα.
- Ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα μπορεί να προκύψουν από διάφορους παράγοντες και τους συνδυασμούς τους, όπως:
 - Ακατάλληλες μέθοδοι συλλογής, μεταφοράς, φύλαξης ή/και χειρισμού των δειγμάτων.
 - Ακατάλληλες διαδικασίες επεξεργασίας (συμπεριλαμβανομένης της εκχύλισης RNA/DNA).
 - Αποδόμηση του RNA/DNA κατά τη μεταφορά, τη φύλαξη ή/και την επεξεργασία του δείγματος.
 - Μεταλλάξεις ή πολυμορφισμοί σε περιοχές δέσμευσης εκκινητών ή ανιχνευτών μπορεί να επηρεάσουν την ανίχνευση νέων ή άγνωστων στελεχών SARS-CoV-2, γρίπης A, γρίπης B, RSV (τύποι A και B), παραγρίπης (τύποι 1, 2, 3 και 4), ανθρώπινου κορονοϊού (229E, NL63, HKU1 και OC43), μεταπνευμονοϊού ή/και αδενοϊού.
 - Ικόνι φορτίο στο δείγμα κάτω από το όριο ανίχνευσης της δοκιμασίας.

- Παρουσία αναστολέων RT-qPCR ή άλλων τύπων ουσιών που δημιουργούν παρεμβολές. Δεν έχει αξιολογηθεί η επίδραση των εμβολίων, ορισμένων αντι-ιικών θεραπειών, αντιβιοτικών, χημειοθεραπευτικών, ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων ή αντιμυκητιασικών που χρησιμοποιούνται για την πρόληψη της λοίμωξης ή κατά τη διάρκεια της θεραπείας της λοίμωξης.
- Η επίδραση των παρεμβαλλόμενων ουσιών έχει αξιολογηθεί μόνο για τις ουσίες που υποδεικνύονται στην ενότητα 12.7.1 (μελέτη παρεμβαλλόμενων ουσιών) αυτών των οδηγιών χρήσης. Παρατηρήθηκαν παρεμβολές κατά τη δοκιμή της φλουτικαζόνης ($1,26\text{E-}06 \text{ mg/mL}$) και της νικοτίνης ($3,00\text{E-}02 \text{ mg/mL}$) τόσο στο *Respiratory Virus Mix I* reaction tube όσο και στο *Respiratory Virus Mix II* reaction tube. Ανατρέξτε σε αυτήν την ενότητα για να δείτε τις πιο συχνές ενδογενείς και εξωγενείς ουσίες που προκαλούν ολική ή μερική παρεμβολή στην αντίδραση RT-qPCR. Άλλες ουσίες που δεν αναγράφονται σε αυτήν την ενότητα θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε εσφαλμένα αποτελέσματα.
- Μη τήρηση των οδηγιών χρήσης και της διαδικασίας της δοκιμασίας.
- Ένα θετικό αποτέλεσμα δεν υποδεικνύει κατ' ανάγκη την παρουσία βιώσιμων ιών ή ότι οι εν λόγω ιοί είναι μολυσματικοί ή αποτελούν τους αιτιολογικούς παράγοντες για τα κλινικά συμπτώματα. Ωστόσο, ένα θετικό αποτέλεσμα υποδεικνύει την παρουσία στοχευόμενων ιικών αλληλουχιών.
- Τα αρνητικά αποτελέσματα δεν αποκλείουν την παρουσία RNA/DNA SARS-CoV-2, γρίπης A, γρίπης B, RSV (τύποι A και B), παραγρίπης (τύποι 1, 2, 3 και 4), ανθρώπινου κορονοϊού (229E, NL63, HKU1 και OC43), μεταπνευμονοϊού ή/και αδενοϊού σε ένα κλινικό δείγμα και δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ως η μοναδική βάση για τη λήψη αποφάσεων σχετικά με τη θεραπεία ή άλλη διαχείριση των ασθενών. Δεν έχουν προσδιοριστεί οι βέλτιστοι τύποι δειγμάτων και οι χρόνοι που αντιστοιχούν σε μέγιστα ιικά φορτία κατά τη διάρκεια λοιμώξεων που προκαλούνται από αυτούς τους μικροοργανισμούς. Η συλλογή πολλαπλών δειγμάτων (τύπων και χρονικών σημείων) από τον ίδιο ασθενή ενδέχεται να είναι απαραίτητη για την ανίχνευση του παθογόνου.
- Είναι πιθανό η ανίχνευση ορισμένων κυκλοφορούντων στελεχών από το 2019 που ανήκουν στην εξελικτική γραμμή Victoria της γρίπης B να είναι προβληματική λόγω σημειακών μεταλλάξεων σε αυτά τα νέα στελέχη. Ελέγχθηκε μόνο η ενσωμάτωση της γρίπης B για παραλλαγές που περιέχουν μεταλλάξεις C54T, C55T και C120T (ακολουθία αναφοράς NC002210.1).
- Εάν τα διαγνωστικά τεστ για άλλες αναπνευστικές ασθένειες είναι αρνητικά και οι κλινικές παρατηρήσεις, το ιστορικό του ασθενούς και οι επιδημιολογικές πληροφορίες υποδηλώνουν ότι είναι δυνατή η λοίμωξη από SARS-CoV-2, γρίπη A, γρίπη B, RSV (τύποι A και B), παραγρίπη (τύποι 1, 2, 3 και 4), ανθρώπινο κορονοϊό (229E, NL63, HKU1 και OC43), μεταπνευμονοϊό ή/και αδενοϊό, τότε θα πρέπει να εξεταστεί το ενδεχόμενο ψευδώς αρνητικού αποτελέσματος και να συζητηθεί η επανεξέταση του ασθενούς.
- Οι τιμές φθορισμού μπορεί να διαφέρουν εξαιτίας πολλών παραγόντων όπως οι εξής: Εξοπλισμός PCR (ακόμη και του ίδιου μοντέλου), σύστημα εκχύλισης, τύπος δείγματος, προηγούμενη επεξεργασία του δείγματος κ.λπ., μεταξύ άλλων.

- Το τεχνολογικό προϊόν περιλαμβάνει εκκινητές και ανιχνευτές που ανιχνεύουν ειδικά το στέλεχος γρίπης A H1N1pdm09. Το πανδημικό στέλεχος της γρίπης δεν μπορεί να αποκλειστεί και πρέπει να εξετάζεται το ενδεχόμενο πρόσθετων εξετάσεων σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος γρίπης.
- Η θετική και αρνητική προγνωστική αξία είναι ιδιαίτερα εξαρτώμενες από τον επιπολασμό σε όλες τις *in vitro* διαγνωστικές εξετάσεις. Οι επιδόσεις του *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System* μπορεί να ποικίλλουν ανάλογα με την επιπολασμό και τον πληθυσμό που εξετάζεται.
- Σε περίπτωση ανεπίλυτων, ασαφών ή μη ολοκληρωμένων αποτελεσμάτων με το *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System*, θα χρειαστεί επανάληψη του τεστ. Ανεπίλυτα αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται στην παρουσία αναστολέων στο δείγμα ή σε λανθασμένη επανυδάτωση σωληναρίου λυοφιλοποιημένου μείγματος αντίδρασης. Εάν υπάρχει αστοχία οργάνου, θα προκύψουν ασαφή ή ατελή αποτελέσματα.

11. Ποιοτικός έλεγχος

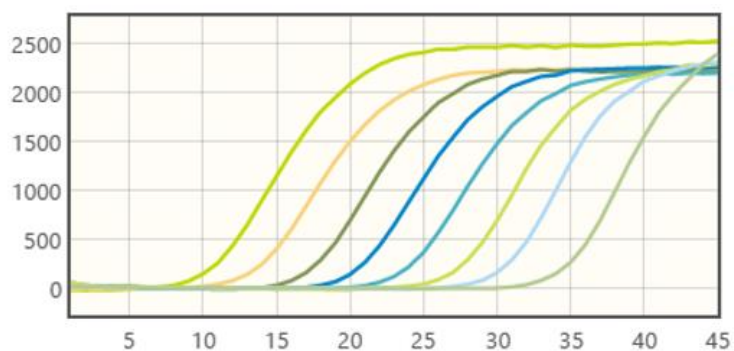
Το *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System* περιέχει έναν ενδογενή εσωτερικό μάρτυρα (EIC) σε κάθε σωληνάριο αντίδρασης, ο οποίος επιβεβαιώνει την ορθή εκτέλεση της τεχνικής. Επιπλέον, η χρήση εξωτερικών μαρτύρων (EPC και ENC) επιτρέπει την επιβεβαίωση των επιδόσεων της δοκιμασίας. Οι εξωτερικοί μάρτυρες δεν χρησιμοποιούνται από το σύστημα *BD MAX™ System* για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, αλλά θεωρούνται ως δείγμα. Ο εξωτερικός θετικός μάρτυρας (EPC) προορίζεται για την παρακολούθηση μιας πιθανής αστοχίας των αντιδραστηρίων της δοκιμασίας, ενώ ο εξωτερικός αρνητικός μάρτυρας (ENC) προορίζεται για την ανίχνευση επιμόλυνσης του περιβάλλοντος ή των αντιδραστηρίων από νουκλεϊκά οξέα-στόχους.

12. Χαρακτηριστικά ναλυτικής απόδοσης

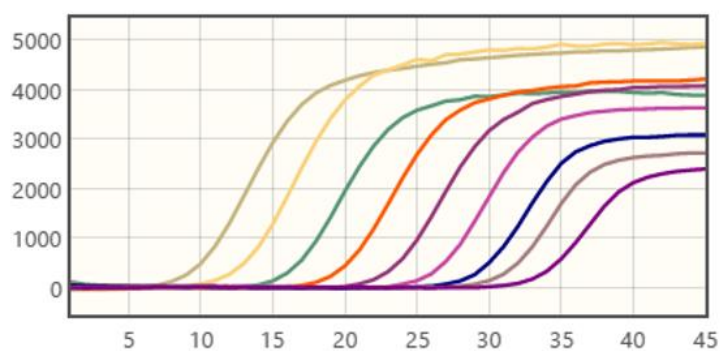
12.1. Αναλυτική γραμμικότητα

Η γραμμικότητα της δοκιμασίας προσδιορίστηκε και επιβεβαιώθηκε δοκιμάζοντας μια σειρά από δεκαπλάσιες αραιώσεις δειγμάτων ρινοφαρυγγικού επιχρίσματος που περιείχαν γνωστή συγκέντρωση ειδικού και συνθετικού RNA/DNA που ανήκε σε SARS-CoV-2, ιό γρίπης A, ιό γρίπης B, ανθρώπινο αναπνευστικό συγκυτιακό ιό, ιό παραγρίπης, ανθρώπινο κοροναϊό, μεταπνευμονοϊό και αδενοϊό (σε εύρος από $2E+07$ έως $2E+00$ αντίγραφα ανά μL). Παρακάτω παρατίθεται ένα παράδειγμα των καμπυλών ενίσχυσης που προκύπτουν από μια δοκιμασία:

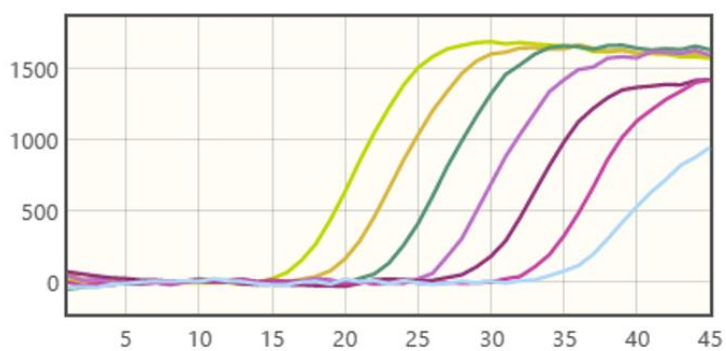
Εικόνα 2. Σειρά αραιώσεων μήτρας SARS-CoV-2 ($2E+07$ έως $2E+00$ αντίγραφα/ μ L) στο BD MAX™ System (κανάλι 475/520 (FAM)).



