



BD SARS-CoV-2/Flu for BD MAX™ System

REF 445011

P0257(02)

2021-04

Čeština

Pro diagnostiku *in vitro*

Pro použití se systémem BD MAX™



bd.com/e-labeling



ÚČEL POUŽITÍ

BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ je automatizovaný multiplexový RT-PCR test nukleové kyseliny v reálném čase určený pro simultánní kvalitativní detekci a diferenciaci nukleových kyselin SARS-CoV-2, chřipky A a/nebo chřipky B ze vzorků odebraných výtěrem z nosohltanu nebo přední části nosních dutin od osob s podezřením na respirační virovou infekci s příznaky odpovídajícími COVID-19 nebo chřipce prováděný poskytovatelem zdravotní péče. Klinické známky a příznaky virového respiračního onemocnění způsobené virem SARS-CoV-2 a chřipky mohou být podobné.

Test BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ je určen pro detekci a diferenciaci virové RNA SARS-CoV-2, chřipky A a/nebo chřipky B ze vzorků pacientů a není určen pro detekci chřipky C. RNA SARS-CoV-2, chřipky A a/nebo chřipky B lze obecně detekovat ze vzorků z horních cest dýchacích během akutní fáze infekce. Pozitivní výsledky značí aktivní infekci, avšak nevyklučují bakteriální infekci nebo koinfekci jinými viry. K určení infekčního stavu pacienta je nezbytná klinická korelace s jeho anamnézou a dalšími diagnostickými informacemi. Detekovaný agens nemusí být jednoznačnou příčinou onemocnění.

Negativní výsledky testu BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD Max™ nevyklučují infekci SARS-CoV-2, chřipky A ani chřipky B a diagnostická, léčebná či jiná rozhodnutí týkající se pacienta nelze provádět výlučně na jejich základě. Negativní výsledky je nutné použít v kombinaci s klinickým pozorováním, anamnézou pacienta a/nebo epidemiologickými informacemi.

Negativní výsledky získané od jedinců, kteří v době odběru vzorků nevykazují klinické příznaky ani příznaky spojené s respirační virovou infekcí, je třeba interpretovat opatrně. Negativní výsledky u asymptomatických jedinců nelze použít jako definitivní důkaz, že jedinec nebyl vystaven virům SARS-CoV-2 nebo chřipky a nebyl infikován žádným z těchto virů.

Test BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ je určen k použití laboratorním personálem, který prošel zvláštním školením v používání systému BD MAX™.

VYSVĚTLENÍ TESTU

Celková nukleová kyselina (TNA) se izoluje a čistí za použití činidel BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ z odebraných nosohltanových nebo předních nosních výtěrů v Systému univerzální přepravy virů BD (UVT) nebo Systému s univerzálním transportním médiem Copan (UTM) a předních nosních výtěrů ve fyziologickém roztoku. Vzorek pacienta je přenesen do zkumavky se vzorkovým pufrům BD Molecular Respiratory dodané s testem BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ a vložen do systému BD MAX™. Modulární jednotka s činidly BD Respiratory obsahuje kombinaci lytických a extrakčních činidel určených k provedení buněčné lýzy a extrakce TNA. Eluovaná TNA se přenesse do směsi master mix SARS-CoV-2/Flu. Konečná rehydratovaná směs master mix je přenesena do kazety PCR pro rRT-PCR.

Test BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ využívá multiplexové primery a sondy cílené na RNA genu nukleokapsidového fosfoproteinu (oblasti N1 a N2) koronaviru SARS-CoV-2, zachované oblasti genu matricového proteinu M1 pro chřipku A, zachované oblasti genu matricového proteinu M1 a genu HA pro chřipku B a lidského genu RNázy P. Sady primerů a sond pro SARS-CoV-2 jsou založeny na stanovení Amerických center pro kontrolu a prevenci nemocí (US CDC) pro specifickou detekci SARS-CoV-2 amplifikací dvou jedinečných oblastí genu N (tj. N1 a N2). Cíle SARS-CoV-2, N1 a N2, jsou neodlišitelné, jelikož jsou detekovány ve stejném optickém kanálu. Cíle chřipky B, M1 a HA, jsou také neodlišitelné a jsou detekovány ve stejném optickém kanálu.

Vnitřní kontrola cílená na lidský gen RNázy P bude spolu s genovými cíli SARS-CoV-2, chřipky A a chřipky B (pokud jsou přítomny) koamplifikována a bude sloužit jako kontrola extrakce endogenní nukleové kyseliny přítomné ve všech správně odebraných vzorcích pacientů. Tato kontrola slouží jako kontrola extrakce i jako vnitřní kontrola amplifikace.

ZÁSADY POSTUPU

K provedení lýzy buněk a extrakce TNA se používá kombinace lytických a extrakčních činidel. Nukleové kyseliny uvolněné z cílových organismů se zachytí na magnetických kuličkách s afinitou. Kuličky spolu s navázanými nukleovými kyselinami jsou promyty a nukleové kyseliny jsou uvolněny kombinací působení tepla a změny pH. Eluovaná TNA se přidá do neutralizačního pufru, promíchá se a přenesení do směsi master mix BD SARS-CoV-2/Flu pro rehydrataci. Po rekonstituování roztoku systém BD MAX™ nadávkuje daný objem roztoku s nukleovými kyselinami, připraveného pro RT-PCR, do kazety PCR. Systém před zahájením PCR uzavře mikroskopické uzávěry v kazetě obsahující amplifikační směs, a tak zabrání vypařování a kontaminaci.

Amplifikované cílové sekvence cDNA jsou detekovány pomocí hydrolyzačních sond (TaqMan®), které jsou na jednom konci označené fluorescenčním barvivem zářiče (fluoroforem) a na druhém konci zhášečem. Sonden označené rozdílnými fluorofory jsou použity k detekci cílových analytů v různých optických kanálech systému BD MAX™. Když jsou sondy v nativním stavu, fluorescence fluoroforu je zhášena jeho polohou blízko ke zhášeči. V přítomnosti cílové sekvence cDNA však sondy hybridizují s komplementárními sekvencemi a jsou hydrolyzovány 5'-3' exonukleázovou aktivitou DNA polymerázy, která provádí syntézu nascentního řetězce podél templátu cDNA. Tím je fluorofor separován od molekul zhášeče a dojde k emitování fluorescence. Množství fluorescence detekované v optických kanálech je přímo úměrné množství odpovídající hydrolyzované sondy. Systém BD MAX™ monitoruje tyto signály při každém cyklu PCR a po interpretaci dat na konci reakce poskytne výsledek kvalitativního testu pro každý analyt.

ČINIDLA A MATERIÁL

REF	Obsah	Množství
445011	Master mix (D9) BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ <i>Suchá směs Master Mix PCR obsahující nukleotidy a specifické molekulární sondy (0,005 % w/v) a primery (0,009 % w/v) spolu s enzymem PCR (0,004 % w/v)</i>	24 (2 x 12 zkumavek)
	Extrakční zkumavka BD Respiratory (D4) pro systém BD MAX™ <i>Suché extrakční činidlo obsahující magnetické kuličky s afinitou k DNA/RNA (6,41 % w/v) a proteinázu K (6,7 % w/v)</i>	24 (2 x 12 zkumavek)
	Modulární jednotka s činidly BD Respiratory pro systém BD MAX™ <i>Modulární jednotka s činidly obsahující promývací pufr s činidlem 0,004 % v/v Tween® 20 (0,75 ml), uvolňovací pufr s činidlem 0,004 % v/v Tween 20 (0,75 ml) a neutralizační pufr s činidlem 0,004 % v/v Tween 20 (0,75 ml) a jednorázové špičky na pipety pro zpracování vzorku a extrakci TNA</i>	24 testů
	Zkumavky se vzorkovým pufrem BD Molecular Respiratory <i>(s 2 % v/v činidla Triton® X-100)</i>	24 (2 x 12 zkumavek)
	Víčka se septem	25

POTŘEBNÉ VYBAVENÍ A MATERIÁL, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY

- Systém BD MAX™ (katalogové č. BD 441916)
- Stojan na vzorky BD MAX™ (katalogové č. BD 441935, 443550, 443551, 444807 nebo 444808)
- Kazety BD MAX™ PCR (katalogové č. BD 437519)
- Copan UTM Collection Kit (sada pro odběr vzorků UTM Copan)
- BD UVT Collection Kit (sada pro odběr vzorků UVT BD)
- Fyziologický roztok
- Vortex Genie 2 (katalogové č. VWR 58815-235 nebo ekvivalent)
- Mixér Multi-Tube Vortex (katalogové č. VWR 58816-115 nebo ekvivalent)
- Stojan kompatibilní s vortexem pro více zkumavek (např. držák kryogenních lahvíček nebo ekvivalent)
- Kalibrovaný pipetor s variabilním objemem (maximální objem 750 µl)
- Špičky na mikropipety odolné vůči aerosolu
- Jednorázové rukavice, bez talku

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

Nebezpečí



H312 Zdraví škodlivý při styku s kůží.

