

# Gebrauchsanweisung

## RealStar<sup>®</sup> SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0

01/2021 DE



# RealStar<sup>®</sup>

## SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0

Zur Verwendung mit

CFX96<sup>™</sup> Dx System (Bio-Rad)

CFX96<sup>™</sup> Deep Well Dx System (Bio-Rad)

QuantStudio<sup>™</sup> 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems)

ABI Prism<sup>®</sup> 7500 SDS (Applied Biosystems)

LightCycler<sup>®</sup> 480 Instrument II (Roche)

Rotor-Gene<sup>®</sup> Q5/6 plex Platform (QIAGEN)



821019



4800



01 2021



altona Diagnostics GmbH • Mörkenstr. 12 • D-22767 Hamburg

## Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Zweckbestimmung</b> .....	<b>6</b>
<b>2.</b>	<b>Produktbestandteile</b> .....	<b>6</b>
<b>3.</b>	<b>Lagerung</b> .....	<b>7</b>
<b>4.</b>	<b>Benötigtes, nicht mitgeliefertes Zubehör und Reagenzien</b> .....	<b>8</b>
<b>5.</b>	<b>Hintergrundinformationen</b> .....	<b>9</b>
<b>6.</b>	<b>Produktbeschreibung</b> .....	<b>10</b>
6.1	Real-Time-PCR-Geräte.....	11
6.2	Probenmaterial, -handhabung und -lagerung .....	12
<b>7.</b>	<b>Warnungen, Vorsichtsmaßnahmen und Testlimitationen</b> .....	<b>14</b>
<b>8.</b>	<b>Durchführung</b> .....	<b>17</b>
8.1	Probenvorbereitung.....	17
8.2	Master-Mix Ansatz.....	20
8.3	Reaktionsansatz.....	22
<b>9.</b>	<b>Programmierung des Real-Time-PCR-Gerätes</b> .....	<b>23</b>
9.1	Einstellungen.....	23
9.2	Detektionskanäle (Fluorophore).....	23
9.3	Temperaturprofil und Fluoreszenzmessung .....	24
<b>10.</b>	<b>Auswertung</b> .....	<b>24</b>
10.1	Gültigkeit diagnostischer Testläufe.....	25
10.1.1	Gültiger diagnostischer Testlauf .....	25
10.1.2	Ungültiger diagnostischer Testlauf .....	25
10.2	Interpretation der Ergebnisse.....	25
10.2.1	Qualitative Analyse.....	26

<b>11. Leistungsbewertung</b> .....	<b>27</b>
11.1 Analytische Sensitivität .....	27
11.2 Analytische Spezifität .....	29
11.2.1 Reaktivität .....	30
11.2.2 Kreuzreaktivität .....	32
11.3 Präzision .....	34
11.4 Diagnostische Leistungsbewertung .....	35
<b>12. Qualitätskontrolle</b> .....	<b>36</b>
<b>13. Technischer Support</b> .....	<b>36</b>
<b>14. Literatur</b> .....	<b>36</b>
<b>15. Handelsmarken und Haftungsausschluss</b> .....	<b>37</b>
<b>16. Symbole</b> .....	<b>38</b>

## 1. Zweckbestimmung

Das RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 ist ein auf der real-time-PCR-Technologie basierender Test für die *In-vitro*-Diagnostik. Er dient dem qualitativen Nachweis von spezifischer RNA der Linie-B-Beta-Coronaviren (Linie B-βCoV) und von SARS-CoV-2 (schweres akutes respiratorisches Syndrom-Coronavirus-2).

Der Test dient der Unterstützung der Diagnose von SARS-CoV-2-Infektionen bei Personen mit Anzeichen und Symptomen von COVID-19 (coronavirus disease 2019) in Verbindung mit anderen klinischen Befunden, Laborbefunden und epidemiologischen Risikofaktoren.

Das RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 ist für den Einsatz durch qualifiziertes Fachpersonal in entsprechend ausgestatteten Laboren vorgesehen. Bei seinem Einsatz sind die allgemeinen Vorsichts- und Sicherheitsmaßnahmen zu beachten, die in diesen Laboren gelten.

## 2. Produktbestandteile

Deckelfarbe	Bestandteil	Gefäßanzahl	Volumen [µl/Gefäß]
Blau	Master A	100	240
Violett	Master B	100	720
Rot	Positive Control*	25	250
Grün	Internal Control	48	1000
Weiß	Water (PCR grade)	4	500

\* Die Positivkontrolle enthält die Zielsequenzen für Linie B-βCoV und SARS-CoV-2

Positive Control = Positivkontrolle

Internal Control = Interne Kontrolle

Water (PCR grade) = Wasser (für die PCR)

**WARNUNG**



*Vor der ersten Verwendung prüfen Sie das Produkt auf Vollständigkeit in Bezug auf Anzahl, Typ und Abfüllvolumina seiner Bestandteile. Benutzen Sie kein beschädigtes oder unvollständiges Produkt, da seine Leistungsfähigkeit beeinträchtigt sein könnte.*

### 3. Lagerung

- Das RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 wird auf Trockeneis verschickt. Die Bestandteile des Produktes sollten in gefrorenem Zustand am Zielort ankommen. Wenn ein oder mehrere Bestandteile bei Ankunft nicht gefroren sein sollten, Gefäße beschädigt sind oder fehlen sollten, kontaktieren Sie bitte die altona Diagnostics GmbH.
- Alle Bestandteile sind nach ihrer Ankunft bei Temperaturen zwischen -25 °C und -15 °C zu lagern.
- Das wiederholte Auftauen und Einfrieren der Master-Reagenzien, der internen Kontrolle und der Positivkontrolle (mehr als zweimal) sollte vermieden werden, da dies die Leistungsfähigkeit des Tests beeinträchtigen könnte. Eine Lagerung in Aliquots wird empfohlen, wenn die Reagenzien mit Unterbrechungen verwendet werden sollen.
- Die Lagerung bei +2 °C bis +8 °C sollte einen Zeitraum von 2 Stunden nicht überschreiten.
- Schützen Sie Master A und B vor Lichteinstrahlung.