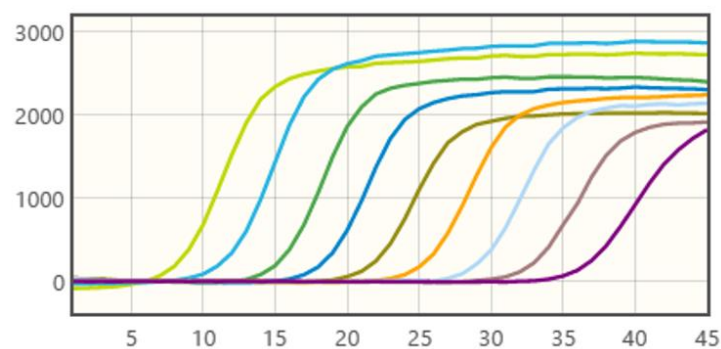
Εικόνα 3. Σειρά αραιώσεων μήτρας γρίπης B ($2E+07$ έως $2E+00$ αντίγραφα/ μ L) στο BD MAX™ System (κανάλι 530/565 (HEX)).



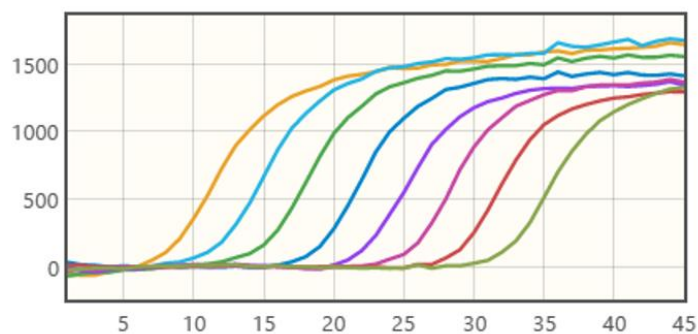
Εικόνα 4. Σειρά αραιώσεων μήτρας γρίπης A ($2E+07$ έως $2E+00$ αντίγραφα/ μ L) στο BD MAX™ System (κανάλι 585/630 (ROX)).



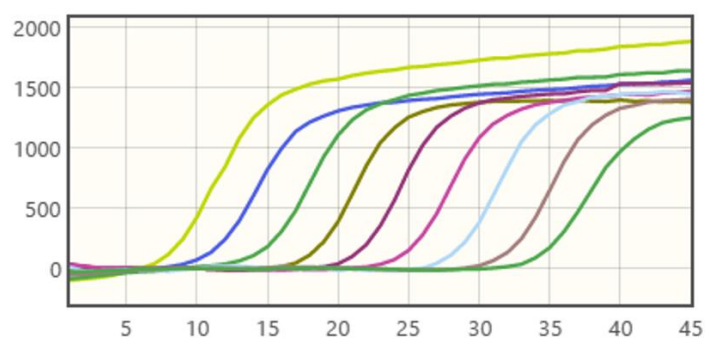
Εικόνα 5. Σειρά αραιώσεων μήτρας RSV ($2E+07$ έως $2E+00$ αντίγραφα/ μ L) στο BD MAX™ System (κανάλι 630/665 (Cy5)).



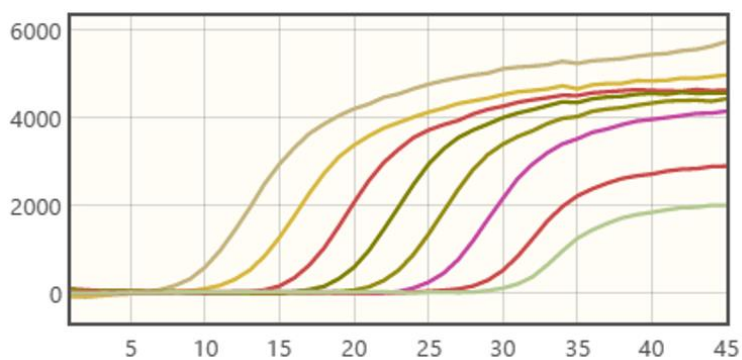
Εικόνα 6. Σειρά αραιώσεων μήτρας παραγρίπης (2E+07 έως 2E+00 αντίγραφα/μL) στο BD MAX™ System (κανάλι 475/520 (FAM)).



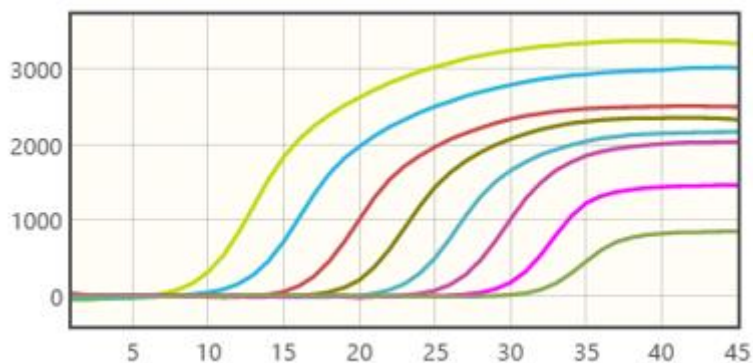
Εικόνα 7. Σειρά αραιώσεων μήτρας κορονοϊού (2E+07 έως 2E+00 αντίγραφα/μL) στο BD MAX™ System (κανάλι 530/565 (HEX)).



Εικόνα 8. Σειρά αραιώσεων μήτρας μεταπνευμονοϊού (2E+07 έως 2E+00 αντίγραφα/μL) στο BD MAX™ System (κανάλι 585/630 (ROX)).



Εικόνα 9. Σειρά αραιώσεων μήτρας αδενοϊού (2E+07 έως 2E+00 αντίγραφα/μL) στο BD MAX™ System (κανάλι 630/665 (Cy5)).



12.2. Αναλυτική ευαισθησία. Όριο ανίχνευσης (LoD)

Η αναλυτική ευαισθησία, ή το όριο ανίχνευσης (LoD) του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System αναλύθηκε με τρεις παρτίδες χρησιμοποιώντας αρνητικά ρινοφαρυγγικά δείγματα που συλλέχθηκαν στο BD™ Universal Viral Transport System με πρόσμειξη από τα στελέχη αναφοράς ή το συνθετικό RNA που αναφέρονται στον ακόλουθο πίνακα:

Ιός	Στέλεχος/συνθετικό RNA	Εξωτερική αναφορά
SARS-CoV-2	Heat-inactivated SARS-CoV-2 στέλεχος 2019-n-CoV/USA-WA1/2020	VR-1986HK
Γρίπη Α	Ιός γρίπης Α (H1N1) στέλεχος A/PR/8/34	VR-95PQ
Γρίπη Β	Ιός γρίπης Β (εξελικτική γραμμή Yamagata) στέλεχος B/Florida/4/2006	VR-1804PQ
RSV Α	Ανθρώπινος αναπνευστικός συγκυτιακός ιός Α στέλεχος Long	VR-26PQ
RSV Β	Ανθρώπινος αναπνευστικός συγκυτιακός ιός Β στέλεχος 9320	FR-293
Ιός παραγρίτης τύπου 1	Ανθρώπινος ιός παραγρίτης 1 στέλεχος C35	VR-94
Ιός παραγρίτης τύπου 2	Ανθρώπινος ιός παραγρίτης 2 στέλεχος Greer	VR-92
Ιός παραγρίτης τύπου 3	Ιός παραγρίτης 3 στέλεχος C 243	VR-93
Ιός παραγρίτης τύπου 4	Ανθρώπινος ιός παραγρίτης 4b στέλεχος CH 19503	VR-1377
Κορονοϊός OC43	Betacoronavirus 1	VR-1558
Κορονοϊός 229E	Ανθρώπινος κορονοϊός 229E	VR-740
Κορονοϊός NL63	Ανθρώπινος κορονοϊός, στέλεχος NL63	FR-304
Κορονοϊός HKU1	Ποσοτικό συνθετικό RNA ανθρώπινου κορονοϊού HKU1 RNA	ATCC-VR3262SD
Μεταπνευμονοϊός	Ανθρώπινος μεταπνευμονοϊός 8 (hMPV-8) τύπος B2 Culture Fluid (Heat Inactivated)	0810159CF
Αδενοϊός	Ανθρώπινος αδενοϊός 1 στέλεχος Adenoid 71	VR-1

Πίνακας 28. Στελέχη αναφοράς και συνθετικό RNA που χρησιμοποιήθηκαν για τις δοκιμασίες επιδόσεων του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System (δοκιμασία LoD).

Επιπλέον, στην περίπτωση του στόχου SARS-CoV-2, το LoD (IU/μL) αναλύθηκε χρησιμοποιώντας το 1st WHO International Standard SARS-CoV-2 RNA (κωδικός NIBSC 20/146). Τα αποτελέσματα LoD που ελήφθησαν για το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System παρατίθενται στον ακόλουθο πίνακα:

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

Πίνακας 29. Αποτελέσματα ορίου ανίχνευσης για το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. IU = διεθνής μονάδα, TCID50 = διάμεση δόση μόλυνσης κυτταροκαλλιέργειας.

12.3. Εύρος μέτρησης

Το εύρος μέτρησης της δοκιμασίας προσδιορίστηκε εξετάζοντας μια σειρά δεκαπλάσιων αραιώσεων που περιείχαν γνωστή συγκέντρωση ειδικού και συνθετικού ΝΑ που ανήκε σε SARS-CoV-2, γρίπη Α, γρίπη Β, RSV (τύποι Α και Β), παραγρίπη (τύποι 1, 2, 3 και 4), ανθρώπινο κορονοϊό (229E, NL63, HKU1 και OC43), μεταπνευμονοϊό και αδενοϊό. Τα αποτελέσματα επέτρεψαν την επιβεβαίωση της σωστής ανίχνευσης στόχων από 2E+07 έως 2E+00 αντίγραφα/μL, με εξαίρεση τον HCoV-HKU1, του οποίου το εύρος μέτρησης κυμαίνεται από 2E+06 έως 2E+00 αντίγραφα/μL.

Συμπερασματικά, το εύρος μέτρησης του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System προσδιορίστηκε με επιτυχία, διασφαλίζοντας αξιόπιστα, ακριβή και αναπαραγώγιμα αποτελέσματα σε ένα ευρύ φάσμα ιικών φορτίων, επιβεβαιώνοντας τη χρησιμότητά του σε διάφορα κλινικά διαγνωστικά σενάρια.

12.4. Ακρίβεια

12.4.1. Ορθότητα

Η ορθότητα του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System αξιολογήθηκε εξετάζοντας το υλικό αναφοράς που παρατίθεται παρακάτω σε αρνητικά ρινοφαρυγγικά δείγματα που συλλέχθηκαν σε BD™ Universal Viral Transport System.

1. Συνθετικά θραύσματα DNA

- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο *ORF1* του SARS-CoV-2: NCOXPC, κανάλι FAM.
- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο *N* του SARS-CoV-2: NCOXPC, κανάλι FAM.
- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο *M1* της γρίπης Α: YIAXPC, κανάλι ROX.
- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο *HA* της γρίπης Α: HNVXPC, κανάλι ROX.
- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο *M1* της γρίπης Β: YIBXPC, κανάλι HEX.

- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο *N* του RSV A: RSAXPC, κανάλι Cy5.
- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο *N* του RSV B: RSBXPC, κανάλι Cy5.
- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο *HN* της παραγρίτης 1: PIXPC, κανάλι FAM.
- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο *HN* της παραγρίτης 2: PIXPC, κανάλι FAM.
- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο *HN* της παραγρίτης 3: PIXPC, κανάλι FAM.
- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο *F* της παραγρίτης 4: PIXPC, κανάλι FAM.
- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο *N* του κορονοϊού OC43: CORXPC, κανάλι HEX.
- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο *N* του κορονοϊού 229E: CORXPC, κανάλι HEX.
- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο *N* του κορονοϊού NL63: CORXPC, κανάλι HEX.
- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο *N* του κορονοϊού HKU1: CORXPC, κανάλι HEX.
- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο *F* του μεταπνευμονοϊού: MPVXPC, κανάλι ROX.
- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο *hexon* του αδενοϊού: ADVXPC, κανάλι Cy5.

Όλα τα συνθετικά θραύσματα DNA ανιχνεύθηκαν σωστά στο κατάλληλο κανάλι.

