17. Referenzen

WHO: Klinisches Management der Severe Acute Respiratory Infection (SARI), wenn COVID-19 vermutet wird. 13. März 2020 Online verfügbar unter https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/clinical-management-of-novel-cov.pdf

WHO: Q&A: Influenza und COVID-19 - Gemeinsamkeiten und Unterschiede. 17. März 2020 Online verfügbar unter https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/question-and-answers-hub/q-a-detail/q-a-similarities-and-differences-covid-19-and-influenza

Zhou, Peng; Yang, Xing-Lou; Wang, Xian-Guang; Hu, Ben; Zhang, Lei; Zhang, Wei et al. (2020): A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. In Nature 579 (7798), pp. 270–273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.

Chhikara, B. S., Rathi, B., Singh, J., Poonam. (2020). Corona virus SARS-CoV-2 disease COVID-19: Infection, prevention and clinical advances of the prospective chemical drug therapeutics. Chem. Biol. 7(1) 63-72.

Gorbalenya, Alexander E.; Baker, Susan C.; Baric, Ralph S.; Groot, Raoul J. de; Drosten, Christian; Gulyaeva, Anastasia A. et al. (2020): Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses – a statement of the Coronavirus Study Group (14). bioRxiv 2020.02.07.937862; doi: https://doi.org/10.1101/2020.02.07.937862

nzytech genes & enzymes

Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar - Edifício E, R/C, 1649-038 Lissabon, Portugal
Tel.:+351.213643514 Fax: +351,217151168
www.nzytech.com

nzytech genes & enzymes

SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR-Kit, RdRp- und N-Zielgene, IVD

Virale RNA-abhängige RNA-Polymerase (RdRp) und Nukleokapsid-Phosphoprotein (N) Gene

REF MD04831, 96 Reaktionen
MD04832, 4 x 96 Reaktionen

***Nur für den professionellen* in-vitro-*diagnostischen Gebrauch*.**

CE IVD

DE

Instructions for Use (IFU) / Gebrauchsanweisung

IM-002de

VERSION 02/2022, Juni 2022

NZYTech genes & enzymes
Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar - Edifício E, R/C, 1649-038 Lissabon, Portugal
Tel.:+351 213643514 Fax: +351 217151168
www.nzytech.com

Inhalt

1. Einführung 3

2. Verwendungszweck 3

3. Prinzipien des Tests 3

4. Zusammensetzung des Kits 5

5. Bedingungen für Lagerung, Stabilität und Handhabung 5

6. Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien und Instrumente 5

7. Probenentnahme und -vorbereitung 6

8. Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise 6

8.1 Sicherheitshinweise 7

8.2 Handhabung und Verfahrensanforderungen 7

9. Prüfverfahren 8

9.1 Reaktionseinrichtung 8

9.2 Programmierung des Echtzeit-PCR-Instruments 9

10. Datenanalyse 10

10.1 Validierungskriterien für den Lauf 10

10.2 Interpretation der Testergebnisse 10

11. Performance-Bewertung 12

11.1 Erwartete Ergebnisse 12

11.2 Nachweisgrenze (LoD) - Analytische Sensitivität 12

11.3 Analytische Reaktivität (Inklusivität) und analytische Spezifität 14

11.4 Präzision 15

11.5 Klinische Bewertung 17

12. Qualitätskontrolle 17

13. Technischer Support 17

14. Warenzeichen und Haftungsausschlüsse 17

15. Erläuterung der Symbole 18

16. Konformitätserklärung 19

17. Referenzen 20

16. Konformitätserklärung

Produktname: Empfindlichkeit des NZYTech SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR Kit, RdRp und N-Zielgene, IVD.

Katalognummer: MD04831; MD04832

Verwendungszweck: Qualitativer SARS-CoV-2 Nachweis.

Hersteller: NZYTech - Genes & Enzymes,

Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar

Edifício E, R/C,

1649-038 Lissabon

Portugal

Wir, NZYTech, Lda – Genes & Enzymes, erklären hiermit, dass dieses Produkt, auf das sich diese Konformitätserklärung bezieht, mit den folgenden Normen und anderen normativen Dokumenten ISO 9001:2015 und ISO 13485:2016 gemäß den Bestimmungen der Richtlinie 98/79/EG und der Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika, wie sie in nationales Recht der Mitgliedstaaten der Europäischen Union umgesetzt wurde, konform ist.

Die technische Dokumentation wird gepflegt bei NZYTech, Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar - Edifício E, R/C, 1649-038 Lissabon, Portugal.

Joana Brás, PhD

Technische Direktorin

15. Erläuterung der Symbole

IVD	In-vitro-diagnostisches medizinisches Gerät		Gebrauchs-anweisung beachten
REF	Katalognummer		Hersteller
LOT	Chargen-Code		Verwendet von
	Temperatur-grenzen		Ausreichend für
CONTROL +	Positivkontrolle		Vor Sonnenlicht fernhalten (Primer/Sonden-Mix)
CONTROL –	Negativkontrolle		

1. Einführung

Ende 2019 wurde in China eine neue akute Atemwegserkrankung namens Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) gemeldet, die sich rasch weltweit ausbreitete. Als Erreger wurde das Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus 2 (SARS-CoV-2) [Schweres Akutes Respiratorisches Syndrom] identifiziert. Das Virus (zuvor 2019-nCoV genannt) gehört innerhalb der Familie der Coronaviren, wie das eng verwandte SARS-Coronavirus (SARS-CoV) auch, zur Gattung der Betacoronaviren. Coronaviren sind behüllte, positive, einzelsträngige große RNA-Viren, die den Menschen, aber auch eine Vielzahl von Tieren infizieren. Man geht davon aus, dass SARS-CoV-2 zoonotischen Ursprungs ist und sich wahrscheinlich von großen Meeresfrüchte- und Tiermärkten durch den Kontakt von Mensch und Tier in der Stadt Wuhan verbreitet hat. Das neuartige Coronavirus ist hoch ansteckend und wird primär über Atemtröpfchen (Husten und Niesen) übertragen. Die Früherkennung von SARS-CoV-2 ist für eine rasche Behandlung infizierter Patienten und damit für die Eindämmung der Ausbreitung von Infektionen von entscheidender Bedeutung. Zu den häufigsten klinischen Manifestationen von COVID-19 gehören Müdigkeit, Fieber und Symptome der unteren Atemwege, wie trockener Husten und Atemnot. Auch Geruchs- und Geschmacksverlust können auftreten. In den kritischsten Situationen entwickelt sich die Infektion zu einer schweren Lungenentzündung mit lebensbedrohlichen Komplikationen wie akutem Atemwegssyndrom, Organfunktionsstörungen und Tod. Nach heutigem Kenntnisstand ist ein erheblicher Anteil der Infektionen mild oder asymptomatisch. Ein Prozentsatz der Bevölkerung ist anfälliger für die schwere Form der Krankheit, darunter ältere Erwachsene (60 Jahre und älter), Raucher und Menschen mit chronischen Krankheiten wie Herz- oder Lungenerkrankungen, Krebs, Diabetes und Patienten mit einem geschwächten Immunsystem. Gegenwärtig gibt es keine spezifische Behandlung gegen eine SARS-CoV-2-Infektion.