**WARNUNG**



*Unsachgemäße Lagerung kann zur Beeinträchtigung der Leistungsfähigkeit des Produktes führen.*

**WARNUNG**



*Überschreiten Sie nicht die Anzahl der in diesem Handbuch angegebenen Auftau- und Einfrierzyklen und Verwendungszeiten.*

**WARNUNG**



***Verwenden Sie keine Produktbestandteile über das Verfallsdatum hinaus, das auf den Etiketten der Bestandteile aufgedruckt ist.***

#### **4. Benötigtes, nicht mitgeliefertes Zubehör und Reagenzien**

- Geeignetes real-time-PCR-Gerät (siehe Kapitel 6.1 Real-Time-PCR-Geräte)
- Geeignetes System für die Nukleinsäure-Extraktion (siehe Kapitel 8.1 Probenvorbereitung)
- Tischzentrifuge mit Rotor für 2-ml-Reaktionsgefäße
- Plattenzentrifuge für Mikrotiterplatten (wenn 96-Well-PCR-Platten verwendet werden)
- Vortexmischer
- 96-Well-PCR-Platten oder Reaktionsgefäße mit passendem optisch klaren Verschlussmaterial (Deckel oder Folien)
- Einstellbare Pipetten
- Einweg-Filterpipettenspitzen
- Puderfreie Einweglaborhandschuhe

**HINWEIS**



***Stellen Sie bitte sicher, dass alle verwendeten Geräte entsprechend der Herstellervorschriften aufgebaut, kalibriert, geprüft und gewartet sind.***

**HINWEIS**



***Es wird dringend empfohlen, für die Nutzung des Rotor-Gene® Q 5/6 plex (QIAGEN) den Rotor mit 72 Positionen und entsprechenden 0,1-ml-Reaktionsgefäßen zu verwenden.***

## 5. Hintergrundinformationen

Das SARS Coronavirus 2 mit positiv orientiertem, einzelsträngigem RNA-Genom gehört zur Familie der Coronaviridae, Gattung Betacoronavirus, Untergattung Linie B.

SARS-CoV-2 ist im Dezember 2019 das erste Mal in der Region Wuhan in China in Erscheinung getreten und hat sich innerhalb von 2 Monaten weltweit verbreitet. Nachdem der Erreger zunächst als 2019-nCoV (novel Coronavirus) bezeichnet wurde, fand am 11.02.2020 durch das „International Committee on Taxonomy of Viruses“ (Internationales Komitee für Virustaxonomie) eine Umbenennung in SARS-CoV-2 statt. Zur gleichen Zeit wurde durch die WHO für die durch den Erreger verursachte Erkrankung der Name COVID-19 eingeführt. Aufgrund der schnellen weltweiten Verbreitung von COVID-19 wurde am 12.03.2020 der Pandemiestatus durch die WHO ausgerufen.

SARS-CoV-2 ist hochansteckend und wird durch Aerosole und Tröpfchen übertragen. Es verursacht akute respiratorische Infektionen, die durch grippeähnliche Symptome gekennzeichnet sind und insbesondere (aber nicht ausschließlich) für ältere Personen und für Patienten mit Vorerkrankungen lebensbedrohlich sein können. Die Bandbreite der Schwere der Erkrankung reicht von asymptomatischen Fällen über leichte und mittelschwere Verläufe bis hin zu schweren Verläufen mit tödlichem Ausgang.

## 6. Produktbeschreibung

Das RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 ist ein auf der real-time-PCR-Technologie basierender Test für die *In-vitro*-Diagnostik. Er dient dem qualitativen Nachweis von spezifischer RNA der Linie-B-Beta-Coronaviren (Linie B-βCoV) und von SARS-CoV-2.

Der Test enthält ein heterologes Amplifikationssystem [Internal Control (Interne Kontrolle)], welches der Identifizierung möglicher RT-PCR-Inhibition dient und die Unversehrtheit der Reagenzien des Produktes überprüft.

In der real-time RT-PCR wird zunächst durch die Reverse Transkriptase (RT) die virale RNA in komplementäre DNA (cDNA) umgeschrieben. Anschließend werden Regionen dieser cDNA, die durch die Sequenzen der zugegebenen Oligonukleotide spezifiziert werden, durch die Taq-Polymerase vervielfältigt (amplifiziert). Die amplifizierte DNA wird mittels sequenzspezifischer Sonden, welche mit fluoreszierenden Reporter Farbstoffen und Quencher Farbstoffen markiert sind, detektiert.

Die für Linie B-βCoV-spezifische Sonde [target E gene (Zielgen E-Gen)] ist mit dem Fluorophor FAM™, die SARS-CoV-2-spezifische Sonde [target S gene (Zielgen S-Gen)] mit dem Fluorophor Cy5, und die Sonde, die die Sequenz der internen Kontrolle (IC) bindet, mit dem Farbstoff JOE™ markiert.

Durch die Verwendung unterschiedlich markierter Sonden wird die gleichzeitige Detektion von Linie B-βCoV-spezifischer RNA, SARS-CoV-2-spezifischer RNA sowie der internen Kontrolle in den entsprechenden Detektionskanälen der real-time-PCR-Geräte ermöglicht.

Der Test umfasst drei Prozesse, die in einem einzigen Gefäß ablaufen:

- Reverse Transkription der RNA der Zielsequenzen und der internen Kontrolle zu cDNA
- PCR-Amplifikation der cDNA der Zielsequenzen und der internen Kontrolle
- Gleichzeitige Detektion der PCR-Amplifikate durch unterschiedlich markierte Sonden

Das RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 besteht aus:

- Master A
- Master B
- Positive Control (Linie B-βCoV, SARS-CoV-2)
- Internal Control
- Water (PCR grade)

Positive Control = Positivkontrolle

Internal Control = Interne Kontrolle

Water (PCR grade) = Wasser (für die PCR)

Master A und Master B enthalten alle Bestandteile (PCR-Puffer, Reverse Transkriptase, DNA-Polymerase, Magnesiumsalz, Primer und Sonden), die für die Reverse Transkription, die PCR basierte Amplifikation und die Detektion von Linie B-βCoV- (Ziel E-Gen), SARS-CoV-2- (Ziel S-Gen) und IC-spezifischer RNA in einem Reaktionsansatz benötigt werden.

## 6.1 Real-Time-PCR-Geräte

Das RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 wurde für die Verwendung mit folgenden real-time-PCR-Geräten entwickelt und validiert:

- CFX96™ Dx System (Bio-Rad)
- CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad)
- QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems)
- ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
- LightCycler® 480 Instrument II (Roche)
- Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)

## 6.2 Probenmaterial, -handhabung und -lagerung

Das RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 wurde für die Verwendung mit folgendem Probenmaterial validiert:

- Aus dem menschlichen Respirationstrakt entnommene und in Universal Transport Medium™ (UTM®; universelles Transportmedium) aufgenommene Abstrichproben

Das RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 wurde für die Verwendung mit dem AltoStar® Purification Kit 1.5 auf dem AltoStar® Automation System AM16 zur Nukleinsäure-Extraktion und -Aufreinigung validiert.