2. American Type Culture Collection («ATCC®»)

Εξωτερική αναφορά	Μικροοργανισμός	Όνομα προϊόντος	Ποικιλία	Αποτέλεσμα
VR-1986HK	SARS-CoV-2	Heat-inactivated SARS-CoV-2	2019-nCoV/USA-WA1/2020	Ανιχνεύθηκε
VR-3276SD	SARS-CoV-2	Quantitative Synthetic SARS-CoV-2 RNA: ORF, E, N	Δ/I	Ανιχνεύθηκε
VR-1986D	SARS-CoV-2	Genomic RNA from 2019 Novel Coronavirus	SARS-σχετιζόμενος κορονοϊός 2, απομονωμένο στέλεχος USA-WA1/2020	Ανιχνεύθηκε
VR-95PQ	Γρίπη Α	Influenza A virus (H1N1), Purified	A/PR/8/34	Ανιχνεύθηκε
VR-1804PQ	Γρίπη Β	Influenza B virus (Yamagata Lineage), Purified	B/Florida/4/2006	Ανιχνεύθηκε
VR-26PQ	RSV-A	Human respiratory syncytial virus, High titer	Στέλεχος Long	Ανιχνεύθηκε
VR-94	Ιός παραγρίτης 1	Human parainfluenza virus 1 (HPIV-1)	Στέλεχος C35	Ανιχνεύθηκε
VR-92	Ιός παραγρίτης 2	Human parainfluenza virus 2 (HPIV-2)	Στέλεχος Greer	Ανιχνεύθηκε
VR-93	Ιός παραγρίτης 3	Human parainfluenza virus 3 (HPIV-3)	Στέλεχος C 243	Ανιχνεύθηκε
VR-1377	Ιός παραγρίτης 4	Human parainfluenza virus 4 (HPIV-4b)	Στέλεχος CH 19503	Ανιχνεύθηκε
VR-1558	Κορονοϊός OC43	Betacoronavirus 1	Στέλεχος OC43	Ανιχνεύθηκε

VR-740	Κορονοϊός 229E	Human coronavirus 229E	Στέλεχος 229E	Ανιχνεύθηκε
VR-3262SD	Κορονοϊός HKU1	Quantitative Synthetic Human Coronavirus Strain HKU1 RNA	Στέλεχος HKU1	Ανιχνεύθηκε
VR-3263SD	Κορονοϊός NL63	Quantitative Synthetic Human coronavirus Strain NL63 RNA	Στέλεχος NL63	Ανιχνεύθηκε
VR-3250SD	Μεταπνευμονοϊός	Synthetic Human metapneumovirus RNA	Δ/Ι	Ανιχνεύθηκε
VR-1	Αδενοϊός	Human adenovirus 1	Στέλεχος αδενοϊού 71	Ανιχνεύθηκε
VR-6	Αδενοϊός	Human Adenovirus 6	Τύπος 6 (είδος C) στέλεχος Tonsil 99	Ανιχνεύθηκε
VR-16	Αδενοϊός	Human Adenovirus 15	Τύπος 15 (είδος D) στέλεχος 305 [955, CH. 38]	Ανιχνεύθηκε
VR-3343	Αδενοϊός	Human adenovirus 31	Τύπος 31 (είδος A) στέλεχος 1315/63	Ανιχνεύθηκε

Πίνακας 30. Υλικό αναφοράς από American Type Culture Collection (ATCC®).

Όλα τα στελέχη από ATCC ανιχνεύθηκαν σωστά στο αντίστοιχο κανάλι και ο EIC εμφάνισε ενίσχυση με τιμή Ct ≤ 35 .

3. International Reagent Resource (IRR™)

Εξωτερική αναφορά	Μικροοργανισμός	Όνομα προϊόντος	Ποικιλία	Αποτέλεσμα
FR-293	RSV-B	Human Respiratory Syncytial Virus B	Στέλεχος 9320	Ανιχνεύθηκε
FR-304	Κορονοϊός NL63	Human Coronavirus, Strain NL63	Στέλεχος NL63	Ανιχνεύθηκε
FR-1	Γρίπη Α	Influenza A virus	A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	Ανιχνεύθηκε
FR-3	Γρίπη Α	Influenza A virus	A/South Dakota/6/2007 (H1N1)	Ανιχνεύθηκε
FR-5	Γρίπη Α	Influenza A virus	A/Hawaii/31/2007 (H1N1)	Ανιχνεύθηκε
FR-6	Γρίπη Α	Influenza A virus	A/Qatar/1123/2007 (H1N1)	Ανιχνεύθηκε
FR-7	Γρίπη Α	Influenza A virus	A/Cambodia/0371/2007 (H1N1)	Ανιχνεύθηκε
FR-8	Γρίπη Α	Influenza A virus	A/Brisbane/10/2007 (H3N2)	Ανιχνεύθηκε
FR-12	Γρίπη Α	Influenza A virus	A/Taiwan/760/2007 (H3N2)	Ανιχνεύθηκε
FR-13	Γρίπη Α	Influenza A virus	A/Texas/71/2007 (H3N2)	Ανιχνεύθηκε

FR-27	Γρίπη Α	Influenza A virus	A/Brisbane/10/2007 IVR-147 (H3N2)	Ανιχνεύθηκε
FR-28	Γρίπη Α	Influenza A virus	A/Brisbane/59/2007 IVR-148 (H1N1)	Ανιχνεύθηκε
FR-29	Γρίπη Α	Influenza A virus	A/South Dakota/6/2007 X-173 (H1N1)	Ανιχνεύθηκε
FR-201	Γρίπη Α	Influenza A virus	A/California/07/2009 (H1N1)pdm09	Ανιχνεύθηκε
FR-202	Γρίπη Α	Influenza A virus	A/California/08/2009 (H1N1)pdm09	Ανιχνεύθηκε
FR-203	Γρίπη Α	Influenza A virus	A/New York/18/2009 (H1N1)pdm09	Ανιχνεύθηκε
FR-245	Γρίπη Α	Influenza A virus	A/Mexico/4108/2009 (H1N1)pdm09	Ανιχνεύθηκε
FR-246	Γρίπη Α	Influenza A virus	A/California/07/2009 NYMC X-179A (H1N1)pdm09	Ανιχνεύθηκε
FR-16	Γρίπη Β	Influenza B virus	B/Pennsylvania/7/2007 (εξελικτική γραμμή Yamagata)	Ανιχνεύθηκε
FR-17	Γρίπη Β	Influenza B virus	B/Santiago/4364/2007 (εξελικτική γραμμή Yamagata)	Ανιχνεύθηκε
FR-18	Γρίπη Β	Influenza B virus	B/Brisbane/3/2007 (εξελικτική γραμμή Yamagata)	Ανιχνεύθηκε
FR-19	Γρίπη Β	Influenza B virus	B/Pennsylvania/5/2007 (εξελικτική γραμμή Victoria)	Ανιχνεύθηκε
FR-20	Γρίπη Β	Influenza B virus	B/Victoria/304/2006 (εξελικτική γραμμή Victoria)	Ανιχνεύθηκε
FR-183	Γρίπη Β	Influenza B virus	B/Bangladesh/3333/2007 (εξελικτική γραμμή Yamagata)	Ανιχνεύθηκε
FR-294	RSV Α	Human Respiratory Syncytial Virus	Στέλεχος Α-2	Ανιχνεύθηκε

Πίνακας 31. Υλικό αναφοράς από International Reagent Resource (IRR™).

Όλα τα στελέχη από IRR ανιχνεύθηκαν σωστά στο αντίστοιχο κανάλι και ο EIC εμφάνισε ενίσχυση με τιμή Ct ≤35.

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

Εξωτερική αναφορά	Μικροοργανισμός	Όνομα προϊόντος	Ποικιλία	Αποτέλεσμα
20/146	SARS-CoV-2	First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA	Απομονωμένο στέλεχος England/02/2020	Ανιχνεύθηκε
20/110	SARS-CoV-2	2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) Working Reagent for NAT	Δ/Ι	Ανιχνεύθηκε
19/304	SARS-CoV-2	Research Reagent for SARS-CoV-2 RNA	Δ/Ι	Ανιχνεύθηκε

08/176	Ιός παραγρίτης 1	Parainfluenza Virus Serotype 1	Δ/Ι	Ανιχνεύθηκε
08/178	Ιός παραγρίτης 2	Parainfluenza Virus Serotype 2	Δ/Ι	Ανιχνεύθηκε
08/180	Ιός παραγρίτης 4	Parainfluenza Virus Serotype 1	Δ/Ι	Ανιχνεύθηκε
08/320	Μεταπνευμονοϊός	Human Metapneumovirus Working Reagent for NAT	Δ/Ι	Ανιχνεύθηκε
16/324	Αδενοϊός	First WHO International Standard for Human Adenovirus DNA	Τύπος 2	Ανιχνεύθηκε

Πίνακας 32. Υλικό αναφοράς από National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC).

Όλα τα στελέχη από NIBSC ανιχνεύθηκαν σωστά στο αντίστοιχο κανάλι και ο EIC εμφάνισε ενίσχυση με τιμή Ct ≤ 35 .

5. BEI Resources

Εξωτερική αναφορά	Μικροοργανισμός	Όνομα προϊόντος	Ποικιλία	Αποτέλεσμα
NR-52287	SARS-CoV-2	SARS-Related Coronavirus 2	Απομονωμένο στέλεχος USA-WA1/2020, γ-ακτινοβολημένο	Ανιχνεύθηκε
NR-28530	RSV	Human Respiratory Syncytial Virus, A2000/3-4	A2000/3-4	Ανιχνεύθηκε
NR-22227	Μεταπνευμονοϊός	Human metapneumovirus	TN/83-1211	Ανιχνεύθηκε

Πίνακας 33. Υλικό αναφοράς από BEI Resources.

Όλα τα στελέχη από BEI Resources ανιχνεύθηκαν σωστά στο αντίστοιχο κανάλι και ο EIC εμφάνισε ενίσχυση με τιμή Ct ≤ 35 .

6. Υλικό μάρτυρα

Εξωτερική αναφορά	Μικροοργανισμός	Όνομα προϊόντος	Ποικιλία	Αποτέλεσμα
Fluarix Tetra 2022/2023	Γρίπη Α/Γρίπη Β	Influenza vaccine Fluarix Tetra 2022/2023	Γρίπη A/Victoria/2570/2019 Γρίπη A/Darwin/6/2021 Γρίπη B/Austria/1359417/2021 Γρίπη B/Phuket/3073/2013	Ανιχνεύθηκε
Fluarix Tetra 2023/2024	Γρίπη Α/Γρίπη Β	Influenza vaccine Fluarix Tetra 2023/2024	Γρίπη A/Victoria/4897/2022 Γρίπη A/Darwin/6/2021 Γρίπη B/Austria/1359417/2021 Γρίπη B/Phuket/3073/2013	Ανιχνεύθηκε
102019	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 1	SARS-CoV-2 απομονωμένο στέλεχος Australia/VIC01/2020	Ανιχνεύθηκε
102024	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 2	SARS-CoV-2 απομονωμένο στέλεχος Wuhan-Hu-1	Ανιχνεύθηκε
103907	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 14	Παραλλαγή HB (B.1.1.7_710528)	Ανιχνεύθηκε

103909	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 15	Παραλλαγή HB (B.1.1.7_601443)	Ανιχνεύθηκε
104043	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 16	Παραλλαγή South Africa	Ανιχνεύθηκε
104044	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 17	Παραλλαγή Japan/Brazil	Ανιχνεύθηκε
0505-0129	SARS-CoV-2	Accuplex™ SARS-CoV-2 Verification Panel	Δ/I	Ανιχνεύθηκε
MBC139-R	SARS-CoV-2	AMPLIRUN® SARS-CoV-2 B.1.351 RNA CONTROL	Εξελικτική γραμμή B.1.351	Ανιχνεύθηκε
MBTC030-R	SARS-CoV-2	AMPLIRUN® TOTAL SARS-CoV-2 CONTROL	Εξελικτική γραμμή B.1.351	Ανιχνεύθηκε
MBTC031-R	SARS-CoV-2, γρίπη A, γρίπη B και RSV	AMPLIRUN® TOTAL SARS-CoV-2/FLUA/FLUB/RSV CONTROL	Γρίπη A H3N2 (A/Perth/16/2009), γρίπη B (B/Brisbane/60/2008), RSV (9320)	Ανιχνεύθηκε
MBC144-R	MPV	AMPLIRUN® METAPNEUMOVIRUS RNA CONTROL	Εξελικτική γραμμή B1	Ανιχνεύθηκε
SCV2_24C1B-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Delta variant	Παραλλαγή Delta B.1.617.2	Ανιχνεύθηκε
SCV2_23C1D-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Εξελικτική υπογραμμή XBB	Ανιχνεύθηκε
SCV2_23C1D-02	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Εξελικτική υπογραμμή BQ1.1	Ανιχνεύθηκε
SCV2_23C1D-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Εξελικτική υπογραμμή BA.2.75	Ανιχνεύθηκε
SCV2_23C1D-04	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Εξελικτική υπογραμμή BA.5	Ανιχνεύθηκε
SCV2_23C1D-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Εξελικτική υπογραμμή BQ.1	Ανιχνεύθηκε
SCV2_23C1B-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Εξελικτική υπογραμμή BA.4	Ανιχνεύθηκε
SCV2_23C1B-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Εξελικτική υπογραμμή BA.5	Ανιχνεύθηκε
SCV2_23C1B-04	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Εξελικτική υπογραμμή BA.4	Ανιχνεύθηκε
SCV2_23C1B-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Εξελικτική υπογραμμή BA.2	Ανιχνεύθηκε
SCV2_23C1C-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Εξελικτική υπογραμμή BA.2.75	Ανιχνεύθηκε
SCV2_23C1C-02	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Εξελικτική υπογραμμή BQ.1	Ανιχνεύθηκε
SCV2_23C1C-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Εξελικτική υπογραμμή BQ1.1	Ανιχνεύθηκε
SCV2_23C1C-04	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Εξελικτική υπογραμμή XBB	Ανιχνεύθηκε
SCV2_23C1C-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Εξελικτική υπογραμμή BA.2	Ανιχνεύθηκε

