

VIASURE

Real Time PCR Detection Kit



SARS-CoV-2 (N1 + N2)
for BD MAX™ System

CE IVD



These instructions for use apply to the following reference / Diese Gebrauchsanweisung gilt für die folgende Referenz:

PRODUCT / PRODUKT	REFERENCE / REFERENZ
VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	444215 / VS-NCO324

Table A 1. Reference for product to be used with the BD MAX™ System. / Referenz für das Produkt, das mit dem BD MAX™ System verwendet werden soll.

Content

1.	Intended use.....	5
2.	Summary and Explanation	5
3.	Principle of the procedure	6
4.	Reagents provided	6
5.	Reagents and equipment to be supplied by the user	7
6.	Transport and storage conditions.....	7
7.	Precautions for users	7
8.	Test procedure	8
8.1.	Sample collection, storage and transport.....	8
8.2.	Sample preparation and RNA extraction.....	9
8.3.	PCR protocol	9
9.	Result interpretation	13
10.	Limitations of the test	14
11.	Quality control.....	15
12.	Performance characteristics.....	15
12.1.	Clinical sensitivity and specificity.....	15
12.2.	Analytical sensitivity	17
12.3.	Analytical specificity	18
12.4.	Analytical reactivity	18

Inhalt

1.	Verwendungszweck.....	19
2.	Zusammenfassung und Erläuterung	19
3.	Verfahrensprinzip.....	20
4.	Bereitgestellte Reagenzien.....	21
5.	Vom Benutzer bereitzustellende Reagenzien und Ausrüstung	21
6.	Transport- und Lagerbedingungen	21
7.	Sicherheitshinweise für den Benutzer	21
8.	Testverfahren	23
8.1.	Probenentnahme, -Lagerung und -Transport	23
8.2.	Probenvorbereitung und RNA-extraktion	23

8.3.	PCR-Protokoll	24
9.	Ergebnisinterpretation.....	28
10.	Grenzen des Tests.....	30
11.	Qualitätskontrolle	31
12.	Leistungsmerkmale.....	31
12.1.	Klinische Empfindlichkeit und Spezifität	31
12.2.	Analytische Empfindlichkeit	33
12.3.	Analytische Spezifität	34
12.4.	Analytische Reaktivität	34
	Bibliography/ Literaturverzeichnis	35
	Symbols for IVD components and reagents/ Symbole auf IVD-Komponenten und Reagenzien	36
	Trademarks.....	36

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 nasopharyngeal/oropharyngeal swab and saliva samples from individuals suspected of Coronavirus disease 2019 (COVID-19) by their healthcare professional (HCP). This test is intended to be used as an aid in the diagnosis of COVID-19 in combination with clinical and epidemiological risk factors. 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 specimens, and complementary DNA (cDNA) is synthesized and 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 COVID-19 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 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) and saliva

specimens collected mainly by a healthcare professional) 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 qualitative detection of RNA from SARS-CoV-2 in nasopharyngeal/oropharyngeal swabs and saliva 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.

Target	Channel	Gene
SARS-CoV-2	475/520	N gene (N2 region)
SARS-CoV-2	630/665	N gene (N1 region)
Endogenous Internal Control (IC)	530/565	human <i>RNase P</i> gene

Table 1. Target, channel and genes.

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 2:

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

Table 2. 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. Always avoid microbial and ribonuclease (RNase)/deoxyribonuclease (DNase) contamination of reagents. 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 (BD MAX™ PCR Cartridge).
- 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, smoke or apply cosmetic products in the working area. Wash your hands after finishing the test.
- Samples must be treated as potentially infectious and/or biohazardous, 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, transport, storage, handling, and disposal of samples.
- Samples and reagents must be handled in a biological safety cabinet. Use personal protective equipment (PPE) consistent with current guidelines for the handling of potentially infectious samples. Dispose of waste in compliance with local and state regulations.
- Regular decontamination of commonly used equipment is recommended, especially micropipettes and work surfaces.
- In accordance with Regulation (EC) No 1907/2006 (REACH), VIASURE Real Time PCR Detection Kits do not require Material Safety Data Sheets on account of their classification as non-hazardous to health and the environment, because they do not contain substances and/or mixtures which meet the hazard classification criteria available in Regulation (EC) No 1272/2008 (CLP), or which are in concentrations higher than the value established in the mentioned regulation for their declaration.
- Consult the BD MAX™ System User's Manual for additional warnings, precautions and procedures.

8. Test 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 tested on nasopharyngeal/ oropharyngeal swabs collected in viral transport media (VTM) (Viracell S.L., Spain); nasopharyngeal swabs collected in BD™ UVT System media, Virus transport and preservation medium (Biocomma®), UTM Viral transport (COPAN, Diagnostic Inc.), sterile transport medium (Deltalab®), Universal transport medium (UTM) and IMPROVIRAL™ Viral Preservative Medium (VPM) from Guangzhou Improve Medical Instruments Co. Ltd; and saliva samples collected in Viral Transport Medium (VTM), BD™ Universal Viral Transport (UVT) or IMPROVIRAL™ Viral Preservative Medium (VPM). Other types of samples must be validated by the user.

Collection, storage and transport of specimens should be maintained per the conditions validated by the user. Overall, respiratory and saliva 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 72 hours, following the local and national regulations for the transport of pathogen material. For long term transport (more than 72 hours), we recommend shipping at ≤-20°C or lower. It is recommended to use fresh specimens for the test. The samples can be stored at 2 to 8°C for up to 72 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.

The nasopharyngeal/oropharyngeal swabs and saliva specimens must be collected, transported and stored according to appropriate laboratory guidelines. For details, refer to the CDC guideline (Specimen collection

guidelines. Website <https://www.cdc.gov/urdo/downloads/SpecCollectionGuidelines.pdf> and Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens for COVID-19. Website <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html>) and the IDSA guideline (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt, B. S. (2018)). A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94).

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.

When using nasopharyngeal or oropharyngeal specimens:

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™ ExK™ 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.

In case of using saliva samples collected in transport media:

1. Saliva samples may be collected in Viral Transport Medium (VTM), BD™ Universal Viral Transport (UVT), or IMPROVIRAL™ Viral Preservative Medium (VPM) at a ratio of 1:3 (saliva:media). Vortex for 1 minute at high speed. Pipette 750 µL into a BD MAX™ ExK™ 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.

In case of using neat saliva samples:

1. Combine saliva with Viral Transport Medium (VTM), BD™ Universal Viral Transport (UVT), or IMPROVIRAL™ Viral Preservative Medium (VPM) so that the final ratio of saliva:media is 1:3. Vortex for 1 minute at high speed. Then pipette 750 µL into a BD MAX™ ExK™ 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 test for the VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, 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) If running software version 5.00 or higher, in the "Custom Barcodes" select the following configuration:
 - a. Snap-In 2 Barcode: 1G (concerning SARS-CoV-2 (N1 + N2) reaction tube).
 - b. Snap-In 3 Barcode: 11 (concerning Rehydration Buffer tube).
 - c. Snap-In 4 Barcode: another VIASURE reaction tube (different foil) if you choose the format "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Section 8.3.1).
- 9) In "PCR settings" tab enter the following parameters: "Channel Settings", "Gains" and "Threshold" (Table 3).
 - 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-In 2 (green) and Snap-In 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 3. 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.

- 10) In "PCR settings" tab enter the following parameters "Spectral Cross Talk" (Table 4), as well.

		False Receiving Channel				
		Channel	475/520	530/565	585/630	630/665
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 4. Spectral cross-talk parameters.

11) In "Test Steps" tab, enter the PCR protocol (Table 5).