H315 Dráždí kůži.

H317 Může vyvolat alergickou kožní reakci.

H319 Způsobuje vážné podráždění očí.



H334 Při vdechování může vyvolat příznaky alergie nebo astmatu nebo dýchací potíže.

H335 Může způsobit podráždění dýchacích cest.



H350 Může vyvolat rakovinu.

H360 Může poškodit reprodukční schopnost nebo plod v těle matky.

H402 Škodlivý pro vodní organismy.

H411 Toxický pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.

P201 Před použitím si obzarejte speciální instrukce.

P202 Nepoužívejte, dokud jste si nepřčetli všechny bezpečnostní pokyny a neporozuměli jim.

P233 Uchovávejte obal těsně uzavřený.

P261 Zamezte vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/par/aerosolů.

P264 Po manipulaci důkladně omyjte.

P271 Používejte pouze venku nebo v dobře větraných prostorách.

P272 Kontaminovaný pracovní oděv neodnášejte z pracoviště.

P273 Zabraňte uvolnění do životního prostředí.

P280 Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.

P281 Používejte požadované osobní ochranné prostředky.

P284 [V případě nedostatečného větrání] používejte vybavení pro ochranu dýchacích cest.

P308+P313 PŘI expozici nebo podezření na ni: vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

P332+P313 Při podráždění kůže: vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

P333+P313 Při podráždění kůže nebo vyrážce: vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

P342+P311 Při dýchacích potížích: volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře.

P337+P313 Přetrvává-li podráždění očí: vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

P305+P351+P338 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

P302+P352 PŘI STYKU S KŮŽÍ: omyjte velkým množstvím vody.

P312 Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.

P321 Odborné ošetření.

P342+P311 Při dýchacích potížích: volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře / ...

P304+P340 PŘI VDECHNUTÍ: přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v poloze usnadňující dýchání.

P362+P364 Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte.

P363 Kontaminovaný oděv před opětovným použitím vyperte.

P391 Uniklý produkt seberte.

P403 Skladujte na dobře větraném místě.

P405 Skladujte uzamčené.

P501 Odstraňte obsah/obal a odevzdejte jej vhodnému sběrnému dvoru či zařízení k likvidaci odpadů v souladu s platnými zákony a předpisy a charakteristikami produktu platnými v době likvidace.

- Pro diagnostiku *in vitro*.
- Pozitivní výsledky indikují přítomnost RNA SARS-CoV-2, chřipky A a/nebo chřipky B.
- Se všemi vzorky pacientů je nutné zacházet jako s infekčními za použití správných laboratorních postupů uvedených v publikacích CLSI Document M29-A4¹ a Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.² Tento postup smí provádět pouze pracovníci odborně způsobilí k manipulaci s infekčním materiálem a používání testu BD SARS-CoV-2/Flu a systému BD MAX™.
- Všechny materiály z lidských zdrojů je nutné považovat za potenciálně infekční a musí se s nimi zacházet v souladu s všeobecnými bezpečnostními opatřeními. Při rozliti postupujte podle příslušných postupů na pracovišti.
- Pečlivě dodržujte stanovené postupy a pokyny, aby bylo zajištěno správné provedení testu. Jakákoli odchylka od postupů a pokynů může ovlivnit optimální průběh testu.
- Nepoužívejte prošlá činidla ani materiály.
- Nepoužívejte sadu, pokud je štítek, kterým je přelepena vnější krabice, při dodání porušený.
- Nepoužívejte činidla, pokud jsou ochranné sáčky při dodání otevřeny či protrženy.
- Nepoužívejte činidla, pokud v sáčkách s činidly není desikant nebo je jeho balení uvnitř sáčku porušené.
- Nevyjímejte desikant ze sáčků s činidly.
- Po každém použití uzavřete rychle ochranné sáčky s činidly zipem. Před uzavřením ze sáčků odstraňte přebytečný vzduch.

- Chraňte činidla před teplem a vlhkostí. Dlouhodobý kontakt s vlhkým prostředím může negativně ovlivnit funkčnost produktu.
- Nepoužívejte činidla, pokud je fólie protržena či poškozena.
- Nemíchejte činidla z různých sáčků a/nebo sad a/nebo šarží.
- Nezaměňujte uzávěry ani je znovu nepoužívejte, protože může dojít ke kontaminaci a zkreslení výsledků testu.
- Zkontrolujte správné naplnění kapalin v modulárních jednotkách s činidly (ujistěte se, že kapaliny jsou na dně zkumavek).
- Zkontrolujte, že se v modulárních jednotkách s činidly nacházejí všechny pipetové špičky.
- S roztoky chemikálií pracujte opatrně, aby nedošlo ke změně čitelnosti čárového kódu na extrakční zkumavce.
- Nezbytným předpokladem správné účinnosti tohoto stanovení je správná laboratorní technika. Je nutno velmi pečlivě zachovávat čistotu všech materiálů a činidel.
- V případě, že se v laboratoři provádějí jiné testy PCR, je nutno standardním laboratorním způsobem zajistit, aby nedošlo ke kontaminaci součástí testu BD SARS-CoV-2/Flu, případných dalších činidel používaných k testování ani systému BD MAX™. Vždy zamezte veškeré kontaminaci činidel mikroby a ribonukleázou (RNázou) / deoxyribonukleázou (DNázou). Doporučujeme používat sterilní jednorázové pipetové špičky odolné vůči nanesení aerosolu či s filtrem, neobsahující RNázu/DNázu. Použijte novou špičku na každý vzorek. Před manipulací s činidly a kazetami musí být vyměněny rukavice.
- Kazetu PCR BD MAX™ po použití nerozlamujte, aby nedošlo ke kontaminaci amplikony z prostředí. Uzávěry na kazetách PCR BD MAX™ slouží k prevenci kontaminace.
- Laboratoř musí pravidelně monitorovat prostředí, aby se minimalizovalo riziko zkřížené kontaminace.
- Při manipulaci se všemi činidly používejte ochranný oděv a jednorázové rukavice.
- Po provedení testu si pečlivě umyjte ruce.
- Nepipetujte ústy.
- V oblasti manipulace se vzorky a činidly ze sady nekuřte, nepijte, nežvýkejte ani nejezte.
- Nepoužitá činidla a odpad zlikvidujte v souladu s místními, regionálními a/nebo národními předpisy.
- Další varování, bezpečnostní opatření a postupy naleznete v Uživatelské příručce k systému BD MAX™³.

SKLADOVÁNÍ

- Komponenty testu BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD Max™ jsou při teplotě 2 °C–25 °C stabilní do uplynutí uvedené doby expirace. Nepoužívejte prošlé komponenty.
- Master mix BD SARS-CoV-2/Flu a extrakční zkumavky jsou dodávány v uzavřených sáčcích. Po otevření sáčky ihned uzavřete. Chráníte tím jejich obsah před vlhkostí.
- Zkumavky s činidly jsou po počátečním otevření a opětovném uzavření v sáčku stabilní po dobu až 14 dnů při teplotě 2 °C–25 °C.

NÁVOD K POUŽITÍ

Odběr a přeprava vzorků výtěrů v Systému univerzální přepravy virů (UVT) nebo v univerzálním transportním médiu (UTM)

Poznámka: Při manipulaci se vzorky používejte rukavice. Pokud rukavice přijdou do kontaktu se vzorky, okamžitě je vyměňte, aby nedošlo ke kontaminaci jiných vzorků.

1. Vzorky nosohltanových nebo předních nosních výtěrů odebírejte a aplikujte přímo do Systému univerzální přepravy virů BD nebo Systému s univerzálním transportním médiem Copan podle pokynů v příslušné příbalové informaci.
2. Po odběru lze vzorky skladovat maximálně 24 hodin při teplotě 2 °C–25 °C.
3. Pokud přeprava a zpracování vzorků budou trvat déle, je třeba vzorky přepravovat na suchém ledu a v laboratoři zmrazit na teplotu –70 °C nebo nižší.

Odběr a přeprava vzorků výtěrů ve fyziologickém roztoku

Poznámka: Při manipulaci se vzorky používejte rukavice. Pokud rukavice přijdou do kontaktu se vzorky, okamžitě je vyměňte, aby nedošlo ke kontaminaci jiných vzorků.

1. Vzorky předních nosních výtěrů odebírejte a aplikujte přímo do zkumavky s fyziologickým roztokem.
2. Po odběru lze vzorky skladovat maximálně 24 hodin při teplotě 2 °C–25 °C.
3. Pokud přeprava a zpracování vzorků budou trvat déle, je třeba vzorky přepravovat na suchém ledu a v laboratoři zmrazit na teplotu –70 °C nebo nižší.

Příprava zkumavky se vzorkovým pufrům BD Molecular Respiratory pro použití se vzorky výtěrů z nosohltanu nebo předních nosních výtěrů v Systému univerzální přepravy virů (UVT) nebo v univerzálním transportním médiu (UTM) nebo předních nosních výtěrů odebraných do fyziologického roztoku.