SCV2_23C1A-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Εξελικτική υπογραμμή BA.5	Ανιχνεύθηκε
SCV2_23C1A-02	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Εξελικτική υπογραμμή BA.2	Ανιχνεύθηκε
SCV2_23C1A-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Εξελικτική υπογραμμή BA.5	Ανιχνεύθηκε
SCV2_23C1A-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Εξελικτική υπογραμμή BA.4	Ανιχνεύθηκε
ID3-09 2023	RSV	Influenza A virus	Στέλεχος A/Cambodia/e0826360/2020 (H3N2)	Ανιχνεύθηκε
359043	RSV	Human Respiratory Syncytial Virus, B	Δ/Ι	Ανιχνεύθηκε
PINFRNA101S-06	Ιός παραγρίτης τύπου 2	PIV-2	Δ/Ι	Ανιχνεύθηκε
PINFRNA22S-02	Ιός παραγρίτης τύπου 3	PIV-3	Δ/Ι	Ανιχνεύθηκε
CVRNA22S-04	Κορονοϊός	Coronavirus HKU	Στέλεχος HKU	Ανιχνεύθηκε
0810110CF	Αδενοϊός	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 2	Τύπος 2 (είδος C)	Ανιχνεύθηκε
0810062CFHI	Αδενοϊός	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 3	Τύπος 3 (είδος B)	Ανιχνεύθηκε
0810070CFHI	Αδενοϊός	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 4	Τύπος 4 (είδος E)	Ανιχνεύθηκε
0810020CF	Αδενοϊός	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 5	Τύπος 5 (είδος C)	Ανιχνεύθηκε
0810021CFHI	Αδενοϊός	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 7A	Τύπος 7A (είδος B)	Ανιχνεύθηκε
0810119CFHI	Αδενοϊός	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 37	Τύπος 37	Ανιχνεύθηκε
0810084CFHI	Αδενοϊός	Adenovirus Type 40 Culture Fluid (Heat Inactivated) Strain Dugan	Τύπος 40, στέλεχος Dugan	Ανιχνεύθηκε
0810085CFHI	Αδενοϊός	Adenovirus Type 41 Culture Fluid (Heat Inactivated) Strain Tak	Τύπος 41 (είδος F), στέλεχος Tak	Ανιχνεύθηκε
0810159CF	MPV	Human Metapneumovirus 8	Τύπος B2	Ανιχνεύθηκε

Πίνακας 34. Υλικό μάρτυρα για SARS-CoV-2, γρίπη A, γρίπη B, RSV, παραγρίτη, κορονοϊό, μεταπνευμονοϊό και αδενοϊό.

Όλα τα στελέχη ανιχνεύθηκαν σωστά στο αντίστοιχο κανάλι και ο EIC εμφάνισε ενίσχυση με τιμή Ct ≤35.

7. Προγράμματα εξωτερικής αξιολόγησης ποιότητας (EQA)

Συνολικά, αναλύθηκαν 85 δείγματα που περιείχαν SARS-Cov-2, γρίπη A, γρίπη B, RSV, παραγρίτη, κορονοϊό, μεταπνευμονοϊό ή/και αδενοϊό, μεταξύ άλλων μη στοχευόμενων μικροοργανισμών, από προγράμματα QCMD, INSTAND, CAP και RCPA, παρουσιάζοντας υψηλό ποσοστό συμφωνίας.

12.4.2. Πιστότητα

Για τον προσδιορισμό της πιστότητας του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, πραγματοποιήθηκαν προσδιορισμοί εντός δοκιμασίας (επαναληψιμότητα), μεταξύ δοκιμασιών, μεταξύ παρτίδων και μεταξύ εξοπλισμών (αναπαραγωγιμότητα) με ρινοφαρυγγικό επίχρισμα που συλλέχθηκε με BD™ Universal Viral Transport System, στο οποίο προστέθηκαν τα στελέχη αναφοράς που αναφέρονται στον πίνακα 28 για τους αντιπροσωπευτικούς στόχους που επιλέχθηκαν για κάθε κανάλι φθορισμού: SARS-CoV-2, γρίπη A, γρίπη B, RSV B, παραγρίπη τύπου 3, κορονοϊός OC43, μεταπνευμονοϊός και αδενοϊός.

Εντός δοκιμασίας

Η επαναληψιμότητα εντός δοκιμασίας προσδιορίστηκε με την ανάλυση έξι επαναλήψεων όλων των δειγμάτων στην ίδια εκτέλεση, χρησιμοποιώντας το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Μια σύνοψη των αποτελεσμάτων παρουσιάζεται στους παρακάτω πίνακες.

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

Πίνακας 35. Αποτελέσματα εντός δοκιμασίας για το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = κύκλος κατωφλίου. ($\bar{x}$) = αριθμητικός μέσος Ct, (σ) = τυπική απόκλιση, (CV %) = συντελεστής διακύμανσης, Αρν. = αρνητικό, Δ/Ι = δεν ισχύει.

<i>Respiratory virus Mix II reaction tube</i>					
Στόχος	Δείγματα	Κανάλι	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Ιός παραγρίτης	2 x LoD	475/520 (FAM)	32,13	0,56	1,76
	5 x LoD	475/520 (FAM)	29,97	1,16	3,88
	Αρνητικός μάρτυρας	475/520 (FAM)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
Κορονοϊός	2 x LoD	530/565 (HEX)	34,23	0,73	2,14
	5 x LoD	530/565 (HEX)	32,03	0,85	2,65
	Αρνητικός μάρτυρας	530/565 (HEX)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
Μεταπνευμονοϊός	2 x LoD	585/630 (ROX)	31,53	0,66	2,09
	5 x LoD	585/630 (ROX)	29,63	0,77	2,61
	Αρνητικός μάρτυρας	585/630 (ROX)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
Αδενοϊός	2 x LoD	630/665 (CY5)	34,35	0,10	0,31
	5 x LoD	630/665 (CY5)	33,55	1,39	4,15
	Αρνητικός μάρτυρας	630/665 (CY5)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
EIC	2 x LoD	680/715 (CY5.5)	25,72	0,53	2,08
	5 x LoD	680/715 (CY5.5)	25,57	0,61	2,39
	Αρνητικός μάρτυρας	680/715 (CY5.5)	25,63	0,23	0,91

Πίνακας 36. Αποτελέσματα εντός δοκιμασίας για το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = κύκλος κατωφλίου, ($\bar{x}$) = αριθμητικός μέσος Ct, (σ) = τυπική απόκλιση, (CV %) = συντελεστής διακύμανσης, Αρν. = αρνητικό, Δ/Ι = δεν ισχύει.

Μεταξύ δοκιμασιών

Η επαναληψιμότητα μεταξύ δοκιμασιών προσδιορίστηκε με την ανάλυση τεσσάρων επαναλήψεων των διαφορετικών δειγμάτων σε τρεις διαφορετικές ημέρες από τρεις διαφορετικούς χειριστές, χρησιμοποιώντας το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Μια σύνοψη των αποτελεσμάτων παρουσιάζεται στους παρακάτω πίνακες.

<i>Respiratory Virus Mix I reaction tube</i>					
Στόχος	Δείγματα	Κανάλι	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
SARS-CoV-2	2 x LoD	475/520 (FAM)	30,33	0,38	1,27
	5 x LoD	475/520 (FAM)	28,93	0,28	0,97
	Αρνητικός μάρτυρας	475/520 (FAM)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
Γρίπη Β	2 x LoD	530/565 (HEX)	32,61	0,66	2,03
	5 x LoD	530/565 (HEX)	31,55	0,46	1,45
	Αρνητικός μάρτυρας	530/565 (HEX)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
Γρίπη Α	2 x LoD	585/630 (ROX)	32,94	0,99	2,99
	5 x LoD	585/630 (ROX)	31,95	0,76	2,37
	Αρνητικός μάρτυρας	585/630 (ROX)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
RSV	2 x LoD	630/665 (CY5)	32,80	0,74	2,27

EIC	5 x LoD	630/665 (CY5)	31,67	0,53	1,68
	Αρνητικός μάρτυρας	630/665 (CY5)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
	2 x LoD	680/715 (CY5.5)	25,90	0,25	0,95
	5 x LoD	680/715 (CY5.5)	25,99	0,40	1,55
	Αρνητικός μάρτυρας	680/715 (CY5.5)	25,84	0,31	1,21

Πίνακας 37. Αποτελέσματα μεταξύ δοκιμασιών για το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = κύκλος κατωφλίου. ($\bar{x}$) = αριθμητικός μέσος Ct, (σ) = τυπική απόκλιση, (CV %) = συντελεστής διακύμανσης, Αρν. = αρνητικό, Δ/Ι = δεν ισχύει.

Respiratory virus Mix II reaction tube					
Στόχος	Δείγματα	Κανάλι	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Ιός παραγρίτης	2 x LoD	475/520 (FAM)	31,86	0,71	2,22
	5 x LoD	475/520 (FAM)	30,18	0,82	2,72
	Αρνητικός μάρτυρας	475/520 (FAM)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
Κορονοϊός	2 x LoD	530/565 (HEX)	33,45	0,76	2,27
	5 x LoD	530/565 (HEX)	31,56	0,96	3,04
	Αρνητικός μάρτυρας	530/565 (HEX)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
Μεταπνευμονοϊός	2 x LoD	585/630 (ROX)	30,79	0,93	3,01
	5 x LoD	585/630 (ROX)	29,68	0,88	2,97
	Αρνητικός μάρτυρας	585/630 (ROX)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
Αδενοϊός	2 x LoD	630/665 (CY5)	35,08	1,62	4,61
	5 x LoD	630/665 (CY5)	33,20	0,77	2,33
	Αρνητικός μάρτυρας	630/665 (CY5)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
EIC	2 x LoD	680/715 (CY5.5)	25,49	0,31	1,21
	5 x LoD	680/715 (CY5.5)	25,65	0,33	1,30
	Αρνητικός μάρτυρας	680/715 (CY5.5)	25,52	0,31	1,21

Πίνακας 38. Αποτελέσματα μεταξύ δοκιμασιών για το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = κύκλος κατωφλίου. ($\bar{x}$) = αριθμητικός μέσος Ct, (σ) = τυπική απόκλιση, (CV %) = συντελεστής διακύμανσης, Αρν. = αρνητικό, Δ/Ι = δεν ισχύει.

Μεταξύ παρτίδων

Οι τιμές μεταξύ παρτίδων προσδιορίστηκαν με έξι επαναλήψεις των διαφορετικών δειγμάτων χρησιμοποιώντας τρεις παρτίδες του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Μια σύνοψη των αποτελεσμάτων παρουσιάζεται στους παρακάτω πίνακες.