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	✓

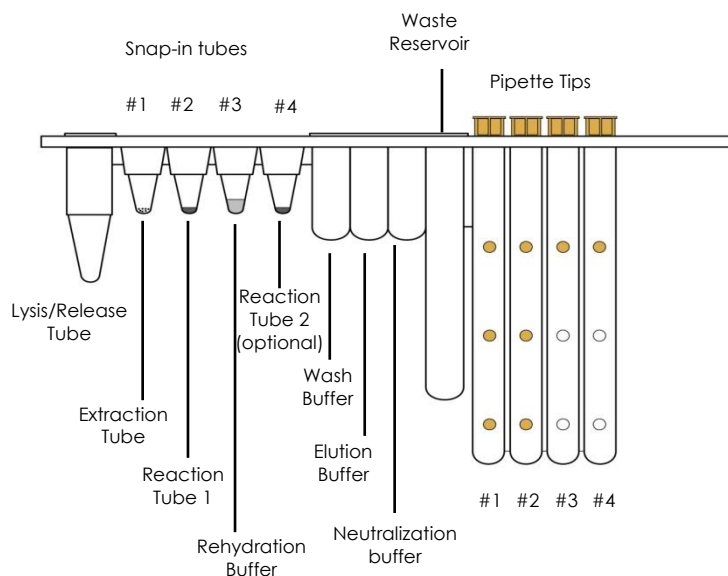
Table 5. PCR protocol.

12) 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 SARS-CoV-2 (N1 + N2) reaction tubes (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 (1I 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 Work List, either by scanning the barcode with the scanner or by manual entry.
- 5) Fill the Specimen/Patient ID and/or Accession window of the Work List 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 3). 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 6.

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 Detected³
-	- 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 6. 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:

- a) re-extract and re-test another aliquot of the same specimen (if possible, increase sample volume to 750 µl) or,
- b) 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 and oropharyngeal swabs and saliva samples, both 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 sites 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 if clinically indicated.
- 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 respiratory clinical samples (nasopharyngeal swabs and oropharyngeal swabs) from patients with suspected respiratory infection. The results were as follows:

	Site	Sample type	Workflow	Target
1	Hospital Universitario Miguel Servet (HUMS)	nasopharyngeal swab	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	SARS-CoV-2
2	"Servicio de Microbiología" of the Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (Santander, Spain)	nasopharyngeal swab	MagMAX™ Viral/Pathogen II (MVP II) Nucleic Acid Isolation Kit using the KingFisher Flex System instrument (ThermoFisher) + BD MAX™ System	SARS-CoV-2

Table 7. Site, sample type, workflow and target.

True positive and negative values, false positive and negative values, sensitivity, specificity values for VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System were calculated in relation to each comparator assay as shown in the following tables:

Site	Comparator assay	Target	TP	TN	FP	FN	Sensitivity	Specificity
1	Simplexa™ COVID-19 Direct assay	SARS-CoV-2	63	189	2	0	100% (94-100)	99% (96-99)
	Cobas® SARS-CoV-2 real time RT-PCR test	SARS-CoV-2	16	58	2	0	100% (79-100)	96% (88-99)
	Allplex™2019-nCoV Assay	SARS-CoV-2	71	75	0	0	100% (94-100)	100% (95-100)
2	TaqPath COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kit molecular assay + sequencing	SARS-CoV-2	99	0	0	0	100% (96-100)	n.a*

Table 8. True positive and negative values, false positive and negative values, sensitivity, specificity for VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

*Due to the fact that negative samples were not analyzed, the calculation of the specificity of the test could not be performed.

In order to evaluate the compatibility of different sample matrices (nasopharyngeal swab, oropharyngeal swab and nasopharyngeal/oropharyngeal swab in VTM from Vircell), a compatibility study have been carried out. The obtained results showed that the three different sample matrices were compatible with the SARS-CoV-2 (N1 + N2) reaction tube.

The performance of VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System with saliva samples was evaluated. Negative saliva single samples spiked with a known concentration of frozen quantified heat-inactivated culture 2019 Novel Coronavirus, Strain:2019-nCoV/USA-WA-1/2020 (ATCC-VR-1986HK) were tested. The evaluation was designed to be carried out with 30 positive samples (20 samples 2 times LoD (2xLoD), equivalent to 0.53 genome copies (GC)/μL, and 10 samples 5 times LoD (5xLoD) equivalent to 1.32 genome copies (GC)/μL) and 10 negative samples. This assay was performed using a 750 μl sample volume of each condition added in the Sample Buffer Tube (SBT) of the TNA-3 Extraction Kit and it was run in full process mode (Automated extraction and PCR amplification) using BD MAX™ ExK™ TNA-3.

The percentage of agreement was calculated in relation to the expected result for each individual sample and results are showed in the following table.

Saliva sample	Agreement
Positive sample (2xLoD)	97.5%
Positive sample (5xLoD)	100%
Negative sample	100%

Table 9. Percentage of agreement of VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System with saliva samples.

In conclusion, saliva samples were compatible with VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

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 on nasopharyngeal swabs and ≥ 10 genome copies per reaction on saliva samples with a positive rate of $\geq 95\%$.

Note: The detection limit on saliva samples has been calculated using a sample volume of 750 μ L (dilution 1:3 in VTM).

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).

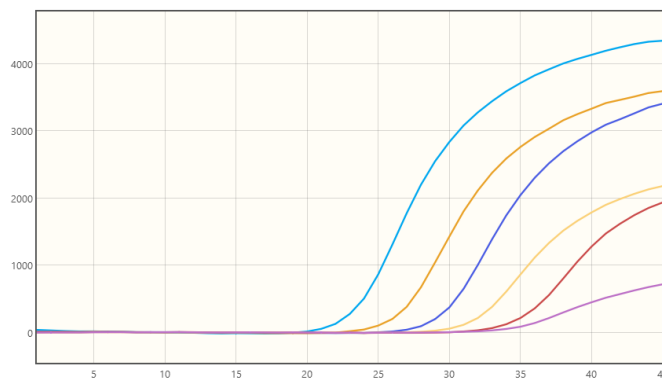
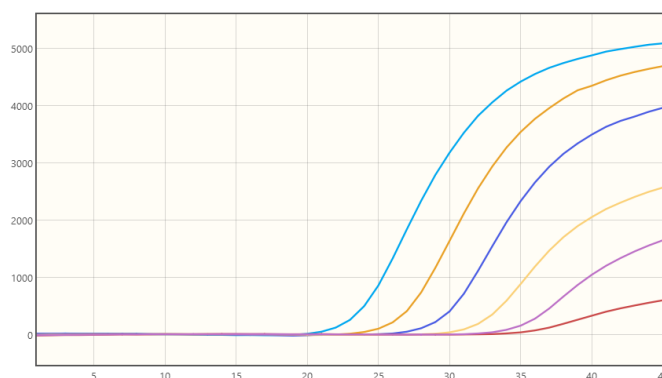


Figure 3. Dilution series of SARS-CoV-2 (N1 + N2) (9.9×10^4 - 9.9×10^0 and 5.0×10^0 genome copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (630/665 (Cy5) channel).



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 10. 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, SARS-CoV-2 strain BetaCoV/Berlin/ChVir1670/2020_IsolatBER, SARS-CoV-2 strain BetaCoV/Munich/ChVir984/2020, SARS-CoV-2 strain BetaCoV/Baden-Wuerttemberg/1/ChVir1577/2020_IsolatBER and synthetic RNA controls for four variants of the SARS-CoV-2 virus: SARS-CoV-2 isolate Australia/VIC01/2020, SARS-CoV-2 isolate Wuhan-Hu-1, B.1.1.7_710528 and B.1.1.7_601443, showing positive results.