2. Verwendungszweck

NZYTech SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR-Kit, RdRp- und N-Zielgene, IVD ist ein molekularer Test zum schnellen qualitativen Nachweis von Nukleinsäuren des Schweren Akuten Respiratorischen Syndroms verursachenden CoronaVirus 2 (SARS-CoV-2) in Nasen-Rachen- oder Oropharynxabstrichproben von Patienten. Ein positives Ergebnis weist auf das Vorhandensein von SARS-CoV-2-RNA hin, aber eine klinische Korrelation mit der Patientengeschichte und anderen diagnostischen Informationen ist notwendig, um den Infektionsstatus des Patienten zu bestimmen. Negative Ergebnisse schließen eine SARS-CoV-2-Infektion nicht aus und sollten nicht als alleinige Grundlage für Entscheidungen des Patientenmanagements verwendet werden. Dieses Set ist für die Verwendung durch im Labor geschultes Personal vorgesehen, das speziell in Echtzeit-PCR-Techniken und in der In-vitro-Diagnostik unterwiesen wurde.

3. Prinzipien des Tests

NZYTech SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR-Kit, RdRp- und N-Zielgene, IVD bietet den kompletten Satz an Reagenzien und Sonden zum qualitativen Nachweis des SARS-CoV-2 Genoms über gängige Echtzeit-PCR-Plattformen (siehe erforderliche Gerätespezifikationen in **Abschnitt 6**). Die Virus-RNA-abhängige RNA-Polymerase (RdRp) und das Nucleocapsid-Phosphoprotein (N) Gen wurden zuvor als hochspezifische Marker für SARS-CoV-2 identifiziert. Dieser NZYTech-Kit zielt auf spezifische Regionen im RdRp und N Gen des SARS-CoV-2-Genoms ab, um die höchste

Nachweisempfindlichkeit zu erzielen. SARS-CoV-2-Kit Primer und Sonden haben 100 % Homologie mit > 95 % der > 5 M Genomsequenzen, die in der GISAID-Datenbank ab November 2021 verfügbar sind, einschließlich vollständiger Identität zu Delta (B.1.617.2) und Omicron (B.1.1.529) Varianten. Darüber hinaus weisen Primer und Sonden, die auf SARS-CoV-2 abzielen, keine signifikante Homologie mit nicht verwandten Genomen auf, was diesen Test hochspezifisch macht, da es keine Kreuzreaktivität mit Nukleinsäuren von anderen respiratorischen viralen und bakteriellen Organismen gibt. Eine interne Kontrolle ist enthalten, um u.a. die effiziente RNA-Extraktion aus humanen biologischen Proben sowie das Fehlen von PCR-Inhibitoren zu bestätigen. Darüber hinaus verwendet der Test externe Kontrollen (positive Untertiterkontrolle, die mit dem Kit geliefert wird, und negative Kontrolle), wie unten beschrieben. Die Positivkontrolle besteht aus Nukleinsäurefragmenten, die die drei vom Kit detektierten Zielsequenzen (SARS-CoV-2, RdRp und N Gen, und humanes RP-Gen) enthalten. Die natürliche Entwicklung von SARS-CoV-2 beinhaltet auch, dass nach dem anfänglichen Design dieses Kits neue Sequenzinformationen verfügbar werden, die die Anpassungsstrategien von SARS-CoV-2 widerspiegeln. Daher überprüft NZYTech regelmäßig SARS-CoV-2 genomische Targets und wird, falls erforderlich, neue Versionen dieses Kits herausgeben.

Der qualitative Nachweis von RNA basiert auf der einstufigen Echtzeit-RT-PCR-Technologie, da dies nach wie vor die empfindlichste Methode zur Durchführung eines genauen Nachweises von SARS-CoV-2 ist. Durch die Verwendung des NZYTech SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR Kits werden RdRp- und N-Zielgene, IVD, RNA, die mit einem Extraktionssystem (IVD) isoliert und gereinigt wurde, in cDNA retrotranskribiert (RT) und anschließend durch PCR amplifiziert, in Einzelreaktion unter Verwendung von drei hochspezifischen Primer/Sonden-Sets unter Ausnutzung des sogenannten TaqMan®-Prinzips. Alternativ können in einem speziellen Transportmedium gesammelte Proben (siehe Probenentnahme und -vorbereitung in Abschnitt 7) nach einer Hitzebehandlung direkt in der RT-PCR-Reaktion verwendet werden. In Gegenwart viraler RNA binden die Taqman®-Sonden spezifisch an zwei konservierte Regionen des SARS-CoV-2-Genoms, nämlich RdRp (innerhalb des Orf1ab-Polyproteingens) und N-Gene, die von zwei ebenfalls hochspezifischen Primer Paaren flankiert werden. Ein drittes Primer/Sonden-Set dient als endogene interne Kontrolle zum Nachweis von Nukleinsäuren der humanen Ribonuklease P [RNase P-Gen (RP)] und bewertet die Probenqualität. Darüber hinaus bietet diese interne Kontrolle den Nachweis, dass keine Reaktionshemmung durch potenziell in den klinischen/umweltbezogenen Proben vorhandene PCR-Inhibitoren aufgetreten ist. Um die Identifizierung der Amplifikation der drei spezifischen Targets in einer einzigen Reaktion zu ermöglichen, sind die SARS-CoV-2- und die humanen RNase P-spezifischen Sonden unterschiedlich markiert, mit FAM™ bzw. JOE™ Reporterfarbstoffen. Beachten Sie, dass dieses Panel einen Duplex-Assay im gleichen optischen FAM-Kanal enthält, um über eine additive Leistung der beiden PCR-Assays für den SARS-Cov-2-Nachweis zu berichten. Darüber hinaus werden sie in optimierten Konzentrationen bereitgestellt, um sicherzustellen, dass die Amplifikation von humaner mRNA, auch wenn sie in sehr hohen Konzentrationen vorliegt, die Effizienz des SARS-CoV-2 Primer/Sonden-Sets nicht einschränkt.

11.5 Klinische Bewertung

Die Leistung des NZYTech SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR-Kits, RdRp- und N-Zielgene, IVD, mit gesammelten Nasen-Rachen-Abstrichproben, wurde von drei externen Labors bewertet. Insgesamt wurden 340 klinisch negative und 386 klinisch positive Proben getestet. Die Daten zeigten, dass für alle getesteten positiven und negativen Proben eine Übereinstimmung von 100 % erreicht wurde. Die Leistungsbewertung des SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR-Kits, RdRp- und N-Zielgene, IVD, wurde auch an Nasen-Rachen-Abstrichproben durchgeführt, die keinem vorherigen Nukleinsäureextraktionsprotokoll unterzogen wurden. Insgesamt wurden 104 negative klinische Proben und 51 positive klinische Proben getestet. Die Ergebnisse zeigten eine 100%-ige Übereinstimmung für die analysierten positiven und negativen Proben.

