

Real Time PCR Detection Kit

Respiratory Virus Extended Mix for BD MAX™ System
Instrucțiuni de utilizare

CE IVD
2797

Aceste instrucțiuni de utilizare se aplică pentru următoarele referințe:

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

Tabelul A1. Referință pentru produsul care urmează să fie utilizat cu 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 trebате 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 IFU's'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.

Consultați **certest.es/viasure/labeling** dacă limba dumneavoastră nu se află pe listă. Contactați viasure@certest.es dacă limba dumneavoastră nu se află pe site-ul web.

Notă: Utilizatorul trebuie să notifice producătorul și autoritatea competentă a statului membru în care este stabilit ca utilizator și/sau pacient cu privire la orice incident grav legat de produs.

Cuprins

1.	Scopul propus	6
2.	Rezumat și explicare	6
3.	Principiile procedurii.....	9
4.	Reactivi furnizați	10
5.	Reactivi și echipamente care trebuie asigurate de către utilizator	10
6.	Condiții de transport, depozitare și utilizare	11
7.	Precauții pentru utilizatori	12
8.	Procedura de testare.....	14
8.1.	Recoltarea, transportul și depozitarea probei	14
8.2.	Pregătirea probei și extragerea NA.....	15
8.3.	Protocol PCR	15
8.3.1.	Crearea programului de testare PCR pentru VIASURE <i>Respiratory Virus Extended Mix</i> Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	15
8.3.2.	Configurarea stativului BD MAX™.....	22
8.3.3.	Configurarea instrumentului BD MAX™	23
8.3.4.	Raport de rezultate BD MAX™	24
9.	Interpretarea rezultatelor	24
10.	Limitările testului.....	29
11.	Controlul de calitate.....	31
12.	Caracteristici de performanță analitică	31
12.1.	Linearitate analitică	31
12.2.	Sensibilitate analitică. Limita de detecție (LoD)	34
12.3.	Intervalul de măsurare.....	35
12.4.	Acuratețe	35
12.4.1.	Fidelitate (veridicitate)	35
12.4.2.	Precizie	42
12.5.	Transfer	47
12.6.	Rata de eșec a întregului sistem	48

12.7.	Specificitate analitică și reactivitate.....	48
12.7.1.	Specificitate analitică	48
12.7.2.	Reactivitate analitică	54
12.8.	Trasabilitate metrologică.....	57
13.	Caracteristici de performanță clinică	58
Bibliografie.....		60
Simboluri pentru componentele și reactivii IVD		62
Mărci comerciale.....		62

ROMÂNĂ

1. Scopul propus

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System este un test RT-qPCR automatizat conceput pentru detectarea calitativă simultană de RNA/DNA de la virusul SARS-CoV-2, virusul gripal A, virusul gripal B, RSV (tipurile A și B), virusul paragripal (tipurile 1, 2, 3 și 4), coronavirusul uman (229E, NL63, HKU1 și OC43), metapneumovirus și adenovirus în tampoane nazofaringiene de la pacienți suspecți de infecție respiratorie de către furnizorul de asistență medicală (HCP) al acestora. Acest test este destinat pentru utilizare ca ajutor în diagnosticul infecțiilor cu microorganisme menționate mai sus, în combinație cu semnele și simptomele clinice ale pacientului și cu factorii de risc epidemiologic. Rezultatele pozitive indică prezența țintei de acizi nucleici (NA), dar nu exclud prezența altor agenți patogeni nedetectați de test. Rezultatele negative nu exclud prezența țintelor NA și nu trebuie utilizate ca unică bază pentru deciziile de tratament sau de gestionare a pacientului. Testul utilizează BD MAX™ System pentru extragerea automată a RNA/DNA și efectuarea ulterioară a RT-qPCR, utilizând reactivii furnizați în combinație cu reactivi universali și cu consumabile pentru BD MAX™ System. RNA/DNA este extras din probe. DNA-ul complementar (cDNA) este sintetizat, iar DNA/cDNA sunt amplificate utilizând RT-qPCR și sunt detectate cu ajutorul unor primeri specifici și al unor sonde reporter cu pigment fluorescent pentru virusul SARS-CoV-2, virusul gripal A, virusul gripal B, RSV (tipurile A și B), virusul paragripal (tipurile 1, 2, 3 și 4), coronavirusul uman (229E, NL63, HKU1 și OC43), metapneumovirus și adenovirus.

Produsul este destinat utilizării de către personalul de laborator clinic calificat, instruit în mod special și cu experiență în tehnicile de PCR în timp real și în procedurile de diagnostic *in vitro* (inclusiv instruirea pe instrumentul PCR în timp real (termociclator) și pe sistemul de extracție a acidului nucleic).

2. Rezumat și explicare

Coronavirusul de tip 2 al sindromului respirator acut sever, sau SARS-CoV-2, așa cum este cunoscut, este virusul respirator apărut la sfârșitul anului 2019, responsabil pentru boala COVID-19, care a fost ulterior caracterizată ca o pandemie globală de către OMS (Fernández-Pérez et al., 2021; Hu et al., 2021; WHO | World Health Organization, 2023a). Acest nou coronavirus este un virus RNA monocatenar care a fost inclus în familia *Coronaviridae*, genul beta (Fernández-Pérez et al., 2021). Infecția cu virusul SARS-CoV-2 poate afecta atât adulții, cât și copiii, deși persoanele cu vârsta peste 60 de ani și cele care prezintă afecțiuni medicale preexistente sunt mai predispuse să sufere o formă mai gravă de COVID-19 (WHO | World Health Organization, 2023a). Infecția poate fi asimptomatică sau poate da naștere la diferite simptome de la un grad de intensitate și severitate scăzut la ridicat, foarte similare cu boala gripală (CDC |, 2023; Safiabadi Tali et al., 2021).

Gripa este infecția respiratorie acută cauzată de virusul gripal, care afectează tractul respirator și poate fi găsită în circulație la nivel mondial (Uyeki et al., 2022; WHO | World Health Organization, 2023b). Gripa sezonieră, în special, este cea declanșată de virusurile gripale A și B sezoniere, ambele fiind responsabile pentru epidemiile sezoniere care apar în mod normal în perioadele de iarnă în climatele temperate și pe tot parcursul anului în zonele tropicale (Tyrrell et al., 2021; Uyeki et al., 2022; WHO | World Health Organization, 2023b). Virusurile gripale, care fac parte din familia *Orthomyxoviridae*, sunt virusuri RNA monocatenare cu sens negativ, cu opt segmente, care codifică 12 proteine virale (Krammer et al., 2018; Uyeki et al., 2022). Capsula virală, derivată din membrana plasmatică a gazdei, constă dintr-un strat lipidic dublu conținând proteine transmembranare, precum hemaglutinina (HA), neuraminidaza (NA), nucleoproteina virală (NP), proteină matriceală (M1) și proteina membranară (M2) (Krammer et al., 2018).

Virusul sincițial respirator (RSV) este un alt virus respirator și sezonier care afectează tractul respirator inferior la toate grupele de vârstă (WHO | World Health Organization, n.d.). Acest virus RNA monocatenar nesegmentat cu sens negativ, membru al familiei *Pneumoviridae*, este cunoscut pentru faptul că afectează în principal copiii mici sub 2 ani, dar poate afecta, de asemenea, grav adulții cu vârsta peste 65 de ani și/sau persoanele imunocompromise sau cu comorbidități specifice (Abu-Raya et al., 2023; Bergeron & Tripp, 2021; WHO | World Health Organization, n.d.).

Diagnosticul bolilor respiratorii menționate este dificil, deoarece, de obicei, acestea prezintă simptome obișnuite (Uyeki et al., 2022). Astfel, diagnosticul precis este esențial, nu numai pentru a cunoaște cauza bolii, ci și pentru a anticipa valurile epidemice/pandemice și pentru a reduce impactul colateral asupra sistemelor de sănătate și economice (Safiabadi Tali et al., 2021; Uyeki et al., 2022). Sunt disponibile multe tipuri de teste de diagnostic (testarea la patul pacientului de tip Point-of-care sau detectarea rapidă a antigenului); cu toate acestea, RT-PCR este mai sensibil și mai specific și permite detectarea combinată a multor virusuri respiratorii cocirculante în același timp, reducând astfel timpul de diagnostic (Uyeki et al., 2022).

Boala tractului respirator inferior este responsabilă pentru aproximativ patru milioane de decese anual la nivel mondial. O mare varietate de virusuri pot fi considerate responsabile pentru acest lucru, unul dintre ele fiind coronavirusurile, care aparțin familiei *Coronaviridae* (Friedman et al., 2018). Aceste virusuri distribuite la nivel global sunt virusuri mari, încapsulate, care conțin un genom RNA monocatenar de polaritate pozitivă (Lim et al., 2016; Zeng et al., 2018). Sunt direct legate de bolile tractului respirator, ale tractului gastrointestinal și ale sistemului nervos central. Coronavirusurile sunt caracterizate prin divizarea lor în trei serotipuri sau grupuri. Grupurile 1 și 2 se referă la coronavirusurile mamiferelor, în timp ce grupul 3 este format din coronavirusurile aviare. Coronavirusurile umane frecvente sunt tulpinile HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 și HCoV-HKU1 (Zeng et al., 2018). Tulpinile HCoV sunt dificil de detectat prin metodele de diagnostic obișnuite, deoarece sunt, de obicei, detectate concomitent cu alte virusuri respiratorii, cum ar fi HRSV sau virusurile gripale (Gaunt et al., 2010). Având în vedere toate acestea, PCR în timp real este una dintre

metodele preferate pentru diagnosticarea coronavirusurilor datorită specificității sale. Mai exact, PCR în timp real care are ca țintă gena *N* pentru tulpinile 229E, OC43 și NL63, plus gena *rep* pentru tulpina HKU1.

Virusurile paragripale (PIV sau HPIV la om) fac parte din familia *Paramyxoviridae* și sunt clasificate din punct de vedere genetic și antigenic în patru tipuri. Aceste virusuri pot duce la infecții respiratorii la sugari, copii și adulți, tipul de infecție și simptomele specifice variind în funcție de tip. Atât HPIV-1, cât și HPIV-2 provoacă afecțiuni ale căilor respiratorii superioare și inferioare, cum ar fi răcelile și crupul, HPIV-1 fiind cel mai frecvent întâlnit la copii. HPIV-3 este mai frecvent asociat cu afecțiuni ale căilor respiratorii inferioare, cum ar fi bronșiolita, bronșita și pneumonia. HPIV-4 este mai puțin frecvent recunoscut, dar poate provoca totuși boli respiratorii de la ușoare la grave (Henrickson, 2003). Virusul paragripal este un virus încapsulat de dimensiune medie, al cărui genom este organizat pe o singură catenă de RNA de sens negativ care codifică cel puțin șase proteine structurale obișnuite. Aceste virusuri poartă două glicoproteine capsulare: HN, care are atât activitate hemaglutininică, cât și activitate neuraminidazică, și F, care are activitate de fuziune (Henrickson, 2003).

Cultura virală în combinație cu imunofluorescența este metoda tradițională de diagnostic, dar necesită mult timp (Templeton et al., 2004). Testele de detectare a antigenului sunt utilizate pe scară largă, dar sunt mai puțin sensibile și specifice decât alte instrumente de diagnostic, cum ar fi testele PCR în timp real (Jansen et al., 2011; Templeton et al., 2004), care în prezent sunt considerate una dintre cele mai bune metode de alegere.

Adenovirusurile aparțin familiei *Adenoviridae* de virusuri neîncapsulate și bicatenare (dsDNA) (Datta, 2023; Ison & Hayden, 2016). Există peste 50 de serotipuri de adenovirusuri umane distincte imunologic (Lynch & Kajon, 2016) clasificate în 7 specii (de la Adenovirus-A la Adenovirus-G), care pot provoca infecții la om, variind de la boli respiratorii (Adenovirus-E, C și unele specii B) la infecții ale tractului digestiv (în principal, speciile Adenovirus-A și F), infecții ale tractului urinar (alte specii de Adenovirus-B) și conjunctivită (Adenovirus-D) (Buckwalter et al., 2012; Datta, 2023). Transmiterea poate avea loc prin inhalarea de picături aerosolizate, inocularea conjunctivală directă, răspândirea fecal-orală sau expunerea la țesut sau sânge infectat (Ison & Hayden, 2016).

Metapneumovirusurile umane aparțin familiei *Paramyxoviridae* (Schuster & Williams, 2013) și sunt o cauză importantă a infecțiilor căilor respiratorii superioare și inferioare. Metapneumovirusul este un virus monocatenar încapsulat, cu RNA de sens negativ. Simptomele clinice ale metapneumovirusului includ tuse, febră, congestie nazală și dificultăți de respirație și pot evolua până la bronșiolită sau pneumonie (Uddin & Thomas, 2020). Metapneumovirusul se transmite, în principal, prin picături infecțioase din aer și a fost raportat ca fiind al doilea cel mai frecvent întâlnit virus în infecțiile respiratorii, copiii cu vârsta mai mică de cinci ani fiind cei mai susceptibili la infecție (Schuster & Williams, 2013).

Diagnosticul poate fi problematic pentru că o gamă largă de agenți patogeni poate cauza infecții respiratorii acute cu sindroame clinice similare. Aceștia erau identificați inițial prin cultură celulară, dar diagnosticul prin această procedură necesită mult timp până la dezvoltarea efectului citopatic. Testele serologice pot fi utile în investigațiile epidemiologice, dar au o valoare practică limitată la pacienții individuali (Datta, 2023; Ison & Hayden, 2016; Lynch & Kajon, 2016; Schuster & Williams, 2013). Prin urmare, (RT)-PCR în timp real este în prezent metoda utilizată pentru identificarea de adenovirus și metapneumovirus, datorită sensibilității și specificității sale ridicate.

3. Principiile procedurii

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System este conceput pentru detectarea calitativă simultană de acid nucleic de la virusul SARS-CoV-2, virusul gripal B, virusul gripal A, RSV (tipurile A și B), virusul paragripal (tipurile 1, 2, 3 și 4), coronavirusul uman (229E, NL63, HKU1 și OC43), metapneumovirus și adenovirus în tampoane nazofaringiene. Detectarea este un format RT-qPCR într-o singură etapă, prin care transcripția inversă și amplificarea ulterioară a secvenței țintă specifice au loc în același godeu de reacție. Ținta de RNA izolată este transcrisă, generând DNA complementar prin revers transcriptază. După ce se sintetizează cDNA sau se izolează DNA-ul, identificarea acestor microorganisme se efectuează prin amplificarea unei regiuni conservate a genelor *N* și *ORF1ab* ale virusului SARS-CoV-2, genei *M* (proteină matriceală (M1)) pentru virusul gripal A/B, genei *HA* pentru virusul gripal A subtipul H1N1, genei *Na* RSV (tipurile A și B), genei *HN*a virusului paragripal (tipurile 1, 2 și 3), genei *F* a virusului paragripal (tipul 4), genei *N* a coronavirusului (229E, NL63, HKU1 și OC43), genei *F* a metapneumovirusului și genei *hexon* a adenovirusului, utilizând primeri specifici și sonde cu marcaj fluorescent.

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System se bazează pe activitatea de tip 5'exonuclează a DNA polimerazei. În cursul amplificării DNA, această enzimă clivează sonda legată la secvența de DNA complementar, separând molecula blocantă de substanța fluoroforă. Această reacție generează o creștere a semnalului fluorescent care este proporțională cu cantitatea de model țintă. Această fluorescență este măsurată de BD MAX™ System.

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System conține în fiecare tub toate componentele necesare pentru testul PCR în timp real (primeri/sonde specifice, dNTPs, tampon, polimerază și retrotranscriptază) într-un¹ format stabilizat, precum și un **control intern endogen (EIC)** (gena *RNAse P* umană) pentru a urmări integritatea probei, pentru monitorizarea procesului de extracție și/sau pentru a elimina inhibarea activității polimerazei. Genele menajere umane sunt implicate în întreținerea de bază a celulei și, prin urmare, este de așteptat să fie prezente în toate celulele nucleate umane și să mențină un nivel de expresie relativ constant.

¹ Vă rugăm să rețineți că atât termenii „stabilizat”, cât și „liofilizat” sunt utilizați indistinct și ca sinonime pe parcursul întregului document.

Țintă		Canal	Genă
<i>Respiratory Virus Mix I</i>	SARS-CoV-2	475/520	Genele <i>N</i> și <i>ORF1ab</i>
	Virus gripal B	530/565	Genă <i>M1</i>
	Virus gripal A	585/630	Genele <i>M1</i> și <i>HA</i>
	RSV (A/B)	630/665	Genă <i>N</i>
	Control intern endogen (EIC)	680/715	Genă <i>RNase P</i> umană
<i>Respiratory Virus Mix II</i>	Virus paragripal (tipurile 1, 2 și 3)	475/520	Genă <i>HN</i>
	Virus paragripal (tip 4)		Genă <i>F</i>
	Coronavirus (229E, NL63, HKU1 și OC43)	530/565	Genă <i>N</i>
	Metapneumovirus	585/630	Genă <i>F</i>
	Adenovirus	630/665	Genă <i>hexon</i>
	Control intern endogen (EIC)	680/715	Genă <i>RNase P</i> umană

Tabelul 1. Țintă, canal și gene.

4. Reactivi furnizați

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System include următoarele materiale și următorii reactivi, detaliați în Tabelul 2:

Reactiv/Material	Descriere	Intervalul de concentrație	Cod de bare	Cantitate
<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube	Lioprotectori și stabilizatori	± 6 g/100 ml*	Folie 1K	2 pungi cu câte 12 tuburi transparente
	Trifosfat de nucleotid (dNTPs)	± 1 mM*		
	Primeri și sonde	0,2-1 nmol/μl*		
	Enzime	10-100 U/reacție*		
<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube	Lioprotectori și stabilizatori	± 6 g/100 ml*	Folie 1M	2 pungi cu câte 12 tuburi transparente
	Trifosfat de nucleotid (dNTPs)	± 1 mM*		
	Primeri și sonde	0,2-1 nmol/μl*		
	Enzime	10-100 U/reacție*		
Rehydration Buffer tube	Amestec de soluție salină	± 13 mM	Folie 11	1 pungă cu 24 tuburi transparente
	Tampon (TRIS, pH)	± 67 mM		

Tabelul 2. Reactivi și materiale furnizate VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System cu Cat. N°. 444221.

* Pentru componenta în format stabilizat, intervalul de concentrație se înțelege după rehidratare.

5. Reactivi și echipamente care trebuie asigurate de către utilizator

Lista de mai jos include materiale care sunt necesare pentru utilizare, însă nu sunt incluse în VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

- Instrument PCR în timp real: BD MAX™ System (Ref: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442827 or 442828).