DEUTSCH

1. Verwendungszweck

Der VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System ist ein automatisierter Echtzeit-RT-PCR-Kit, der zum qualitativen Nachweis von RNA des SARS-CoV-2 in nasopharyngealer/oropharyngealer Abstrich- und Speichelproben bei Personen mit Verdacht auf eine Coronavirus Disease (Coronavirus-Krankheit) 2019 (COVID-19) durch ihr medizinisches Fachpersonal. Dieser Test ist als Hilfsmittel für die Diagnose der COVID-19 in Kombination mit klinischen und epidemiologischen Risikofaktoren vorgesehen. Der Assay nutzt das BD MAX™ System zur automatisierten RNA-Extraktion und anschließenden Echtzeit-RT-PCR unter Verwendung der mitgelieferten Reagenzien in Kombination mit universellen Reagenzien und Einwegartikeln für das BD MAX™ Systems. Dazu wird RNA aus Proben extrahiert und komplementäre DNA (cDNA) synthetisiert. Diese wird durch RT-PCR amplifiziert und über Sonden mit einem fluoreszierenden Reporterfarbstoff, die spezifisch für SARS-CoV-2 sind, nachgewiesen.

2. Zusammenfassung und Erläuterung

Coronaviren sind behüllte RNA-Viren mit nicht-segmentiertem positivsträngigem Genom, die zur Familie *Coronaviridae* gehören [1,2]. Es sind sechs Coronavirus-Spezies bekannt, die beim Menschen Krankheiten verursachen [2]. Vier Viren (229E, OC43, NL63 und HKU1) lösen Symptome grippaler Infekte aus, die anderen beiden (das SARS-assoziierte Coronavirus (Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus, SARS-CoV) und das MERS-Coronavirus (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus, MERS-CoV)) sind zoonotische Viren und verursachen schwerwiegendere Komplikationen [2]. SARS-CoV und MERS-CoV haben in den letzten beiden Jahrzehnten zu mehr als 10.000 kumulativen Fällen geführt, wobei die Mortalitätsrate bei einer MERS-CoV-Infektion 34 % und bei einer SARS-CoV-Infektion 10 % betrug [1,3].

Im Dezember 2019 trat bei einigen Personen, die im Großhandelsmarkt Huanan für Meeresfrüchte in Wuhan in der Provinz Hubei, China, arbeiteten oder in dessen Umgebung wohnten, eine Lungenentzündung unbekannter Ursache auf [2,4]. Die Analyse der Atemwegsproben von Erkrankten durch Tiefensequenzierung wies auf ein neuartiges Coronavirus hin, das zunächst als „2019 neuartiges Coronavirus (2019-nCoV)“ und später als „SARS-CoV-2“ bezeichnet wurde [5].

Die Übertragung des SARS-CoV-2 von Mensch zu Mensch, selbst während der symptomlosen Inkubationszeit, wurde bestätigt. Das Virus verursacht eine schwere Atemwegserkrankung ähnlich der, die das SARS-CoV auslöst [1,6,7,8]. Die Lungenentzündung ist war die primäre mit dem Virus assoziierte Erkrankung, jedoch kam es bei einigen Patienten zu schwerer Pneumonie, Lungenödem, akutem Atemnotsyndrom, Multiorganversagen und zum Tod [1,4]. Laut den Centers of Disease Control and Prevention (CDC) können die Symptome einer SARS-CoV-2-Infektion bereits 2 Tage oder auch erst 14 Tage nach der Exposition auftreten, wobei die häufigsten Fieber oder Schüttelfrost, Husten, Müdigkeit, Anorexie, Muskelschmerzen und Atemnot sind [1,4,6,9]. Weniger häufige Symptome sind Halsschmerzen, Nasenverstopfung, Kopfschmerzen, Durchfall, Übelkeit und Erbrechen [1,4]. Ein Verlust des Geruchs- (Anosmie) oder Geschmackssinns (Ageusie), der dem Einsetzen der Atemwegssymptome vorausgeht, wurde ebenfalls beobachtet [9]. Bei älteren Erwachsenen oder Personen mit schweren Vorerkrankungen wie Herz- oder Lungenerkrankungen oder Diabetes scheint ein höheres Risiko für die Entwicklung schwererer Komplikationen infolge der Erkrankung an COVID-19 zu bestehen [10].

Die Diagnose einer COVID-19-Infektion erfolgt zunächst durch Abklärung der üblichen Ursachen einer Lungenentzündung sowie anschließenden Nachweis mittels Sequenzierung der nächsten Generation oder Real-Time-PCR-Methoden [1,11]. Derzeit sind verschiedene Tests zum Nachweis von SARS-CoV-2 verfügbar, darunter China CDC (Zielregionen: *ORF1ab* und *N*), Charité – Deutschland (Zielregionen: *RdRP* und *E*) oder US CDC (zwei Zielregionen im *N*-Gen) [12].

Die CDC empfehlen zur Identifikation von SARS-CoV-2 Proben aus den oberen Atemwegen (nasopharyngeale (NP) und oropharyngeale (OP) Abstriche, Abstriche der mittleren Nasenmuschel, Nasenabstriche, nasopharyngeale Spülungen/-aspirate oder Nasenspülungen/-aspirate (NW) und Speichelproben, gewonnen in der Regel durch eine medizinische Fachkraft) und/oder Proben aus den unteren Atemwegen (Sputum, endotracheales Aspirat oder bronchoalveoläre Lavage bei Patienten mit schwererer Atemwegserkrankung) [11]. Darüber hinaus können weitere klinische Proben wie Blut, Urin und Stuhl gesammelt werden, um das Vorliegen des Virus zu überwachen [11,12].

3. Verfahrensprinzip

Der VIASURE SARS-CoV-2 (*N1 + N2*) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System wurde für den qualitativen Nachweis von RNA des SARS-CoV-2 in nasopharyngealen/oropharyngealen Abstrich- sowie Speichelproben entwickelt. Der Nachweis erfolgt im Einschritt-Echtzeit-RT-PCR-Verfahren, bei dem die reverse Transkription und die anschließende Amplifikation der spezifischen Zielsequenz im selben Reaktionsgefäß stattfinden. Das isolierte RNA-Target wird durch Reverse Transkriptase in komplementäre DNA transkribiert, woraufhin die Amplifikation und der Nachweis zweier konservierter Regionen des *N*-Gens (*N1* und *N2*) mithilfe spezifischer Primer und fluoreszenzmarkierter Sonden erfolgen.

VIASURE SARS-CoV-2 (*N1 + N2*) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System nutzt die 5'-Exonuklease-Aktivität der DNA-Polymerase. Während der DNA-Amplifikation spaltet dieses Enzym die an die komplementäre DNA-Sequenz gebundene Sonde, wodurch der Quencher-Farbstoff vom Reporter getrennt wird. Diese Reaktion erzeugt eine zur Quantität des Ziel-Templates proportionale Steigerung des Fluoreszenzsignals. Diese Fluoreszenz wird vom BD MAX™ System gemessen.

Der VIASURE SARS-CoV-2 (*N1 + N2*) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System enthält in jedem Gefäß bereits die für den Echtzeit-PCR-Test erforderlichen Komponenten (spezifische Primer/Sonden, dNTP, Puffer, Polymerase, Reverse Transkriptase) in stabilisierter Form sowie eine endogene interne Kontrolle zur Überwachung des Extraktionsprozesses und/oder einer eventuellen Inhibition der Polymeraseaktivität. Der Assay nutzt ein menschliches Haushaltsgen als Endogene Interne Kontrolle (IK), das humane *RNase P*-Gen. Menschliche Haushaltsgene sind an den grundlegenden Erhaltungsfunktionen in Zellen beteiligt. Daher wird davon ausgegangen, dass sie in allen kernhaltigen humanen Zellen vorliegen und in ein relativ konstantes Expressionsniveau zeigen.