12. Qualitätskontrolle

Alle Komponenten von NZYTech SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR Kit, RdRp und N-Zielgene, IVD wurden nach den oben beschriebenen Protokollen getestet. Das Triplex-Echtzeit-PCR-System ermöglicht den Nachweis der für die Identifizierung der viralen RNA SARS-CoV-2 (RdRp and N genes) und der humanen mRNA (RNase P-Gen, RP) beschriebenen Targets. Positive Amplifikationen werden für Zielgene, Positivkontrollen und interne Kontrollen über die Kanäle FAM™ und JOE™ entsprechend den jeweiligen Primer/Sonden-Sets Reporterfarbstoffen beobachtet.

13. Technischer Support

Für technische Unterstützung wenden Sie sich bitte telefonisch an unser engagiertes technisches Support-Team: +351 (0) 21 364 35 14 oder E-Mail: info@nzytech.com.

14. Warenzeichen und Haftungsausschlüsse

Alle in diesem Handbuch aufgeführten Marken sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.

11.4.4. Operator-Reproduzierbarkeit

Die Bediener-Reproduzierbarkeit wurde bewertet, indem 72 Wiederholungen jeder Probe (5 und 150 Kopien pro Reaktion) von vier verschiedenen Bedienern mit 36 Wiederholungen pro Bediener getestet wurden.

11.4.5. Reproduzierbarkeit zwischen Instrumenten

Die Reproduzierbarkeit zwischen den Instrumenten wurde von einem Bediener durch Testen von 36 Replikaten jeder Probe (5 und 150 Kopien pro Reaktion) in zwei verschiedenen qPCR-Instrumenten (Applied Biosystem® 7500, Applied Biosystem® StepOnePlus) gemessen, insgesamt 72 Tests pro Instrument.

Präzision des NZYTech SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR Kit, RdRp und N-Zielgene, IVD

Variable getestet		SARS-CoV-2 (Kopien/Reaktion)	
		5	150
Wiederholpräzision			
	n	36	36
	Mittlerer Cq	31,72	26,30
	Variationskoeffizient (%)	1,94	1,60
	% Replikat-Erkennung	100	100
Tägliche Reproduzierbarkeit			
	n	72	72
	Mittlerer Cq	31,42	26,13
	Variationskoeffizient (%)	1,50	1,55
	% Replikat-Erkennung	100	100
Reproduzierbarkeit von Charge zu Charge			
	n	144	144
	Mittlerer Cq	31,49	26,24
	Variationskoeffizient (%)	1,61	1,46
	% Replikat-Erkennung	100	100
Operator-Reproduzierbarkeit			
	n	72	72
	Mittlerer Cq	31,45	26,21
	Variationskoeffizient (%)	1,41	1,61
	% Replikat-Erkennung	100	100
Reproduzierbarkeit zwischen Instrumenten			
	n	72	72
	Mittlerer Cq	31,81	26,46
	Variationskoeffizient (%)	1,61	1,35
	% Replikat-Erkennung	100	100

4. Zusammensetzung des Kits

SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR-Kit, RdRp- und N-Zielgene, IVD bietet einen umfassenden Reagenziensatz, der ausreicht, um 96 RT-PCR-Reaktionen in einem einzigen Schritt durchzuführen.

Bestandteile des Kits		Volumen (pro Fläschchen)	Nummer der Reagenzröhrchen	
			MD04831	MD04832
SARS-CoV-2 MMix (RdRp & N)	NZYSupreme One-step RT-qPCR Master Mix	1050 µL	1	4
SARS-CoV-2 PPMix (RdRp & N)	SARS-CoV-2 (RdRp & N Gene)/RP Primer/Sonden-Mix	205 µL	1	4
SARS-CoV-2 Pos (RdRp & N)	SARS-CoV-2 (RdRp & N Gene)/RP Positiv-Kontrolle	105 µL	1	4
NTC	No-template Control	105 µL	1	4

5. Bedingungen für Lagerung, Stabilität und Handhabung

SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR-Kit, RdRp- und N-Zielgene, IVD wird gekühlt geliefert. Alle Komponenten sollten sofort nach Ankunft bei -85°C bis -15°C gelagert werden. Bei Verwendung sollten die Kit-Komponenten sofort nach Gebrauch in den Gefrierschrank zurückgelegt werden, um die Zeit in Raumtemperatur-Umgebung zu minimieren. Außerdem:

- Minimieren Sie die Anzahl der Einfrier-Auftauzyklen durch Lagerung in Arbeitsaliquoten. Gegebenenfalls können die Kit-Komponenten nach dem Auftauen in kleinere Volumen aliquotiert werden.
- Die SARS-CoV-2(RdRp & N genes)/RP Primer/Sonden-Mix sollte vor Licht geschützt gelagert werden. Insbesondere darf der NZYSupreme One-step RT-qPCR Master Mix nach der Kombination mit Primern/Sonden-Mix nicht direktem Sonnenlicht ausgesetzt werden.
- Wenn das Paket, das den Satz schützt, beschädigt angekommen ist, wenden Sie sich bitte an NZYTech.
- Achten Sie auf das auf der Verpackung angegebene Verfallsdatum. NZYTech rät davon ab, das Kit nach dem Verfallsdatum zu verwenden. An diesem Datum muss das Kit gemäß den Entsorgungsanweisungen in Abschnitt 8.2 entsorgt werden.

6. Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien und Instrumente

- Echtzeit-PCR-Instrument zum Nachweis von FAM™- und JOE™-Fluoreszenzfarbstoffen (bei Emissionswellenlängen von 520 bzw. 555 nm). Siehe in Abschnitt 11 die Gerätemodelle, für die das Kit validiert wurde.
- Geräte und Verbrauchsmaterialien zur Isolierung viraler RNA aus respiratorischen Proben.
- RNase/DNase-freie qPCR-Plastikgeräte: PCR-Gefäße, Streifen, Kappen, 96-Well-Platten, Klebefilme.
- Pipettierer und Filterspitzen (RNase/DNase frei).
- Einweghandschuhe.
- Vortex und Zentrifuge.

- DEPC-behandeltes Wasser (bitte wenden Sie sich an NZYTech, um dieses spezifische Produkt zu bestellen, Referenz MB43701).

7. Probenentnahme und -vorbereitung

Verschiedene Faktoren, wie z. B. das Protokoll für die Probenentnahme aus menschlichen Atemproben (Nasen-Rachen- oder Oropharynxabstriche), der Probentransport, die Lagerung und die Verarbeitungszeit, sind entscheidend, um optimale Ergebnisse zu erzielen. Gesammelte Proben sollten so schnell wie möglich getestet werden. Proben, die nicht innerhalb von 24 Stunden getestet werden, sollten bei -85 °C bis -15 °C gelagert werden. Darüber hinaus müssen Proben gemäß den Biosicherheitsvorschriften bei niedrigen Temperaturen transportiert und gelagert werden.