- BD MAX™ PCR Cartridges (Ref: 437519).
- Vortex.
- Micropipete (cu funcționare precisă între 2 și 1000 µl).
- Apă fără nucleaze.
- Vârfuri filtrante.
- Mănuși consumabile, fără pulbere.

Opțional:

- Materialele de control extern pot fi utilizate ca parte a procedurii de control al calității performanței testului. Materialul de control disponibil în comerț și/sau probele caracterizate anterior ca pozitive sau negative pot fi utilizate în calitate de control pozitiv extern (EPC) sau, respectiv, control negativ extern (ENC). Selectarea și validarea EPC și ENC trebuie să se facă în conformitate cu reglementările locale, de stat și/sau federale aplicabile și în conformitate cu procedurile standard de control al calității ale laboratorului. În plus, în cazul utilizării materialului de control disponibil în comerț, utilizatorul trebuie să respecte instrucțiunile de utilizare respective.

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System a fost validat utilizând ExK™ TNA-3 (Ref: 442827 sau 442828) pe instrumentul de PCR în timp real BD MAX™ System.

Probele selectate pentru evaluarea dispozitivului au fost specimene nazofaringiene (NF) colectate utilizând un tampon flexibil din nailon steril (denumit în continuare tampon nazofaringian). După aceasta, tamponul este plasat în tubul BD™ Universal Viral Transport System (UVT, SKU: 220220) sau Universal Transport Media® (UTM®) (Copan).

6. Condiții de transport, depozitare și utilizare

- Kiturile pot fi transportate și depozitate la 2-30 °C până la data de expirare, care este înscrisă pe etichetă.
- Evitați vibrațiile în timpul transportului pentru a preveni scurgerile de lichid.
- După deschiderea pungilor de aluminiu care conțin tuburile de reacție, produsul poate fi utilizat timp de până la 28 de zile la 2-30 °C. Păstrați flaconul ferit de lumină.

Tabelul de mai jos rezumă condițiile de transport, depozitare și utilizare a kitului general și a fiecărei componente:

Componentă	Condiții de transport	Condiții de depozitare	Condiții de utilizare
Întregul VIASURE <i>Respiratory Virus Extended Mix</i> Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	2-30 °C în timpul duratei de depozitare menționate pe etichetă.	Înainte de utilizare: 2-30 °C în timpul duratei de depozitare menționate pe etichetă.	* Consultați condițiile de utilizare a fiecărei componente.
<i>Respiratory Virus Mix</i> / reaction tube (folie 1K)		Înainte de utilizare: 2-30 °C în timpul duratei de depozitare menționate pe etichetă. După deschiderea pungii cu silicagel: 2-30°C timp de până la 28 de zile.	Temperatura camerei.

<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube (folie 1M)		Înainte de utilizare: 2-30 °C în timpul duratei de depozitare menționate pe etichetă. După deschiderea pungii cu silicagel: 2-30°C timp de până la 28 de zile.	Temperatura camerei.
Rehydration Buffer tube		Înainte de utilizare: 2-30 °C în timpul duratei de depozitare menționate pe etichetă. După deschiderea pungii cu silicagel: 2-30°C timp de până la 28 de zile.	Temperatura camerei.

Tabelul 3. Rezumat al condițiilor de transport, depozitare și utilizare a VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System și a fiecărei componente.

7. Precauții pentru utilizatori

- Produsul este destinat utilizării de către personalul de laborator clinic calificat, instruit în mod special și cu experiență în tehnicile de PCR în timp real și în procedurile de diagnostic *in vitro*.
- Pentru utilizare în diagnostic *in vitro*.
- Instrucțiunile de utilizare a produsului VIASURE și manualul de utilizare al BD MAX™ System trebuie citite cu atenție înainte de a utiliza VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Nu efectuați testul înainte de a înțelege informațiile privind procedurile, măsurile de siguranță și limitările descrise în acestea au fost înțelese.
- Nu utilizați reactivi și/sau materiale expirate.
- Nu utilizați kitul dacă eticheta care sigilează cutia exterioară este ruptă.
- Nu utilizați reactivii dacă cutia de protecție este deschisă sau ruptă la primire.
- Nu utilizați reactivii dacă pungile de protecție sunt deschise sau rupte la primire.
- Nu utilizați reactivii dacă desicantul nu este prezent sau este rupt în interiorul pungilor cu reactivi.
- Nu îndepărtați desicantul din pungile cu reactivi.
- Nu utilizați reactivii dacă folia a fost ruptă sau deteriorată.
- Nu amestecați reactivii din pungii și/sau kituri și/sau loturi diferite.
- Închideți prompt pungile de protecție care conțin reactivi, cu fermoarul, după fiecare utilizare pentru a proteja amestecul principal de lumina soarelui. Îndepărtați din pungii aerul în exces înainte de sigilare.
- Protejați reactivii împotriva umidității. Expunerea prelungită la umiditate poate afecta performanța produsului.
- Pentru a evita deteriorarea etichetei, nu utilizați produsul în apropierea solvenților.
- Un aspect al amestecului de reacție în format stabilizat, aflat în mod normal la fundul tubului, care este diferit de cel obișnuit (fără formă conică, neomogen, de dimensiune mai mare/mai mică și cu culoare alta decât alburie) nu afectează funcționalitatea testului.
- Asigurați-vă că tubul de reacție și tubul cu tampon de rehidratare sunt fixate în siguranță în timpul așezării suportului BD MAX™.
- În cazul în care sunt efectuate alte teste PCR în aceeași arie generală a laboratorului, trebuie să aveți grijă ca VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System,

BD MAX™ ExK™ TNA-3 extraction kit, sau orice reactivi suplimentari necesari pentru testare și BD MAX™ System să nu fie contaminate. Evitați întotdeauna contaminarea microbiană și cu ribonuclează (RNază)/dezoxiribonuclează (DNază) a reactivilor. Se recomandă utilizarea vârfurilor de pipetare consumabile, lipsite de RNază/DNază, rezistente la aerosoli sau cu dislocuire pozitivă. Utilizați câte un vârf nou pentru fiecare probă. Trebuie să schimbați mănușile înainte de manipularea reactivilor și cartușelor (BD MAX™ PCR Cartridge).

- Pentru a evita contaminarea mediului cu ampliconi, nu rupeți cartușul BD MAX™ PCR Cartridge după utilizare. Elementele de sigilare ale BD MAX™ PCR Cartridge sunt concepute să prevină contaminarea.
- Puneți la punct un flux de lucru unidirecțional. Acesta trebuie să înceapă în zona de extracție și să continue în zona de amplificare și zona de detectare. Nu duceți probele, echipamentele și reactivii înapoi în zona în care a fost efectuată etapa precedentă.
- Respectați bunele practici de laborator. Purtați echipament de protecție, utilizați mănuși de unică folosință, ochelari de protecție și mască. Nu mâncați, nu beți, nu fumați și nu aplicați produse cosmetice în zona de lucru. Spălați-vă pe mâini după ce terminați testul.
- Probele trebuie tratate ca potențial infecțioase și/sau periculoase biologic, precum și toți reactivii și toate materialele care au fost expuse la probe și trebuie manipulate conform reglementărilor naționale privind siguranța. Luați măsurile de precauție necesare în cursul recoltării, depozitării, tratării și eliminării probelor.
- Probele și reactivii trebuie manipulate/manipulați într-un dulap de siguranță biologică. Utilizați echipament individual de protecție (EIP) în conformitate cu îndrumările actuale pentru manipularea probelor potențial infecțioase. Eliminați deșeurile în conformitate cu reglementările locale și de stat.
- Se recomandă decontaminarea cu regularitate a echipamentului utilizat, în special a micropipetelor și a suprafețelor de lucru.
- În conformitate cu Regulamentul (CE) nr. 1907/2006 (REACH), kiturile VIASURE Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System nu au nevoie de fișe tehnice de securitate (Safety Data Sheets) din cauza clasificării lor ca nepericuloase pentru sănătate și mediu, deoarece nu conțin substanțe și/sau amestecuri care îndeplinesc criteriile de clasificare a pericolelor disponibile în Regulamentul (CE) Nr. 1272/2008 (CLP) sau care sunt în concentrații mai mari decât valoarea stabilită în regulamentul menționat pentru declararea lor. O declarație care precizează că nu este necesară fișa tehnică de securitate (MSDS) poate fi solicitată de la Certest Biotec S.L.
- Asigurați-vă că definirea programului de testare PCR pe sistemul BD MAX™ System este efectuată urmând instrucțiunile din secțiunea „Protocol PCR” (parametri de extracție a probei, coduri de bare personalizate, setări PCR etc.).
- Consultați manualul de utilizare al sistemului BD MAX™ System pentru avertizări, precauții și proceduri suplimentare.
- Certificatul de analiză nu este inclus cu dispozitivul; totuși, acesta poate fi descărcat de pe site-ul web al Certest Biotec S.L. (www.certest.es) în caz de nevoie.

8. Procedura de testare

8.1. Recoltarea, transportul și depozitarea probei

The VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System a fost testat pe tampon nazofaringiene colectate cu nailon flexibil steril plasat imediat într-un tub steril care conține 3 ml de BD™ Universal Viral Transport System (UVT, SKU: 220220)² sau Universal Transport Media® (UTM®) (Copan)³. Alte tipuri de probe trebuie validate de către utilizator.

Recoltarea, depozitarea și transportul specimenelor trebuie să se încadreze în condițiile validate de către utilizator. În general, probele clinice trebuie să fie recoltate și etichetate corespunzător în recipiente curate, cu sau fără mediu de transport (în funcție de tipul probei). După recoltare, speciemenle trebuie să fie plasate într-o pungă pentru materiale cu risc biologic și trebuie să fie transportate și procesate cât mai curând posibil, pentru a garanta calitatea testului. Probele trebuie transportate la temperatura camerei (RT) timp de până la 2 ore sau la 4 °C timp de până la 5 zile, cu respectarea reglementărilor naționale și locale pentru transportul materialelor patogene. În cazul transportului cu durată mare (mai mult de 5 zile), recomandăm transportul la -20 °C sau mai puțin⁴. Speciemenle trimise pentru testare moleculară trebuie depozitate în condiții controlate, astfel încât acizii nucleici să nu se degradeze pe parcursul depozitării. Se recomandă să se utilizeze speciemenle proaspete pentru test, dar în cazul în care acest lucru nu este posibil sau în cazul unui studiu retrospectiv, probele trebuie depozitate cu prioritate la -70 sau -80 °C și, ca a doua opțiune, la -20 °C⁵. Trebuie evitate ciclurile repetate de congelare-decongelare pentru a preveni degradarea probei și a acizilor nucleici.

Speciemenle clinice trebuie colectate, transportate și depozitate în conformitate cu îndrumările de laborator corespunzătoare și/sau manualele de politici pentru laborator. Pentru exemple, consultați ghidul 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) or 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>.

Vă rugăm să rețineți: Condițiile de recoltare, transport și depozitare a specimenelor indicate mai sus sunt sugerate pe baza recomandărilor pentru probele nazofaringiene destinate a fi utilizate pentru detectarea

²BD 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/>

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).

acidului nucleic, după cum apar în raportul de recomandări SEIMC de referință pentru procedurile generale de recoltare și transport în microbiologia clinică și în ghidul de bază al IDSA. Cu toate acestea, vă recomandăm să urmați îndrumările de laborator și/sau manualul de politici pentru laborator pentru transportul și conservarea corespunzătoare a probelor.

A fost efectuat un studiu intern de stabilitate a specimenului cu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System utilizând tampon nazofaringian negativ colectat în BD™ Universal Viral Transport System pozitiv pentru țintele produsului, fiecare tulpină la o concentrație de 2-3 x LoD. Stabilitatea a fost analizată prin intermediul a trei teste diferite: stabilitatea primară (25 °C: 24 și 48 de ore; 4 °C: 1, 2 și 7 zile; -20 °C: 2, 3 și 6 luni), stabilitatea în tubul pentru probă cu tampon (3 și 7 zile la 25 °C și 4 °C) și stabilitatea imbricată (probele au fost incubate la 4 °C și 25 °C timp de 48 de ore, iar după aceea, aceste probe au fost adăugate în SBT și analizate după 3 și 7 zile la 4 °C și 25 °C). În plus, probele au fost analizate după ce au trecut prin cinci cicluri de congelare (la -20 °C) și decongelare (la 25 °C) timp de o săptămână. Rezultatele au arătat o bună performanță a probelor depozitate în toate condițiile testate.

8.2. Pregătirea probei și extragerea NA

Efectuați pregătirea probei conform recomandărilor date în instrucțiunile de utilizare ale kitului de extracție folosit, BD MAX™ ExK™ TNA-3.

1. Pipetați 400 µl de probă într-un tub BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube și închideți tubul cu un capac prevăzut cu sept. Asigurați amestecarea completă prin vortexarea probei la viteză mare, timp de 1 minut. Asigurați-vă că vortexarea se efectuează cu câteva minute înainte de începerea rulării. Continuați cu BD MAX™ System Operation.

Rețineți că procedurile de pregătire a extracției specifice aplicației trebuie să fie dezvoltate și validate de către utilizator și că unele probe pot necesita preprocesare.

8.3. Protocol PCR

Notă: Pentru instrucțiuni detaliate, vă rugăm să consultați manualul de utilizare al BD MAX™ System.

8.3.1. Crearea programului de testare PCR pentru VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System

Notă: Dacă ați creat deja testul pentru VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, puteți săriți punctul 8.3.1 și să mergeți direct la 8.3.2.

- 1) Deschideți ecranul „Run” (Rulare) al sistemului BD MAX™ System, selectați fila „Test Editor” (Editor test).
- 2) Faceți click pe butonul „Create” (Creare).

În fila „Basic Information” (Informații de bază):

- 3) În câmpul „Test Name” (Nume test), denumiți testul: de exemplu, VIASURE Resp Virus.

Notă: Numele testului trebuie să fie unic și să aibă maximum douăzeci de caractere.

- 4) În meniul defilant „Extraction Type” (Tip extracție), selectați „ExK TNA-3”.

- 5) În meniul defilant „Master Mix Format” (Format amestec principal), alegeți „Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)” (MM liofilizat concentrat de amestecare generală dual cu tampon de rehidratare (Tip 5). Când este selectat Dual Master Mix, configurația filei din dreapta filei „Test Editor” (Editor test) se modifică. Există file suplimentare pentru „PCR settings” (Setări PCR), „Melt settings” (Setări topire) și „Test Steps” (Etape test), luând în considerare ambele tuburi cu fixare.

- 6) În câmpul „Sample Extraction Parameters” (Parametri de extracție a probei), selectați „User Defined” (Definit de utilizator) și ajustați valorile următorilor parametri (Tabelul 4).

<i>Sample Extraction Parameters</i> (Parametri de extracție a probei)	<i>Value (units)</i> (Valoare (unități))
<i>Lysis Heat Time</i> (Timp de încălzire pentru liză)	10 min
<i>Lysis Temperature</i> (Temperatură pentru liză)	60 °C
<i>Sample Tip Height</i> (Înălțimea vârfului pentru probă)	1600 etape
<i>Sample Volume</i> (Volum probă)	950 µl
<i>Wash Volume</i> (Volum spălare)	500 µl
<i>Neutralization Volume</i> (Volum neutralizare)	N/A
<i>DNase Heat Time</i> (Timp de încălzire pentru DNază)	N/A

Tabelul 4. Parametrii de extracție a probei efectuată cu BD MAX™ ExK™ TNA-3.

- 7) În „Ct Calculation” (Calcul Ct), selectați „Call Ct at Threshold Crossing” (Apelare Ct la depășirea pragului), selectat implicit.
- 8) Dacă rulați versiunea de software 5.00 sau mai recentă și aveți tuburi cu fixare cu folie cu cod de bare, în câmpul „Custom Barcodes” (Coduri de bare personalizate) selectați următoarea configurație:
- „Snap-In 2 Barcode” (Cod de bare poziția de fixare 2): 1K (referitor la *Respiratory Virus Mix I* reaction tube).
 - „Snap-In 3 Barcode” (Cod de bare poziția de fixare 3): 11 (referitor la Rehydration Buffer tube).
 - „Snap-In 4 Barcode” (Cod de bare poziția de fixare 4): 1M (referitor la *Respiratory Virus Mix II* reaction tube).

În filele „PCR Settings” (Setări PCR):

- 9) În câmpul „PCR Settings” (Setări PCR), introduceți următorii parametri descriși în Tabelele 5 și 6 pentru poziția de fixare 2 (snap-in 2) (cod de culoare verde pe stativ) și, respectiv, poziția de fixare 4 (snap-in 4) (cod de culoare albastră pe stativ): „Alias” (până la șapte caractere alfanumerice), „PCR Gain” (Câștig PCR), „Threshold” (Prag), „Ct Min” și „Ct Max”.

Channel (Canal)	Alias (Alias)	PCR Gain (Câștig PCR)	Threshold (Prag)	Ct Min (Ct Min)	Ct Max (Ct Max)
475/520 (FAM)	SARS	80	150	0	40
530/565 (HEX)	FLUB	40	150	0	40
585/630 (ROX)	FLUA	80	150	0	40
630/665 (Cy5)	RSV	80	150	0	40
680/715 (Cy5.5)	EIC	80	150	0	35

Tabelul 5. „PCR settings” (Setări PCR) pentru poziția de fixare 2.

Channel (Canal)	Alias (Alias)	PCR Gain (Câștig PCR)	Threshold (Prag)	Ct Min (Ct Min)	Ct Max (Ct Max)
475/520 (FAM)	HPIV	60	150	0	40
530/565 (HEX)	HCOV	40	150	0	40
585/630 (ROX)	MPV	80	150	0	40
630/665 (Cy5)	HADV	80	150	0	40
680/715 (Cy5.5)	EIC	80	150	0	35

Tabelul 6. „PCR settings” (Setări PCR) pentru poziția de fixare 4.

Notă: Se recomandă să setați valorile de prag minime listate mai sus pentru fiecare canal la un moment inițial, dar setările finale trebuie determinate de către utilizatorul final în cursul interpretării rezultatelor, pentru a exista siguranța că pragurile se situează în interiorul fazei exponențiale a curbei de fluorescență și deasupra oricărui semnal de fundal. Valoarea prag pentru diferite instrumente poate varia datorită intensităților diferite ale semnalului.

- 10) În câmpul „Color compensation” (Compensare culoare) introduceți următorii parametri (Tabelele 7 și 8).

		False Receiving Channel (Canal fals receptor)				
Channel (Canal)		475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Canal excitare)	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	-

Tabelul 7. Parametrii „Color compensation” (Compensare culoare) pentru poziția de fixare 2.