Poznámka: Při manipulaci se vzorky používejte rukavice. Pokud rukavice přijdou do kontaktu se vzorky, okamžitě je vyměňte, aby nedošlo ke kontaminaci jiných vzorků.

Poznámka: Zmrazené vzorky univerzální přepravy virů (UVT), vzorky s univerzálním transportním médiem (UTM) nebo vzorky ve fyziologickém roztoku nechejte nejprve ustálat na pokojovou teplotu.

1. Odzátkujte zkumavku se vzorkovým pufrům BD Molecular Respiratory a přeneste (pomocí kalibrované variabilní pipety) 750 µl vzorku UVT/UTM nebo ve fyziologickém roztoku přímo do zkumavky se vzorkovým pufrům BD Molecular Respiratory.
2. Zavřete zkumavku modrým víčkem se septem a promíchejte ji ve vortexu nebo ji 8–10krát převratte.
3. Zkumavku se vzorkovým pufrům BD Molecular Respiratory označte informacemi o pacientovi.

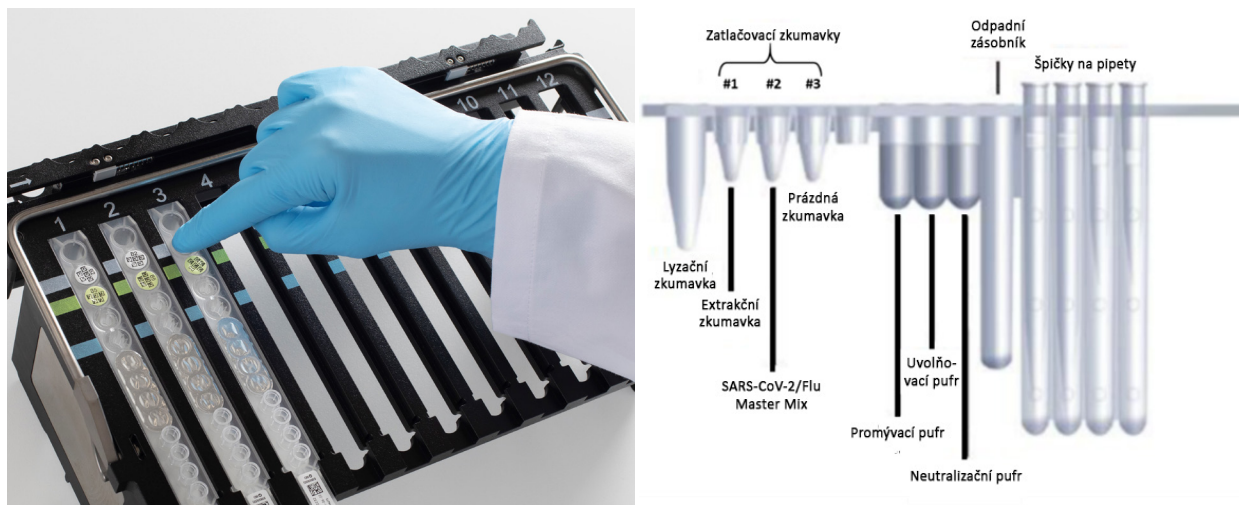
Poznámka: Nepřekrývejte čárové kódy na zkumavce. Překrytí čárového kódu může vést k selhání katalogu systému BD MAX™ a nemožnosti testovat vzorek.

- Opakujte kroky 1 až 3 u každého vzorku UVT/UTM nebo vzorku ve fyziologickém roztoku, který bude testován v systému BD MAX™.
- Pokračujte přímo částí Provoz systému BD MAX™.

Provoz systému BD MAX™

Poznámka: Podrobné pokyny naleznete v uživatelské příručce k systému BD MAX™³ (část Provoz).

- Zapněte napájení systému BD MAX™ (pokud to už nebylo provedeno) a přihlaste se vložím uživatelského jména (<user name>) a hesla (<password>).
- Před manipulací s činidly a kazetami musí být vyměněny rukavice.
- Ze sady BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ vyjměte potřebný počet modulárních jednotek s činidly. Každou modulární jednotkou s činidly lehce klepněte o tvrdý povrch tak, aby všechny kapaliny byly na dně zkumavek.
- Z ochranných sáčků vyjměte potřebný počet extrakčních zkumavek a zkumavek se směsí master mix ze sady BD MAX™ SARS-CoV-2/Flu.
- Odstraňte přebytečný vzduch a sáčky uzavřete zipem.
- Pro každý testovaný vzorek umístěte jednu (1) modulární jednotku s činidly do stojanu systému BD MAX™. Začněte v poloze 1 stojanu A.
- Zatlačte jednu (1) extrakční zkumavku (D4) (s bílou fólií) do každé modulární jednotky s činidly v poloze 1 podle obrázku 1.
- Zatlačte jednu (1) zkumavku se směsí master mix BD SARS-CoV-2/Flu (D9) (se zelenou fólií) do každé modulární jednotky s činidly v poloze 2 podle obrázku 1.



Obrázek 1: Zatlačení extrakčních zkumavek a zkumavky se směsí master mix do modulárních jednotek s činidly

- Klikněte na záložku „Run“ (Operace) a poté na dílčí záložku „Inventory“ (Inventář panelů). Zadejte číslo šarže sady BD SARS-CoV-2/Flu (pro možnost sledování šarže) načtením čárového kódu skenerem nebo ručně.

POZNÁMKA: Krok 9 zopakujte pokaždé, když použijete novou šarži.

- Přejděte na obrazovku Worklist (Pracovní seznam). Z rozbalovací nabídky vyberte možnost <BD SARS CoV2 Flu 74>.
- Z rozbalovací nabídky vyberte správné číslo šarže sady (je uvedeno na vnější krabici sady BD SARS-CoV-2/Flu).
- Do pracovního seznamu zadejte ID zkumavky se vzorkovým pufrům BD Molecular Respiratory, ID pacienta a přístupové číslo (je-li to možné) načtením čárového kódu skenerem nebo ručně.
- Zopakujte krok 12 pro všechny zbývající zkumavky se vzorkovým pufrům.
- Zkumavky se vzorkovým pufrům vložte do stojanu systému BD MAX™ tak, aby rozložení odpovídalo modulárním jednotkám s činidly zavedeným v krocích 6 až 8.

15. Umístíte požadovaný počet kazet PCR BD MAX™ do systému BD MAX™ (viz obrázek 2).
- Na každé kazetě PCR BD MAX™ lze provést 1 zpracování s maximálně 12 vzorky, celkem tedy lze zpracovat 12 vzorků.
 - Systém BD MAX™ automaticky vybere polohu a řadu na kazetě PCR BD MAX™ pro každé zpracování.
 - Na každé kazetě PCR BD MAX™ lze provést 1 zpracování a ke každému stojanu případně 1 kazeta.
 - Pro zefektivnění využití kazet PCR BD MAX™ vyberte v režimu 2000 Sample Mode (Režim 2 000 vzorků) na kartě Worklist (Pracovní seznam) možnost Run Wizard (Průvodce zpracováním) a určete přidělení drah.
 - Další informace naleznete v Uživatelské příručce k systému BD MAX™³.



Obrázek 2: Vložení kazet PCR BD MAX™

16. Vložte stojan (stojany) do systému BD MAX™ (viz obrázek 3).



Obrázek 3: Vložení stojanů do systému BD MAX™

17. Zavřete víko systému BD MAX™ a kliknutím na tlačítko <Start> spustíte zpracování vzorků.

POZNÁMKA: Při obdržení neurčitého (IND), nerozhodného (UNR) nebo neúplného (INC) výsledku nebo při selhání externí kontroly je nutné provést opakovaný test z primárního vzorku (viz část Opakované provedení testu).

KONTROLA KVALITY

Postupy kontroly kvality slouží k ověřování funkčnosti stanovení. Laboratoře musejí zavést počet, typ a četnost testování kontrolních materiálů podle doporučení či požadavků místních, regionálních a/nebo národních předpisů či požadavků akreditačních organizací a tímto způsobem sledovat účinnost celého analytického postupu. Základní informace o kontrole kvality najdete v dokumentech Clinical Laboratory Standards Institute MM3⁴ a EP12.⁵

1. Společnost BD nedodává materiál pro externí kontroly. Software systému BD MAX™ nepoužívá k interpretaci výsledků testování vzorku externí pozitivní ani negativní kontroly. S externími kontrolami zachází, jako by se jednalo o patientské vzorky. (Tabulka 2 vám umožní interpretovat výsledky stanovení externí kontroly.)
2. Do té doby, než je proces v systému BD MAX™ dostatečně ověřen, je třeba provádět alespoň jednu (1) externí pozitivní kontrolu a jednu (1) externí negativní kontrolu denně pro každou laboratoř. Snížená frekvence testování kontrol musí být v souladu se všemi platnými předpisy.

