

Real Time PCR Detection Kit

Respiratory Virus Extended Mix for BD MAX™ System

Instrukcja obsługi

Niniejsza instrukcja użytkowania ma zastosowanie do następujących referencji:

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

Tabela A 1. Numer referencyjny produktu, który należy stosować razem z systemem BD MAX™ System.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Jeżeli żądana wersja językowa nie znajduje się na liście, należy przejść na stronę **certest.es/viasure/labeling**. Jeżeli żądana wersja językowa nie znajduje się na stronie internetowej, należy napisać na adres: viasure@certest.es.

Uwaga: Użytkownik powinien powiadomić producenta oraz kompetentny organ Państwa Członkowskiego, na terenie którego ma siedzibę użytkownik i/lub pacjent, o wszelkich poważnych incydentach powiązanych z tym produktem.

Spis treści

1.	Przewidziane zastosowanie	6
2.	Podsumowanie i objaśnienia	6
3.	Zasada działania procedury	9
4.	Dostarczane odczynniki	10
5.	Odczynniki i sprzęt, które powinien zapewnić użytkownik	11
6.	Warunki transportu, przechowywania i użytkowania	11
7.	Środki ostrożności dla użytkowników	12
8.	Procedura testowa	14
8.1.	Pobieranie, transport i przechowywanie próbek	14
8.2.	Przygotowanie próbki i ekstrakcja kwasu nukleinowego	16
8.3.	Protokół PCR	16
8.3.1.	Tworzenie programu testu PCR dla zestawu VIASURE <i>Respiratory Virus Extended Mix</i> Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	16
8.3.2.	Ustawienie statywu BD MAX™	23
8.3.3.	Ustawienie przyrządu BD MAX™	24
8.3.4.	Raport wyników BD MAX™	25
9.	Interpretacja wyników	25
10.	Ograniczenia testu	30
11.	Kontrola jakości	32
12.	Cechy skuteczności analitycznej	33
12.1.	Liniowość analityczna	33
12.2.	Czułość analityczna. Granica wykrywalności (LoD)	35
12.3.	Zakres pomiarowy	36
12.4.	Dokładność	36
12.4.1.	Prawdziwość	36
12.4.2.	Precyzja	43
12.5.	Przeniesienie	48
12.6.	Wskaźnik awaryjności całego systemu	48

12.7.	Swoistość i reaktywność analityczna.....	49
12.7.1.	Swoistość analityczna.....	49
12.7.2.	Reaktywność analityczna	55
12.8.	Spójność metrologiczna	58
13.	Charakterystyka skuteczności klinicznej	59
	Bibliografia.....	61
	Symbole składników i odczynników do diagnostyki <i>in vitro</i> (IVD)	63
	Znaki towarowe.....	63

POLSKI

1. Przewidziane zastosowanie

Zestaw VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System to automatyczny test RT-qPCR przeznaczony do jednoczesnego jakościowego wykrywania RNA/DNA z wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy typu A, grypy typu B, wirusa RSV (typy A i B), wirusa paragrypy (typy 1, 2, 3 i 4), ludzkiego koronawirusa (229E, NL63, HKU1 i OC43), metapneumowirusa i adenowirusa w wymazach z nosogardła pobranych od pacjentów z podejrzeniem zakażenia układu oddechowego przez ich lekarza (HCP). Ten test jest przeznaczony do wspomagania rozpoznawania zakażenia wymienionymi powyżej mikroorganizmami w połączeniu z klinicznymi objawami przedmiotowymi i podmiotowymi i/lub epidemiologicznymi czynnikami ryzyka. Wyniki dodatnie wskazują na obecność kwasów nukleinowych (ang. nucleic acids, NA) docelowego drobnoustroju, ale nie wykluczają obecności innych patogenów, które nie są wykrywane przez ten test. Wyniki ujemne nie wykluczają obecności kwasów nukleinowych docelowych drobnoustrojów i nie należy ich używać jako jedynej podstawy podejmowania decyzji dotyczących leczenia bądź innych decyzji dotyczących postępowania z pacjentem. Przy oznaczeniu wykorzystywany jest BD MAX™ System do zautomatyzowanej ekstrakcji RNA/DNA, a następnie RT-qPCR z wykorzystaniem dostarczonych odczynników w połączeniu z uniwersalnymi odczynnikami i materiałami jednorazowymi przeznaczonymi do stosowania z systemem BD MAX™. RNA/DNA jest ekstrahowane z próbek. Komplementarne DNA (cDNA) jest syntetyzowane, a DNA/cDNA są amplifikowane przy użyciu RT-qPCR i wykrywane przy użyciu specyficznych starterów i sond z fluorescencyjnym barwnikiem reporterowym przeznaczonych dla wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy typu A, grypy typu B, wirusa RSV (typy A i B), paragrypy (typy 1, 2, 3 i 4), koronawirusa ludzkiego (229E, NL63, HKU1 i OC43), metapneumowirusa i adenowirusa.

Produkt jest przeznaczony do stosowania przez wykwalifikowany i przeszkolony personel laboratorium klinicznego, który został specjalnie poinstruowany i przeszkolony w zakresie metod real-time PCR (PCR w czasie rzeczywistym) oraz procedur diagnostycznych *in vitro* (włączając szkolenie dotyczące przyrządu do Real Time PCR (termocyklery) i systemu do ekstrakcji kwasu nukleinowego).

2. Podsumowanie i objaśnienia

Ciężki ostry zespół oddechowy Coronavirus 2, znany powszechnie jako SARS-CoV-2, to wirus układu oddechowego, który pojawił się pod koniec 2019 roku i który jest odpowiedzialny za chorobę COVID-19, która później została przez WHO scharakteryzowana jako globalna pandemia (Fernández-Pérez i in., 2021; Hu i in., 2021; WHO | Światowa Organizacja Zdrowia, 2023a). Ten nowy koronawirus to wirus z jednoliciowym RNA, który został zaliczony do rodziny *Coronaviridae*, rodzaju beta (Fernández-Pérez i in., 2021). Zakażenie wirusem SARS-CoV-2 może dotyczyć zarówno dorosłych, jak i dzieci, chociaż osoby

powyżej 60. roku życia oraz osoby z istniejącymi wcześniej schorzeniami są bardziej podatne na cięższą postać COVID-19 (WHO | Światowa Organizacja Zdrowia, 2023a). Zakażenie może przebiegać bezobjawowo lub powodować różne objawy o niskim lub wysokim nasileniu i ciężkości, bardzo podobne do grypy (CDC |, 2023; Safiabadi Tali i in., 2021).

Grypa to ostra infekcja układu oddechowego spowodowana wirusem grypy, która atakuje drogi oddechowe i może być przenoszona na całym świecie (Uyeki i in., 2022; WHO | Światowa Organizacja Zdrowia, 2023b). W szczególności grypa sezonowa jest wywoływana przez sezonowe wirusy grypy typu A i B, które są odpowiedzialne za epidemie sezonowe występujące zazwyczaj zimą w klimacie umiarkowanym oraz przez cały rok w regionach tropikalnych (Tyrrell i in., 2021; Uyeki i in., 2022; WHO | Światowa Organizacja Zdrowia, 2023b). Wirusy grypy, należące do rodziny *Orthomyxoviridae*, to wirusy ośmiosegmentowe z jednonicowym RNA o polarności ujemnej, kodującym 12 białek wirusowych (Krammer i in., 2018; Uyeki i in., 2022). Otoczka wirusowa, pochodząca z błony plazmatycznej gospodarza, składa się z dwuwarstwy lipidowej zawierającej białka transbłonowe hemaglutyninę (HA), neuraminidazę (NA), nukleoproteinę (NP), białko macierzy (M1) oraz białko błonowe (M2) (Krammer i in., 2018).

Ludzki syncytialny wirus oddechowy (RSV) to kolejny wirus układu oddechowego, który atakuje dolne drogi oddechowe we wszystkich grupach wiekowych (WHO | Światowa Organizacja Zdrowia, b.d.). Ten jednonicowy, niesegmentowany wirus RNA o polarności ujemnej, członek rodziny *Pneumoviridae*, znany jest z tego, że atakuje głównie małe dzieci poniżej 2 roku życia, ale może również poważnie dotyczyć osoby dorosłe powyżej 65 roku życia i/lub osoby z obniżoną odpornością lub specyficznymi chorobami współistniejącymi (Abu-Raya i in., 2023; Bergeron & Tripp, 2021; WHO | Światowa Organizacja Zdrowia, b.d.).

Diagnozowanie wymienionych chorób układu oddechowego jest trudne, ponieważ zazwyczaj mają one podobne objawy (Uyeki i in., 2022). Dlatego dokładna diagnoza jest kluczowa nie tylko dla ustalenia przyczyny choroby, ale także dla przewidywania fali epidemii/pandemii oraz łagodzenia ich ubocznego wpływu na systemy opieki zdrowotnej i gospodarki (Safiabadi Tali i in., 2021; Uyeki i in., 2022). Dostępnych jest wiele rodzajów testów diagnostycznych (przyłóżkowych lub szybkich testów wykrywających antygeny); jednakże test RT-PCR jest bardziej czuły i swoisty, a ponadto pozwala na jednoczesne wykrywanie wielu współistniejących wirusów układu oddechowego, co skraca czas diagnozy (Uyeki i in., 2022).

Choroby dolnych dróg oddechowych są przyczyną około czterech milionów zgonów rocznie na całym świecie. Za tę sytuację może odpowiadać wiele różnych rodzajów wirusów, z których jednym są koronawirusy, należące do rodziny *Coronaviridae* (Friedman i in., 2018). Te występujące na całym świecie wirusy to duże wirusy otoczkowe, zawierające jednonicowy genom RNA o dodatniej polarności (Lim i in., 2016; Zeng i in., 2018). Są one bezpośrednio powiązane z chorobami układu oddechowego, przewodu pokarmowego i ośrodkowego układu nerwowego. Koronawirusy charakteryzują się podziałem na trzy serotypy lub grupy. Grupy 1 i 2 odnoszą się do koronawirusów ssaków, natomiast grupa 3 składa się

z koronawirusów ptaków. Powszechnymi koronawirusami ludzkimi są szczepy HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 i HCoV-HKU1 (Zeng i in., 2018). HCoV są trudne do wykrycia za pomocą standardowych metod diagnostycznych, ponieważ zazwyczaj są współwykrywane z innymi wirusami układu oddechowego, takimi jak HRSV czy wirusy grypy (Gaunt i in., 2010). Biorąc pod uwagę wszystkie te czynniki, PCR w czasie rzeczywistym jest jedną z preferowanych metod diagnozowania koronawirusów ze względu na swoją swoistość. Bardziej konkretnie, metoda PCR w czasie rzeczywistym, która jako cele wykrywa gen *N* dla szczepów 229E, OC43 i NL63 oraz gen *rep* dla szczepu HKU1.

Wirusy paragrypy (PIV lub HPIV u ludzi) należą do rodziny *Paramyxoviridae* i są klasyfikowane pod względem genetycznym i antygenowym na cztery typy. Wirusy te mogą prowadzić do zakażeń układu oddechowego u niemowląt, dzieci i osób dorosłych, przy czym rodzaj zakażenia i specyficzne objawy różnią się w zależności od typu. Zarówno HPIV-1, jak i HPIV-2 powodują choroby górnych i dolnych dróg oddechowych, takie jak przeziębienie i krup, przy czym HPIV-1 najczęściej występuje u dzieci. HPIV-3 jest częściej powiązany z chorobami dolnych dróg oddechowych, takimi jak zapalenie oskrzelików, oskrzeli i płuc. HPIV-4 jest rzadziej rozpoznawany, ale nadal może powodować łagodne do ciężkich chorób układu oddechowego (Henrickson, 2003). Paragrypy to wirusy średniej wielkości z otoczką, a ich genomy są zorganizowane na pojedynczej nici RNA o polarności ujemnej, kodującej co najmniej sześć wspólnych białek strukturalnych. Wirusy te przenoszą dwie glikoproteiny otoczki: HN, zawierającą zarówno aktywność hemaglutyniny, jak i neuraminidazy oraz F, posiadającą aktywność fuzyjną (Henrickson, 2003).

Hodowla wirusów w połączeniu z immunofluorescencją jest tradycyjną metodą diagnostyczną, ale czasochłonną (Templeton i in., 2004). Powszechnie stosuje się testy wykrywające antygeny, ale są one mniej czułe i swoiste niż inne narzędzia diagnostyczne, takie jak testy PCR w czasie rzeczywistym (Jansen i in., 2011; Templeton i in., 2004), które obecnie są uważane za jedną z najlepszych metod wyboru.

Adenowirusy należą do rodziny *Adenoviridae* wirusów bezotoczkowych z podwójną nicią (dsDNA) (Datta, 2023; Ison & Hayden, 2016). Istnieje ponad 50 immunologicznie odrębnych serotypów ludzkiego adenowirusa (Lynch & Kajon, 2016) klasyfikowanych w 7 gatunkach (od adenowirusa-A do adenowirusa-G), które mogą powodować zakażenia u ludzi, począwszy od chorób układu oddechowego (adenowirus-E, C i niektóre gatunki B), poprzez zakażenia przewodu pokarmowego (głównie gatunki adenowirus-A i F), zakażenia układu moczowego (inne gatunki adenowirusa-B) oraz zapalenie spojówek (adenowirus-D) (Buckwalter i in., 2012; Datta, 2023). Do zakażenia może dojść poprzez wdychanie kropelek aerozolu, bezpośrednie wprowadzenie do spojówki, drogę fekalno-oralną lub poprzez kontakt z zakażoną tkanką, bądź krwią (Ison & Hayden, 2016).

Ludzkie metapneumowirusy należą do rodziny *Paramyxoviridae* (Schuster & Williams, 2013) i są ważną przyczyną zakażeń górnych i dolnych dróg oddechowych. Metapneumowirus to jednoniciowy wirus z otoczką i RNA o polarności ujemnej. Objawy kliniczne metapneumowirusa obejmują kaszel, gorączkę, przekrwienie błony śluzowej nosa i duszność, mogące prowadzić do zapalenia oskrzelików lub płuc (Uddin

& Thomas, 2020). Metapneumowirus przenoszony jest głównie przez zakaźne kropelki, powstające w trakcie oddychania i według doniesień jest drugim najczęściej występującym wirusem powodującym zakażenia układu oddechowego, przy czym dzieci poniżej piątego roku życia są najbardziej podatne na zakażenie (Schuster & Williams, 2013).

Rozpoznanie może stanowić problem, ponieważ liczne patogeny mogą powodować ostre zakażenia dróg oddechowych dające podobne objawy. Początkowo wirusy te były identyfikowane za pomocą hodowli komórkowej, ale diagnostyka tym sposobem jest czasochłonna do momentu wystąpienia efektu cytopatycznego. Testy serologiczne mogą być przydatne w badaniach epidemiologicznych, ale mają ograniczoną wartość praktyczną u poszczególnych pacjentów (Datta, 2023; Ison & Hayden, 2016; Lynch & Karon, 2016; Schuster & Williams, 2013). Dlatego obecnie metodą stosowaną do identyfikacji adenowirusa i metapneumowirusa jest (RT)-PCR w czasie rzeczywistym, ze względu na jej wysoką czułość i swoistość.

3. Zasada działania procedury

Zestaw VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System jest przeznaczony do jednoczesnego jakościowego wykrywania kwasu nukleinowego z wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy typu A, grypy typu B, wirusa RSV (typy A i B), wirusa paragrypy (typy 1, 2, 3 i 4), ludzkiego koronawirusa (229E, NL63, HKU1 i OC43), metapneumowirusa i adenowirusa w wymazach z nosogardła. Wykrywanie opiera się na jednoetapowym formacie RT-qPCR, w którym odwrotna transkrypcja, a następnie amplifikacja swoistych sekwencji docelowych odbywa się w tej samej probówce reakcyjnej. Wyizolowany, docelowy RNA transkrybuje się za pomocą odwrotnej transkryptazy, uzyskując komplementarne DNA. Po zsyntetyzowaniu cDNA lub wyizolowaniu DNA, identyfikacji tych mikroorganizmów dokonuje się przez amplifikację konserwatywnego regionu genów *N* i *ORF1ab* wirusa SARS-CoV-2, genu *M* (białko macierzy 1 (M1)) dla wirusa grypy typu A/B, genu *HA* dla wirusa grypy typu A, podtypu H1N1, genu *N* wirusa RSV (typy A i B), genu *HN* paragrypy (typy 1, 2 i 3), genu *F* paragrypy (typ 4), genu *N* koronawirusa (229E, NL63, HKU1 i OC43), genu *F* metapneumowirusa i genu *hexon* kodującego adenowirusa, przy użyciu specyficznych starterów i sond oznaczonych barwnikiem fluorescencyjnym.

Zestaw VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System opiera się na aktywności 5'egzonukleazy polimerazy DNA. Podczas amplifikacji DNA ten enzym odrywa sondę powiązaną z komplementarną sekwencją DNA, oddzielając wygaszacz od barwnika reporterowego. Reakcja ta generuje wzrost sygnału fluorescencyjnego, który jest proporcjonalny do ilości docelowego wzorca. Ta fluorescencja jest mierzona za pomocą BD MAX™ System.

Zestaw VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System zawiera w każdej probówce wszystkie niezbędne składniki do oznaczenia PCR w czasie rzeczywistym (swoiste

startery/sondy, dNTP, bufor, polimerazę i odwrotną transkryptazę) w postaci stabilizowanej¹, a także **wewnętrzną kontrolę endogenną (EIC)** (ludzki *gen RNase P*), do oceny integralności próbki, monitorowania procesu ekstrakcji i/lub odrzucania hamowania aktywności polimerazy. Ludzkie geny porządkowe biorą udział w podstawowych komórkowych czynnościach porządkowych i w związku z tym oczekuje się, że będą występować we wszystkich ludzkich komórkach jądrowych oraz zachowywać względnie stałe poziomy ekspresji.

Wykrywany element		Kanał	Gen
<i>Respiratory Virus Mix I</i>	SARS-CoV-2	475/520	<i>Gen N i ORF1ab</i>
	Influenza B	530/565	<i>Gen M1</i>
	Influenza A	585/630	<i>Geny M1 i HA</i>
	RSV (A/B)	630/665	<i>Gen N</i>
	Endogenna kontrola wewnętrzna (EIC)	680/715	Ludzki <i>gen RNase P</i>
<i>Respiratory Virus Mix II</i>	Paragrypa (typy 1, 2 i 3)	475/520	<i>Gen HN</i>
	Paragrypa (typ 4)		<i>Gen F</i>
	Koronavirus (229E, NL63, HKU1 i OC43)	530/565	<i>Gen N</i>
	Metapneumowirus	585/630	<i>Gen F</i>
	Adenowirus	630/665	<i>Gen hexon</i>
	Endogenna kontrola wewnętrzna (EIC)	680/715	Ludzki <i>gen RNase P</i>

Tabela 1. Element wykrywany, kanał i geny.

4. Dostarczane odczynniki

Zestaw VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System zawiera następujące materiały i odczynniki szczegółowo opisane w tabeli 2:

Odczynnik/materiał	Opis	Zakres stężenia	Kod kreskowy	Ilość
<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube	Lioprotektory i stabilizatory	±6 g/100 mL*	Folia 1K	2 woreczki po 12 przezroczystych próbek
	Trifosforan nukleotydu (dNTPs)	±1 mM*		
	Primery i sondy	0,2-1 nmol/μL*		
	Enzymy	10-100 U/reakcję*		
<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube	Lioprotektory i stabilizatory	±6 g/100 mL*	Folia 1M	2 woreczki po 12 przezroczystych próbek
	Trifosforan nukleotydu (dNTP)	±1 mM*		
	Primery i sondy	0,2-1 nmol/μL*		
	Enzymy	10-100 U/reakcję*		
Rehydration Buffer tube (próbówka z buforem do rehydratacji)	Mieszanina roztworu soli fizjologicznej	± 13 mM	Folia 11	1 woreczek z 24 przezroczystymi próbkami
	Bufor (TRIS, pH)	± 67 mM		

Tabela 2. Odczynniki i materiały zawarte w zestawie VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System o numerze 444221.

* W przypadku składnika w postaci stabilizowanej, zakres stężenia dotyczy stanu po uwodnieniu.

¹Należy pamiętać, że określenia „stabilizowany” i „liofilizowany” są używane w całym dokumencie w nieodróżnialny sposób, jako synonimy.

5. Odczynniki i sprzęt, które powinien zapewnić użytkownik

Poniżej wymieniono materiały, których użycie jest konieczne, ale które nie należą do zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

- Przyrząd do PCR w czasie rzeczywistym: BD MAX™ System (nr ref: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (nr ref.:442827 lub 442828).
- Wkłady do PCR – BD MAX™ PCR Cartridges (nr ref.: 437519).
- Worteks.
- Mikropipety (dokładność w zakresie 2–1000 µL)
- Woda niezawierająca nukleazy.
- Końcówki z filtrem.
- Bezpułdrowe rękawice jednorazowe.