		False Receiving Channel (Canal fals receptor)					
		Channel(Canal)	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Canal excitare)	475/520	-	0	0	0	0	0
	530/565	0	-	0	0	0	0
	585/630	0	0	-	3	0	0
	630/665	0	0	5	-	19	0
	680/715	0	0	0	3	-	0

Tabelul 8. Parametrii „Color compensation” (Compensare culoare) pentru poziția de fixare 4.

În filele „Melt Settings” (Setări topire) nu este necesară nicio acțiune, nu este aplicabilă pentru acest produs.

În fila „Test Steps” (Etape test):

- 11) Introduceți numele etapei (până la douăzeci de caractere) și setați următorii parametri pentru a defini fiecare etapă a protocolului PCR: „Profile Type” (Tip profil), „Cycles” (Cicluri), „Time” (Timp) și „Temperature” (Temperatură) și selectați câmpul „Detect” (Detectare) pentru a defini etapa de detectare (Tabelul 9). Faceți clic pe butonul „Add” (Adăugare) pentru a adăuga o nouă etapă și repetați până când sunt definite toate etapele necesare.

Notă: Câmpul „Type” (Tip) trebuie să fie gol.

Step (Etapă)	Step name (Nume etapă)	Profile Type (Tip profil)	Cycles (Cicluri)	Time (s) (Timp (s))	Temperature (Temperatură)	Detect (Detectare)
Reverse transcription (Transcripție inversă)	RV-transcription	Hold	1	900	45 °C	-
Initial denaturation (Denaturare inițială)	IN-denaturation	Hold	1	120	98 °C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Denaturare și aliniere/extensie (Colectare date))	Annealing/Extensie	2-Temperature	45	10	95 °C	-
				61,1	63 °C	✓

Tabelul 9. Protocol PCR pentru poziția de fixare 2 (snap-in 2) și poziția de fixare 4 (snap-in 4).

În fila „Result Logic” (Logică rezultate):

- 12) În câmpul „Target” (Țintă) denumiți ținta: de exemplu, SARS (până la șapte caractere alfanumerice). Repetați etapele 12-15 pentru fiecare țintă (de exemplu, SARS, FLUB, FLUA și RSV pentru poziția de fixare 2 (snap-in 2) sau HPIV, HCOV, MPV și HADV pentru poziția de fixare 4 (snap-in 4)), urmând tabelele specifice pentru ținta care este definită.

Notă: Selectați poziția de fixare 2 (verde) (snap-in 2 (green)) din meniul derulant „Master Mix” (Amestec principal) pentru a stabili logica de rezultat pentru primul amestec de reacție și poziția de fixare 4 (albastru) (snap-in 4 (blue)) pentru al doilea amestec de reacție. Numele țăintelor trebuie să fie diferite pentru poziția de fixare 2 și poziția de fixare 4.

- 13) Faceți clic pe caseta de selectare „Analyze” (Analiză) pentru a include lungimile de undă dorite (canale PCR) în analiza rezultatului țintă (Tabelele 10-13 pentru poziția de fixare 2 și Tabelele 14-17 pentru poziția de fixare 4).

Primul amestec principal (*Respiratory Virus Mix I* reaction tube): Poziția de fixare 2 (verde) (Snap-in 2 (green)).

<i>Wavelength</i> (Lungime de undă)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tip)	<i>Analyze</i> (Analiză)
475/520	SARS	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelul 10. Selectarea canalelor PCR în „Result logic” (Logică rezultate) pentru ținta SARS (SARS-CoV-2).

<i>Wavelength</i> (Lungime de undă)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tip)	<i>Analyze</i> (Analiză)
530/565	FLUB	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelul 11. Selectarea canalelor PCR în „Result logic” (Logică rezultate) pentru ținta FLUB (virusul gripal B).

<i>Wavelength</i> (Lungime de undă)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tip)	<i>Analyze</i> (Analiză)
585/630	FLUA	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelul 12. Selectarea canalelor PCR în „Result logic” (Logică rezultate) pentru ținta FLUA (virusul gripal A).

<i>Wavelength</i> (Lungime de undă)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tip)	<i>Analyze</i> (Analiză)
630/665	RSV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelul 13. Selectarea canalelor PCR în „Result logic” (Logică rezultate) pentru ținta RSV (virusul sincițial respirator, tipurile A și B).

Al doilea amestec principal (*Respiratory Virus Mix II* reaction tube): Poziția de fixare 4 (albastru) (Snap-in 4 (blue)).

<i>Wavelength</i> (Lungime de undă)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tip)	<i>Analyze</i> (Analiză)
475/520	HPIV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelul 14. Selectarea canalelor PCR în „Result logic” (Logică rezultate) pentru ținta HPIV (virusul paragripal, tipurile 1, 2, 3 și 4).

<i>Wavelength</i> (Lungime de undă)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tip)	<i>Analyze</i> (Analiză)
530/565	HCOV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelul 15. Selectarea canalelor PCR în „Result logic” (Logică rezultate) pentru ținta HCOV (coronavirus 229E, NL63, HKU1 și OC43).

<i>Wavelength</i> (Lungime de undă)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tip)	<i>Analyze</i> (Analiză)
585/630	MPV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelul 16. Selectarea canalelor PCR în „Result logic” (Logică rezultate) pentru ținta MPV (metapneumovirus).

<i>Wavelength</i> (Lungime de undă)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tip)	<i>Analyze</i> (Analiză)
630/665	HADV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelul 17. Selectarea canalelor PCR în „Result logic” (Logică rezultate) pentru ținta HADV (adenovirus).

14) Faceți click pe butonul „Edit Logic” (Editare logică).

15) În fereastra „Edit Logic” (Editare logică) sunt enumerate toate combinațiile de tipuri de rezultate.

Pentru fiecare rând, în meniul defilant „Result” (Rezultat), selectați rezultatul care este apelat atunci când sunt îndeplinite condițiile din acel rând, urmând Tabelele 18-21 pentru poziția de fixare 2 și Tabelele 22-25 pentru poziția de fixare 4.

Primul amestec principal (*Respiratory Virus Mix* / reaction tube): Poziția de fixare 2 (verde) (Snap-in 2 (green)).

<i>Result</i> (Rezultat)	SARS (475/520)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valid)	Valid (Valid)
UNR	Valid (Valid)	Invalid (Nevalid)
NEG	Invalid (Nevalid)	Valid (Valid)
UNR	Invalid (Nevalid)	Invalid (Nevalid)

Tabelul 18. Lista combinației de tipuri de rezultate și logica rezultatelor pentru ținta SARS (SARS-CoV-2). Rezultatele disponibile sunt POS (Pozitiv), NEG (Negativ) și UNR (Nerezolvat).

<i>Result</i> (Rezultat)	FLUB (530/565)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valid)	Valid (Valid)
UNR	Valid (Valid)	Invalid (Nevalid)
NEG	Invalid (Nevalid)	Valid (Valid)
UNR	Invalid (Nevalid)	Invalid (Nevalid)

Tabelul 19. Lista combinației de tipuri de rezultate și logica rezultatelor pentru ținta FLUB (virusul gripal B). Rezultatele disponibile sunt POS (Pozitiv), NEG (Negativ) și UNR (Nerezolvat).

<i>Result</i> (Rezultat)	FLUA (585/630)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valid)	Valid (Valid)
UNR	Valid (Valid)	Invalid (Nevalid)
NEG	Invalid (Nevalid)	Valid (Valid)
UNR	Invalid (Nevalid)	Invalid (Nevalid)

Tabelul 20. Lista combinației de tipuri de rezultate și logica rezultatelor pentru ținta FLUA (virusul gripal A). Rezultatele disponibile sunt POS (Pozitiv), NEG (Negativ) și UNR (Nerezolvat).

<i>Result</i> (Rezultat)	RSV (630/665)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valid)	Valid (Valid)
UNR	Valid (Valid)	Invalid (Nevalid)
NEG	Invalid (Nevalid)	Valid (Valid)
UNR	Invalid (Nevalid)	Invalid (Nevalid)

Tabelul 21. Lista combinației de tipuri de rezultate și logica rezultatelor pentru ținta RSV (virusul sincițial respirator, tipurile A și B). Rezultatele disponibile sunt POS (Pozitiv), NEG (Negativ) și UNR (Nerezolvat).

Notă: Conform Ct Max definit anterior (Tabelul 5):

- i. Tipul de rezultat pentru canalele SARS (475/520), FLUB (530/565), FLUA (585/630) sau RSV (630/665) este considerat „Valid” (Valid) atunci când valoarea Ct obținută este ≤ 40 ; și „Invalid” (Nevalid) atunci când valoarea Ct obținută este > 40 .
- ii. Tipul de rezultat pentru canalul EIC (680/715) este considerat „Valid” (Valid) atunci când valoarea Ct obținută este ≤ 35 și „Invalid” (Nevalid) atunci când valoarea Ct obținută este > 35 .

Al doilea amestec principal (*Respiratory Virus Mix II* reaction tube): Poziția de fixare 4 (Snap-in 4 (blue)).

<i>Result</i> (Rezultat)	HPIV (475/520)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valid)	Valid (Valid)
UNR	Valid (Valid)	Invalid (Nevalid)
NEG	Invalid (Nevalid)	Valid (Valid)
UNR	Invalid (Nevalid)	Invalid (Nevalid)

Tabelul 22. Lista combinației de tipuri de rezultate și logica rezultatelor pentru ținta HPIV (virusul paragripal, tipurile 1, 2, 3 și 4). Rezultatele disponibile sunt POS (Pozitiv), NEG (Negativ) și UNR (Nerezolvat).

<i>Result</i> (Rezultat)	HCOV (530/565)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valid)	Valid (Valid)
UNR	Valid (Valid)	Invalid (Nevalid)
NEG	Invalid (Nevalid)	Valid (Valid)
UNR	Invalid (Nevalid)	Invalid (Nevalid)

Tabelul 23. Lista combinației de tipuri de rezultate și logica rezultatelor pentru ținta HCOV (coronavirus 229E, NL63, HKU1 și OC43). Rezultatele disponibile sunt POS (Pozitiv), NEG (Negativ) și UNR (Nerezolvat).

<i>Result</i> (Rezultat)	MPV (585/630)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valid)	Valid (Valid)
UNR	Valid (Valid)	Invalid (Nevalid)
NEG	Invalid (Nevalid)	Valid (Valid)
UNR	Invalid (Nevalid)	Invalid (Nevalid)

Tabelul 24. Lista combinației de tipuri de rezultate și logica rezultatelor pentru ținta MPV (metapneumovirus). Rezultatele disponibile sunt POS (Pozitiv), NEG (Negativ) și UNR (Nerezolvat).

<i>Result</i> (Rezultat)	HADV (630/665)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valid)	Valid (Valid)
UNR	Valid (Valid)	Invalid (Nevalid)
NEG	Invalid (Nevalid)	Valid (Valid)
UNR	Invalid (Nevalid)	Invalid (Nevalid)

Tabelul 25. Lista combinației de tipuri de rezultate și logica rezultatelor pentru ținta HADV (adenovirus). Rezultatele disponibile sunt POS (Pozitiv), NEG (Negativ) și UNR (Nerezolvat).

Notă: Conform Ct Max definit anterior (Tabelul 6):

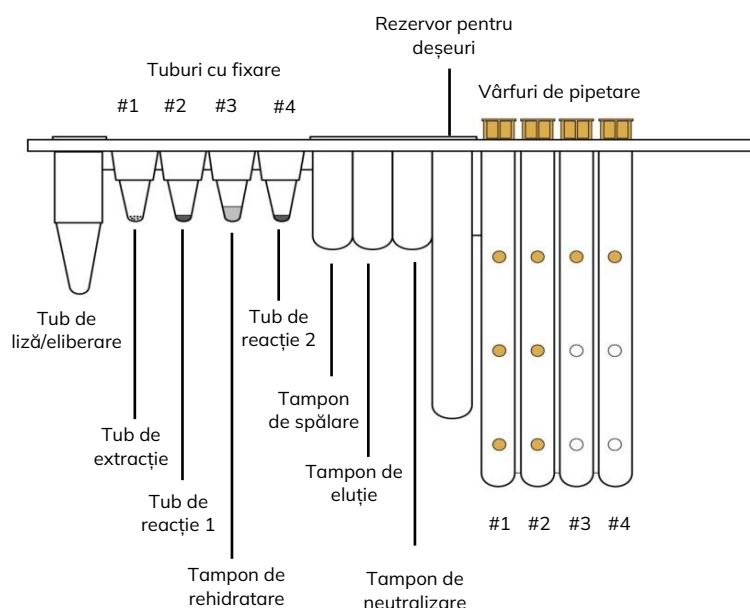
- i. Tipul de rezultat pentru canalele HPIV (475/520), HCOV (530/565), MPV (585/630) sau HADV (630/665) este considerat „Valid” (Valid) atunci când valoarea Ct obținută este ≤ 40 ; și „Invalid” (Nevalid) atunci când valoarea Ct obținută este > 40 .
- ii. Tipul de rezultat pentru canalul EIC (680/715) este considerat „Valid” (Valid) atunci când valoarea Ct obținută este ≤ 35 și „Invalid” (Nevalid) atunci când valoarea Ct obținută este > 35 .

16) Faceți clic pe butonul „Save” (Salvare) pentru a salva testul.

8.3.2. Configurarea stativului BD MAX™

- 1) Pentru fiecare probă de testat, scoateți o Unitized Reagent Strips (bandeletă de reactiv unitarizată) din kitul BD MAX™ ExK™ TNA-3. Loviți cu blândețe fiecare bandeletă de o suprafață dură pentru a vă asigura că toate lichidele se află la fundul tuburilor și încărcați pe stativ pentru probe ale sistemului BD MAX™ System.
- 2) Scoateți numărul necesar de BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (B4) (folie albă) din punga de protecție respectivă. Fixați Extraction Tube(s) (folie albă) în pozițiile corespunzătoare de pe bandeleta TNA (poziția de fixare 1, cod de culoare alb pe stativ. Consultați Figura 1). Îndepărtați excesul de aer și închideți punga cu sigiliul cu fermoar.
- 3) Determinați și separați numărul adecvat de *Respiratory Virus Mix I* reaction tubes (folie 1K) și fixați-le în pozițiile lor corespunzătoare de pe bandeletă (poziția de fixare 2, cod de culoare verde pe stativ. Consultați Figura 1).
 - a. Îndepărtați excesul de aer și închideți pungile de aluminiu cu sigiliul cu fermoar.
 - b. Pentru a face o rehidratare corectă, vă rugăm să vă asigurați că produsul liofilizat se află la fundul tubului și că nu este aderent la partea de sus a tubului sau la folia de sigilare. Loviți cu blândețe fiecare tub de o suprafață dură pentru a vă asigura că toate produsele se află la fundul tuburilor.
- 4) Îndepărtați numărul necesar de Rehydration Buffer tubes (folie 11) și fixați-le în pozițiile corespunzătoare pe bandeletă (poziția de fixare 3, fără cod de culoare pe stativ. Consultați Figura 1).
 - a. Îndepărtați excesul de aer și închideți punga cu sigiliul cu fermoar.
 - b. Pentru a asigura un transfer corect, vă rugăm să vă asigurați că lichidul este la fundul tubului și că nu este aderent la partea de sus a tubului sau la folia de sigilare. Loviți cu blândețe fiecare tub de o suprafață dură pentru a vă asigura că întregul tampon se află la fundul tuburilor.
- 5) Determinați și separați numărul adecvat de *Respiratory Virus Mix II* reaction tubes (folie 1M) și fixați-le în pozițiile lor corespunzătoare de pe bandeletă (poziția de fixare 4, cod de culoare albastră pe stativ. Consultați Figura 1).
 - a. Îndepărtați excesul de aer și închideți pungile de aluminiu cu sigiliul cu fermoar.
 - b. Pentru a face o rehidratare corectă, vă rugăm să vă asigurați că produsul liofilizat se află la fundul tubului și că nu este aderent la partea de sus a tubului sau la folia de sigilare. Loviți cu blândețe fiecare tub de o suprafață dură pentru a vă asigura că toate produsele se află la fundul tuburilor.

Figura 1. BD MAX™ TNA Reagent Strip (TNA) de la BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit.



8.3.3. Configurarea instrumentului BD MAX™

- 1) Selectați fila „Worklist” (Listă de lucru) din ecranul „Run” al software-ului BD MAX™ System, versiunea v4.50A sau mai recentă.
- 2) În meniul defilant „Test”, selectați testul dorit: de exemplu VIASURE Resp virus (dacă nu este deja creat, consultați Secțiunea 8.3.1).
- 3) În meniul defilant „Kit Lot Number” (Număr lot kit), selectați numărul de lot corespunzător pentru kit (se găsește pe cutia exterioră a kitului de extracție utilizat) (opțional).

Notă: Numerele de lot trebuie să fie definite în ecranul „Inventory” (Inventar) înainte de a putea fi selectate aici.

- 4) Introduceți numărul de identificare al Sample Buffer Tube în câmpul „Sample tube” (Tub probă), fie prin scanarea codului de bare, fie prin introducere manuală.
- 5) Completați câmpul „Patient ID” (ID pacient) și/sau „Accession” (Acces) și faceți clic pe tasta Tab sau Enter. Continuați până când toate codurile de bare pentru tuburile Sample Buffer Tube sunt introduse. Asigurați-vă că există o potrivire precisă între ID specimen/pacient și tuburile Sample Buffer Tube.
- 6) Puneți Sample Buffer Tube pregătit în stativul/stativele BD MAX™.
- 7) Încărcați stativul/stativele în BD MAX™ System (stativul A este poziționat pe partea stângă a sistemului BD MAX™ iar stativul B pe partea dreaptă).
- 8) Puneți numărul necesar de BD MAX™ PCR Cartridge(s) în BD MAX™ System.
- 9) Închideți ușa BD MAX™ System.
- 10) Faceți click pe „Start” (Pornește rulare) pentru a începe procedura.

8.3.4. Raport de rezultate BD MAX™

- 1) Din bara de meniu, dați click pe „Results” (Rezultate).
- 2) Fie faceți dublu click pe rularea dorită în listă, fie apăsați butonul „view” (vizualizare).
- 3) Butoanele „Print” (Imprimare) și „Export” din partea de jos a ecranului vor fi activate.

Pentru a imprima rezultatele:

1. Faceți click pe butonul „Print” (Imprimare).
2. În fereastra de previzualizare „Print” (Imprimare) a raportului de rulare, selectați: „Run Details” (Detalii rulare), „Test Details” (Detalii test) și „Plots” (Diagrame).
3. Faceți clic pe „Print” (Imprimare) pentru a imprima raportul sau faceți clic pe „Export” pentru a exporta un fișier PDF al raportului pe un USB.

Pentru a exporta rezultatele:

1. Faceți clic pe butonul „Export” pentru a transfera raportul (fișier PDF și CSV) pe un USB.
2. Când exportul este finalizat, pictograma de succes/eșec apare în fereastra „Results Export” (Export rezultate).

