

VIASURE

Real Time PCR Detection Kits

by CerTest
BIOTEC

SARS-CoV-2 (N1 + N2)

Handbook for the following references/

Håndbok for følgende referanser:

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System

BD REF 444215

to be used with the BD MAX™ System

for bruk med BD MAX™-systemet



ENGLISH

1. Intended use

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System is an automated real-time RT-PCR test designed for the qualitative detection of RNA from the SARS-CoV-2 in respiratory samples from individuals suspected of COVID-19 by their healthcare provider. This test is intended to be used as an aid in the identification of the presence of the SARS-CoV-2 viral RNA. The assay uses the BD MAX™ System for automated extraction of RNA and subsequent real-time RT-PCR employing the reagents provided combined with universal reagents and disposables for the BD MAX™ System. RNA is extracted from respiratory specimens, amplified using RT-PCR and detected using fluorescent reporter dye probes specific for SARS-CoV-2.

2. Summary and Explanation

Coronavirus are enveloped non-segmented positive-sense RNA viruses and belong to *Coronaviridae* family [1,2]. There are six coronavirus species known to cause human diseases [2]. Four viruses (229E, OC43, NL63 and HKU1) cause common cold symptoms and the other two (severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) and Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV)) are zoonotic and producing more severe complications [2]. SARS-CoV and MERS-CoV have caused more than 10,000 cumulative cases in the past two decades, with mortality rates of 34% MERS-CoV and 10% SARS-CoV [1,3].

In December 2019, some people that worked at or lived around the Huanan seafood market in Wuhan, Hubei Province, China, have presented pneumonia of unknown cause [2,4]. Deep sequencing analysis of the respiratory samples indicated a novel coronavirus, which was named firstly 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) and lately SARS-CoV-2 [5].

Human-to-human transmission of the SARS-CoV-2 has been confirmed, even in the incubation period without symptoms, and the virus causes severe respiratory illness like those SARS-CoV produced [1,6,7,8]. Although the pneumonia is the principal illness associated, a few patients have developed severe pneumonia, pulmonary edema, acute respiratory distress syndrome, or multiple organ failure and death [1,4]. Centers of Disease Control and Prevention (CDC) believes that symptoms of SARS-CoV-2 may appear in as few as 2 days or as long as 14 days after exposure, being the most common fever or chills, cough, fatigue, anorexia, myalgia and dyspnea [1,4,6,9]. Less common symptoms are sore throat, nasal congestion, headache, diarrhea, nausea and vomiting [1,4]. Loss of smell (anosmia) or loss of taste (ageusia) preceding the onset of respiratory symptoms has also been reported [9]. Older adults and people who have severe underlying medical conditions like heart or lung disease or diabetes seem to be at higher risk for developing more serious complications from COVID-19 illness [10].

Diagnosis of SARS-CoV-2 is performed detecting conventional causes of pneumonia early and detected by next-generation sequencing or real-time RT-PCR methods [1,11]. Several assays that detect the SARS-CoV-2 have been are currently available, such as China CDC (gene targets, *ORF1ab* and *N*), *Charité* – Germany (gene targets, *RdRP* and *E*) or US CDC (two targets in *N* gene) [12].

CDC recommends upper respiratory tract specimens (nasopharyngeal (NP) and oropharyngeal (OP) swabs, nasal mid-turbinate swab, nasal swab, nasopharyngeal wash/aspirate or nasal wash/aspirate (NW) specimens collected



mainly by a healthcare provider) and/or lower respiratory specimens (sputum, endotracheal aspirate, or bronchoalveolar lavage in patients with more severe respiratory disease) for the identification of SARS-CoV-2 [11]. In addition, other clinical specimens as blood, urine and stool may be collected to monitor the presence of the virus [11,12].

3. Principle of the procedure

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System is designed for the identification of SARS-CoV-2 in respiratory samples. The detection is done in one step real-time RT-PCR format where the reverse transcription and the subsequent amplification of specific target sequence occur in the same reaction tube. The isolated RNA target is transcribed generating complementary DNA by reverse transcriptase which is followed by the amplification of two conserved regions of N gene (N1 and N2) using specific primers and fluorescent-labeled probes.

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System is based on 5' exonuclease activity of DNA polymerase. During DNA amplification, this enzyme cleaves the probe bound to the complementary DNA sequence, separating the quencher dye from the reporter. This reaction generates an increase in the fluorescent signal which is proportional to the quantity of the target template. This fluorescence is measured on the BD MAX™ System.

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System contains in each tube all the components necessary for real-time PCR assay (specific primers/probes, dNTPS, buffer, polymerase, reverse-transcriptase) in a stabilized format, as well as an endogenous internal control to monitor the extraction process and/or inhibition of the polymerase activity. The assay uses a human housekeeping gene as an endogenous Internal Control (IC) (human *RNase P* gene). Human housekeeping genes are involved in basic cell maintenance and, therefore, are expected to be present in all nucleated human cells and maintain relatively constant expression levels. N2 target is amplified and detected in channel 475/520, N1 target in channel 630/665 and the endogenous internal control (IC) in channel 530/565.

4. Reagents provided

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System includes the following materials and reagents detailed in Table 1:

Reference	Reagent/Material	Description	Color/Barcode	Amount
VS-NCO312	SARS-CoV-2 (N1 + N2) reaction tube	A mix of enzymes, primers probes, buffer, dNTPs, stabilizers and endogenous internal control in stabilized format	Transparent Green or 1G foil	2 pouches of 12 tubes
VS-RB09	Rehydration Buffer tube	Solution to reconstitute the stabilized product	Transparent Orange or 11 foil	1 pouch of 24 tubes

Table 1. Reagents and materials provided in VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System with Cat. N°: VS-NCO324 (444215).



5. Reagents and equipment to be supplied by the user

The following list includes the materials and equipment that are required for use but not included in the VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

- Real-time PCR instrument: BD MAX™ System.
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442827 or 442828)
- BD MAX™ PCR Cartridges (Ref: 437519)
- Vortex.
- Micropipettes (accurate between 2 and 1000 µL).
- Filter tips.
- Powder-free disposable gloves

6. Transport and storage conditions

- The kits can be shipped and stored at 2-40°C until the expiration date which is stated on the label.
- After opening the aluminum pouches which contain the reaction tubes can be used up to 28 days.

7. Precautions for users

- The product is intended for use by professional users only, such as laboratory or health professionals and technicians, trained in molecular biological techniques.
- For *in vitro* diagnostic use.
- Do not use expired reagents and/or materials.
- Do not use the kit if the label that seals the outer box is broken.
- Do not use reagents if the protective box is open or broken upon arrival.
- Do not use reagents if the protective pouches are open or broken upon arrival.
- Do not use reagents if desiccant is not present or broken inside reagent pouches.
- Do not remove desiccant from reagent pouches.
- Close protective pouches of reagents promptly with the zip seal after each use. Remove any excess air in the pouches prior to sealing.
- Do not use reagents if the foil has been broken or damaged.
- Do not mix reagents from different pouches and/or kits and/or lots.
- Protect reagents from humidity. Prolonged exposure to humidity may affect product performance.
- Keep components away from light.
- In cases where other PCR tests are conducted in the same general area of the laboratory, care must be taken to ensure that the VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, BD MAX™ ExK™ TNA-3 extraction kit, any additional reagents required for testing, and the BD MAX™ System are not contaminated. Avoid microbial and ribonuclease (RNase)/deoxyribonuclease (DNase) contamination of reagents at all times. The use of sterile RNase/DNase-free disposable aerosol resistant or positive displacement pipette tips is recommended. Use a new tip for each specimen. Gloves must be changed before manipulating reagents and cartridges.



- To avoid contamination of the environment by amplicons, do not break apart the BD MAX™ PCR Cartridge after use. The seals of the BD MAX™ PCR Cartridge are designed to prevent contamination.
- Design a unidirectional workflow. It should begin in the Extraction Area and then move to the Amplification and Detection Area. Do not return samples, equipment and reagents to the area in which the previous step was performed.
- Follow Good Laboratory Practices. Wear protective clothing, use disposable gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area. Wash your hands after finishing the test.
- Samples must be treated as potentially infectious as well as all the reagents and materials that have been exposed to the samples and they must be handled according to the national safety regulations. Take necessary precautions during the collection, storage, treatment and disposal of samples.
- Regular decontamination of commonly used equipment is recommended, especially micropipettes and work surfaces.
- Consult the BD MAX™ System User's Manual for additional warnings, precautions and procedures.

8. Procedure

8.1. SAMPLE COLLECTION, STORAGE AND TRANSPORT

The VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System has been validated on nasopharyngeal/ oropharyngeal swab collected in viral transport media (VTM) Vircell S.L., Spain).

Other types of samples from nasopharyngeal/oropharyngeal swabs in VTM must be validated by the user.

Collection, storage and transport specimens should be maintained per the conditions validated by the user. Overall, respiratory samples should be collected and labelled appropriately in clean containers with or without transport media (depending on sample type) and processed as soon as possible to guarantee the quality of the test. The specimens should be transported at 2 to 8°C for up to 48 hours, following the local and national regulations for the transport of pathogen material. For long term transport (more than 48 hours), we recommend shipping at ≤ -20°C. It is recommended to use fresh specimens for the test. The samples can be stored at 2 to 8°C for up to 48 hours or frozen at -20°C or ideally at -70°C for conservation. Repeated freeze-thaw cycles should be avoided in order to prevent degradation of the sample and nucleic acids.