Opcjonalnie:

- Materiały kontroli zewnętrznej można uruchomić w ramach procedury kontroli jakości działania testu. Dostępny w handlu materiał kontrolny i/lub próbki wcześniej scharakteryzowane jako dodatnie lub ujemne można stosować jako zewnętrzną kontrolę dodatnią (EPC) lub zewnętrzną kontrolę ujemną (ENC), odpowiednio. Wybór i zatwierdzenie EPC i ENC musi być zgodne z obowiązującymi przepisami lokalnymi, stanowymi i/lub federalnymi oraz standardowymi procedurami kontroli jakości w laboratorium. Dodatkowo, przy wykorzystaniu dostępnego w handlu materiału kontrolnego, użytkownik musi postępować zgodnie z odpowiednią instrukcją użytkowania.

Zestaw VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System został zwalidowany przy użyciu ExK™ TNA-3 (nr ref.: 442827 lub 442828) na przyrządzie do PCR w czasie rzeczywistym BD MAX™ System.

Próbkami wybranymi do oceny urządzenia były próbki z nosogardła (NF) pobrane za pomocą elastycznego nylonowego wacika (zwane dalej wymazem z nosogardła). Następnie wymaz umieszcza się w próbówce BD™ Universal Viral Transport System (UVT, SKU: 220220) lub Universal Transport Media® (UTM®) (Copan).

6. Warunki transportu, przechowywania i użytkowania

- Zestawy można przysyłać i przechowywać w temperaturze 2–30°C do upływu terminu ważności podanego na etykiecie zestawu.
- Unikać drgań podczas transportu, aby zapobiec wyciekowi cieczy.
- Po otwarciu aluminiowych woreczków zawierających próbki reakcyjne, produkt można stosować w ciągu maksymalnie 28 dni w temperaturze 2–30°C. Chronić fiolkę przed światłem.

Poniższa tabela podsumowuje warunki transportu, przechowywania i użytkowania całego zestawu i każdego składnika:

Składnik	Warunki transportu	Warunki przechowywania	Warunki użytkowania
Cały zestaw VIASURE <i>Respiratory Virus Extended Mix</i> Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	2–30°C przez okres trwałości podany na etykiecie zestawu.	Przed użyciem: 2–30°C przez okres trwałości podany na etykiecie zestawu.	* <i>Patrz warunki użytkowania każdego składnika.</i>
<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube (folia 1K)		Przed użyciem: 2–30°C przez okres trwałości podany na etykiecie zestawu. Po otwarciu woreczka z żelem krzemionkowym: 2–30°C, przez maksymalnie 28 dni.	Temperatura pokojowa.
<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube (folia 1M)		Przed użyciem: 2–30°C przez okres trwałości podany na etykiecie zestawu. Po otwarciu woreczka z żelem krzemionkowym: 2–30°C, przez maksymalnie 28 dni.	Temperatura pokojowa.
Rehydration Buffer tube (próbówka z buforem do rehydratacji)		Przed użyciem: 2–30°C przez okres trwałości podany na etykiecie zestawu. Po otwarciu woreczka z żelem krzemionkowym: 2–30°C, przez maksymalnie 28 dni.	Temperatura pokojowa.

Tabela 3. Podsumowanie warunków transportu, przechowywania i użytkowania zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System oraz każdego z jego składników.

7. Środki ostrożności dla użytkowników

- Produkt jest przeznaczony do stosowania przez wykwalifikowany i przeszkolony personel laboratorium klinicznego, który został specjalnie poinstruowany i przeszkolony w zakresie metod Real-time PCR oraz procedur diagnostycznych *in vitro*.
- Do celów diagnostyki *in vitro*.
- Instrukcję użytkowania produktu VIASURE oraz podręcznik użytkownika BD MAX™ System należy dokładnie przeczytać przed rozpoczęciem użytkowania zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Nie należy wykonywać testu, dopóki nie zostaną zrozumiane informacje o procedurach, środkach ostrożności i ograniczeniach opisanych w tych dokumentach.
- Nie należy używać przeterminowanych odczynników i/lub materiałów.
- Nie używać zestawu, jeżeli etykieta zamykająca pudełko zewnętrzne została zerwana.
- Nie używać odczynników w razie otwarcia lub rozdarcia pudełka ochronnego w chwili dostarczenia.
- Nie używać odczynników w razie otwarcia lub rozdarcia woreczków ochronnych w chwili dostarczenia.
- Nie stosować odczynników, jeżeli środek osuszający nie jest obecny lub jest pęknięty wewnątrz woreczków z odczynnikami.
- Nie należy wyjmować środka osuszającego z woreczków z odczynnikami.
- Nie wolno używać odczynników, jeżeli folia została rozerwana lub uszkodzona.
- Nie wolno mieszać odczynników z różnych woreczków i (lub) zestawów i (lub) serii.
- Po każdym użyciu należy szybko zamknąć na zamek woreczki ochronne odczynników (aby chronić mieszaninę wzorcową przed światłem słonecznym). Przed zamknięciem woreczków należy usunąć z nich nadmiar powietrza.

- Chronić odczynniki przed wilgocią. Przedłużająca się ekspozycja na wilgoć może wpływać na skuteczność produktu.
- Aby uniknąć uszkodzenia etykiety, nie należy używać produktu w pobliżu rozpuszczalników.
- Na ogół występujący na spodzie próbówki inny od standardowego wygląd mieszaniny reakcyjnej w formie stabilnym (bez kształtu stożkowego, niejednorodny, mniejszy/większy i/lub w kolorze innym od białawego) nie ma wpływu na funkcjonalność testu.
- Podczas ustawiania stojaka systemu BD MAX™ należy upewnić się, że próbówka reakcyjna i próbówka z buforem do rehydratacji zostały pewnie zatrzaśnięte w przewidzianym miejscu.
- W razie przeprowadzania innych testów PCR w tej samej części laboratorium, należy zachować ostrożność, aby uniknąć skażenia zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, zestawu do ekstrakcji BD MAX™ ExK™ TNA-3 lub jakichkolwiek dodatkowych odczynników potrzebnych do przeprowadzania testów oraz BD MAX™ System. Przez cały czas należy unikać skażenia odczynników drobnoustrojami oraz rybonukleazą (RNaza) / dezoksyrybonukleazą (DNaza). Zaleca się stosowanie jałowych, wolnych od RNazy / DNazy, jednorazowych końcówek z filtrem zapobiegającym aerozolom, opornych na aerozole lub końcówek do pipet wporowych. Do każdej próbki należy stosować nową końcówkę. Przed obchodzeniem się z odczynnikami i wkładami trzeba zmieniać rękawiczki (BD MAX™ PCR Cartridge).
- Aby uniknąć skażenia środowiska amplikonami, nie należy otwierać wkładu BD MAX™ PCR Cartridge po użyciu. Zamknięcia wkładu BD MAX™ PCR Cartridge mają na celu zapobieganie skażeniu.
- Należy zaplanować jednokierunkowy przepływ pracy. Przeprowadzanie testu należy zaczynać w miejscu wykonywania ekstrakcji, a następnie przechodzić do miejsca wykonywania amplifikacji i detekcji. Nie należy przenosić z powrotem próbek, sprzętu, i odczynników do miejsca, w którym wykonywano wcześniejszy etap testu.
- Należy postępować zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej. Należy stosować odzież ochronną, jednorazowe rękawiczki, okulary, i maseczkę. W obszarze roboczym nie wolno jeść, pić, palić tytoniu ani nakładać środków kosmetycznych. Po zakończeniu przeprowadzania testu należy umyć ręce.
- Próbkę traktować jako potencjalnie zakaźną i/lub stanowiącą zagrożenie biologiczne, podobnie jak wszelkie odczynniki i materiały, które były narażone na kontakt z próbkami. Należy obchodzić się z nimi zgodnie z krajowymi przepisami dotyczącymi bezpieczeństwa. Podczas pobierania, przechowywania, transportu, obsługi i utylizacji próbek należy zachowywać konieczne środki ostrożności.
- Próbkę i odczynniki należy obsługiwać w obrębie komory laminarnej. Należy stosować środki ochrony indywidualnej (ŚOI) zgodnie z aktualnie obowiązującymi wytycznymi dotyczącymi obsługi potencjalnie zakaźnych próbek. Odpady należy usuwać zgodnie z odpowiednimi przepisami miejscowymi i krajowymi.
- Zaleca się regularne odkażanie często używanego sprzętu, szczególnie mikropipet i powierzchni roboczych.

- Zgodnie z Rozporządzeniem WE Nr 1907/2006 (REACH), zestawy VIASURE Real Time PCR Detection Kits for BD MAX™ System nie wymagają karty charakterystyki substancji niebezpiecznej, ponieważ na podstawie deklaracji zostały zakwalifikowane jako produkty nieszkodliwe dla zdrowia i środowiska, jako niezawierające substancji ani mieszanin spełniających kryteria klasyfikacji substancji niebezpiecznych dostępnych w Rozporządzeniu KE Nr 1272/2008 (CLP), lub występujących w stężeniach przekraczających wartości ustalone w wymienionych przepisach. Oświadczenie stwierdzające brak wymogu sporządzania karty charakterystyki substancji niebezpiecznej można uzyskać od firmy Certest Biotec S.L.
- Należy upewnić się, że definicja programu testu PCR w systemie BD MAX™ System została wykonana zgodnie z instrukcjami zawartymi w sekcji „Protokół PCR” (parametry ekstrakcji próbek, niestandardowe kody kreskowe, ustawienia PCR itp.).
- Dodatkowe ostrzeżenia, środki ostrożności i procedury opisano w instrukcji obsługi BD MAX™ System.
- Certyfikat analizy nie jest dołączony do wyrobu; jednak, w razie potrzeby, można go pobrać z witryny internetowej firmy Certest Biotec S.L. (www.certest.es).

8. Procedura testowa

8.1. Pobieranie, transport i przechowywanie próbek

Zestaw VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System został przetestowany na wymazach z nosogardła pobranych za pomocą elastycznego nylonowego wacika i umieszczonych bezpośrednio w sterylnej probówce zawierającej 3 mL BD™ Universal Viral Transport System (UVT, SKU: 220220)² lub Universal Transport Media® (UTM®) (Copan)³. Inne rodzaje próbek muszą zostać zweryfikowane przez użytkownika.

Pobieranie, transport i przechowywanie próbek powinno odbywać się w warunkach zatwierdzonych przez użytkownika. Zasadniczo próbki kliniczne należy pobierać i oznaczać w odpowiedni sposób w czystych pojemnikach z podłożem transportowym lub bez (w zależności od rodzaju próbki). Po pobraniu, próbki należy umieścić w woreczku na materiały niebezpieczne, a następnie jak najszybciej przetransportować i poddać przetwarzaniu w celu zagwarantowania jakości wykonywanego testu. Transport próbek powinien odbywać się w temperaturze pokojowej (RT) przez maksymalnie 2 godziny lub w temperaturze 4°C przez maksymalnie 5 dni, zgodnie z lokalnymi i krajowymi przepisami dotyczącymi transportu materiałów patogennych. W przypadku długotrwałego transportu (ponad 5 dni) zalecamy przesyłanie w temperaturze

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

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

wynoszącej maksymalnie -20°C lub niższej⁴. Próbkę przesyłane do testów molekularnych należy przechowywać w kontrolowanych warunkach, aby kwasy nukleinowe nie uległy degradacji podczas przechowywania. Zaleca się używanie świeżych próbek do testów, jednak w razie braku takiej możliwości lub w przypadku badania retrospektywnego, próbki należy przechowywać w temperaturze najlepiej -70 lub -80°C , ewentualnie w temperaturze -20°C ⁵. Należy unikać powtarzających się cykli zamrażania-rozmrażania, aby nie dopuścić do degradacji próbek i kwasów nukleinowych.

Próbki kliniczne należy pobierać, transportować i przechowywać zgodnie z odpowiednimi wytycznymi laboratoryjnymi i/lub podręcznikami laboratoryjnymi. Można na przykład skorzystać z wytycznych IDSA (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... i 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) lub 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>.

Prosimy pamiętać: Wskazane powyżej warunki pobierania, transportu i przechowywania próbek są sugerowane na podstawie zaleceń dotyczących próbek pobranych z nosogardła przeznaczonych do wykrywania kwasów nukleinowych, zgodnie z powołanym raportem SEIMC dotyczącym ogólnych procedur pobierania i transportu w diagnostyce mikrobiologicznej oraz wytycznymi IDSA. Zaleca się jednak postępowanie zgodnie z wytycznymi laboratorium i/lub odpowiednich zapisów polityki laboratorium dotyczących transportu i konserwacji próbek.

Przeprowadzono wewnętrzne badanie stabilności próbek z użyciem zestawu do wykrywania PCR w czasie rzeczywistym VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* dla BD MAX™ System przy użyciu ujemnych wymazów z nosogardła pobranych w uniwersalnym systemie transportu wirusów BD™ Universal Viral Transport System i wzbogaconych o szczepy docelowe, każdy szczep w stężeniu 2-3xLoD. Stabilność analizowano za pomocą trzech różnych testów: stabilność pierwotna (25°C : 24 i 48 godz.; 4°C : 1, 2 i 7 dni; -20°C : 2, 3 i 6 mies.), stabilność w próbce z buforem próbkowym (sample buffer tube, SBT) (3 i 7 dni w temp. 25° i 4°C) oraz stabilność zagnieżdżona (próbki inkubowano w temp. 4°C i 25°C przez 48 godz., a następnie dodawano je do SBT i analizowano po 3 i 7 dniach w temp. 4°C i 25°C). Ponadto próbki analizowano po pięciu cyklach zamrażania (w temperaturze -20°C) i rozmrażania (w temperaturze 25°C)

⁴ Wytyczne IDSA (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... i 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 (Poradnik dotyczący wykorzystania laboratoriów mikrobiologicznych w rozpoznawaniu chorób zakaźnych: aktualizacja z 2018 roku wydana przez Stowarzyszenie Chorób Zakaźnych Ameryki oraz Amerykańskie Stowarzyszenie na rzecz Mikrobiologii). *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94))

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

w ciągu tygodnia. Wyniki wykazały dobrą przydatność do dalszego wykorzystania próbek przechowywanych we wszystkich testowanych warunkach.

8.2. Przygotowanie próbki i ekstrakcja kwasu nukleinowego

Dokonać przygotowania próbki zgodnie z zalecaniami podanymi w instrukcji użytkowania zastosowanego zestawu do ekstrakcji, BD MAX™ ExK™ TNA-3.

1. Pobrać pipetą 400 µL próbki do probówki BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube i zamknąć probówkę nasadką z podkładką. Zapewnić całkowite wymieszanie poprzez mieszanie próbki na wortexie przez 1 minutę. Upewnić się, że mieszanie na wortexie zostało wykonane na kilka minut przed rozpoczęciem analizy. Prześć do BD MAX™ System Operation.

Należy pamiętać, że procedury przygotowania ekstrakcji właściwe dla danej aplikacji powinny zostać opracowane i zwalidowane przez użytkownika, a niektóre inne próbki mogą wymagać obróbki wstępnej.

8.3. Protokół PCR

Uwaga: Proszę zapoznać się ze szczegółowymi informacjami znajdującymi się w podręczniku dla użytkownika BD MAX™ System.

8.3.1. Tworzenie programu testu PCR dla zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System

Uwaga: Jeśli użytkownik utworzył już test dla zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, można pominąć punkt 8.3.1 i przejść bezpośrednio do punktu 8.3.2.

- 1) Na ekranie „Run” (Cykl) BD MAX™ System wybrać kartę „Test Editor” (Edytor testów).
- 2) Kliknąć przycisk „Create” (Utwórz).

Na karcie „Basic Information” (Podstawowe informacje):

- 3) W polu „Test Name” (Nazwa testu) wpisać nazwę testu, to jest VIASURE Resp Virus.

Uwaga: Nazwa testu musi być unikalna i zawierać maksymalnie dwadzieścia znaków.

- 4) W rozwijanym menu „Extraction Type” (Typ ekstrakcji) wybrać „ExK TNA-3”.
- 5) W rozwijanym menu „Master Mix Format” (Format mieszaniny wzorcowej) wybrać opcję „Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)” (Podwójna stężona, liofilizowana mieszanina wzorcowa MM z buforem rehydratacyjnym (typ 5)). Po wybraniu opcji „Dual Master Mix” (Podwójna mieszanina wzorcowa) zmienia się konfiguracja kart po prawej stronie karty „Test Editor” (Edytor testu). Pojawiają się dodatkowe karty „PCR settings” (Ustawienia PCR),

„Melt settings” (Ustawienia topnienia) i „Test Steps” (Etapy testu) dotyczące obu probówek typu snap-in (zatraskowych).

- 6) W polu „Sample Extraction Parameters” (Parametry ekstrakcji próbki) należy wybrać „User Defined” (Zdefiniowane przez użytkownika) i dostosować wartości parametrów (tabela 4).

<i>Sample Extraction Parameters</i> (Parametry ekstrakcji próbki)	<i>Value (units)</i> (Wartość (jednostki))
<i>Lysis Heat Time</i> (Czas lizy termicznej)	10 min.
<i>Lysis Temperature</i> (Temperatura lizy)	60°C
<i>Sample Tip Height</i> (Wysokość zanurzenia końcówki pipety w próbce)	1600 kroków
<i>Sample Volume</i> (Objętość próbki)	950 µL
<i>Wash Volume</i> (Objętość roztworu płuczającego)	500 µL
<i>Neutralization Volume</i> (Objętość bufora neutralizującego)	NIE DOTYCZY
<i>DNase Heat Time</i> (Czas podgrzewania DNazy)	NIE DOTYCZY

Tabela 4. Parametry ekstrakcji próbki przeprowadzanej z użyciem BD MAX™ ExK™ TNA-3.

- 7) W polu „Ct Calculation” (Obliczenie Ct) wybrać „Call Ct at Threshold Crossing” (Wywołanie Ct przy przekroczeniu progu) – opcję domyślnie zaznaczoną.
- 8) W przypadku korzystania z oprogramowania w wersji 5.00 lub nowszej oraz używania oznaczonych kodem kreskowym probówek zamkniętych folią, w polu „Custom Barcodes” (Niestandardowe kody kreskowe) należy wybrać następującą konfigurację:
- Snap-In 2 Barcode (Kod kreskowy probówki 2): 1K (dotyczy probówki reakcyjnej *Respiratory Virus Mix I*).
 - Snap-In 3 Barcode (Kod kreskowy probówki 3): 11 (dotyczy probówki z buforem do rehydratacji Rehydration Buffer tube).
 - Snap-In 4 Barcode (Kod kreskowy probówki 4): 1M (dotyczy probówki reakcyjnej *Respiratory Virus Mix II*).

Na karcie „PCR Settings” (Ustawienia PCR):

- 9) W polu „PCR Settings” (Ustawienia PCR) wpisać następujące parametry opisane w tabelach 5 i 6, odpowiednio dla wkładu 2 (snap-in 2) (zielony kolor kodu na stojaku) i wkładu 4 (snap-in 4) (niebieski kolor kodu na stojaku): „Alias” (do siedmiu znaków alfanumerycznych), „PCR Gain” (Wzmocnienie PCR), „Threshold” (Próg), „Ct Min” i „Ct Max”.

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

Tabela 5. Ustawienia PCR dla wkładu 2.

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

Tabela 6. Ustawienia PCR dla wkładu 4.

Uwaga: Zaleca się ustawianie jako punktu startowego dla każdego kanału minimalnych wartości progowych podanych powyżej, ale ostateczne ustawienia musi ustalić użytkownik końcowy w trakcie interpretacji wyników w celu upewnienia się, że wartości progowe przypadają w obrębie fazy eksponencjalnej krzywych fluorescencji i powyżej wszelkich sygnałów tła. Wartość progowa dla różnych przyrządów może się różnić ze względu na różne intensywności sygnału.

10) W polu „Color compensation” (Kompensacja koloru) wpisać następujące parametry (tabele 7 i 8).

		False Receiving Channel (Fałszywy kanał odbiorczy)				
Channel (Kanał)		475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Kanał pobudzenia)	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	-

Tabela 7. Parametry „Color compensation” (Kompensacja koloru) dla wkładu 2.

		False Receiving Channel (Fałszywy kanał odbiorczy)				
Channel (Kanał)		475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Kanał pobudzenia)	475/520	-	0	0	0	0
	530/565	0	-	0	0	0
	585/630	0	0	-	3	0
	630/665	0	0	5	-	19
	680/715	0	0	0	3	-

Tabela 8. Parametry „Color compensation” (Kompensacja koloru) dla wkładu 4.

Na karcie „Melt Settings” (Ustawienia topnienia) nie trzeba podejmować żadnych działań, ponieważ nie ma ona zastosowania w przypadku tego produktu.