Ziel	Kanal	Gen
SARS-CoV-2	475/520	<i>N</i> -Gen (<i>N2</i> -Region)
SARS-CoV-2	630/665	<i>N</i> -Gen (<i>N1</i> -Region)
Endogene Interne Kontrolle (IK)	530/565	humane <i>RNase P</i> -Gen

Tabelle 1. Ziel, Kanal und Gene.

4. Bereitgestellte Reagenzien

Im VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System sind die in Tabelle 2 aufgeführten Materialien und Reagenzien enthalten:

Reagenz/Material	Beschreibung	Barcode	Menge
SARS-CoV-2 (N1 +N2) reaction tube	Eine Mischung aus Enzymen, Primern, Sonden, Puffer, dNTP, Stabilisatoren und einer endogenen internen Kontrolle in stabilisierter Form	1G-Folie	2 Beutel mit je 12 transparent Röhrchen
Rehydration Buffer tube	Lösung zur Rekonstitution des stabilisierten Produkts	11-Folie	1 Beutel mit 24 transparent Röhrchen

Tabelle 2. Im VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System mit der Kat.-Nr. VS-NCO324 (444215) enthaltene Reagenzien und Materialien.

5. Vom Benutzer bereitzustellende Reagenzien und Ausrüstung

In der nachstehenden Liste sind die erforderlichen, jedoch nicht im Lieferumfang des VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System enthaltenen Materialien aufgeführt.

- Echtzeit-PCR-Gerät: BD MAX™ System.
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref.-Nr.:442827 oder 442828).
- BD MAX™ PCR Cartridges (Ref.-Nr.: 437519).
- Vortexmischer.
- Mikropipetten (präzise zwischen 2 und 1000 µl).
- Filterspitzen.
- Puderfreie Einweghandschuhe.

6. Transport- und Lagerbedingungen

- Die Kits können bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum bei 2 °C bis 40 °C transportiert und gelagert werden.
- Nach dem Öffnen der Aluminiumbeutel können die darin enthaltenen Reaktionsgefäße bis zu 28 Tage verwendet werden.

7. Sicherheitshinweise für den Benutzer

- Dieses Produkt ist ausschließlich für die Verwendung durch Fachpersonal, wie Labor- oder Gesundheitsfachkräfte und -techniker vorgesehen, die für molekularbiologische Verfahren geschult sind.
- Für den Einsatz in der *In-vitro*-Diagnostik.
- Keine abgelaufenen Reagenzien und/oder Materialien verwenden.
- Das Kit nicht verwenden, wenn das Etikett, das die Außenverpackung versiegelt, aufgerissen ist.
- Reagenzien nicht verwenden, wenn der Schutzbehälter bei Ankunft bereits geöffnet oder beschädigt ist.
- Reagenzien nicht verwenden, wenn die Schutzbeutel bei Ankunft bereits geöffnet oder beschädigt sind.
- Reagenzien nicht verwenden, wenn sich in den Reagenzbeuteln kein Trockenmittel befindet oder dieses beschädigt ist.
- Trockenmittel nicht aus Reagenzbeuteln entfernen.

- Schutzbeutel von Reagenzien nach jedem Gebrauch sofort mit dem Zippverschluss schließen. Vor dem Verschließen überschüssige Luft aus den Beuteln entfernen.
- Reagenzien nicht verwenden, wenn die Folie gerissen oder beschädigt ist.
- Reagenzien unterschiedlicher Beutel und/oder Kits und/oder Chargen nicht vermischen.
- Die Reagenzien vor Feuchtigkeit schützen. Sollten diese für längere Zeit Feuchtigkeit ausgesetzt sein, wirkt sich dies nachteilig auf die Produktleistung aus.
- Die Komponenten vor Licht schützen.
- In Fällen, in denen andere PCR-Tests im selben allgemeinen Laborbereich durchgeführt werden, ist Sorge dafür zu tragen, dass das VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, das BD MAX™ ExK™ TNA-3 Extraction Kit, sonstige zusätzlich für den Test erforderliche Reagenzien und das BD MAX™ System nicht kontaminiert werden. Vermeiden Sie unter allen Umständen Kontamination durch Mikroorganismen sowie Ribonuklease (RNase)/Desoxyribonuklease (DNase). Es wird die Verwendung von RNase-/DNase-freien, aerosolresistenten Einweg-Pipettenspitzen oder Direktverdrängungspipettenspitzen empfohlen. Verwenden Sie für jede Probe eine neue Spitze. Vor dem Umgang mit Reagenzien und Kartuschen Handschuhe wechseln (BD MAX™ PCR Cartridge).
- Um die Kontamination der Umgebung durch Amplikons zu vermeiden, zerbrechen Sie die „BD MAX™ PCR Cartridge“ (BD MAX™ PCR-Kartusche) nicht nach Gebrauch. Die Versiegelung der „BD MAX™ PCR Cartridge“ (BD MAX™ PCR-Kartusche) ist darauf ausgelegt, Kontaminationen zu verhindern.
- Einen Arbeitsfluss in eine Richtung implementieren. Der Arbeitsfluss sollte im Extraktionsbereich beginnen und zum Amplifikations- und Detektionsbereich übergehen. Keine Proben, Ausrüstungsgegenstände oder Reagenzien in einen Bereich zurückholen, in dem ein vorheriger Schritt durchgeführt wurde.
- Die Grundsätze der guten Laborpraxis befolgen. Schutzkleidung, Einweghandschuhe, Schutzbrillen und Schutzmasken verwenden. Im Arbeitsbereich nicht essen, trinken rauchen oder kosmetische Produkte auftragen. Nach Abschluss des Tests die Hände waschen.
- Proben sowie sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit den Proben in Berührung gekommen sind, immer als potenziell infektiös und / oder biologisch gefährlich betrachten und entsprechend den nationalen Sicherheitsrichtlinien behandeln. Während der Entnahme, Transport, Lagerung, Handhabung und Entsorgung von Proben die erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen befolgen.
- Proben und Reagenzien müssen in einer biologischen Sicherheitswerkbank gehandhabt werden. Persönliche Schutzausrüstung (PSA) verwenden, die den aktuellen Richtlinien für den Umgang mit potenziell infektiösen Proben entspricht. Abfall in Übereinstimmung mit den örtlichen und Landesvorschriften entsorgen.
- Eine regelmäßige Dekontaminierung von häufig genutzten Ausrüstungsgegenständen und Flächen, insbesondere Mikropipetten und Arbeitsoberflächen, wird empfohlen.
- Gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 (REACH) sind für „VIASURE Real Time PCR Detection Kits“ aufgrund ihrer Einstufung als nicht gesundheits- und umweltgefährdend keine Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheet) erforderlich, da Stoffe und/oder Gemische, die die in der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 (CLP) festgelegten Kriterien für die Gefahreinstufung erfüllen, nicht darin enthalten sind bzw. in Konzentrationen vorliegen, die über dem in der genannten Verordnung festgelegten Wert für ihre Deklaration liegen.
- Weitere Warn-, Sicherheits- und Verfahrenshinweise finden Sie im Benutzerhandbuch des BD MAX™ Systems.