• **Biologische Proben, die einer Nukleinsäureextraktion unterzogen wurden**: RNA oder Gesamtnukleinsäuren, die nach einem IVD-Protokoll extrahiert wurden, sind das Ausgangsmaterial für das NZYTech SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR Kit, RdRp und N-Zielgene, IVD. Bitte stellen Sie sicher, dass die RNA-Proben in Bezug auf Reinheit, Konzentration und Nukleinsäureintegrität geeignet sind. Für reine RNA wird allgemein ein A260/280-Verhältnis von ~2 akzeptiert. Da Ethanol ein starker Real-Time-PCR-Inhibitor ist, muss es vor der Elution der Nukleinsäure während der Extraktion vollständig eliminiert werden. Das NZYTech-Kit integriert eine interne RNA-Extraktionskontrollreaktion, die auf menschliche RNA abzielt, die zusammen mit viraler RNA gereinigt wird. Menschliche RNA wird mit dem RNase P (RP)-Primer/Sonden-Set amplifiziert. Dies ist nützlich, um die Effizienz der RNA-Isolierung und/oder das Vorhandensein von Inhibitoren während der Probenverarbeitung zu überprüfen.

• **Biologische Proben, die direkt im RT-PCR-Protokoll verwendet werden**: Nasen-Rachen-Proben sollten mit Greiner Bio-One-Tupfern (Referenz CM-FS913) entnommen und direkt in das VACUETTE® Virusstabilisierungsröhrchen, Greiner Bio-One (Referenz 456161) gegeben werden. 50-µl-Aliquots jeder Probe pipettieren und auf 96-Well-PCR-Platten übertragen, die verschlossen und sofort einem Wärmebehandlungsschritt bei 95 °C für 5 Minuten unter Verwendung eines Thermocyclers mit beheiztem Deckel unterzogen werden müssen. Alternativ pipettieren Sie 200- µl-Aliquots und inaktivieren Sie sie in 1,5-ml-Eppendorf-Röhrchen mit einem Heizblock.

8. Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

Wie bei jedem analytischen Testverfahren ist eine gute Laborpraxis unerlässlich. Befolgen Sie sorgfältig die in diesem Handbuch angegebenen Verfahren und Richtlinien, um sicherzustellen, dass der Test korrekt durchgeführt wird. Jede Abweichung davon kann zum Versagen des Tests führen oder fehlerhafte Ergebnisse verursachen. Aufgrund der hohen Empfindlichkeit des Kits muss besonders darauf geachtet werden, Reagenzien und PCR Amplifikationsmischungen frei von Kontaminationen zu halten.

Das direkte RT-PCR-Protokoll wurde ausschließlich für nasopharyngeale Proben validiert, die in VACUETTE® Virus Stabilisierungsröhrchen, Greiner Bio-One (Referenz 456161) transportiert und gelagert werden. Daher wurde das direkte RT-PCR-Protokoll des SARS-CoV-2-One-Step-RT-PCR-

Potenzielle Interferenzen	Wirkstoff	Endkonzentration in Probe	Interferenz Ja (J) oder Nein (N)
Isotonisches Meerwasser (Rhinomer)	NaCl	15% v/v	N
Rachenspray, orales Anästhetikum und Schmerzmittel (Strepfen)	Flurbiprofen	5% v/v	N
Nasenspüllösung (Allergiespray - Vibrocil)	Fluticasonpropionat	5% v/v	N
Nasenspray mit Kortikosteroiden (Nasomet)	Mometasonfuroat	5% v/v	N
Nasenspray mit Kortikosteroiden (Pulmicort)	Budesonid	5% v/v	N
Antimikrobiell, systemisch (Trobex)	Trobamycin	10 µg/mL	N
Mundschmerzmittel, entzündungshemmend und antiseptisch (Pyralvex)	Rhabard-Extrakt, Salicylsäure	5% v/v	N
Antimykotisches und antibakterielles oralpharyngeales Gel (Daktarin)	Miconazol	5 mg/mL	N
Mundspüllösung Antiseptika (Eludril Gé)	Chlorhexidingluconat, Chlorbutanol-Halbhydrat	5% v/v	N
Antitussivum, Sirup (Codipront)	Codein, Phenyltoloxamincitrat	5% v/v	N
Vollblut (Mensch)	-	4% v/v	N
Antivirales Medikament (Tamiflu)	Oseltamivir	7,5 mg/mL	N
Mukolytisch (Mucolsovan)	Ambroxolhydrochlorid	5% v/v	N
Nasentropfenlösung (Nasarox)	Oxymetazolinchlorhydrat	10% v/v	N
Antibiotika, Nasensalbe (Bactroban)	Mupirocin	5 mg/mL	N
SaliSpeichel (Mensch)va (human)	-	25% v/v	N
Absolutes Ethanol	Alkohol	5% v/v	N

11.4 Präzision

Die Test-Präzision des NZYTech SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR Kit, RdRp und N-Zielgene, IVD wurde durch wiederholtes Testen von SARS-CoV-2-Nukleinsäuren bestimmt, die zwei Viruslaststufen repräsentieren: 5 (1,67x LoD) und 150 (50x LoD) Kopien pro Reaktion (0,25 und 7,50 Kopien/µL), einzeln oder in RNA aus negativen Oropharynx-Proben gespickt, unter Verwendung von 3 verschiedenen Kit-Chargen und unter typischen Testreaktionsbedingungen. Die Präzision wurde durch Messung des Cq-Mittelwerts, des Cq-Variationskoeffizienten und des prozentualen Wiederholungsnachweises, wie unten für jeden Fall beschrieben, bewertet. Die Daten werden in der auf der nächsten Seite angezeigten Tabelle wiedergegeben.

11.4.1. Wiederholpräzision

Die Wiederholbarkeit wurde von einem Bediener durch die Analyse von 36 Replikaten jeder Probe (5 und 150 Kopien pro Reaktion) bewertet, was einer endgültigen Anzahl von 72 durchgeführten Tests entspricht.

11.4.2. Tägliche Reproduzierbarkeit

Die tägliche Reproduzierbarkeit wurde von einem Bediener durch die Analyse von 72 Wiederholungen jeder Probe (5 und 150 Kopien pro Reaktion) für 5 Tage mit 18 Wiederholungen jeder Konzentration pro Tag (insgesamt 144 Tests) bewertet.

11.4.3. Reproduzierbarkeit von Charge zu Charge

Die Reproduzierbarkeit zwischen den Chargen wurde von einem Bediener durch Analyse von 144 Wiederholungen jeder Probe (5 und 150 Kopien pro Reaktion) unter Verwendung von 3 verschiedenen Kit-Chargen mit 48 Wiederholungen pro Charge bewertet.

das Kit bei Verwendung des direkten Testformats 0,15 Kopien/µl der viralen RNA von SARS-CoV-2 mit ≥95 % Konfidenz nachweist.