3. Externí pozitivní kontrola kontroluje zásadní selhání činidla. Externí negativní kontrola slouží k detekci kontaminace činidla či prostředí (nebo přenosu) cílovými nukleovými kyselinami.
4. Doporučují se různé typy externích kontrol, takže si uživatel může vybrat ty, které nejlépe vyhovují programu kontroly kvality v dané laboratoři.
 - a. Externí negativní kontrola (ENC): komerčně dostupný kontrolní materiál jako např. Microbiologics® Helix Elite™ Inactivated Standard Negative Cellularity Control (viz tabulka 1) nebo dříve charakterizovaný vzorek s potvrzenou negativitou. Společnost BD doporučuje připravovat externí negativní kontrolu před externí pozitivní kontrolou, aby se zamezilo riziku potenciální kontaminace při přípravě kontrol.
 - b. Externí pozitivní kontrola (EPC): komerčně dostupný kontrolní materiál jako např. standardy Microbiologics® Helix Elite™ níže (viz tabulka 1) nebo dříve charakterizované vzorky s potvrzenou pozitivitou.

Tabulka 1: Komerčně dostupné standardy pro externí kontroly

Komerčně dostupné standardy	Č. dílu
Microbiologics® Helix Elite™ Synthetic Standard SARS-CoV-2 Synthetic RNA (genové cíle N)	HE0060S
Microbiologics® Helix Elite™ Inactivated Standard Inactivated Influenza A/B and Respiratory Syncytial Virus	HE0044N
Microbiologics® Helix Elite™ Inactivated Standard Negative Cellularity Control	HE0058N

5. Navrhovaný postup pro přípravu EPC nebo ENC pomocí standardů Microbiologics® Helix Elite™ (viz níže) byl ověřen společnostmi BD. Volba EPC a ENC pro test BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ je však vždy na rozhodnutí laboratoře v souladu s platnými místními, regionálními a/nebo národními předpisy a požadavky na akreditaci a se standardními postupy kontroly kvality (QC) laboratoře.
6. Příprava inaktivovaného standardu kontroly negativní buněčnosti Microbiologics® Helix Elite™ Inactivated Standard Negative Cellularity Control jako externí negativní kontroly:
 - a. Přidejte 750 µl vody bez nukleázy do zkumavky se vzorkovým pufrům BD Molecular Respiratory.
 - b. Rehydratujte standard kontroly negativní buněčnosti Microbiologics® Negative Cellularity Control pomocí 100 µl vody bez nukleázy.
 - c. Zředte rehydratovaný standard 1 : 10 ve vodě bez nukleázy (10 µl standardu na 90 µl vody bez nukleázy).
 - d. Přidejte 75 µl zředěného standardu do zkumavky se vzorkovým pufrům.
 - e. Uzavřete zkumavku se vzorkovým pufrům pro externí negativní kontrolu a promíchejte po dobu 10–30 sekund ve vortexu nebo ji 8–10krát převraťte. Zpracujte systémem BD MAX™.
7. Příprava standardů Microbiologics® Helix Elite™ jako externí pozitivní kontroly:
 - a. Přidejte 750 µl vody bez nukleázy do zkumavky se vzorkovým pufrům BD Molecular Respiratory.
 - b. Rehydratujte standard kontroly negativní buněčnosti Microbiologics® Negative Cellularity Control, standard syntetické RNA SARS-CoV-2 Microbiologics® SARS-CoV-2 Synthetic RNA, standard inaktivované chřipky A/B a standard respiračního syncytiálního viru Microbiologics® Inactivated Influenza A/B and Respiratory Syncytial Virus, každý pomocí 100 µl vody bez nukleázy.
 - c. Zředte standard kontroly negativní buněčnosti Microbiologics® Negative Cellularity Control, standard inaktivované chřipky A/B a standard respiračního syncytiálního viru Microbiologics® Inactivated Influenza A/B and Respiratory Syncytial Virus 1 : 10 vodou bez nukleázy (10 µl standardu na 90 µl vody bez nukleázy).
 - d. Zředte standard syntetické RNA SARS-CoV-2 Microbiologics® SARS-CoV-2 Synthetic RNA 1 : 100 ve vodě bez nukleázy (10 µl standardu na 990 µl vody bez nukleázy).
 - e. Přidejte 75 µl zředěného standardu kontroly negativní buněčnosti Microbiologics® Negative Cellularity Control, 50 µl zředěného standardu syntetické RNA SARS-CoV-2 Microbiologics® SARS-CoV-2 Synthetic RNA a 50 µl zředěného standardu inaktivované chřipky A/B a standardu respiračního syncytiálního viru Microbiologics® Inactivated Influenza A/B and Respiratory Syncytial Virus do zkumavky se vzorkovým pufrům.
 - f. Uzavřete zkumavku se vzorkovým pufrům pro externí pozitivní kontrolu a promíchejte ve vortexu po dobu 10–30 sekund nebo ji 8–10krát převraťte. Zpracujte systémem BD MAX™.
8. Příprava dříve charakterizovaného vzorku z nosohltanu v UVT/UTM jako externí pozitivní nebo negativní kontroly:
 - a. Přeneste 750 µl vzorku do zkumavky se vzorkovým pufrům BD Molecular Respiratory.
 - b. Uzavřete zkumavku se vzorkovým pufrům pro externí kontrolu a promíchejte ve vortexu po dobu 10–30 sekund nebo ji 8–10krát převraťte. Zpracujte systémem BD MAX™.
9. Všechny externí kontroly by měly poskytovat očekávané výsledky (viz tabulka 2), bez přítomnosti chybových externích kontrol (nerozhodné, neurčité, neúplné výsledky).

Tabulka 2: Očekávané výsledky externí kontroly BD SARS-CoV-2/Flu

Typ kontroly	Kontrola	Využitá k monitorování	Očekávaný výsledek		
			CoV-2	Chřipka A	Chřipka B
Negativní externí kontrola	Vzorek se známou negativitou	Kontaminace činidla a/nebo prostředí	NEG	NEG	NEG
	Negativní externí kontrola Microbiologics				
Pozitivní externí kontrola	Vzorek se známou pozitivitou ^a	Zásadní selhání činidla včetně integrity primeru a sondy	POS/NEG	POS/NEG	POS/NEG
	Pozitivní externí kontrola Microbiologics				
			POS	POS	POS

^a U vzorků se známou pozitivitou se očekává, že budou pozitivní pouze na viry přítomné ve vzorku.

- Externí negativní kontrola, která má pozitivní výsledek, naznačuje problém při manipulaci se vzorkem a/nebo kontaminaci. Provéřte techniku manipulace se vzorky, aby nedocházelo k záměnám a/nebo kontaminaci. Externí pozitivní kontrola, která poskytuje negativní výsledek, naznačuje problém při manipulaci se vzorkem nebo jeho přípravě. Provéřte techniku manipulace se vzorky a techniku jejich přípravy.
- Externí kontrola, která má nerozhodný, neurčitý nebo neúplný výsledek testu, naznačuje selhání činidla nebo systému BD MAX™. Zkontrolujte, zda monitor systému BD MAX™ neukazuje chybové zprávy. Vysvětlení varování a chybových kódů naleznete v části Řešení potíží Uživatelské příručky k systému BD MAX™³. Pokud problém trvá, použijte činidla z dosud neotevřeného sáčku nebo použijte novou sadu BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™.
- Gen RNázy P slouží jako kontrola extrakce i vnitřní amplifikace. V případě, že jsou výsledky SARS-CoV-2, chřipky A a chřipky B negativní, musí být výsledek RNázy P pozitivní, aby bylo možné považovat výsledky pro SARS-CoV-2, chřipku A a chřipku B za negativní. Pokud je výsledek SARS-CoV-2, chřipky A a/nebo chřipky B pozitivní, výsledek RNázy P bude ignorován. Nerozhodný výsledek (UNR) naznačuje inhibici související se vzorkem nebo selhání činidla. Každý vzorek hlášený jako nerozhodný musí být znovu otestován podle níže uvedeného postupu v části Opakované provedení testu.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Výsledky jsou dostupné pod záložkou **<Results>** (Výsledky) v okně **<Results>** (Výsledky) na monitoru systému BD MAX™. Software systému BD MAX™ automaticky interpretuje výsledky testu. Výsledky se hlásí pro každý z analytů. Podle stavu amplifikace cílové sekvence, kontroly extrakce a interní kontroly amplifikace může být výsledek RNázy P NEG (negativní), POS (pozitivní) nebo UNR (nerozhodný). Výsledky IND (neurčitý) nebo INC (neúplný) indikují selhání systému BD MAX™. Interpretace výsledků testu BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ je popsána níže v tabulce 3.