Die Probennahme muss mithilfe von Abstrichtupfern mit Polyesterkopf, Dacron-Abstrichtupfern oder Kunststoffstielen erfolgen. Bei Verwendung von trockenen Abstrichtupfern müssen diese anschließend in einem universellen Transportmedium (z. B. UTM® von Copan) resuspendiert werden. Calciumalginat-Abstrichtupfer, Abstrichtupfer mit Holzstielen und/oder Baumwollköpfen sowie in Agar-Gel gesammelte Abstrichtupfer dürfen nicht verwendet werden. Der Transport ist in Übereinstimmung mit den lokalen und nationalen Vorschriften für den Transport biologischer Materialien durchzuführen.

In UTM® resuspendierte Atemwegsabstriche sollten bis zu ihrer Verwendung nicht länger als 48 Stunden bei Raumtemperatur (+20 °C bis +25 °C), nicht länger als 5 Tage bei +2 °C bis +8 °C und nicht länger als 2 Monate bei -25 °C bis -15 °C aufbewahrt werden.

### WARNUNG



***Behandeln Sie Proben nach den geltenden Laborvorschriften immer so, als seien diese potentiell infektiös und (bio-)gefährlich. Verwenden Sie im Falle des Verschüttens von Probenmaterial sofort ein geeignetes Desinfektionsmittel zur Beseitigung der Kontamination. Behandeln Sie kontaminiertes Material als biogefährlich.***

**HINWEIS**

**i**

*Die Leistungsfähigkeit des Kits wird bei der Verwendung von gefrorenem Probenmaterial nicht beeinträchtigt. Vergewissern Sie sich bei Verwendung von gefrorenen Proben, dass diese vor Gebrauch vollständig aufgetaut und ausreichend durchmischt sind.*

**HINWEIS**

**i**

*Verwenden Sie keine Calciumalginat-Abstrichtupfer. Dies könnte zu fehlerhaften oder ungültigen Testergebnissen durch Inhibition der PCR-Reaktion führen.*

## 7. Warnungen, Vorsichtsmaßnahmen und Testlimitationen

- Vor der ersten Verwendung prüfen Sie das Produkt auf Vollständigkeit in Bezug auf Anzahl, Typ und Abfüllvolumina seiner Bestandteile. Benutzen Sie kein beschädigtes oder unvollständiges Produkt, da seine Leistungsfähigkeit beeinträchtigt sein könnte.
- Verwenden Sie keine anderen als die angegebenen Probenmaterialien! Bei Verwendung anderer Probenmaterialien könnte die Leistungsfähigkeit des Produktes beeinträchtigt sein.
- Die Anwesenheit von PCR-Inhibitoren im Reaktionsgemisch kann zu falsch-negativen oder ungültigen Ergebnissen führen.
- Sollten die Proben andere Krankheitserreger als SARS-CoV-2 enthalten, kann es zu Kreuzreaktionen oder zur zusätzlichen Amplifikation neben der des Zielgens kommen.
- Unsachgemäße Lagerung kann zur Beeinträchtigung der Leistungsfähigkeit des Produktes führen.
- Unzureichende Zentrifugation der Produktbestandteile nach dem Auftauen kann zur Kontamination derselben durch Reagenzienrückstände in den Deckeln führen, die dann wiederum zu einer Beeinträchtigung der Leistungsfähigkeit führen könnte.
- Überschreiten Sie nicht die Anzahl der in diesem Handbuch angegebenen Auftau- und Einfrierzyklen und Verwendungszeiten.
- Verwenden Sie keine Produktbestandteile über das Verfallsdatum hinaus, das auf den Etiketten der Bestandteile aufgedruckt ist.
- Unsachgemäße Verwendung von Produktbestandteilen kann zu Kontamination führen, die falsche *In-vitro*-Diagnostik-Untersuchungsergebnisse verursachen kann.
  - Tauschen Sie keine Gefäß- oder Flaschenverschlüsse aus, da dadurch eine Kreuzkontamination auftreten kann.
  - Um das Risiko einer Kontamination zu minimieren, lagern und handhaben Sie potentiell oder bekanntermaßen positives Material getrennt von den anderen Produktbestandteilen.

- Nutzen Sie getrennte Arbeitsbereiche zur Probenvorbereitung, zum Reaktionsansatz und zur Amplifikation/Detektion.
- Nutzen Sie stets Einweglaborhandschuhe.
- Öffnen Sie keine PCR-Platten oder PCR-Gefäße nach Ablauf der Amplifikation, um eine Kontamination mit Amplifikaten zu vermeiden.
- Die Lagerung der Eluate unter falschen Bedingungen kann zum Abbau der SARS-CoV-2 Zielsequenzen führen.
- Überschreiten Sie nicht die maximale Lagerungszeit für das fertige PCR-Reaktionsgemisch. Dies kann zur Beeinträchtigung der Produktleistungsfähigkeit führen.
- Behandeln Sie Proben nach den geltenden Laborvorschriften immer so, als seien diese potentiell infektiös und (bio-)gefährlich. Verwenden Sie im Falle des Verschüttens von Probenmaterial sofort ein geeignetes Desinfektionsmittel zur Beseitigung der Kontamination. Behandeln Sie kontaminiertes Material als sei dieses biogefährlich.
- Entsorgen Sie gefährliche und biologische Abfälle immer in Übereinstimmung mit den lokalen und nationalen Vorschriften, um eine Kontamination der Umwelt zu vermeiden.
- Wie bei jedem diagnostischen Test sollten die Ergebnisse unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde und Laborbefunde interpretiert werden.
- Möglicherweise auftretende Mutationen an den Bindestellen der im Produkt enthaltenen Primer und/oder Sonden im SARS-CoV-2 Genom können dazu führen, dass die Reaktion ausfällt und die Anwesenheit des Erregers nicht detektiert wird.
- Sollten beim verwendeten Probenaufbereitungssystem ethanolhaltige Waschpuffer zum Einsatz kommen, ist sicherzustellen, dass vor der Elution der Nukleinsäuren sämtliche Spuren von Ethanol entfernt werden. Ethanol ist ein starker Inhibitor der real-time-PCR.
- Die Verwendung von Träger-RNA während der Extraktion ist entscheidend für die Aufreinigungseffizienz und die Stabilität der aufgereinigten Nukleinsäuren.