8.2. SAMPLE PREPARATION AND RNA EXTRACTION

Perform the sample preparation according to the recommendations in the instructions for use of extraction kit used, BD MAX™ ExK™ TNA-3. Note that some other samples may require pre-processing. Application-specific extraction preparation procedures should be developed and validated by the user.

1. Pipette between 400 and 750 µL of nasopharyngeal/ oropharyngeal swab collected in viral transport media (VTM) or in BD™ Universal Viral Transport (UVT) System media into a BD MAX™ TNA-3 Sample Buffer Tube and close the tube with a septum cap. Ensure complete mixing by vortexing the sample at high speed for 1 minute. Proceed to BD MAX™ System Operation.



8.3. PCR PROTOCOL

Note: Please, refer to the BD MAX™ System User's Manual for detailed instructions.

8.3.1. Creating PCR test program for VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System

Note: If you have already created the VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection test, you can skip step 8.3.1 and go directly to 8.3.2.

- 1) On the "Run" screen of the BD MAX™ System, select the "Test Editor" tab.
- 2) Click the "Create" button.
- 3) In the Basic Information tab, within the "Test Name" window, name your test: i.e. VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2).
- 4) In the "Extraction Type" drop down menu, select "ExK TNA-3".
- 5) In the "Master Mix Format" drop down menu, choose "Type 5"
 - a. Note: Product may be used in combination with an additional VIASURE for BD MAX™ test, then select "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)".
- 6) In the "Sample extraction parameters" select "User defined" and adjust sample volume to 950 µL.
- 7) In the "Ct Calculation" select "Call Ct at Threshold Crossing".
- 8) In "PCR settings" tab enter the following parameters: "Channel Settings", "Gains" and "Threshold" (Table 2).
 - a. Note: Product may be used in combination with an additional VIASURE for BD MAX™ test, PCR Settings and Test Steps should be completed for snap 2 (green) and snap 4 (blue) positions.

Channel	Alias	Gain	Threshold	Ct Min	Ct Max
475/520 (FAM)	SARS-CoV-2 N2 target	80	150	0	40
530/565 (HEX)	Endogenous IC	80	150	0	35
585/630 (ROX)	-	0	0	0	0
630/665 (Cy5)	SARS-CoV-2 N1 target	80	150	0	40
680/715 (Cy5.5)	-	0	0	0	0

Table 2. PCR settings.

Note: It is recommended to set the minimum threshold values listed above for each channel as a starting point, but the final settings must be determined by the end-user during the result interpretation in order to ensure that thresholds fall within the exponential phase of the fluorescence curves and above any background signal. The threshold value for different instruments may vary due to different signal intensities.

- 9) In "PCR settings" tab enter the following parameters "Spectral Cross Talk" (Table 3), as well.



		False Receiving Channel				
Channel		475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel	475/520	-	3.0	0.0	0.0	0.0
	530/565	1.0	-	0.0	0.0	0.0
	585/630	0.0	0.0	-	0.0	0.0
	630/665	0.0	0.0	0.0	-	0.0
	680/715	0.0	0.0	0.0	0.0	-

Table 3. Spectral cross-talk parameters.

10) In “Test Steps” tab, enter the PCR protocol (Table 4).

Step Name	Profile Type	Cycles	Time (s)	Temperature	Detect
Reverse transcription	Hold	1	900	45°C	-
Initial denaturation	Hold	1	120	98°C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection)	2-Temperature	45	10	95°C	-
			61.1	63°C	✓

Table 4. PCR protocol.

11) Click the “Save Test” button.

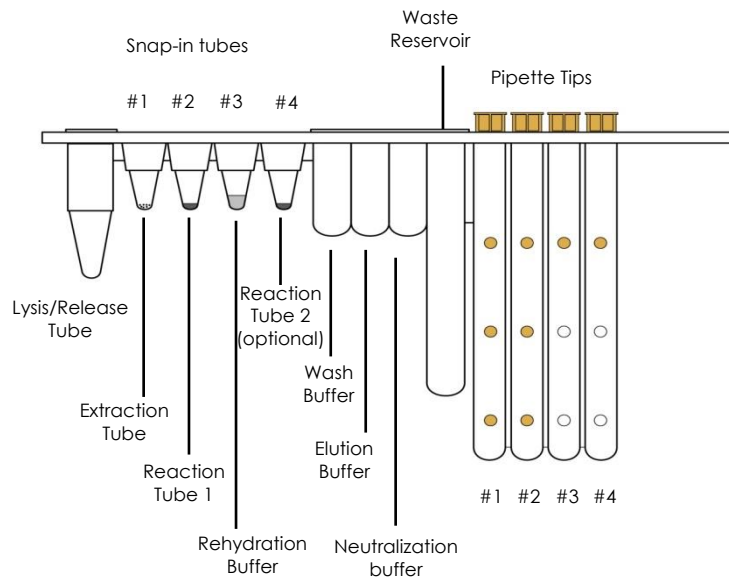
8.3.2. BD MAX™ Rack set up

- 1) For each sample to be tested, remove one Unitized Reagent Strips from the BD MAX™ ExK TNA-3 kit. Gently tap each strip onto a hard surface to ensure that all the liquids are at the bottom of the tubes and load on the BD MAX™ System sample racks.
- 2) Remove the required number of BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (B4) (white foil) from their protective pouch. Snap the Extraction Tube(s) (white foil) into its corresponding positions in the TNA strip (Snap position 1, white color coding on the rack. See Figure 1). Remove excess air, and close pouch with the zip seal.
- 3) Determine and separate the appropriate number of VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) reaction tubes (green or 1G foil) and snap into their corresponding positions in the strip (Snap position 2, green color coding on the rack. See Figure 1).
 - a. Remove excess air, and close aluminum pouches with the zip seal.
 - b. In order to carry out a correct rehydration, please make sure that the lyophilized product is in the bottom of the tube and is not adhered to the top area of the tube or to the foil seal. Gently tap each tube on a hard surface to make sure all the product is at the bottom of the tube.
 - i. Note: If you choose the format “Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)” (Section 8.3.1), determine and separate the appropriate number of additional VIASURE reaction tubes (different foil) and snap into their corresponding positions in the strip (Snap position 4, blue color coding on the rack. See Figure 1). Remove excess air, and close aluminum pouches with the zip seal.



- 4) Remove the required number of Rehydration Buffer tubes (orange or 11 foil) and snap into their corresponding positions in the strip (Snap position 3, non-color coding on the rack. See Figure 1). Remove excess air, and close the pouch with the zip seal.
 - a. In order to ensure a correct transfer, please make sure that the liquid is in the bottom of the tube and is not adhered to the top area of the tube or to the foil seal. Gently tap each tube on a hard surface to make sure all the buffer is at the bottom of the tube.

Figure 1. BD MAX™ TNA Reagent Strip (TNA) from the BD MAX™ ExK TNA-3 kit.



8.3.3. BD MAX™ Instrument set up

- 1) Select the "Work List" tab on the "Run" screen of the BD MAX™ System software v4.50A or higher.
- 2) In the "Test" drop down menu, select VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) (if not already created see Section 8.3.1).
- 3) Select the appropriate kit lot number (found on the outer box of extraction kit used) from the pull down menu (optional).
- 4) Enter the Sample Buffer Tube identification number into the Sample tube window of the Worklist, either by scanning the barcode with the scanner or by manual entry.
- 5) Fill the Specimen/Patient ID and/or Accession window of the Worklist and click the "Save" button. Continue until all Sample Buffer Tubes are entered. Ensure that the specimen/patient ID and the Sample Buffer Tubes are accurately matched.
- 6) Place the prepared Sample Buffer Tube into the BD MAX™ Rack(s).
- 7) Load the rack(s) into the BD MAX™ System (Rack A is positioned on the left side of the BD MAX™ System and Rack B on the right side).
- 8) Place the required number of BD MAX™ PCR Cartridge(s) into the BD MAX™ System.
- 9) Close the BD MAX™ System door.
- 10) Click "Start Run" to begin the procedure.



8.3.4 BD MAX™ report

- 1) In main menu, click the "Results" button.
- 2) Either double click on your run in the list or press the "view button".
- 3) Click on "Print", select: "Run Details, Test Details and Plot..."
- 4) Click on "Print or Export button" on the "Run Reports" screen

9. Result interpretation

For a detailed description on how to analyze data, refer to the BD MAX™ System User's manual.

The analysis of the data is done by the BD MAX™ software according to the manufacturer's instructions. The BD MAX™ software reports Ct values and amplification curves for each detector channel of each sample tested in the following way:

- Ct value of 0 indicates that there was no Ct value calculated by the software with the specified Threshold (see Table 2). Amplification curve of the sample showing a "0" Ct value must be checked manually.
- Ct value of -1 indicates that no amplification process has occurred.
- Any other Ct value should be interpreted in correlation with the amplification curve and according to the sample interpretation guidelines outlined in Table 5.

Check Internal Control signal to verify the correct functioning of the amplification mix. In addition, check that there is no report of BD MAX™ System failure.