Tabulka 3: Interpretace výsledků testu BD SARS-CoV-2/Flu

CoV2 (SARS-CoV-2)	Chřipka A	Chřipka B	Zobrazené výsledky ^a	Činnosti
POS	NEG	NEG	CoV2 POS FluA NEG FluB NEG	Vykazovat jako: Detekován SARS-CoV-2 Nedetekována chřipka A Nedetekována chřipka B
NEG	POS	NEG	CoV2 NEG FluA POS FluB NEG	Vykazovat jako: Nedetekován SARS-CoV-2 Detekována chřipka A Nedetekována chřipka B
NEG	NEG	POS	CoV2 NEG FluA NEG FluB POS	Vykazovat jako: Nedetekován SARS-CoV-2 Nedetekována chřipka A Detekována chřipka B
POS	POS	NEG	CoV2 POS FluA POS FluB NEG	Vykazovat jako: Detekován SARS-CoV-2 Detekována chřipka A Nedetekována chřipka B
POS	NEG	POS	CoV2 POS FluA NEG FluB POS	Vykazovat jako: Detekován SARS-CoV-2 Nedetekována chřipka A Detekována chřipka B
NEG	POS	POS	CoV2 NEG FluA POS FluB POS	Vykazovat jako: Nedetekován SARS-CoV-2 Detekována chřipka A Detekována chřipka B

CoV2 (SARS-CoV-2)	Chřipka A	Chřipka B	Zobrazené výsledky ^a	Činnosti
POS	POS	POS	CoV2 POS FluA POS FluB POS	Vykazovat jako: Detekován SARS-CoV-2 Detekována chřipka A Detekována chřipka B
NEG	NEG	NEG	CoV2 NEG FluA NEG FluB NEG	Vykazovat jako: Nedetekován SARS-CoV-2 Nedetekována chřipka A Nedetekována chřipka B
			UNR ^b	Opakovat test ^c
			IND ^d (doprovázen varovným hlášením či chybovými kódy ^e)	Opakovat test ^c
			INC ^f (doprovázen varovným hlášením či chybovými kódy ^e)	Opakovat test ^c

^a Laboratoře musí vykazovat své diagnostické výsledky podle potřeby a v souladu se svým specifickým systémem hlášení.

^b Nerozhodný

^c Opakujte test přípravou čerstvé zkumavky se vzorkovým pufrům z původního primárního vzorku.

^d Neurčitý

^e Vysvětlení varování a chybových kódů najdete v části Řešení potíží Uživatelské příručky k systému BD MAX™³.

^f Neúplný

NEROZHODNÉ, NEURČITÉ A NEÚPLNÉ VÝSLEDKY

Pokud získáte neurčitý (IND), nerozhodný (UNR) nebo neúplný (INC) výsledek, musí být proveden opakovaný test z primárního vzorku. Pokud externí kontrola selže, opakujte ve stejný den testování všech vzorků za pomoci čerstvě připravených externích kontrol (viz část Kontrola kvality).

Nerozhodný výsledek

Nerozhodné výsledky lze obdržet v případě, kdy inhibice související se vzorkem nebo selhání činidla zabrání řádné amplifikaci cílové sekvence nebo RNázy P. Vzorky lze z primárního vzorku opakovat. Odzátkujte novou zkumavku se vzorkovým pufrům BD Molecular Respiratory a přeneste (pomocí kalibrované variabilní pipety) 750 µl vzorku UVT / UTM / fyziologického roztoku přímo do zkumavky se vzorkovým pufrům BD Molecular Respiratory. Začněte znovu částí Provoz systému BD MAX™.

Neurčitý výsledek

Neurčité výsledky mohou být obdrženy v případě, kdy došlo k selhání systému. Vzorky lze z primárního vzorku opakovat. Odzátkujte novou zkumavku se vzorkovým pufrům BD Molecular Respiratory a přeneste (pomocí kalibrované variabilní pipety) 750 µl vzorku UVT / UTM / fyziologického roztoku přímo do zkumavky se vzorkovým pufrům BD Molecular Respiratory. Začněte znovu částí Provoz systému BD MAX™.

Neúplný výsledek

Neúplné výsledky můžete získat v případě, kdy příprava vzorku nebo proces PCR nedospěly do očekávaných časových bodů. Vzorky lze z primárního vzorku opakovat. Odzátkujte novou zkumavku se vzorkovým pufrům BD Molecular Respiratory a přeneste (pomocí kalibrované variabilní pipety) 750 µl vzorku UVT / UTM / fyziologického roztoku přímo do zkumavky se vzorkovým pufrům BD Molecular Respiratory. Začněte znovu částí Provoz systému BD MAX™.

Selhání externí kontroly

Externí kontroly musí v testech poskytovat očekávané výsledky. Pokud je třeba zopakovat testování vzorků kvůli chybnému výsledku externí kontroly, vzorky je nutné nabrat z primárních vzorků spolu s čerstvě připravenými externími kontrolami. Začněte znovu částí Provoz systému BD MAX™.

OMEZENÍ POSTUPU

- Test BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ byl hodnocen pouze při použití na systému BD MAX™.
- Spolehlivost výsledků závisí na správném odběru a skladování vzorků a manipulaci s nimi.
- Výkonnost testu BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ byla stanovena pouze ve vzorcích výtěrů z nosohltanu. Přední nosní výtěry jsou považovány za vhodný typ vzorků k použití s činidly BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™, ale účinnost u tohoto typu vzorků nebyla stanovena.
- Použití testu BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ s jinými typy vzorků nebylo vyhodnoceno a specifické vlastnosti účinnosti nebyly prokázány.
- Klinické funkční charakteristiky nebyly stanoveny pro všechny cirkulující varianty, dle očekávání by měly odrážet prevalenční varianty cirkulující v době a místě klinického vyhodnocení. Funkční charakteristiky v době testování se mohou lišit v závislosti na cirkulujících variantách, včetně nově vzniklých kmenů SARS-CoV-2 a jejich prevalence, která se s časem mění.
- Detekce RNA SARS-CoV-2, chřipky A a/nebo chřipky B může být ovlivněna metodami odběru vzorků, faktory týkajícími se pacienta (např. přítomnost symptomů) a/nebo stadiem infekce.

- Jako u každého molekulárního testu mohou mutace v cílových oblastech testu BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ ovlivnit vazbu primeru a/nebo sondy, což má za následek nezjištění přítomnosti viru.
- Vzhledem k nevyhnutelným rozdílům mezi různými technologiemi se doporučuje, aby před přechodem z jedné technologie na jinou uživatelé v laboratoři provedli korelační studie metod, aby tyto technologické rozdíly kvalifikovali. Kvůli výše uvedeným rozdílům v technologiích nelze očekávat stoprocentní shodu mezi výsledky. Uživatelé by měli dodržovat vlastní specifické předpisy/postupy.
- V důsledku interference se mohou objevit falešně negativní nebo neplatné výsledky. Za účelem identifikace vzorků obsahujících látky, které by mohly interferovat s izolací nukleových kyselin a amplifikací PCR, je součástí endogenní kontrola RNázy P.
- Za účelem zabránění kontaminace činidel je nutné postupovat podle zásad správné laboratorní praxe a pečlivě dodržovat kroky postupu uvedené v tomto návodu k použití.
- Vliv interferujících látek byl hodnocen pouze u látek uvedených v této dokumentaci. Potenciální interference jiných látek než uvedených v části Interferující látky níže nebyla hodnocena. Interference látek jiných než uvedených v části Interferující látky níže může vést k chybným výsledkům.
- Lidská krev, Flonase, Zicam a tobramycin interferují s testem BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ v koncentracích vyšších než 0,2 % v/v, 1,7 % v/v, 0,5 % v/v, resp. 0,4 µg/ml v UVT.
- U pacientů, kterým byla intranazálně podaná vakcína proti chřipce, nebyl test BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ hodnocen.
- Účinnost tohoto zařízení nebyla vyhodnocena u populace očkované proti onemocnění COVID-19.
- Enterovirus C (Coxsackievirus A17) interferuje s testem BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ v koncentracích nad 1,00E+04 TCID₅₀/ml v UVT.
- Výsledky z analytických studií s umělými koinfokovanými vzorky dokládají potenciál kompetitivní interference s chřipkou B v nízkých koncentracích (~2x LoD), když je koncentrace SARS-CoV-2 ≥ 1,00E+06 genomických kopií/ml.
- Účelem testu není rozlišovat podtypy chřipky A nebo linie chřipky B. Pokud je nutná diferenciace konkrétních podtypů a linií chřipky, je nutné po konzultaci se státními nebo místními útvary veřejného zdraví provést další testování.

NEKLINICKÉ HODNOCENÍ ÚČINNOSTI

Limit detekce (LoD)

Analytická citlivost testu BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ byla hodnocena s omezujícím ředěním pro sedm respiračních virů (SARS-CoV-2, dva kmeny chřipky A H1N1, dva kmeny chřipky A H3N2 a dva kmeny chřipky B). Studie LoD stanovují nejnižší detekovatelnou koncentraci viru, při níž je přibližně 95 % všech (skutečně pozitivních) replikátů testováno pozitivně.