Na karcie „Test Steps” (Etapy testu):

- 11) Wpisać nazwę etapu (do dwudziestu znaków) i ustawić następujące parametry, aby zdefiniować każdy etap protokołu PCR: „Profile Type” (Rodzaj profilu), „Cycles” (Cykle), „Time” (Czas) i „Temperature” (Temperatura), a następnie w polu „Detect” (Wykrywanie) zdefiniować etap wykrywania (Tabela 9). Kliknąć przycisk „Add” (Dodaj), aby dodać nowy etap i powtarzać czynność, aż do zdefiniowania wszystkich potrzebnych etapów.

Uwaga: Pole „Type” (Rodzaj) musi być puste.

Step (Etap)	Step name (Nazwa etapu)	Profile Type (Rodzaj profilu)	Cycles (Cykle)	Time (s) (Czas (s))	Temperature (Temperatura)	Detect (Wykrywanie)
Reverse transcription (Odwrotna transkrypcja)	RV-transcription	Hold	1	900	45°C	-
Initial denaturation (Wstępna denaturacja)	IN-denaturation	Hold	1	120	98°C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Denaturacja i hybrydyzacja/wydłużanie (gromadzenie danych))	Annealing/Extension	2-Temperature	45	10	95°C	-
				61.1	63°C	✓

Tabela 9. Protokół PCR dla wkładu 2 i wkładu 4.

Na karcie „Result Logic” (Logika wyniku):

- 12) W polu „Target” (Wykrywany element) wpisać nazwę wykrywanego elementu, tj. SARS (do siedmiu znaków alfanumerycznych). Powtórzyć czynności 12–15 dla każdego celu (tj. SARS, FLUB, FLUA i RSV dla wkładu 2 (snap-in 2) lub HPIV, HCOV, MPV i HADV dla wkładu 4 (snap-in 4)), zgodnie z tabelami dotyczącymi definiowanego celu.

Uwaga: W rozwijanym menu „Master Mix” (Mieszanina wzorcowa) wybrać wkład 2 (snap-in 2) (zielony), aby ustalić logikę wyniku dla pierwszej mieszaniny reakcyjnej i wkład 4 (snap-in 4) (niebieski) dla drugiej. Nazwy docelowe muszą być różne dla wkładu 2 i wkładu 4.

- 13) Kliknąć pole wyboru „Analyze” (Analizuj), aby uwzględnić pożądane długości fal (kanały PCR) w analizie wyniku docelowego (tabele 10–13 dla wkładu 2 i tabele 14–17 dla wkładu 4).

Pierwsza mieszanina wzorcowa (Respiratory Virus Mix / reaction tube): Wkład 2 (Snap-in 2) (zielony)

Wavelength (Długość fali)	Alias (Alias)	Type (Typ)	Analyze (Analizuj)
475/520	SARS	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabela 10. Wybór kanałów PCR na karcie „Result logic” (Logika wyniku) dla genu docelowego SARS (SARS-CoV-2).

Wavelength (Długość fali)	Alias (Alias)	Type (Typ)	Analyze (Analizuj)
530/565	FLUB	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabela 11. Wybór kanałów PCR na karcie „Result logic” (Logika wyniku) dla genu docelowego FLUB (Grypa typu B).

<i>Wavelength</i> (Długość fali)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Typ)	<i>Analyze</i> (Analizuj)
585/630	FLUA	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabela 12. Wybór kanałów PCR na karcie „Result logic” (Logika wyniku) dla genu docelowego FLUA (Grypa typu A).

<i>Wavelength</i> (Długość fali)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Typ)	<i>Analyze</i> (Analizuj)
630/665	RSV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabela 13. Wybór kanałów PCR na karcie „Result logic” (Logika wyniku) dla genu docelowego RSV (ludzki syncytialny wirus oddechowy typu A i B).

Druga mieszanina wzorcowa (*Respiratory Virus Mix II* reaction tube): Wkład 4 (snap-in 4) (niebieski)

<i>Wavelength</i> (Długość fali)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Typ)	<i>Analyze</i> (Analizuj)
475/520	HPIV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabela 14. Wybór kanałów PCR na karcie „Result logic” (Logika wyniku) dla genu docelowego HPIV (paragrypa typu 1, 2, 3 i 4).

<i>Wavelength</i> (Długość fali)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Typ)	<i>Analyze</i> (Analizuj)
530/565	HCOV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabela 15. Wybór kanałów PCR na karcie „Result logic” (Logika wyniku) dla genu docelowego HCOV (koronawirus 229E, NL63, HKU1 i OC43).

<i>Wavelength</i> (Długość fali)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Typ)	<i>Analyze</i> (Analizuj)
585/630	MPV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabela 16. Wybór kanałów PCR na karcie „Result logic” (Logika wyniku) dla genu docelowego MPV (metapneumowirus).

<i>Wavelength</i> (Długość fali)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Typ)	<i>Analyze</i> (Analizuj)
630/665	HADV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabela 17. Wybór kanałów PCR na karcie „Result logic” (Logika wyniku) dla genu docelowego HADV (adenowirus).

14) Kliknąć przycisk „Edit Logic” (Edytuj logikę).

15) W oknie „Edit Logic” (Edytuj logikę) wyświetlane są wszystkie kombinacje typów wyników. Dla każdego wiersza rozwijanego menu „Result” (Wynik) wybrać wynik, który jest wywoływany po spełnieniu warunków w danym wierszu, postępując zgodnie z tabelami 18–21 dla wkładu 2 i tabelami 22–25 dla wkładu 4.

Pierwsza mieszanina wzorcowa (*Respiratory Virus Mix* / reaction tube): Wkład 2 (Snap-in 2) (zielony)

<i>Result</i> (Wynik)	SARS (475/520)	EIC (680/715)
POS	Valid (Ważna)	Valid (Ważna)
UNR	Valid (Ważna)	Invalid (Nieważna)
NEG	Invalid (Nieważna)	Valid (Ważna)
UNR	Invalid (Nieważna)	Invalid (Nieważna)

Tabela 18. Lista kombinacji typów wyników i logiki wyniku dla genu docelowego SARS (SARS-CoV-2). Dostępne wyniki to POS (dodatni), NEG (ujemny) i UNR (nierozstrzygający).

<i>Result</i> (Wynik)	FLUB (530/565)	EIC (680/715)
POS	Valid (Ważna)	Valid (Ważna)
UNR	Valid (Ważna)	Invalid (Nieważna)
NEG	Invalid (Nieważna)	Valid (Ważna)
UNR	Invalid (Nieważna)	Invalid (Nieważna)

Tabela 19. Lista kombinacji typów wyników i logiki wyniku dla genu docelowego FLUB (grypa typu B). Dostępne wyniki to POS (dodatni), NEG (ujemny) i UNR (nierozstrzygający).

<i>Result</i> (Wynik)	FLUA (585/630)	EIC (680/715)
POS	Valid (Ważna)	Valid (Ważna)
UNR	Valid (Ważna)	Invalid (Nieważna)
NEG	Invalid (Nieważna)	Valid (Ważna)
UNR	Invalid (Nieważna)	Invalid (Nieważna)

Tabela 20. Lista kombinacji typów wyników i logiki wyniku dla genu docelowego FLUA (grypa typu A). Dostępne wyniki to POS (dodatni), NEG (ujemny) i UNR (nierozstrzygający).

<i>Result</i> (Wynik)	RSV (630/665)	EIC (680/715)
POS	Valid (Ważna)	Valid (Ważna)
UNR	Valid (Ważna)	Invalid (Nieważna)
NEG	Invalid (Nieważna)	Valid (Ważna)
UNR	Invalid (Nieważna)	Invalid (Nieważna)

Tabela 21. Lista kombinacji typów wyników i logiki wyniku dla genu docelowego RSV (ludzki syncytialny wirus oddechowy typu A i B). Dostępne wyniki to POS (dodatni), NEG (ujemny) i UNR (nierozstrzygający).

Uwaga: Zgodnie z wcześniej zdefiniowaną wartością Ct Max (tabela 5):

- Typ wyniku dla kanałów genów docelowych SARS (475/520), FLUB (530/565), FLUA (585/630) lub RSV (630/665) uznaje się za „Valid” (ważny), gdy uzyskana wartość Ct wynosi ≤ 40 ; i za „Invalid” (nieważny), gdy uzyskana wartość Ct wynosi > 40 .
- Typ wyniku dla kanału genu docelowego EIC (680/715) uznaje się za „Valid” (ważny), gdy uzyskana wartość Ct wynosi ≤ 35 ; i za „Invalid” (nieważny), gdy uzyskana wartość Ct wynosi > 35 .

Druga mieszanina wzorcowa (*Respiratory Virus Mix II* reaction tube): Wkład 4 (Snap-in 4)

<i>Result</i> (Wynik)	HPIV (475/520)	EIC (680/715)
POS	Valid (Ważna)	Valid (Ważna)
UNR	Valid (Ważna)	Invalid (Nieważna)
NEG	Invalid (Nieważna)	Valid (Ważna)
UNR	Invalid (Nieważna)	Invalid (Nieważna)

Tabela 22. Lista kombinacji typów wyników i logiki wyniku dla genu docelowego HPIV (paragrypa typu 1, 2, 3 i 4). Dostępne wyniki to POS (dodatni), NEG (ujemny) i UNR (nierozstrzygający).

<i>Result</i> (Wynik)	HCOV (530/565)	EIC (680/715)
POS	Valid (Ważna)	Valid (Ważna)
UNR	Valid (Ważna)	Invalid (Nieważna)
NEG	Invalid (Nieważna)	Valid (Ważna)
UNR	Invalid (Nieważna)	Invalid (Nieważna)

Tabela 23. Lista kombinacji typów wyników i logiki wyniku dla genu docelowego HCOV (koronawirus 229E, NL63, HKU1 i OC43). Dostępne wyniki to POS (dodatni), NEG (ujemny) i UNR (nierozstrzygający).

<i>Result</i> (Wynik)	MPV (585/630)	EIC (680/715)
POS	Valid (Ważna)	Valid (Ważna)
UNR	Valid (Ważna)	Invalid (Nieważna)
NEG	Invalid (Nieważna)	Valid (Ważna)
UNR	Invalid (Nieważna)	Invalid (Nieważna)

Tabela 24. Lista kombinacji typów wyników i logiki wyniku dla genu docelowego MPV (metapneumowirusa). Dostępne wyniki to POS (dodatni), NEG (ujemny) i UNR (nierozstrzygający).

<i>Result</i> (Wynik)	HADV (630/665)	EIC (680/715)
POS	Valid (Ważna)	Valid (Ważna)
UNR	Valid (Ważna)	Invalid (Nieważna)
NEG	Invalid (Nieważna)	Valid (Ważna)
UNR	Invalid (Nieważna)	Invalid (Nieważna)

Tabela 25. Lista kombinacji typów wyników i logiki wyniku dla genu docelowego HADV (adenowirusa). Dostępne wyniki to POS (dodatni), NEG (ujemny) i UNR (nierozstrzygający).

Uwaga: Zgodnie z wcześniej zdefiniowaną wartością Ct Max (tabela 6):

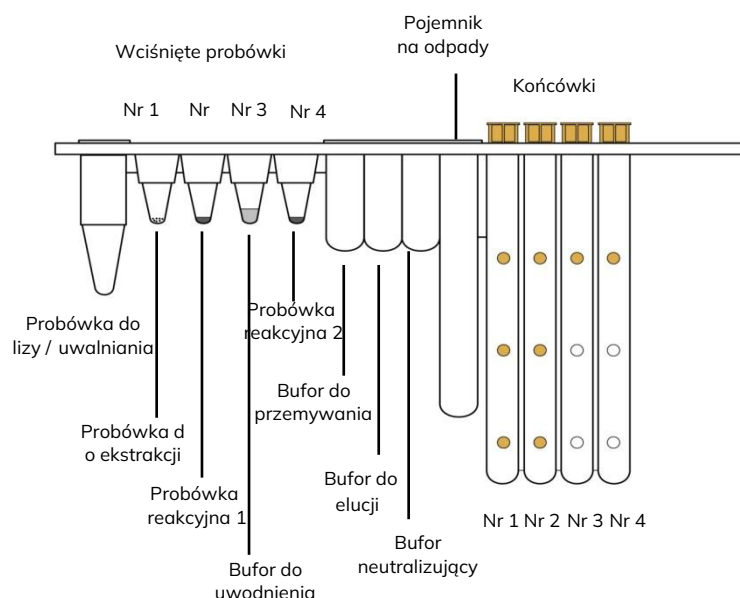
- i. Typ wyniku dla kanałów genów docelowych HPIV (475/520), HCOV (530/565), MPV (585/630) lub HADV (630/665) uznaje się za „Valid” (ważny), gdy uzyskana wartość Ct wynosi ≤ 40 ; i za „Invalid” (nieważny), gdy uzyskana wartość Ct wynosi > 40 .
- ii. Typ wyniku dla kanału genu docelowego EIC (680/715) uznaje się za „Valid” (ważny), gdy uzyskana wartość Ct wynosi ≤ 35 ; i za „Invalid” (nieważny), gdy uzyskana wartość Ct wynosi > 35 .

16) Aby zapisać test, należy kliknąć przycisk „Save” (Zapisz).

8.3.2. Ustawienie statywu BD MAX™

- 1) Dla każdej próbki, która ma być poddana testowi, wyjąć jeden Unitized Reagent Strip (indywidualny pasek odczynnikowy) z zestawu BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit. Delikatnie stuknąć każdym paskiem o twardą powierzchnię, aby upewnić się, że wszystkie płyny znajdują się na dnie probówek i załadować na statyw na próbki BD MAX™ System.
- 2) Wyjąć potrzebną liczbę probówek do ekstrakcji BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (B4) (biała folia) z saszetki ochronnej. Wcisnąć probówkę (probówki) do ekstrakcji w odpowiadające jej (im) miejsca na pasku TNA (Pozycja 1, biały kolor kodu na statywie. Zob. Rys. 1). Usunąć nadmiar powietrza i zamknąć woreczek na zamek.
- 3) Określić i oddzielić odpowiednią liczbę probówek reakcyjnych *Respiratory Virus Mix I* (folia 1K) i wcisnąć je w odpowiednie miejsca na pasku (pozycja 2, zielony kolor kodu na statywie. Zob. Rys. 1).
 - a. Usunąć nadmiar powietrza i zamknąć woreczki aluminiowe na zamek.
 - b. Aby prawidłowo przeprowadzić rehydratację, należy upewnić się, że liofilizowany produkt znajduje się na spodzie probówki i nie przylega do górnej powierzchni probówki ani do foliowego zamknięcia. Delikatnie stuknąć każdą probówką o twardą powierzchnię, aby upewnić się, że produkt znajduje się na spodzie probówki.
- 4) Wyjąć potrzebną liczbę probówek Rehydration Buffer tubes (folia 11) i wcisnąć je w odpowiednie miejsca na pasku (Pozycja 3, brak koloru kodowego na statywie. Zob. Rys. 1).
 - a. Usunąć nadmiar powietrza i zamknąć woreczek na zamek.
 - b. Aby zapewnić prawidłowy transfer, należy upewnić się, że płyn znajduje się na spodzie probówki i nie przylega do górnej powierzchni probówki ani do foliowego zamknięcia. Delikatnie stuknąć każdą probówką o twardą powierzchnię, aby upewnić się, że bufor znajduje się na spodzie probówki.
- 5) Określić i oddzielić odpowiednią liczbę probówek reakcyjnych *Respiratory Virus Mix II* (folia 1M) i wcisnąć je w odpowiednie miejsca na pasku (pozycja 4, niebieski kolor kodu na statywie. Zob. Rys. 1).
 - a. Usunąć nadmiar powietrza i zamknąć woreczki aluminiowe na zamek.
 - b. Aby prawidłowo przeprowadzić rehydratację, należy upewnić się, że liofilizowany produkt znajduje się na spodzie probówki i nie przylega do górnej powierzchni probówki ani do foliowego zamknięcia. Delikatnie stuknąć każdą probówką o twardą powierzchnię, aby upewnić się, że produkt znajduje się na spodzie probówki.

Rysunek 1. Pasek odczynnikowy BD MAX™ TNA Reagent Strip (TNA) z zestawu BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit.



8.3.3. Ustawienie przyrządu BD MAX™

- 1) Wybrać kartę „Worklist” (Lista robocza) na ekranie „Run” (Cykl) oprogramowania BD MAX™ System w wersji 4.50A lub wyższej.
- 2) W rozwijanym menu „Test” wybrać żądany test, tj. VIASURE Resp virus (jeśli jeszcze nie utworzono, patrz punkt 8.3.1).
- 3) W rozwijanym menu „Kit Lot Number” (Numer partii zestawu) wybrać odpowiedni numer partii zestawu (znajdujący się na zewnętrznym pudełku używanego zestawu do ekstrakcji) (opcjonalnie).
Uwaga: Numery partii należy zdefiniować w wyświetlanym menu „Inventory” (Inwentarz), zanim będzie możliwe ich wybranie w tym miejscu.
- 4) W polu „Sample tube” (Probówka z próbką) uzupełnić numer identyfikacyjny Sample Buffer Tube (probówki z buforem próbki), skanując kod kreskowy skanerem lub wpisując go ręcznie.
- 5) Wypełnić pole „Patient ID” (Identyfikator pacjenta) i/lub „Accession” (Numer dostępu) i kliknąć Tab (Tabulator) lub Enter. Kontynuować, aż zostaną podane kody paskowe wszystkich Sample Buffer Tubes (probówek z buforem próbki). Upewnić się, że „specimen/patient ID” (identyfikator próbki lub pacjenta) oraz „Sample Buffer Tubes” (probówki z buforem próbki) zostały dokładnie dopasowane.
- 6) Umieścić przygotowaną Sample Buffer Tube (próbówkę z buforem próbki) w statywie (statywach) BD MAX™ Rack(s).
- 7) Załadować statyw (statywy) do BD MAX™ System (statyw A po lewej stronie BD MAX™ System, a statyw B – po prawej).
- 8) Włożyć potrzebną liczbę wkładów BD MAX™ PCR Cartridge(s) do BD MAX™ System.
- 9) Zamknąć drzwiczki BD MAX™ System.
- 10) Kliknąć „Start Run” (Rozpocznij cykl), aby rozpocząć procedurę.

8.3.4. Raport wyników BD MAX™

- 1) Na pasku menu kliknąć przycisk „Results” (Wyniki).
- 2) Kliknąć dwukrotnie wybrany cykl na liście lub nacisnąć przycisk „View” (Wyświetl).
- 3) Przyciski „Print” (Drukuj) i „Export” (Eksportuj) u dołu ekranu zostaną odblokowane.

Aby wydrukować wyniki:

1. Należy kliknąć przycisk „Print” (Drukuj).
2. W oknie podglądu „Print” (Drukuj) raportu z cyklu wybrać: „Run Details”, „Test Details” i „Plots” (Szczegóły Cyklu, Szczegóły Testu i Wykresy).
3. Kliknąć „Print” (Drukuj), aby wydrukować raport lub „Export” (Eksportuj), aby wyeksportować raport w formacie PDF do pliku na nośniku USB.

Aby wyeksportować wyniki:

1. Należy kliknąć przycisk „Export” (Eksportuj), aby przenieść raport (plik PDF i CSV) na nośnik USB.
2. Po zakończeniu eksportu, w oknie „Results Export” (Eksport wyników) pojawi się ikona informująca o powodzeniu lub niepowodzeniu eksportu.

9. Interpretacja wyników

Szczegółowe informacje na temat analizowania danych podano w Podręczniku Użytkownika BD MAX™ System.

Analiza danych jest przeprowadzana przez oprogramowanie BD MAX™ zgodnie z instrukcjami producenta. Oprogramowanie BD MAX™ zgłasza wartości Ct i krzywe amplifikacji dla każdego kanału detektora dla każdej badanej próbki w następujący sposób:

- wartość Ct wynosząca 0 wskazuje, że nie została przez oprogramowanie obliczona wartość Ct przy określonym progu (patrz Tabela 5). Krzywą amplifikacji dla próbki wykazującej wartość Ct „0” musi być sprawdzona ręcznie.
- Wartość Ct wynosząca –1 wskazuje, że nie nastąpił proces amplifikacji, że oprogramowanie nie obliczyło wartości Ct lub obliczona wartość Ct jest niższa od określonego progu lub wyższa od ustalonej wartości maksymalnej Ct (wartości odcięcia).
- Każdą inną wartość Ct należy interpretować w korelacji z krzywą amplifikacji i zgodnie ze zdefiniowaną logiką wyniku, postępując zgodnie z wytycznymi interpretacji przedstawionymi w tabelach 26 i 27.

Aby potwierdzić, czy mieszanina do amplifikacji działa prawidłowo, należy sprawdzić sygnał endogennej kontroli wewnętrznej (EIC). Dodatkowo należy sprawdzić, czy nie ma raportu o awarii BD MAX™ System.