- Verwenden Sie diesen Test nicht direkt mit Probenmaterial. Nukleinsäuren müssen vor Verwendung des Tests unbedingt mittels geeigneter Aufreinigungsmethoden aufbereitet werden.
- Das strikte Befolgen der Anweisungen in dieser Gebrauchsanweisung ist notwendig, um optimale Ergebnisse mit dem Test zu erzielen.
- Die Verwendung dieses Produktes ist auf Fachpersonal beschränkt, das in real-time-PCR-Technologie und in *in-vitro*-Diagnostik-Verfahren unterrichtet und geschult wurde.
- Die Einhaltung von Guter Laborpraxis ist essentiell für eine angemessene Leistungsfähigkeit dieses Tests. Es sollte ein besonderes Augenmerk darauf gelegt werden, dass die Reinheit der Produktbestandteile und des Reaktionsansatzes gewährleistet wird. Alle Reagenzien sollten auf Verunreinigungen und Kontaminationen hin geprüft werden. Bei Verdacht einer Verunreinigung ist das entsprechende Reagenz zu verwerfen.
- Geeignete Verfahren zur Probennahme, zum Transport, zur Lagerung und Verarbeitung sind für eine optimale Leistung des Tests erforderlich.
- Der E-Gen Assay (FAM™ Detektionskanal) weist spezifische RNA des Betacoronavirus der Linie B, einschließlich des SARS-Coronavirus und verschiedener Fledermaus-Coronaviren nach. Isolierte E-Gen Signale könnten die Anwesenheit von SARS-Coronavirus oder bestimmten Fledermaus-Coronaviren bedeuten.

## 8. Durchführung

### WARNUNG



***Unsachgemäße Verwendung von Produktbestandteilen kann zu Kontamination führen, die falsche In-vitro-Diagnostik-Untersuchungsergebnisse verursachen kann.***

***- Tauschen Sie keine Gefäß- oder Flaschenverschlüsse aus, da dadurch eine Kreuzkontamination auftreten kann.***

***- Um das Risiko einer Kontamination zu minimieren, lagern und handhaben Sie potentiell oder bekanntermaßen positives Material getrennt von den anderen Produktbestandteilen.***

***- Nutzen Sie getrennte Arbeitsbereiche zur Probenvorbereitung, zum Reaktionsansatz und zur Amplifikation/Detektion.***

***- Nutzen Sie stets Einweglaborhandschuhe.***

***- Öffnen Sie keine PCR-Platten oder PCR-Gefäße nach Ablauf der Amplifikation, um eine Kontamination mit Amplifikaten zu vermeiden.***

### 8.1 Probenvorbereitung

Startmaterial für das RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 ist extrahierte RNA.

Das RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 wurde unter Benutzung des AltoStar® Automation System AM16 in Kombination mit dem AltoStar® Purification Kit 1.5 mit humanen Atemwegsabstrichen validiert.

Alternative Nukleinsäure-Extraktionsverfahren (siehe unten) können ebenfalls geeignet sein. Der Anwender muss das Nukleinsäure-Extraktionsverfahren auf Verwendbarkeit mit dem RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 prüfen und validieren.

- QIAamp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)
- QIASymphony® (QIAGEN)
- NucliSENS® EasyMAG® (bioMérieux)
- MagNA Pure 96 System (Roche)
- m2000sp (Abbott)
- Maxwell® 16 IVD Instrument (Promega)
- VERSANT® kPCR Molecular System SP (Siemens Healthcare)

Bei der Verwendung von Extraktionsverfahren, die auf der Nutzung von Zentrifugenröhrchen beruhen, bei denen ethanolhaltige Waschpuffer zum Einsatz kommen, wird dringend empfohlen, vor der Elution einen zusätzlichen Zentrifugationsschritt für 10 min bei ca. 17.000 x g (~13.000 UPM) durchzuführen. Hierbei sollte ein neues Auffangröhrchen verwendet werden.

Die Eluate sind nach Beendigung des Extraktionsverfahrens in den unversiegelten Elutionsplatten bei Raumtemperatur (maximal +30 °C) bis zu 6 Stunden lang stabil. Eluate in versiegelten Elutionsplatten können bei +2 °C bis +8 °C bis zu 24 Stunden lang aufbewahrt werden, bevor mit dem Start des PCR-Ansatzes begonnen wird.

### WARNUNG



***Verwenden Sie keine anderen als die angegebenen Probenmaterialien! Bei Verwendung anderer Probenmaterialien könnte die Leistungsfähigkeit des Produktes beeinträchtigt sein.***

### WARNUNG



***Sollten beim verwendeten Probenaufbereitungssystem ethanolhaltige Waschpuffer zum Einsatz kommen, ist sicherzustellen, dass vor der Elution der Nukleinsäuren sämtliche Spuren von Ethanol entfernt werden. Ethanol ist ein starker Inhibitor der real-time-PCR.***

**WARNUNG**



*Die Verwendung von Träger-RNA während der Extraktion ist entscheidend für die Aufreinigungseffizienz und die Stabilität der aufgereinigten Nukleinsäuren.*

**WARNUNG**



*Behandeln Sie Proben nach den geltenden Laborvorschriften immer so, als seien diese potentiell infektiös und (bio-)gefährlich. Verwenden Sie im Falle des Verschüttens von Probenmaterial sofort ein geeignetes Desinfektionsmittel zur Beseitigung der Kontamination. Behandeln Sie kontaminiertes Material als sei dieses biogefährlich.*

**WARNUNG**



*Die Anwesenheit von PCR-Inhibitoren im Reaktionsgemisch kann zu falsch-negativen oder ungültigen Ergebnissen führen.*

**WARNUNG**



*Verwenden Sie diesen Test nicht direkt mit Probenmaterial. Nukleinsäuren müssen vor Verwendung des Tests unbedingt mittels geeigneter Aufreinigungsmethoden aufbereitet werden.*

**WARNUNG**



*Entsorgen Sie gefährliche und biologische Abfälle immer in Übereinstimmung mit den lokalen und nationalen Vorschriften, um eine Kontamination der Umwelt zu vermeiden.*

**WARNUNG**



*Die Lagerung der Eluate unter falschen Bedingungen kann zum Abbau der Linie B-βCoV und SARS-CoV-2 Zielsequenzen führen.*

Für weitere Informationen und technische Unterstützung in Bezug auf Vorbehandlung und Probenaufbereitung wenden Sie sich bitte an unseren Technischen Support (siehe Kapitel 13. Technischer Support).

## 8.2 Master-Mix Ansatz

Alle Reagenzien und Proben müssen vor der Verwendung vollständig aufgetaut, durchmischt (durch Pipettieren oder vorsichtiges Schütteln auf einem Vortexmischer) und abzentrifugiert worden sein.

Das RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 enthält eine heterologe interne Kontrolle (Internal Control, IC), die entweder als reine Inhibitionskontrolle für die RT-PCR oder als Kontrolle für die gesamte Probenaufbereitung (Nukleinsäure-Extraktion) und als Inhibitionskontrolle für die RT-PCR verwendet werden kann.