Pro stanovení LoD byly kvantifikované inaktivované SARS-CoV-2 nebo kvantifikované tekutiny chřipkové kultury sériově ředěny do matrice simulovaných nosohltanových výtěrů s celkovým počtem 5 hladin koncentrace a 2násobným sériovým ředěním mezi jednotlivými hladinami. Potvrzení odhadovaného LoD bylo provedeno s jednou šarží činidel ve 20 replikátech připravených v matrici simulovaných nosohltanových výtěrů. LoD je definován jako nejnižší koncentrace, při které je očekávána pozitivita testu u ≥ 95 % všech replikátů. Ověřené hodnoty LoD pro každý testovaný virus jsou shrnuty v tabulce 4.

Tabulka 4. Limit detekce testu BD SARS-CoV-2/Flu

ID kmene	Koncentrace LoD (v UVT)
SARS-CoV-2/USA-WA1/2020	700 GC/ml
Chřipka A H1N1 Brisbane/59/07	0,025 TCID ₅₀ /ml
Chřipka A H1N1 Idaho/07/2018	0,20 TCID ₅₀ /ml
Chřipka A H3N2 Switzerland/9715293/13	0,10 TCID ₅₀ /ml
Chřipka A H3N2 Kansas/14/2017	4,8 TCID ₅₀ /ml
Chřipka B Colorado/06/17	0,05 TCID ₅₀ /ml
Chřipka B Phuket/3073/13	0,06 TCID ₅₀ /ml

Reaktivita/inkluzivita

Primery a sondy nCoV N1 a nCoV N2 využívané k detekci SARS-CoV-2 v rámci testu BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ jsou z hlediska sekvencí identické s těmi, které jsou vykázané v diagnostickém panelu RT-PCR v reálném čase pro CDC 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV). Bylo provedeno srovnání *in silico* sad primerů N1 a N2 za použití všech dostupných vysoce kvalitních sekvencí viru SARS-CoV-2 předaných do databáze GISAID EpiCoV do 13. ledna 2021 (n = 329 434). Zarovnání proti genu N ukázalo, že sady primerů/sond pro N1 i N2 vykazují dokonalou shodu do 93,8 % sekvencí v databázi, 96,8 % sekvencí mělo dokonalou shodu v oblasti sady primerů N1 a 97,0 % mělo dokonalou shodu v oblasti sady primerů N2. Celkem 99,9 % vykazuje dokonalou shodu buď se sadou primerů v oblasti N1, nebo N2.

Bylo provedeno srovnání *in silico* sady primerů chřipky A za použití všech dostupných vysoce kvalitních genových sekvencí viru chřipky A M1 (proteinová matrice) předaných do databáze GISAID EpiCoV⁶ mezi 1. květnem 2008 a 21. říjnem 2020 (n = 87 051). Vícenásobné zarovnání matrice genu ukázalo, že 90,2 % sekvencí vykazuje dokonalou shodu se sadou primerů/sond, zatímco dalších 7,8 % sekvencí vykazovalo jediný základní nesoulad na 5' konci jednoho primeru. K více neshodám primerů a sondy došlo pouze u 0,25 % sekvencí.

Bylo provedeno srovnání *in silico* sad primerů chřipky B za použití všech dostupných vysoce kvalitních genových sekvencí viru chřipky B M1 a HA předaných do databáze GISAID EpiCoV⁶ mezi 1. květnem 2008 a 21. říjnem 2020. Celkem bylo k této analýze použito 23 972 matic a 49 852 sekvencí HA. Vícenásobné zarovnání genu M1 ukázalo, že 97,2 % sekvencí má dokonalou shodu se sadou primeru/sondy a 74,8 % sekvencí HA mělo jednu nebo méně neshod párů bází.

Test BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ byl hodnocen proti více kmenům chřipky A H1N1 a H3N2 a kmenům chřipky B včetně linií Yamagata a Victoria. Celkově bylo hodnoceno 20 kmenů chřipky A a 5 kmenů chřipky B na úrovních blízkých analytické LoD. Pro každý kmen byly testovány tři replikáty. Všechny kmene byly detekovány při 3x LoD s výjimkou jednoho kmene chřipky A H1N1 (A/Wisconsin/505/2018 pdm09) a jednoho kmene chřipky A H3N2 (A/Texas/71/2017), které byly detekovány při 6x LoD.

Tabulka 5. Analytická reaktivita/inkluzivita pro test BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™

Virus	Kmen	Typ	Koncentrace viru ve vztahu k LoD	CoV2 (SARS-CoV-2) – výsledek	Chřipka A – výsledek	Chřipka B – výsledek
Chřipka A	H1N1	Antivirová rezistence viru A/ Maryland/08/2013 (H1N1) pdm09	3x LoD	NEG	POS	NEG
		Virus A/Bangladesh/3002/2015 (H1N1) pdm09	3x LoD	NEG	POS	NEG
		Virus A/Iowa/53/2015 (H1N1) pdm09	3x LoD	NEG	POS	NEG
		Virus A/Michigan/272/2017 (H1N1) pdm09	3x LoD	NEG	POS	NEG
		Virus A/Wisconsin/505/2018 (H1N1) pdm09	6x LoD	NEG	POS	NEG
		Virus A/St. Petersburg/61/2015 (H1N1)pdm09)	3x LoD	NEG	POS	NEG
		Virus A/Michigan/45/2015 (H1N1) pdm09	3x LoD	NEG	POS	NEG
		Antivirová rezistence viru A/ Louisiana/08/2013 (H1N1) pdm09	3x LoD	NEG	POS	NEG
		Antivirová rezistence viru A/ North Carolina/4/2014 (H1N1) pdm09	3x LoD	NEG	POS	NEG
		Antivirová rezistence viru A/ New York/18/2009 (H1N1) pdm09	3x LoD	NEG	POS	NEG
	H3N2	Virus A/California/02/2014 (H3N2)	3x LoD	NEG	POS	NEG
		Virus A/Alaska/232/2015 (H3N2)	3x LoD	NEG	POS	NEG
		Virus A/Singapore/ INFIMH-16-0019/2016 (H3N2)	3x LoD	NEG	POS	NEG
		Virus A/Texas/71/2017 (H3N2)	6x LoD	NEG	POS	NEG
		Virus A/Arizona/45/2018 (H3N2)	3x LoD	NEG	POS	NEG
		Virus A/Hong Kong/4801/14 (H3N2)	3x LoD	NEG	POS	NEG
		Virus A/Norway/466/14 (H3N2)	3x LoD	NEG	POS	NEG
		Virus A/South Australia/55/14 (H3N2)	3x LoD	NEG	POS	NEG
		Virus A/Stockholm/6/14 (H3N2)	3x LoD	NEG	POS	NEG
		Virus A/Wisconsin/04/2018 (H3N2)	3x LoD	NEG	POS	NEG
Victoria	B/Maryland/15/2016	3x LoD	NEG	NEG	POS	
	Virus B/Hong Kong/286/2017	3x LoD	NEG	NEG	POS	
	Virus B/Hawaii/01/2018 (NA D197N)	3x LoD	NEG	NEG	POS	
Chřipka B	Yamagata	Virus B/ Guangdong-Liwan/1133/2014	3x LoD	NEG	NEG	POS
		Virus B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N)	3x LoD	NEG	NEG	POS

Kromě toho se ukázalo, že test BD SARS-CoV-2/Flu je inkluzivní pro virální panel lidské chřipky CDC (2020). Nejnižší koncentrace ve zkumavce s pufrovým vzorkem, při které je alespoň jeden z pěti replikátů z 5násobného schématu ředění pozitivní, je uvedena jako minimální reaktivní koncentrace.

Tabulka 6. Výsledky virálního panelu lidské chřipky CDC (2020)

Virus chřipky (typ/podtyp)	Název virového kmene	Minimální reaktivní koncentrace (EID ₅₀ /ml ve zkumavce s pufrovým vzorkem)
Chřipka A/H3N2	A/Perth/16/2009	3,41E+01
	A/Hong Kong 2671 2019	1,35E+01
Chřipka A/H1N1	A/Christ Church/16/2010	2,70E+02
	A/Guangdongmaonan/1536/2019	2,15E+01
Linie chřipky B/Victoria	B/Michigan/09/2011	2,71E-02
	B/Washington/02/2019	5,41E+00
Linie chřipky B/Yamagata	B/Texas/81/2016	3,41E+00
	B/Phuket 3073/2013	2,71E+01

Křížová reaktivita

Byla provedena analýza *in silico* k vyhodnocení potenciálu všech primerů a sond obsažených ve směsi master mix BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ pro amplifikaci a detekci nezamýšlených organismů. Každý primer byl podroben analýze „BLAST“ proti úplné databázi nt a zarovnání byla zachována, pokud se po celé délce primeru neobjevily více než tři (3) neshody párů bází, konec primeru 3' odpovídal předmětné sekvenci a nebyly zavedeny žádné mezery k „vynucení“ zarovnání. Byla určena orientace plus/minus mezi primerem (dotaz) a subjektem (sekvence z databáze) a byly identifikovány všechny kombinace dvou primerů (včetně každého primeru samotného), kde jeden primer odpovídal řetězci plus a druhý odpovídal řetězci minus představujícím potenciální amplicony. Amplicony byly zachovány, pokud primer s řetězcem minus následoval primer s řetězcem plus a výsledné amplicony byly dlouhé maximálně 3 000 párů bází.