Wyniki należy odczytywać i analizować z wykorzystaniem poniższych tabel:

Pierwsza mieszanina wzorcowa (<i>Respiratory Virus Mix</i> / reaction tube): Wkład 2 (Snap-in 2)				
SARS-CoV-2 (nazwa genu docelowego: SARS)	Wirus grypy typu B (nazwa genu docelowego: FLUB)	Wirus grypy typu A (nazwa genu docelowego: FLUA)	Ludzki syncytialny wirus oddechowy (nazwa genu docelowego: RSV)	Interpretacja indywidualnych próbek pacjenta
POS	POS	POS	POS	Wykryto RNA wirusa SARS-CoV-2, grypy typu B, grypy typu A i RSV
POS	POS	POS	NEG	Wykryto RNA wirusa SARS-CoV-2, grypy typu B, grypy typu A oraz nie wykryto RNA wirusa RSV
POS	POS	NEG	POS	Wykryto RNA wirusa SARS-CoV-2, grypy typu B i RSV oraz nie wykryto RNA wirusa grypy typu A
POS	NEG	POS	POS	Wykryto RNA wirusa SARS-CoV-2, grypy typu A i RSV oraz nie wykryto RNA wirusa grypy typu B
NEG	POS	POS	POS	Wykryto RNA wirusa grypy typu B, grypy typu A i RSV oraz nie wykryto RNA wirusa SARS-CoV-2
POS	POS	NEG	NEG	Wykryto RNA wirusa SARS-CoV-2 i wirusa grypy typu B oraz nie wykryto RNA wirusa grypy typu A i wirusa RSV
POS	NEG	POS	NEG	Wykryto RNA wirusa SARS-CoV-2 i wirusa grypy typu A oraz nie wykryto RNA wirusa grypy typu B i wirusa RSV
POS	NEG	NEG	POS	Wykryto RNA wirusa SARS-CoV-2 i wirusa RSV oraz nie wykryto RNA wirusa grypy typu B i wirusa grypy typu A
NEG	POS	POS	NEG	Wykryto RNA grypy typu B i wirusa grypy typu A oraz nie wykryto RNA wirusa SARS-CoV-2 i wirusa RSV
NEG	POS	NEG	POS	Wykryto RNA wirusa grypy typu B i RSV oraz nie wykryto RNA wirusa SARS-CoV-2 i wirusa grypy typu A
NEG	NEG	POS	POS	Wykryto RNA wirusa grypy typu A i wirusa RSV oraz nie wykryto RNA wirusa SARS-CoV-2 i wirusa grypy typu B
POS	NEG	NEG	NEG	Wykryto RNA wirusa SARS-CoV-2 oraz nie wykryto RNA wirusa grypy typu B, wirusa grypy typu A i wirusa RSV
NEG	POS	NEG	NEG	Wykryto RNA wirusa grypy typu B oraz nie wykryto RNA wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy typu A i wirusa RSV
NEG	NEG	POS	NEG	Wykryto RNA wirusa grypy typu A oraz nie wykryto RNA wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy typu B i wirusa RSV

NEG	NEG	NEG	POS	Wykryto RNA wirusa RSV oraz nie wykryto RNA wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy typu B i grypy typu A
NEG	NEG	NEG	NEG	Nie wykryto docelowego RNA
UNR	UNR	UNR	UNR	Wynik nierozstrzygający (UNR, ang. Unresolved) uzyskany w obecności inhibitorów w reakcji PCR lub w razie wystąpienia ogólnego problemu (niezgłaszanego według kodu błędu) w trakcie przetwarzania próbki i/lub etapu amplifikacji ¹ .
IND	IND	IND	IND	Wynik testu nieokreślony (IND, ang. Indeterminate). Z powodu awarii BD MAX™ System. Wynik testu wyświetlany w przypadku awarii urządzenia powiązanej z kodem błędu ² .
INC	INC	INC	INC	Niepełny wynik testu (INC, ang. Incomplete). Z powodu awarii BD MAX™ System. Wynik testu wyświetlany w przypadku nieprzeprowadzenia pełnego cyklu oznaczeń. 2

Tabela 26. Interpretacja próbki.

1 Endogenna kontrola wewnętrzna (EIC) musi wykazywać sygnał amplifikacji z wartością $Ct \leq 35$, aby można ją było uwzględnić. W przypadku braku sygnału kontroli EIC lub wartości $Ct > 35$, wynik jest uznawany za nierozstrzygający (UNR) i wymagane jest powtórzenie testu. Należy sprawdzić raport wyników i wartości Ct wybranych genów docelowych, i podjąć odpowiednie działania, uwzględniając poniższe informacje:

- I. Gdy wyniki genów docelowych są nieważne ($Ct > 40$, co jest sygnalizowane przez oprogramowanie jako wynik równy „-1”), należy powtórzyć test z pierwotnej próbki przygotowując ponownie probówkę z buforem próbki – Sample Buffer Tube (SBT) (jeśli dostępna jest wystarczająca objętość próbki). Postępować zgodnie z wytycznymi laboratorium i/lub odpowiednimi zapisami polityki laboratorium mikrobiologicznego.
- II. Gdy wyniki genów docelowych są ważne ($Ct \leq 40$), w przypadku testowania wysoko stężonych próbek możliwe jest, że nie zostanie zaobserwowana amplifikacja lub amplifikacja z EIC z wartością $Ct > 35$ (co jest sygnalizowane przez oprogramowanie wynikiem „-1”) z powodu preferencyjnej amplifikacji kwasów nukleinowych swoistych dla genu docelowego. W razie potrzeby należy rozcieńczyć próbki w stosunku 1:10, ponownie przygotować Sample Buffer Tube (SBT) i powtórzyć test. Postępować zgodnie z wytycznymi laboratorium i/lub odpowiednimi zapisami polityki laboratorium mikrobiologicznego.

UWAGA: Wymazy z nosogardła można przechowywać bez przenoszenia do SBT przez maksymalnie 2 dni w temperaturze 25°C lub przez maksymalnie 7 dni w temperaturze 4°C.

2 Wyniki nieokreślone (IND) lub niepełne (INC) można uzyskać ze względu na awarię systemu i wówczas konieczne jest powtórzenie testu. Interpretację kodów ostrzeżeń i błędów można znaleźć w podręczniku użytkownika BD MAX™ System.

Druka mieszanina wzorcowa (<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube): Wkład 4 (Snap-in 4)				
Paragrypa (nazwa genu docelowego: HPIV)	Koronawirus (nazwa genu docelowego: HCOV)	Metapneumowirus (nazwa genu docelowego: MPV)	Adenowirus (nazwa genu docelowego: HADV)	Interpretacja indywidualnych próbek pacjenta
POS	POS	POS	POS	Wykryto RNA/DNA wirusa paragrypy, koronawirusa, metapneumowirusa i adenowirusa
POS	POS	POS	NEG	Wykryto RNA wirusa paragrypy, koronawirusa i metapneumowirusa oraz nie wykryto DNA adenowirusa
POS	POS	NEG	POS	Wykryto RNA wirusa paragrypy, koronawirusa i adenowirusa oraz nie wykryto RNA metapneumowirusa
POS	NEG	POS	POS	Wykryto RNA wirusa paragrypy, metapneumowirusa i adenowirusa oraz nie wykryto RNA koronawirusa
NEG	POS	POS	POS	Wykryto RNA/DNA koronawirusa, metapneumowirusa i adenowirusa oraz nie wykryto RNA wirusa paragrypy
POS	POS	NEG	NEG	Wykryto RNA wirusa paragrypy i koronawirusa oraz nie wykryto RNA/DNA metapneumowirusa i adenowirusa
POS	NEG	POS	NEG	Wykryto RNA wirusa paragrypy i metapneumowirusa oraz nie wykryto RNA/DNA koronawirusa i adenowirusa
POS	NEG	NEG	POS	Wykryto RNA/DNA wirusa paragrypy i adenowirusa oraz nie wykryto RNA koronawirusa i metapneumowirusa
NEG	POS	POS	NEG	Wykryto RNA koronawirusa i metapneumowirusa oraz nie wykryto RNA/DNA wirusa paragrypy i adenowirusa
NEG	POS	NEG	POS	Wykryto RNA/DNA koronawirusa i adenowirusa oraz nie wykryto RNA wirusa paragrypy i metapneumowirusa
NEG	NEG	POS	POS	Wykryto RNA/DNA metapneumowirusa i adenowirusa oraz nie wykryto RNA wirusa paragrypy i koronawirusa
POS	NEG	NEG	NEG	Wykryto RNA wirusa paragrypy oraz nie wykryto RNA/DNA koronawirusa, metapneumowirusa i adenowirusa
NEG	POS	NEG	NEG	Wykryto RNA koronawirusa oraz nie wykryto RNA/DNA wirusa paragrypy, metapneumowirusa i adenowirusa
NEG	NEG	POS	NEG	Wykryto RNA metapneumowirusa oraz nie wykryto RNA/DNA wirusa paragrypy, koronawirusa i adenowirusa
NEG	NEG	NEG	POS	Wykryto DNA adenowirusa oraz nie wykryto RNA wirusa paragrypy, koronawirusa i metapneumowirusa

NEG	NEG	NEG	NEG	Nie wykryto docelowego RNA
UNR	UNR	UNR	UNR	Wynik nierozstrzygający (UNR, ang. Unresolved) uzyskany w obecności inhibitorów w reakcji PCR lub w razie wystąpienia ogólnego problemu (niezgłaszanego według kodu błędu) w trakcie przetwarzania próbki i/lub etapu amplifikacji ¹ .
IND	IND	IND	IND	Wynik testu nieokreślony (IND, ang. Indeterminate). Z powodu awarii BD MAX™ System. Wynik testu wyświetlany w przypadku awarii urządzenia powiązanej z kodem błędu ² .
INC	INC	INC	INC	Niepełny wynik testu (INC, ang. Incomplete). Z powodu awarii BD MAX™ System. Wynik testu wyświetlany w przypadku nieprzeprowadzenia pełnego cyklu oznaczeń. 2

Tabela 27. Interpretacja próbki.

1 Endogenna kontrola wewnętrzna (EIC) musi wykazywać sygnał amplifikacji z wartością $Ct \leq 35$, aby można ją było uwzględnić. W przypadku braku sygnału kontroli EIC lub wartości $Ct > 35$, wynik jest uznawany za nierozstrzygający (UNR) i wymagane jest powtórzenie testu. Należy sprawdzić raport wyników i wartości Ct wybranych genów docelowych, i podjąć odpowiednie działania, uwzględniając poniższe informacje:

- I. Gdy wyniki genów docelowych są nieważne ($Ct > 40$, co jest sygnalizowane przez oprogramowanie jako wynik równy „-1”), należy powtórzyć test z pierwotnej próbki przygotowując ponownie probówkę z buforem próbki – Sample Buffer Tube (SBT) (jeśli dostępna jest wystarczająca objętość próbki). Postępować zgodnie z wytycznymi laboratorium i/lub odpowiednimi zapisami polityki laboratorium mikrobiologicznego.
- II. Gdy wyniki genów docelowych są ważne ($Ct \leq 40$), w przypadku testowania wysoko stężonych próbek możliwe jest, że nie jest obserwowana amplifikacja lub amplifikacja z EIC, z wartością $Ct > 35$ (co jest sygnalizowane przez oprogramowanie wynikiem „-1”), z powodu preferencyjnej amplifikacji kwasów nukleinowych swoistych dla genu docelowego. W razie potrzeby należy rozcieńczyć próbki w stosunku 1:10, ponownie przygotować Sample Buffer Tube (SBT) i powtórzyć test. Postępować zgodnie z wytycznymi laboratorium i/lub odpowiednimi zapisami polityki laboratorium mikrobiologicznego.

UWAGA: Wymazy z nosogardła można przechowywać bez przenoszenia do SBT przez maksymalnie 2 dni w temperaturze 25°C lub przez maksymalnie 7 dni w temperaturze 4°C.

2 Wyniki nieokreślone (IND) lub niepełne (INC) można uzyskać ze względu na awarię systemu i wówczas konieczne jest powtórzenie testu. Interpretację kodów ostrzeżeń i błędów można znaleźć w podręczniku użytkownika BD MAX™ System.

Uwaga: Przy stosowaniu kontroli zewnętrznych należy spodziewać się następujących wyników: ujemnych dla ENC i dodatnich dla EPC (znane dodatnie próbki są oczekiwane jako dodatnie tylko dla mikroorganizmów obecnych w próbce). ENC, która daje dodatni wynik testu, wskazuje na zdarzenie skażenia lub nieprawidłowe postępowanie z próbką. EPC, która daje ujemny wynik testu, wskazuje na problem z postępowaniem/przygotowaniem próbki. Należy przeanalizować technikę obsługi/przygotowania próbki. W przypadku niepowodzenia kontroli zewnętrznej należy powtórzyć test.

W przypadku dalszego uzyskiwania niejednoznacznego wyniku, zalecane jest ponowne zapoznanie się z instrukcją użytkowania i przeanalizowanie stosowanego przez użytkownika procesu izolacji w celu zweryfikowania prawidłowości wykonywania każdego etapu PCR oraz sprawdzenia parametrów. Należy również sprawdzić, czy uzyskano esowaty kształt krzywej oraz natężenie fluorescencji.

Wyniki testu powinien oceniać członek fachowego personelu medycznego w kontekście wywiadu medycznego, klinicznych objawów przedmiotowych oraz innych testów diagnostycznych.

10. Ograniczenia testu

- Wyniki testu powinien oceniać członek fachowego personelu medycznego w kontekście wywiadu medycznego, klinicznych objawów przedmiotowych oraz innych testów diagnostycznych.
- Chociaż ten test można stosować przy innych rodzajach próbek, zweryfikowano go wyłącznie w odniesieniu do wymazów z jamy nosowo-gardłowej.
- Aby zapewnić dobrą wydajność testu, liofilizowany produkt powinien znajdować się na spodzie próbówki, a nie przylegać do górnej powierzchni próbówki ani do foliowego zamknięcia. Delikatnie stuknąć każdą próbówką o twardą powierzchnię, aby upewnić się, że produkt znajduje się na spodzie próbówki.
- Jakość testu zależy od jakości próbki; konieczna jest prawidłowa ekstrakcja kwasów nukleinowych z próbek klinicznych.
- Jest to test jakościowy i nie dostarcza on wartości ilościowych, ani nie wskazuje liczby obecnych drobnoustrojów. Nie jest możliwe skorelowanie wartości Ct uzyskanych metodą PCR ze stężeniem próbki, ponieważ zależą one od użytego termocyklera i od samego cyklu.
- Możliwe jest wykrycie niezwykle niskich poziomów sekwencji docelowych poniżej granicy wykrywania, ale wyniki mogą nie być powtarzalne.
- Należy zwrócić uwagę na zamierzony zakres pomiarowy testu, ponieważ próbki o stężeniach powyżej lub poniżej tego zakresu mogą dawać błędne wyniki.
- Istnieje możliwość uzyskania wyników fałszywie dodatnich, z powodu skażenia krzyżowego przez próbki wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy typu A, grypy typu B, wirusa RSV (typy A i B), paragrypy (typy 1, 2, 3 i 4), ludzkiego koronawirusa (229E, NL63, HKU1 i OC43), metapneumowirusa i adenowirusa zawierające wysokie stężenia docelowego RNA/DNA lub skażenia produktami PCR z poprzednich reakcji.
- Swoiste kombinacje starterów i sond do wykrywania genów *N* i *ORF1ab* wirusa SARS-CoV-2, genu *M* (białko macierzy (M1)) dla wirusa grypy A/B, genu *HA* dla wirusa grypy typu A podtypu H1N1, genu *N* wirusa RSV (typy A i B), genu *HN* wirusa paragrypy (typy 1, 2 i 3), genu *F* wirusa paragrypy (typ 4), genu *N* koronawirusa (229E, NL63, HKU1 i OC43), genu *F* metapneumowirusa i genu *hexon* kodującego adenowirusa, wykorzystywane w zestawie VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR

Detection Kit for BD MAX™ System, nie wykazują znaczących kombinowanych homologii z ludzkim genomem, ludzką mikroflorą, ani innymi mikroorganizmami układu oddechowego, które mogłyby prowadzić do przewidywalnych wyników fałszywie dodatnich.

- Wyniki fałszywie ujemne mogą być skutkiem kilku czynników i ich kombinacji, w tym:
 - nieprawidłowego pobierania, transportu, przechowywania i/lub metod obsługiwanie próbek,
 - Niewłaściwych procedur przetwarzania (w tym ekstrakcji RNA/DNA),
 - Degradacji RNA/DNA podczas transportu/przechowywania i/lub przetwarzania próbki,
 - Mutacji lub polimorfizmów w regionach wiązania startera lub sondy, które mogą wpływać na wykrywanie nowych lub nieznanymi szczepów wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy typu A, grypy typu B, wirusa RSV (typy A i B), paragrypy (typy 1, 2, 3 i 4), ludzkiego koronawirusa (229E, NL63, HKU1 i OC43), metapneumowirusa i/lub adenowirusa.
 - wiremii w próbce poniżej granicy wykrywania testu,
 - obecności inhibitorów reakcji RT-qPCR albo innych typów substancji interferujących. Nie oceniano wpływu szczepionek, niektórych leków przeciwwirusowych, antybiotyków, chemioterapeutyków czy immunosupresantów, ani leków przeciwwgrzybiczych stosowanych w celu zapobiegania zakażeniu lub stosowanych w trakcie leczenia zakażenia.
 - Wpływ substancji zakłócających został oceniony tylko dla tych wskazanych w rozdziale 12.7.1 (badanie substancji zakłócających) niniejszej instrukcji użytkownika. Podczas badania flutikazonu (1,26E–06 mg/mL) i nikotyny (3,00E–02 mg/mL) zaobserwowano interferencję w obu próbkach reakcyjnych *Respiratory Virus Mix I* oraz *Respiratory Virus Mix II*. Prosimy o zapoznanie się z tym rozdziałem w celu sprawdzenia najczęstszych substancji endogennych i egzogennych, które indukują całkowite lub częściowe zakłócenie reakcji RT-qPCR. Inne substancje niewymienione w tej części mogą prowadzić do błędnych wyników.
 - nieprzestrzegania instrukcji użytkownika i procedury przeprowadzania testu.
- Wynik dodatni testu nie musi konieczne oznaczać obecności żywych wirusów i nie sugeruje, że te wirusy są zakaźne czy też są przyczyną objawów klinicznych. Jednakże wynik dodatni wskazuje na obecność docelowych sekwencji wirusowych.
- Wyniki ujemne nie wykluczają obecności RNA/DNA wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy typu A, grypy typu B, RSV (typy A i B), paragrypy (typy 1, 2, 3 i 4), ludzkiego koronawirusa (229E, NL63, HKU1 i OC43), metapneumowirusa i/lub adenowirusa w próbce klinicznej i nie należy ich używać jako wyłącznej podstawy podejmowania decyzji dotyczących leczenia lub innego postępowania z pacjentem. Nie określono optymalnych rodzajów próbek ani czasu występowania maksymalnych stężeń wirusa w trakcie zakażeń wywołanych przez te mikroorganizmy. Do wykrycia czynnika patogenego może być konieczne pobranie wielu próbek (różne rodzaje i punkty czasowe) od tego samego pacjenta.
- Możliwe, że wykrycie niektórych krążących szczepów z 2019 roku należących do linii Victoria grypy typu B może być zagrożone z powodu mutacji punktowych w tych nowych szczepach. Testowano

jedynie inkluzywność grypy typu B dla wariantów zawierających mutacje C54T, C55T i C120T (sekwencja referencyjna NC002210.1).

- Jeśli badania diagnostyczne pod kątem innych chorób układu oddechowego są ujemne, a obserwacje kliniczne, wywiad pacjenta i informacje epidemiologiczne sugerują, że możliwe jest zakażenie wirusem SARS-CoV-2, wirusem grypy typu A, grypy typu B, wirusem RSV (typy A i B), paragrypy (typy 1, 2, 3 i 4), ludzkim koronawirusem (229E, NL63, HKU1 i OC43), metapneumowirusem i/lub adenowirusem, wówczas należy wziąć pod uwagę wynik fałszywie ujemny i rozważyć powtórzenie badania pacjenta.
- Wartości fluorescencji mogą się różnić z powodu wielu czynników, takich jak na przykład sprzęt do PCR (nawet ten sam model), system ekstrakcji, rodzaj próbki, wcześniejsze przetwarzanie próbki itp.
- Urządzenie zawiera primery i sondy wykrywające specyficznie szczep grypy A H1N1pdm09. Nie można wykluczyć szczepu grypy pandemicznej, a w przypadku dodatniego wyniku grypy należy rozważyć wykonanie dodatkowych badań.
- Wartości predykcyjne dodatnie i ujemne są wysoce zależne od częstości występowania we wszystkich testach diagnostycznych *in vitro*. Skuteczność działania zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System może się różnić w zależności od częstości występowania i populacji poddawanej testom.
- W przypadku uzyskania wyników nierozstrzygających, nieokreślonych lub niepełnych przy użyciu zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, konieczne będzie powtórzenie testu. Wyniki nierozstrzygające mogą być skutkiem obecności inhibitorów w próbce lub niewłaściwej rehydratacji w próbówce z liofilizowaną mieszaniną reakcyjną. W razie awarii urządzenia uzyskuje się wyniki nieokreślone lub niepełne.