Results should be read and analyzed using the following table:



SARS-CoV-2 (N2 target) (475/520)	Endogenous Internal Control (530/565)	SARS-CoV-2 (N1 target) (630/665)	Interpretation
+	+/- ¹	+	SARS-CoV-2 N gene RNA Detected ¹
+ ²	+/- ¹	-	SARS-CoV-2 N gene RNA Detected ^{1,2}
-	+/- ¹	+ ²	SARS-CoV-2 N gene RNA Detected ^{1,2}
-	+ ³	-	SARS-CoV-2 N gene RNA Not Detected ³
-	- ³	-	Unresolved (UNR) Result obtained in the presence of inhibitors in the PCR reaction or when a general problem (not reported by an error code) with the sample processing and/or amplification steps occurs. ³
IND	IND	IND	Indeterminate assay result (IND). Due to BD MAX™ System failure. Assay result displayed in case of an instrument failure linked to an error code.
INC	INC	INC	Incomplete assay result (INC). Due to BD MAX™ System failure. Assay result displayed in case of failure to complete run.

Table 5. Sample interpretation

+: Amplification occurred

-: No amplification occurred

1 A sample is considered positive if the Ct value obtained is less than 40. The endogenous Internal Control (IC) may or may not show an amplification signal. Sometimes, the IC detection is not necessary because a high copy number of the target can cause preferential amplification of target-specific nucleic acids.

2 If only one target site of the N gene amplifies, verify the sigmoid shape of the curve and the intensity of fluorescence. In case of a doubtful interpretation, depending on the available material, it is also recommended to:

- re-extract and re-test another aliquot of the same specimen (if possible, increase sample volume to 750 µl) or,
- obtain a new specimen and re-test.

3 In the case of SARS-CoV-2 target sites negative, IC must show an amplification signal with Ct less than 35. The Ct value could be very variable due to the Endogenous Internal Control is a human housekeeping gene that should be present in all human nucleated cells in the original sample. If there is an absence of signal or Ct value ≥ 35 of the endogenous Internal Control, the result is considered as 'Unresolved', and retesting is required.

In case of a continued ambiguous result, it is recommended to review the instructions for use, the extraction process used by the user; to verify the correct performance of each RT-qPCR steps and review the parameters; and to check the sigmoid shape of the curve and the intensity of fluorescence.

The results of the test should be evaluated by a health care professional in the context of medical history, clinical symptoms and other diagnostic tests.



10. Limitations of the test

- The results of the test should be evaluated by a health care professional in the context of medical history, clinical symptoms and other diagnostic tests.
- Although this assay can be used with other types of samples it has been validated with nasopharyngeal/oropharyngeal swab collected in VTm.
- For good test performance, the lyophilized product should be at the bottom of the tube and not adhered to the top area of the tube or the foil seal. Gently tap each tube on a hard surface to make sure all the product is at the bottom of the tube.
- An appearance of the reaction mixture in stabilized format, normally found at the bottom of the tube, different from the usual one (without conical shape, inhomogeneous, smaller/larger in size and/or color different from whitish) does not alter the functionality of the test.
- The quality of the test depends on the quality of the sample; proper extracted nucleic acid from respiratory samples must be extracted.
- This test is a qualitative test and does not provide quantitative values or indicate the number of organisms present.
- Extremely low levels of target below the limit of detection might be detected, but results may not be reproducible.
- There is a possibility of false positive results due to cross-contamination by SARS-CoV-2, either samples containing high concentrations of target RNA or contamination due to PCR products from previous reactions.
- The specific primer and probe combinations for detection of conserved regions of *N* gene used in VIASURE SARS-CoV-2 (*N1* + *N2*) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System have been designed based on the US CDC assay for specific detection of SARS-CoV-2 by amplifying two unique regions of the *N* gene. They do not show significant combined homologies with the human genome, human microflora, SARS-CoV or other coronaviruses, which might result in predictable false positive.
- False Negative results may arise from several factors and their combinations, including:
 - Improper specimens' collection, transport, storage, and/or handling methods.
 - Improper processing procedures (including RNA extraction).
 - Degradation of the viral RNA during sample shipping/storage and/or processing.
 - Mutations or polymorphisms in primer or probe binding regions may affect detection of new or unknown SARS-CoV-2 variants.
 - A viral load in the specimen below the limit of detection for the assay.
 - The presence of RT-qPCR inhibitors or other types of interfering substances. The impacts of vaccines, antiviral therapeutics, antibiotics, chemotherapeutics or immunosuppressant drugs used to prevent COVID-19 or used during the treatment of the infection have not been evaluated.
 - Failure to follow instructions for use and the assay procedure.
- A single-target site amplification or even random positive results is suggestive of slightly different amplification yield of the target site of the *N* gene. Samples with low viral load might result in *N* single target amplification. In case of a doubt, it is recommended referring to a reference laboratory for further testing.



- Some samples may fail to exhibit *RNase P* amplification curves due to low human cell numbers in the original clinical sample. A negative IC signal does not preclude the presence of SARS-CoV-2 RNA in a clinical specimen.
- A positive test result does not necessarily indicate the presence of viable viruses and does not imply that these viruses are infectious or are the causative agents for clinical symptoms. However, a positive result is indicative of the presence of targets viral sequences (*N* genes).
- Negative results do not preclude SARS-CoV-2 infection and should not be used as the sole basis for treatment or other patient management decisions. Optimum specimen types and timing for peak viral levels during infections caused by SARS-CoV-2 have not been determined. The collection of multiple specimens (types and time points) from the same patient may be necessary to detect the virus.
- If diagnostic tests for other respiratory illnesses are negative and the patient's clinical presentation and epidemiological information suggest that SARS-CoV-2 infection is possible, then a false negative result should be considered, and a re-testing of the patient should be discussed.
- In the case of obtaining Unresolved, Indeterminate or Incomplete results using VIASURE SARS-CoV-2 (*N1 + N2*) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System retesting will be required. Unresolved results may be due to the presence of inhibitors in the sample or an incorrect rehydration of lyophilized reaction mix tube. If there is an instrument failure, Indeterminate or Incomplete results will be obtained.

11. Quality control

VIASURE SARS-CoV-2 (*N1 + N2*) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System contains an endogenous internal control (IC) in each reaction tube which confirms the correct performance of the technique.

12. Performance characteristics

12.1. Clinical sensitivity and specificity

The clinical performance of VIASURE SARS-CoV-2 (*N1 + N2*) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System was tested using 254 respiratory samples (nasopharyngeal swabs in Vircell Transport medium) from patients with clinical suspicion of COVID-19 disease or other similar respiratory diseases. The retrospective-comparative analysis was performed with VIASURE SARS-CoV-2 (*N1 + N2*) Real time PCR Kit for BD MAX™ System and these results were compared with those obtained with the clinical diagnosis performed with Simplexa™ COVID-19 Direct assay with discrepant analysis performed with the Charité protocol.

VIASURE SARS-CoV-2 (<i>N1 + N2</i>) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	Alternative RT-PCR assays		
		+	-
+	63	2*	65
-	0	189	189
Total	63	191	254

Table 6. Comparative results for SARS-CoV-2.

*Initial diagnose of one of the two samples was invalid and reported to the patient as positive for prevention and quarantine period.



VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real time PCR Kit for BD MAX™ System detected two positive samples that were not detected using Simplexa™ COVID-19 Direct assay and the Charité protocol.

The Positive Percent Agreement (PPA) and the Negative Percent Agreement (NPA) for VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR detection Kit for BD MAX™ System are >99% and 98%, respectively.

Results show high agreement to detect SARS-CoV-2 using VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

12.2. Analytical sensitivity

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System has a detection limit of ≥ 5 genome copies per reaction with a positive rate of $\geq 95\%$.

Figure 2. Dilution series of SARS-CoV-2 (N1 + N2) (9.9×10^4 - 9.9×10^0 and 5.0×10^0 genome copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (475/520 (FAM) channel).

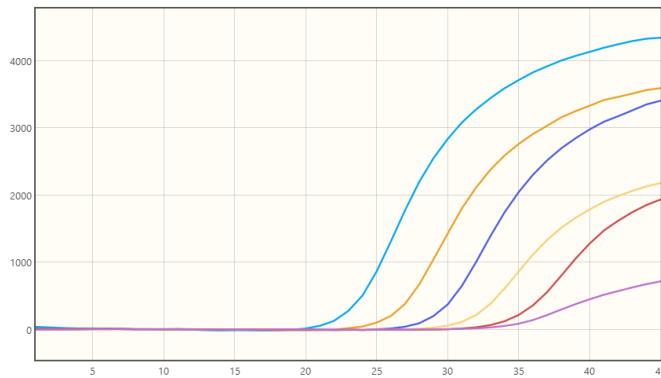
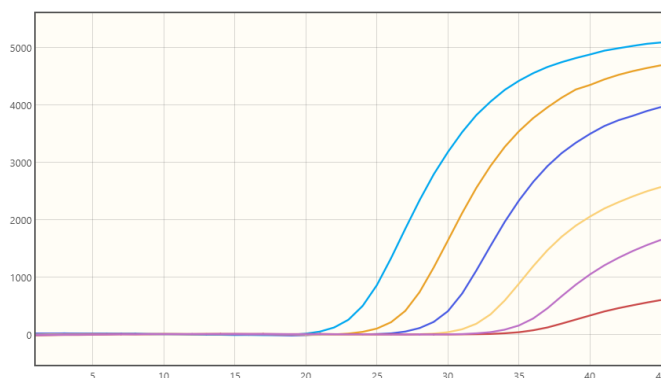


Figure 3. Dilution series of SARS-CoV-2 (N1 + N2) (9.9×10^4 - 9.9×10^0 and 5.0×10^0 genome copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (630/665 (Cy5) channel).