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube					
Στόχος	Δείγματα	Κανάλι	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
SARS-CoV-2	2 x LoD	475/520 (FAM)	29,07	0,45	1,53
	5 x LoD	475/520 (FAM)	29,14	0,59	2,01
	Αρνητικός μάρτυρας	475/520 (FAM)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
Γρίπη Β	2 x LoD	530/565 (HEX)	32,58	0,64	1,95
	5 x LoD	530/565 (HEX)	31,01	1,03	3,31
	Αρνητικός μάρτυρας	530/565 (HEX)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
Γρίπη Α	2 x LoD	585/630 (ROX)	32,75	1,7	5,33
	5 x LoD	585/630 (ROX)	31,61	1,14	3,62
	Αρνητικός μάρτυρας	585/630 (ROX)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
RSV	2 x LoD	630/665 (CY5)	31,72	1,90	5,99
	5 x LoD	630/665 (CY5)	30,21	1,35	4,46
	Αρνητικός μάρτυρας	630/665 (CY5)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
EIC	2 x LoD	680/715 (CY5.5)	25,40	0,31	1,23
	5 x LoD	680/715 (CY5.5)	25,61	0,53	2,06
	Αρνητικός μάρτυρας	680/715 (CY5.5)	25,54	0,37	1,45

Πίνακας 39. Αποτελέσματα μεταξύ παρτίδων για το Viasure *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = κύκλος κατωφλίου. ($\bar{x}$) = αριθμητικός μέσος Ct, (σ) = τυπική απόκλιση, (CV %) = συντελεστής διακύμανσης, Αρν. = αρνητικό, Δ/Ι = δεν ισχύει.

<i>Respiratory virus Mix II</i> reaction tube					
Στόχος	Δείγματα	Κανάλι	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Ιός παραγρίτης	2 x LoD	475/520 (FAM)	31,45	1,20	3,82
	5 x LoD	475/520 (FAM)	29,53	0,59	1,99
	Αρνητικός μάρτυρας	475/520 (FAM)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
Κορονοϊός	2 x LoD	530/565 (HEX)	32,35	0,71	2,20
	5 x LoD	530/565 (HEX)	30,18	1,33	4,39
	Αρνητικός μάρτυρας	530/565 (HEX)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
Μεταπνευμονοϊός	2 x LoD	585/630 (ROX)	31,66	1,00	3,16
	5 x LoD	585/630 (ROX)	29,16	1,25	4,29
	Αρνητικός μάρτυρας	585/630 (ROX)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
Αδενοϊός	2 x LoD	630/665 (CY5)	33,23	0,70	2,12
	5 x LoD	630/665 (CY5)	32,83	1,06	3,23
	Αρνητικός μάρτυρας	630/665 (CY5)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
EIC	2 x LoD	680/715 (CY5.5)	24,82	0,43	1,73
	5 x LoD	680/715 (CY5.5)	25,57	0,42	1,64
	Αρνητικός μάρτυρας	680/715 (CY5.5)	25,03	0,36	1,43

Πίνακας 40. Αποτελέσματα μεταξύ παρτίδων για το Viasure *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = κύκλος κατωφλίου. ($\bar{x}$) = αριθμητικός μέσος Ct, (σ) = τυπική απόκλιση, (CV %) = συντελεστής διακύμανσης, Αρν. = αρνητικό, Δ/Ι = δεν ισχύει.

Μεταξύ εξοπλισμών

Οι τιμές μεταξύ εξοπλισμών προσδιορίστηκαν με έξι επαναλήψεις των ίδιων δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό εντός δοκιμασίας, μεταξύ δοκιμασιών και μεταξύ παρτίδων, χρησιμοποιώντας το *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Αυτές οι δοκιμασίες εκτελέστηκαν σε δύο εργαστηριακά κέντρα με δύο διαφορετικά BD MAX™ System. Μια σύνοψη των αποτελεσμάτων παρουσιάζεται στους παρακάτω πίνακες.

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube					
Στόχος	Δείγματα	Κανάλι	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
SARS-CoV-2	2 x LoD	475/520 (FAM)	30,30	0,29	0,96
	5 x LoD	475/520 (FAM)	28,93	0,24	0,82
	Αρνητικός μάρτυρας	475/520 (FAM)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
Γρίπη Β	2 x LoD	530/565 (HEX)	32,70	0,42	1,29
	5 x LoD	530/565 (HEX)	31,26	0,45	1,43
	Αρνητικός μάρτυρας	530/565 (HEX)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
Γρίπη Α	2 x LoD	585/630 (ROX)	33,33	1,47	4,42
	5 x LoD	585/630 (ROX)	31,52	0,61	1,92
	Αρνητικός μάρτυρας	585/630 (ROX)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
RSV	2 x LoD	630/665 (CY5)	32,80	0,76	2,33
	5 x LoD	630/665 (CY5)	30,88	1,30	4,20
	Αρνητικός μάρτυρας	630/665 (CY5)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
EIC	2 x LoD	680/715 (CY5.5)	35,97	0,32	1,24
	5 x LoD	680/715 (CY5.5)	25,71	0,33	1,28
	Αρνητικός μάρτυρας	680/715 (CY5.5)	25,96	0,37	1,44

Πίνακας 41. Αποτελέσματα μεταξύ εξοπλισμών για το *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = κύκλος κατωφλίου, ($\bar{x}$) = αριθμητικός μέσος Ct, (σ) = τυπική απόκλιση, (CV %) = συντελεστής διακύμανσης, Αρν. = αρνητικό, Δ/Ι = δεν ισχύει.

<i>Respiratory virus Mix II</i> reaction tube					
Στόχος	Δείγματα	Κανάλι	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Ιός παραγρίτης	2 x LoD	475/520 (FAM)	31,95	0,83	2,61
	5 x LoD	475/520 (FAM)	29,79	0,95	3,18
	Αρνητικός μάρτυρας	475/520 (FAM)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
Κορονοϊός	2 x LoD	530/565 (HEX)	34,26	0,74	2,15
	5 x LoD	530/565 (HEX)	31,95	0,61	1,91
	Αρνητικός μάρτυρας	530/565 (HEX)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
Μεταπνευμονοϊός	2 x LoD	585/630 (ROX)	31,59	0,50	1,58
	5 x LoD	585/630 (ROX)	29,51	1,03	3,48
	Αρνητικός μάρτυρας	585/630 (ROX)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι

Αδενοϊός	2 x LoD	630/665 (CY5)	34,14	0,72	2,12
	5 x LoD	630/665 (CY5)	32,31	0,36	1,13
	Αρνητικός μάρτυρας	630/665 (CY5)	Αρν.	Δ/Ι	Δ/Ι
EIC	2 x LoD	680/715 (CY5.5)	25,35	0,22	0,85
	5 x LoD	680/715 (CY5.5)	25,10	0,22	0,87
	Αρνητικός μάρτυρας	680/715 (CY5.5)	25,73	0,28	1,11

Πίνακας 42. Αποτελέσματα μεταξύ εξοπλισμών για το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = κύκλος κατωφλίου. ($\bar{x}$) = αριθμητικός μέσος Ct, (σ) = τυπική απόκλιση, (CV %) = συντελεστής διακύμανσης, Αρν. = αρνητικό, Δ/Ι = δεν ισχύει.

Συμπερασματικά, η μελέτη πιστότητας επιβεβαίωσε τις αξιόπιστες επιδόσεις και τη συνέπεια του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

12.5. Μεταφερόμενη επιμόλυνση

Η ανθεκτικότητα (παράμετρος μεταφερόμενης επιμόλυνσης) αναλύθηκε σύμφωνα με τις κοινές προδιαγραφές για ορισμένα τεχνολογικά προϊόντα IVD κατηγορίας D σε συμμόρφωση με τον κανονισμό (ΕΕ) 2017/746, ιδίως το παράρτημα XIII, το οποίο ορίζει τις κοινές προδιαγραφές για τα τεχνολογικά προϊόντα που προορίζονται για την ανίχνευση ή την ποσοτικοποίηση δεικτών λοίμωξης από SARS-CoV-2. Αυτές οι συστάσεις εφαρμόστηκαν μόνο για τον στόχο του ιού SARS-CoV-2. Οι υπόλοιποι στόχοι του *Respiratory Virus Mix I* reaction tube δεν αναλύθηκαν σε αυτήν τη δοκιμασία. Ωστόσο, ο ιός παραγρίτης τύπου 3 αναλύθηκε επίσης ως στόχος του *Respiratory Virus Mix II* reaction tube για την εκτέλεση της δοκιμασίας και με τα δύο κύρια μείγματα.

Το ποσοστό μεταφερομένης επιμόλυνσης προσδιορίστηκε με την ανάλυση 60 επαναλήψεων αρνητικών δειγμάτων ρινοφαρυγγικού επιχρίσματος και 60 επαναλήψεων ενός RNA-θετικού δείγματος SARS-CoV-2 με υψηλό τίτλο ιικού RNA SARS-CoV-2 (First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA (κωδικός NIBSC: 20/146), σε 1E+02 IU/mL) και ενός δείγματος ανθρώπινου ιού παραγρίτης 3 RNA θετικού με υψηλό τίτλο ιικού RNA HPIV 3 (ανθρώπινος ιός παραγρίτης 3 (κωδικός ATCC: VR-93™), σε 1E+05 TCID₅₀/mL). Συνολικά, πραγματοποιήθηκαν πέντε εκτελέσεις θετικών και αρνητικών δειγμάτων χρησιμοποιώντας μια μέθοδο δοκιμασίας βασισμένη στη διάταξη σκακιέρας, η οποία επιτρέπει την εναλλακτική διάταξη των δειγμάτων.

Για το *Respiratory Virus Mix I* reaction tube, 60 από τα 60 θετικά δείγματα ανιχνεύθηκαν σωστά και 59 από τα 60 αρνητικά δείγματα έδωσαν αρνητικό αποτέλεσμα, με ποσοστό συμφωνίας 98,33%. Για το *Respiratory Virus Mix II* reaction tube, όλα τα θετικά δείγματα ανιχνεύθηκαν σωστά και όλα τα αρνητικά δείγματα έδωσαν αρνητικό αποτέλεσμα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των δύο σωληναρίων αντίδρασης, το ποσοστό διασταυρούμενης επιμόλυνσης ήταν σχεδόν 0%.

12.6. Ποσοστό αστοχίας ολόκληρου του συστήματος

Η ανθεκτικότητα (παράμετρος ποσοστού αστοχίας ολόκληρου του συστήματος) αναλύθηκε σύμφωνα με τις ενδείξεις των κοινών προδιαγραφών για τεχνολογικά προϊόντα που προορίζονται για την ανίχνευση ή την ποσοτικοποίηση δεικτών λοίμωξης από SARS-CoV-2. Αυτές οι συστάσεις εφαρμόστηκαν μόνο για τον στόχο του ιού SARS-CoV-2. Οι υπόλοιποι στόχοι δεν αναλύθηκαν σε αυτήν τη δοκιμασία.

Για να καταδειχθεί ότι τα δείγματα χαμηλής συγκέντρωσης SARS-CoV-2 RNA ανιχνεύονται από το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, αναλύθηκαν 119 αρνητικά δείγματα ρινοφαρυγγικού επιχρίσματος, στα οποία είχε προστεθεί το First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA (κωδικός NIBSC: 20/146) σε συγκέντρωση ιού που ισοδυναμεί με τρεις φορές το LoD του (3 x LoD) με το τεστ VIASURE.

Τα αποτελέσματα της μελέτης υποδεικνύουν ότι όλα τα αντίγραφα ήταν θετικά για τον στόχο SARS-CoV-2 RNA, που αντιστοιχεί σε ποσοστό συμφωνίας 100%. Συμπερασματικά, το ποσοστό αστοχίας σε επίπεδο συστήματος είναι 0%.

12.7. Αναλυτική ειδικότητα και αντιδραστικότητα

Η αναλυτική ειδικότητα και η αναλυτική αντιδραστικότητα για το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System αξιολογήθηκαν *in silico* και πειραματικά, χρησιμοποιώντας διαφορετικά υλικά εκκίνησης, όπως πιστοποιημένα στελέχη αναφοράς, πιστοποιημένα RNA/DNA αναφοράς και υλικά από τα προγράμματα EQA.

12.7.1. Αναλυτική ειδικότητα

Η αναλυτική ειδικότητα αφορά την ικανότητα της δοκιμασίας να ανιχνεύει τον προβλεπόμενο στόχο. Για την αναλυτική ειδικότητα πρέπει να εξετάζονται δύο παράγοντες: η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα και η παρεμβολή. Διασταυρούμενη αντιδραστικότητα μπορεί να εμφανιστεί όταν υπάρχουν γενετικά συγγενείς αλληλουχίες σε ένα δείγμα ασθενούς, ενώ παρεμβολή μπορεί να σημειωθεί εάν η παρουσία συγκεκριμένων ουσιών που ενδέχεται να υπάρχουν στα υποστρώματα δειγμάτων επηρεάζει τις επιδόσεις της RT-qPCR.