8. Testverfahren

8.1. Probenentnahme, -Lagerung und -Transport

Das VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System wurde getestet mit nasopharyngealen/oropharyngealen Abstrichen, die in Viral Transport Medium (VTM) (Viracell S.L., Spain) entnommen wurden; mit nasopharyngealen Abstrichen, die in BD™ UVT System Medium, Virus Transport and Preservation Medium (Biocomma®), UTM Viral Transport (COPAN, Diagnostic Inc.), Sterile Transport Medium (Deltalab®), Universal Transport Medium (UTM) und IMPROVIRAL™ Viral Preservative Medium (VPM) von Guangzhou Improve Medical Instruments Co. Ltd entnommen wurden; und mit Speichelproben, die in Viral Transport Medium (VTM), BD™ Universal Viral Transport (UVT) oder IMPROVIRAL™ Viral Preservative Medium (VPM) entnommen wurden. Andere Arten von Proben müssen vom Benutzer validiert werden.

Die Entnahme, die Lagerung und der Transport von Proben sollte unter den vom Benutzer validierten Bedingungen erfolgen. Im Allgemeinen sind Atem- und Speichelproben entnommen in einem sauberen und ordnungsgemäß gekennzeichneten Gefäß mit oder ohne Transportmedium (je nach Probentyp) zu entnehmen und zur Gewährleistung der Testqualität so schnell wie möglich zu verarbeiten. Die Proben sollten gemäß den lokalen und nationalen Bestimmungen für den Transport von pathogenem Material und nicht länger als 72 Stunden bei 2 bis 8 °C transportiert werden. Für den Langzeittransport (über 72 Stunden) empfehlen wir eine Beförderung bei ≤ -20 °C oder niedriger. Es wird empfohlen, frische Proben für den Test zu verwenden. Die Proben können bei 2 bis 8 °C bis zu 72 Stunden lang oder zur Konservierung bei -20 °C oder idealerweise bei -70 °C gefroren gelagert werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sollte vermieden werden, um eine Schädigung der Proben und Nukleinsäuren zu vermeiden.

Die nasopharyngealen/oropharyngealen Abstrich- und Speichelproben müssen gemäß den entsprechenden Laborrichtlinien entnommen, transportiert und gelagert werden. Einzelheiten finden sich in den CDC-Leitlinien (Specimen Collection Guidelines. Website <https://www.cdc.gov/urdo/downloads/SpecCollectionGuidelines.pdf> und Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens for COVID-19. Website <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html>) und der IDSA-Leitlinie (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt, B. S. (2018). A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94).

8.2. Probenvorbereitung und RNA-extraktion

Die Probenvorbereitung gemäß den in der Gebrauchsanweisung des verwendeten Extraktionskits BD MAX™ ExK™ TNA-3 aufgeführten Empfehlungen durchführen. Bitte beachten Sie, dass andere Proben möglicherweise eine Vorbehandlung erfordern. Applikationsspezifische Vorbereitungsmaßnahmen für die Extraktion sind vom Benutzer zu bestimmen und zu validieren.

Bei Verwendung von nasopharyngealen oder oropharyngealen Proben:

1. Pipettieren Sie zwischen 400 und 750 µl des in Virustransportmedium (VTM) oder in BD™ Universal Viral Transport (UVT) System Medium entnommenen nasopharyngealen/ oropharyngealen Abstrichs in ein BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube (BD MAX™ TNA-3 Probenpufferröhrchen) und verschließen Sie das

Röhrchen mit einem Septumverschluss. Stellen Sie eine vollständige Vermischung sicher, indem Sie die Probe bei hoher Geschwindigkeit 1 Minute vortexen. Führen Sie die Bearbeitung am BD MAX™ System Operation fort.

Bei Verwendung von in Transportmedium entnommenen Speichelproben:

1. Speichelproben können in Viral Transport Medium (VTM), BD™ Universal Viral Transport (UVT) oder IMPROVIRAL™ Viral Preservative Medium (VPM) in einem Verhältnis von 1:3 (Speichel:Medium) entnommen werden. Mischen Sie die Probe 1 Minute bei hoher Geschwindigkeit auf einem Vortex-Schüttler. Pipettieren Sie 750 µl in ein BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube (BD MAX™ TNA-3 Probenpufferröhrchen) und verschließen Sie das Röhrchen mit einem Septumverschluss. Stellen Sie eine vollständige Vermischung sicher, indem Sie die Probe bei hoher Geschwindigkeit 1 Minute vortexen. Führen Sie die Bearbeitung am BD MAX™ System Operation fort.

Bei Verwendung von unvermischtem Speichelproben:

1. Versetzen Sie den Speichel mit Viral Transport Medium (VTM), BD™ Universal Viral Transport (UVT) oder IMPROVIRAL™ Viral Preservative Medium (VPM), sodass das endgültige Verhältnis 1:3 (Speichel:Medium) beträgt. Mischen Sie die Probe 1 Minute bei hoher Geschwindigkeit auf einem Vortex-Schüttler. Pipettieren Sie anschließend 750 µl in ein BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube (BD MAX™ TNA-3 Probenpufferröhrchen) und verschließen Sie das Röhrchen mit einem Septumverschluss. Stellen Sie eine vollständige Vermischung sicher, indem Sie die Probe bei hoher Geschwindigkeit 1 Minute vortexen. Führen Sie die Bearbeitung am BD MAX™ System Operation fort.

8.3. PCR-Protokoll

Hinweis: Ausführliche Anweisungen entnehmen Sie bitte dem Benutzerhandbuch des BD MAX™ Systems.

8.3.1. Erstellen eines Testprogramms für den VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System

Hinweis: Wenn Sie den test für VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR-Detection Kit for BD MAX™ System bereits erstellt haben, können Sie Schritt 8.3.1 auslassen und direkt zu Schritt 8.3.2 übergehen.

- 1) Wählen Sie am Bildschirm „Run“ (Durchlauf) des BD MAX™ Systems die Registerkarte „Test Editor“ (Test-Assistent).
- 2) Klicken Sie auf die Schaltfläche „Create“ (Erstellen).
- 3) Benennen Sie in der Registerkarte mit den grundlegenden Informationen im Fenster „Test Name“ Ihren Test, d. h.: VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2).
- 4) Wählen Sie im Dropdown-Menü „Extraction Type“ (Extraktionstyp) die Option „ExK TNA-3“.
- 5) Wählen Sie im Dropdown-Menü „Master Mix Format“ die Option „Type 5“ (Typ 5).
 - a. Hinweis: Das Produkt kann in Kombination mit einem zusätzlichen „VIASURE für BD MAX™ Test“ verwendet werden. Wählen Sie in einem solchen Fall die Option „Dual Master Mix Concentrated

Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Dualer Master Mix Konzentrierter Lyophilisierter MM mit Rehydrationspuffer (Typ 5)).

- 6) Wählen Sie unter „Sample extraction parameters“ (Probenextraktionsparameter) die Option „User defined“ (Benutzerdefiniert) und stellen Sie das Probenvolumen auf 950 µl ein.
- 7) Wählen Sie unter „Ct Calculation“ (Ct-Berechnung) die Option „Call Ct at Threshold Crossing“ (Ct bei Grenzwertüberschreitung abrufen) aus.
- 8) Wenn Sie die Software-Version 5.00 oder eine höhere verwenden, wählen Sie unter „Custom Barcodes“ (Kundendefinierte Barcodes) die folgende Konfiguration:
 - a. Snap-In 2 Barcode (Barcode für Snap-In 2): 1G (betreffend das SARS-CoV-2 (N1 + N2) reaction tube)
 - b. Snap-In 3 Barcode (Barcode für Snap-In 3): 11 (betreffend das Rehydration Buffer Tube)
 - c. Snap-In 4 Barcode (Barcode für Snap-In 4): ein weiteres VIASURE Reaktionsgefäß (andere Folie), wenn Sie das Format „Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Dualer Master Mix Konzentrierter Lyophilisierter MM mit Rehydrationspuffer (Typ 5)) wählen (Abschnitt 8.3.1).
- 9) Geben Sie in der Registerkarte „PCR settings“ (PCR-Einstellungen) folgende Parameter ein: „Channel Settings“ (Kanaleinstellungen), „Gains“ (Verstärkung) und „Threshold“ (Grenzwert) (Tabelle 3).
 - a. Hinweis: Das Produkt kann in Kombination mit einem zusätzlichen „VIASURE für BD MAX Test“ verwendet werden. In einem solchen Fall sind die „PCR Settings“ (PCR-Einstellungen) und „Test Steps“ (Testschritte) für die Snap-In 2 (Einrastposition 2) (grün) und Snap-In 4 (Einrastposition 4) (blau) einzugeben.