Chřipka A: nebyla objevena žádná relevantní křížová reaktivita.

Chřipka B: nebyla objevena žádná relevantní křížová reaktivita.

SARS-CoV-2: všechny identifikované shody jsou buď SARS-CoV-2, nebo blíže příbuzný koronavirus jiného než lidského druhu. Nebyla objevena žádná relevantní křížová reaktivita.

Kromě toho bylo vyhodnoceno z hlediska křížové reaktivity s testem BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ 46 organismů a 1 skupina nosohltanových výtěrů. Bakteriální buňky, kvasinky a viry byly testovány ve zkumavce se vzorkovým pufrem BD Molecular Respiratory. Všechny testované organismy vykázaly negativní výsledky, když byly testovány při koncentracích uvedených v tabulce 7.

Tabulka 7. Organismy vyhodnocené z hlediska křížové reaktivity

Organismus	Testovaná koncentrace
Adenovirus – typ 1	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
Adenovirus – typ 4	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
Adenovirus – typ 7	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
<i>Bordetella pertussis</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Chlamydia pneumonia</i>	1,00E+06 IFU/ml
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,00E+06 CFU/ml
Cytomegalovirus	4,17E+04 U/ml
Enterovirus B (Echovirus 6)	1,00E+05 U/ml
Enterovirus C (Coxsackievirus A17)	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
Enterovirus D	1,00E+05 U/ml
Virus Epstein-Barrové	1,00E+05 kopii/ml
<i>Escherichia coli</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,00E+06 CFU/ml
Virus Herpes Simplex typ 1	1,41E+04 U/ml
Virus Herpes Simplex typ 2	1,41E+04 U/ml
Lidský koronavirus 229E	1,00E+05 U/ml
Lidský koronavirus HKU1	1,00E+05 GC/ml
Lidský koronavirus NL63	1,41E+04 TCID ₅₀ /ml
Lidský koronavirus OC43	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
Lidský metapneumovirus (hMPV)	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Legionella pneumophila</i>	1,00E+06 CFU/ml
Spalničky	1,00E+05 U/ml
Koronavirus MERS	1,00E+05 kopii/ml
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,00E+06 CFU/ml
Příušnice	1,00E+05 U/ml
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1,00E+06 kopii/ml
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+06 CFU/ml

Organismus	Testovaná koncentrace
<i>Neisseria meningitidis</i>	5,00E+03 CFU/ml
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,00E+06 CFU/ml
Virus Parainfluenza 1	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
Virus Parainfluenza 2	1,00E+05 U/ml
Virus Parainfluenza 3	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
Virus Parainfluenza 4	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	1,00E+05 jader/ml
Sdružená matrice lidských nosohltanových výtěrů	Nevztahuje se
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,00E+06 CFU/ml
Respirační syncytiální virus	1,00E+05 U/ml
Rhinovirus	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
Koronavirus SARS	1,00E+05 GE/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Staphylococcus epidermis</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Streptococcus pneumonia</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Streptococcus salivarius</i>	5,00E+03 CFU/ml
Virus Varicella Zoster	1,00E+04 U/ml

Interferující látky

Devět (9) biologických a chemických látek, které mohou být přítomné ve vzorcích výtěrů z nosohltanu, bylo vyhodnoceno z hlediska interference s testem BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™. Plná lidská krev interferuje při hladinách vyšších než 0,2 % (objem/objem). Lék Flonase interferuje při hladinách vyšších než 1,7 % (objem/objem). Lék Tobramycin interferuje při hladinách vyšších než 0,4 µg/ml. Lék Zicam interferuje při hladinách vyšších než 0,5 % (objem/objem). Výsledky neprokázaly hlásitelnou interferenci s žádnými dalšími testovanými látkami (viz tabulka 8).

Stejně organismy, které byly hodnoceny z hlediska křížové reaktivity (tabulka 7), byly hodnoceny také z hlediska potenciální interference s testem BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™. Čtyřicet šest (46) organismů a jedna (1) skupina nosohltanových výtěrů byly testovány při vysokých koncentracích ($\geq 10^6$ CFU/ml, buňky nebo ekvivalenty genomu na ml, $\geq 10^5$ IFU/ml nebo TCID₅₀/ml, nebo nejvyšší dostupná koncentrace) v přítomnosti testových analytů (SARS-CoV-2, chřipka A a chřipka B) společně doplněných při 3x LoD. Enterovirus C (Coxsackievirus A17) interferuje v detekci chřipky A a chřipky B v koncentraci nad 1,00E+04 TCID₅₀/ml.

Tabulka 8: Endogenní a komerční exogenní látky testované pomocí testu BD SARS-CoV-2/Flu

Obchodní název nebo popis	Aktivní složka	Testovaná koncentrace	Pozitivní testování (pozitivní/celkové)			Negativní testování (negativní/celkové)	Výsledek
			CoV-2 (SARS-CoV-2)	Chřipka A	Chřipka B		
Mucin	Čištěný mucin	60 µg/ml	3/3	3/3	3/3	3/3	NI
Plná lidská krev	Nevztahuje se	2 % v/v	2/3 ^a	2/3 ^a	2/3 ^a	3/3	I
		0,2 % v/v	3/3	3/3	3/3	3/3	NI
Nosní kortikosteroidy (Flonase)	Flutikason	17 % v/v	1/3	0/3	1/3	3/3	I
		1,7 % v/v	3/3	3/3	3/3	3/3	NI
Nosní gel (Zicam)	Galphimia glauca, luffa operculata, sabadilla	5 % v/v	2/3 ^b	2/3 ^b	2/3	3/3	I
		0,5 % v/v	3/3	3/3	3/3	3/3	NI
Homeopatický přípravek proti alergii (Afrin)	Oxymetazolin hydrochlorid	8 % v/v	3/3	3/3	3/3	3/3	NI
Krční pastilky, ústní anestetikum a analgetikum (Cepacol)	Benzokain, mentol	0,8 mg/ml	3/3	3/3	3/3	3/3	NI
Antivirové léky (Relenza)	Zanamivir	3,3 mg/ml	3/3	3/3	3/3	3/3	NI
Antibiotická nosní mast (Mupirocin)	Mupirocin	10 mg/ml	3/3	3/3	3/3	3/3	NI
Antibakteriální systémový přípravek (Tobramycin)	Tobramycin	4 µg/ml	3/3	3/3	3/3	2/3 ^b	I
		0,4 µg/ml	3/3	3/3	3/3	3/3	NI

a: neurčitý (IND) výsledek

b: nevyřešený (UNR) výsledek

I: hlásitelná interference s testem BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ při vysokých koncentracích.

NI: žádná hlásitelná interference s testem BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™.

Smíšená infekce / kompetitivní interference

Pro přístup k potenciální kompetitivní interferenci mezi SARS-CoV-2, chřipkou A a chřipkou B byly vzorky testovány v pěti (5) replikátech, kde byla nízká (přibližně 2x oproti jejich příslušné LoD) koncentrace dvou analytů smíchána s vysokou (přibližně 1,00E+06 TCID₅₀/ml v UVT nebo 1,00E+06 GC/ml v UVT) koncentrací jiných analytů v matrici simulovaných nosohltanových výtěrů. Výsledky studie prokázaly, že SARS-CoV-2 v koncentraci 1,00E+06 GC/ml v UVT inhibuje detekci chřipky B, když je přítomen v nízké koncentraci (~2x LoD) ve vzorku. Inhibice nebyla pozorována, když byla koncentrace SARS-CoV-2 naředěna na 1E+05 GC/ml v UVT.

Tabulka 9. Smíšená infekce / kompetitivní interference – výsledky

Podmínky inkubace	Virus 1 (vysoký)		Virus 2		Virus 3		Pozitivní výsledky		
	Popis	Koncentrace	Popis	Koncentrace	Popis	Koncentrace	CoV2 (SARS-CoV-2)	Chřipka A	Chřipka B
1	SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020)	1,00E+06 GC/ml	Chřipka A (Kansas/14/17)	9,6 TCID ₅₀ /ml	Chřipka B (Colorado/06/17)	0,10 TCID ₅₀ /ml	5/5	5/5	4/5
2	Chřipka A (Michigan/45/2015 (H1N1) pdm09)	1,00E+06 TCID ₅₀ /ml	SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020)	1400 GC/ml	Chřipka B (Colorado/06/17)	0,10 TCID ₅₀ /ml	5/5	5/5	5/5
3	Chřipka B (Guangdong-Liwan/1133/2014)	1,00E+06 TCID ₅₀ /ml	SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020)	1 400 GC/ml	Chřipka A (Kansas/14/17)	9,6 TCID ₅₀ /ml	5/5	5/5	5/5
4	SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020)	1,00E+05 GC/ml	Chřipka B (Colorado/06/17)	0,10 TCID ₅₀ /ml	Nevztahuje se		5/5	Nevztahuje se	5/5

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost byla hodnocena pro stanovení BD SARS-CoV-2/Flu na čtyřech přístrojích. Testování bylo provedeno v průběhu 3 dnů ve dvou zpracováních na den (každé ve 3 šaržích sady), celkem šlo tedy o 18 zpracování. K vytvoření členů panelu pro tuto studii byly použity tři specifické cílové organismy v různých koncentracích. Členy panelu zahrnovaly chřipku A, chřipku B a SARS-CoV-2.