Διασταυρούμενη αντιδραστικότητα: *in silico* ανάλυση

Η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας αλληλουχίες αναφοράς των παθογόνων από NCBI Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) και εσωτερικό λογισμικό βιοπληροφορικής ανάλυσης. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση BLAST για κάθε εκκινήτη και ανιχνευτή στη βάση δεδομένων NCBI Genbank Nucleotide Database και εσωτερική βιοπληροφορική ανάλυση.

Οι ευθυγραμμισμένες αλληλουχίες με ποσοστό ευθυγράμμισης μικρότερο από 80% ομολογίας θεωρήθηκε ότι είναι μη πιθανό να ανιχνευθούν. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν έδειξαν ότι **όλες οι αναλυθείσες αλληλουχίες είχαν**

ομολογία κάτω από 80% με τα σετ εκκινητών και ανιχνευτών SARS-CoV-2, γρίπης A, γρίπης B και RSV (τύποι A και B) που περιλαμβάνονται στο *Respiratory Virus Mix I* reaction tube, καθώς και με τα σετ εκκινητών και ανιχνευτών παραγρίπης (τύποι 1, 2, 3 και 4), ανθρώπινου κορονοϊού (229E, NL63 και HKU1), μεταπνευμονοϊού και αδενοϊού που περιλαμβάνονται στο *Respiratory Virus Mix II* reaction tube.

Στην περίπτωση του κορονοϊού OC43, ελήφθησαν τα ακόλουθα αποτελέσματα:

Κορονοϊός OC43

Η ανάλυση BLAST με φίλτρο τον κορονοϊό OC43 (εξαιρουμένου του OC43 Taxonomy ID: 31631) εμφανίζει υψηλή ομολογία μεταξύ των εκκινητών και των ανιχνευτών και του Betacoronavirus 1 από στελέχη βοοειδών, βουβάλων, όρυγων, καμηλοπαρδάλων, καμήλων, σκύλων, ιπποειδών, χοίρων, κουνελιών, αντιλοπών Sable, ελαφιών Sambar, ταπίρων, υδροχοιριδίων, υδροβούβαλων, Watusi, ελαφιών λευκής ουράς και γιακ. Ωστόσο, αυτοί οι ιοί δεν έχουν ταυτοποιηθεί σε ανθρώπους και δεν θεωρούνται προς το παρόν ζωνοσογικοί ιοί, επομένως δεν παρεμβαίνουν στην ανίχνευση του κορονοϊού OC43.

Επομένως, καμία από τις αλληλουχίες που αναλύθηκαν, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που παρουσιάζουν ομολογία μεγαλύτερη από 80%, δεν μπορεί να επηρεάσει τη σωστή ανίχνευση του κορονοϊού OC43.

Συμπερασματικά, οι σχεδιασμοί για τους στόχους SARS-CoV-2, γρίπης A, γρίπης B, RSV (τύποι A και B), παραγρίπης (τύποι 1, 2, 3 και 4), ανθρώπινου κορονοϊού (229E, NL63, HKU1 και OC43), μεταπνευμονοϊού και αδενοϊού του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System δεν θα έπρεπε να προκαλούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα στην ανίχνευση αυτών των μικροοργανισμών όταν υπάρχουν άλλοι μικροοργανισμοί.

Αναλυτική ειδικότητα: εργαστηριακές δοκιμές

Διασταυρούμενη αντιδραστικότητα: Πειραματική δοκιμή

Η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System επιβεβαιώθηκε με την ανάλυση ενός πάνελ διαφορετικών μικροοργανισμών που σχετίζονται με αναπνευστικές λοιμώξεις σε ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα που συλλέχθηκαν με BD™ Universal Viral Transport System. Όπου ήταν δυνατόν και υπήρχαν διαθέσιμα δεδομένα συγκέντρωσης, οι ιοί και τα βακτήρια παρεμβολής αξιολογήθηκαν σε ιατρικά συναφή επίπεδα (συνήθως $1\text{E}+05$ – $1\text{E}+06$ cfu (μονάδα σχηματισμού αποικίας)/mL για τα βακτήρια και $1\text{E}+04$ – $1\text{E}+05$ pfu (μονάδα σχηματισμού πλάκας)/mL για τους ιούς). Δεν ανιχνεύθηκε διασταυρούμενη αντιδραστικότητα μεταξύ των ακόλουθων μικροοργανισμών που εξετάστηκαν, παρά μόνο για τους στοχευόμενους μικροοργανισμούς.

Έλεγχος διασταυρούμενης αντιδραστικότητας					
Αδενοϊός τύπου 15 (είδος D), στέλεχος 35 [955, CH.38]	+/-	Ιός γρίπης A/Cambodia/e0826360/2020 (H3N2)	+/-	SARS-CoV-2	+/-
Αδενοϊός τύπου 2, είδος C	+/-	Ιός γρίπης A/Hawaii/31/2007 (H1N1)	+/-	SARS-CoV-2	+/-
Αδενοϊός τύπου 3, είδος B	+/-	Ιός γρίπης A/Mexico/4108/2009 (H1N1)pdm09	+/-	SARS-CoV-2 B.1.1.7_601443, παραλλαγή UK	+/-
Αδενοϊός τύπου 31 (είδος A), στέλεχος 1315/63	+/-	Ιός γρίπης A/New York/18/2009 (H1N1)pdm09	+/-	SARS-CoV-2 B.1.1.7_710528, παραλλαγή UK	+/-
Αδενοϊός τύπου 37	+/-	Ιός γρίπης A/Qatar/1123/2007 (H1N1)	+/-	SARS-CoV-2 B.1.351	+/-
Αδενοϊός τύπου 4, είδος E	+/-	Ιός γρίπης A/South Dakota/6/2007 (H1N1)	+/-	SARS-CoV-2 κορονοϊός 2 στέλεχος 2019-nCoV/USA-WA1/2020	+/-
Αδενοϊός τύπου 40, στέλεχος Dugan	+/-	Ιός γρίπης A/South Dakota/6/2007 X-173 (H1N1)	+/-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Delta B.1.617.2	+/-
Αδενοϊός τύπου 41 (είδος F), στέλεχος Tak	+/-	Ιός γρίπης A/Taiwan/760/2007 (H3N2)	+/-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.2	+/-
Αδενοϊός τύπου 5, είδος C	+/-	Ιός γρίπης A/Texas/71/2007 (H3N2)	+/-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.2	+/-
Αδενοϊός τύπου 6 (είδος C), στέλεχος αμυγδαλής 99	+/-	Ιός γρίπης B/Bangladesh/3333/2007 (εξελικτική γραμμή Yamagata)	+/-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.2	+/-
Αδενοϊός τύπου 7A, είδος B	+/-	Ιός γρίπης B/Brisbane/3/2007 (εξελικτική γραμμή Yamagata)	+/-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.2.75	+/-
DNA ανθρώπινου αδενοϊού τύπου 2	+/-	Ιός γρίπης B/Pennsylvania/5/2007 (εξελικτική γραμμή Victoria)	+/-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.2.75	+/-
<i>Bordetella holmesii</i>	-	Ιός γρίπης B/Pennsylvania/7/2007 (εξελικτική γραμμή Yamagata)	+/-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.4	+/-
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	Ιός γρίπης B/Santiago/4364/2007 (εξελικτική γραμμή Yamagata)	+/-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.4	+/-
<i>Bordetella pertussis</i>	-	Ιός γρίπης B/Victoria/304/2006 (εξελικτική γραμμή Victoria)	+/-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.4	+/-
<i>Bordetella pertussis</i> τύπου στέλεχος	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> υποείδος <i>Pneumoniae</i> στέλεχος PCI 602	-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.5	+/-
<i>Candida albicans</i>	-	<i>Legionella Pneumophila</i> Sg1 (ST47)	-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.5	+/-
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> στέλεχος CM-1	-	<i>Legionella pneumophila</i> Sg1 (ST62)	-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.5	+/-
Κορονοϊός HKU	+/-	<i>Legionella pneumophila</i> υποείδος <i>pneumophila</i> στέλεχος Philadelphia-1	-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.5	+/-
Κορονοϊός στέλεχος NL63	+/-	MERS-CoV στέλεχος Florida/USA-2_Saudi Arabia_2014	-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BQ.1	+/-
Enterovirus D58 US/MO/14-18949	-	<i>Moraxella catarrhalis</i> στέλεχος 59632	-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BQ.1	+/-
<i>Haemophilus influenzae</i>	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BQ1.1	+/-
<i>Haemophilus influenzae</i>	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> στέλεχος PI 1428	-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BQ1.1	+/-
<i>Haemophilus influenzae</i> στέλεχος L-378	-	Ιός παραγρίπης τύπου 2	+/-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή XBB	+/-
Human rinovirus 17 στέλεχος 33342	-	Ιός παραγρίπης τύπου 3	- +/-	SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή XBB	+/-
Ιός γρίπης A/Brisbane/10/2007 (H3N2)	+/-	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	-	SARS-CoV-2 SARS-CoV-2 απομονωμένο στέλεχος Australia/VIC01/2020	+/-
Ιός γρίπης A/Brisbane/10/2007 IVR-147 (H3N2)	+/-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> στέλεχος RH 815	-	SARS-CoV-2 SARS-CoV-2 απομονωμένο στέλεχος Wuhan-Hu-1	+/-
Ιός γρίπης A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	+/-	RSV A 2000/3-4	+/-	SARS-CoV-2	+/-
Ιός γρίπης A/Brisbane/59/2007 IVR-148 (H1N1)	+/-	RSV στέλεχος A-2	+/-	<i>Staphylococcus epidermis</i> στέλεχος PCI 1200	-
Ιός γρίπης A/California/07/2009 (H1N1)pdm09	+/-	RSV τύπου B	+/-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-

Έλεγχος διασταυρούμενης αντιδραστικότητας					
Ιός γρίπης A/California/07/2009 NYMC X-179A (H1N1)pdm09	+/-	SARS-CoV-1 στέλεχος Frankfurt 1	+/-	<i>Streptococcus pneumoniae</i> στέλεχος [CIP 104225]	-
Ιός γρίπης A/Cambodia/0371/2007 (H1N1)	+/-				

Πίνακας 43. Παθογόνοι μικροοργανισμοί αναφοράς που περιλαμβάνονται στη δοκιμασία διασταυρούμενης αντιδραστικότητας. Το αποτέλεσμα +/- αναφέρεται στο θετικό ή αρνητικό αποτέλεσμα που λαμβάνεται στα διαφορετικά κανάλια ανάλογα με τον στόχο που ανιχνεύεται. Σε περίπτωση που ένας μικροοργανισμός που εξετάστηκε αποτελεί έναν από τους στόχους που ανιχνεύονται από το τεχνολογικό προϊόν, λαμβάνεται ένα θετικό αποτέλεσμα στο αντίστοιχο κανάλι, αλλά ένα αρνητικό αποτέλεσμα στα υπόλοιπα κανάλια.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα των δοκιμασιών διασταυρούμενης αντιδραστικότητας υποδεικνύουν υψηλή ειδικότητα για το *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System για την ανίχνευση των στοχευόμενων μικροοργανισμών, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο για ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Δεδομένου ότι δεν παρατηρήθηκαν μη ειδικές ενισχύσεις με άλλους συγγενείς μικροοργανισμούς, αυτό υποδηλώνει ότι το τεχνολογικό προϊόν είναι σε θέση να διακρίνει με ακρίβεια τους στόχους.

Μελέτη συλλοίμωσης

Πραγματοποιήθηκε μια μελέτη συλλοίμωσης χρησιμοποιώντας τα στελέχη αναφοράς που αναφέρονται στον πίνακα 28 για τους αντιπροσωπευτικούς στόχους που επιλέχθηκαν για κάθε κανάλι φθορισμού: SARS-CoV-2, γρίπη A, γρίπη B, RSV B, ιός παραγρίπης τύπου 3, κορονοϊός OC43, μεταπνευμονοϊός και αδενοϊός, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις, για να επιβεβαιωθεί ότι η παρουσία οποιουδήποτε από αυτούς, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση, δεν μεταβάλλει την ανίχνευση μεταξύ τους. Αναλύθηκαν εννέα δείγματα ρινοφαρυγγικού επιχρίσματος με προσθήκη υλικού αναφοράς, με έναν στόχο σε χαμηλή συγκέντρωση ($3 \times \text{LoD}$) και τους άλλους στόχους σε πολύ υψηλή συγκέντρωση, συνήθως $1\text{E}+04$ - $1\text{E}+05$ μονάδες/mL, εάν ήταν δυνατόν.

Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν ότι η ανίχνευση των στοχευόμενων μικροοργανισμών δεν μεταβάλλεται όταν η ανάλυση διενεργείται με το *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System σε συλλοίμωση σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

Μελέτη παρεμβαλλόμενων μικροβιακών παραγόντων

Πραγματοποιήθηκε μια μελέτη παρεμβαλλόμενων μικροβιακών παραγόντων για την ανάλυση των πιθανών παρεμβαλλόμενων μικροβιακών παραγόντων για το *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Εξετάστηκε ένα πάνελ διαφορετικών μικροοργανισμών που σχετίζονται με αναπνευστικές νόσους παρουσία SARS-CoV-2, γρίπης A και B, RSV B, ιού παραγρίπης τύπου 3, κορονοϊού OC43, μεταπνευμονοϊού και αδενοϊού (τα στελέχη αναφοράς παρατίθενται αναλυτικά στον πίνακα 28) σε $3 \times \text{LoD}$. Όπου ήταν δυνατόν και υπήρχαν διαθέσιμα δεδομένα συγκέντρωσης, οι ιοί και τα βακτήρια παρεμβολής αξιολογήθηκαν σε ιατρικά συναφή επίπεδα (συνήθως $1\text{E}+05$ – $1\text{E}+06$ cfu (μονάδα σχηματισμού αποικίας)/mL για τα βακτήρια και $1\text{E}+04$ – $1\text{E}+05$ pfu (μονάδα σχηματισμού πλάκας)/mL για τους ιούς). Κάθε σημειακή ανάλυση διεξήχθη δύο φορές ανά δείγμα.

Ο θετικός μάρτυρας μήτρας (Positive Matrix Control, PMC) και ο αρνητικός μάρτυρας μήτρας (Negative Matrix Control, NMC) περιλαμβάνονται ως μάρτυρες στο τεστ. Ο PMC αντιστοιχεί στην αρνητική ρινοφαρυγγική μήτρα με προσθήκη ειδικών στελεχών-στόχων χωρίς κανέναν παρεμβαλλόμενο μικροβιακό παράγοντα, ενώ ο NMC αντιστοιχεί στην αρνητική ρινοφαρυγγική μήτρα χωρίς κανέναν παρεμβαλλόμενο μικροβιακό παράγοντα.

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube και <i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube		
Όνομα μικροοργανισμού	Συγκέντρωση που εξετάστηκε	Αποτέλεσμα
PMC	Δ/Ι	N.I
NMC	Δ/Ι	N.I
Human rhinovirus 17	1,60E+04 TCID ₅₀ /mL	N.I
Enterovirus D58	4,00E+04 TCID ₅₀ /mL	N.I
MERS-CoV	3,55E+03 TCID ₅₀ /mL	N.I
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	3,16E+04 TCID ₅₀ /mL	N.I
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,80E+03 CFU/μL	N.I
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+05 CFU/mL	N.I
<i>Candida albicans</i>	4,18E+06 CFU/mL	N.I
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3,60E+06 CFU/mL	N.I
SARS-CoV 1	5,20E+02 cop/mL	N.I
<i>Bordetella pertussis</i>	1,20E+05 CFU/mL	N.I
<i>Bordetella holmesii</i>	4,10E+04 CFU/mL	N.I
<i>Bordetella parapertussis</i>	1,20E+05 CFU/mL	N.I
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3,65E+04 CFU/μL	N.I
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,00E+06 CFU/mL	N.I
<i>Legionella pneumophila</i> υποείδος <i>pneumophila</i>	5,60E+04 CFU/μL	N.I
<i>Haemophilus influenzae</i>	5,20E+03 CFU/μL	N.I
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,90E+06 CFU/mL	N.I
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	1,00E+03 αντίγρ./μL	N.I

Πίνακας 44. Δοκιμασία παρεμβαλλόμενων μικροβιακών παραγόντων. N.I. = καμία παρεμβολή.

Συμπερασματικά, δεν παρατηρήθηκαν παρεμβολές στην ανίχνευση του νουκλεϊκού οξέος στόχου με κανέναν από τους μικροοργανισμούς που εξετάστηκαν.

Μελέτη παρεμβαλλόμενων ουσιών

Πραγματοποιήθηκε μια μελέτη παρεμβαλλόμενων ουσιών για την αξιολόγηση της πιθανής παρεμβολής ενδογενών και εξωγενών ουσιών στο VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Συνολικά είκοσι δυνητικά παρεμβαλλόμενες ουσίες προστέθηκαν στην αρνητική ρινοφαρυγγική μήτρα που εμπλουτίστηκε με τα στελέχη αναφοράς που αναφέρονται στον Πίνακα 28 για SARS-CoV-2, γρίπη Α, γρίπη Β, RSV Β, ιό παραγρίτης τύπου 3, κορονοϊό OC43, μεταπνευμονοϊό και αδενοϊό και αξιολογήθηκαν με έξι επαναλήψεις.

Ο θετικός μάρτυρας μήτρας (Positive Matrix Control, PMC) και ο αρνητικός μάρτυρας μήτρας (Negative Matrix Control, NMC) περιλαμβάνονται ως μάρτυρες στο τεστ. Το PMC αντιστοιχεί στην αρνητική ρινοφαρυγγική μήτρα με προσθήκη ειδικών στελεχών-στόχων χωρίς παρεμβαλλόμενη ουσία, ενώ το NMC αντιστοιχεί στην αρνητική ρινοφαρυγγική μήτρα χωρίς παρεμβαλλόμενη ουσία ή προσθήκη μικροοργανισμών/υλικού αναφοράς. Ελήφθησαν τα ακόλουθα αποτελέσματα:

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube και <i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube		
Ονομασία ουσίας	Συγκέντρωση που εξετάστηκε	Αποτέλεσμα
PMC	Δ/Ι	N.I.
NMC	Δ/Ι	N.I.
Οσελταμιβίρη	3,99E-04 mg/mL	N.I.
Ζαναμιβίρη	3,30 mg/mL	N.I.
Αζιθρομυκίνη	1,10E-02 mg/mL	N.I.
Μουπιροκίνη	1,50E-03 mg/mL	N.I.
Τομπραμυκίνη	3,30E-02 mg/mL	N.I.
Λευκωματίνη	1,00E+01mg/mL	N.I.
Γονιδιωματικό DNA	3,50E-03 mg/mL	N.I.
Ανθρώπινη βλέννα	1,00 % (κ.ό.)	N.I.
Βλεννίνη	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Τριγλυκερίδια	1,50E+01 mg/mL	N.I.
Ολικό αίμα	1,00 % (κ.ό.)	N.I.
Καρβοκυστεΐνη	5,00E+00 mg/mL	N.I.
N-ακετυλοκυστεΐνη	1,50E-01 mg/mL	N.I.
Φαινυλονεφρίνη	3,00E-05 mg/mL	N.I.
Φλουτικαζόνη	1,26E-06 mg/mL	I
	3,15E-07 mg/mL	N.I.
<i>Galphimia glauca</i> , <i>Iuffa operculata</i>	1,25E+01 mg/mL	N.I.
Υδροχλωρική οξυμεταζολίνη	1,00E-01mg/mL	N.I.
Χλωριούχο νάτριο	9,00E-01 mg/mL	N.I.
Νικοτίνη	3,00E-02 mg/mL	I
	7,50E-04 mg/mL	N.I.
Βενζοκαΐνη	3,00E+00 mg/mL	N.I.

Πίνακας 45. Πιθανές παρεμβαλλόμενες ουσίες. N.I. = καμία παρεμβολή, I: παρεμβολή.

Δοκιμάστηκαν διαφορετικές πιθανώς παρεμβαλλόμενες ουσίες, τόσο ενδογενείς όσο και εξωγενείς, στο VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Παρεμβολή παρατηρήθηκε κατά τη δοκιμή της φλουτικαζόνης (1,26E-06 mg/mL) και της νικοτίνης (3,00E-02 mg/mL) τόσο στο *Respiratory Virus Mix I* reaction tube όσο και στο *Respiratory Virus Mix II* reaction tube. Διενεργήθηκε αραιώση 1/4 για να αξιολογηθεί ότι αυτό το φαινόμενο παρεμβολής δεν παρατηρείται σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Τα

αποτελέσματα που ελήφθησαν οδηγούν στο συμπέρασμα ότι, στις τελικές συγκεντρώσεις που δοκιμάστηκαν, δεν παρατηρείται παρεμβολή από τις αξιολογηθείσες ουσίες στις συγκεντρώσεις που δοκιμάστηκαν.

12.7.2. Αναλυτική αντιδραστικότητα

Ως αναλυτική αντιδραστικότητα μπορεί να οριστεί το ποσοστό των μικροβιακών στελεχών-στόχων ή των δειγμάτων DNA/RNA που δίνουν το σωστό θετικό αποτέλεσμα. Η αναλυτική αντιδραστικότητα μελετήθηκε *in silico* και εργαστηριακά.

Αναλυτικής αντιδραστικότητας: *in silico* ανάλυση

Η αναλυτική αντιδραστικότητα του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System was αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας μια δημοσίως διαθέσιμη βάση δεδομένων αλληλουχιών, όπως NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), Global Initiative on Sharing All SARS-CoV-2 Data (GISAID EpiCoV database (<https://www.gisaid.org/>)), Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID EpiFlu database (<https://www.gisaid.org/>)), Global Initiative on Sharing All RSV Data (GISAID EpiRSV database (<https://www.gisaid.org/>)), και ένα εσωτερικό λογισμικό βιοπληροφορικής ανάλυσης, για να καταδειχθεί ότι τα γονίδια-στόχοι μπορούν να ανιχνευθούν σωστά από το τεχνολογικό προϊόν υπό μελέτη. Η ανάλυση *in silico* του σχεδιασμού των εκκινήτων και των ανιχνευτών πραγματοποιήθηκε μέσω ευθυγράμμισης έναντι αλληλουχιών που είναι διαθέσιμες στη συλλογή δεδομένων βάσης δεδομένων νουκλεοτιδίων (nr/nr). Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν μετά την ανάλυση των αλληλουχιών που συμπεριλήφθηκαν παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα:

Μικροοργανισμός	Γονίδιο	% αλληλουχιών που ανιχνεύθηκαν πειραματικά χωρίς ασυμφωνίες	% αλληλουχιών που ανιχνεύθηκαν πειραματικά με ασυμφωνίες	Αριθμός ευθυγραμμισμένων αλληλουχιών
SARS-CoV-2	Γονίδιο <i>N</i> , περιοχή <i>N1</i> και περιοχή <i>N2</i>	98,08%	-	22.404
Γρίπη Α	Γονίδιο <i>HA + M1</i>	0,88%	32,92%	99.326
Γρίπη Β	Γονίδιο <i>M1</i>	21,63%	70,58%	24.369
RSV Α	Γονίδιο <i>N</i>	2,32%	80,83%	4.002
RSV Β	Γονίδιο <i>N</i>	2,61%	80,11%	4.172
Παραγρίπη 1 Παραγρίπη 2 Παραγρίπη 3 Παραγρίπη 4	Γονίδιο <i>HN</i> Γονίδιο <i>HN</i> Γονίδιο <i>HN</i> Γονίδιο <i>F</i>	19,23%	-	1451
Κορονοϊός OC43	Γονίδιο <i>N</i>	76,32%	-	380
Κορονοϊός 229E	Γονίδιο <i>N</i>	0,00%*	-	266
Κορονοϊός NL63	Γονίδιο <i>N</i>	48,12%	-	293
Κορονοϊός HKU1	Γονίδιο <i>N</i>	46,51%	-	215
Μεταπνευμονοϊός	Γονίδιο <i>F</i>	93,7%	-	2.144
Αδενοϊός Α	Γονίδιο <i>Hexon</i>	98,7%	-	154
Αδενοϊός Β	Γονίδιο <i>Hexon</i>	98,75%	-	718
Αδενοϊός C	Γονίδιο <i>Hexon</i>	96,17%	-	392

Αδενοϊός D	Γονίδιο <i>Hexon</i>	97,74%	-	310
Αδενοϊός E	Γονίδιο <i>Hexon</i>	89,53%	-	172
Αδενοϊός F	Γονίδιο <i>Hexon</i>	96,40%	-	250
Αδενοϊός G	Γονίδιο <i>Hexon</i>	90,48%	-	21

Πίνακας 46. *In silico* δοκιμασία αναλυτικής αντιδραστικότητας.