11. Kontrola jakości

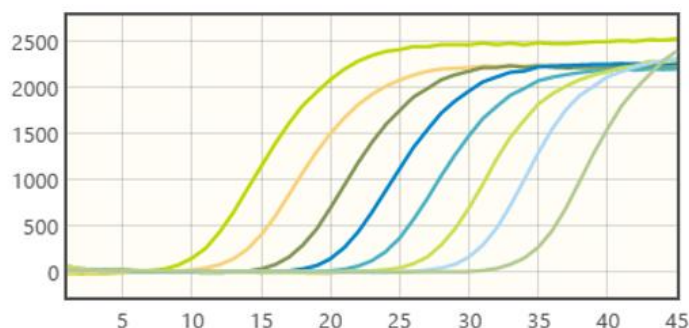
Zestaw VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System zawiera endogenną kontrolę wewnętrzną (EIC) w każdej próbówce reakcyjnej, potwierdzającą prawidłowe zastosowanie techniki. Ponadto zastosowanie kontroli zewnętrznej (EPC i ENC) umożliwia potwierdzenie skuteczności działania testu. Kontrole zewnętrzne nie są wykorzystywane przez BD MAX™ System do interpretacji wyników, lecz są traktowane jako próbka. Zewnętrzna kontrola dodatnia (EPC) służy do monitorowania ewentualnej awarii odczynników testowych, natomiast zewnętrzna kontrola ujemna (ENC) służy do wykrywania skażenia środowiska lub odczynników przez docelowe kwasy nukleinowe.

12. Cechy skuteczności analitycznej

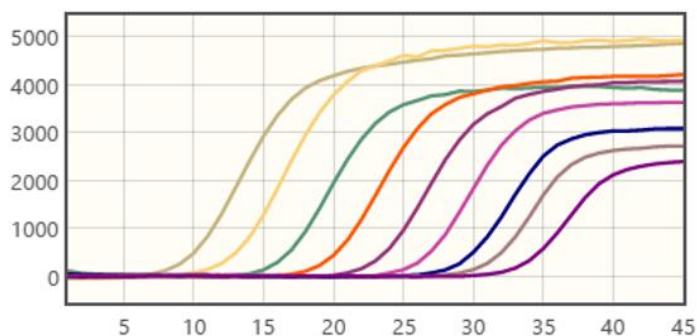
12.1. Liniowość analityczna

Liniowość testu została określona i potwierdzona poprzez testowanie serii dziesięciokrotnych rozcieńczeń próbek wymazów z nosogardła zawierających znane stężenie swoistego i syntetycznego RNA/DNA należącego do wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy typu A, wirusa grypy typu B, ludzkiego syncytialnego wirusa oddechowego, wirusa paragrypy, koronawirusa, metapneumowirusa i adenowirusa (w zakresie od $2E+07$ do $2E+00$ kopii na μL). Poniżej przedstawiono przykład wykresu amplifikacji uzyskanego z użyciem testu:

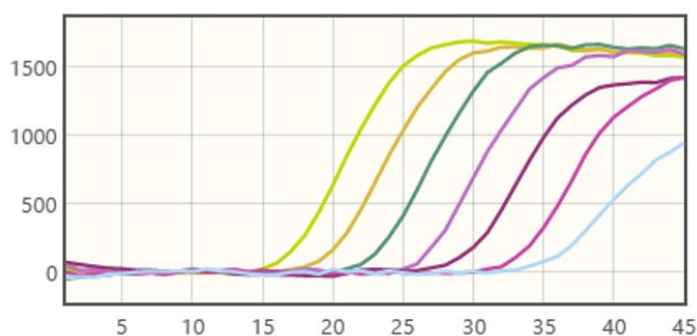
Rysunek 2. Seria rozcieńczeń matrycy SARS-CoV-2 (od $2E+07$ do $2E+00$ kopii/ μL) wykonana za pomocą BD MAX™ System (kanał 475/520 (FAM)).



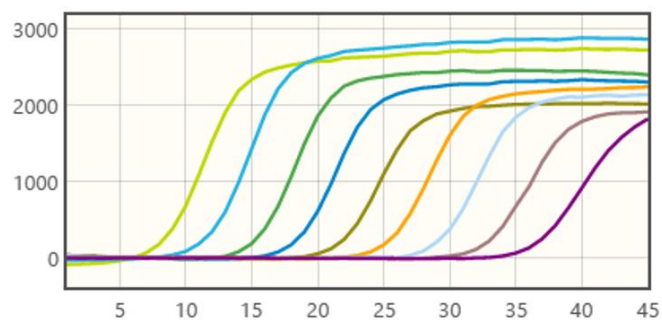
Rysunek 3. Seria rozcieńczeń matrycy wirusa grypy typu B (od $2E+07$ do $2E+00$ kopii/ μL) wykonana za pomocą BD MAX™ System (kanał 530/565 (HEX)).



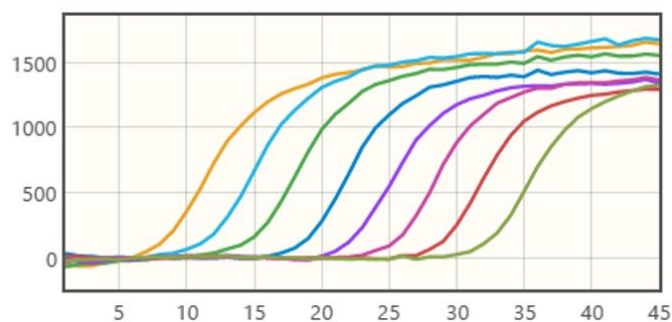
Rysunek 4. Seria rozcieńczeń matrycy wirusa grypy typu A (od $2E+07$ do $2E+00$ kopii/ μL) wykonana za pomocą BD MAX™ System (kanał 585/630 (ROX)).



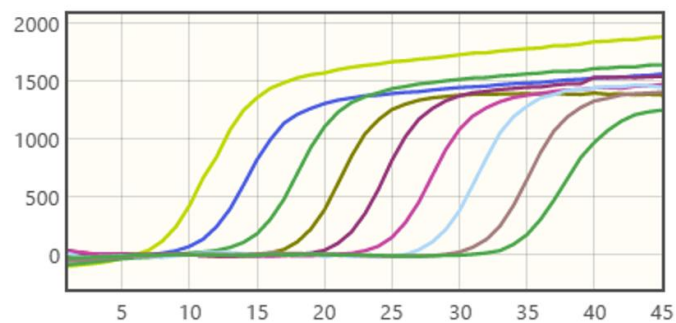
Rysunek 5. Seria rozcieńczeń matrycy RSV (od $2E+07$ do $2E+00$ kopii/ μ L) wykonana za pomocą BD MAX™ System (kanał 630/665 (Cy5)).



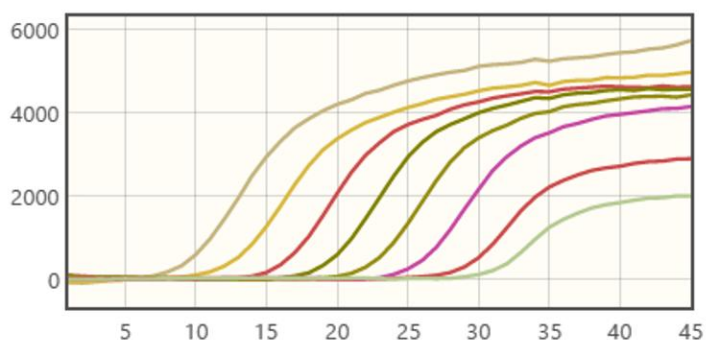
Rysunek 6. Seria rozcieńczeń matrycy wirusa paragrypy (od $2E+07$ do $2E+00$ kopii/ μ L) wykonana za pomocą BD MAX™ System (kanał 475/520 (FAM)).



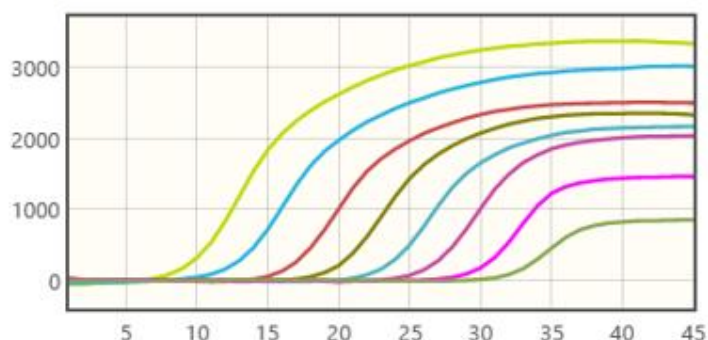
Rysunek 7. Seria rozcieńczeń matrycy koronawirusa (od $2E+07$ do $2E+00$ kopii/ μ L) wykonana za pomocą BD MAX™ System (kanał 530/565 (HEX)).



Rysunek 8. Seria rozcieńczeń matrycy metapneumowirusa (od $2E+07$ do $2E+00$ kopii/ μ L) wykonana za pomocą BD MAX™ System (kanał 585/630 (ROX)).



Rysunek 9. Seria rozcieńczeń matrycy adenowirusa (od 2E+07 do 2E+00 kopii/μL) wykonana za pomocą BD MAX™ System (kanał 630/665 (Cy5)).



12.2. Czulość analityczna. Granica wykrywalności (LoD)

Czulość analityczna lub granica wykrywalności (LoD) zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System została przeanalizowana za pomocą trzech partii przy użyciu ujemnych próbek z nosogardła, zebranych w BD™ Universal Viral Transport System, wzbogaconych referencyjnymi lub syntetycznym szczepami RNA, jak przedstawiono w poniższej tabeli:

Wirus	Szczep/syntetyczne RNA	Referencja zewnętrzna
SARS-CoV-2	Szczep SARS-CoV-2 inaktywowana termicznie 2019-n-CoV/USA-WA1/2020	VR-1986HK
Wirus grypy typu A	Wirus grypy typu A (H1N1) szczep A/PR/8/34	VR-95PQ
Wirus grypy typu B	Wirus grypy typu B (linia Yamagata) szczep B/Florida/4/2006	VR-1804PQ
RSV A	Ludzki wirus syncytialny dróg oddechowych typu A, szczep Long	VR-26PQ
RSV B	Ludzki wirus syncytialny dróg oddechowych typu B, szczep 9320	FR-293
Wirus paragrypy typu 1	Ludzki wirus paragrypy typu 1, szczep C35	VR-94
Wirus paragrypy typu 2	Ludzki wirus paragrypy typu 2, szczep Greer	VR-92
Wirus paragrypy typu 3	Ludzki wirus paragrypy typu 3, szczep C 243	VR-93
Wirus paragrypy typu 4	Ludzki wirus paragrypy 4b, szczep CH 19503	VR-1377
Koronawirus OC43	Betakoronawirus 1	VR-1558
Koronawirus 229E	Ludzki Koronawirus 229E	VR-740
Koronawirus NL63	Ludzki koronawirus, szczep NL63	FR-304
Koronawirus HKU1	Ilościowy syntetyczny RNA ludzkiego koronawirusa HKU1	ATCC-VR3262SD
Metapneumowirus	Ludzki metapneumowirus 8 (hMPV-8), typ B2, płyn hodowlany (inaktywowany termicznie)	0810159CF
Adenowirus	Ludzki adenowirus 1, szczep Adenoid 71	VR-1

Tabela 28. Szczepy referencyjne i syntetyczne RNA wykorzystywane do testów wydajności (test LoD) zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Ponadto w przypadku docelowego SARS-CoV-2, LoD (IU/ μ L) analizowano przy użyciu 1st WHO International Standard SARS-CoV-2 RNA (kod NIBSC 20/146). Wyniki LoD uzyskane dla zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System przedstawiono w poniższej tabeli:

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

Tabela 29. Wyniki granicy wykrywalności zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. IU = jednostka międzynarodowa, TCID50 = mediana dawki zakażnej hodowli tkankowej.

12.3. Zakres pomiarowy

Zakres pomiarowy testu określono, testując serię dziesięciokrotnych rozcieńczeń zawierających znane stężenie swoistego i syntetycznego kwasu nukleinowego (NA) należącego do wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy typu A, grypy typu B, wirusa RSV (typy A i B), paragrypy (typy 1, 2, 3 i 4), koronawirusa ludzkiego (229E, NL63, HKU1 i OC43), metapneumowirusa i adenowirusa. Wyniki pozwoliły potwierdzić prawidłowe wykrywanie docelowych patogenów w zakresie od 2E+07 do 2E+00 kopii/ μ L, z wyjątkiem HCoV-HKU1, którego zakres pomiarowy wynosi od 2E+06 do 2E+00 kopii/ μ L.

Podsumowując, zakres pomiarowy zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System został pomyślnie określony, co zapewnia uzyskiwanie wiarygodnych, dokładnych i powtarzalnych wyników w szerokim spektrum obciążeń wirusowych, co potwierdza jego przydatność w różnych scenariuszach diagnostyki klinicznej.

12.4. Dokładność

12.4.1. Prawdziwość

Wiarygodność zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System oceniono, testując materiał referencyjny wymieniony poniżej dodany do ujemnych próbek z jamy nosowo-gardłowej pobranych przy użyciu systemu BD™ Universal Viral Transport System.

1. Fragmenty syntetycznego DNA

- Fragment syntetycznego DNA genu *ORF1* wirusa SARS-CoV-2: NCOXPC, kanał FAM.
- Fragment syntetycznego DNA genu N wirusa SARS-CoV-2: NCOXPC, kanał FAM.

- Fragment syntetycznego DNA genu *M1* wirusa grypy typu A: YIAXPC, kanał ROX.
- Syntetyczny fragment DNA genu *HA* wirusa grypy typu A: HNVXPC, kanał ROX.
- Fragment syntetycznego DNA genu *M1* wirusa grypy typu B: YIBXPC, kanał HEX.
- Fragment syntetycznego DNA genu N wirusa RSV A: RSAXPC, kanał Cy5.
- Fragment syntetycznego DNA genu N wirusa RSV B: RSBXPC, kanał Cy5.
- Fragment syntetycznego DNA genu *HN* wirusa paragrypy 1: PIXPC, kanał FAM.
- Fragment syntetycznego DNA genu *HN* wirusa paragrypy 2: PIXPC, kanał FAM.
- Fragment syntetycznego DNA genu *HN* wirusa paragrypy 3: PIXPC, kanał FAM.
- Fragment syntetycznego DNA genu *F* wirusa paragrypy 4: PIXPC, kanał FAM.
- Fragment syntetycznego DNA genu *N* koronawirusa OC43: CORXPC, kanał HEX.
- Fragment syntetycznego DNA genu N koronawirusa-229E: CORXPC, kanał HEX.
- Fragment syntetycznego DNA genu *N* koronawirusa-NL63: CORXPC, kanał HEX.
- Fragment syntetycznego DNA genu *N* koronawirusa HKU1: CORXPC, kanał HEX.
- Fragment syntetycznego DNA genu *F* metapneumowirusa: MPVXPC, kanał ROX.
- Fragment syntetycznego DNA genu *hexon* adenowirusa: ADVXPC, kanał Cy5.

Wszystkie fragmenty syntetycznego DNA zostały wykryte prawidłowo w odpowiednim kanale.

2. Zbiór kultur typu amerykańskiego (American Type Culture Collection, „ATCC®”)

Referencja zewnętrzna	Mikroorganizm	Nazwa produktu	Odmiana	Wynik
VR-1986HK	SARS-CoV-2	Heat-inactivated SARS-CoV-2	2019-nCoV/USA-WA1/2020	Wykryty
VR-3276SD	SARS-CoV-2	Quantitative Synthetic SARS-CoV-2 RNA: ORF, E, N	NIE DOTYCZY	Wykryty
VR-1986D	SARS-CoV-2	Genomic RNA from 2019 Novel Coronavirus	Koronawirus 2 powiązany z SARS, izolowany USA-WA1/2020	Wykryty
VR-95PQ	Grypa typu A	Influenza A virus (H1N1), Purified	A/PR/8/34	Wykryty
VR-1804PQ	Grypa typu B	Influenza B virus (Yamagata Lineage), Purified	B/Florida/4/2006	Wykryty
VR-26PQ	RSV-A	Human respiratory syncytial virus, High titer	Szczep Long	Wykryty
VR-94	Wirus paragrypy 1	Human parainfluenza virus 1 (HPIV-1)	Szczep C35	Wykryty
VR-92	Wirus paragrypy 2	Human parainfluenza virus 2 (HPIV-2)	Szczep Greer	Wykryty
VR-93	Wirus paragrypy 3	Human parainfluenza virus 3 (HPIV-3)	Szczep C 243	Wykryty

VR-1377	Wirus paragrypy 4	Human parainfluenza virus 4 (HPIV-4b)	Szczep CH 19503	Wykryty
VR-1558	Koronawirus OC43	Betacoronavirus 1	Szczep OC43	Wykryty
VR-740	Koronawirus 229E	Human coronavirus 229E	Szczep 229E	Wykryty
VR-3262SD	Koronawirus HKU1	Quantitative Synthetic Human Coronavirus Strain HKU1 RNA	Szczep HKU1	Wykryty
VR-3263SD	Koronawirus NL63	Quantitative Synthetic Human coronavirus Strain NL63 RNA	Szczep NL63	Wykryty
VR-3250SD	Metapneumowirus	Synthetic Human metapneumovirus RNA	NIE DOTYCZY	Wykryty
VR-1	Adenowirus	Human adenovirus 1	Szczep Adenoid 71	Wykryty
VR-6	Adenowirus	Human Adenovirus 6	Typ 6 (gatunek C) szczep Tonsil 99	Wykryty
VR-16	Adenowirus	Human Adenovirus 15	Typ 15 (gatunek D) szczep 305 [955, CH. 38]	Wykryty
VR-3343	Adenowirus	Human adenovirus 31	Typ 31 (gatunek A) szczep 1315/63	Wykryty

Tabela 30. Materiał referencyjny ze Zbioru kultur typu amerykańskiego (American Type Culture Collection, ATCC®).

Wszystkie szczepy z ATCC zostały prawidłowo wykryte w odpowiednim kanale, a EIC wykazała amplifikację o wartości $C_t \leq 35$.

3. Międzynarodowy zasób odczynników (The International Reagent Resource, IRR™)

Referencja zewnętrzna	Mikroorganizm	Nazwa produktu	Odmiana	Wynik
FR-293	RSV-B	Human Respiratory Syncytial Virus B	Szczep 9320	Wykryty
FR-304	Koronawirus NL63	Human Coronavirus, Strain NL63	Szczep NL63	Wykryty
FR-1	Grypa typu A	Influenza A virus	A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	Wykryty
FR-3	Grypa typu A	Influenza A virus	A/South Dakota/6/2007 (H1N1)	Wykryty
FR-5	Grypa typu A	Influenza A virus	A/Hawaii/31/2007 (H1N1)	Wykryty
FR-6	Grypa typu A	Influenza A virus	A/Qatar/1123/2007 (H1N1)	Wykryty
FR-7	Grypa typu A	Influenza A virus	A/Cambodia/0371/2007 (H1N1)	Wykryty
FR-8	Grypa typu A	Influenza A virus	A/Brisbane/10/2007 (H3N2)	Wykryty

FR-12	Grypa typu A	Influenza A virus	A/Taiwan/760/2007 (H3N2)	Wykryty
FR-13	Grypa typu A	Influenza A virus	A/Texas/71/2007 (H3N2)	Wykryty
FR-27	Grypa typu A	Influenza A virus	A/Brisbane/10/2007 IVR-147 (H3N2)	Wykryty
FR-28	Grypa typu A	Influenza A virus	A/Brisbane/59/2007 IVR-148 (H1N1)	Wykryty
FR-29	Grypa typu A	Influenza A virus	A/South Dakota/6/2007 X-173 (H1N1)	Wykryty
FR-201	Grypa typu A	Influenza A virus	A/California/07/2009 (H1N1)pdm09	Wykryty
FR-202	Grypa typu A	Influenza A virus	A/California/08/2009 (H1N1)pdm09	Wykryty
FR-203	Grypa typu A	Influenza A virus	A/New York/18/2009 (H1N1)pdm09	Wykryty
FR-245	Grypa typu A	Influenza A virus	A/Mexico/4108/2009 (H1N1)pdm09	Wykryty
FR-246	Grypa typu A	Influenza A virus	A/California/07/2009 NYMC X-179A (H1N1)pdm09	Wykryty
FR-16	Grypa typu B	Influenza B virus	B/Pennsylvania/7/2007 (linia Yamagata)	Wykryty
FR-17	Grypa typu B	Influenza B virus	B/Santiago/4364/2007 (linia Yamagata)	Wykryty
FR-18	Grypa typu B	Influenza B virus	B/Brisbane/3/2007 (linia Yamagata)	Wykryty
FR-19	Grypa typu B	Influenza B virus	B/Pennsylvania/5/2007 (linia Victoria)	Wykryty
FR-20	Grypa typu B	Influenza B virus	B/Victoria/304/2006 (linia Victoria)	Wykryty
FR-183	Grypa typu B	Influenza B virus	B/Bangladesh/3333/2007 (linia Yamagata)	Wykryty
FR-294	RSV A	Human Respiratory Syncytial Virus	Szczep A-2	Wykryty

Tabela 31. Materiał referencyjny z Międzynarodowego zasobu odczynników (International Reagent Resource, IRR™).