11.3 Inklusivität, Kreuzreaktivität und Störstoffe

Inklusivität und Kreuzreaktivität wurden durch in silico Analyse von Oligonukleotidsonden und Primern gegen mit SARS-CoV-2 verwandte Krankheitserreger bzw. normale Krankheitserreger, die eine Infektion mit ähnlichen Symptomen verursachen, bewertet. Bei der in silico Analyse wurde festgestellt, dass das Assay-Design alle SARS-CoV-2-Virusstämme nachwies und keine Reaktivität mit nicht-SARS-CoV-2-Spezies zeigte.

Es wurde eine In-vitro-Analyse auf Kreuzreaktivität (Exklusivität) durchgeführt, um zu bestätigen, dass das NZYTech SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR Kit, RdRp und N-Zielgene, IVD (MD0483) nicht mit anderen Organismen der menschlichen Flora reagiert und die pathogenen Organismen, die in der klinischen Probe möglich sein können. Diese Studie wurde unter Verwendung von drei kommerziellen Panels mit respiratorischen Pathogenen durchgeführt, die von ZeptoMetrix Multimarker Controls (#MDZ001), NATtrol™ Respiratory Pathogen Panel-1 (#NATRPP-1) und NATtrol™ RP Controls (#NATRPC-NNS) stammen. Diese Panels sind repräsentativ für die echten klinischen Humanproben, einschließlich Influenza A H3N2 (Brisbane/10/07), Influenza A H1N1 (NY02/2009), Rhinovirus Typ 1A, Adenovirus Typ 3; Parainfluenza Typ 1, Parainfluenza Typ 2, Parainfluenza Typ 3, Parainfluenza Typ 4, Metapneumovirus (Peru 6-2003), *Chlamydophila pneumoniae* (CWL-029), *Mycoplasma pneumoniae* (M-129), Coxsackievirus (Typ A1), Influenza A H1N1 (A/New Cal/20/99), Influenza A H1N1 (A/Singapur/63/04), Influenza B (B/Florida/02/06), Respiratory Syncytial Virus A, Respiratory Syncytial Virus B (CH93 (18)- 18), Coronavirus (HKU-1 rekombinant), Coronavirus (OC43), Coronavirus (NL63), Coronavirus (229E), Bordetella pertussis (A639), *Bordetella pertussis* (A747), *Bordetella holmesii* (F061), *Legionella pneumophila* (Philadelphia) und Human Bocavirus. Darüber hinaus andere häufige Mikroben im Mund- und Atemtrakt, einschließlich *Bacteroides ovatus, Bacteroides thetaiotaomicron, Burkholderia vietnamiensis, Dickeya dadantii, Enterobacter cloacae, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium intracellulare, Mycobacterium mageritense, Mycobacterium smegmatinas, Strocne Streptococcus pyogenes, Streptomyces avermitilis, Streptomyces albidoflavus* wurden ebenfalls getestet. Keiner der getesteten Organismen störte die Leistung des NZYTech SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR Kit, RdRp und N-Zielgene, IVD durch ein falsch positives Ergebnis oder ein unspezifisches Signal.

Die Wirkung von 17 potenziellen Störsubstanzen wurde in Tests bewertet, die aus negativen Nasopharynx-Proben bestanden, die mit SARS-CoV-2-positiven Proben bei ~3x LoD versetzt wurden. Potentiell störende Substanzen wurden den künstlichen Proben in Konzentrationen zugesetzt, die die höchsten in Proben von Atemwegspatienten erwarteten Konzentrationen auf der Grundlage von Literaturdaten darstellen. Alle Tests wurden in fünffacher Ausführung durchgeführt und die Ergebnisse mit Daten verglichen, die mit dem Kontrolltest erhalten wurden, der keine Störstoffe enthielt. Bei den getesteten Konzentrationen zeigten die Ergebnisse, dass keines der getesteten Moleküle die Empfindlichkeit des Nachweises beeinflusste. Die folgende Tabelle fasst die im Rahmen dieser Experimente gesammelten Daten zusammen. Alle Experimente wurden auf dem 7500 FAST Real-time PCR Instrument durchgeführt.

Kits, RdRp- und N-Zielgene, IVD-Kits nicht in Proben validiert, die in Sammelmedien vom Typ „VTM/UTM“ transportiert und gelagert wurden, darunter Guanidinthiocyanat als Inaktivierungsmittel. Wir empfehlen daher, ausschließlich die oben genannten Transport- und Speichermedien zu verwenden. Die Verwendung anderer Medien kann zu falsch-negativen Ergebnissen führen. Für verschiedene Sammelmedien muss das Kit vom Benutzer anhand zuvor charakterisierter Proben (positiv und negativ) validiert werden.

8.1 Sicherheitshinweise

Bevor Sie das Kit verwenden, lesen Sie bitte das Sicherheitsdatenblatt (SDB), das auf NZYTechs Website verfügbar ist (www.nzytech.com). Der Nachweis des SARS-CoV-2-Virus sollte nur von Personal geführt werden, das in entsprechend ausgestatteten Laboratorien in den entsprechenden technischen und sicherheitstechnischen Verfahren geschult wurde. Internationale und nationale Richtlinien zur biologischen Sicherheit von Laboratorien sollten unter allen Umständen befolgt werden.

8.2 Anforderungen für die Handhabung und das Verfahren

- Nur für den professionellen in-vitro-diagnostischen Gebrauch.
- Dieses Kit nach dem Verfallsdatum nicht mehr verwenden.
- Verwenden Sie die Testkomponenten nicht, wenn die Versiegelung des Kits beschädigt ist.
- Tauschen Sie keine Reagenzien verschiedener Produktionschargen aus.
- Es dürfen keine Reagenzien anderer Hersteller zusammen mit Reagenzien dieses Testkits verwendet werden.
- Bei allen Verfahren sollten DNase/RNase-freie Einweg-Plastikbehälter und Pipetten verwendet werden.
- Verwenden Sie während des gesamten Protokolls DNase/RNase-freie Filterspitzen, um eine Kontamination mit Aerosolen und Flüssigkeiten zu verhindern.
- Probenvorbereitung, Reaktionsaufbau und Amplifikation sollten in verschiedenen Arbeitsbereichen durchgeführt werden.
- Die Positivkontrolle enthält eine große Anzahl von Vorlagen. Sie sollte geöffnet und außerhalb der Testproben und Kit-Komponenten verarbeitet werden, um eine Kreuzkontamination zu vermeiden.
- Verwenden Sie stets das im Kit mitgelieferte NTC.
- Bei Verwendung des direkten Protokolls wird empfohlen, eine zweite Negativkontrolle mit DEPC-behandeltem Wasser (NZYTech, Referenz MB43701) durchzuführen, die den Proben zugesetzt wird, die durch direkte RT-PCR getestet werden sollen.
- Reinigen Sie Arbeitsflächen und Ausrüstung am Ende jedes Tests mit einem DNA/RNA-Entferner.
- Behandeln Sie die Post-Amplifikationsplatten mit Sorgfalt und entsorgen Sie sie unmittelbar nach Abschluss des Tests. Platten sollten nach Gebrauch stets in einen geeigneten Behälter für biologische Gefahrenstoffe entsorgt werden.
- Biologische Proben müssen unter Beachtung der entsprechenden Biosicherheitsvorkehrungen so behandelt werden, als ob sie infektiös wären.
- Rückstände von Chemikalien und Präparaten werden im Allgemeinen als gefährlicher Abfall betrachtet. Die Entsorgung dieser Art von Abfall wird durch nationale und regionale Gesetze und Vorschriften geregelt.