9. Interpretarea rezultatelor

Pentru o descriere detaliată a modului de analiză a datelor, consultați manualul de utilizare a BD MAX™ System.

Analiza datelor este efectuată de către software-ul BD MAX™, conform instrucțiunilor producătorului. Software-ul BD MAX™ raportează valorile Ct și curbele de amplificare pentru fiecare canal detector al fiecărei probe testate, în felul următor:

- Valoarea Ct de 0 indică faptul că nu a existat o valoare Ct calculată de către software cu pragul specificat (consultați Tabelul 5). Curba de amplificare a probei care arată o valoare Ct „0” trebuie să fie verificată manual.
- O valoare Ct de -1 indică faptul că nu a avut loc niciun proces de amplificare, că nu a fost calculată nicio valoare Ct de către software sau că valoarea Ct calculată este sub pragul specificat sau peste Ct Max stabilit (valoarea limită).
- Orice altă valoare Ct trebuie interpretată în corelație cu curba de amplificare și în conformitate cu logica rezultatelor definită, urmând îndrumările de interpretare prezentate în Tabelele 26 și 27.

Verificați semnalul de control intern endogen pentru a verifica corecta funcționare a amestecului de amplificare. În plus, verificați dacă există o raportare de defecțiune a sistemului BD MAX™ System.

Rezultatele trebuie să fie citite și analizate folosind următoarele tabele:

Primul amestec principal (tub de reacție <i>Respiratory Virus Mix 1</i>): Poziția de fixare 2 (Snap-in 2)				
Virusul SARS-CoV-2 (nume țintă: SARS)	Virusul gripal B (nume țintă: FLUB)	Virusul gripal A (nume țintă: FLUA)	Virusul sincițial respirator (nume țintă: RSV)	Interpretare pentru probele individuale ale pacientului
POS	POS	POS	POS	RNA de SARS-CoV-2, virus gripal B, virus gripal A și RSV detectat
POS	POS	POS	NEG	RNA de SARS-CoV-2, virus gripal B, virus gripal A detectat, RNA de RSV nedetectat
POS	POS	NEG	POS	RNA de SARS-CoV-2, virus gripal B și RSV detectat, RNA de virus gripal A nedetectat
POS	NEG	POS	POS	RNA de SARS-CoV-2, virus gripal A și RSV detectat, RNA de virus gripal B nedetectat
NEG	POS	POS	POS	RNA de virus gripal A și RSV detectat, RNA de SARS-CoV-2 nedetectat
POS	POS	NEG	NEG	RNA de SARS-CoV-2, virus gripal B detectat, RNA de virus gripal A și RSV nedetectat
POS	NEG	POS	NEG	RNA de SARS-CoV-2, virus gripal A detectat, RNA de virus gripal B și RSV nedetectat
POS	NEG	NEG	POS	RNA de SARS-CoV-2 și RSV detectat, RNA de virus gripal B și virus gripal A nedetectat
NEG	POS	POS	NEG	RNA de virus gripal A și virus gripal B detectat, RNA de SARS-CoV-2 și RSV nedetectat
NEG	POS	NEG	POS	RNA de virus gripal B și RSV detectat, RNA de SARS-CoV-2, virus gripal A nedetectat
NEG	NEG	POS	POS	RNA virus gripal A și RSV detectat, SARS-CoV-2 și virus gripal B nedetectat
POS	NEG	NEG	NEG	RNA de SARS-CoV-2 detectat, RNA de virus gripal B, virus gripal A și RSV nedetectat
NEG	POS	NEG	NEG	RNA de virus gripal B detectat, RNA de SARS-CoV-2, virus gripal A și RSV nedetectat
NEG	NEG	POS	NEG	RNA de virus gripal A detectat, RNA de SARS-CoV-2, virus gripal B și RSV nedetectat
NEG	NEG	NEG	POS	RNA de RSV detectat, RNA de SARS-CoV-2, virus gripal B și virus gripal A nedetectat
NEG	NEG	NEG	NEG	RNA a țintei nedetectat
UNR	UNR	UNR	UNR	Rezultat Nerezolvat (UNR) obținut în prezența inhibitorilor din reacția PCR sau când intervine o problemă generală (neraportată printr-un cod de eroare) în legătură cu etapele de procesare a probei și/sau amplificare. ¹

Primul amestec principal (tub de reacție <i>Respiratory Virus Mix I</i>): Poziția de fixare 2 (Snap-in 2)				
Virusul SARS-CoV-2 (nume țintă: SARS)	Virusul gripal B (nume țintă: FLUB)	Virusul gripal A (nume țintă: FLUA)	Virusul sincițial respirator (nume țintă: RSV)	Interpretare pentru probele individuale ale pacientului
IND	IND	IND	IND	Rezultat test Nedeterminat (IND). Datorat defectării sistemului BD MAX™ System. Rezultat al testului afișat în caz de defectare a instrumentului, asociată unui cod de eroare. ²
INC	INC	INC	INC	Rezultat test Incomplet (INC). Datorat defectării sistemului BD MAX™ System. Rezultat al testului afișat în caz de eșec la finalizarea rulării. ²

Tabelul 26. Interpretarea probei.

1 Controlul intern endogen (EIC) trebuie să prezinte un semnal de amplificare cu valoarea Ct ≤ 35 pentru a fi luat în considerare. Dacă se constată o absență a semnalului pentru EIC sau valoarea Ct > 35 rezultatul este considerat ca Nerezolvat (UNR) și este necesară repetarea testării. Verificați raportul de rezultate și valorile Ct ale țintelor selectate și efectuați acțiunea corespunzătoare ținând cont de următoarele:

- I. În cazul în care rezultatele genelor țintă sunt invalide (Ct > 40, ceea ce este indicat de software ca rezultat „-1”), este necesar să se repete testul din proba primară, pregătind din nou Sample Buffer Tube (SBT), dacă este disponibil un volum suficient de probă. Respectați îndrumările de laborator și/sau manualele de politici pentru laboratorul de microbiologie.
- II. Când rezultatele genelor țintă sunt valide (Ct ≤ 40), este posibil să nu se observe amplificare sau amplificare de la EIC cu o valoare Ct > 35 (ceea ce este indicat de software ca rezultat „-1”) la testarea probelor foarte concentrate, din cauza amplificării preferențiale a acizilor nucleici specifici țintei. Dacă se consideră necesar, diluați aceste probe în raport de 1/10, pregătiți din nou Sample Buffer Tube (SBT) și repetați testarea. Respectați îndrumările de laborator și/sau manualele de politici pentru laboratorul de microbiologie.

NOTĂ: Tampoanele nazofaringiene pot fi păstrate fără a fi transferate în SBT timp de până la 2 zile dacă sunt depozitate la 25 °C sau până la 7 zile dacă sunt depozitate la 4 °C.

2 Rezultatele nedeterminate (IND) sau incomplete (INC) pot fi obținute din cauza unei defecțiuni a sistemului și este necesară repetarea testării. Consultați manualul de utilizare al sistemului BD MAX™ System pentru interpretarea codurilor de avertizare și de eroare.

Al doilea amestec principal (<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube): Poziția de fixare 4 (Snap-in 4)				
Virusul paragripal (nume țintă: HPIV)	Coronavirus (nume țintă: HCOV)	Metapneumovirus (nume țintă: MPV)	Adenovirus (nume țintă: HADV)	Interpretare pentru probele individuale ale pacientului
POS	POS	POS	POS	RNA/DNA de virus paragripal, coronavirus, metapneumovirus și adenovirus detectat
POS	POS	POS	NEG	RNA de virus paragripal, coronavirus și metapneumovirus detectat, DNA de adenovirus nedetectat

Al doilea amestec principal (<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube): Poziția de fixare 4 (Snap-in 4)				
Virusul paragripal (nume țintă: HPIV)	Coronavirus (nume țintă: HCOV)	Metapneumovirus (nume țintă: MPV)	Adenovirus (nume țintă: HADV)	Interpretare pentru probele individuale ale pacientului
POS	POS	NEG	POS	RNA/DNA de virus paragripal, coronavirus și adenovirus detectat, RNA de metapneumovirus nedetectat
POS	NEG	POS	POS	RNA/DNA de virus paragripal, metapneumovirus și adenovirus detectat, RNA de coronavirus nedetectat
NEG	POS	POS	POS	RNA/DNA de coronavirus, metapneumovirus și adenovirus detectat, RNA de virus paragripal nedetectat
POS	POS	NEG	NEG	RNA de virus paragripal și coronavirus detectat, RNA/DNA de metapneumovirus și adenovirus nedetectat
POS	NEG	POS	NEG	RNA de virus paragripal și metapneumovirus detectat, RNA/DNA de coronavirus și adenovirus nedetectat
POS	NEG	NEG	POS	RNA/DNA de virus paragripal și adenovirus detectat, RNA de coronavirus și metapneumovirus nedetectat
NEG	POS	POS	NEG	RNA de coronavirus și metapneumovirus detectat, RNA/DNA de virus paragripal și adenovirus nedetectat
NEG	POS	NEG	POS	RNA/DNA de coronavirus și adenovirus detectat, RNA de virus paragripal și metapneumovirus nedetectat
NEG	NEG	POS	POS	RNA/DNA de metapneumovirus și adenovirus detectat, RNA de virus paragripal și coronavirus nedetectat
POS	NEG	NEG	NEG	RNA de virus paragripal detectat, RNA/DNA de coronavirus, metapneumovirus și adenovirus nedetectat
NEG	POS	NEG	NEG	RNA de coronavirus detectat, RNA/DNA de virus paragripal, metapneumovirus și adenovirus nedetectat
NEG	NEG	POS	NEG	RNA de metapneumovirus detectat, RNA/DNA de virus paragripal, coronavirus și adenovirus nedetectat
NEG	NEG	NEG	POS	DNA de adenovirus detectat, RNA de virus paragripal, coronavirus și metapneumovirus nedetectat
NEG	NEG	NEG	NEG	RNA a țintei nedetectat

Al doilea amestec principal (<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube): Poziția de fixare 4 (Snap-in 4)				
Virusul paragripal (nume țintă: HPIV)	Coronavirus (nume țintă: HCOV)	Metapneumovirus (nume țintă: MPV)	Adenovirus (nume țintă: HADV)	Interpretare pentru probele individuale ale pacientului
UNR	UNR	UNR	UNR	Rezultat Nerezolvat (UNR) obținut în prezența inhibitorilor din reacția PCR sau când intervine o problemă generală (neraportată printr-un cod de eroare) în legătură cu etapele de procesare a probei și/sau amplificare. ¹
IND	IND	IND	IND	Rezultat test Nedeterminat (IND). Datorat defectării sistemului BD MAX™ System. Rezultat al testului afișat în caz de defectare a instrumentului, asociată unui cod de eroare. ²
INC	INC	INC	INC	Rezultat test Incomplet (INC). Datorat defectării sistemului BD MAX™ System. Rezultat al testului afișat în caz de eșec la finalizarea rulării. ²

Tabelul 27. Interpretarea probei.

1 Controlul intern endogen (EIC) trebuie să prezinte un semnal de amplificare cu valoarea Ct ≤ 35 pentru a fi luat în considerare. Dacă se constată o absență a semnalului pentru EIC sau valoarea Ct > 35 rezultatul este considerat ca Nerezolvat (UNR) și este necesară repetarea testării. Verificați raportul de rezultate și valorile Ct ale țintelor selectate și efectuați acțiunea corespunzătoare ținând cont de următoarele:

- I. În cazul în care rezultatele genelor țintă sunt invalide (Ct > 40, ceea ce este indicat de software ca rezultat „-1”), este necesar să se repete testul din proba primară, pregătind din nou Sample Buffer Tube (SBT), dacă este disponibil un volum suficient de probă. Respectați îndrumările de laborator și/sau manualele de politici pentru laboratorul de microbiologie.
- II. Când rezultatele genelor țintă sunt valide (Ct ≤ 40), este posibil să nu se observe amplificare sau amplificare de la EIC cu o valoare Ct > 35 (ceea ce este indicat de software ca rezultat „-1”) la testarea probelor foarte concentrate, din cauza amplificării preferențiale a acizilor nucleici specifici țintei. Dacă se consideră necesar, diluați aceste probe în raport de 1/10, pregătiți din nou Sample Buffer Tube (SBT) și repetați testarea. Respectați îndrumările de laborator și/sau manualele de politici pentru laboratorul de microbiologie.

NOTĂ: Tampioanele nazofaringiene pot fi păstrate fără a fi transferate în SBT timp de până la 2 zile dacă sunt depozitate la 25 °C sau până la 7 zile dacă sunt depozitate la 4 °C.

2 Rezultatele nedeterminate (IND) sau incomplete (INC) pot fi obținute din cauza unei defecțiuni a sistemului și este necesară repetarea testării. Consultați manualul de utilizare al sistemului BD MAX™ System pentru interpretarea codurilor de avertizare și de eroare.

Notă: În cazul utilizării controalelor externe, acestea trebuie să conducă la următoarele rezultate așteptate: negative pentru ENC și pozitive pentru EPC (se așteaptă ca speciemenele pozitive cunoscute să fie pozitive numai pentru microorganismul(ele) prezent(e) în probă). Un ENC care conduce la un rezultat pozitiv al testului indică un eveniment de contaminare sau o eroare de manipulare a specimenului. Un EPC care conduce la un rezultat negativ indică o problemă de manipulare/preparare a specimenului. Revedeți tehnica de manipulare/preparare a specimenului. În cazul în care apare o defecțiune a controlului extern, este necesară repetarea testării.

În cazul unui rezultat ambiguu obținut în mod continuu, se recomandă să se revadă instrucțiunile de utilizare, procesul de extracție folosit de către utilizator; să se verifice corecta performanță a fiecărei etape PCR și să se revizuiască parametrii; și să se verifice forma sigmoidă a curbei și intensitatea fluorescenței.

Rezultatele testului trebuie să fie evaluate de un profesionist din domeniul medical, ținând seama de antecedentele medicale, simptomele clinice și alte teste cu rol diagnostic.

10. Limitările testului

- Rezultatele testului trebuie să fie evaluate de un profesionist din domeniul medical, ținând seama de antecedentele medicale, simptomele clinice și alte teste cu rol diagnostic.
- Deși acest test poate fi utilizat cu alte tipuri de probe, acesta a fost validat doar cu tampoane nazofaringiene.
- Pentru o bună performanță a testului, produsul liofilizat trebuie să se afle la fundul tubului și să nu fie aderent la partea de sus a tubului sau la folia de sigilare. Loviți cu blândețe fiecare tub de o suprafață dură pentru a vă asigura că toate produsele se află la fundul tuburilor.
- Calitatea testului depinde de calitatea probei; acidul nucleic trebuie să fie extras în mod corespunzător din probele clinice.
- Acest test este un test calitativ și nu furnizează valori cantitative, nici nu indică numărul de organisme prezente. Nu este posibil să se coreleze valorile Ct obținute prin PCR cu concentrația probei, deoarece acestea depind de termociclatorul utilizat și de rulare în sine.
- Pot fi detectate nivele extrem de joase ale țintei, aflate sub limita de detectare, însă rezultatele ar putea să nu fie reproductibile.
- Țineți cont de intervalul de măsurare preconizat al testului, deoarece probele cu concentrații mai mari sau mai mici decât acest interval pot da rezultate eronate.
- Există o posibilitate de rezultate fals pozitive datorită contaminării încrucișate cu virusul SARS-CoV-2, virusul gripal A, virusul gripal B, RSV (tipurile A și B), virusul paragripal (tipurile 1, 2, 3 și 4), coronavirusul uman (229E, NL63, HKU1 și OC43), metapneumovirus și adenovirus conținând concentrații înalte de RNA/DNA țintă sau contaminării datorită produselor PCR de la reacțiile precedente.
- Combinațiile specifice de primer și sondă pentru detectarea genelor *N* și *ORF1ab* ale virusului SARS-CoV-2, genei *M* (proteină matriceală (M1)) pentru virusurile gripale A/B, genei *HA* genei pentru virusul gripal A subtipul H1N1, genei *N*a RSV (tipurile A și B), genei *HN*a virusului paragripal (tipurile 1, 2 și 3), genei *F*a virusului paragripal (tipul 4), genei *N*a coronavirusului (229E, NL63, HKU1 și OC43), genei *F*a metapneumovirusului și genei *hexon* a adenovirusului, utilizate în VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, nu prezintă omologii combinate semnificative cu genomul uman, microflora umană sau alți microbi din tractul respirator, care ar putea duce la rezultate fals pozitive predictibile.
- Rezultatele fals negative pot apărea datorită mai multor factori și combinațiilor dintre aceștia, incluzând:
 - Metode necorespunzătoare de recoltare, transport, depozitare și/sau manipulare a probelor.

- Proceduri necorespunzătoare de procesare (inclusiv de extracție a RNA/DNA).
 - Degradarea RNA/DNA în cursul transportului/depozitării și/sau procesării probei.
 - Mutațiile sau polimorfismele în regiunile de legare ale primerului sau sondei pot afecta detectarea de tulpini noi sau necunoscute de SARS-CoV-2, virus gripal A, virus gripal B, RSV (tipurile A și B), virus paragripal (tipurile 1, 2, 3 și 4), coronavirus uman (229E, NL63, HKU1 și OC43), metapneumovirus și/sau adenovirus.
 - O încărcare virală a specimenului sub limita de detectare a testului.
 - Prezența inhibitorilor RT-qPCR sau a altor tipuri de substanțe interferente. Nu a fost evaluat impactul vaccinurilor, a unor agenți de terapie antivirală, antibioticelor, chimioterapeuticelor, medicamentelor imunosupresoare sau antifungice utilizate pentru prevenirea infecției sau utilizate în cursul tratamentului acesteia.
 - Efectul substanțelor interferente a fost evaluat numai pentru cele indicate în secțiunea 12.7.1 (studiu al substanțelor interferente) din prezenta instrucțiune de utilizare. A fost observată interferență în testarea de fluticazonă (1,26E-06 mg/ml) și nicotină (3,00E-02 mg/ml) în ambele *Respiratory Virus Mix I* reaction tube și *Respiratory Virus Mix II* reaction tube. Consultați această secțiune pentru a verifica cele mai frecvente substanțe endogene și exogene care induc o interferență totală sau parțială a reacției RT-qPCR. Alte substanțe care nu sunt indicate în această parte ar putea conduce la rezultate eronate.
 - Nerespectarea instrucțiunilor de utilizare și a procedurii de testare.
- Un rezultat pozitiv al testului nu indică neapărat prezența virusilor viabili și nu înseamnă că acești virusi sunt infecțioși sau sunt agenții cauzatori pentru simptome clinice. Totuși, un rezultat pozitiv indică prezența secvențelor virusurilor vizate.
 - Rezultatele negative nu exclud prezența de RNA/DNA de SARS-CoV-2, virus gripal A, virus gripal B, RSV (tipurile A și B), virus paragripal (tipurile 1, 2, 3 și 4), coronavirus uman (229E, NL63, HKU1 și OC43), metapneumovirus și/sau adenovirus în specimenul clinic și nu trebuie utilizate ca unică bază pentru deciziile de management al pacientului. Tipurile optime de specimen și reperele de timp pentru nivelurile virale maxime în cursul infecției cauzate de aceste microorganisme nu au fost determinate. Poate fi necesară recoltarea de probe multiple (ca tipuri și repere de timp) de la același pacient, pentru a detecta agentul patogen.
 - Este posibil ca detectarea unor tulpini circulante din 2019 aparținând liniei Victoria a virusului gripal B să fie compromisă din cauza mutațiilor punctuale din aceste noi tulpini. A fost testată doar incluzivitatea virusului gripal B pentru variantele care conțin mutațiile C54T, C55T și C120T (secvența de referință NC002210.1).
 - Dacă testele de diagnostic pentru alte boli respiratorii sunt negative și observațiile clinice, antecedentele pacientului și informațiile epidemiologice sugerează că este posibilă infecția cu virusul SARS-CoV-2, virusul gripal A, virusul gripal B, RSV (tipurile A și B), virusul paragripal (tipurile 1, 2, 3 și 4), coronavirusul

uman (229E, NL63, HKU1 și OC43), metapneumovirus și/sau adenovirus , trebuie luat în considerare rezultatul fals negativ și trebuie discutată retestarea pacientului.