12.3. Analytical specificity

The specificity of the SARS-CoV-2 (N1 + N2) assay was confirmed by testing a panel consisting of different microorganisms representing the most common respiratory pathogens. No cross-reactivity was detected between any of the following microorganisms tested:



Cross-reactivity testing					
Human Adenovirus types 1-5, 8, 15, 31, 40 and 41	-	Influenza A/New Caledonia/20/99(H1N1) virus	-	<i>Legionella longbeachae</i>	-
Human Bocavirus	-	Influenza A/California/7/2009(H1N1)pdm09 virus	-	<i>Legionella micdadei</i>	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	-	Influenza A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09 virus	-	<i>Legionella pneumophila</i>	-
<i>Bordetella holmesii</i>	-	Influenza A/Singapore/GP1908/2015, IVR-180 (H1N1)pdm09 virus	-	Human metapneumovirus A and B	-
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	Influenza A/Victoria/210/2009 (H3N2) virus	-	<i>Moraxella catarrhalis</i>	-
<i>Bordetella pertussis</i>	-	Influenza A/Thüringen/5/2017 (H3N2) virus	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
<i>Chlamydia caviae</i>	-	Influenza A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2) virus	-	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> not rifampin resistant	-
<i>Chlamydia psittaci</i> genotype A and C	-	Influenza A/Hong Kong/4801/2014, NYMC X-263B (H3N2) virus	-	Human parainfluenza 1, 2, 3 and 4 viruses	-
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> CM-1	-	Influenza A/ South Australia/55/2014, IVR-175 (H3N2) virus	-	<i>Pneumocystis jirovecii</i> Type A1 and g885652	-
Human coronavirus 229E, OC43, NL63 and HKU1	-	Influenza A/DE-SH/Reiherente/AR8444/ 2016 (H5N8) virus	-	Human rhinovirus type C	-
MERS Coronavirus	-	Influenza A/Anhui/1/2013 (H7N9) virus	-	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	-
SARS Coronavirus Strain Frankfurt 1	-	Influenza B/Brisbane/60/2008 virus	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Enterovirus 68 and 71	-	Influenza B/Florida/04/06 virus	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i> Z022	-
Enterovirus Echovirus 11 and 30	-	Influenza B/Phuket/3073/2013 virus	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Enterovirus Coxsackievirus A24, A9 and B3	-	<i>Legionella bozemanii</i>	-	<i>Streptococcus salivarius</i>	-
<i>Haemophilus influenzae</i> MinnA	-	<i>Legionella dumoffii</i>	-	Respiratory syncytial virus (RSV) A and B	-

Table 7. Reference pathogenic microorganisms used in this study.

12.4. Analytical reactivity

The reactivity of VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System was evaluated against RNA from Human 2019-nCoV strain BetaCoV/Germany/BavPat1/2020 p.1, Human 2019-nCoV strain 2019-nCoV/Italy-INMI1, SARS-CoV-2 strain 2019nCoV/USA-WA1/2020, synthetic RNA controls for two variants of the SARS-CoV-2 virus: MT007544.1 (SARS-CoV2 isolate Australia/VIC01/2020) and MN908947.3 (SARS-CoV-2 isolate Wuhan-Hu-1), showing positive result.



NORSK

1. Tiltent bruk

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System er en automatisert RT-PCR test designet for i sanntid å kvalitativt detektere RNA fra SARS-CoV-2 i prøver, tatt av helsepersonell, fra luftveiene til individer med mistenkt COVID-19. Denne testen er ment å brukes som et hjelpemiddel i identifiseringen av forekomsten av SARS-CoV-2s virale RNA. Analysen bruker BD MAX™-systemet til automatisert ekstraksjon av RNA og påfølgende sanntids RT-PCR ved bruk av de medfølgende reagensene kombinert med universale reagenser og forbruksmateriell for BD MAX™-systemet. RNA ekstraheres fra luftveisprøver, forsterkes ved bruk av RT-PCR og påvises ved hjelp av fluorescerende reporterfargeprober som er spesifikke for SARS-CoV-2.

2. Sammendrag og forklaring

Koronavirus er kappekledd, ikke-segmenterte RNA-virus med positiv polaritet og tilhører *Coronaviridae*-familien [1,2]. Man kjenner til seks typer coronavirus som forårsaker sykdom hos mennesker [2]. Fire av virusene (229E, OC43, NL63 og HKU1) gir vanlige forkjølelssymptomer, og de andre to (severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) og Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV)) er zoonotiske og gir mer alvorlige komplikasjoner [2]. SARS-CoV og MERS-CoV har til sammen forårsaket mer enn 10 000 tilfeller i løpet av de siste tiårene, med mortalitetsrater på 34 % for MERS-CoV og 10 % for SARS-CoV [1,3].

Flere personer som jobbet på eller bodde rundt Huanan sjømatmarked i Wuhan i den kinesiske provinsen Hubei fikk i desember 2019 pneumoni med ukjent årsak [2,4]. Dypsekvenseringsanalyse av luftveisprøvene indikerte et nytt coronavirus, som først ble kalt "2019 nytt coronavirus" (2019-nCoV) og i den senere tid SARS-CoV-2 [5].

Overføring av SARS-CoV-2 mellom mennesker har blitt bekreftet, til og med under den symptomfrie inkubasjonsperioden, og viruset gir alvorlig luftveissykdom i likhet med de SARS-CoV forårsaket [1,6,7,8]. Selv om pneumoni er den sykdommen som hovedsakelig forbindes med viruset, har noen få pasienter utviklet alvorlig pneumoni, lungeødem, akutt lungesviktsyndrom eller flerorgansvikt og død [1,4]. Sentre for sykdomskontroll og forebygging (Centers of Disease Control and Prevention, CDC) tror at symptomene på SARS-CoV-2 kan opptre etter så lite som 2 dager eller så lenge som 14 dager etter eksponering, der de vanligste symptomene er feber eller frost rier, hoste, tretthet, anoreksi, myalgi og dyspné [1,4,6,9]. Mindre vanlige symptomer er sår hals, nese tetthet, hodepine, diaré, kvalme og oppkast [1,4]. Tap av luktesans (anosmia) eller tap av smaksans (ageusia) forut for luftveissymptomene er også rapportert [9]. Eldre voksne og mennesker med alvorlig underliggende sykdom som hjerte- eller lungesykdom eller diabetes, ser ut til å ha høyere risiko for å utvikle mer alvorlige komplikasjoner fra COVID-19 sykdom [10].

Diagnostisering av SARS-CoV-2 gjøres ved tidlig påvisning av konvensjonelle årsaker til pneumoni og påvisning via nestegenerasjons sekvensering eller sanntids RT-PCR-metoder [1,11]. Flere analyser som påviser SARS-CoV-2 har for tiden vært tilgjengelig, for eksempel kinesisk CDC (mål gener, *ORF1ab* and *N*), *Charité* – Tyskland (mål gener, *RdRP* and *E*) eller amerikansk CDC (to mål i *N* gen) [12].

CDC anbefaler penselprøver fra øvre luftveier (nasopharyngeal (NP) og oropharyngeal (OP), nasal mid-turbinate prøve, nasal prøve, nasopharyngeal skyll/aspirasjon eller nasal skyll/aspirasjon (NW) prøver hovedsakelig tatt av en



helsearbeider) og/eller prøver fra nedre luftveier (ekspektorat, endotracheal aspirasjon, eller bronko-alveolær lavage for pasienter med mer alvorlig luftveissykdom) for identifisering av SARS-CoV-2 [11]. I tillegg kan det innsamles andre kliniske prøver, som blod, urin og avføring, for å monitorere tilstedeværelse av viruset [11,12].

3. Grunnleggende prosedyre

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System er designet for identifikasjon av SARS-CoV-2 i luftveisprøver. Påvisningen utføres i et trinns, sanntids RT-PCR-format, der revers transkripsjon og påfølgende amplifikasjon av den spesifikke målsekvensen skjer i samme reaksjonsrør. Det isolerte RNA-målet transkriberes og genererer komplementært DNA via revers transkriptase. Deretter amplifiseres to konserverte områder av N-gen (N1 og N2) ved hjelp av spesifikke primere og en fluorescens merkede prober.

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System er basert på 5`-eksonuklease-aktiviteten til DNA-polymerase. Under DNA-amplifikasjon kløver dette enzymet proben som er bundet til den komplementære DNA-sekvensen, og skiller quencher-fargen fra reporterfargen. Denne reaksjonen genererer en økning i fluorescenssignalet som er proporsjonal med kvantiteten av målmalen. Denne fluorescensen måles av BD MAX™-systemet.

Hvert rør i VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System inneholder alle komponenter som behøves for sanntids PCR-analyse (spesifikke primere/prober, dNTP-er, buffer, polymerase, revers transkriptase) i et stabilisert format, samt en endogen intern kontroll til monitorering av ekstraksjons prosessen og/eller hemming av polymerase aktiviteten. Analysen benytter et humant vedlikeholds-gen som en endogen intern kontroll (IC) (humant *Rnase P* gen) Humane vedlikeholds-gener er involvert i grunnleggende cellevedlikehold og er derfor forventet å eksistere i alle nukleære humane celler og opprettholde relativt konstant genuttrykksnivå. N2-målet amplifiseres og påvises i kanal 475/520, N1 målet i kanal 630/665 og den endogene interne kontrollen (IC) i kanal 530/565.