Následující hodnoty byly použity jako úrovně přidání cílových organismů obsažených v jednotlivých členech panelu:

- Středně pozitivní (MP): 3–5x LoD
- Slabě pozitivní (LP): 1–3x LoD
- Skutečně negativní: bez cíle

Do každého členu panelu byla přidána matrice simulovaných nosohltanových výtěrů. Skutečně negativní vzorky neobsahovaly žádný cíl. Výsledky jsou shrnuty dle cíle a koncentrace v tabulce 10.

Tabulka 10: Výsledky reprodukovatelnosti mezi šaržemi při použití tří šarží testu BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™

Analyt	Počet platných	Počet shod	% shody
SARS-CoV-2 (LP)	54	54	100
Chřipka B (MP)	54	54	100
SARS-CoV-2 (MP)	54	54	100
Chřipka A (LP)	54	54	100
Chřipka A (MP)	54	54	100
Chřipka B (LP)	54	52	96,3
Skutečně negativní ^a	54	54	100

^a U kategorie skutečně negativní naznačovala hlášená shoda procento negativních výsledků.

KLINICKÉ VYHODNOCENÍ

Klinické specifické vlastnosti účinnosti testu BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ byly stanoveny z celkem 232 zmrazených retrospektivních nosohltanových výtěrů v UVT/UTM získaných ze dvou externích zdrojů s historicky pozitivními nebo negativními výsledky pro SARS-CoV-2, chřipku A nebo chřipku B. Vzorky byly odebrány v rámci běžné péče o pacienty mezi 30. listopadem 2019 a 3. zářím 2020 od 116 mužů a 116 žen ve věku od 5 měsíců do více než 89 let. Všechny vzorky byly testovány zaslepeným a randomizovaným způsobem pomocí testu BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™ a referenčních metod. Referenčními metodami pro SARS-CoV-2, chřipku A a chřipku B byla vysoce citlivá stanovení RT-PCR.

V tabulkách 11 až 13 jsou popsány specifické vlastnosti účinnosti testu BD SARS-CoV-2/Flu pro systém BD MAX™, které byly zjištěny v průběhu klinického hodnocení.

Tabulka 11: Klinická účinnost – SARS-CoV-2

	Referenční metoda			
	SARS-CoV-2	POS	NEG	Celkem
Systém BD MAX™	POS	50	0	50
	NEG	2 ^a	30	32
	Celkem	52	30	82
SARS-CoV-2 PPA: 96,2 % (50/52) (95 % CI: 87,0 % – 98,9 %) SARS-CoV-2 NPA: 100 % (30/30) (95 % CI: 88,7 % – 100 %)				

^a 2/2 vzorky byly testovány pomocí různých metod a vykazaly negativní výsledky pro SARS-CoV-2. Jeden (1) historický výsledek byl pozitivní a druhý negativní.

Tabulka 12: Klinická účinnost – chřipka A

	Referenční metoda			
	Chřipka A	POS	NEG	Celkem
Systém BD MAX™	POS	59	1 ^a	60
	NEG	0	90	90
	Celkem	59	91	150
Chřipka A PPA: 100 % (59/59) (95 % CI: 93,9 % – 100 %) Chřipka A NPA: 98,9 % (90/91) (95 % CI: 94,0 % – 99,8 %)				

^a Vzorek byl testován odlišnou metodou a vykázal pozitivní výsledek pro chřipku A. Historický výsledek byl pozitivní.

Tabulka 13: Klinická účinnost – chřipka B

	Referenční metoda			
	Chřipka B	POS	NEG	Celkem
Systém BD MAX™	POS	59	0	59
	NEG	1 ^a	90	91
	Celkem	60	90	150
Chřipka B PPA: 98,3 % (59/60) (95 % CI: 91,1 % – 99,7 %) Chřipka B NPA: 100 % (90/90) (95 % CI: 95,9 % – 100 %)				

^a Vzorek byl testován odlišnou metodou a vykázal pozitivní výsledek pro chřipku B. Historický výsledek byl pozitivní.

ODKAZY































































1. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (Refer to the latest edition).
2. Centers for Disease Control and Prevention, and National Institutes of Health. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Chosewood L.C. and Wilson D.E. (eds) (2009). HHS Publication No. (CDC) 21–1112.
3. BD MAX™ System User's Manual (refer to the latest revision) BD Life Sciences, Sparks, MD 21152 USA.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline, document MM3 (Refer to the latest edition).
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test performance; Approved Guideline, Document EP12 (Refer to the latest edition).
6. Shu, Y., McCauley, J. (2017) GISAID: Global initiative on sharing all influenza data – from vision to reality. EuroSurveillance, 22(13) DOI:10.2807/1560-7917.ES.2017.22.13.30494 PMID: PMC5388101

Dokumentační údaje

Revize	Datum	Souhrn změn
(01)	2020-11	První vydání.
(02)	2021-04	Aktualizován účel použití a postup s cílem zařadit přední nosní stěry jako typ vzorku. Fotografie na obrázku 1 byla aktualizována tak, aby lépe znázorňovala konfiguraci stanovení. Doplněny limitace. Aktualizována analýza SARS-CoV-2 <i>in silico</i> . Opraveny hodnoty v tabulce 6. Aktualizovány části Interferující látky a Smíšená infekce. Byly provedeny aktualizace v rámci typografie a formátování.

SLOVNÍČEK SYMBOLŮ [L006715(05) 2021-04]

Některé symboly uvedené níže se nemusí vztahovat k tomuto produktu.

Symbol	Význam	Symbol	Význam
	Výrobce		Nepyrogní
	Zplnomocněný zástupce v Evropském společenství		Číslo pacienta
	Datum výroby		Touto stranou nahoru
	Datum spotřeby		Nevrstvěte
	Číslo šarže		Systém jedné sterilní bariéry
	Katalogové číslo		Obsah nebo přítomnost ftalátů: kombinace bis (2-etylhexyl) ftalátu (DEHP) a benzyl butyl ftalátu (BBP)
	Výrobní číslo		Sbírejte odděleně Označuje povinný oddělený sběr elektrického a elektronického odpadu.
	Sterilní		Označení CE: značí shodu s evropskými technickými normami
	Sterilizováno za použití aseptických technologií		Prostředek k vyšetření u pacienta
	Sterilizováno ethylenoxidem		Prostředek pro vlastní vyšetření
	Sterilizováno radiací		Platí pouze v USA: „Upozornění: Federální zákon omezuje prodej tohoto přístroje na prodej licencovaným lékařům nebo na jejich příkaz.“
	Sterilizováno párou nebo suchým teplem		Země výroby „CC“ se nahrazuje dvoupísmenným nebo třípísmenným kódem země.
	Neprovádějte opětovnou sterilizaci		Čas odběru
	Nesterilní		Odstřihněte
	Nepoužívejte, je-li obal poškozený		Otevřete zde
	Sterilní cesta kapaliny		Datum odběru
	Sterilní cesta kapaliny (ethylenoxid)		Chraňte před světlem
	Sterilní cesta kapaliny (radiace)		Vznik plynného vodíku
	Křehké, zacházejte opatrně		Perforace
	Chraňte před slunečním světlem		Pořadové číslo startovního panelu
	Uchovávejte v suchu		Pořadové číslo koncového panelu
	Dolní mez teploty		Zdravotnický prostředek
	Horní mez teploty		Obsahuje nebezpečné látky
	Teplotní omezení		Ukrajinská značka shody
	Omezení vlhkosti		Splňuje požadavky FCC podle 21 CFR, část 15
	Biologické riziko		Certifikace produktu UL pro USA a Kanadu
	Pro jednorázové použití		Jedinečný identifikátor zařízení
	Viz návod k použití U elektronického návodu k použití symbol doprovází adresa URL.		
	Upozornění		
	Obsah nebo přítomnost přírodního latexu		
	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>		
	Negativní kontrola		
	Pozitivní kontrola		
	Dostatečné množství pro <n> testů		
	Pouze pro vyhodnocení funkční způsobilosti IVD		



Technická podpora a servis: obraťte se na místního zástupce společnosti BD nebo navštivte adresu bd.com.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, Maryland 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

Australian Sponsor:
Becton Dickinson Pty Ltd.
66 Waterloo Road
Macquarie Park NSW 2113
Australia

New Zealand Sponsor:
Becton Dickinson Limited
14B George Bourke Drive
Mt. Wellington Auckland 1060
New Zealand

BD, the BD Logo, and MAX are trademarks of Becton, Dickinson and Company or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. © 2021 BD. All rights reserved.