- ▶ Wenn die IC ausschließlich als Inhibitionskontrolle für die RT-PCR, aber nicht als Kontrolle für die Probenaufbereitung verwendet werden soll, setzen Sie den Master-Mix wie im folgenden Pipettierschema beschrieben an:

Anzahl der Reaktionen (rxns)	1	12
Master A	5 µl	60 µl
Master B	15 µl	180 µl
Internal Control	1 µl	12 µl
<b>Master-Mix Volumen</b>	<b>21 µl</b>	<b>252 µl</b>

- ▶ Wenn die IC als Kontrolle für die Probenaufbereitung und als Inhibitionskontrolle für die RT-PCR verwendet werden soll, geben Sie die IC während der Nukleinsäure-Extraktion hinzu.
- ▶ Unabhängig davon, welche Nukleinsäure-Extraktionsmethode verwendet wird, **darf** die IC **nicht** direkt zum Probenmaterial gegeben werden. Die IC soll erst zum Gemisch aus Probe und Lyse-Puffer hinzugegeben werden. Das zuzugebende Volumen hängt hierbei ausschließlich vom Elutionsvolumen ab. Das IC Volumen beträgt immer 10 % des Elutionsvolumens. Wenn die Nukleinsäuren aus einer Probe beispielsweise in 60 µl Wasser oder Elutionspuffer eluiert werden sollen, müssen 6 µl der IC hinzugegeben werden.

- ▶ Wenn die IC während der Probenaufbereitung zugegeben wurde, setzen Sie den Master-Mix wie im folgenden Pipettierschema beschrieben an:

Anzahl der Reaktionen (rxns)	1	12
Master A	5 µl	60 µl
Master B	15 µl	180 µl
<b>Master-Mix Volumen</b>	<b>20 µl</b>	<b>240 µl</b>

#### WARNUNG



*Unzureichende Zentrifugation der Produktbestandteile nach dem Auftauen kann zur Kontamination derselben durch Reagenzienrückstände in den Deckeln führen, die dann wiederum zu einer Beeinträchtigung der Leistungsfähigkeit führen könnte.*

#### HINWEIS



*Wenn die IC (Internal Control) bereits während der Probenaufbereitung zugegeben wurde, muss zumindest die Negativkontrolle die IC enthalten.*

#### HINWEIS



*Unabhängig davon, welche Nukleinsäure-Extraktionsmethode verwendet wird, darf die IC nicht direkt der Probe zugegeben werden.*

### 8.3 Reaktionsansatz

- ▶ Pipettieren Sie 20 µl des Master-Mixes in jedes benötigte Well einer passenden optisch klaren 96-Well-PCR-Platte oder in die entsprechenden optisch klaren Reaktionsgefäße.
- ▶ Geben Sie 10 µl der Probe (eluierte Nukleinsäure) oder 10 µl der entsprechenden Kontrolle (Positiv- oder Negativkontrolle) dazu.

Reaktionsansatz	
Master-Mix	20 µl
Probe oder Kontrolle	10 µl
<b>Gesamtvolumen</b>	<b>30 µl</b>

- ▶ Stellen Sie sicher, dass jeweils mindestens eine Positiv- und eine Negativkontrolle pro PCR-Lauf mitgetestet wird.
- ▶ Mischen Sie die Proben und die Kontrollen mit dem Master-Mix gründlich, indem Sie auf- und abpipettieren.
- ▶ Versiegeln Sie die 96-Well-PCR-Platte mit einer passenden optisch klaren Folie bzw. die Reaktionsgefäße mit passenden Deckeln.
- ▶ Zentrifugieren Sie die 96-Well-PCR-Platte in einer Zentrifuge mit entsprechendem Rotor für Mikrotiterplatten für 30 Sekunden bei etwa 1.000 x g (ca. 3.000 UPM).

Das fertige PCR-Reaktionsgemisch ist für ca. 30 Minuten bei Raumtemperatur (max. +30 °C) stabil.

#### WARNUNG



**Überschreiten Sie nicht die maximale Lagerungszeit für das fertige PCR-Reaktionsgemisch. Dies kann zur Beeinträchtigung der Produktleistungsfähigkeit führen.**

## 9. Programmierung des Real-Time-PCR-Gerätes

Für grundlegende Informationen zur Programmierung und Nutzung unterschiedlicher real-time-PCR-Geräte beachten Sie bitte die jeweilige Gebrauchsanweisung des Gerätes.

Für detaillierte Programmierungsanweisungen für die Verwendung des RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 mit verschiedenen real-time-PCR-Geräten kontaktieren Sie bitte den Technischen Support (siehe Kapitel 13. Technischer Support).

### 9.1 Einstellungen

- Geben Sie die folgenden Einstellungen ein:

Einstellungen	
Reaktionsvolumen	30 µl
Heizrate	Standard
Passive Referenz	ROX™

### 9.2 Detektionskanäle (Fluorophore)

- Definieren Sie die Detektionskanäle (Fluorophore):

Ziel	Detektorname	Reporter	Quencher
Linie B-βCoV-spezifische RNA	E-Gen	FAM™	(ohne)
SARS-CoV-2-spezifische RNA	S-Gen	Cy5	(ohne)
Interne Kontrolle	IC	JOE™	(ohne)

### 9.3 Temperaturprofil und Fluoreszenzmessung

- Definieren Sie das Temperaturprofil und die Fluoreszenzmessung:

	Phase	Wiederholungen	Messung	Temperatur [°C]	Zeit [min:sek]
Reverse Transkription	Halten	1	-	55	20:00
Denaturierung	Halten	1	-	95	02:00
Amplifikation	Zyklus	45	-	95	00:15
			Ja	55	00:45
			-	72	00:15

## 10. Auswertung

Für grundlegende Informationen in Bezug auf die Datenanalyse und Auswertung beachten Sie bitte die Gebrauchsanweisung des jeweiligen real-time-PCR-Gerätes.

Für detaillierte Anweisungen zur Analyse der mit dem RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 auf verschiedenen real-time-PCR-Geräten generierten Daten kontaktieren Sie bitte den Technischen Support (siehe Kapitel 13. Technischer Support).

## 10.1 Gültigkeit diagnostischer Testläufe

### 10.1.1 Gültiger diagnostischer Testlauf

Ein diagnostischer Testlauf ist **gültig**, wenn die folgenden Kontrollbedingungen erfüllt sind:

ID der Kontrolle	Detektionskanal		
	FAM™	Cy5	JOE™
Positivkontrolle (Linie B-βCoV und SARS-CoV-2)	+	+	+/-*
Negativkontrolle	-	-	+

\* Die An- oder Abwesenheit eines Signals im JOE™-Detektionskanal ist nicht entscheidend für die Gültigkeit des Testlaufs.

### 10.1.2 Ungültiger diagnostischer Testlauf

Ein diagnostischer Testlauf ist **ungültig**, (i) wenn der Lauf nicht vollständig beendet wurde oder (ii) wenn eine der Kontrollbedingungen für einen **gültigen** Testlauf nicht erfüllt wurde.

Im Falle eines **ungültigen** diagnostischen Testlaufes wiederholen Sie die Testung ausgehend von restlicher aufgereinigter Nukleinsäure oder starten Sie die Prozedur inklusive Probenaufbereitung mit der Originalprobe neu.