4. Reagenser som følger med

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System inkluderer følgende materialer og reagenser, nærmere beskrevet i tabell 1:

Referanse	Reagens/Materiale	Beskrivelse	Farge/Strekkode	Mengde
VS-NCO312	SARS-CoV-2 (N1 + N2) reaction tube	En blanding av enzymer, primere, prober, buffere, dNTP-er, stabilisatorer og endogen intern kontroll i et stabilisert format	Gjennomsiktig Grønn eller 1G folie	2 poser à 12 rør
VS-RB09	Rehydration Buffer tube	Løsning til rekonstituering av det stabiliserte produktet	Gjennomsiktig Oransje eller 11 folie	1 pose à 24 rør

Tabell 1. Reagenser og materialer til rådighet i VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System med Cat. N°. VS-NCO324 (444215).



5. Reagenser og utstyr som må skaffes av brukeren

Følgende liste inneholder materialene og utstyret som kreves til bruken, men som ikke er inkludert i VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

- Sanntids PCR-instrument: BD MAX™-system.
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442827 or 442828)
- BD MAX™ PCR Cartridges (Ref: 437519)
- Vortex.
- Mikropipetter (nøyaktighet mellom 2 og 1000 µl)
- Filterspisser
- Puddorfri engangshansker

6. Transport- og lagringsforhold

- Settene kan sendes og oppbevares ved 2–40 °C inntil utløpsdatoen som er angitt på etiketten.
- Etter at aluminiums posene med reaksjonsrørene er åpnet, kan disse brukes i opptil 28 dager.

7. Forholdsregler for brukere

- Produktet er kun ment å brukes av fagpersonell, f.eks. laboratorie- eller helsepersonell og teknikere, som er opplært i molekylære biologiske teknikker.
- Til diagnostisk bruk *in vitro*.
- Ikke bruk reagenser og/eller materialer som er gått ut på dato.
- Ikke bruk settet hvis etiketten som forseglar ytteresken er brutt.
- Ikke bruk reagenser hvis beskyttelsesesken er åpen eller revnet ved levering.
- Ikke bruk reagenser hvis beskyttelsesposene er åpne eller revnet ved levering.
- Ikke bruk reagenser hvis reagensposene ikke har tørkemiddel eller hvis tørkemiddelet er ødelagt.
- Ikke fjern tørkemiddelet fra reagensposene.
- Beskyttelsesposene til reagensene skal lukkes med lynlåsen umiddelbart etter hver bruk. Fjern all overflødig luft i posene før de forsegles.
- Må ikke brukes hvis folien er revnet eller ødelagt.
- Ikke bland reagenser fra forskjellige poser og/eller sett og/eller loter.
- Beskytt reagenser fra fuktighet. Langvarig eksponering for fuktighet kan påvirke produktytelsen.
- Oppbevar komponentene beskyttet mot lys.
- I tilfeller der andre PCR-tester utføres i det samme generelle området av laboratoriet, må det utvises forsiktighet for å unngå kontaminering av VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, BD MAX™ ExK™ TNA-3-extraction kit, eventuelle andre reagenser som kreves for testing samt BD MAX™-systemet. Unngå til enhver tid at reagenser kontamineres med mikrober og ribonuklease (RNase)/deoksyribonuklease (DNase). Det anbefales bruk av sterile RNase/DNase-frie aerosolresistente eller "positive displacement" pipettespisser til engangsbruk. Bruk en ny pipettespiss for hver prøve. Du må skifte hansker før du håndterer reagenser og kassetter.



- For å unngå miljøkontaminering med amplikoner, må du ikke brette åpen BD MAX™ PCR Cartridge etter bruk. Forseglingene på BD MAX™ PCR Cartridge er designet for å unngå kontaminering.
- Benytt en enveis arbeidsflyt. Den skal starte i ekstraksjonsområdet og deretter gå videre til amplifikasjons- og påvisningsområdet. Prøver, utstyr og reagenser må ikke returneres til området der det forrige trinnet ble utført.
- Følg god laboratoriepraksis. Bruk verneklær, engangshansker, vernebriller og maske. Ikke spis, drikk eller røyk på arbeidsområdet. Vask hendene etter å ha fullført testen.
- Prøvene må behandles som potensielt smittefarlige, i likhet med alle reagenser og materialer som har blitt eksponert for prøvene, og må håndteres i henhold til nasjonale sikkerhetsregler. Ta nødvendige forholdsregler under innsamling, oppbevaring, behandling og kassering av prøver.
- Regelmessig dekontaminering av annet vanlig utstyr som brukes er anbefalt, spesielt mikropipetter og arbeidsflater.
- Konsulter brukerhåndboken for BD MAX™-systemet for ytterligere advarsler, forsiktighetsregler og prosedyrer.

8. Prosedyre

8.1. INNSAMLING, OPPBEVARING OG TRANSPORT AV PRØVER

The VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System er validert av nasopharyngeal / oropharyngealprøver sanket fra viraletransportmedia (VTM) Vircell S.L., Spain).

Andre typer prøver tatt fra nasofaryngeale/orofaryngeale prøvepensler i VTM må valideres av brukeren.

Innsamling, oppbevaring og transport av prøver skal utføres under de forhold som valideres av brukeren. Generelt skal luftveisprøver samles inn og merkes på egnet måte i rene beholdere med eller uten transportmedium (avhengig av prøvetypen) og behandles snarest mulig for å garantere kvaliteten av testen. Prøvene skal transporteres ved 2 til 8 °C i opptil 48 timer, i henhold til lokale og nasjonale regler for transport av patogen materiale. For langvarig transport (over 48 timer) anbefaler vi forsendelse ved ≤-20 °C. Det anbefales å bruke ferske prøver til testen. Prøvene kan oppbevares ved 2 til 8 °C i opptil 48 timer eller fryses ved -20 °C eller ideelt sett ved -70 °C for konservering. Gjentatte sykluser med frysing/tining bør unngås for å forhindre forringelse av prøven og nukleinsyrene.

8.2. KLARGJØRING AV PRØVER OG RNA-EKSTRAKSJON

Klargjør prøven i henhold til anbefalingene i bruksanvisningen for ekstraksjonssett som blir benyttet, BD MAX™ ExK™ TNA-3. Merk at enkelte andre prøver kan kreve forbehandling. Prosedyrer for klargjøring til ekstraksjon i samsvar med den spesifikke anvendelsen skal utvikles og valideres av brukeren.

1. Pipettér mellom 400 og 750 µl av den nasofaryngeale/orofaryngeale prøvepenselen samlet inn i virustransportmediumet (VTM) eller i BD™ Universal Viral Transport (UVT) System media ned i et BD MAX™ TNA-3 prøvebufferrør og lukk røret med en membranhet. Pass på å blande godt ved å bruke virvelblanding med høy hastighet i 1 minutt. Neste steg er BD MAX™-systemet.



8.3. PCR-PROTOKOLL

Merk: Se brukerhåndboken for BD MAX™-systemet for detaljerte instruksjoner.

8.3.1. Opprette PCR-testprogram for VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System

Merk: Hvis du allerede har opprettet testen for VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection, kan du hoppe over trinn 8.3.1 og gå direkte til 8.3.2.

- 1) Velg fanen "Test Editor" (Testredigering) på skjermen "Run" (Kjør) på BD MAX™-systemet.
- 2) Klikk på knappen "Create" (Opprett).
- 3) Skriv navnet på testen din i vinduet "Test Name" (Testens navn): f.eks. VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2).
- 4) På nedtrekksmenyen "Extraction Type" (Ekstraksjonstype), velg "ExK TNA-3".
- 5) På nedtrekksmenyen "Master Mix Format", velg "Type 5".
 - b. Merk: Produktet kan brukes i kombinasjon med en ytterligere VIASURE for BD MAX™-test. I så fall må du velge "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Dobbel mastermix konsentrert lyofilisert MM med rehydreringsbuffer (type 5)).
- 6) Under "Sample extraction parameters" (Prøveekstraksjonsparametere), velg "User defined" (Brukerdefinert) og tilpass prøvevolumet til 950 µl.
- 7) Under "Ct Calculation" (Ct-beregning), velg "Call Ct at Threshold Crossing" (Angi Ct ved terskelkryssing).
- 8) Oppgi følgende parametere i fanen "PCR settings" (PCR-innstillinger): "Channel Settings" (Kanalinnstillinger), "Gains" (Forsterkning) og "Threshold" (Terskel) (tabell 2).
 - a. Merk: Produktet kan brukes i kombinasjon med en ytterligere VIASURE for BD MAX™-test. I så fall må "PCR settings" (PCR-innstillinger) og "Test Steps" (Testtrinn) fylles ut for posisjon 2 (grønn) og posisjon 4 (blå).

Channel (Kanal)	Alias (Alias)	Gain (Forsterkning)	Threshold (Terskel)	Ct Min (Ct Min)	Ct Max (Ct Max)
475/520 (FAM)	SARS-CoV-2 N2 mål	80	150	0	40
530/565 (HEX)	Endogen IC	80	150	0	35
585/630 (ROX)	-	0	0	0	0
630/665 (Cy5)	SARS-CoV-2 N1 mål	80	150	0	40
680/715 (Cy5.5)	-	0	0	0	0

Tabell 2. PCR-innstillinger.