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

Tabelle 3. „PCR Settings“ (PCR-Einstellungen).

Hinweis: Es wird empfohlen, die oben für die einzelnen Kanäle aufgelisteten Mindest-Schwellenwerte als Ausgangspunkt einzustellen. Die endgültigen Einstellungen müssen jedoch vom Endanwender bei der Ergebnisinterpretation festgelegt werden, um sicherzustellen, dass die Schwellenwerte in der exponentiellen Phase der Fluoreszenzkurven und über einem etwaigen Hintergrundsignal liegen. Der Schwellenwert für verschiedene Geräte kann aufgrund verschiedener Signalintensitäten variieren.

- 10) Geben Sie in der Registerkarte „PCR Settings“ (PCR-Einstellungen) auch die folgenden Parameter für „Spectral Cross Talk“ (Spektrale Übersprechung) (Tabelle 4) ein.

		False Receiving Channel (Falsch-empfangender Kanal)					
		Channel (Kanal)	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Exzitationskanal)	475/520	-	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	530/565	1.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0
	585/630	0.0	0.0	-	0.0	0.0	0.0
	630/665	0.0	0.0	0.0	-	0.0	0.0
	680/715	0.0	0.0	0.0	0.0	-	0.0

Tabelle 4. Parameter für das spektrale Übersprechen (*Spectral Cross-talk parameters*).

11) Geben Sie in der Registerkarte „Test Steps“ (Testschritte) das PCR-Protokoll (Tabelle 5) ein.

Step Name (Schrittbezeichnung)	Profile Type (Profiltyp)	Cycles (Zyklen)	Time (s) Zeit (en)	Temperature (Temperatur)	Detect (Detektion)
Reverse transcription (Reverse Transkription)	Hold	1	900	45°C	-
Initial denaturation (Initiale Denaturierung)	Hold	1	120	98°C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Denaturierung und Hybridisierung/Extension (Datenerfassung))	2-Temperatur	45	10	95°C	-
			61.1	63°C	✓

Tabelle 5. PCR-Protokoll.

12) Klicken Sie auf die Schaltfläche „Save Test“ (Test speichern).

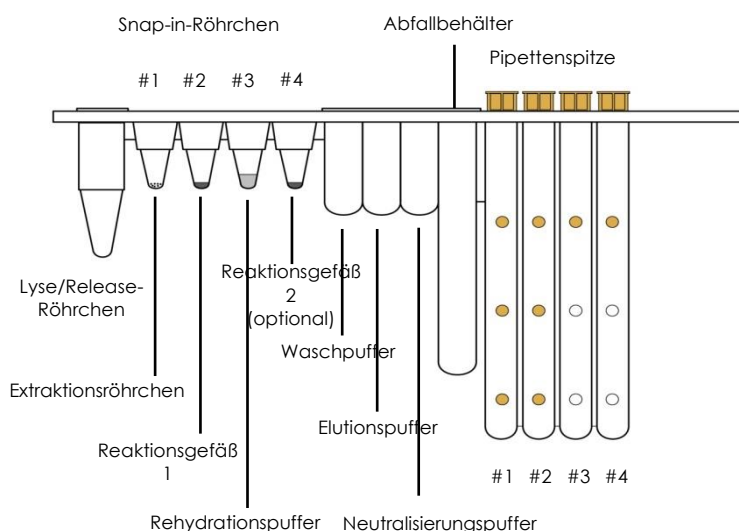
8.3.2. Einrichten der BD MAX™ Racks

- 1) Nehmen Sie für jede zu testende Probe einen Einzel-Reagenzstreifen aus dem BD MAX™ ExK™ TNA-3 Kit. Klopfen Sie jeden Streifen leicht auf eine harte Oberfläche, um sicherzustellen, dass sich alle Flüssigkeiten am Boden der Röhren befinden, und laden Sie sie in die Probenracks des BD MAX™ Systems.
- 2) Nehmen Sie die benötigte Anzahl an BD MAX™ ExK™ TNA Extraktionsröhrchen (B4) (weiße Folie) aus den Schutzbeuteln heraus. Lassen Sie das/die Extraktionsröhrchen (weiße Folie) in ihre entsprechenden Positionen im TNA-Streifen einrasten (Einrastposition 1, weiße Farbkodierung am Rack. Siehe Abbildung 1). Entfernen Sie überschüssige Luft und verschließen Sie den Beutel mit dem Zippverschluss.
- 3) Bestimmen und separieren Sie die geeignete Anzahl an SARS-CoV-2 (N1 + N2) reaction tube (1G-Folie) und lassen Sie sie in ihre entsprechenden Positionen im Streifen einrasten (Einrastposition 2, grüne Farbkodierung am Rack. Siehe Abbildung 1).
 - a. Entfernen Sie überschüssige Luft und verschließen Sie die Aluminiumbeutel mit dem Zippverschluss.
 - b. Stellen Sie zur Durchführung einer korrekten Rehydratation bitte sicher, dass sich das lyophilisierte Produkt am Boden des Gefäßes befindet und nicht im oberen Bereich des Gefäßes oder an der Siegelfolie anhaftet. Klopfen Sie jedes Röhrchen leicht auf eine harte Oberfläche, um sicherzustellen, dass sich das gesamte Produkt am Boden des Röhrchens befindet.
 - i. Hinweis: Wenn Sie das Format „Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)“ (Dualer Master Mix Konzentrierter lyophilisierter MM mit Rehydrationspuffer (Typ 5)) (Abschnitt 8.3.1) wählen, bestimmen und separieren Sie die

benötigte Anzahl an zusätzlichen VIASURE Reaktionsgefäßen (verschieden folie) und lassen Sie sie in die entsprechenden Positionen im Streifen einrasten (Einrastposition 4, blaue Farbkodierung am Rack. Siehe Abbildung 1). Entfernen Sie überschüssige Luft und verschließen Sie die Aluminiumbeutel mit dem Zippverschluss.

- 4) Entnehmen Sie die benötigte Anzahl an Rehydration Buffer tube (11-Folie) und lassen Sie sie in ihre entsprechenden Positionen im Streifen einrasten (Einrastposition 3, ohne Farbkodierung am Rack. Siehe Abbildung 1). Entfernen Sie überschüssige Luft und verschließen Sie den Beutel mit dem Zippverschluss.
 - a. Stellen Sie für eine korrekte Überführung bitte sicher, dass sich die Flüssigkeit am Boden des Gefäßes befindet und nicht im oberen Bereich des Gefäßes oder an der Siegelfolie anhaftet. Klopfen Sie jedes Röhrchen leicht auf eine harte Oberfläche, um sicherzustellen, dass sich der gesamte Puffer am Boden des Röhrchens befindet.

Abbildung 1. BD MAX™ TNA Reagenzstreifen (TNA) aus dem BD MAX™ Ex™ TNA-3 Kit.