## 10.2 Interpretation der Ergebnisse

### WARNUNG



*Wie bei jedem diagnostischen Test sollten die Ergebnisse unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde und Laborbefunde interpretiert werden.*

## 10.2.1 Qualitative Analyse

Detektionskanal			Ergebnisinterpretation
FAM™ (E-Gen)	Cy5 (S-Gen)	JOE™ (Interne Kontrolle)	
+	+	+*	Linie B-βCoV- und SARS-CoV-2-spezifische RNA detektiert. Positiv für SARS-CoV-2.
+	-	+*	Nur Linie B-βCoV-spezifische RNA detektiert. Mutmaßlich positiv für SARS-CoV-2. <sup>1,2</sup>
-	+	+*	Nur SARS-CoV-2-spezifische RNA detektiert. Positiv für SARS-CoV-2. <sup>1</sup>
-	-	+	Weder Linie B-βCoV- noch SARS-CoV-2-spezifische RNA detektiert. Die Probe enthält keine nachweisbaren Mengen SARS-CoV-2-spezifischer RNA.
-	-	-	RT-PCR-Inhibition oder Reagenzversagen. Wiederholen Sie die Testung mit der Originalprobe oder entnehmen und testen Sie eine neue Probe.

\* Detektion der internen Kontrolle im JOE™-Detektionskanal ist bei positiven Ergebnissen sowohl im FAM™- als auch im Cy5-Detektionskanal nicht notwendig. Eine hohe Konzentration von Linie B-βCoV (Ziel E-Gen) und/oder SARS-CoV-2 (Ziel S-Gen) RNA kann zu einem reduzierten oder ausbleibenden Signal der internen Kontrolle führen.

<sup>1</sup> Ursachen für eine Detektion in lediglich einem der beiden Kanäle für E-Gen oder S-Gen können in einer RNA-Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze oder einer Mutation innerhalb der entsprechenden Zielsequenz liegen.

<sup>2</sup> Die Probe kann durch Wiederholung der Extraktion und der RT-PCR erneut getestet werden. Sollte das Ergebnis wieder „mutmaßlich positiv“ lauten, können weitere Bestätigungstests durchgeführt werden.

## 11. Leistungsbewertung

Die Leistungsbewertung des RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 erfolgte mit hitzeinaktiviertem SARS-CoV-2-Zellkulturüberstand (*BetaCoV/Munich/ChVir984/2020*), welcher vom Institut für Virologie der Charité Berlin, Deutschland zur Verfügung gestellt wurde.

### 11.1 Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität wurde durch Analyse einer Verdünnungsreihe aus hitzeinaktiviertem SARS-CoV-2-Zellkulturüberstand (*BetaCoV/Munich/ChVir984/2020*, zur Verfügung gestellt durch das Institut für Virologie der Charité Berlin, Deutschland) bestimmt. Die Verdünnungen wurden im universellen Transportmedium (UTM®, Copan) mit künstlichem Nasalsekret [5 % w/v Mucin, 5 % v/v Blut, 0,8 % v/v NaCl (95 %ige Lösung) und 0,00002 % w/v humane genomische DNA (510k Submission for BD MAX™ MRSA XT-Assay; Zugangsnummer: K133605)] angesetzt.

Von jeder Verdünnung wurden 8 Replikate an 3 verschiedenen Tagen getestet (Gesamtzahl n = 24 je Verdünnung). Dabei kamen Kombinationen aus 3 RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0-Chargen, 3 AltoStar® Purification Kit 1.5-Chargen und 3 AltoStar® Internal Control 1.5-Chargen zum Einsatz. Die Läufe wurden unter Verwendung von je 3 unterschiedlichen Exemplaren des AltoStar® Automation System AM16 und des CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad) durchgeführt.

Die Daten aus allen Läufen wurden zusammengeführt und einer Probit-Analyse unterzogen, um den LoD (95 %)-Wert zu bestimmen

**Tabelle 2:** RT-PCR-Ergebnisse, die zur Berechnung der analytischen Sensitivität für die Detektion von SARS-CoV-2-spezifischer RNA (E-Gen) verwendet wurden

Ausgangskonz. [PFU/ml]	Anzahl der Replikate	Anzahl der positiven Ergebnisse	Hit Rate [%]
1,00E+00	24	24	100
3,16E-01	24	24	100
1,00E-01	24	24	100
3,16E-02	24	24	100
1,00E-02	24	21	88
3,16E-03	24	12	50
1,00E-03	24	4	17
3,16E-04	24	1	4
1,00E-04	24	2	8

Die analytische Sensitivität des RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 für SARS-CoV-2 (E-Gen) wurde mittels einer Probit-Analyse bestimmt. Die analytische Sensitivität für die Detektion von SARS-CoV-2 RNA (E-Gen) liegt bei 0,025 PFU/ml [95 % Konfidenzintervall (KI): 0,014 - 0,060 PFU/ml].

**Tabelle 3:** RT-PCR-Ergebnisse, die zur Berechnung der analytischen Sensitivität für die Detektion von SARS-CoV-2-spezifischer RNA (S-Gen) verwendet wurden

Ausgangskonz. [PFU/ml]	Anzahl der Replikate	Anzahl der positiven Ergebnisse	Hit Rate [%]
1,00E+00	24	24	100
3,16E-01	24	24	100
1,00E-01	24	24	100
3,16E-02	24	24	100
1,00E-02	24	23	96
3,16E-03	24	15	63
1,00E-03	24	4	17
3,16E-04	24	2	8
1,00E-04	24	1	4

Die analytische Sensitivität des RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 für SARS-CoV-2 (S-Gen) wurde mittels einer Probit-Analyse bestimmt. Die analytische Sensitivität für die Detektion von SARS-CoV-2 RNA (S-Gen) liegt bei 0,014 PFU/ml [95 % Konfidenzintervall (KI): 0,008 - 0,032 PFU/ml].

## 11.2 Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität des RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 ist durch die sorgfältige Auswahl der Primer und Sonden gesichert. Die Oligonukleotidsequenzen wurden mittels eines Sequenzabgleichs mit den veröffentlichten CoV-2-Sequenzen überprüft, um sicherzustellen, dass alle relevanten Linie B-βCoV (E-Gen) und SARS-CoV-2 (S-Gen) Genotypen detektiert werden.

### 11.2.1 Reaktivität

Die Reaktivität des RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 wurde mit verschiedenen SARS-CoV-2 Isolaten in *in-vitro*-Experimenten überprüft. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 dargestellt.