Merk: Det anbefales at man først stiller inn minimum terskelverdiene som er listet opp ovenfor for hver kanal, men de endelige innstillingene må bestemmes av sluttbrukeren under tolkningen av resultatene for å sikre at tersklene faller innenfor den eksponentielle fasen av fluorescenskurvene og over et eventuelt bakgrunnsignal. Terskelverdien for forskjellige instrumenter kan variere grunnet forskjellige signalintensiteter.



- 9) I fanen "PCR settings" (PCR-innstillinger) oppgir du i tillegg følgende parametere "Spectral Cross Talk" (Spektral krysstale) (tabell 3)

		False Receiving Channel (Kanal som mottar falske data)				
Channel (Kanal)		475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Eksitasjonskanal)	475/520	-	3,0	0,0	0,0	0,0
	530/565	1,0	-	0,0	0,0	0,0
	585/630	0,0	0,0	-	0,0	0,0
	630/665	0,0	0,0	0,0	-	0,0
	680/715	0,0	0,0	0,0	0,0	-

Tabell 3. Parametere for spektral krysstale.

- 10) I fanen "Test Steps" (Testtrinn) oppgir du PCR-protokollen (tabell 4).

Step Name (Navn på trinn)	Profile Type (Profiltype)	Cycles (Sykluser)	Time (s) (Tid)	Temperature (Temperatur)	Detect (Påvis)
Reverse transcription (Revers transkripsjon)	Vent	1	900	45°C	-
Initial denaturation (Innledende denaturering)	Vent	1	120	98°C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) Denaturering og herding/forlengelse (datainnsamling))	2 - Temperatur	45	10	95°C	-
			61,1	63°C	✓

Tabell 4. PCR-protokoll

- 11) Klikk på knappen "Save test" (Lagre test).

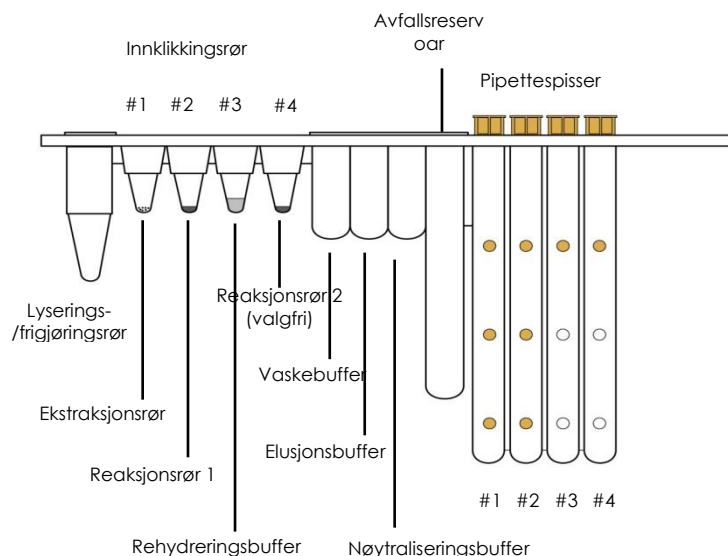
8.3.2. Sette opp BD MAX™-stativet

- For hver prøve som skal testes, ta ut en separat modulreagensstrimmel fra BD MAX™ ExK TNA-3-settet. Bank forsiktig hver strimmel mot en hard overflate for å sikre at alle væskene ligger i bunnen av rørene, og sett den i BD MAX™-systemets prøvestativ.
- Ta ut nødvendig antall BD MAX™ ExK™ TNA-ekstraksjonsrør (B4) (hvit folie) fra beskyttelses posen. Klikk ekstraksjonsrøret(ene) (hvit folie) på plass i deres respektive posisjoner i TNA-strimmelen (posisjon 1, hvit fargekode på stativet. Se figur 1.) Fjern overflødig luft og lukk posen med lynlåsen.
- Fastslå og adskill egnet antall VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) reaksjonsrør (grønn eller 1G folie), og klikk dem på plass i deres respektive posisjoner i strimmelen (posisjon 2, grønn fargekode på stativet. Se figur 1.)
 - Fjern overflødig luft og lukk aluminiumsposen med lynlåsen.
 - For riktig rehydrering må du passe på at det frysetørkede produktet er i bunnen av røret og ikke har festet seg til det øverste området av røret eller til folietetningen. Bank forsiktig hvert rør mot en hard overflate for å sikre at hele produktet er i bunnen av røret.



- i. Merk: Hvis du velger formatet "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Dobbel mastermix konsentrert lyofilisert MM med rehydreringsbuffer (type 5)) (avsnitt 8.3.1), må du fastslå og adskille egnet antall ekstra VIASURE-reaksjonsrør (forskjellig folie) og klikke dem på plass i deres respektive posisjoner i strimmelen (posisjon 4, blå fargekode på stativet. Se figur 1.) Fjern overflødig luft og lukk aluminiumsposen med lynlåsen.
- 4) Ta ut nødvendig antall Rehydration Buffer tubes (rehydreringsbufferrør) (oransje eller 11 folie) og klikk dem på plass i deres respektive posisjoner i strimmelen (posisjon 3, uten fargekode på stativet. Se figur 1.) Fjern overflødig luft og lukk posen med lynlåsen.
 - a. For å sikre riktig overføring må du passe på at væsken er i bunnen av røret og ikke har festet seg øverst i røret eller til folietetningen. Bank forsiktig hvert rør mot en hard overflate for å sikre at hele bufferen er i bunnen av røret.

Figur 1. BD MAX™ TNA reagensstrimmel (TNA) fra BD MAX™ ExK TNA-3-settet.



8.3.3. Sette opp BD MAX™-instrumentet

- 1) Velg fanen "Work List" (Arbeidsliste) på skjermen "Run" (Kjør) i BD MAX™-systemets programvare v4.50A eller nyere.
- 2) I nedtrekksmenyen "Test", velg VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) (hvis den ikke allerede er opprettet, se avsnitt 8.3.1).
- 3) Velg riktig lotnummer for settet (du finner det på ytteresken til ekstraksjonssettet som brukes) fra nedtrekksmenyen (valgfritt).
- 4) Oppgi ID-nummeret til prøvebufferrøret i vinduet "Sample Tube" (prøverør) i "Worklist" (Arbeidsliste), enten ved å skanne strekkoden eller ved å skrive det inn manuelt.
- 5) Fyll ut prøve-/pasient-ID og/eller vinduet "Accession" (Tilgang) i "Worklist" (Arbeidsliste) og klikk på knappen "Save" (Lagre). Fortsett helt til du har lagt inn alle prøvebufferrørene. Sørg for at prøve-/pasient-ID og prøvebufferrørene samsvarer.



- 6) Plasser det klargjorte prøvebufferrøret i BD MAX™-stativet(ene).
- 7) Plasser stativet(ene) i BD MAX™-systemet (Stativ A settes på venstre side av BD MAX™-systemet og stativ B settes på høyre side).
- 8) Plasser påkrevd antall BD MAX™ PCR Cartridge(s) i BD MAX™-systemet.
- 9) Lukk igjen døren på BD MAX™-systemet.
- 10) Klikk på "Start Run" (Start kjøring) for å begynne prosedyren.

8.3.4. BD MAX™-rapport

- 1) Gå til hovedmenyen og klikk på knappen "Results" (Resultater).
- 2) Enten dobbeltklikk på kjøringen din i listen eller trykk på knappen "View" (Vis).
- 3) Klikk på "Print" (Skriv ut), og velg: "Run Details, Test Details and Plot..." (Kjøringsdetaljer, testdetaljer og plott ...)
- 4) Klikk på knappen "Print or Export" (Skriv ut eller eksporter) på skjermen "Run Reports" (Kjøringsrapporter).

9. Tolkning av resultater

For en detaljert beskrivelse av hvordan man analyserer dataene, se brukerhåndboken for BD MAX™-systemet.

Dataanalysen utføres av BD MAX™-programvaren i henhold til produsentens instruksjoner. BD MAX™-programvaren rapporterer Ct-verdier og amplifikasjonskurver for hver detektorkanal for hver prøve som testes, på følgende måte:

- En Ct-verdi på 0 indikerer at programvaren ikke beregnet noen Ct-verdi med den angitte terskelen (se tabell 2).
En amplifikasjonskurve av prøven som viser en Ct-verdi på 0, må sjekkes manuelt.

En Ct-verdi på -1 indikerer at det ikke har funnet sted noen amplifikasjonsprosess.

Alle andre Ct-verdier må tolkes i sammenheng med amplifikasjonskurven og i henhold til retningslinjene for tolkning av prøver som er angitt i tabell 5.

Sjekk det interne kontrollsignalet for å kontrollere at amplifikasjonsblandingen fungerer som den skal. Sjekk også at det ikke finnes noen rapport om systemfeil i BD MAX™-systemet.

Bruk tabellen under til å lese av og analysere resultatene:



SARS-CoV-2 (N2 mål) (475/520)	Endogen Intern kontroll (530/565)	SARS-CoV-2 (N1 mål) (630/665)	Tolkning
+	+/- ¹	+	SARS-CoV-2 N-gen RNA påvist¹
+ ²	+/- ¹	-	SARS-CoV-2 N-gen RNA påvist^{1,2}
-	+/- ¹	+ ²	SARS-CoV-2 N gen RNA påvist^{1,2}
-	+ ³	-	SARS-CoV-2 N-gen RNA ikke påvist³
-	- ³	-	UNR = Uavklart resultat oppnådd på grunn av hemmere i PCR-reaksjonen eller når det oppstår et generelt problem (ikke rapportert av en feilkode) med prøvebehandlings- og/eller amplifikasjonsstrinn³.
IND	IND	IND	IND = Ubestemmelig analyseresultat. Skyldes systemfeil i BD MAX™. Analyseresultatet vises i tilfeller med instrumentfeil knyttet til en feilkode.
INC	INC	INC	INC = Ufullstendig analyseresultat. Skyldes systemfeil i BD MAX™. Analyseresultatet vises i tilfeller med ikke fullført kjøring.