Wszystkie szczepy z IRR zostały prawidłowo wykryte w odpowiednim kanale, a EIC wykazała amplifikację o wartości Ct ≤ 35 .

4. Krajowy Instytut Standardów i Kontroli Biologicznej (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC)

Referencja zewnętrzna	Mikroorganizm	Nazwa produktu	Odmiana	Wynik
20/146	SARS-CoV-2	First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA	England/02/2020, izolat	Wykryty

20/110	SARS-CoV-2	2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) Working Reagent for NAT	NIE DOTYCZY	Wykryty
19/304	SARS-CoV-2	Research Reagent for SARS-CoV-2 RNA	NIE DOTYCZY	Wykryty
08/176	Wirus paragrypy 1	Parainfluenza Virus Serotype 1	NIE DOTYCZY	Wykryty
08/178	Wirus paragrypy 2	Parainfluenza Virus Serotype 2	NIE DOTYCZY	Wykryty
08/180	Wirus paragrypy 4	Parainfluenza Virus Serotype 1	NIE DOTYCZY	Wykryty
08/320	Metapneumowirus	Human Metapneumovirus Working Reagent for NAT	NIE DOTYCZY	Wykryty
16/324	Adenowirus	First WHO International Standard for Human Adenovirus DNA	Typ 2	Wykryty

Tabela 32. Materiał referencyjny z Krajowego Instytutu Standardów i Kontroli Biologicznej (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC).

Wszystkie szczepy z NIBSC zostały prawidłowo wykryte w odpowiednim kanale, a EIC wykazała amplifikację o wartości $Ct \leq 35$.

5. Zasoby BEI

Referencja zewnętrzna	Mikroorganizm	Nazwa produktu	Odmiana	Wynik
NR-52287	SARS-CoV-2	SARS-Related Coronavirus 2	Izolat USA-WA1/2020, napromieniowany promieniami gamma	Wykryty
NR-28530	RSV	Human Respiratory Syncytial Virus, A2000/3-4	Szczep A2000/3-4	Wykryty
NR-22227	Metapneumowirus	Human metapneumovirus	TN/83-1211	Wykryty

Tabela 33. Materiał referencyjny z zasobów BEI.

Wszystkie szczepy z zasobów BEI zostały prawidłowo wykryte w odpowiednim kanale, a EIC wykazała amplifikację o wartości $Ct \leq 35$.

6. Materiał kontrolny

Referencja zewnętrzna	Mikroorganizm	Nazwa produktu	Odmiana	Wynik
Fluarix Tetra 2022/2023	Flu A/Flu B	Influenza vaccine Fluarix Tetra 2022/2023	Flu A/Victoria/2570/2019 Flu A/Darwin/6/2021 Flu B/Austria/1359417/2021 Flu B/Phuket/3073/2013	Wykryty
Fluarix Tetra 2023/2024	Flu A/Flu 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	Wykryty

102019	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 1	Wirus SARS-CoV-2 izolat Australia/VIC01/2020	Wykryty
102024	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 2	Wirus SARS-CoV-2 izolat Wuhan-Hu-1	Wykryty
103907	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 14	Wariant brytyjski (B.1.1.7_710528)	Wykryty
103909	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 15	Wariant brytyjski (B.1.1.7_601443)	Wykryty
104043	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 16	Wariant południowoafrykański	Wykryty
104044	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 17	Wariant japońsko-brazylijski	Wykryty
0505-0129	SARS-CoV-2	Accuplex™ SARS-CoV-2 Verification Panel	NIE DOTYCZY	Wykryty
MBC139-R	SARS-CoV-2	AMPLIRUN® SARS-CoV-2 B.1.351 RNA CONTROL	Linia B.1.351	Wykryty
MBTC030-R	SARS-CoV-2	AMPLIRUN® TOTAL SARS-CoV-2 CONTROL	Linia B.1.351	Wykryty
MBTC031-R	SARS-CoV-2, grypa typu A, grypa typu B i RSV	AMPLIRUN® TOTAL SARS-CoV-2/FLUA/FLUB/RSV CONTROL	Grypa typu A H3N2 (A/Perth/16/2009), Grypa typu B (B/Brisbane/60/2008), RSV (9320)	Wykryty
MBC144-R	MPV	AMPLIRUN® METAPNEUMOVIRUS RNA CONTROL	Linia B1	Wykryty
SCV2_24C1B-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Delta variant	Wariant Delta B.1.617.2	Wykryty
SCV2_23C1D-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Podlinia XBB	Wykryty
SCV2_23C1D-02	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Podlinia BQ1.1	Wykryty
SCV2_23C1D-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Podlinia BA.2.75	Wykryty
SCV2_23C1D-04	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Podlinia BA.5	Wykryty
SCV2_23C1D-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Podlinia BQ.1	Wykryty
SCV2_23C1B-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Podlinia BA.4	Wykryty
SCV2_23C1B-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Podlinia BA.5	Wykryty
SCV2_23C1B-04	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Podlinia BA.4	Wykryty
SCV2_23C1B-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Podlinia BA.2	Wykryty
SCV2_23C1C-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Podlinia BA.2.75	Wykryty
SCV2_23C1C-02	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Podlinia BQ.1	Wykryty

SCV2_23C1C-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Podlinia BQ1.1	Wykryty
SCV2_23C1C-04	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Podlinia XBB	Wykryty
SCV2_23C1C-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Podlinia BA.2	Wykryty
SCV2_23C1A-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Podlinia BA.5	Wykryty
SCV2_23C1A-02	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Podlinia BA.2	Wykryty
SCV2_23C1A-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Podlinia BA.5	Wykryty
SCV2_23C1A-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Podlinia BA.4	Wykryty
ID3-09 2023	RSV	Influenza A virus	Szczep A/Cambodia/e0826360/2020 (H3N2)	Wykryty
359043	RSV	Human Respiratory Syncytial Virus, B	NIE DOTYCZY	Wykryty
PINFRNA101S-06	Wirus paragrypy typu 2	PIV-2	NIE DOTYCZY	Wykryty
PINFRNA22S-02	Wirus paragrypy typu 3	PIV-3	NIE DOTYCZY	Wykryty
CVRNA22S-04	Coronavirus	Coronavirus HKU	Szczep HKU	Wykryty
0810110CF	Adenowirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 2	Typ 2 (gatunek C)	Wykryty
0810062CFHI	Adenowirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 3	Typ 3 (gatunek B)	Wykryty
0810070CFHI	Adenowirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 4	Typ 4 (gatunek E)	Wykryty
0810020CF	Adenowirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 5	Typ 5 (gatunek C)	Wykryty
0810021CFHI	Adenowirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 7A	Typ 7A (gatunek B)	Wykryty
0810119CFHI	Adenowirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 37	Typ 37	Wykryty
0810084CFHI	Adenowirus	Adenovirus Type 40 Culture Fluid (Heat Inactivated) Strain Dugan	Typ 40, szczep Dugan	Wykryty
0810085CFHI	Adenowirus	Adenovirus Type 41 Culture Fluid (Heat Inactivated) Strain Tak	Typ 41 (gatunek F), szczep Tak	Wykryty
0810159CF	MPV	Human Metapneumovirus 8	Typ B2	Wykryty

Tabela 34. Materiał kontrolny dla wirusa SARS-CoV-2, grypy typu A, grypy typu B, RSV, paragrypy, koronawirusa, metapneumowirusa i adenowirusa.

Wszystkie szczepy zostały prawidłowo wykryte w odpowiednim kanale, a EIC wykazała amplifikację o wartości $C_t \leq 35$.

7. Programy zewnętrznej oceny jakości (External Quality Assessment, EQA)

Łącznie przeanalizowano 85 próbek zawierających wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy typu A, wirusa grypy typu B, RSV, wirusa paragrypy, koronawirusa, metapneumowirusa i/lub adenowirusa, wśród innych niedocelowych mikroorganizmów, pochodzących z programów QCMD, INSTAND, CAP i RCPA, wykazując wysoką zgodność.

12.4.2. Precyzja

Aby określić precyzję zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, przeprowadzono testy wewnątrzserijne (powtarzalność), międzyseryjne, między partiami i między urządzeniami (odtwarzalność), z wymazem z jamy nosowo-gardłowej pobranym za pomocą BD™ Universal Viral Transport System, wzbogaconym o szczepy referencyjne wymienione w tabeli 28 dla reprezentatywnych celów wybranych dla każdego kanału fluorescencji: SARS-CoV-2, grypa typu A, grypa typu B, RSV B, wirus paragrypy typu 3, koronawirus OC43, metapneumowirus i adenowirus.

Testy wewnątrzseryjne

Wewnątrzserijne testy przeprowadzono, analizując sześć powtórzeń wszystkich próbek w tym samym cyklu, używając zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Podsumowanie wyników przedstawiono w poniższych tabelach.

Respiratory Virus Mix / reaction tube					
Wykrywany element	Próbki	Kanał	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
	Kontrola ujemna	475/520 (FAM)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Wirus grypy typu B	2xLoD	530/565 (HEX)	32,98	0,53	1,62
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,32	0,52	1,68
	Kontrola ujemna	530/565 (HEX)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Wirus grypy typu A	2xLoD	585/630 (ROX)	33,45	1,35	4,03
	5xLoD	585/630 (ROX)	31,37	0,67	2,15
	Kontrola ujemna	585/630 (ROX)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
RSV	2xLoD	630/665 (CY5)	32,18	1,49	4,64
	5xLoD	630/665 (CY5)	31,02	0,56	1,79
	Kontrola ujemna	630/665 (CY5)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	26,17	0,38	1,46
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,97	0,50	1,93
	Kontrola ujemna	680/715 (CY5.5)	26,37	0,91	3,46

Tabela 35. Wyniki testów wewnątrzserijnych zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = cykl progowy, ($\bar{x}$) = średnia arytmetyczna wartość Ct, (σ) = odchylenie standardowe, (CV%) = współczynnik zmienności, NEG = ujemny, N/A = nie dotyczy.

<i>Respiratory Virus Mix II reaction tube</i>					
Wykrywany element	Próbki	Kanał	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Wirus paragrypy	2xLoD	475/520 (FAM)	32,13	0,56	1,76
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,97	1,16	3,88
	Kontrola ujemna	475/520 (FAM)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Koronawirus	2xLoD	530/565 (HEX)	34,23	0,73	2,14
	5xLoD	530/565 (HEX)	32,03	0,85	2,65
	Kontrola ujemna	530/565 (HEX)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Metapneumowirus	2xLoD	585/630 (ROX)	31,53	0,66	2,09
	5xLoD	585/630 (ROX)	29,63	0,77	2,61
	Kontrola ujemna	585/630 (ROX)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Adenowirus	2xLoD	630/665 (CY5)	34,35	0,10	0,31
	5xLoD	630/665 (CY5)	33,55	1,39	4,15
	Kontrola ujemna	630/665 (CY5)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,72	0,53	2,08
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,57	0,61	2,39
	Kontrola ujemna	680/715 (CY5.5)	25,63	0,23	0,91

Tabela 36. Wyniki testów wewnątrzserijnych zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = cykl progowy, ($\bar{x}$) = średnia arytmetyczna wartość Ct, (σ) = odchylenie standardowe, (CV%) = współczynnik zmienności, NEG = ujemny, N/A = nie dotyczy.

Testy międzyseryjne

Testy międzyseryjne przeprowadzono, testując cztery replikaty różnych próbek w trzy różne dni przez trzech różnych operatorów, przy użyciu zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Podsumowanie wyników przedstawiono w poniższych tabelach.

<i>Respiratory Virus Mix I reaction tube</i>					
Wykrywany element	Próbki	Kanał	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
	Kontrola ujemna	475/520 (FAM)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Wirus grypy typu B	2xLoD	530/565 (HEX)	32,61	0,66	2,03
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,55	0,46	1,45
	Kontrola ujemna	530/565 (HEX)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Wirus grypy typu A	2xLoD	585/630 (ROX)	32,94	0,99	2,99
	5xLoD	585/630 (ROX)	31,95	0,76	2,37
	Kontrola ujemna	585/630 (ROX)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
RSV	2xLoD	630/665 (CY5)	32,80	0,74	2,27
	5xLoD	630/665 (CY5)	31,67	0,53	1,68

	Kontrola ujemna	630/665 (CY5)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,90	0,25	0,95
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,99	0,40	1,55
	Kontrola ujemna	680/715 (CY5.5)	25,84	0,31	1,21

Tabela 37. Wyniki testów międzysejnych zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = cykl progowy, ($\bar{x}$) = średnia arytmetyczna wartość Ct, (σ) = odchylenie standardowe, (CV%) = współczynnik zmienności, NEG = ujemny, N/A = nie dotyczy.

<i>Respiratory Virus Mix II reaction tube</i>					
Wykrywany element	Próbki	Kanał	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Wirus paragrypy	2xLoD	475/520 (FAM)	31,86	0,71	2,22
	5xLoD	475/520 (FAM)	30,18	0,82	2,72
	Kontrola ujemna	475/520 (FAM)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Koronawirus	2xLoD	530/565 (HEX)	33,45	0,76	2,27
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,56	0,96	3,04
	Kontrola ujemna	530/565 (HEX)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Metapneumowirus	2xLoD	585/630 (ROX)	30,79	0,93	3,01
	5xLoD	585/630 (ROX)	29,68	0,88	2,97
	Kontrola ujemna	585/630 (ROX)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Adenowirus	2xLoD	630/665 (CY5)	35,08	1,62	4,61
	5xLoD	630/665 (CY5)	33,20	0,77	2,33
	Kontrola ujemna	630/665 (CY5)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,49	0,31	1,21
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,65	0,33	1,30
	Kontrola ujemna	680/715 (CY5.5)	25,52	0,31	1,21

Tabela 38. Wyniki testów międzysejnych zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = cykl progowy, ($\bar{x}$) = średnia arytmetyczna wartość Ct, (σ) = odchylenie standardowe, (CV%) = współczynnik zmienności, NEG = ujemny, N/A = nie dotyczy.

Testy międzypartiowe

Wartości z testów międzypartowych określono na podstawie sześciu replikatów różnych próbek z użyciem trzech partii zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Podsumowanie wyników przedstawiono w poniższych tabelach.

<i>Respiratory Virus Mix I reaction tube</i>					
Wykrywany element	Próbki	Kanał	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
	Kontrola ujemna	475/520 (FAM)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Wirus grypy typu B	2xLoD	530/565 (HEX)	32,58	0,64	1,95
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,01	1,03	3,31

	Kontrola ujemna	530/565 (HEX)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Wirus grypy typu A	2xLoD	585/630 (ROX)	32,75	1,7	5,33
	5xLoD	585/630 (ROX)	31,61	1,14	3,62
	Kontrola ujemna	585/630 (ROX)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
RSV	2xLoD	630/665 (CY5)	31,72	1,90	5,99
	5xLoD	630/665 (CY5)	30,21	1,35	4,46
	Kontrola ujemna	630/665 (CY5)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,40	0,31	1,23
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,61	0,53	2,06
	Kontrola ujemna	680/715 (CY5.5)	25,54	0,37	1,45

Tabela 39. Wyniki międzypartiowe w przypadku testu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = cykl progowy, ($\bar{x}$) = średnia arytmetyczna wartość Ct, (σ) = odchylenie standardowe, (CV%) = współczynnik zmienności, NEG = ujemny, N/A = nie dotyczy.

Respiratory Virus Mix II reaction tube					
Wykrywany element	Próbki	Kanał	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Wirus paragrypy	2xLoD	475/520 (FAM)	31,45	1,20	3,82
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,53	0,59	1,99
	Kontrola ujemna	475/520 (FAM)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Koronawirus	2xLoD	530/565 (HEX)	32,35	0,71	2,20
	5xLoD	530/565 (HEX)	30,18	1,33	4,39
	Kontrola ujemna	530/565 (HEX)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Metapneumowirus	2xLoD	585/630 (ROX)	31,66	1,00	3,16
	5xLoD	585/630 (ROX)	29,16	1,25	4,29
	Kontrola ujemna	585/630 (ROX)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Adenowirus	2xLoD	630/665 (CY5)	33,23	0,70	2,12
	5xLoD	630/665 (CY5)	32,83	1,06	3,23
	Kontrola ujemna	630/665 (CY5)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	24,82	0,43	1,73
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,57	0,42	1,64
	Kontrola ujemna	680/715 (CY5.5)	25,03	0,36	1,43

Tabela 40. Wyniki międzypartiowe w przypadku testu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = cykl progowy, ($\bar{x}$) = średnia arytmetyczna wartość Ct, (σ) = odchylenie standardowe, (CV%) = współczynnik zmienności, NEG = ujemny, N/A = nie dotyczy.

Testy międzyprzrzędowe

Wartości z testów międzyprzrzędowych określono na podstawie sześciu replikatów tych samych próbek użytych do testów wewnątrzseryjnych, międzyseryjnych i międzypartiowych przy użyciu zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Te testy przeprowadzono w dwóch lokalizacjach laboratoryjnych, z wykorzystaniem dwóch różnych systemów BD MAX™ System. Podsumowanie wyników przedstawiono w poniższych tabelach.

<i>Respiratory Virus Mix I reaction tube</i>					
Wykrywany element	Próbki	Kanał	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
	Kontrola ujemna	475/520 (FAM)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Wirus grypy typu B	2xLoD	530/565 (HEX)	32,70	0,42	1,29
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,26	0,45	1,43
	Kontrola ujemna	530/565 (HEX)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Wirus grypy typu A	2xLoD	585/630 (ROX)	33,33	1,47	4,42
	5xLoD	585/630 (ROX)	31,52	0,61	1,92
	Kontrola ujemna	585/630 (ROX)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
RSV	2xLoD	630/665 (CY5)	32,80	0,76	2,33
	5xLoD	630/665 (CY5)	30,88	1,30	4,20
	Kontrola ujemna	630/665 (CY5)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	35,97	0,32	1,24
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,71	0,33	1,28
	Kontrola ujemna	680/715 (CY5.5)	25,96	0,37	1,44

Tabela 41. Wyniki międzyprzrządowe w przypadku testu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = cykl progowy, ($\bar{x}$) = średnia arytmetyczna wartość Ct, (σ) = odchylenie standardowe, (CV%) = współczynnik zmienności, NEG = ujemny, N/A = nie dotyczy.

<i>Respiratory Virus Mix II reaction tube</i>					
Wykrywany element	Próbki	Kanał	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Wirus paragrypy	2xLoD	475/520 (FAM)	31,95	0,83	2,61
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,79	0,95	3,18
	Kontrola ujemna	475/520 (FAM)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Koronawirus	2xLoD	530/565 (HEX)	34,26	0,74	2,15
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,95	0,61	1,91
	Kontrola ujemna	530/565 (HEX)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Metapneumowirus	2xLoD	585/630 (ROX)	31,59	0,50	1,58
	5xLoD	585/630 (ROX)	29,51	1,03	3,48
	Kontrola ujemna	585/630 (ROX)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
Adenowirus	2xLoD	630/665 (CY5)	34,14	0,72	2,12
	5xLoD	630/665 (CY5)	32,31	0,36	1,13
	Kontrola ujemna	630/665 (CY5)	Neg	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,35	0,22	0,85
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,10	0,22	0,87
	Kontrola ujemna	680/715 (CY5.5)	25,73	0,28	1,11

Tabela 42. Wyniki międzyprzrządowe w przypadku testu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = cykl progowy, ($\bar{x}$) = średnia arytmetyczna wartość Ct, (σ) = odchylenie standardowe, (CV%) = współczynnik zmienności, NEG = ujemny, N/A = nie dotyczy.

Podsumowując, badanie precyzji potwierdziło niezawodne działanie i spójność zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

12.5. Przeniesienie

Badanie odporności (parametru przeniesienia) przeprowadzono zgodnie ze wspólnymi specyfikacjami dla określonych wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro (IVD) klasy D, zgodnie z Rozporządzeniem (UE) 2017/746, w szczególności z załącznikiem XIII, który ustanawia wspólne specyfikacje dla wyrobów przeznaczonych do wykrywania lub oznaczania markerów zakażenia wirusem SARS-CoV-2. Poniższe zalecenia dotyczyły wyłącznie docelowego wirusa SARS-CoV-2, pozostałe cele próbki zawarte w próbówce reakcyjnej *Respiratory Virus Mix I* nie były analizowane w tym teście. Jednak wirus paragrypy typu 3 również został przeanalizowany jako cel próbki zawartej w próbówce reakcyjnej *Respiratory Virus Mix II* w celu przeprowadzenia testu z obu mieszaninami wzorcowymi.