- Alle Ergebnisse sollten von einem Angehörigen eines Gesundheitsberufs im Zusammenhang mit der Krankengeschichte und den klinischen Symptomen des Patienten interpretiert werden.
- Dieser Test kann durch andere Krankheitserreger verursachte Krankheiten nicht ausschließen.
- Ein negatives Ergebnis für einen PCR-Test schließt die Möglichkeit einer Infektion nicht endgültig aus.
- Befolgen Sie die guten Laborpraktiken, tragen Sie Schutzkleidung, tragen Sie ständig puderfreie Einweghandschuhe, tragen Sie Schutzbrille und Maske. Essen, trinken oder rauchen Sie nicht im Arbeitsbereich.

9. Prüfverfahren

Bitte lesen Sie die Gebrauchsanweisung vor der Durchführung des Tests sorgfältig durch. Denken Sie daran, dass alle Pipettierschritte und der Versuchsplattenaufbau auf Eis durchgeführt werden sollten. Nachdem die Platte gegossen ist, beginnen Sie sofort mit dem One-step RT-PCR-Protokoll. Längere Inkubation von Reaktionsgemischen bei Raumtemperatur kann zu PCR-Artefakten führen, die die Nachweisempfindlichkeit verringern. Beginnen Sie vor dem Experiment, die mitgelieferten Reaktionsgefäße vorsichtig zu mischen, zentrifugieren Sie 5 Sekunden lang, um den Inhalt am Boden des Gefäßes zu sammeln, und stellen Sie die Gefäße auf Eis. **Wir empfehlen dringend, die SARS-CoV-2 (RdRp & N genes)/RP-Positivkontrolle zuletzt zu pipettieren, um eine Kontamination zu vermeiden.**

9.1 Reaktionseinrichtung

1. Bereiten Sie eine RT-PCR-Mischung vor, die für die Anzahl der durchzuführenden SARS-CoV-2/RNase P-Tests ausreicht, mit einem zusätzlichen Volumen von 5% für Pipettierungsverluste. Gehen Sie nach der folgenden Tabelle vor, in der die Volumina für 1 und n Tests angegeben sind (wobei n der Gesamtzahl der Reaktionen entspricht):

Komponente	**1 Test Volumen (µl)**	**n Prüfungen (*) Volumen + 5% (µl)**
SARS-CoV-2 MMix	10	*n* x 10.5
SARS-CoV-2 PPMix	2	*n* x 2.1
Finales Volumen	**12**	***n* x 12.6**

(*) Um die Gesamtzahl der für jeden Test erforderlichen Reaktionen zu berechnen, zählen Sie die Anzahl der Proben und fügen Sie zwei weitere für die Negativ- bzw. Positivkontrollen hinzu.

2. Pipettieren Sie 12 µl des RT-PCR-Mixes in die einzelnen Vertiefungen entsprechend Ihrem Real-Time PCR-Experimentierplatten-Setup.
3. Geben Sie für die Negativkontrolle 8 µl NTC anstelle des RNA-Templates in die Negativkontrollvertiefung. Das Endvolumen sollte 20 µl betragen. Bei Verwendung des direkten RT-PCR-Protokolls sollte eine zweite Negativkontrolle eingeschlossen werden, indem 8 µl DEPC-behandeltes Wasser (NZYTech, Referenz MB43701) anstelle von direkten, nicht extrahierten biologischen Proben hinzugefügt werden.

Die vorläufige Nachweisgrenze wurde von zwei verschiedenen Bedienern unter Verwendung von drei Kit-Chargen in einem Experiment mit insgesamt 48 Replikaten negativer Oropharynxabstrichmatrix bestätigt, die unabhängig voneinander gespiked wurden. Die Kapazität von NZYTech SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR Kit, RdRp und N-Zielgene, IVD zum Nachweis des Virus bei verschiedenen Belastungen (von 5 x 10^6 bis 5 Kopien pro Reaktion) ist in Abbildung 2 dargestellt.

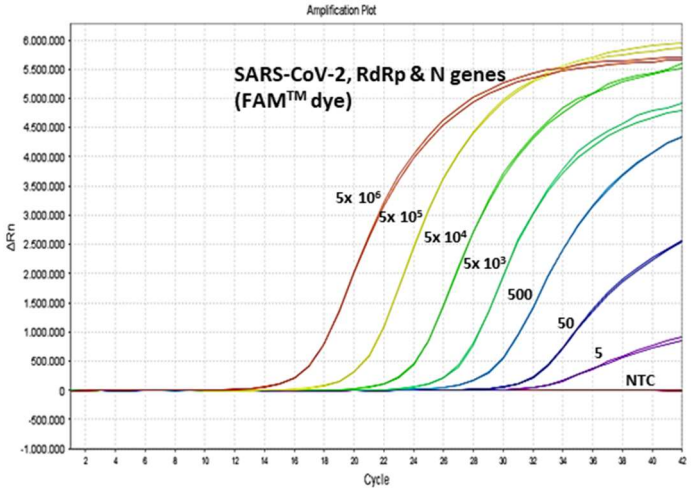

Abbildung 2. Empfindlichkeit des NZYTech SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR Kit, RdRp und N-Zielgene, IVD. Amplifikationsplot (Zykluszahl gegen Fluoreszenz - ΔRN) von 1:10 serielle Verdünnungen der SARS-CoV-2 vRNA, von 5 x10^6 Kopien bis 5 Kopien pro Reaktion durch den Kanal FAM™. NTC, keine Template-Kontrolle (Negativkontrolle).