Tabell 5. Tolkning av prøve

+: Amplifikasjon fant sted

-: Ingen amplifikasjon fant sted

1 En prøve anses som positiv hvis oppnådd Ct-verdi er under 40. Den endogene interne kontrollen (IC) kan i noen tilfeller gi et forsterket signal. IC deteksjonen er ikke alltid nødvendig fordi et høyt antall kopieringer av målet kan gi foretrukne forsterkninger av målspesifikke nukleinsyrer.

2 Hvis bare et målområde av N-genet forsterkes, bekreft sigdformen av kurven og intensiteten av fluorescensen. Ved en usikker tolkning, avhengig av tilgjengelig materiale, er det i tillegg anbefalt å:

- ekstraher og test på nytt en andel av det samme prøvematerialet (om mulig, øk prøvens volum til 750µl) eller,
- skaff en ny prøve og utfør testen på nytt.

3 Dersom SARS-CoV-2 målet er negativt, må IC vise et forsterkningsignal med Ct under 35. Fordi den endogene interne kontrollen er et vedlikeholds gen som normalt skal finnes i alle humane nukleotide celler i den originale prøven, kan Ct-verdien variere veldig. Ved fravær av signal eller en Ct verdi ≥ 35 i den endogene interne kontrollen, er resultatet å regne som uavklart og testen må utføres på nytt.

Ved vedvarende uklare resultat anbefales det å lese gjennom bruksanvisningen, bruk av ekstraksjons prosessen av brukeren; for å bekrefte riktig bruk av hvert RT-qPCR steg og revidere parametrene; samt kontrollere sigdformen på kurven og fluoriseringens intensitet.

Testresultatene skal evalueres av helsepersonell i sammenheng med syke historikk, kliniske symptomer og andre diagnostiske tester.



10. Testens begrensninger

- Testresultatene skal evalueres av helsepersonell i sammenheng med sykehistorikk, kliniske symptomer og andre diagnostiske tester.
- Selv om denne analysen kan brukes med andre typer prøver, har den blitt validert med nasofaryngeale/orofaryngeale prøvepensler samlet inn i VTM.
- Lyophilized produktene bør være i bunnen av røret, ikke klebe til toppområdet eller foliemembranen for en vellykket utførelse. Bank forsiktig hvert rør mot en hard overflate for å sikre at hele produktet er i bunnen av røret.
- Om reagensmiksturen er stabilisert, vanligvis i bunnen av røret, ulik den normale (uten konisk form, ikke homogen, mindre/større og/eller har en annen farge en hvitaktig) endrer ikke det prøvens funksjonalitet.
- Kvaliteten på testen avhenger av kvaliteten på prøven; nukleinsyre må ekstraheres på riktig måte fra luftveisprøver.
- Prøven er en kvalitativ test og gir ingen kvantitative verdier eller indikerer mengden av organismer i prøven.
- Ekstremt lave målenivåer som ligger under påvisningsgrensen vil muligens bli påvist, men resultatene vil ikke kunne reproduseres.
- Det finnes en mulighet for falske positive resultater grunnet krysskontaminering av SARS-CoV-2, enten prøver som inneholder høye konsentrasjoner av mål-RNA eller kontaminering grunnet PCR-produkter fra tidligere reaksjoner.
- De spesifikke primer- og probekombinasjonene for påvisning av konserverte områder av *N*-genet brukt i VIASURE SARS-CoV-2 (*N1* + *N2*) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System er beregnet fra den amerikanske CDC analysen for spesifikk påvisning av SARS-CoV-2 ved å forsterke to unike områder av *N* genet. De viser ikke vesentlig homologe kombinasjoner med det humane genom, human mikroflora, SARS-CoV eller andre koronavirus, noe som kan gi forutsigbare falske positive resultater.
- Falske negative resultat kan komme av flere faktorer og deres kombinasjoner, inkludert:
 - Feilaktig innhenting av prøvemateriale, transport, oppbevaring, og/eller håndtering.
 - Feilaktig prosedyrebehandling (inkludert RNA ekstraksjon).
 - Nedbrytning av viralt RNA gjennom transport/ oppbevaring og/eller behandling av prøvematerialet.
 - Mutasjon eller polymorfisme i primer eller probe bindingområder kan påvirke oppdagelsen av nye eller ukjente SARS-CoV-2 varianter.
 - En virusmengde i prøvematerialet under grensen for deteksjon i analysen.
 - Forekomst av RT-qPCR inhibitorer eller andre typer forstyrrende substanser. Påvirkning fra vaksiner, antivirale legemidler, antibiotika, kjemoterapeutika og immunsuppressive legemidler brukt til å forhindre COVID-19 eller brukt til behandling av infeksjonen, har ikke blitt evaluert.
 - Instruksjonene for bruk og analyseprosedyren blir ikke fulgt.
- Amplifikasjon av et enkelt mål eller selv tilfeldige positive resultat antyder små variasjoner i amplifikasjonsutbytte av målområdet på *N*-genet. Prøver med lite virus kan resultere i *N* enkelt mål amplifikasjon. I tvilstilfeller anbefales det å henvise til et referanselaboratorium for videre testing.
- Noen prøver vil ikke vise *Rnase P* amplifikasjonskurver på grunn av få humane celler i den opprinnelige kliniske prøven. Et negativt IC signal utelukker ikke tilstedeværelse av RNA fra SARS-CoV-2-virus i en klinisk prøve.



- En positiv test indikerer ikke nødvendigvis levedyktige virus og antyder ikke at virusene er infeksjose eller at de er bakenforliggende årsak til kliniske symptom. Men, en positiv test indikerer tilstedeværelsen av målets virale sekvens (N-genene).
- Negative resultater utelukker ikke infeksjon med SARS-CoV-2 og bør ikke brukes som det eneste grunnlaget for behandling eller andre bestemmelser relatert til håndtering av pasienter. Optimale prøvetyper og tiden for høyeste virusnivå under infeksjoner forårsaket av SARS-CoV-2 har ikke blitt fastslått. Innsamling av flere prøver (typer og tidspunkter) fra samme pasient kan være nødvendig for å påvise viruset.
- Dersom diagnostiske tester for andre respiratoriske sykdommer er negative og pasientens kliniske symptomer og epidemiologiske informasjon antyder en mulighet for infeksjon med SARS-CoV-2, bør et falskt negativ resultat vurderes og en ny testing av pasienten bør diskuteres.
- I tilfelle av uavklarte, ubestemte eller ufullstendige resultater ved bruk av VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, må testen gjentas. Uavklarte resultater kan skyldes tilstedeværelse av hemmere i prøven eller en ukorrekt rehydrering av røret med lyofilisert reaksjonsblanding. Hvis det oppstår instrumentsvikt, vil resultatene som oppnås være ubestemte eller ufullstendige.

11. Kvalitetskontroll

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System inneholder en endogen intern kontroll (IC) i hvert reaksjonsrør som bekrefter at teknikken fungerer som den skal.

12. Ytelseegenskaper

12.1. Klinisk sensitivitet og spesifisitet

Den kliniske ytelsen til VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System ble testet med 254 luftveisprøver (nasopharyngeal prøvepensler i Vircell transportmedium) fra pasienter med klinisk mistanke på COVID-19 sykdom eller andre lignende luftveissykdommer. Den retrospektive komparative analysen ble utført med VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System og disse resultatene ble sammenlignet med resultatene fra den kliniske diagnosen utført med Simplexa™ COVID-19 Direct analyse med avvik fra analysen utført med Charité-protokollen.

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	Alternative RT-PCR analyser		
		+	-
+	63	2*	65
-	0	189	189
Totalt	63	191	254

Tabell 6. Komparative resultat for SARS-CoV-2.

*Innledende diagnose av en av de to prøvene var ugyldig og rapportert til pasienten som positiv for forebygging og karanteneperiode.

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System oppdaget to positive prøver som ikke ble oppdaget ved bruk av Simplexa™ COVID-19 Direct analysen og Charité protokollen.



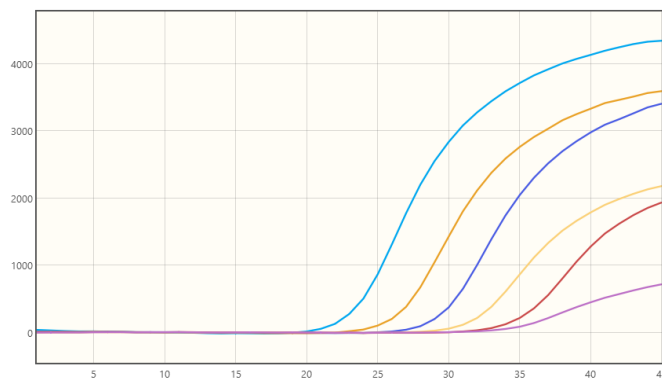
Den positive samsvarsprosenten (PPA) og den negative samsvarsprosenten (NPA) for VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System er >99% og henholdsvis 98%.