8.3.3. BD MAX™ Gerät einrichten

- 1) Wählen Sie am Bildschirm „Run“ (Durchlauf) des BD MAX™ Systems (Software v4.50A oder höher) die Registerkarte „Work List“ (Arbeitsliste).
- 2) Wählen Sie im Dropdown-Menü „Test“ die Option VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) (falls noch nicht erstellt, siehe 8.3.1).
- 3) Wählen Sie die entsprechende Chargennummer des Kits (an der Außenverpackung des verwendeten Extraktionskits zu finden) aus dem Auswahlmenü aus (optional).
- 4) Geben Sie die Identifikationsnummer des Probenpufferröhrchens im Probenröhrchen-Fenster der „Work List“ (Arbeitsliste) durch Scannen des Barcodes mit dem Scanner oder durch manuelle Eingabe ein.
- 5) Füllen Sie die Felder im Fenster „Specimen“ (Probe)/ „Patient ID“ (Patienten-ID) und/oder „Accession“ (Eingang) der „Work List“ (Arbeitsliste) aus und klicken Sie auf die Schaltfläche „Save“ (Speichern). Führen Sie diese Schritte für sämtliche Probenpufferröhrchen aus. Stellen Sie sicher, dass die Proben/Patienten-ID und die Probenpufferröhrchen genau zugehörig sind.
- 6) Setzen Sie das/die vorbereitete(n) Probenpufferröhrchen in das/die BD MAX™ Rack(s).

- 7) Laden Sie das/die Rack(s) in das BD MAX™ System (Rack A befindet sich auf der linken Seite des BD MAX™ Systems und Rack B auf der rechten Seite).
- 8) Setzen Sie die erforderliche Anzahl an BD MAX™ PCR Cartridge(s) in das BD MAX™ System ein.
- 9) Schließen Sie die Tür des BD MAX™ Systems.
- 10) Klicken Sie auf „Start Run“ (Durchlauf starten), um den Vorgang zu starten.

8.3.4. BD MAX™ Bericht

- 1) Klicken Sie im Hauptmenü auf die Schaltfläche „Results“ (Ergebnisse).
- 2) Doppelklicken Sie auf Ihren Durchlauf in der Liste oder drücken Sie auf die Schaltfläche „View“ (Ansicht).
- 3) Klicken Sie auf „Print“ (Drucken) und wählen Sie folgende Optionen aus: „Run Details, Test Details and Plot...“ (Durchlaufdetails, Testdetails und Plot...)
- 4) Klicken Sie am Bildschirm „Run Reports“ (Durchlaufberichte) auf die Schaltfläche „Print“ (Drucken) oder „Export“.

9. Ergebnisinterpretation

Nähere Angaben zur Auswertung von Daten erhalten Sie im Benutzerhandbuch des BD MAX™ Systems.

Die Datenanalyse durch die BD MAX™ Software erfolgt entsprechend den Herstelleranweisungen. Die BD MAX™ Software gibt die Ct-Werte und Amplifikationskurven für jeden Detektionskanal aller getesteten Proben auf folgende Weise an:

- Ein Ct-Wert von 0 gibt an, dass kein Ct-Wert mit dem spezifizierten Schwellenwert von der Software berechnet wurde (siehe Tabelle 3). Eine Amplifikationskurve einer Probe mit einem Ct-Wert von „0“ muss manuell geprüft werden.
- Ein Ct-Wert von -1 gibt an, dass kein Amplifikationsprozess stattgefunden hat.
- Jeder andere Ct-Wert ist in Übereinstimmung mit der Amplifikationskurve und entsprechend den Leitlinien für die Probenauswertung in Tabelle 6 auszuwerten.

Überprüfen Sie das Signal der internen Kontrolle, um die korrekte Funktionsweise der Amplifikationsmischung sicherzustellen. Überprüfen Sie zusätzlich, dass keine Störung des BD MAX™ Systems gemeldet wurde.

Die Ergebnisse sind anhand folgender Tabelle abzulesen und auszuwerten:

SARS-CoV-2 (Zielregion N2) (475/520)	Endogene interne Kontrolle (530/565)	SARS-CoV-2 (Zielregion N1) (630/665)	Interpretation
+	+/- ¹	+	SARS-CoV-2 N-Gen-RNA nachgewiesen ¹
+ ²	+/- ¹	-	SARS-CoV-2 N-Gen- RNA nachgewiesen ^{1,2}
-	+/- ¹	+ ²	SARS-CoV-2 N-Gen- RNA nachgewiesen ^{1,2}
-	+ ³	-	SARS-CoV-2 N-Gen-RNA nicht nachgewiesen ³
-	- ³	-	Unresolved (UNR) Unklares Testergebnis aufgrund des Vorliegens von Hemmsubstanzen in der PCR-Reaktion oder eines allgemeinen (nicht durch einen Fehlercode angezeigten) Problems bei der Probenverarbeitung und/oder den Amplifikationsschritten. ³
IND	IND	IND	Indeterminate assay result (IND). Nicht bestimmbares Testergebnis. Aufgrund einer Störung im BD MAX™ System. Das Testergebnis wird im Falle eines mit einem Fehlercode verbundenen Gerätefehlers angezeigt.
INC	INC	INC	Incomplete assay result (INC). Unvollständiges Testergebnis. Aufgrund einer Störung im BD MAX™ System. Das Testergebnis wird im Falle eines nicht vollständig durchgeführten Durchlaufs angezeigt.

Tabelle 6. Probenauswertung

+ : Stattgefundene Amplifikation

- : Keine Amplifikation aufgetreten

1 Eine Probe gilt als positiv, wenn der erhaltene Ct-Wert unter 40 liegt. Die endogene interne Kontrolle (IK) kann ein Amplifikationssignal ergeben oder auch nicht. Gelegentlich ist der Nachweis der IK nicht notwendig, da das Vorliegen einer hohen Kopienzahl der Ziel-Nukleinsäure zu deren präferenzierter Amplifikation führen kann.

2 Wenn nur eine Zielregion des N-Gens amplifiziert wird, überprüfen Sie, ob die Kurvenform sigmoid und die Intensität der Fluoreszenz angemessen ist. Falls die Auswertung zweifelhaft ist, was vom verfügbaren Material abhängen kann, wird außerdem Folgendes empfohlen:

- Extrahieren und testen Sie ein weiteres Aliquot derselben Originalprobe (erhöhen Sie dabei das Probenvolumen möglichst auf 750 µl) oder
- entnehmen Sie eine neue Originalprobe und testen Sie diese.

3 Im Fall eines negativen Ergebnisses bei beiden SARS-CoV-2-Zielregionen muss die IK ein Amplifikationssignal bei einem Ct-Wert von weniger als 35 zeigen. Der Ct-Wert kann sehr variabel sein wegen der endogenen internen Kontrolle, die ein humanes Haushaltsgen ist, das in allen kernhaltigen menschlichen Zellen in der Originalprobe vorliegen sollte. Wenn kein Signal vorhanden ist oder der Ct-Wert der endogenen internen Kontrolle ≥ 35 ist, wird das Ergebnis als „Unresolved“ betrachtet und der Test muss wiederholt werden.

Im Fall eines weiterhin zweifelhaften Ergebnisses wird empfohlen, die Gebrauchsanweisung und das vom Benutzer verwendete Extraktionsverfahren zu prüfen, die ordnungsgemäße Ausführung aller RT-qPCR-Schritte sowie die Korrektheit der Parameter sicherzustellen und zu kontrollieren, ob die Kurvenform sigmoid und die Intensität der Fluoreszenz angemessen ist.

Das Testergebnis muss vor dem Hintergrund der Krankengeschichte, der klinischen Symptome und anderer diagnostischer Tests von einer Gesundheitsfachkraft bewertet werden.