*Οι περισσότερες από τις αλληλουχίες κορονοϊού 229E από NCBI GenBank που περιλαμβάνονται στην ανάλυση *in silico* έχουν 1 ή 2 ασυμφωνίες που δεν επηρεάζουν τη σωστή ανίχνευση του στόχου. Επιπλέον, το συνθετικό DNA του κορονοϊού 229E που χρησιμοποιήθηκε κατά την αναλυτική επικύρωση του προϊόντος παρουσιάζει 100% ομολογία με το σύνολο των εκκινητών και των ανιχνευτών, καταδεικνύοντας έτσι πειραματικά τη σωστή ανίχνευσή του.

Συνοψίζοντας, η ανάλυση συμπερίληψης έδειξε ορθή ανίχνευση SARS-CoV-2, γρίπης A, γρίπης B, RSV (τύποι A και B), παραγρίπης (τύποι 1, 2, 3 και 4), κορονοϊού (NL63, 229E, HKU1 και OC43), μεταπνευμονοϊού και αδενοϊού με το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Αναλυτική αντιδραστικότητα: Πειραματική δοκιμή

Η αναλυτική αντιδραστικότητα του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System για SARS-CoV-2 αξιολογήθηκε έναντι του RNA από τα ακόλουθα στελέχη σε ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα που συλλέχθηκαν με BD™ Universal Viral Transport System, παρουσιάζοντας θετικά αποτελέσματα:

SARS-Related Coronavirus 2, απομονωμένο στέλεχος 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 απομονωμένο στέλεχος Australia/VIC01/2020 (Twist Bioscience 102019), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 2 (MN908947.3): SARS-CoV-2 απομονωμένο στέλεχος Wuhan-Hu-1 (Twist Bioscience 102024), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 14 (B.1.1.7_710528), παραλλαγή UK (Twist Bioscience 103907), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 15 (B.1.1.7_601443), παραλλαγή UK (Twist Bioscience 103909), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 16 (EPI_ISL_678597), παραλλαγή South Africa (Twist Bioscience 104043), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 17 (EPI_ISL_792683), παραλλαγή Japan/Brazil (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 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.5 (SCV2_23C1A-01), SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.2 (SCV2_23C1A-02), SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.5 (SCV2_23C1A-03), SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.4 (SCV2_23C1A-05), SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.4 (SCV2_23C1B-01), SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.5 (SCV2_23C1B-03), SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.4 (SCV2_23C1B-04), SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.2 (SCV2_23C1B-05), SARS-CoV-2 παραλλαγή Delta B.1.617.2 (SCV2_24C1B-01), SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.2.75 (SCV2_23C1C-01), SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BQ.1

(SCV2_23C1C-02), SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BQ1.1 (SCV2_23C1C-03), SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή XBB (SCV2_23C1C-04), SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.2 (SCV2_23C1C-05), SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή XBB (SCV2_23C1D-01), SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BQ1.1 (SCV2_23C1D-02), SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.2.75 (SCV2_23C1D-03), SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BQ.1 (SCV2_23C1D-04) και SARS-CoV-2 παραλλαγή Omicron, εξελικτική υπογραμμή BA.5 (SCV2_23C1D-05).

Η αναλυτική αντιδραστικότητα του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System για γρίπη Α αξιολογήθηκε έναντι του RNA από τα ακόλουθα στελέχη, παρουσιάζοντας θετικά αποτελέσματα:

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

Η αναλυτική αντιδραστικότητα του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System για γρίπη Β αξιολογήθηκε έναντι του RNA από τα ακόλουθα στελέχη, παρουσιάζοντας θετικά αποτελέσματα:

Ιός γρίπης Β, B/Pennsylvania/7/2007 (εξελικτική γραμμή Yamagata) (FR-16), ιός γρίπης Β, B/Santiago/4364/2007 (εξελικτική γραμμή Yamagata) (FR-17), ιός γρίπης Β, B/Brisbane/3/2007 (εξελικτική γραμμή Yamagata) (FR-18), ιός γρίπης Β, B/Pennsylvania/5/2007 (εξελικτική γραμμή Victoria) (FR-19), ιός γρίπης Β, B/Victoria/304/2006 (εξελικτική γραμμή Victoria) (FR-20), ιός γρίπης Β, B/Bangladesh/3333/2007 (εξελικτική γραμμή Yamagata) (FR-183), AMPLIRUN TOTAL SARS-CoV-2-FluA-FluB-RSV CONTROL (MBTC031-R), γρίπη Β/Austria/1359417/2021 ή/και γρίπη Β/Phuket/3073/2013 (εμβόλιο Fluarix Tetra 2022/2023), γρίπη Β/Austria/1359417/2021 ή/και γρίπη Β/Phuket/3073/2013 (εμβόλιο Fluarix Tetra 2023/2024).

Η αναλυτική αντιδραστικότητα του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System για RSV αξιολογήθηκε έναντι RNA από ανθρώπινο αναπνευστικό συγκυτιακό ιό A (στέλεχος A-2) (FR-294), ανθρώπινο αναπνευστικό συγκυτιακό ιό, A 2000/3-4 (NR-28530), AMPLIRUN TOTAL SARS-CoV-2-FluA-FluB-RSV CONTROL (MBTC031-R) και ανθρώπινο αναπνευστικό συγκυτιακό ιό, B (INSTAND 359043), παρουσιάζοντας θετικά αποτελέσματα.

Η αναλυτική αντιδραστικότητα του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System για παραγρίπη αξιολογήθηκε έναντι του RNA από ιό παραγρίπης ορότυπος 1 (NIBSC 08/176), ιό παραγρίπης ορότυπος 2 (NIBSC 08/178), ιό παραγρίπης ορότυπος 4 (NIBSC 08/180), ιό παραγρίπης 2 (PINFRNA101S-06) και ιό παραγρίπης 3 (PINFRNA22S-02), παρουσιάζοντας θετικά αποτελέσματα.

Η αναλυτική αντιδραστικότητα του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System για κορονοϊό αξιολογήθηκε έναντι του RNA από ποσοτικό συνθετικό ανθρώπινο κορονοϊό στέλεχος NL63 (VR-3263SD) και κορονοϊό HKU (CVRNA22S-04) , παρουσιάζοντας θετικά αποτελέσματα.

Η αναλυτική αντιδραστικότητα του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System για μεταπνευμονοϊό αξιολογήθηκε έναντι του RNA από AMPLIRUN® METAPNEUMOVIRUS RNA CONTROL (MBC144-R), Human metapneumovirus (NIBSC 08/320) και Quantitative Synthetic Human metapneumovirus hMPV RNA (VR-3250SD), παρουσιάζοντας θετικά αποτελέσματα.

Η αναλυτική αντιδραστικότητα του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System για αδενοϊό αξιολογήθηκε έναντι του DNA από τα ακόλουθα στελέχη, παρουσιάζοντας θετικά αποτελέσματα:

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

12.8. Μετρολογική ιχνηλασιμότητα

Η δοκιμασία αυτή δεν έχει σχεδιαστεί για σκοπούς μέτρησης.

13. Χαρακτηριστικά κλινικών επιδόσεων

Οι κλινικές επιδόσεις του VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System δοκιμάστηκαν χρησιμοποιώντας ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα που συλλέχθηκαν από νοσηλευτικό προσωπικό χρησιμοποιώντας εύκαμπτο, αποστειρωμένο νάιλον στείλεό και τοποθετήθηκαν σε αποστειρωμένο σωληνάριο που περιείχε 3 mL Universal Transport Media® (UTM®) (Coran). Τα αποτελέσματα είχαν ως εξής:

	Κέντρο	Τύπος δείγματος	Ροή εργασίας	Στόχος
1	Hospital Universitario Miguel Servet (Zaragoza, Ισπανία)	Ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα (Αναδρομική μελέτη)	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	SARS-CoV-2
				Γρίπη Α
				Γρίπη Β
				RSV (τύποι Α και Β)
				Παραγρίπη (τύποι 1, 2, 3 και 4)
				Κορονοϊός (OC43, NL63, 229 και HKU1)
				Μεταπνευμονοϊός
				Αδενοϊός

Πίνακας 47. Θέση, τύπος δείγματος, ροή εργασίας και στόχος.

Τα αληθώς θετικά και αρνητικά αποτελέσματα, τα ψευδώς θετικά και αρνητικά αποτελέσματα, η ευαισθησία, η ειδικότητα, οι τιμές θετικής προγνωστικής αξίας (PPV), οι τιμές αρνητικής προγνωστικής (NPV) και οι λόγοι πιθανοφανειών (LR) για το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System υπολογίστηκαν σε σχέση με κάθε συγκριτικό τεστ, όπως παρουσιάζεται στον ακόλουθο πίνακα:

Κέντρο	Συγκριτική ανάλυση	Στόχος	TP	TN	FP	FN	Ευαισθησία	Ειδικότητα	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)
		Γρίπη Α	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)
		Γρίπη Β	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)	Γρίπη Α	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)
		Γρίπη Β	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 (τύποι Α και Β)	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)
		Παραγρίπη (τύποι 1, 2, 3 και 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)
		Μεταπνευμονοϊός	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)

		Αδενοϊός	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) + αλληλούχηση	Κορονοϊός (OC43, NL63, 229 και 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)

Πίνακας 48. Αληθώς θετικές (TP) και αρνητικές (TN) τιμές, ψευδώς θετικές (FP) και ψευδώς αρνητικές (FN) τιμές, ευαισθησία, ειδικότητα, τιμές θετικής προγνωστικής αξίας (PPV), τιμές αρνητικής προγνωστικής αξίας (NPV) και λόγοι πιθανοφανειών (LR) για το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα δείχνουν υψηλό ποσοστό συμφωνίας για την ανίχνευση SARS-CoV-2, γρίπης Α, γρίπης Β, RSV (τύποι Α και Β), παραγρίπης (τύποι 1, 2, 3 και 4), κορονοϊού (OC43, NL63, 229Ε και HKU1), μεταπνευμονοϊού και αδενοϊού χρησιμοποιώντας το VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Βιβλιογραφία

- 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 J. (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>

Σύμβολα για IVD στοιχεία και αντιδραστήρια

 IVD	<i>In vitro</i> διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν		Διατηρείτε στεγνό		Ημερομηνία λήξης		Κατασκευαστής	 LOT	Κωδικός παρτίδας
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		Περιορισμός θερμοκρασίας		Περιεχόμενο επαρκές για <n> τεστ	 UDI	Αποκλειστική ταυτοποίηση ιατροτεχνολογικού προϊόντος	 REF	Αριθμός καταλόγου
 CE	Σήμανση CE		Να διατηρείται μακριά από το ηλιακό φως						

Εμπορικά σήματα

Το BD MAX™ είναι σήμα κατατεθέν της Becton, Dickinson and Company.

Με την επιφύλαξη των δικαιωμάτων τροποποίησης. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος. © Certest Biotec, S.L.

Όλα τα υπόλοιπα εμπορικά σήματα που μπορεί να εμφανίζονται σε αυτό το ένθετο συσκευασίας αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων τους.



Certest Biotec, S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, N° 1, 50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (Ισπανία)

Τηλ. (+34) 976 520 354 | viasure@certest.es | www.certest.es

Πληροφορίες χορηγού Αυστραλίας

Becton Dickinson Pty Ltd., 66 Waterloo Road.

Macquarie Park NSW 2113, Αυστραλία

Πληροφορίες χορηγού Νέας Ζηλανδίας

Becton Dickinson Limited, 14B George Bourke Drive.

Mt. Wellington Auckland 1060, Νέα Ζηλανδία

Έλεγχος αλλαγών		
Αριθ. έκδοσης	Αλλαγές	Ημερομηνία
00	Αρχική έκδοση Η παρούσα έκδοση αποτελεί μετάφραση του πρωτότυπου εγγράφου στα αγγλικά: ΙΥο-444221eΙ0825.00.	01/08/2025

Πίνακας Α 2. Πίνακας αλλαγής μάρτυρα.

Αναθεώρηση: 1^η Αυγούστου 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.