- Valorile de fluorescență pot varia din cauza mai multor factori, cum ar fi: echipamentul PCR (chiar fiind același model), sistemul de extracție, tipul de probă, tratamentul anterior al probei, etc... printre altele.
- Dispozitivul include primeri și sonde care detectează în mod specific tulpina H1N1pdm09 de virus gripal A. Tulpina de gripă pandemică nu poate fi exclusă și trebuie luate în considerare teste suplimentare în cazul unui rezultat pozitiv la virusul gripal.
- Valorile predictiv pozitive și negative sunt extrem de dependente de prevalență în toate testele de diagnostic *in vitro*. Performanța VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System poate varia în funcție de prevalență și de populația testată.
- În cazul în care se obțin rezultate Nerezolvat, Nedeterminat sau Incomplet folosind VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, va fi necesară retestarea. Rezultatele Nerezolvat s-ar putea datora prezenței inhibitorilor în probă sau unei incorecte rehidratări a tubului cu amestec de reacție liofilizat. În cazul unei defecțiuni a instrumentului, vor fi obținute rezultatele Nedeterminat sau Incomplet.

11. Controlul de calitate

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System conține în fiecare tub de reacție un control intern (EIC) endogen, care confirmă aplicarea corectă a tehnicii. În plus, utilizarea controalelor externe (EPC și ENC) permite confirmarea performanței testului. Controalele externe nu sunt utilizate de sistemul BD MAX™ System în scopul interpretării rezultatelor, ci sunt considerate ca o probă. Controlul pozitiv extern (EPC) este destinat să monitorizeze o eventuală defecțiune a reactivilor de testare, în timp ce controlul negativ extern (ENC) este destinat să detecteze contaminarea mediului sau a reactivilor de către acizii nucleici țintă.

12. Caracteristici de performanță analitică

12.1. Linearitate analitică

Linearitatea testului a fost determinată și confirmată prin testarea unei serii de diluții de zece ori a probelor de tampon nazofaringian conținând o concentrație cunoscută de RNA/DNA specific și sintetic aparținând virusului SARS-CoV-2, virusului virus gripal A, virusului gripal B, virusului sincițial respirator uman, virusului paragripal, coronavirusului, metapneumovirusului și adenovirusului (în intervalul de la 2E+07 la 2E+00 copii per µl). Mai jos este inclus un exemplu de diagrame de amplificare rezultate în urma unui test:

Figura 2. Modelul de rulare pentru seriile de diluție ale SARS-CoV-2 ($2E+07$ la $2E+00$ copii/ μ l) pe BD MAX™ System (canal 475/520 (FAM)).

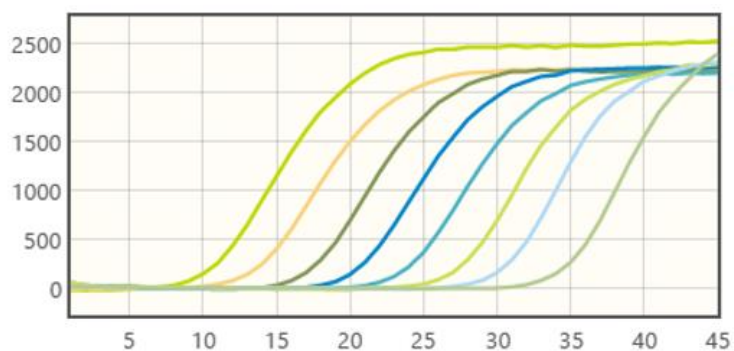


Figura 3. Modelul de rulare pentru seriile de diluție ale virusului gripal B ($2E+07$ la $2E+00$ copii/ μ l) pe BD MAX™ System (canal 530/565 (HEX)).

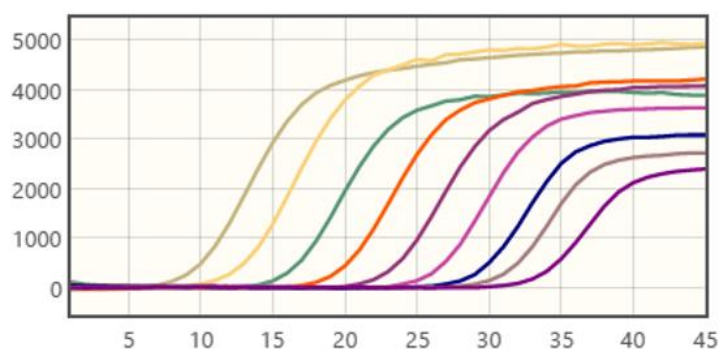


Figura 4. Modelul de rulare pentru seriile de diluție ale virusului gripal A ($2E+07$ la $2E+00$ copii/ μ l) pe BD MAX™ System (canal 585/630 (ROX)).

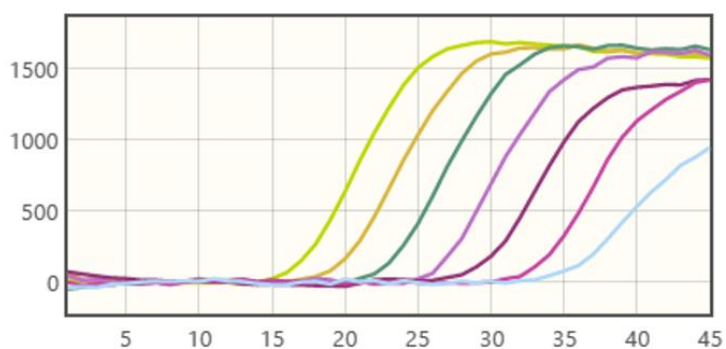


Figura 5. Modelul de rulare pentru seriile de diluție ale RSV ($2E+07$ la $2E+00$ copii/ μ l) pe BD MAX™ System (canal 630/665 (Cy5)).

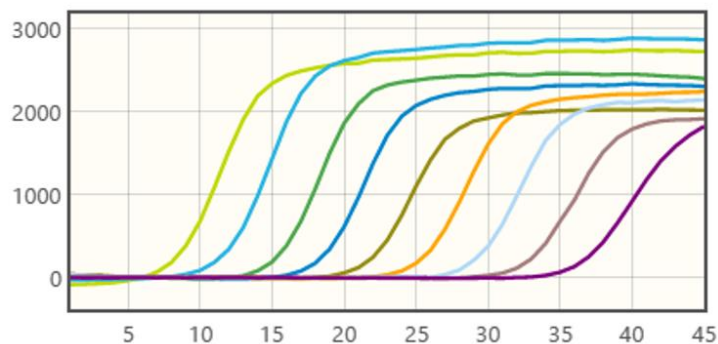


Figura 6. Modelul de rulare pentru seriile de diluție ale virusului paragripal ($2E+07$ la $2E+00$ copii/ μ l) pe BD MAX™ System (canal 475/520 (FAM)).

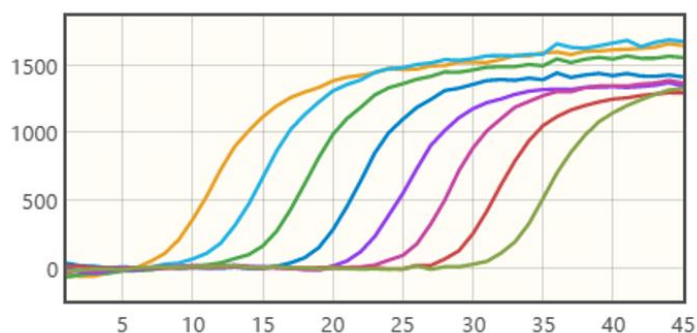


Figura 7. Modelul de rulare pentru seriile de diluție ale coronavirusului ($2E+07$ la $2E+00$ copii/ μ l) pe BD MAX™ System (canal 530/565 (HEX)).

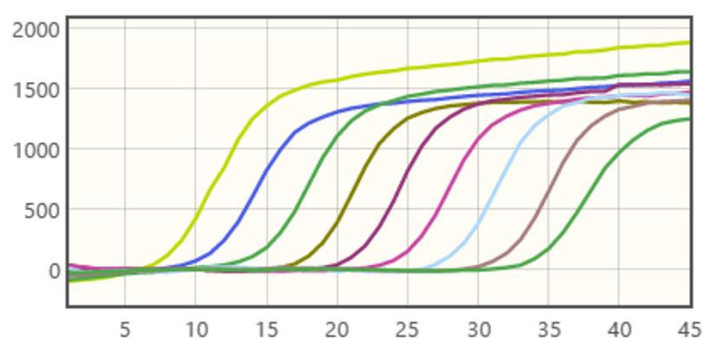


Figura 8. Modelul de rulare pentru seriile de diluție ale metapneumovirusului ($2E+07$ la $2E+00$ copii/ μ l) pe BD MAX™ System (canal 585/630 (ROX)).

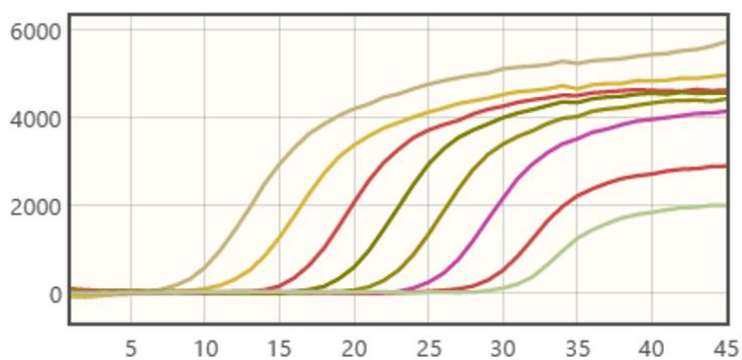
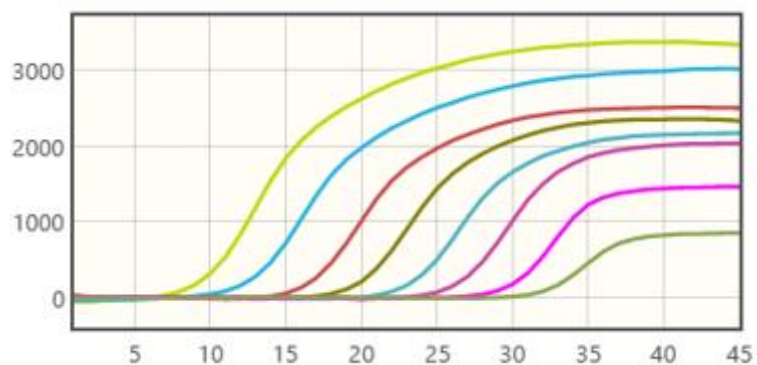


Figura 9. Modelul de rulare pentru seriile de diluție ale adenovirusului ($2E+07$ la $2E+00$ copii/ μ l) pe BD MAX™ System (canal 630/665 (Cy5)).



12.2. Sensibilitate analitică. Limita de detecție (LoD)

Sensibilitatea analitică sau limita de detecție (LoD) a VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System a fost analizată cu trei loturi folosind probe nazofaringiene negative colectate în BD™ Universal Viral Transport System îmbogățite cu tulpini de referință sau RNA sintetic detaliate în tabelul de mai jos:

Virus	Tulpină/RNA sintetic	Referință externă
SARS-CoV-2	Virus SARS-CoV-2 inactivat la căldură, tulpina 2019-n-CoV/USA-WA1/2020	VR-1986HK
Virus gripal A	Virus gripal A (H1N1), tulpina A/PR/8/34	VR-95PQ
Virus gripal B	Virus gripal B (linia Yamagata), tulpina B/Florida/4/2006	VR-1804PQ
RSV A	Virus respirator sincițial uman A, tulpina Long	VR-26PQ
RSV B	Virus respirator sincițial uman B, tulpina 9320	FR-293
Virus paragripal, tip 1	Virus paragripal uman 1, tulpina C35	VR-94
Virus paragripal, tip 2	Virus paragripal uman 2, tulpina Greer	VR-92
Virus paragripal, tip 3	Virus paragripal uman 3, tulpina C 243	VR-93
Virus paragripal, tip 4	Virus paragripal uman 4b, tulpina CH 19503	VR-1377
Coronavirus OC43	Betacoronavirus 1	VR-1558
Coronavirus 229E	Human Coronavirus 229E	VR-740
Coronavirus NL63	Coronavirus uman, tulpina NL63	FR-304
Coronavirus HKU1	RNA sintetic cantitativ de coronavirus HKU1 uman	ATCC-VR3262SD
Metapneumovirus	Fluid de cultură de metapneumovirus uman 8 (hMPV-8), tip B2 (inactivat la căldură)	0810159CF
Adenovirus	Human adenovirus 1, tulpina Adenoid 71	VR-1

Tabelul 28. Tulpini de referință și RNA sintetic utilizate pentru testele de performanță ale VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System (test LoD).

În plus, în cazul țintei SARS-CoV-2, LoD (UI/μl) a fost analizat utilizând 1st WHO International Standard SARS-CoV-2 RNA (cod NIBSC 20/146). Rezultatele LoD obținute pentru VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System sunt detaliate în tabelul de mai jos:

Tampon nazofaringian			
Respiratory Virus Mix / reaction tube			
SARS	FLUA	FLUB	RSV
4,5E+00 UI/ml	6,7E-01 copii/μl	7,29E+00 copii/μl	1,35E+00 copii/μl de RSV A 2,52E+01 TCID50/ml de RSV B

<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube			
HPIV	HCOV	MPV	HADV
5,33E+00 TCID50/ml de HPIV 1 4,80E+00 TCID50/ml de HPIV 2 9,00E+02 TCID50/ml de HPIV 3 1,44E+01 TCID50/ml de HPIV 4	4,80E-02 TCID50/ml de HCOV OC43 1,60E-01 TCID50/ml de HCOV 229E 4,80E-03 TCID50/ml de HCOV NL63 6,00E+00 copii/μl de HCOV HKU1	5,10E-02 TCID50/ml	6,00E+00 TCID50/ml

Tabelul 29. Limita de detecție a rezultatelor VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. UI = Unități internaționale, TCID50 = Median Tissue Culture Infection Dose (Doza mediană infecțioasă pentru culturi de țesut).

12.3. Intervalul de măsurare

Intervalul de măsurare al testului a fost determinat prin testarea unei serii de diluții de zece ori conținând o concentrație cunoscută de RNA/DNA specific și sintetic aparținând virusului SARS-CoV-2, virusului gripal A, virusului gripal B, virusului RSV (tipurile A și B), virusului paragripal (tipurile 1, 2, 3 și 4), coronavirusului uman (229E, NL63, HKU1 și OC43), metapneumovirusului și adenovirusului. Rezultatele au permis confirmarea detectării corecte a țintelor de la 2E+07 la 2E+00 copii/μl, cu excepția virusului HCoV-HKU1 a cărui interval de măsurare este de la 2E+06 la 2E+00 copii/μl.

În concluzie, intervalul de măsurare al VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System a fost determinat cu succes, asigurând rezultate fiabile, precise și reproductibile pe un spectru larg de încărcături virale, confirmându-i utilitatea în diverse scenarii de diagnostic clinic.

12.4. Acuratețe

12.4.1. Fidelitate (veridicitate)

Veridicitatea VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System a fost evaluată prin testarea materialului de referință enumerat mai jos, îmbogățit în probe nazofaringiene negative colectate în BD™ Universal Viral Transport System.

1. Fragmente de DNA sintetic

- Fragment de DNA sintetic pentru gena *ORF1* a SARS-CoV-2: NCOXPC, canal FAM.
- Fragment de DNA sintetic pentru gena *N* a SARS-CoV-2: NCOXPC, canal FAM.
- Fragment de DNA sintetic pentru gena *M1* a gripei A: YIAXPC, canal ROX.
- Fragment de DNA sintetic pentru gena *HA* a gripei A: HNVXPC, canal ROX.
- Fragment de DNA sintetic pentru gena *M1* a gripei B: YIBXPC, canal HEX.
- Fragment de DNA sintetic pentru gena *N* a RSV A: RSAXPC, canal Cy5.
- Fragment de DNA sintetic pentru gena *N* a RSV B: RSBXPC, canal Cy5.
- Fragment de DNA sintetic pentru gena *HN* a virusului paragripal 1: PIXPC, canal FAM.
- Fragment de DNA sintetic pentru gena *HN* a virusului paragripal 2: PIXPC, canal FAM.
- Fragment de DNA sintetic pentru gena *HN* a virusului paragripal 3: PIXPC, canal FAM.

- Fragment de DNA sintetic pentru gena *Fa* virusului paragripal 4: PIXPC, canal FAM.
- Fragment de DNA sintetic pentru gena *Na* coronavirusului OC43: CORXPC, canal HEX.
- Fragment de DNA sintetic pentru gena *Na* coronavirusului-229E: CORXPC, canal HEX.
- Fragment de DNA sintetic pentru gena *Na* coronavirusului-NL63: CORXPC, canal HEX.
- Fragment de DNA sintetic pentru gena *Na* coronavirusului HKU1: CORXPC, canal HEX.
- Fragment de DNA sintetic pentru gena *Fa* metapneumovirusului: MPVXPC, canal ROX.
- Fragment de DNA sintetic pentru gena *hexon* a adenovirusului: ADVXPC, canal Cy5.