**Tabelle 4:** Reaktivität (*in-vitro*-Testung) des RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0

SARS-CoV-2 Stamm/Isolat	Quelle/Probenart	Konzentration
<i>BetaCoV/Munich/ChVir984/2020</i> *	Institut für Virologie; Charité Berlin; Deutschland/ hitzeinaktivierter Zellkulturüberstand	1,00E+04 Kopien/μl
2019-nCoV/Italy-INMI1	European Virus Archive Global/RNA	1,00E+06 Kopien/μl

\* Der Stamm *BetaCoV/Munich/ChVir984/2020* wurde zur Bestimmung der Nachweisgrenze und der klinischen Leistungsdaten des RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 verwendet.

**Tabelle 5:** Reaktivität (*in silico*-Analyse von 155.031 Vollgenom-Sequenzen von SARS-CoV-2, veröffentlicht über GISAID e.V. ([www.gisaid.org](http://www.gisaid.org)) sowie 36.630 Vollgenom-Sequenzen, veröffentlicht über das National Center for Biotechnology Information ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) am 5. November 2020, jeweils für die E-Gen und S-Gen Oligonukleotide): RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0

191.661 Vollgenom-Sequenzen		Homologie	Kommentar
E-Gen	Vorwärts- Primer	191.553 Sequenzen: 100 %	106 Sequenzen: 96,2 % (1 Fehlpaarung) 2 Sequenzen: 92,3 % (2 Fehlpaarungen)
	Rückwärts- Primer	191.602 Sequenzen: 100 %	58 Sequenzen: 95,5 % (1 Fehlpaarung) 1 Sequenz: 90,9 % (2 Fehlpaarungen)
	Sonde	191.539 Sequenzen: 100 %	122 Sequenzen: 95,7 % (1 Fehlpaarung)
S-Gen	Vorwärts- Primer	191.419 Sequenzen: 100 %	239 Sequenzen: 95,2 % (1 Fehlpaarung) 3 Sequenzen: 90,5 % (2 Fehlpaarungen)
	Rückwärts- Primer	190.996 Sequenzen: 100 %	662 Sequenzen: 95,5 % (1 Fehlpaarung) 3 Sequenzen: 90,1 % (2 Fehlpaarungen)
	Sonde	190.534 Sequenzen: 100 %	1.120 Sequenzen: 96,3 % (1 Fehlpaarung) 6 Sequenzen: 92,6 % (2 Fehlpaarungen) 1 Sequenz: 85,2 %* (4 Fehlpaarungen)

\* Die Sequenz (accession ID EPI\_ISL\_415593, GISAID) wies 4 Basenfehlpaarungen im Bereich der Sondenbindesequenz mit der kitspezifischen S-Gen Sonde auf. Diese Sequenz wurde am 10. März 2020 veröffentlicht und stammt aus Washington, USA. Die Autoren der Publikation kommentierten die Sequenz folgendermaßen: „Achtung! NNN-Abschnitte (1,74 % der gesamten Sequenz)“, was auf keine optimale Sequenzierung hinweist. Folglich wurden die Auswirkungen dieser NNN-Abschnitte auf S-Gen-spezifische Oligonukleotide nicht untersucht. Kein weiterer Sequenzabgleich - mit seit März 2020 veröffentlichten Sequenzen - zeigte so viele Basenfehlpaarungen.

Abhängig von der Position ist es höchst unwahrscheinlich, dass Mutationen, die zu  $\leq 2$  Fehlpaarungen in einer einzelnen Oligonukleotidsequenz führen, sich signifikant negativ auf die Leistungsfähigkeit des Tests auswirken. Für alle derartigen Sequenzen (mit  $\leq 2$  Fehlpaarungen), die bisher im Zuge der Produktüberwachung nach der Markteinführung des RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 im Labor getestet wurden, wurde bestätigt, dass die Produktleistung durch diese Mutationen nicht beeinträchtigt war. Mit Ausnahme einer einzigartigen Sequenz wiesen keine weiteren Sequenzabgleiche mit den kitspezifischen Oligonukleotiden Basenfehlpaarungen in mehr als einem der Oligonukleotide auf. Zudem wiesen keine der Basenfehlpaarungen aufweisenden Sequenzen Fehlpaarungen mit beiden Nachweissystemen (E-Gen und S-Gen) auf. Dementsprechend kann geschlossen werden, dass die Reaktivität der im RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 verwendeten spezifischen Oligonukleotide nicht beeinträchtigt ist.

### 11.2.2 Kreuzreaktivität

Die analytische Spezifität des RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 wurde durch Testen eines Panels genomischer DNA/RNA bewertet, die aus anderen Pathogenen aufgereinigt wurden, welche ähnliche Symptome verursachen bzw. die mit einiger Wahrscheinlichkeit in Proben von Patienten, die an einer SARS-CoV-2 Infektion leiden, vorkommen könnten.

Mit Ausnahme des SARS-Coronavirus\* kam es zu keinerlei Kreuzreaktivität des RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 mit den folgenden Krankheitserregern:

- Humanes Coronavirus 229E
- Humanes Coronavirus OC43
- Humanes Coronavirus NL63
- MERS-Coronavirus
- Adenovirus
- Humanes Metapneumovirus (hMPV)
- Parainfluenza-Virus 1
- Parainfluenza-Virus 2
- Parainfluenza-Virus 3
- Parainfluenza-Virus 4
- Influenza A-Virus
- Influenza B-Virus
- Enterovirus
- Respiratory Synzytial-Virus A
- Respiratory Synzytial-Virus B

- Rhinovirus
- *Chlamydia pneumoniae*
- *Haemophilus influenzae*
- *Legionella pneumophila*
- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Streptococcus pyogenes*
- *Bordetella pertussis*
- *Mycoplasma pneumoniae*
- *Pneumocystis jirovecii* (PJP)
- *Candida albicans*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Streptococcus salivarius*

\* Für das SARS-Coronavirus wird mit dem RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 im FAM™-Detektionskanal ein positives Ergebnis erhalten, da das E-Gen nicht spezifisch für SARS-CoV-2 ist, sondern den Nachweis aller Betacoronaviren der Linie B einschließlich des SARS-Coronavirus erlaubt.

#### WARNUNG



**Sollten die Proben andere Krankheitserreger als SARS-CoV-2 enthalten, kann es zu Kreuzreaktionen oder zur zusätzlichen Amplifikation neben der des Zielgens kommen.**

### 11.3 Präzision

Die Präzision des RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 wurde als Intra-Assay-Variabilität (Variabilität innerhalb eines Experiments), Inter-Assay-Variabilität (Variabilität zwischen verschiedenen Experimenten) und Inter-Chargen-Variabilität (Variabilität zwischen verschiedenen Produktionschargen) bestimmt. Die Gesamtvariabilität wurde aus der Kombination der drei Einzelanalysen errechnet.