Współczynnik skażenia transferowego (carry-over contamination rate) określono, testując 60 replikatów ujemnych próbek wymazów z nosogardła i 60 replikatów dodatniej próbki RNA SARS-CoV-2 z wysokim mianem RNA wirusa SARS-CoV-2 (pierwszy międzynarodowy standard WHO dla SARS-CoV-2 RNA (kod NIBSC: 20/146) w stężeniu 1E+02 IU/mL) oraz dodatniej próbki RNA wirusa ludzkiego paragrypy typu 3 z wysokim mianem RNA wirusa HPIV 3 (wirus ludzki paragrypy 3 (kod ATCC: VR-93™), w stężeniu 1E+05 TCID50/mL). Łącznie wykonano pięć cykli próbek dodatnich i ujemnych, stosując metodę testu opartą na układzie szachownicy, która pozwala na naprzemienne rozmieszczanie próbek.

W przypadku próbki zawartej w próbówce reakcyjnej *Respiratory Virus Mix I* wykryto poprawnie 60 z 60 próbek dodatnich, a 59 z 60 próbek ujemnych dało wynik ujemny, co daje zgodność na poziomie 98,33%. W przypadku próbki zawartej w próbówce reakcyjnej *Respiratory Virus Mix II* wykryto poprawnie wszystkie próbki dodatnie, a wszystkie próbki ujemne dały wynik ujemny. Zgodnie z wynikami dla obu próbek reakcyjnych, wskaźnik skażenia krzyżowego wynosił prawie 0%.

12.6. Wskaźnik awaryjności całego systemu

Odporność (parametr wskaźnika awaryjności całego systemu) została oceniona zgodnie ze wskazaniem wspólnych specyfikacji dotyczącymi wyrobów medycznych przeznaczonych do wykrywania lub oznaczania markerów zakażenia wirusem SARS-CoV-2. Ponieważ zalecenia te dotyczyły wyłącznie docelowego wirusa SARS-CoV-2, pozostałe cele nie były analizowane w tym teście.

Aby wykazać, że nisko dodatnie próbki RNA SARS-CoV-2 są wykrywane przez zestaw VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, 119 ujemnych próbek wymazów z nosogardła wzbogaconych preparatem Pierwszy międzynarodowy standard WHO RN dla wirusa SARS-CoV-2 (kod NIBSC: 20/146) o stężeniu wirusa równoważnym trzykrotności LoD (3xLoD) przebadano za pomocą testu VIASURE.

Wyniki badania wskazują, że wszystkie replikaty były reaktywne na docelowe RNA wirusa SARS-CoV-2, co odpowiada wskaźnikowi zgodności 100%. Podsumowując, wskaźnik awaryjności całego systemu wynosi 0%.

12.7. Swoistość i reaktywność analityczna

Ocenę swoistości i reaktywności analitycznej zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System przeprowadzono *in silico* oraz eksperymentalnie przy użyciu różnych materiałów wyjściowych, takich jak certyfikowane szczepy referencyjne, certyfikowane referencyjne RNA/DNA oraz materiał z programów EQA.

12.7.1. Swoistość analityczna

Swoistość analityczna to zdolność testu do detekcji zamierzonego celu – wykrywanego elementu. W przypadku swoistości analitycznej należy wziąć pod uwagę dwa elementy: reaktywność krzyżową oraz interferencje. Reaktywność krzyżowa może wystąpić, gdy w próbce pacjenta obecne są genetycznie spokrewnione sekwencje, natomiast interferencje mogą wystąpić, jeśli obecność specyficznych substancji potencjalnie obecnych w matrycach próbek wpływa na działanie RT-qPCR.

Analiza reaktywności krzyżowej *in silico*

Reaktywność krzyżową oceniono przy użyciu sekwencji referencyjnych patogenów z NCBI Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), oraz wewnętrznego oprogramowania do analizy bioinformatycznej. Przeprowadzono analizę BLAST dla każdego startera i sondy w oparciu o bazę danych nukleotydów NCBI Genbank Nucleotide Database oraz wewnętrzną analizę bioinformatyczną.

Uznano, że sekwencje o homologii poniżej 80% są mało prawdopodobne do amplifikacji. Uzyskane wyniki wykazały, że **wszystkie analizowane sekwencje miały homologię poniżej 80% w przypadku zestawów starterów i sond SARS-CoV-2, grypy typu A, grypy typu B i RSV (typy A i B) zawartych w próbce zawartej w próbce reakcyjnej Respiratory Virus Mix I, paragrypy (typy 1, 2, 3 i 4), koronawirusa ludzkiego (229E, NL63 i HKU1), metapneumowirusa i adenowirusa zawartych w próbce z próbki reakcyjnej Respiratory Virus Mix II.**

W przypadku koronawirusa OC43 uzyskano następujące wyniki:

Koronawirus OC43

Analiza BLAST filtrowana według koronawirusa OC43 (z wyłączeniem OC43 Taxonomy ID: 31631) wykazuje wysoką homologię między starterami i sondami oraz betakoronawirusem 1 ze szczepów bydła, bawoła, oryksa, żyrafy, wielbłąda, psa, konia, świni, królika, antylopy szablrogiej, jelenia sambara, tapira, jelenia wodnego, kobu watussi, jelenia wirginijskiego, jaka. Jednak wirusy te nie zostały zidentyfikowane

u ludzi i nie są obecnie uważane za wirusy zoonotyczne, więc nie wpływają na wykrywanie koronawirusa OC43.

Dlatego też żadna z analizowanych sekwencji, w tym wykazujących homologię wyższą niż 80%, nie może wpływać na prawidłowe wykrywanie koronawirusa OC43.

Podsumowując, konstrukcje docelowe wirusów SARS-CoV-2, grypy typu A, grypy typu B, RSV (typy A i B), paragrypy (typy 1, 2, 3 i 4), koronawirusa ludzkiego (229E, NL63, HKU1 i OC43), metapneumowirusa i adenowirusa zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System nie powinny powodować fałszywych dodatnich wyników w wykrywaniu tych mikroorganizmów przy obecności innych mikroorganizmów.

Swoistość analityczna badania eksperymentalne

Reaktywność krzyżowa badania eksperymentalne

Reaktywność krzyżową zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System potwierdzono, testując panel różnych mikroorganizmów związanych z zakażeniami układu oddechowego dodanych do wymazu z nosogardła pobranego za pomocą BD™ Universal Viral Transport System. W miarę możliwości i dostępności danych dotyczących stężenia, zakłcające mikroorganizmy oceniano w istotnych klinicznie stężeniach (zwykle od 1E+05 do 1E+06 jtk (jednostki tworzące kolonie)/mL w przypadku bakterii oraz od 1E+04 do 1E+05 jtp (jednostki tworzące płytkę)/mL w przypadku wirusów). Nie wykryto reaktywności krzyżowej w odniesieniu do żadnego z poniższych przebadanych mikroorganizmów, z wyjątkiem mikroorganizmów stanowiących cel – wykrywany element.

Badanie reaktywności krzyżowej					
Adenowirus typu 15 (gatunek D), szczep 35 [955, CH.38]	+/-	Wirus grypy typu A A/Cambodia/e0826360/2020 (H3N2)	+/-	SARS-CoV-2	+/-
Adenowirus typu 2, gatunek C	+/-	Wirus grypy typu A A/Hawaii/31/2007 (H1N1)	+/-	SARS-CoV-2	+/-
Adenowirus typu 3, gatunek B	+/-	Wirus grypy typu A A/Mexico/4108/2009 (H1N1)pdm09	+/-	Wirus SARS-CoV-2 B.1.1.7_601443, wariant brytyjski	+/-
Adenowirus typu 31 (gatunek A), szczep 1315/63	+/-	Wirus grypy typu A A/New York/18/2009 (H1N1)pdm09	+/-	Wirus SARS-CoV-2 B.1.1.7_710528, wariant brytyjski	+/-
Adenowirus typu 37	+/-	Wirus grypy typu A A/Qatar/1123/2007 (H1N1)	+/-	SARS-CoV-2 B.1.351	+/-
Adenowirus typu 4, gatunek E	+/-	Wirus grypy typu A A/South Dakota/6/2007 (H1N1)	+/-	Koronawirus 2 SARS-CoV-2, szczep 2019-nCoV/USA-WA1/2020	+/-
Adenowirus typu 40, szczep Dugan	+/-	Wirus grypy typu A A/South Dakota/6/2007 X-173 (H1N1)	+/-	Wirus SARS-CoV-2 Delta, wariant B.1.617.2	+/-
Adenowirus typu 41 (gatunek F), szczep Tak	+/-	Wirus grypy typu A A/Taiwan/760/2007 (H3N2)	+/-	Wirus SARS-CoV-2 Omicron, sublinia BA.2	+/-
Adenowirus typu 5, gatunek C	+/-	Wirus grypy typu A A/Texas/71/2007 (H3N2)	+/-	Wirus SARS-CoV-2 Omicron, sublinia BA.2	+/-
Adenowirus typu 6 (gatunek C), szczep Tonsil 99	+/-	Wirus grypy typu B B/Bangladesh/3333/2007 (linia Yamagata)	+/-	Wirus SARS-CoV-2 Omicron, sublinia BA.2	+/-
Adenowirus typu 7A, gatunek B	+/-	Wirus grypy typu B B/Brisbane/3/2007 (linia Yamagata)	+/-	Wirus SARS-CoV-2 Omicron, sublinia BA.2.75	+/-

Badanie reaktywności krzyżowej					
Ludzki adenowirus DNA typu 2	+/-	Wirus grypy typu B B/Pennsylvania/5/2007 (linia Victoria)	+/-	Wirus SARS-CoV-2 Omicron, sublinia BA.2.75	+/-
<i>Bordetella holmesii</i>	-	Wirus grypy typu B B/Pennsylvania/7/2007 (linia Yamagata)	+/-	Wirus SARS-CoV-2 Omicron, wariant sublinii BA.4	+/-
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	Wirus grypy typu B B/Santiago/4364/2007 (linia Yamagata)	+/-	Wirus SARS-CoV-2 Omicron, wariant sublinii BA.4	+/-
<i>Bordetella pertussis</i>	-	Wirus grypy typu B B/Victoria/304/2006 (linia Victoria)	+/-	Wirus SARS-CoV-2 Omicron, wariant sublinii BA.4	+/-
<i>Bordetella pertussis</i> , szczep typu	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. Pneumoniae, szczep PCI 602	-	Wirus SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii BA.5	+/-
<i>Candida albicans</i>	-	<i>Legionella pneumophila</i> Sg1 (ST47)	-	Wirus SARS-CoV-2 Omicron, wariant sublinii BA.5	+/-
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> , szczep CM-1	-	<i>Legionella pneumophila</i> Sg1 (ST62)	-	Wirus SARS-CoV-2 Omicron, wariant sublinii BA.5	+/-
Koronawirus HKU	+/-	<i>Legionella pneumophila</i> subsp. Pneumophila, szczep Philadelphia-1	-	Wirus SARS-CoV-2 Omicron, wariant sublinii BA.5	+/-
Koronawirus, szczep NL63	+/-	MERS-CoV, szczep Florida/USA- 2_Saudi Arabia_2014	-	Wirus SARS-CoV-2 Omicron, wariant sublinii BQ.1	+/-
Enterowirus D58 US/MO/14- 18949	-	<i>Moraxella catarrhalis</i> , szczep 59632	-	Wirus SARS-CoV-2 Omicron, wariant sublinii BQ.1	+/-
<i>Haemophilus influenzae</i>	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-	Wirus SARS-CoV-2 Omicron, wariant sublinii BQ1.1	+/-
<i>Haemophilus influenzae</i>	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> , szczep PI 1428	-	Wirus SARS-CoV-2 Omicron, wariant sublinii BQ1.1	+/-
<i>Haemophilus influenzae</i> , szczep L-378	-	Wirus paragrypy typu 2	+/-	Wirus SARS-CoV-2 Omicron, wariant sublinii XBB	+/-
Ludzki rinowirus 17, szczep 33342	-	Wirus paragrypy typu 3	- +/-	Wirus SARS-CoV-2 Omicron, wariant sublinii XBB	+/-
Wirus grypy typu A A/Brisbane/10/2007 (H3N2)	+/-	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	-	Wirus SARS-CoV-2 izolat Australia/VIC01/2020	+/-
Wirus grypy typu A A/Brisbane/10/2007 IVR-147 (H3N2)	+/-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , szczep RH 815	-	Wirus SARS-CoV-2 izolat Wuhan- Hu-1	+/-
Wirus grypy typu A A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	+/-	Wirus RSV A 2000/3-4	+/-	SARS-CoV-2	+/-
Wirus grypy typu A A/Brisbane/59/2007 IVR-148 (H1N1)	+/-	Wirus RSV, szczep A-2	+/-	<i>Staphylococcus epidermis</i> , szczep PCI 1200	-
Wirus grypy typu A A/California/07/2009 (H1N1)pdm09	+/-	Wirus RSV Typ B	+/-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Wirus grypy typu A A/California/07/2009 NYMC X- 179A (H1N1)pdm09	+/-	Wirus SARS-CoV-1, szczep Frankfurt 1	+/-	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , szczep [CIP 104225]	-
Wirus grypy typu A A/Cambodia/0371/2007 (H1N1)	+/-				

Tabela 43. Referencyjne patogenne mikroorganizmy uwzględnione w teście reaktywności krzyżowej. Wynik + lub – odnosi się do wyniku dodatniego lub ujemnego uzyskanego w różnych kanałach, w zależności od wykrytego celu. W przypadku, gdy badany mikroorganizm jest jednym z celów wykrywanych przez wyrób, w odpowiadającym mu kanale uzyskuje się wynik dodatni, a w pozostałych kanałach uzyskuje się wynik ujemny.

Podsumowując, wyniki testów reaktywności krzyżowej wskazują na wysoką swoistość zestawu VIASURE Respiratory Virus Extended Mix Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System w wykrywaniu docelowych mikroorganizmów, co minimalizuje ryzyko wystąpienia wyników fałszywie dodatnich. Ponieważ

nie zaobserwowano żadnych amplifikacji nieswoistych z innymi powiązanymi mikroorganizmami, sugeruje to, że wyrób jest w stanie dokładnie rozróżniać cele.

Badanie współzakażenia

Badanie współzakażenia przeprowadzono przy użyciu szczepów referencyjnych szczegółowo opisanych w tabeli 28 dla reprezentatywnych celów wybranych dla każdego kanału fluorescencyjnego: wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy typu A, grypy typu B, wirusa RSV B, wirusa paragrypy typu 3, koronawirusa OC43, metapneumowirusa i adenowirusa; w różnych stężeniach, aby potwierdzić, że obecność któregośkolwiek z nich, niezależnie od stężenia, nie zmienia wykrywania pomiędzy nimi. Przeanalizowano dziewięć próbek pobranych z nosogardła, wzbogaconych materiałem odniesienia, jedną próbkę docelową o niskim stężeniu ($3 \times \text{LoD}$) i pozostałe próbki docelowe o bardzo wysokim stężeniu, zwykle od $1\text{E}+04$ do $1\text{E}+05$ jednostek/mL, jeśli to było możliwe.

Wyniki potwierdzają, że detekcja mikroorganizmów będących docelowym, wykrywanym elementem nie ulega zmianie w przypadku analizy za pomocą zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System w przypadku współzakażenia przy różnych stężeniach.

Badanie zakłócających czynników mikrobiologicznych

Przeprowadzono badanie zakłócających czynników mikrobiologicznych, aby przeanalizować potencjalne zakłócające czynniki mikrobiologiczne dla zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Przebadano panel różnych mikroorganizmów związanych z chorobami układu oddechowego w obecności wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy typu A i B, RSV B, paragrypy typu 3, koronawirusa OC43, metapneumowirusa i adenowirusa (szczepy referencyjne przedstawiono w tabeli 28) przy $3 \times \text{LoD}$. W miarę możliwości i dostępności danych dotyczących stężenia, zakłócające wirusy i bakterie oceniano na poziomach istotnych klinicznie (zwykle od $1\text{E}+05$ do $1\text{E}+06$ jtk (jednostek tworzących kolonię)/mL w przypadku bakterii i od $1\text{E}+04$ do $1\text{E}+05$ jtp (jednostki tworzące płytkę)/mL w przypadku wirusów). Analiza w każdym punkcie była przeprowadzana dwukrotnie dla każdej próbki.

Jako kontrole testu uwzględniono kontrolę matrycy dodatniej oraz kontrolę matrycy ujemnej (odpowiednio PMC i NMC). PMC odpowiada ujemnej macierzy nosogardłowej wzbogaconej o swoiste szczepy docelowe bez żadnego zakłócającego czynnika mikrobiologicznego, natomiast NMC odpowiada ujemnej macierzy nosogardłowej bez żadnego zakłócającego czynnika mikrobiologicznego.

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube oraz <i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube		
Nazwa mikroorganizmu	Przetestowane stężenie	Wynik
PMC	NIE DOTYCZY	N.I.
NMC	NIE DOTYCZY	N.I.
Ludzki rinowirus 17	1,60E+04 TCID50/mL	N.I.
Enterowirus D58	4,00E+04 TCID50/mL	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 jtk/ μ L	N.I.
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+05 jtk/mL	N.I.
<i>Candida albicans</i>	4,18E+06 jtk/mL	N.I.
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3,60E+06 jtk/mL	N.I.
SARS-CoV-1	5,20E+02 kopii/mL	N.I.
<i>Bordetella pertussis</i>	1,20E+05 jtk/mL	N.I.
<i>Bordetella holmesii</i>	4,10E+04 jtk/mL	N.I.
<i>Bordetella parapertussis</i>	1,20E+05 jtk/mL	N.I.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3,65E+04 jtk/ μ L	N.I.
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,00E+06 jtk/mL	N.I.
<i>Legionella pneumophila subsp. pneumophila</i>	5,60E+04 jtk/ μ L	N.I.
<i>Haemophilus influenzae</i>	5,20E+03 jtk/ μ L	N.I.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,90E+06 jtk/mL	N.I.
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	1,00E+03 kopii/ μ L	N.I.

Tabela 44. Badanie zakłócających czynników mikrobiologicznych. N.I. = Brak zakłóceń (no interference).

Podsumowując, nie zaobserwowano żadnych zakłóceń w wykrywaniu docelowego kwasu nukleinowego przez którykolwiek z badanych mikroorganizmów.

Badanie substancji zakłócających

Przeprowadzono badanie substancji zakłócających w celu sprawdzenia możliwego zakłócającego wpływu substancji endogennych i egzogennych na zestaw VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Do ujemnej macierzy z nosogardła wzbogaconej szczepami referencyjnymi opisanymi w tabeli 28 dla wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy typu A, grypy typu B, RSV B, paragrypy typu 3, koronawirusa OC43, metapneumowirusa i adenowirusa dodano łącznie dwadzieścia potencjalnie zakłócających substancji i oceniono je przy użyciu sześciu replikantów.

Jako kontrole testu uwzględniono kontrolę matrycy dodatniej oraz kontrolę matrycy ujemnej (odpowiednio PMC i NMC). PMC odpowiada ujemnej macierzy nosogardłowej wzbogaconej swoistymi szczepami docelowymi bez substancji zakłócającej, natomiast NMC odpowiada ujemnej macierzy nosogardłowej bez substancji zakłócającej i bez dodanych mikroorganizmów/materiału referencyjnego. Uzyskano następujące wyniki:

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube oraz <i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube		
Nazwa substancji	Przetestowane stężenie	Wynik
PMC	NIE DOTYCZY	N.I.
NMC	NIE DOTYCZY	N.I.
Oseltamiwir	3,99E-4 mg/mL	N.I.
Zanamiwir	3,30 mg/mL	N.I.
Azytromycyna	1,10E-02 mg/mL	N.I.
Mupirocyna	1,50E-03 mg/mL	N.I.
Tobramycyna	3,30E-02 mg/mL	N.I.
Albumina	1,00E+01 mg/mL	N.I.
DNA genomiczne	3,50E-03 mg/mL	N.I.
Śluz ludzki	1.00% (obj./obj.)	N.I.
Mucyna	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Trójglicerydy	1,50E+01 mg/mL	N.I.
Krew pełna	1.00% (obj./obj.)	N.I.
Karbocysteina	5,00E+00 mg/mL	N.I.
N-acetylocysteina	1,50E-01 mg/mL	N.I.
Fenylefryna	3,00E-5 mg/mL	N.I.
Flutikazonu	1,26E-06 mg/mL	I
	3,15E-07 mg/mL	N.I.
Galphimia glauca, luffa operculata	1,25E+01 mg/mL	N.I.
Chlorowodorek oksymetazoliny	1,00E-01 mg/mL	N.I.
Chlorek sodu	9,00E-01 mg/mL	N.I.
Nikotyny	3,00E-2 mg/mL	I
	7,50E-04 mg/mL	N.I.
Benzokaina	3,00E+00 mg/mL	N.I.