Toate fragmentele de DNA sintetic au fost detectate corect pe canalul corespunzător.

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

Referință externă	Microorganism	Nume produs	Varietate	Rezultat
VR-1986HK	SARS-CoV-2	Heat-inactivated SARS-CoV-2	2019-nCoV/USA-WA1/2020	Detectat
VR-3276SD	SARS-CoV-2	Quantitative Synthetic SARS-CoV-2 RNA: ORF, E, N	N/A	Detectat
VR-1986D	SARS-CoV-2	Genomic RNA from 2019 Novel Coronavirus	SARS-Related Coronavirus 2, izolat USA-WA1/2020	Detectat
VR-95PQ	Virus gripal A	Influenza A virus (H1N1), Purified	A/PR/8/34	Detectat
VR-1804PQ	Virus gripal B	Influenza B virus (Yamagata Lineage), Purified	B/Florida/4/2006	Detectat
VR-26PQ	RSV-A	Human respiratory syncytial virus, High titer	Tulpina Long	Detectat
VR-94	Virus paragripal 1	Human parainfluenza virus 1 (HPIV-1)	Tulpina C35	Detectat
VR-92	Virus paragripal 2	Human parainfluenza virus 2 (HPIV-2)	Tulpina Greer	Detectat
VR-93	Virus paragripal 3	Human parainfluenza virus 3 (HPIV-3)	Tulpina C 243	Detectat
VR-1377	Virus paragripal 4	Human parainfluenza virus 4 (HPIV-4b)	Tulpina CH 19503	Detectat
VR-1558	Coronavirus OC43	Betacoronavirus 1	Tulpina OC43	Detectat
VR-740	Coronavirus 229E	Human Coronavirus 229E	Tulpina 229E	Detectat
VR-3262SD	Coronavirus HKU1	Quantitative Synthetic Human Coronavirus Strain HKU1 RNA	Tulpina HKU1	Detectat

Referință externă	Microorganism	Nume produs	Varietate	Rezultat
VR-3263SD	Coronavirus NL63	Quantitative Synthetic Human coronavirus Strain NL63 RNA	Tulpina NL63	Detectat
VR-3250SD	Metapneumovirus	Synthetic Human metapneumovirus RNA	N/A	Detectat
VR-1	Adenovirus	Human adenovirus 1	Tulpina Adenoid 71	Detectat
VR-6	Adenovirus	Human Adenovirus 6	Tip 6 (specia C), tulpina Tonsil 99	Detectat
VR-16	Adenovirus	Human Adenovirus 15	Tip 15 (specia D), tulpina 305 [955, CH. 38]	Detectat
VR-3343	Adenovirus	Human adenovirus 31	Tip 31 (specia A), tulpina 1315/ 63	Detectat

Tabelul 30. Material de referință de la American Type Culture Collectio (ATCC®).

Toate tulpinile de la ATCC au fost detectate corect pe canalul corespunzător, iar EIC a prezentat amplificare cu o valoare Ct ≤ 35.

3. International Reagent Resource (IRR™)

Referință externă	Microorganism	Nume produs	Varietate	Rezultat
FR-293	RSV-B	Human Respiratory Syncytial Virus B	Tulpina 9320	Detectat
FR-304	Coronavirus NL63	Human Coronavirus, tulpina NL63	Tulpina NL63	Detectat
FR-1	Virus gripal A	Influenza A virus	A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	Detectat
FR-3	Virus gripal A	Influenza A virus	A/South Dakota/6/2007 (H1N1)	Detectat
FR-5	Virus gripal A	Influenza A virus	A/Hawaii/31/2007 (H1N1)	Detectat
FR-6	Virus gripal A	Influenza A virus	A/Qatar/1123/2007 (H1N1)	Detectat
FR-7	Virus gripal A	Influenza A virus	A/Cambodia/0371/2007 (H1N1)	Detectat
FR-8	Virus gripal A	Influenza A virus	A/Brisbane/10/2007 (H3N2)	Detectat
FR-12	Virus gripal A	Influenza A virus	A/Taiwan/760/2007 (H3N2)	Detectat
FR-13	Virus gripal A	Influenza A virus	A/Texas/71/2007 (H3N2)	Detectat

Referință externă	Microorganism	Nume produs	Varietate	Rezultat
FR-27	Virus gripal A	Influenza A virus	A/Brisbane/10/2007 IVR-147 (H3N2)	Detectat
FR-28	Virus gripal A	Influenza A virus	A/Brisbane/59/2007 IVR-148 (H1N1)	Detectat
FR-29	Virus gripal A	Influenza A virus	A/South Dakota/6/2007 X-173 (H1N1)	Detectat
FR-201	Virus gripal A	Influenza A virus	A/California/07/2009 (H1N1)pdm09	Detectat
FR-202	Virus gripal A	Influenza A virus	A/California/08/2009 (H1N1)pdm09	Detectat
FR-203	Virus gripal A	Influenza A virus	A/New York/18/2009 (H1N1)pdm09	Detectat
FR-245	Virus gripal A	Influenza A virus	A/Mexico/4108/2009 (H1N1)pdm09	Detectat
FR-246	Virus gripal A	Influenza A virus	A/California/07/2009 NYMC X-179A (H1N1)pdm09	Detectat
FR-16	Virus gripal B	Influenza B virus	B/Pennsylvania/7/2007 (linia Yamagata)	Detectat
FR-17	Virus gripal B	Influenza B virus	B/Santiago/4364/2007 (linia Yamagata)	Detectat
FR-18	Virus gripal B	Influenza B virus	B/Brisbane/3/2007 (linia Yamagata)	Detectat
FR-19	Virus gripal B	Influenza B virus	B/Pennsylvania/5/2007 (linia Victoria)	Detectat
FR-20	Virus gripal B	Influenza B virus	B/Victoria/304/2006 (linia Victoria)	Detectat
FR-183	Virus gripal B	Influenza B virus	B/Bangladesh/3333/2007 (linia Yamagata)	Detectat
FR-294	RSV A	Human Respiratory Syncytial Virus	Tulpina A-2	Detectat

Tabelul 31. Material de referință de la International Reagent Resource (IRR™).

Toate tulpinile de la IRR au fost detectate corect pe canalul corespunzător, iar EIC a prezentat amplificare cu o valoare Ct ≤ 35.

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

Referință externă	Microorganism	Nume produs	Varietate	Rezultat
20/146	SARS-CoV-2	First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA	Izolat England/02/2020	Detectat

Referință externă	Microorganism	Nume produs	Varietate	Rezultat
20/110	SARS-CoV-2	2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) Working Reagent for NAT	N/A	Detectat
19/304	SARS-CoV-2	Research Reagent for SARS-CoV-2 RNA	N/A	Detectat
08/176	Virus paragripal 1	Parainfluenza Virus Serotype 1	N/A	Detectat
08/178	Virus paragripal 2	Parainfluenza Virus Serotype 2	N/A	Detectat
08/180	Virus paragripal 4	Parainfluenza Virus Serotype 1	N/A	Detectat
08/320	Metapneumovirus	Human Metapneumovirus Working Reagent for NAT	N/A	Detectat
16/324	Adenovirus	First WHO International Standard for Human Adenovirus DNA	Tip 2	Detectat

Tabelul 32. Material de referință de la National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC).

Toate tulpinile de la NIBSC au fost detectate corect pe canalul corespunzător, iar EIC a prezentat amplificare cu o valoare $Ct \leq 35$.

5. BEI Resources

Referință externă	Microorganism	Nume produs	Varietate	Rezultat
NR-52287	SARS-CoV-2	SARS-Related Coronavirus 2	Izolat USA-WA1/2020, Gamma-Irradiated	Detectat
NR-28530	RSV	Human Respiratory Syncytial Virus, A2000/3-4	Tulpina A2000/3-4	Detectat
NR-22227	Metapneumovirus	Human metapneumovirus	TN/83-1211	Detectat

Tabelul 33. Material de referință de la BEI Resources.

Toate tulpinile de la BEI Resources au fost detectate corect pe canalul corespunzător, iar EIC a prezentat amplificare cu o valoare $Ct \leq 35$.

6. Material de control

Referință externă	Microorganism	Nume produs	Varietate	Rezultat
Fluarix Tetra 2022/2023	Virus gripal A /Virus gripal B	Influenza vaccine Fluarix Tetra 2022/2023	Flu A/Victoria/2570/2019 Flu A/Darwin/6/2021 Flu B/Austria/1359417/2021 Flu B/Phuket/3073/2013	Detectat

Referință externă	Microorganism	Nume produs	Varietate	Rezultat
Fluarix Tetra 2023/2024	Virus gripal A /Virus gripal B	Influenza vaccine Fluarix Tetra 2023/2024	Flu A/Victoria/4897/2022 Flu A/Darwin/6/2021 Flu B/Austria/1359417/2021 Flu B/Phuket/3073/2013	Detectat
102019	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 1	SARS-CoV-2 izolat Australia/VIC01/2020	Detectat
102024	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 2	SARS-CoV-2 izolat Wuhan-Hu-1	Detectat
103907	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 14	Varianta UK (B.1.1.7_710528)	Detectat
103909	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 15	Varianta UK (B.1.1.7_601443)	Detectat
104043	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 16	Varianta Africa de Sud	Detectat
104044	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 17	Varianta Japonia/Brazilia	Detectat
0505-0129	SARS-CoV-2	Accuplex™ SARS-CoV-2 Verification Panel	N/A	Detectat
MBC139-R	SARS-CoV-2	AMPLIRUN® SARS-CoV-2 B.1.351 RNA CONTROL	Linia B.1.351	Detectat
MBTC030-R	SARS-CoV-2	AMPLIRUN® TOTAL SARS-CoV-2 CONTROL	Linia B.1.351	Detectat
MBTC031-R	SARS-CoV-2, virus gripal A, virus gripal B și RSV	AMPLIRUN® TOTAL SARS-CoV-2/FLUA/FLUB/RSV CONTROL	Influenza A H3N2 (A/Perth/16/2009), Influenza B (B/Brisbane/60/2008), RSV (9320)	Detectat
MBC144-R	MPV	AMPLIRUN® METAPNEUMOVIRUS RNA CONTROL	Linia B1	Detectat
SCV2_24C1B-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Delta variant	Varianta Delta B.1.617.2	Detectat
SCV2_23C1D-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sub-linia XBB	Detectat
SCV2_23C1D-02	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sub-linia BQ1.1	Detectat
SCV2_23C1D-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sub-linia BA.2.75	Detectat
SCV2_23C1D-04	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sub-linia BA.5	Detectat
SCV2_23C1D-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sub-linia BQ.1	Detectat
SCV2_23C1B-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sub-linia BA.4	Detectat

Referință externă	Microorganism	Nume produs	Varietate	Rezultat
SCV2_23C1B-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sub-linia BA.5	Detectat
SCV2_23C1B-04	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sub-linia BA.4	Detectat
SCV2_23C1B-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sub-linia BA.2	Detectat
SCV2_23C1C-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sub-linia BA.2.75	Detectat
SCV2_23C1C-02	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sub-linia BQ.1	Detectat
SCV2_23C1C-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sub-linia BQ1.1	Detectat
SCV2_23C1C-04	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sub-linia XBB	Detectat
SCV2_23C1C-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sub-linia BA.2	Detectat
SCV2_23C1A-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sub-linia BA.5	Detectat
SCV2_23C1A-02	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sub-linia BA.2	Detectat
SCV2_23C1A-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sub-linia BA.5	Detectat
SCV2_23C1A-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sub-linia BA.4	Detectat
ID3-09 2023	RSV	Influenza A virus	Tulpina A/Cambodia/e0826360/2020 (H3N2)	Detectat
359043	RSV	Human Respiratory Syncytial Virus, B	N/A	Detectat
PINFRNA101S-06	Virus paragripal Tip 2	PIV-2	N/A	Detectat
PINFRNA22S-02	Virus paragripal Tip 3	PIV-3	N/A	Detectat
CVRNA22S-04	Coronavirus	Coronavirus HKU	Tulpina HKU	Detectat
0810110CF	Adenovirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 2	Tip 2 (specie C)	Detectat
0810062CFHI	Adenovirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 3	Tip 3 (specie B)	Detectat
0810070CFHI	Adenovirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 4	Tip 4 (specie E)	Detectat

Referință externă	Microorganism	Nume produs	Varietate	Rezultat
0810020CF	Adenovirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 5	Tip 5 (specie C)	Detectat
0810021CFHI	Adenovirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 7A	Tip 7A (specie B)	Detectat
0810119CFHI	Adenovirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 37	Tip 37	Detectat
0810084CFHI	Adenovirus	Adenovirus Type 40 Culture Fluid (Heat Inactivated) Strain Dugan	Tip 40, tulpina Dugan	Detectat
0810085CFHI	Adenovirus	Adenovirus Type 41 Culture Fluid (Heat Inactivated) Strain Tak	Tip 41 (specie F), tulpina Tak	Detectat
0810159CF	MPV	Human Metapneumovirus 8	Tip B2	Detectat

Tabelul 34. Material de control pentru SARS-CoV-2, virus gripal A, virus gripal B, RSV B, virus paragripal, coronavirus, metapneumovirus și adenovirus.

Toate tulpinile de au fost detectate corect pe canalul corespunzător, iar EIC a prezentat amplificare cu o valoare $Ct \leq 35$.

7. Programe de evaluare externă a calității (EQA)

Un total de 85 de probe conținând SARS-CoV-2, virus gripal A, virus gripal B, RSV B, virus paragripal, coronavirus, metapneumovirus și/sau adenovirus, printre alte microorganisme neîntâ, au fost analizate din programele QCMD, INSTAND, CAP și RCPA, prezentând o concordanță înaltă.

12.4.2. Precizie

Pentru a determina precizia VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, au fost efectuate teste intra-teste (repetabilitate), inter-teste, între loturi și între termociclatoare (reproductibilitate) cu tampon nazofaringian colectate cu BD™ Universal Viral Transport System îmbogățite cu tulpinile de referință menționate în Tabelul 28 pentru țintele reprezentative selectate pentru fiecare canal de fluorescență: SARS-CoV-2, virus gripal A, virus gripal B, RSV B, virus paragripal tip 3, coronavirus OC43, metapneumovirus și adenovirus.

Intra-teste

Intra-teste a fost testat prin analizarea a șase replici ale tuturor probelor în aceeași rulare, utilizând VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. În tabelele de mai jos este prezentat un rezumat al rezultatelor.

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

Tabelul 35. Rezultatele intra-teste pentru VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = ciclul de prag. ($\bar{x}$) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, Neg = negativ, N/A = nu se aplică.

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

Tabelul 36. Rezultatele intra-teste pentru VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = ciclul de prag. ($\bar{x}$) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, Neg = negativ, N/A = nu se aplică.

Inter-teste

Inter-teste a fost testat prin analizarea a patru replici de diferite probe în trei zile diferite de către trei operatori diferiți, utilizând VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. În tabelele de mai jos este prezentat un rezumat al rezultatelor.

<i>Respiratory Virus Mix I reaction tube</i>					
Țintă	Probe	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV%
SARS-CoV-2	2xLoD	475/520 (FAM)	30,33	0,38	1,27
	5xLoD	475/520 (FAM)	28,93	0,28	0,97
	Control negativ	475/520 (FAM)	Neg	N/A	N/A
Virus gripal B	2xLoD	530/565 (HEX)	32,61	0,66	2,03
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,55	0,46	1,45
	Control negativ	530/565 (HEX)	Neg	N/A	N/A
Virus gripal A	2xLoD	585/630 (ROX)	32,94	0,99	2,99
	5xLoD	585/630 (ROX)	31,95	0,76	2,37
	Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
RSV	2xLoD	630/665 (CY5)	32,80	0,74	2,27
	5xLoD	630/665 (CY5)	31,67	0,53	1,68
	Control negativ	630/665 (CY5)	Neg	N/A	N/A
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,90	0,25	0,95
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,99	0,40	1,55
	Control negativ	680/715 (CY5.5)	25,84	0,31	1,21

Tabelul 37. Rezultatele inter-teste ale VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = ciclul de prag. ($\bar{x}$) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, Neg = negativ, N/A = nu se aplică.

<i>Respiratory Virus Mix II reaction tube</i>					
Țintă	Probe	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV%
Virus paragripal	2xLoD	475/520 (FAM)	31,86	0,71	2,22
	5xLoD	475/520 (FAM)	30,18	0,82	2,72
	Control negativ	475/520 (FAM)	Neg	N/A	N/A
Coronavirus	2xLoD	530/565 (HEX)	33,45	0,76	2,27
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,56	0,96	3,04
	Control negativ	530/565 (HEX)	Neg	N/A	N/A
Metapneumovirus	2xLoD	585/630 (ROX)	30,79	0,93	3,01
	5xLoD	585/630 (ROX)	29,68	0,88	2,97
	Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
Adenovirus	2xLoD	630/665 (CY5)	35,08	1,62	4,61
	5xLoD	630/665 (CY5)	33,20	0,77	2,33
	Control negativ	630/665 (CY5)	Neg	N/A	N/A

EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,49	0,31	1,21
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,65	0,33	1,30
	Control negativ	680/715 (CY5.5)	25,52	0,31	1,21

Tabelul 38. Rezultatele inter-teste ale VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = ciclul de prag. ($\bar{x}$) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, Neg = negativ, N/A = nu se aplică.

Între loturi

Valorile între loturi au fost determinate cu șase replici ale diferitelor probe utilizând trei loturi de VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. În tabelele de mai jos este prezentat un rezumat al rezultatelor.

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube					
Țintă	Probe	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV%
SARS-CoV-2	2xLoD	475/520 (FAM)	29,07	0,45	1,53
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,14	0,59	2,01
	Control negativ	475/520 (FAM)	Neg	N/A	N/A
Virus gripal B	2xLoD	530/565 (HEX)	32,58	0,64	1,95
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,01	1,03	3,31
	Control negativ	530/565 (HEX)	Neg	N/A	N/A
Virus gripal A	2xLoD	585/630 (ROX)	32,75	1,7	5,33
	5xLoD	585/630 (ROX)	31,61	1,14	3,62
	Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
RSV	2xLoD	630/665 (CY5)	31,72	1,90	5,99
	5xLoD	630/665 (CY5)	30,21	1,35	4,46
	Control negativ	630/665 (CY5)	Neg	N/A	N/A
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,40	0,31	1,23
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,61	0,53	2,06
	Control negativ	680/715 (CY5.5)	25,54	0,37	1,45

Tabelul 39. Rezultatele între loturi ale VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = ciclul de prag. ($\bar{x}$) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, Neg = negativ, N/A = nu se aplică.