Für Proben, die keinem Nukleinsäure-Extraktionsprotokoll unterzogen wurden und die in dem oben erwähnten Sammelmedium wiedergewonnen wurden, wurde die analytische Sensitivität zunächst durch Vergleich der Ct-Werte von klinischen Proben, die dem Extraktionsprozess unterzogen wurden, und denen, die dem Extraktionsprozess nicht unterzogen wurden, bewertet. Somit wurden 50 zuvor als positiv eingestufte klinische Proben ausgewählt. Der RT-PCR-Assay verglich die SARS-CoV-2-Nachweisergebnisse, die für die RNA-extrahierten Proben und für die entsprechenden direkten, nicht extrahierten Proben erhalten wurden. Für die 50 getesteten positiven klinischen Proben (die einer Extraktion plus RT-PCR oder mit dem direkten RT-PCR-Protokoll unterzogen wurden) betrug der beobachtete minimale Ct-Wert 16,1 und der maximale Ct-Wert 34,9. Die Ergebnisse zeigten, dass beim SARS-CoV-2-Nachweis die mittlere Differenz der Cts zwischen den beiden Verfahren 0,1 betrug. Dieses Ergebnis legt nahe, dass sich die LoD nicht ändert, unabhängig davon, ob die Probe einem vorherigen RNA-Extraktionsschritt unterzogen wurde oder nicht. Daher wurde die LoD des Kits von zwei verschiedenen Bedienern für insgesamt 48 Wiederholungen neu bewertet und bestätigt. Die Ergebnisse bestätigten, dass

11. Bewertung der Performance

Die Evaluierung der Performance des NZYTech SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR Kit, RdRp und N-Zielgene, IVD wurde auf dem Applied Biosystem® 7500, Roche Life Science LightCycler® 480 II, Applied Biosystem® QuantStudio 6 Pro, Qiagen Rotor-Gene Q und Bio-Rad® CFX96™ Real Time PCR System mit zusätzlichen Tests auf dem Applied Biosystem® StepOnePlus Real Time PCR System durchgeführt. Wenn andere Geräte verwendet werden, sollte das Kit durch den Anwender unter Verwendung vorher charakterisierter Proben (sowohl positiv als auch negativ) validiert werden.

11.1 Erwartete Ergebnisse

Typische Amplifikationsplots, die für klinische Proben mit SARS-CoV-2-Nukleinsäuren beobachtet wurden, sind in Abbildung 1 dargestellt. Die beiden Fälle stellen Beispiele für klinische Proben mit mittlerer (A) und hoher (B) SARS-CoV-2-Belastung dar. In Fällen sehr hoher SARS-CoV-2-Belastungen (siehe Abbildung 1B) kann die Kurve des Kanals JOE™, die dem menschlichen RNase P-Gen entspricht, fehlen oder eine atypische Form aufweisen.

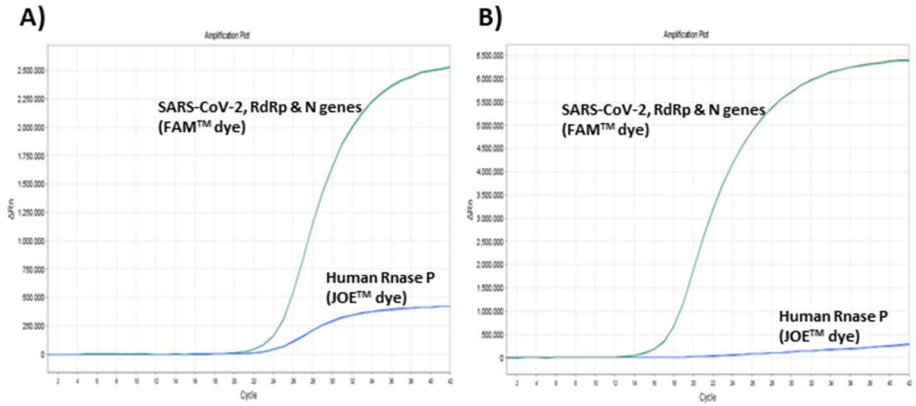

Abbildung 1. Gleichzeitiger Nachweis von SARS-CoV-2 (RdRp and N genes) und humanen RNase-P-Targets aus positiven klinischen Proben mit mittlerer (A) und hoher (B) SARS-CoV-2-Belastung. Grüne Kurven (A & B): Nachweis der viralen RNA-Targets von SARS-CoV-2 (RdRp and N genes) über den Kanal FAM™; Blaue Kurven (A & B): Nachweis des menschlichen RNase P-Gens über den Kanal JOE*. *(* VIC/HEX Alternative)*

11.2 Nachweisgrenze (LoD) - Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität wurde als die niedrigste Konzentration des Analyten definiert, die mit 95%iger Sicherheit zuverlässig nachgewiesen werden konnte. Dies wurde durch Testen von SARS-CoV-2-Nukleinsäuren bei verschiedenen Kopienzahlen, einzeln oder spiked in RNA aus negativen Oropharynx-Proben, unter Verwendung von 3 verschiedenen Kit-Chargen nach typischen Testreaktionsbedingungen bewertet. Die Tests wurden 4 Tage lang wiederholt, wobei für jede getestete SARS-CoV-2-Konzentration 48 Replikate erzeugt wurden. Zusammen ergaben die Daten, dass das NZYTech SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR Kit, RdRp und N-Zielgene, IVD 0,15 Kopien/µL der viralen RNA von SARS-CoV-2 mit einer Zuverlässigkeit von 95 % nachweist. So wurde die vorläufige Nachweisgrenze (LoD) auf 0,15 Kopien/µL oder 150 Kopien/mL festgelegt.

4. a. Fügen Sie für extrahierte biologische Proben 8 µl jeder RNA-Probe in die SARS-CoV-2/RNase P-Vertiefungen hinzu, entsprechend Ihrer experimentellen Plattenanordnung. Das Endvolumen in jeder Vertiefung sollte 20 µl betragen.

b. Geben Sie bei nicht extrahierten biologischen Proben nach einem Wärmebehandlungsschritt bei 95 °C für 5 Minuten 4 µl jeder Probe auf die endgültige qPCR-Platte. Fügen Sie jeder Probe 4 µl DEPC-behandeltes Wasser (NZYTech, Referenz MB43701) hinzu. Das Endvolumen in jeder Vertiefung sollte 20 µl betragen. Fügen Sie nicht mehr als 4 µl Probe hinzu.

5. Geben Sie für die Positivkontrolle 8 µl SARS-CoV-2 Pos (RdRp & N) anstelle des RNA-Templates in die Positivkontrollvertiefung. Das Endvolumen sollte 20 µl betragen.

6. Bedecken und versiegeln Sie die Platte mit einem geeigneten optischen Klebefilm, bevor Sie mit den Schritten RT-PCR und Detektion fortfahren.

7. Platzieren Sie die Reaktionsplatte in das Real-Time PCR-Gerät und führen Sie das RT-PCR-Protokoll wie im folgenden Abschnitt beschrieben aus.

9.2 Programmierung des Echtzeit-PCR-Instruments

Die unten stehende Tabelle zeigt ein Standardprotokoll, das für eine Reihe von Plattformen optimiert wurde. Diese Bedingungen können jedoch angepasst und validiert werden, um verschiedenen maschinenspezifischen Protokollen gerecht zu werden.