Die Standardabweichung und Variationskoeffizienten beziehen sich auf die  $C_t$ -Werte. Mindestens vier Replikate pro Probe wurden für die Intra-Assay-, die Inter-Assay- und die Inter-Chargen-Variabilität getestet.

**Tabelle 6:** Präzisionsdaten (CV % [ $C_t$ -Werte]) für hochpositive SARS-CoV-2 UTM®-Proben

	Hochpositive SARS-CoV-2 Probe [ $C_t$ im FAM™ Detektionskanal, E-Gen]	Hochpositive SARS-CoV-2 Probe [ $C_t$ im Cy5 Detektionskanal, S-Gen]
Intra-Assay-Variabilität	0,15 - 0,61	0,02 - 0,34
Inter-Assay-Variabilität	1,80 - 2,10	1,53 - 1,64
Inter-Chargen-Variabilität	0,44	0,41
Gesamtvariabilität	1,83	1,22

Alle getesteten 3x LoD-Proben (niedrigpositive Proben) wurden als positiv für SARS-CoV-2 (E-Gen und S-Gen) erkannt.

**Tabelle 7:** Präzisionsdaten (CV % [ $C_t$ -Werte]) für die interne Kontrolle (IC) in SARS-CoV-2 UTM®-Negativproben

	Interne Kontrolle
Intra-Assay-Variabilität	0,12 - 0,49
Inter-Assay-Variabilität	0,36 - 1,33
Inter-Chargen-Variabilität	0,39
Gesamtvariabilität	<b>1,02</b>

## 11.4 Diagnostische Leistungsbewertung

Das RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 wurde in einer Vergleichsstudie mit dem CE-gekennzeichneten Bosphore Novel Coronavirus (2019-nCoV) Detection Kit (Anatolia Geneworks) bewertet. Dazu wurden 110 Proben von Atemwegsabstrichen aus einer SARS-CoV-2-Routinekontrolle mit beiden Kits parallel getestet. Das Bosphore Novel Coronavirus (2019-nCoV) Detection Kit wurde dabei in Kombination mit dem *m*Sample Preparation Systems RNA (Abbott) und dem *m*2000sp Instrument (Abbott) verwendet, während das RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 in Kombination mit dem AltoStar® Purification Kit 1.5 und der AltoStar® Internal Control 1.5 unter Verwendung des AltoStar® Automation System AM16 und des CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad) zum Einsatz kam. Für die qualitative Analyse wurden alle Proben ausgeschlossen, die im Test mit beiden oder einem der beiden Kits zu ungültigen Ergebnissen führten. Die Ergebnisse für die verbleibenden 104 Proben sind in Tabelle 8 dargestellt.

**Tabelle 8:** Testergebnisse zur Bewertung der diagnostischen Sensitivität und Spezifität für SARS-CoV-2 in Proben aus Atemwegsabstrichen

		Bosphore Novel Coronavirus (2019-nCoV) Detection Kit (Anatolia Geneworks)	
		POSITIV	NEGATIV
RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0	POSITIV	51	2
	NEGATIV	0	51

Die relative diagnostische Sensitivität und Spezifität des RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 im Vergleich zu dem Bosphore Novel Coronavirus (2019-nCoV) Detection Kit betrug jeweils 100 % und 96 %.

## 12. Qualitätskontrolle

In Übereinstimmung mit dem nach EN 13485-zertifizierten Qualitätsmanagementsystems der Firma altona Diagnostics GmbH wird jede Charge des RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 auf eine Reihe festgelegter Spezifikationen hin getestet, um eine gleichbleibende Produktqualität zu gewährleisten.

## 13. Technischer Support

Zur Inanspruchnahme von Kundenbetreuung kontaktieren Sie bitte unseren technischen Support:

**E-Mail:** [support@altona-diagnostics.com](mailto:support@altona-diagnostics.com)

**Telefon:** +49-(0)40-5480676-0

## 14. Literatur

Versalovic, James, Carroll, Karen C., Funke, Guido, Jorgensen, James H., Landry, Marie Louise and David W. Warnock (ed). Manual of Clinical Microbiology. 10th Edition. ASM Press, 2011.

Cohen, Jonathan, Powderly, William G, and Steven M Opal. Infectious Diseases, Third Edition. Mosby, 2010.

## 15. Handelsmarken und Haftungsausschluss

AltoStar®, RealStar® (altona Diagnostics); ABI Prism® (Applied Biosystems); BD MAX™ (BD); NucliSENS®, EasyMag® (bioMérieux); CFX96™ (Bio-Rad); Universal Transport Medium™, UTM® (Copan); JOE™ (Life Technologies); Maxwell® (Promega); Rotor-Gene®, QIAamp®, QIASymphony® (QIAGEN); LightCycler® (Roche); VERSANT® (Siemens Healthcare); FAM™, ROX™ (Thermo Fisher Scientific).

Eingetragene Namen, Marken usw., die in diesem Dokument verwendet werden, auch wenn sie nicht ausdrücklich als solche gekennzeichnet sind, sind nicht als gesetzlich ungeschützt anzusehen.

Das RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 ist nach der Richtlinie 98/79/EG des Europäischen Parlamentes und des Rates über *In-vitro*-Diagnostika CE-markiert.

Das Produkt ist weder bei Health Canada noch der FDA registriert oder zugelassen.

Das altona Diagnostics RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 hat eine vorläufige Zulassung der Health Sciences Authority in Singapur erhalten.

Nicht in allen Ländern verfügbar.

© 2021 altona Diagnostics GmbH; alle Rechte vorbehalten.

## 16. Symbole

Symbol	Erklärung
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Chargennummer
	Deckelfarbe
	Bestellnummer
	Inhalt
	Nummer
	Bestandteil
	Global Trade Item Number
	Gebrauchsanweisung beachten
	Enthält ausreichend Reagenz für „n“ Reaktionen
	Lagertemperatur
	Verwendbar bis
	Hersteller
	Warnung: Hebt Anweisungen und Verfahren hervor, deren Nichtbefolgung oder fehlerhafte Umsetzung zu Verletzungen führen und/oder die Funktion des Produkts beeinträchtigen kann. Wenden Sie sich an den Technischen Support von altona Diagnostics, falls Sie Hilfe benötigen.

Symbol	Erklärung
	Hinweis: Dieses Symbol steht neben Informationen, die für den Benutzer nützlich, für die Ausübung der Funktion jedoch nicht essenziell sind.
	Version

**Notizen:**

**Notizen:**

**Notizen:**



**always a drop ahead.**

altona Diagnostics GmbH  
Mörkenstr. 12  
22767 Hamburg, Germany

phone +49 40 548 0676 0  
fax +49 40 548 0676 10  
e-mail [info@altona-diagnostics.com](mailto:info@altona-diagnostics.com)

[www.altona-diagnostics.com](http://www.altona-diagnostics.com)