<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube					
Țintă	Probe	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV%
Virus paragripal	2xLoD	475/520 (FAM)	31,45	1,20	3,82
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,53	0,59	1,99
	Control negativ	475/520 (FAM)	Neg	N/A	N/A
Coronavirus	2xLoD	530/565 (HEX)	32,35	0,71	2,20
	5xLoD	530/565 (HEX)	30,18	1,33	4,39
	Control negativ	530/565 (HEX)	Neg	N/A	N/A

Metapneumovirus	2xLoD	585/630 (ROX)	31,66	1,00	3,16
	5xLoD	585/630 (ROX)	29,16	1,25	4,29
	Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
Adenovirus	2xLoD	630/665 (CY5)	33,23	0,70	2,12
	5xLoD	630/665 (CY5)	32,83	1,06	3,23
	Control negativ	630/665 (CY5)	Neg	N/A	N/A
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	24,82	0,43	1,73
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,57	0,42	1,64
	Control negativ	680/715 (CY5.5)	25,03	0,36	1,43

Tabelul 40. Rezultatele între loturi ale VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = ciclul de prag. ($\bar{x}$) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, Neg = negativ, N/A = nu se aplică.

Între termociclatoarele

Valorile între termociclatoarele au fost determinate cu șase replici ale aceluiași probe utilizate pentru intra-test, inter-test și între loturi, utilizând VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Aceste teste au fost rulate la două centre de laborator cu două sisteme BD MAX™ System diferite. În tabelele de mai jos este prezentat un rezumat al rezultatelor.

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

Tabelul 41. Rezultatele între termociclatoarele ale VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = ciclul de prag. ($\bar{x}$) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, Neg = negativ, N/A = nu se aplică.

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

Tabelul 42. Rezultatele între termociclatoare ale VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = ciclul de prag. ($\bar{x}$) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, Neg = negativ, N/A = nu se aplică.

În concluzie, studiul de precizie a confirmat performanțele fiabile și consistența VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

12.5. Transfer

Robustețea (parametrul de transfer) a fost analizată în conformitate cu specificațiile generale pentru anumite dispozitive IVD din clasa D în conformitate cu Regulamentul (UE) 2017/746; în special, Anexa XIII, care stabilește specificațiile comune pentru dispozitivele destinate detectării sau cuantificării markerilor infecției cu virusul SARS-CoV-2. Aceste recomandări s-au aplicat doar țintei virusului SARS-CoV-2, restul țintelor din *Respiratory Virus Mix I* reaction tube nu au fost analizate în acest test. Cu toate acestea, virusul paragripal tip 3 a fost, de asemenea, analizat ca țintă a *Respiratory Virus Mix II* reaction tube pentru a efectua testul cu ambele Master Mixes.

Rata de contaminare prin transfer a fost determinată prin testarea a 60 de replici de specimene de tampon nazofaringian negativ și a 60 de replici de RNA de SARS-CoV-2 pozitiv cu un titru înalt de RNA de SARS-CoV-2 viral (First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA (cod NIBSC: 20/146), la 1E+02 UI/ml) și a unui RNA de virus paragripal uman tip 3 pozitiv cu un titru înalt de RNA de HPIV 3 viral (virus paragripal uman 3 (cod ATCC: VR-93™), la 1E+05 TCID50/ml). În total, au fost efectuate cinci rulări de probe pozitive și negative utilizând o metodă de testare bazată pe o schemă de tip tablă de șah, care permite ca probele să fie așezate alternativ.

Pentru *Respiratory Virus Mix I* reaction tube, 60 din 60 de probe pozitive au fost detectate corect, iar 59 din 60 de probe negative au dat un rezultat negativ, obținând o rată de concordanță de 98,33 %. Pentru *Respiratory Virus Mix II* reaction tube, toate probele pozitive au fost detectate corect, iar toate probele negative au dat un rezultat negativ. Conform rezultatelor ambelor tuburi de reacție, rata de contaminare încrucișată a fost aproape de 0 %.

12.6. Rata de eșec a întregului sistem

Robustețea (parametrul de rată de eșec a întregului sistem) a fost analizată în conformitate cu indicațiile specificațiilor generale pentru dispozitivele destinate detectării sau cuantificării markerilor infecției cu virusul SARS-CoV-2. Aceste recomandări s-au aplicat doar țintei virusului SARS-CoV-2, restul țintelor nu au fost analizate în acest test.

Pentru a demonstra că specițiile cu RNA de SARS-CoV-2 slab-pozitive sunt detectate de VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, 119 speciții de tampon nazofaringian negativ, îmbogățite cu First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA (cod NIBSC: 20/146) la o concentrație de virus echivalentă cu LoD triplu (3 x LoD) au fost testate cu testul VIASURE.

Rezultatele studiului indică faptul că toate replicile au fost reactive pentru ținta de RNA de SARS-CoV-2, corespunzând unei rate de concordanță de 100 %. În concluzie, rata de eșec la nivel de sistem este de 0 %.

12.7. Specificitate analitică și reactivitate

Specificitatea analitică și reactivitatea analitică au fost evaluate pentru VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System *in silico* și experimental, utilizând diferite materiale de pornire, cum ar fi tulpini de referință certificate, acizi RNA/DNA de referință certificați și materiale din programele EQA.

12.7.1. Specificitate analitică

Specificitatea analitică este capacitatea testului de a detecta ținta dorită. Există două componente care trebuie luate în considerare pentru specificitatea analitică: Reactivitate încrucișată și interferență. Reactivitatea încrucișată poate apărea atunci când sunt prezente secvențe înrudite genetic într-un specimen de la un pacient, în timp ce interferența poate apărea dacă prezența unor substanțe specifice potențial prezente în matricele de probă afectează performanța RT-qPCR.

Reactivitate încrucișată: analiză *in silico*

Reactivitatea încrucișată a fost evaluată prin utilizarea secvențelor de referință ale patogenilor din NCBI Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) și un software intern de analiză bioinformatică. S-au efectuat analize BLAST pentru fiecare primer și sondă în baza de date de nucleotide NCBI Genbank Nucleotide Database și o analiză bioinformatică internă.

Se consideră puțin probabil ca secvențele aliniate cu un procent de aliniere mai mic de 80 % de omologie să fie detectate. Rezultatele obținute au demonstrat că **toate secvențele analizate au fost sub 80 % de omologie cu seturile de primeri și sonde de SARS-CoV-2, virus gripal A, virus gripal B și RSV (tipurile A și B) incluse în *Respiratory Virus Mix I* reaction tube; seturile de primeri și sonde de virus paragripal (tipurile 1, 2, 3 și 4), coronavirus uman (229E, NL63 și HKU1), metapneumovirus și adenovirus incluse în *Respiratory Virus Mix II* reaction tube.**

În cazul coronavirusului OC43, s-au obținut următoarele rezultate:

Coronavirus OC43

Analiza BLAST filtrată în funcție de coronavirus OC43 (excluzând ID-ul de taxonomie OC43: 31631) arată o omologie înaltă între primerii și sondele și betacoronavirus 1 de la tulpinile de bovine, bivoli, antilopă sudafricane, girafă, cămilă, canine, cabaline, porcine, iepure, antilopă samur, cerb unicolor, tapir, antilopă de apă, vaca africană, cerb cu coadă albă, iac. Cu toate acestea, aceste virusuri nu au fost identificate la om și nu sunt considerate virusuri zoonotice deocamdată, astfel încât nu interferează în detectarea coronavirusului OC43.

Prin urmare, niciuna dintre secvențele analizate, inclusiv cele care prezintă o omologie mai mare de 80 %, nu poate afecta detectarea corectă a coronavirusului OC43.

În concluzie, modelele de ținte de virus SARS-CoV-2, virus gripal A, virus gripal B, RSV (tipurile A și B), virus paragripal (tipurile 1, 2, 3 și 4), coronavirus uman (229E, NL63, HKU1 și OC43), metapneumovirus și adenovirus ale VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System nu ar trebui să provoace rezultate fals pozitive în detectarea acestor microorganisme atunci când sunt prezente alte organisme.

Specificități analitice: testare experimentală

Reactivitate încrucișată. testare experimentală

Reactivitatea încrucișată a VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System a fost confirmată prin testarea unui panel de diferite microorganisme asociate cu infecțiile respiratorii îmbogățite în tampon nazofaringian colectat cu BD™ Universal Viral Transport System. Atunci când a fost posibil și când au fost disponibile date privind concentrația, virusurile și bacteriile de interferență au fost evaluate la niveluri relevante din punct de vedere medical (de obicei 1E+05 – 1E+06 UFC (unități formatoare de colonii)/ml pentru bacterii și 1E+04 – 1E+05 UFP (unități formatoare de placă)/ml pentru virusuri). Nu a fost detectată nicio reactivitate încrucișată între oricare dintre următoarele microorganisme testate, cu excepția microorganismelor țintă.

Testarea reactivității încrucișate					
Adenovirus Tip 15 (specia D), tulpina 35 [955, CH.38]	+/-	Influenza A virus A/Cambodia/e0826360/2020 (H3N2)	+/-	SARS-CoV-2	+/-
Adenovirus Tip 2, specia C	+/-	Influenza A Virus A/Hawaii/31/2007 (H1N1)	+/-	SARS-CoV-2	+/-
Adenovirus tip 3, specia B	+/-	Influenza A Virus A/Mexico/4108/2009 (H1N1)pdm09	+/-	SARS-CoV-2 B.1.1.7_601443, variantă UK	+/-
Adenovirus Tip 31 (specia A), tulpina 1315/63	+/-	Influenza A Virus A/New York/18/2009 (H1N1)pdm09	+/-	SARS-CoV-2 B.1.1.7_710528, variantă UK	+/-
Adenovirus tip 37	+/-	Influenza A Virus A/Qatar/1123/2007 (H1N1)	+/-	SARS-CoV-2 B.1.351	+/-
Adenovirus tip 4, specia E	+/-	Influenza A Virus A/South Dakota/6/2007 (H1N1)	+/-	SARS-CoV-2 Coronavirus 2, tulpina 2019-nCoV/USA-WA1/2020	+/-
Adenovirus tip 40, tulpina Dugan	+/-	Influenza A Virus A/South Dakota/6/2007 X-173 (H1N1)	+/-	SARS-CoV-2, varianta Delta B.1.617.2	+/-
Adenovirus tip 41 (specia F), tulpina Tak	+/-	Influenza A Virus A/Taiwan/760/2007 (H3N2)	+/-	SARS-CoV-2, varianta Omicron, sub-linia BA.2	+/-
Adenovirus tip 5, specia C	+/-	Influenza A Virus A/Texas/71/2007 (H3N2)	+/-	SARS-CoV-2, varianta Omicron, sub-linia BA.2	+/-
Adenovirus tip 6 (specia C), tulpina Tonsil 99	+/-	Influenza B Virus B/Bangladesh/3333/2007 (Yamagata Lineage)	+/-	SARS-CoV-2, varianta Omicron, sub-linia BA.2	+/-
Adenovirus tip 7A, specia B	+/-	Influenza B Virus B/Brisbane/3/2007 (Yamagata Lineage)	+/-	SARS-CoV-2, varianta Omicron, sub-linia BA.2.75	+/-
Adenovirus Human Adenovirus DNA Type 2	+/-	Influenza B Virus B/Pennsylvania/5/2007 (Victoria Lineage)	+/-	SARS-CoV-2, varianta Omicron, sub-linia BA.2.75	+/-
<i>Bordetella holmesii</i>	-	Influenza B Virus B/Pennsylvania/7/2007 (Yamagata Lineage)	+/-	SARS-CoV-2, varianta Omicron, sub-linia BA.4	+/-
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	Influenza B Virus B/Santiago/4364/2007 (Yamagata Lineage)	+/-	SARS-CoV-2, varianta Omicron, sub-linia BA.4	+/-
<i>Bordetella pertussis</i>	-	Influenza B Virus B/Victoria/304/2006 (Victoria Lineage)	+/-	SARS-CoV-2, varianta Omicron, sub-linia BA.4	+/-
<i>Bordetella pertussis</i> tip tulpina	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>Pneumoniae</i> tulpina PCI 602	-	SARS-CoV-2, varianta Omicron, sub-linia BA.5	+/-
<i>Candida albicans</i>	-	<i>Legionella pneumophila</i> Sg1 (ST47)	-	SARS-CoV-2, varianta Omicron, sub-linia BA.5	+/-
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> tulpina CM-1	-	<i>Legionella pneumophila</i> Sg1 (ST62)	-	SARS-CoV-2, varianta Omicron, sub-linia BA.5	+/-
Coronavirus HKU	+/-	<i>Legionella pneumophila</i> subsp. <i>Pneumophila</i> tulpina Philadelphia-1	-	SARS-CoV-2, varianta Omicron, sub-linia BA.5	+/-
Coronavirus tulpina NL63	+/-	MERS-CoV tulpina Florida/USA-2_Saudi Arabia_2014	-	SARS-CoV-2, varianta Omicron, sub-linia BQ.1	+/-
Enterovirus D58 US/MO/14-18949	-	<i>Moraxella catarrhalis</i> tulpina 59632	-	SARS-CoV-2, varianta Omicron, sub-linia BQ.1	+/-

Testarea reactivității încrucișate					
Haemophilus influenzae	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-	SARS-CoV-2, varianta Omicron, sub-linia BQ1.1	+/-
Haemophilus influenzae	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> tulpina PI 1428	-	SARS-CoV-2, varianta Omicron, sub-linia BQ1.1	+/-
Haemophilus influenzae tulpina L-378	-	Parainfluenza virus tip 2	+/-	SARS-CoV-2, varianta Omicron, sub-linia XBB	+/-
Human rinovirus 17 tulpina 33342	-	Parainfluenza virus tip 3	- +/-	SARS-CoV-2, varianta Omicron, sub-linia XBB	+/-
Influenza A Virus A/Brisbane/10/2007 (H3N2)	+/-	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	-	SARS-CoV-2 SARS-CoV-2 izolat Australia/VIC01/2020	+/-
Influenza A Virus A/Brisbane/10/2007 IVR-147 (H3N2)	+/-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> tulpina RH 815	-	SARS-CoV-2 SARS-CoV-2 izolat Wuhan-Hu-1	+/-
Influenza A Virus A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	+/-	RSV A 2000/3-4	+/-	SARS-CoV-2	+/-
Influenza A Virus A/Brisbane/59/2007 IVR-148 (H1N1)	+/-	RSV, tulpina A-2	+/-	<i>Staphylococcus epidermis</i> , tulpina PCI 1200	-
Influenza A Virus A/California/07/2009 (H1N1)pdm09	+/-	RSV tip B	+/-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Influenza A Virus A/California/07/2009 NYMC X-179A (H1N1)pdm09	+/-	SARS-CoV-1, tulpina Frankfurt 1	+/-	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , tulpina [CIP 104225]	-
Influenza A Virus A/Cambodia/0371/2007 (H1N1)	+/-				

Tabelul 43. Microorganisme patogene de referință incluse în testul de reactivitate încrucișată. Rezultatul +/- se referă la rezultatul pozitiv sau negativ obținut în diferitele canale, în funcție de ținta detectată. În cazul în care un microorganism testat este una dintre țintele detectate de dispozitiv, se obține un rezultat pozitiv în canalul corespunzător, dar se obțin rezultate negative în celelalte canale.

În concluzie, rezultatele testelor de reactivitate încrucișată indică o specificitate înaltă a VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pentru detectarea microorganismelor țintă, reducând astfel riscul de rezultate fals pozitive. Deoarece nu au fost observate amplificări nespecifice cu alte microorganisme înrudite, aceasta sugerează că dispozitivul este capabil să distingă cu acuratețe țintele.

Studiu de coinfectie

A fost efectuat un studiu de coinfectie utilizând tulpinile de referință detaliate în Tabelul 28 pentru țintele reprezentative selectate pentru fiecare canal de fluorescență: SARS-CoV-2, virusul gripal A, virusul gripal B, RSV B, virusul paragripal tip 3, coronavirusul OC43, metapneumovirusul și adenovirusul; la diferite concentrații, pentru a confirma că prezența oricăruia dintre ele, independent de concentrație, nu alterează detectarea între ele. Au fost analizate nouă probe nazofaringiene îmbogățite cu materialul de referință, o țintă la concentrație scăzută (3 x LoD) și celelalte ținte la o concentrație foarte mare, de obicei 1E+04 – 1E+05 unități/ml, dacă este posibil.

Rezultatele confirmă faptul că detectarea microorganismelor țintă nu este alterată atunci când sunt analizate cu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System în coinfecție la diferite concentrații.

Studiu al agenților microbieni interferenți

A fost efectuat un studiu al agenților microbieni interferenți pentru a analiza potențialii agenți microbieni interferenți pentru VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. A fost testat un panel de diferite microorganisme asociate bolilor respiratorii în prezența virusului SARS-CoV-2, virusurilor gripale A și B, RSV B, virusului paragripal tip 3, coronavirusului OC43, metapneumovirusului și adenovirusului (tulpinile de referință detaliate în Tabelul 28) la 3 x LoD. Atunci când a fost posibil și când au fost disponibile date privind concentrația, virusurile și bacteriile de interferență au fost evaluate la niveluri relevante din punct de vedere medical (de obicei 1E+05 – 1E+06 UFC (unități formatoare de colonii)/ml pentru bacterii și 1E+04 – 1E+05 UFP (unități formatoare de placă)/ml pentru virusuri). Fiecare analiză de punct a fost efectuată de două ori pentru fiecare probă.

Controlul pozitiv al matricei (Positive Matrix Control, PMC) și controlul negativ al matricei (Negative Matrix Control, NMC) sunt incluse ca controale ale testului. PMC corespunde matricei negative nazofaringiene îmbogățită cu tulpini țintă specifice fără niciun agent microbian interferent, în timp ce NMC corespunde matricei nazofaringiene negative fără niciun agent microbian interferent.

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube și <i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube		
Nume microorganism	Concentrația testată	Rezultat
PMC	N/A	N.I
NMC	N/A	N.I
Rinovirus uman 17	1,60E+04 TCID50/ml	N.I
Enterovirus D58	4,00E+04 TCID50/μl	N.I
MERS-CoV	3,55E+03 TCID50/ml	N.I
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	3,16E+04 TCID50/ml	N.I
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,80E+03 UFC/μl	N.I
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+05 UFC/ml	N.I
<i>Candida albicans</i>	4,18E+06 UFC/ml	N.I
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3,60E+06 UFC/ml	N.I
SARS-CoV 1	5,20E+02 cop/ml	N.I
<i>Bordetella pertussis</i>	1,20E+05 UFC/ml	N.I
<i>Bordetella holmesii</i>	4,10E+04 UFC/ml	N.I
<i>Bordetella parapertussis</i>	1,20E+05 UFC/ml	N.I
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3,65E+04 UFC/μl	N.I
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,00E+06 UFC/ml	N.I
<i>Legionella pneumophila subsp. pneumophila</i>	5,60E+04 UFC/μl	N.I

<i>Haemophilus influenzae</i>	5,20E+03 UFC/μl	N.I
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,90E+06 UFC/ml	N.I
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	1,00E+03 cop/ml	N.I

Tabelul 44. Testul agenților microbieni interferenți. N.I. = Fără interferență.