Resultatene viser høyt samsvar med oppdagelse SARS-CoV-2 ved bruk av VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

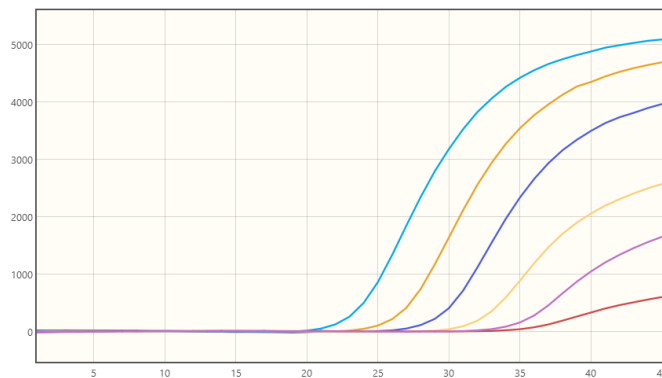
12.2. Analytisk sensitivitet

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System har en påvisningsgrense på ≥ 5 genom-kopier per reaksjon med en positiv rate på ≥ 95 %.

Figur 2. Fortynningsserien av SARS-CoV-2 (N1 + N2) ($9.9 \cdot 10^4$ - $9.9 \cdot 10^0$ and $5.0 \cdot 10^0$ genom-kopier per reaksjon) med mal kjørt på BD MAX™-systemet (475/520 (FAM) kanal).



Figur 3. Fortynningsserie av SARS-CoV-2 (N1 + N2) ($9.9 \cdot 10^4$ - $9.9 \cdot 10^0$ and $5.0 \cdot 10^0$ genom-kopier per reaksjon) med mal kjørt på BD MAX™-systemet (630/665 (Cy5) kanal).



12.3. Analytisk spesifisitet

Spesifisitet for analyse av SARS-CoV-2 (N1 + N2) ble bekreftet ved testing av et panel bestående av forskjellige mikroorganismer som representerte de vanligste luftveispatoгенene. Ingen kryssreaktivitet ble påvist mellom noen av de følgende testede mikroorganismene:



Test av kryssreaktivitet					
Humant adenovirus, type 1–5, 8, 15, 31, 40 og 41	-	Influenzavirus A/New Caledonia/20/99(H1N1)	-	<i>Legionella longbeachae</i>	-
Humant bocavirus	-	Influenzavirus A/California/7/2009(H1N1)pdm09	-	<i>Legionella micdadei</i>	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	-	Influenzavirus A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09	-	<i>Legionella pneumophila</i>	-
<i>Bordetella holmesii</i>	-	Influenzavirus A/Singapore/GP1908/2015, IVR-180 (H1N1)pdm09	-	Humant metapneumovirus A og B	-
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	Influenzavirus A/Victoria/210/2009 (H3N2)	-	<i>Moraxella catarrhalis</i>	-
<i>Bordetella pertussis</i>	-	Influenzavirus A/Thüringen/5/2017 (H3N2)	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
<i>Chlamydia caviae</i>	-	Influenzavirus A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2)	-	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> ikke rifampin-resistent	-
<i>Chlamydia psittaci</i> genotype A og C	-	Influenzavirus A/Hong Kong/4801/2014, NYMC X-263B (H3N2)	-	Humant parainfluenzavirus 1, 2, 3 og 4	-
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> CM-1	-	Influenzavirus A/ South Australia/55/2014, IVR-175 (H3N2)	-	<i>Pneumocystis jirovecii</i> Type A1 og g885652	-
Humant coronavirus 229E, OC43, NL63 og HKU1	-	Influenzavirus A/DE-SH/Reiherente/AR8444/ 2016 (H5N8)	-	Humant rhinovirus type C	-
MERS Coronavirus	-	Influenzavirus A/Anhui/1/2013 (H7N9)	-	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. aureus	-
SARS Coronavirus stamme Frankfurt 1	-	Influenzavirus B/Brisbane/60/2008	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Enterovirus 68 og 71	-	Influenzavirus B/Florida/04/06	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i> Z022	-
Enterovirus 11 og 30	-	Influenzavirus B/Phuket/3073/2013	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Enterovirus Coxsackievirus A24, A9 og B3	-	<i>Legionella bozemanii</i>	-	<i>Streptococcus salivarius</i>	-
<i>Haemophilus influenzae</i> MinnA	-	<i>Legionella dumoffii</i>	-	Respiratorisk syncytialt virus (RSV) A og B	-

Tabell 7. Patogen mikroorganisme benyttet som referanse i denne studien.

12.4. Analytisk reaktivitet

Reaktiviteten til VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System ble evaluert i forhold til RNA fra Human 2019-nCoV-stammen BetaCoV/Germany/BavPat1/2020 p.1, Human 2019-nCoV-stammen 2019-nCoV/Italy-INMI1, SARS-CoV-2-stammen 2019Cov/USA-WA1/2020 syntetiske RNA-kontroller for to varianter av SARS-CoV-2-viruset: MT007544.1 (SARS-CoV2-isolat Australia/VIC01/2020) og MN908947.3 (SARS-CoV-2-isolat Wuhan-Hu-1), med positivt resultat.

13. Bibliography/ Bibliografi










- Huang, C. *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 2020. DOI : 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
- Zhu N. *et al.* A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine.*, 2020. DOI : 10.1056/NEJMoa2001017.
- World Health Organization. MERS situation update. January 2020. Available from <https://applications.emro.who.int/docs/EMCSR254E.pdf?ua=1> Accessed September 2020.
- Chen N. *et al.* Epidemiological and Clinical Characteristics of 99 Cases of 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Pneumonia in Wuhan, China. *The Lancet*, 2020. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.



5. Lv D.F. *et al.* Dynamic change process of target genes by RT-PCR testing of SARS-Cov-2 during the course of a Coronavirus Disease 2019 patient. *Clinica Chimica Acta* 2020; 506: 172-175.
6. World Health Organization. Clinical management of COVID-19 disease" Interim guidance 27 May 2020. Available from <https://www.who.int/publications/i/item/clinical-management-of-covid-19> Accessed September 2020.
7. Lu R. *et al.* Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*, 2020. DOI : 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
8. Rothe C. *et al.* Transmission of 2019-nCoV Infection from an Asymptomatic Contact in Germany. *New England Journal of Medicine*, 2020. DOI : 10.1056/NEJMc2001468.
9. Centers of Disease Control and Prevention (CDC). Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), Symptoms of Coronavirus. Available from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/about/symptoms.html> Accessed September 2020.
10. Centers of Disease Control and Prevention (CDC). Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), Older Adults. Available from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/need-extra-precautions/older-adults.html> Accessed September 2020.
11. World Health Organization. Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases. Interim guidance. 19 March 2020. Available from <https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117> Accessed September 2020.
12. Yan Y *et al.* Laboratory testing of SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2 (2019-nCoV): Current status, challenges, and countermeasures. *Reviews in Medical Virology* 2020; 30(3):e2106.
13. Centers of Disease Control and Prevention (CDC). 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-time rRT-PCR Panel Primers and Probes. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/downloads/rt-pcr-panel-primer-probes.pdf> Accessed September 2020.
14. Chu D.K.W. *et al.* Molecular Diagnosis of a Novel Coronavirus (2019-nCoV) Causing an Outbreak of Pneumonia. *Clinical Chemistry* 2020;66(4): 549-555.
15. Corman V.M. *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *European communicable disease bulletin* 2020;25(3).
16. European Centre for Disease Prevention and Control. Novel coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: increased transmission in the EU/EEA and the UK – sixth update – 12 March 2020. Stockholm: ECDC; 2020. Available from <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/RRA-sixth-update-Outbreak-of-novel-coronavirus-disease-2019-COVID-19.pdf> Accessed September 2020.
17. Lim, Y. X., Ng, Y. L., Tam, J. P., & Liu, D. X. (2016). Human coronaviruses: a review of virus–host interactions. *Diseases*, 4(3), 26.
18. McBride R. *et al.* The coronavirus nucleocapsid is a multifunctional protein. *Viruses* 2014; 6(8):2991-3018.
19. Sheikh A. *et al.* Analysis of preferred codon usage in the coronavirus N genes and their implications for genome evolution and vaccine design. *Journal of Virological Methods* 2020; 277:113806.
20. World Health Organization. Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19: interim guidance Interim guidance. 21 March 2020. Available from <https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-testing-strategy-recommendations-for-covid-19-interim-guidance> Accessed September 2020.



14. Symbols for IVD components and reagents/ Symboler for IVD-komponenter og reagenser

	<p><i>In vitro</i> diagnostic device In vitro-diagnostisk enhet</p>		<p>Keep dry Holdes tørr</p>		<p>Use by Brukes innen</p>		<p>Manufacturer Produsent</p>		<p>Batch code (Lot) Partikode (lot)</p>
	<p>Consult Instructions for Use Les instruksjonene før bruk</p>		<p>Temperature limitation Temperaturgrenser</p>		<p>Contains sufficient for <n> test Inneholder nok til <n> tester</p>	DIL	<p>Sample diluent Prøvediluent</p>		<p>Catalognumber Katalognummer</p>

BD MAX™ is a registered trademark of Becton, Dickinson and Company.









CerTest Biotec, S.L.

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



VIASURE online

F-362 rev01

VIASURE



Real Time PCR Detection Kits

CerTest
BIOTEC