Vorgeschlagene RT-PCR-Lauf-Einstellungen

Zyklen	Temperatur	Zeit	Schritt
1	50 °C	20 min	Umgekehrte Transkription
1	95 °C	2 min	Polymerase-Aktivierung
40	95 °C	5 s	Denaturierung
	60 °C	30 s	Glühen/Erweiterung*

(*) Wählen Sie je nach verwendeter Ausrüstung den richtigen Erkennungskanal. Sammle Signale (FAM und JOE).

Fluoreszierende Farbstoffe & Detektionskanäle

Gene Targets	Fluoreszierender Farbstoff	Detektionskanäle
SARS-CoV-2	FAM™	FAM
RNase P	JOE™	JOE, VIC or HEX

SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR-Kit, RdRp- und N-Zielgene, IVD wurde für die folgende Real Time PCR Systems validiert: Applied Biosystem® 7500 FAST, Applied Biosystem® StepOnePlus, Roche Life Science LightCycler® 480 II, Applied Biosystem® QuantStudio 6 Pro, Qiagen Rotor-Gene Q

und Bio-Rad® CFX96™. Wenn andere Geräte verwendet werden, sollte das Kit durch den Anwender unter Verwendung vorher charakterisierter Proben (sowohl positiv als auch negativ) validiert werden.

10. Datenanalyse

10.1 Kriterien für die Laufvalidierung

Der Nachweis von SARS-CoV-2-RNA erfolgt durch die Detektion von zwei Ziel-Genomregionen, die beide im selben Fluoreszenzkanal (FAM™) nachgewiesen werden. Die Datenanalyse wird durch die Software des Gerätes durchgeführt. Unter Berücksichtigung von Leistungsunterschieden in verschiedenen Echtzeit-PCR-Geräten werden die Schwellenwerte für die beiden Fluoreszenzsignale (FAM™ und JOE™) automatisch von der Software bestimmt, wobei manuelle Anpassungen vorgenommen werden, falls dies erforderlich ist. Wir empfehlen, vor der Analyse der Probenergebnisse zu überprüfen, ob der Echtzeit-PCR-Test gültig ist. Bitte bestätigen Sie daher für jede Platte, ob die Ergebnisse der Positiv- und Negativkontrollen erwartungsgemäß in Übereinstimmung mit den folgenden Kriterien durchgeführt wurden:

Positivkontrolle: Die Amplifikationskurven von FAM™ (SARS-CoV-2, RdRp & N genes) und JOE™ (RP) sind positiv. Es wird erwartet, dass sich die Positivkontrolle bei einem Ct<30 verstärkt, sowohl im FAM™ als auch im JOE/VIC/HEX Kanal. Die Nichterfüllung dieses Qualitätskontrollkriteriums ist ein starker Hinweis darauf, dass das Experiment beeinträchtigt wurde.

Negativkontrolle (keine Template-Reaktion): Es wird keine Amplifikation festgestellt. Wenn die Negativkontrolle eine oder zwei Amplifikationskurven (FAM™ und/oder JOE/VIC/HEX) mit einer sigmoidalen Form aufweist, kann es zu einer Probenkontamination gekommen sein. Wiederholen Sie den Test nach guter RT-PCR-Praxis.

Wenn die Kontrollen den Erwartungen entsprechen, ist der Test **gültig**. Bitte fahren Sie mit der Interpretation der Ergebnisse für die getesteten Proben fort.

Wenn eine der Kontrollen nicht die erwartete Performance zeigt, wurde der Test beeinträchtigt oder unsachgemäß durchgeführt und sollte als ungültig betrachtet werden.
Bitte wiederholen Sie den Test.
Wenn das Problem weiterhin besteht, wenden Sie sich an den Hersteller

10.2 Interpretation der Testergebnisse

SARS-CoV-2 gilt als nachgewiesen, wenn die Verstärkungskurve von FAM™ eine sigmoidale Form mit einem Ct≤35 aufweist, unabhängig davon, welches Ergebnis für den RP-Test (JOE™) erzielt wird.

SARS-CoV-2 gilt als nicht erkannt, wenn die FAM™ Kurve nicht positiv ist (Ct>35), während die RP (JOE™) eine positive Sigmoidkurve (Ct<40) aufweist.

Der Test ist ungültig, wenn der SARS-CoV-2- und der RP-Test beide negativ sind. Der Test sollte mit wieder gereinigter Nukleinsäure aus der Probe wiederholt werden.

Die folgende Tabelle fasst die Interpretation der wichtigsten Ergebnisse zusammen (bewerten Sie die Gesamtform der Amplifikationskurven; **nur sigmoidale Amplifikationskurven sind indikativ für eine echte Amplifikation**).

SARS-CoV-2 Ergebnis SARS-CoV-2, Ct (FAM™)	**RP Ergebnis** RP, Ct (JOE™)	**Interpretation der Ergebnisse**
+ (Ct≤35)	**+** (Ct<40)	**SARS-CoV-2 entdeckt → POSITIV**
+ (Ct≤35)	**-** (Ct>40)	**SARS-CoV-2 entdeckt → POSITIV**
- (Ct>35)	**+** (Ct<40)	**SARS-CoV-2 entdeckt → NEGATIV**
- (Ct>35)	**-** (Ct>40)	Ungültiger Test, wiederholen Sie die Extraktion und den Test

Hinweis 1: NZYTech empfiehlt eine Wiederholung der Analyse für alle Proben, die eine mehrdeutige oder atypische Kurve aufweisen, die keine eindeutige Interpretation zulässt.

Hinweis 2: Bei der Interpretation der Ergebnisse muss die Möglichkeit falsch negativer und falsch positiver Ergebnisse berücksichtigt werden.

• Obwohl das Risiko falsch negativer Ergebnisse aufgrund des dualen Zieldesigns des vorliegenden Tests gemildert wird, können falsch negative Ergebnisse verursacht werden durch:

- Ungeeignete Entnahme, Handhabung und/oder Lagerung von Proben.
- Probe außerhalb der virämischen Phase.
- Nichtbeachtung der Verfahren in diesem Handbuch.
- Verwendung eines nicht zugelassenen Extraktions-Kits oder Echtzeit-PCR-Plattform.

Falsch positive Ergebnisse können verursacht werden durch:

- Ungeeignete Handhabung von Proben, die eine hohe Konzentration an viraler RNA SARS-CoV-2 enthalten.
- Ungeeignete Handhabung der Positivkontrolle SARS-CoV-2 Pos (RdRp & N).
- Ungeeignete Handhabung des amplifizierten Produkts (Post-Amplifikations-Platte).

Negative Ergebnisse schließen eine SARS-CoV-2-Infektion nicht aus und sollten nicht als alleinige Grundlage für Behandlungen oder andere Entscheidungen des Patientenmanagements verwendet werden. Darüber hinaus kann dieser Test Krankheiten, die durch andere bakterielle oder virale Krankheitserreger verursacht werden, nicht ausschließen.