În concluzie, nu a fost observată nicio interferență în detectarea acidului nucleic țintă cu niciunul dintre microorganismele testate.

Studiul substanțelor interferente

A fost efectuat un studiu al substanțelor de interferență pentru a testa potențialul efect de interferență al substanțelor endogene și exogene asupra VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Un total de douăzeci de substanțe potențial interferente au fost adăugate la matricea nazofaringiană negativă îmbogățită cu tulpinile de referință detaliate în Tabelul 28 pentru virusul SARS-CoV-2, virusul gripal A, virusul gripal B, RSV B, virusul paragripal tip 3, coronavirus OC43, metapneumovirus și adenovirus și evaluate cu șase replici.

Controlul pozitiv al matricei (Positive Matrix Control, PMC) și controlul negativ al matricei (Negative Matrix Control, NMC) sunt incluse ca controale ale testului. PMC corespunde matricei negative nazofaringiene îmbogățită cu tulpini țintă specifice fără substanță interferentă, în timp ce NMC corespunde matricei nazofaringiene negative fără substanță interferentă și fără microorganisme/material de referință adăugate. S-au obținut următoarele rezultate:

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube și <i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube		
Denumire substanță	Concentrația testată	Rezultat
PMC	N/A	N.I.
NMC	N/A	N.I.
Oseltamivir	3,99E-04 mg/ml	N.I.
Zanamivir	3,30 mg/ml	N.I.
Azitromicină	1,10E-02 mg/ml	N.I.
Mupirocin	1,50E-03 mg/ml	N.I.
Tobramicină	3,30E-02 mg/ml	N.I.
Albumină	1,00E-01 mg/ml	N.I.
DNA genomic	3,50E-03 mg/ml	N.I.
Mucus uman	1,00 % (v/v)	N.I.
Mucină	2,50E+00 mg/ml	N.I.
Trigliceride	1,50E+01 mg/ml	N.I.
Sânge integral	1,00 % (v/v)	N.I.
Carbocisteină	5,00E+00 mg/ml	N.I.
N-acetilcisteină	1,50E-01 mg/ml	N.I.
Fenilefrină	3,00E-05 mg/ml	N.I.
Fluticazonă	1,26E-06 mg/ml	I
	3,15E-07 mg/ml	N.I.
Galphimia glauca, luffa operculata	1,25E+01 mg/ml	N.I.
Clorhidrat de oximetazolină	1,00E-01 mg/ml	N.I.

Clorură de sodiu	9,00E-01 mg/ml	N.I.
Nicotină	3,00E-02 mg/ml	I
	7,50E-04 mg/ml	N.I.
Benzocaină	3,00E+00 mg/ml	N.I.

Tabelul 45. Substanțe cu potențial de interferență. N.I: Nicio interferență raportabilă, I: Interferențe

Diferite substanțe cu potențial de interferență, atât endogene, cât și exogene, au fost testate pe VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. S-a observat interferență atunci când s-au testat fluticazona (1,26E-06 mg/ml) și nicotina (3,00E-02 mg/ml) în ambele *Respiratory Virus Mix I* reaction tube și *Respiratory Virus Mix II* reaction tube și s-a efectuat o diluție 1/4 pentru a evalua că acest efect de interferență nu este observat la concentrații mai mici. Rezultatele obținute conduc la concluzia că, la concentrațiile finale testate, nu se observă nicio interferență a vreunei substanțe evaluate la concentrația testată.

12.7.2. Reactivitate analitică

Reactivitatea analitică poate fi definită ca procentul de tulpini microbiene țintă sau de probe de DNA/RNA care dau rezultatul pozitiv corect. Reactivitatea analitică a fost studiată *in silico* și prin analize experimentale.

Reactivitate analitică: analiză *in silico*

Reactivitatea analitică a VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System a fost evaluată utilizând baze de date de secvențe de nucleotide disponibile public, precum NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), Global Initiative on Sharing All SARS-CoV-2 Data (baza de date GISAID EpiCoV (<https://www.gisaid.org/>)), Global Initiative on Sharing All Influenza Data (baza de date GISAID EpiFlu (<https://www.gisaid.org/>)), Global Initiative on Sharing All RSV Data (baza de date GISAID EpiRSV (<https://www.gisaid.org/>)) și un software intern de analiză bioinformatică, pentru a demonstra că genele țintă pot fi detectate corect de către dispozitivul aflat în studiu. Analiza *in silico* a designului primerilor și al sondei a fost efectuată prin alinierea la secvențele disponibile în colecția de nucleotide din baza de date (nr/nt). Rezultatele obținute după analiza secvențelor incluse sunt prezentate în tabelul de mai jos:

Microorganism	Genă	% de secvențe detectate experimental fără nepotriviri	% de secvențe detectate experimental cu nepotriviri	Numărul de secvențe aliniate
SARS-CoV-2	Genă <i>N</i> , regiune N1 și regiune N2	98,08 %	-	22.404
Virus gripal A	Genele <i>HA + M1</i>	0,88 %	32,92 %	99.326
Virus gripal B	Genă <i>M1</i>	21,63 %	70,58 %	24.369
RSV A	Genă <i>N</i>	2,32 %	80,83 %	4.002
RSV B	Genă <i>N</i>	2,61 %	80,11 %	4.172
Virus paragripal 1 Virus paragripal 2 Virus paragripal 3 Virus paragripal 4	Genă <i>HN</i> Genă <i>HN</i> Genă <i>HN</i> Genă <i>F</i>	19,23 %	-	1451

Coronavirus OC43	Genă <i>N</i>	76,32 %	-	380
Coronavirus 229E	Genă <i>N</i>	0,00 %*	-	266
Coronavirus NL63	Genă <i>N</i>	48,12 %	-	293
Coronavirus HKU1	Genă <i>N</i>	46,51 %	-	215
Metapneumovirus	Genă <i>F</i>	93,7 %	-	2.144
Adenovirus A	Genă <i>hexon</i>	98,7 %	-	154
Adenovirus B	Genă <i>hexon</i>	98,75 %	-	718
Adenovirus C	Genă <i>hexon</i>	96,17 %	-	392
Adenovirus D	Genă <i>hexon</i>	97,74 %	-	310
Adenovirus E	Genă <i>hexon</i>	89,53 %	-	172
Adenovirus F	Genă <i>hexon</i>	96,40 %	-	250
Adenovirus G	Genă <i>hexon</i>	90,48%	-	21

Tabelul 46. Test de reactivitate analitică *in silico*.

*Majoritatea secvențelor de coronavirus 229E din NCBI GenBank incluse în analiza *in silico* au 1 sau 2 neconcordanțe care nu afectează detectarea corectă a țintei. În plus, DNA-ul sintetic al coronavirus 229E utilizat în timpul validării analitice a produsului prezintă o omologie de 100 % cu setul de primeri și sonde, demonstrând astfel experimental detectarea corectă a acestuia.

În concluzie, analiza de inclusivitate a arătat o detectare corectă de virus SARS-CoV-2, virus gripal A, virus gripal B, RSV (tipurile A și B), virus paragripal (tipurile 1, 2, 3 și 4), coronavirus (NL63, 229E, HKU1 și OC43), metapneumovirus și adenovirus cu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Reactivitate analitică: testare experimentală

Reactivitatea analitică a VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pentru SARS-CoV-2 a fost evaluată în raport cu RNA în tampon nazofaringian îmbogățit cu următoarele tulpini colectate cu BD™ Universal Viral Transport System, prezentând rezultate pozitive:

SARS-Related Coronavirus 2, izolat 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, izolat Australia/VIC01/2020 (Twist Bioscience 102019), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 2 (MN908947.3): SARS-CoV-2, izolat Wuhan-Hu-1 (Twist Bioscience 102024), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 14 (B.1.1.7_710528), varianta UK (Twist Bioscience 103907), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 15 (B.1.1.7_601443), varianta UK (Twist Bioscience 103909), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 16 (EPI_ISL_678597), varianta Africa de Sud (Twist Bioscience 104043), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 17 (EPI_ISL_792683), varianta Japonia/Brazilia (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, varianta Omicron, sub-linia BA.5 (SCV2_23C1A-01), SARS-CoV-2 varianta Omicron, sub-linia BA.2

(SCV2_23C1A-02), SARS-CoV-2 varianta Omicron, sub-linia BA.5 (SCV2_23C1A-03), SARS-CoV-2 varianta Omicron, sub-linia BA.4 (SCV2_23C1A-05), SARS-CoV-2 varianta Omicron, sub-linia BA.4 (SCV2_23C1B-01), SARS-CoV-2 varianta Omicron, sub-linia BA.5 (SCV2_23C1B-03), SARS-CoV-2 varianta Omicron, sub-linia BA.4 (SCV2_23C1B-04), SARS-CoV-2 varianta Omicron, sub-linia BA.2 (SCV2_23C1B-05), SARS-CoV-2 varianta Delta B.1.617.2 (SCV2_24C1B-01), SARS-CoV-2 varianta Omicron, sub-linia BA.2.75 (SCV2_23C1C-01), SARS-CoV-2 varianta Omicron, sub-linia BQ.1 (SCV2_23C1C-02), SARS-CoV-2 varianta Omicron, sub-linia BQ1.1 (SCV2_23C1C-03), SARS-CoV-2 varianta Omicron, sub-linia XBB (SCV2_23C1C-04), SARS-CoV-2 varianta Omicron, sub-linia BA.2 (SCV2_23C1C-05), SARS-CoV-2 varianta Omicron, sub-linia XBB (SCV2_23C1D-01), SARS-CoV-2 varianta Omicron, sub-linia BQ1.1 (SCV2_23C1D-02), SARS-CoV-2 varianta Omicron, sub-linia BA.2.75 (SCV2_23C1D-03), SARS-CoV-2 varianta Omicron, sub-linia BQ.1 (SCV2_23C1D-04) și SARS-CoV-2 varianta Omicron, sub-linia BA.5 (SCV2_23C1D-05).

Reactivitatea analitică a VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pentru virusul gripal A a fost evaluată în raport cu RNA de la următoarele tulpini, prezentând rezultate pozitive:

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

Reactivitatea analitică a VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pentru virusul gripal B a fost evaluată în raport cu RNA de la următoarele tulpini, prezentând rezultate pozitive:

Influenza B Virus, B/Pennsylvania/7/2007 (linia Yamagata) (FR-16), Influenza B Virus, B/Santiago/4364/2007 (linia Yamagata) (FR-17), Influenza B Virus, B/Brisbane/3/2007 (linia Yamagata) (FR-18), Influenza B Virus, B/Pennsylvania/5/2007 (linia Victoria) (FR-19), Influenza B Virus, B/Victoria/304/2006 (linia Victoria) (FR-20), Influenza B Virus, B/Bangladesh/3333/2007 (linia Yamagata) (FR-183), AMPLIRUN TOTAL SARS-CoV-2-FluA-FluB-RSV CONTROL (MBTC031-R), Influenza B/Austria/1359417/2021 și/sau Influenza

B/Phuket/3073/2013 (Vaccine Fluarix Tetra 2022/2023), Influenza B/Austria/1359417/2021 și/sau Influenza B/Phuket/3073/2013 (Vaccine Fluarix Tetra 2023/2024).

Reactivitatea analitică a VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pentru RSV a fost evaluată în raport cu RNA de la virusul sincițial respirator uman A (tulpina A-2) (FR-294), virusul sincițial respirator uman, A 2000/3-4 (NR-28530), AMPLIRUN TOTAL SARS-CoV-2-FluA-FluB-RSV CONTROL (MBTC031-R) și virusul sincițial respirator uman, B (INSTAND 359043), prezentând rezultate pozitive.

Reactivitatea analitică a VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pentru virusul paragripal a fost evaluată în raport cu RNA de la virusul paragripal serotip 1 (NIBSC 08/176), virusul paragripal serotip 2 (NIBSC 08/178), virusul paragripal serotip 4 (NIBSC 08/180), virusul paragripal 2 (PINFRNA101S-06) și virusul paragripal 3 (PINFRNA22S-02), prezentând rezultate pozitive.

Reactivitatea analitică a VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pentru coronavirus a fost evaluată în raport cu RNA pentru Quantitative Synthetic Human coronavirus tulpina NL63 RNA (VR-3263SD) și coronavirus HKU (CVRNA22S-04), prezentând rezultate pozitive.

Reactivitatea analitică a VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pentru metapneumovirus a fost evaluată în raport cu RNA pentru AMPLIRUN® METAPNEUMOVIRUS RNA CONTROL (MBC144-R), Human metapneumovirus (NIBSC 08/320) și Quantitative Synthetic Human metapneumovirus hMPV RNA (VR-3250SD), prezentând rezultate pozitive.

Reactivitatea analitică a VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pentru adenovirus a fost evaluată în raport cu DNA de la următoarele tulpini, prezentând rezultate pozitive:

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

12.8. Trasabilitate metrologică

Acest test nu este conceput pentru măsurători.

13. Caracteristici de performanță clinică

Performanța clinică a VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System a fost testată utilizând tampon nazofaringian recoltat de personalul medical folosind un tampon flexibil din nailon steril și plasat în tubul steril care conține 3 ml de Universal Transport Media® (UTM®) (Copan). Rezultatele au fost următoarele:

	Centru	Tipul de probă	Flux de lucru	Țintă
1	Hospital Universitario Miguel Servet (Zaragoza, Spain)	Tampoane nazofaringiene (Studiu retrospectiv)	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	SARS-CoV-2
				Virus gripal A
				Virus gripal B
				RSV (tipurile A și B)
				Virus paragripal (tipurile 1, 2, 3 și 4)
				Coronavirus (OC43, NL63, 229 și HKU1)
				Metapneumovirus
				Adenovirus

Tabelul 47. Centrul, tipul de probă, fluxul de lucru și țintă.

Valorile adevărat pozitive și negative, valorile fals pozitive și negative, sensibilitatea, specificitatea, valorile predictiv pozitive (PPV), valorile predictiv negative (NPV) și raportul de probabilitate (LR) pentru VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System au fost calculate în raport cu fiecare test comparativ așa cum se arată în tabelul de mai jos:

Centru	Test comparativ	Țintă	TP	TN	FP	FN	Sensibilitate	Specificitate	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)
		Virus gripal A	143	699	4	10	0,94 (0,88-0,97)	0,99 (0,98-0,99)	0,97 (0,93-0,99)	0,99 (0,97-0,99)	164,3 (61,8-436,8)	0,066 (0,04-0,12)
		Virus gripal B	29	826	0	1	0,97 (0,83-0,99)	1 (0,99-1)	1 (0,88-1)	0,99 (0,99-1)	1574 (98,4-25172)	0,048 (0,01-0,23)
	Allplex™ RV Essential Assay (Seegene)	Virus gripal A	143	699	4	10	0,94 (0,88-0,97)	0,99 (0,98-0,99)	0,97 (0,93-0,99)	0,99 (0,97-0,99)	164,3 (61,8-436,8)	0,066 (0,04-0,12)
		Virus gripal B	29	826	0	1	0,97 (0,83-0,99)	1 (0,99-1)	1 (0,88-1)	0,99 (0,99-1)	1574 (98,4-25172)	0,048 (0,01-0,23)
		RSV (tipurile A și B)	60	787	6	3	0,95 (0,87-0,99)	0,99 (0,98-0,99)	0,91 (0,82-0,96)	0,99 (0,98-0,99)	125,9 (56,61-279,9)	0,048 (0,01-0,15)
		Virus paragripal (tipurile 1, 2, 3 și 4)	74	765	9	8	0,90 (0,82-0,96)	0,99 (0,98-0,99)	0,90 (0,82-0,95)	0,99 (0,98-0,99)	77,61 (40,38-149,2)	0,099 (0,05-0,19)

		Metapneumo virus	73	778	1	4	0,95 (0,87-0,99)	0,99 (0,99-1)	0,99 (0,93-0,99)	0,99 (0,98-0,99)	738,5 (104,1-5240)	0,052 (0,02-0,14)
		Adenovirus	64	786	5	1	0,99 (0,92-1)	0,99 (0,98-0,99)	0,93 (0,84-0,97)	0,99 (0,99-1)	155,8 (65-373,4)	0,015 (0,002-0,11)
	Allplex™ Respiratory Panel 3 (Seegene) + secvențiere	Coronavirus (OC43, NL63, 229 și 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)

Tabelul 48. Valorile adevărat pozitive (TP) și adevărat negative (TN), valorile fals pozitive (FP) și fals negative (FN), sensibilitatea, specificitatea, valorile predictiv pozitive (PPV), valorile predictiv negative (NPV) și raportul de probabilitate (LR) pentru VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

În concluzie, rezultatele arată un grad înalt de acord pentru detectarea de virus SARS-CoV-2, virus gripal A, virus gripal B, RSV (tipurile A și B), virus paragripal (tipurile 1, 2, 3 și 4), coronavirus (OC43, NL63, 229E și HKU1), metapneumovirus și adenovirus utilizând VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Bibliografie

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Simboluri pentru componentele și reactivii IVD

 Dispozitiv medical pentru diagnostic <i>in vitro</i>	 A se păstra la loc uscat	 Data de expirare	 Producător	 Cod lot
 Consultați instrucțiunile de utilizare	 Limite de temperatură	 Conținut suficient pentru <n> teste	 Identificator unic al dispozitivului	 Număr de catalog
 Marcaj CE	 Păstrați departe de lumina soarelui			

Mărci comerciale

BD MAX™ este o marcă comercială înregistrată a Becton, Dickinson and Company.

Drepturile de modificare rezervate. Toate drepturile rezervate. © Certest Biotec, S.L.

Toate celelalte mărci comerciale care apar pe acest prospect sunt proprietatea respectivilor deținători.



Certest Biotec, S.L.

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

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

Informații despre sponsorul din Australia

Becton Dickinson Pty Ltd., 66 Waterloo Road.
Macquarie Park NSW 2113, Australia

Informații despre sponsorul din Noua Zeelandă

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

Controlul modificărilor		
Versiunea nr.	Modificări	Data
00	Versiunea originală Această versiune este o traducere a documentului original în limba engleză: IUo-444221en0825.00.	01.8.2025

Tabelul A2. Tabel de control al modificărilor.

Revizie: 1 august 2025

VIASURE

by **certest**



Certest Biotec, S.L.

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



(+34) 976 520 354



viasure@certest.es



www.certest.es

certest

F-566 rev.03

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