Tabela 45. Substancje potencjalnie zakłócające. N.I.: Brak zgłaszanych zakłóceń, I: Zakłócenie.

Przetestowano różne, potencjalnie zakłócające substancje, zarówno endogenne, jak i egzogenne, korzystając z zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Podczas badania flutikazonu (1,26E-06 mg/mL) i nikotyny (3,00E-02 mg/mL) w obu próbkach reakcyjnych *Respiratory Virus Mix I* i *Respiratory Virus Mix II* zaobserwowano zakłócenia. Wykonano rozcieńczenie 1/4, aby ocenić, czy efekt zakłócający nie jest obserwowany przy niższych stężeniach. Uzyskane wyniki pozwalają na stwierdzenie, że przy badanych stężeniach końcowych, nie obserwuje się zakłóceń powodowanych przez żadną z ocenianych substancji.

12.7.2. Reaktywność analityczna

Reaktywność analityczną można zdefiniować jako odsetek docelowych szczepów drobnoustrojów lub próbek DNA/RNA, które dają prawidłowy wynik dodatni. Reaktywność analityczną badano *in silico* oraz metodą badań eksperymentalnych.

Analiza reaktywności analitycznej *in silico*

Reaktywność analityczna zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System została oceniona przy użyciu publicznie dostępnej bazy danych sekwencji nukleotydowych, takiej jak NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), Global Initiative on Sharing All SARS-CoV-2 Data (baza danych GISAID EpiCoV (<https://www.gisaid.org/>)), Global Initiative on Sharing All Influenza Data (baza danych GISAID EpiFlu (<https://www.gisaid.org/>)), Global Initiative on Sharing All RSV Data (baza danych GISAID EpiRSV (<https://www.gisaid.org/>)) oraz wewnętrznego oprogramowania do analizy bioinformatycznej, aby wykazać, że geny docelowe mogą być prawidłowo wykrywane przez badany wyrób. Analiza *in silico* projektu starterów i sond polegała na ich dopasowaniu do sekwencji dostępnych w bazie danych kolekcji nukleotydów (nr/nt). Wyniki uzyskane po analizie uwzględnionych sekwencji przedstawiono w poniższej tabeli:

Mikroorganizm	Gen	% sekwencji eksperymentalnie wykrytych bez rozbieżności (mismatches)	% sekwencji eksperymentalnie wykrytych z rozbieżnościami (mismatches)	Liczba dopasowanych sekwencji
SARS-CoV-2	Gen <i>N</i> , region N1 i region N2	98,08%	-	22 404
Influenza A	Gen <i>HA</i> + gen <i>M1</i>	0,88%	32,92%	99 326
Influenza B	Gen <i>M1</i>	21,63%	70,58%	24 369
RSV A	Gen <i>N</i>	2,32%	80,83%	4002
RSV B	Gen <i>N</i>	2,61%	80,11%	4172
Wirus paragrypy 1 Wirus paragrypy 2 Wirus paragrypy 3 Wirus paragrypy 4	Gen <i>HN</i> Gen <i>HN</i> Gen <i>HN</i> Gen <i>F</i>	19,23%	-	1451
Koronawirus OC43	Gen <i>N</i>	76,32%	-	380
Koronawirus 229E	Gen <i>N</i>	0,00%*	-	266
Koronawirus NL63	Gen <i>N</i>	48,12%	-	293
Koronawirus HKU1	Gen <i>N</i>	46,51%	-	215
Metapneumowirus	Gen <i>F</i>	93,7%	-	2144
Adenowirus A	Gen <i>hexon</i>	98,7%	-	154
Adenowirus B	Gen <i>hexon</i>	98,75%	-	718
Adenowirus C	Gen <i>hexon</i>	96,17%	-	392
Adenowirus D	Gen <i>hexon</i>	97,74%	-	310
Adenowirus E	Gen <i>hexon</i>	89,53%	-	172
Adenowirus F	Gen <i>hexon</i>	96,40%	-	250

Adenowirus G	Gen <i>hexon</i>	90,48%	-	21
--------------	------------------	--------	---	----

Tabela 46. Ocena reaktywności analitycznej *in silico*

*Większość sekwencji koronawirusa 229E z NCBI GenBank uwzględnionych w analizie *in silico* posiada 1 lub 2 niedopasowania, które nie wpływają na prawidłowe wykrywanie docelowego patogenu. Ponadto syntetyczne DNA koronawirusa 229E użyte podczas walidacji analitycznej produktu wykazuje 100% homologii z zestawem starterów i sond, tym samym potwierdzając eksperymentalnie jego prawidłowe wykrywanie.

Podsumowując, analiza inkluzywności wykazała prawidłowe wykrywanie wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy typu A, grypy typu B, wirusa RSV (typy A i B), paragrypy (typy 1, 2, 3 i 4), koronawirusa (NL63, 229E, HKU1 i OC43), metapneumowirusa i adenowirusa za pomocą zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Reaktywność analityczna, badania eksperymentalne

Reaktywność analityczną zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System względem wirusa SARS-CoV-2 oceniano w odniesieniu do RNA z następujących szczepów dodanych do wymazu z jamy nosowo-gardłowej pobranego za pomocą BD™ Universal Viral Transport System, wykazując pozytywne wyniki:

Koronawirus 2 powiązany z SARS, izolat USA-WA1/2020, napromieniowane promieniowaniem gamma (NR-52287), ilościowe syntetyczne RNA wirusa SARS-CoV-2: ORF, E, N (VR-3276SD), genomiczne RNA z nowego koronawirusa 2019 (VR-1986D), nowy koronawirus 2019 (SARS-CoV-2) Odczynnik roboczy do testowania amplifikacji kwasów nukleinowych (NAT) (NIBSC 20/110), odczynnik badawczy do testowania RNA wirusa SARS-CoV-2 (NIBSC 19/304), próbka kontrolna 1 syntetycznego RNA Twist SARS-CoV-2 (MT007544.1): Wirus SARS-CoV-2 izolat Australia/VIC01/2020 (Twist Bioscience 102019), próbka kontrolna 2 syntetycznego RNA Twist SARS-CoV-2 (MN908947.3): Wirus SARS-CoV-2 izolat Wuhan-Hu-1 (Twist Bioscience 102024), próbka kontrolna 14 syntetycznego RNA Twist SARS-CoV-2 (B.1.1.7_710528), wariant brytyjski (Twist Bioscience 103907), próbka kontrolna 15 syntetycznego RNA Twist SARS-CoV-2 (B.1.1.7_601443), wariant brytyjski (Twist Bioscience 103909), próbka kontrolna 16 syntetycznego RNA Twist SARS-CoV-2 (EPI_ISL_678597), wariant południowoafrykański (Twist Bioscience 104043), próbka kontrolna 17 syntetycznego RNA Twist SARS-CoV-2 (EPI_ISL_792683), wariant japońsko-brazylijski (Twist Bioscience 104044), Accuplex™ SARS-CoV-2 Verification Panel (SeraCare c0505-0129), AMPLIRUN® SARS-CoV-2 B.1.351 RNA CONTROL (MBC139-R), AMPLIRUN® TOTAL SARS-CoV-2 CONTROL (SWAB) (MBTC030-R), AMPLIRUN TOTAL SARS-CoV-2-FluA-FluB-RSV CONTROL (MBTC031-R), SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii BA.5 (SCV2_23C1A-01), SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii BA.2 (SCV2_23C1A-02), SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii BA.5 (SCV2_23C1A-03), SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii BA.4 (SCV2_23C1A-05), SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii BA.4 (SCV2_23C1B-01), SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii BA.5 (SCV2_23C1B-03), SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii BA.4 (SCV2_23C1B-04), SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii BA.2 (SCV2_23C1B-05), SARS-CoV-2 Delta wariant B.1.617.2 (SCV2_24C1B-01), SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii BA.2.75 (SCV2_23C1C-01),

SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii BQ.1 (SCV2_23C1C-02), SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii BQ1.1 (SCV2_23C1C-03), SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii XBB (SCV2_23C1C-04), SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii BA.2 (SCV2_23C1C-05), SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii XBB (SCV2_23C1D-01), SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii BQ1.1 (SCV2_23C1D-02), SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii BA.2.75 (SCV2_23C1D-03), SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii BQ.1 (SCV2_23C1D-04) oraz SARS-CoV-2 Omicron, wariant podlinii BA.5 (SCV2_23C1D-05).

Reaktywność analityczną zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System względem wirusa grypy typu A oceniano w odniesieniu do RNA z następujących szczepów, wykazując pozytywne wyniki:

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

Reaktywność analityczną zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System względem wirusa grypy typu B oceniano w odniesieniu do RNA z następujących szczepów, wykazując pozytywne wyniki:

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

Reaktywność analityczną zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System względem wirusa RSV oceniano w odniesieniu do RNA z ludzkiego syncytialnego wirusa oddechowego A (szczep A-2) (FR-294), ludzkiego syncytialnego wirusa oddechowego, A 2000/3-4 (NR-28530), AMPLIRUN TOTAL SARS-CoV-2-FluA-FluB-RSV CONTROL (MBTC031-R) oraz ludzkiego syncytialnego wirusa oddechowego, B (INSTAND 359043), wykazując pozytywne wyniki.

Reaktywność analityczną zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System względem wirusa paragrypy oceniano w odniesieniu do RNA z wirusa paragrypy serotyp 1 (NIBSC 08/176), wirusa paragrypy serotyp 2 (NIBSC 08/178), wirusa paragrypy serotyp 4 (NIBSC 08/180), wirusa paragrypy 2 (PINFRNA101S-06) oraz wirusa paragrypy 3 (PINFRNA22S-02), wykazując pozytywne wyniki.

Reaktywność analityczną zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System względem koronawirusa oceniano w odniesieniu do RNA z ilościowego syntetycznego koronawirusa ludzkiego szczep NL63 (VR-3263SD) oraz koronawirusa HKU (CVRNA22S-04) , wykazując pozytywne wyniki.

Reaktywność analityczną zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System względem metapneumowirusa oceniano w odniesieniu do RNA z AMPLIRUN® METAPNEUMOVIRUS RNA CONTROL (MBC144-R), ludzkiego metapneumowirusa (NIBSC 08/320) oraz ilościowego syntetycznego ludzkiego metapneumowirusa hMPV (VR-3250SD), wykazując pozytywne wyniki.

Reaktywność analityczną zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System względem adenowirusa oceniano w odniesieniu do DNA z następujących szczepów, wykazując pozytywne wyniki:

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

12.8. Spójność metrologiczna

Ten test nie jest przeznaczony do celów pomiarowych.

13. Charakterystyka skuteczności klinicznej

Skuteczność kliniczną zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System badano przy użyciu wymazów z jamy nosowo-gardłowej, pobranych przez personel pielęgniarski za pomocą elastycznej, nylonowej, jałowej wymazówki i umieszczonych w jałowej probówce zawierającej 3 mL podłoża transportowego Universal Transport Media® (UTM®) (Copan). Uzyskano następujące wyniki:

	Ośrodek	Rodzaj próbki	Przebieg pracy	Wykrywany element
1	Hospital Universitario Miguel Servet (Zaragoza, Hiszpania)	Wymazy z nosogardzieli (Badanie retrospektywne)	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	SARS-CoV-2
				Influenza A
				Influenza B
				Ludzki wirus syncytialny dróg oddechowych (RSV) Typ A i B
				Paragrypa (typy 1, 2, 3 i 4)
				Coronavirus (OC43, NL63, 229 i HKU1)
				Metapneumowirus
				Adenowirus

Tabela 47. Ośrodek, rodzaj próbki, procedura i wykrywany element.

Wartości prawdziwie dodatnie i prawdziwie ujemne, wartości fałszywie dodatnie i fałszywie ujemne, wartości czułości, swoistości, wartości predykcyjne dodatnie (PPV), wartości predykcyjne ujemne (NPV) oraz współczynnik wiarygodności (LR) dla zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System obliczono w odniesieniu do każdego testu porównawczego w sposób przedstawiony w poniższej tabeli:

Ośrodek	Test porównawczy	Wykrywany element	TP	TN	FP	FN	Czułość	Swoistość	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)
		Grypa typu 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)
		Grypa typu 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 (98,4–25 172)	0,048 (0,01–0,23)
	Allplex™ RV Essential Assay (Seegene)	Influenza A	143	699	4	10	0,94 (0,88–0,97)	0,99 (0,98–0,99)	0,97 (0,93–0,99)	0,99 (0,97–0,99)	164,3 (61,8–436,8)	0,066 (0,04–0,12)
		Influenza B	29	826	0	1	0,97 (0,83–0,99)	1 (0,99–1)	1 (0,88–1)	0,99 (0,99–1)	1574 (98,4–25 172)	0,048 (0,01–0,23)
		Ludzki wirus syncytialny dróg oddechowych (RSV) Typ A i 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)

		Paragrypa (typy 1, 2, 3 i 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)
		Metapneumowirus	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)
		Adenowirus	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)
	Panel oddechowy 3 Allplex™ (Seegene) + sekwencjonowanie	Coronavirus (OC43, NL63, 229 i 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)

Tabela 48. Wartości prawdziwie dodatnie (TP) i prawdziwie ujemne (TN), wartości fałszywie dodatnie (FP) i fałszywie ujemne (FN), wartości predykcyjne dodatnie (PPV), wartości predykcyjne ujemne (NPV) i współczynniki wiarygodności (LR) dla zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Podsumowując, wyniki wykazują wysoką zgodność w zakresie wykrywania wirusa SARS-CoV-2, grypy typu A, grypy typu B, wirusa RSV (typy A i B), paragrypy (typy 1, 2, 3 i 4), koronawirusa (OC43, NL63, 229E i HKU1), metapneumowirusa i adenowirusa za pomocą zestawu VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Bibliografia

- Abu-Raya, B., Viñeta Paramo, M., Reicherz, F., & Lavoie, P. M. (2023). Why has the epidemiology of RSV changed during the COVID-19 pandemic? *EClinicalMedicine*, 61, 102089. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2023.102089>
- Bergeron, H. C., & Tripp, R. A. (2021). Immunopathology of RSV: An Updated Review. *Viruses*, 13, 2478. <https://doi.org/10.3390/v13122478>
- Buckwalter, S. P., Teo, R., Espy, M. J., Sloan, L. M., Smith, T. F., & Pritt, B. S. (2012). Real-time qualitative PCR for 57 human adenovirus types from multiple specimen sources. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(3), 766–771. <https://doi.org/10.1128/JCM.05629-11>
- CDC J. (2023). *COVID-19*. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/your-health/about-covid-19.html>
- Datta, N. (2023). A review of molecular biology detection methods for human adenovirus. *AIMS Biophysics*, 10(1), 95–120. <https://doi.org/10.3934/BIOPHY.2023008>
- Fernández-Pérez, G. C., Oñate Miranda, M., Fernández-Rodríguez, P., Velasco Casares, M., Corral de la Calle, M., Franco López, Díez Blanco, M., & Cuchat, J. M. O. (2021). SARS-CoV-2: cómo es, cómo actúa y cómo se expresa en la imagen. *Radiología*, 63, 115–126. <https://doi.org/10.1016/j.rx.2020.10.006>
- Friedman, N., Alter, H., Hindiyeh, M., Mendelson, E., Avni, Y. S., & Mandelboim, M. (2018). Human Coronavirus Infections in Israel: Epidemiology, Clinical Symptoms and Summer Seasonality of HCoV-HKU1. *Viruses*, 10. <https://doi.org/10.3390/v10100515>
- Gaunt, E. R., Hardie, A., Claas, E. C. J., Simmonds, P., & Templeton, K. E. (2010). Epidemiology and Clinical Presentations of the Four Human Coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 Detected over 3 Years Using a Novel Multiplex Real-Time PCR Method. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, 48(8), 2940–2947. <https://doi.org/10.1128/JCM.00636-10>
- Henrickson, K. J. (2003). Parainfluenza Viruses. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*, 16(2), 242–264. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.2.242-264.2003>
- Hu, B., Guo, H., Zhou, P., & Shi, Z. L. (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*, 19, 141–154. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
- Ison, M. G., & Hayden, R. T. (2016). Adenovirus. *Microbiology Spectrum*, 4(4), DMIH2-0020–2015. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec>
- Jansen, R. R., Schinkel, J., Koekkoek, S., Pajkrt, D., Beld, M., De Jong, M. D., & Molenkamp, R. (2011). Development and evaluation of a four-tube real time multiplex PCR assay covering fourteen respiratory viruses, and comparison to its corresponding single target counterparts. *Journal of Clinical Virology*, 51, 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2011.04.010>
- Krammer, F., Smith, G. J. D., Fouchier, R. A. M., Peiris, M., Kedzierska, K., Doherty, P. C., Palese, P., Shaw, M. L.,

- Treanor, J., Webster, R. G., & García-Sastre, A. (2018). Influenza. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(3), 1–21. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0002-y>
- Lim, Y. X., Ng, Y. L., Tam, J. P., & Liu, D. X. (2016). Human Coronaviruses: A Review of Virus-Host Interactions. *Diseases*, 4(26), 1–28. <https://doi.org/10.3390/diseases4030026>
- Lynch, J. P., & Kajon, A. E. (2016). Adenovirus: Epidemiology, Global Spread of Novel Serotypes, and Advances in Treatment and Prevention. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 37, 586–602. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1584923>
- Safiabadi Tali, S. H., LeBlance, J. J., Sadiq, Z., Oyewunmi, O. D., Camargo, C., Nikpuor, B., Armanfard, N., Sagan, S. M., & Jahanshahi-Anbuhi, S. (2021). Tools and Techniques for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 Detection. *Clinical Microbiology Reviews*, 34(3), e00228–20.
- Schuster, J. E., & Williams, J. V. (2013). Human Metapneumovirus. *Pediatrics in Review*, 34(12), 558–565.
- Templeton, K. E., Scheltinga, S. A., Beersma, M. F. C., Kroes, A. C. M., & Claas, E. C. J. (2004). Rapid and Sensitive Method Using Multiplex Real-Time PCR for Diagnosis of Infections by Influenza A and Influenza B Viruses, Respiratory Syncytial Virus, and Parainfluenza Viruses 1, 2, 3, and 4. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, 42(4), 1564–1569. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.4.1564-1569.2004>
- Tyrrell, carina S., Allen, J. L. Y., & Gkrania-Klotsas, E. (2021). Influenza: epidemiology and hospital management. *Medicine (Abingdon, England: UK Ed.)*, 49(12), 797–804.
- Uddin, S., & Thomas, M. (2020). Human Metapneumovirus. In *StatsPearls*. StatPearls Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-40181-4.00226-7>
- Uyeki, T. M., Hui, D. S., Zambon, M., Wentworth, D. E., & Monto, A. S. (2022). Influenza. *The Lancet*, 400, 693–706. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00982-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00982-5)
- WHO | Światowa Organizacja Zdrowia. (brak danych). *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 | Światowa Organizacja Zdrowia. (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 | Światowa Organizacja Zdrowia. (2023b). *Influenza (Seasonal)*. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal))
- Zeng, Z.-Q., Chen, D.-H., Tan, W.-P., Qiu, S.-Y., Xu, D., Liang, H.-X., Chen, M.-X., Li, X., Lin, Z.-S., Liu, W.-K., & Zhou, R. (2018). Epidemiology and clinical characteristics of human coronaviruses OC43, 229E, NL63, and HKU1: a study of hospitalized children with acute respiratory tract infection in Guangzhou, China. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 37, 363–369. <https://doi.org/10.1007/s10096-017-3144-z>

Symbole składników i odczynników do diagnostyki *in vitro* (IVD)

 Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>	 Przechowywać w suchym miejscu	 Użyć przed	 Producent	 Kod partii
 Zapoznać się z instrukcją obsługi	 Graniczne wartości temperatury	 Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów	 Niepowtarzalny identyfikator wyrobu	 Numer katalogowy
 Oznakowanie CE	 Chronić przed światłem słonecznym			

Znaki towarowe

BD MAX™ jest zarejestrowanym znakiem handlowym firmy Becton, Dickinson and Company.

Zastrzeżone prawa do modyfikacji. Wszelkie prawa zastrzeżone. © Certest Biotec, S.L.

Wszelkie pozostałe znaki towarowe, które mogą występować w niniejszej ulotce dołączanej do opakowania stanowią własność odpowiednich właścicieli.



Certest Biotec, S.L.

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

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

Informacje o sponsorze w Australii

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

Informacje o sponsorze w Nowej Zelandii

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

Kontrola zmian		
Wersja nr	Zmiany	Data
00	Wersja oryginalna Niniejsza wersja jest tłumaczeniem oryginalnego dokumentu w języku angielskim: IUo-444221en0825.00.	1.8.2025 r.

Tabela A 2. Tabela kontrolna zmian.

Wersja: 01 sierpnia 2025 r.

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 wer.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.