10. Grenzen des Tests

- Das Testergebnis muss vor dem Hintergrund der Krankengeschichte, der klinischen Symptome und anderer diagnostischer Tests von einer Gesundheitsfachkraft bewertet werden.
- Dieser Test kann zwar mit verschiedenen Arten von Proben durchgeführt werden, jedoch wurde er bisher nur für in VTM entnommene nasopharyngeale/ oropharyngeale Abstriche und Speichelproben validiert.
- Um einen optimalen Ablauf des Tests zu gewährleisten, sollte sich das lyophilisierte Produkt am Boden des Röhrchens befinden und nicht im oberen Bereich des Röhrchens oder an der Verschlussfolie haften. Klopfen Sie jedes Röhrchen leicht auf eine harte Oberfläche, um sicherzustellen, dass sich das gesamte Produkt am Boden des Röhrchens befindet.
- Zeigt das Reaktionsgemisch in stabilisierter Form, das sich in der Regel am Boden des Röhrchens befindet, ein anderes Erscheinungsbild als üblich (keine konische Form, Inhomogenität, kleineres/größeres Volumen und/oder eine andere Farbe als weißlich), hat dies keinen Einfluss auf die Funktionsfähigkeit des Tests.
- Die Testqualität hängt von der Qualität der Probe ab; die Nukleinsäure muss ordnungsgemäß aus den Atemwegsproben extrahiert werden.
- Bei diesem Test handelt es sich um einen qualitativen Test, der weder quantitative Werte liefert noch die Anzahl vorliegender Keime angibt.
- Unter Umständen können extrem niedrige, unterhalb der Nachweisgrenze liegende Kopienzahlen der Zielsequenz nachgewiesen werden, wobei die Ergebnisse eventuell nicht reproduzierbar sind.
- Es besteht die Möglichkeit falsch-positiver Ergebnisse aufgrund einer Kreuzkontamination mit SARS-CoV-2-Sequenzen, entweder durch Proben, die hohe Konzentrationen der Ziel-RNA enthalten, oder aufgrund einer Kontaminierung durch PCR-Produkte früherer Reaktionen.
- Die spezifischen Primer-Sonden-Kombinationen zum Nachweis der konservierten Regionen des beim VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System verwendeten N-Gens wurden auf der Grundlage des Assays der CDC der USA für den spezifischen Nachweis von SARS-CoV-2 durch die Amplifikation zweier spezifischer Regionen des N-Gens konzipiert. Sie zeigen keine signifikante kombinierte Homologie mit dem menschlichen Genom, der humanen Mikroflora, SARS-CoV oder anderen Coronaviren, die zu einem vorhersehbaren falsch positiven Ergebnis führen könnten.
- Falsch negative Resultate können sich durch mehrere Faktoren und deren Kombinationen ergeben, darunter:
 - unsachgemäße Methoden der Entnahme, des Transports, der Lagerung und/oder der Handhabung von Proben;
 - unsachgemäße Verfahren der Verarbeitung (einschließlich RNA-Extraktion);
 - Abbau der viralen RNA während des Transports/der Lagerung und/oder der Verarbeitung von Proben;
 - Mutationen oder Polymorphismen in Primer- oder Sondenbindungsregionen, die den Nachweis neuer oder unbekannter SARS-CoV-2-Varianten beeinträchtigen können;
 - eine Viruslast in der Probe, die unter der Nachweisgrenze des Tests liegt;
 - das Vorliegen von RT-qPCR-Inhibitoren oder anderer Arten von Störsubstanzen. Der Einfluss von Impfstoffen, antiviralen Therapeutika, Chemotherapeutika oder Immunsuppressiva, die zur Prävention von COVID-19 oder zur Behandlung der Infektion eingesetzt werden, wurde nicht untersucht;
 - Nichtbefolgen der Gebrauchsanweisung und des Assay-Protokolls.

- Die Amplifikation einer einzelnen Zielregion oder selbst zufällig positive Ergebnisse weisen auf eine leicht unterschiedliche Amplifikationsausbeute der Zielregionen des *N*-Gens hin. In Proben mit niedriger Viruslast kann es zur Amplifikation einer einzelnen *N*-Zielregion kommen. Im Zweifelsfall wird empfohlen, sich wegen zusätzlicher Tests an ein Referenzlabor zu wenden, wenn klinisch angezeigt.
- Einige Proben ergeben wegen einer zu geringen Zellzahl in der klinischen Originalprobe u. U. keine Amplifikationskurven für *RNase P*. Ein negatives IK-Signal schließt das Vorhandensein von SARS-CoV-2-RNA in einer klinischen Probe nicht aus.
- Ein positives Testergebnis zeigt nicht unbedingt an, dass lebensfähige Viren vorliegen oder dass diese Viren infektiös oder der Auslöser klinischer Symptome sind. Ein positives Ergebnis weist jedoch auf die Anwesenheit viraler Zielsequenzen hin (*N*-Gene).
- Negative Ergebnisse schließen eine SARS-CoV-2-Infektion nicht aus und sollten nicht als alleinige Grundlage für die Behandlung oder andere Entscheidungen hinsichtlich der Patientenversorgung herangezogen werden. Die optimalen Probenarten sowie der Zeitpunkt während der durch SARS-CoV-2 verursachten Infektion, zu dem virale Spitzenwerte auftreten, wurden nicht bestimmt. Zum Nachweis des Virus kann die Entnahme mehrerer Proben (unterschiedlich nach Art und Zeitpunkt) desselben Patienten erforderlich sein.
- Wenn diagnostische Tests auf andere Atemwegserkrankungen negativ sind und das klinische Erscheinungsbild des Patienten sowie die epidemiologischen Informationen nahelegen, dass eine Infektion mit SARS-CoV-2 möglich ist, sollte ein falsch negatives Ergebnis in Betracht gezogen und ein erneuter Test des Patienten erwogen werden.
- Bei Vorliegen unklarer (Unresolved, UNR), nicht bestimmbarer (Indeterminate, IND) oder unvollständiger (Incomplete, INC) Ergebnisse bei Verwendung des VIASURE SARS-CoV-2 (*N1 + N2*) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System ist eine Testwiederholung erforderlich. Ungelöste Ergebnisse können aufgrund von Hemmstoffen in der Probe oder einer inkorrekten Rehydratation des lyophilisierten Reaktionsmix-Gefäßes entstehen. Nicht bestimmbare oder unvollständige Ergebnisse sind auf eine Geräte störung zurückzuführen.

11. Qualitätskontrolle

In jedem Reaktionsgefäß des VIASURE SARS-CoV-2 (*N1 + N2*) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System ist eine interne Kontrolle (IK) endogene, mit der die korrekte Funktionsweise des Tests bestätigt wird.

12. Leistungsmerkmale

12.1. Klinische Empfindlichkeit und Spezifität

Die klinische Leistungsfähigkeit des VIASURE SARS-CoV-2 (*N1 + N2*) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System wurde unter Verwendung von nasopharyngealen und oropharyngealen Abstrichen von Patienten mit Verdacht auf eine Atemwegsinfektion getestet. Die Ergebnisse waren wie folgt:

	Ort	Probentyp	Arbeitsablauf	Ziel
1	Hospital Universitario Miguel Servet (HUMS)	nasopharyngealen Abstrichen	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	SARS-CoV-2
2	"Servicio de Microbiología" Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (Santander, Spain)	nasopharyngealen Abstrichen	MagMAX™ Viral/Pathogen II (MVP II) Nucleic Acid Isolation Kit mit them KingFisher Flex System instrument (ThermoFisher) + BD MAX™ System	SARS-CoV-2

Tabelle 7. Ort, Probentyp, Arbeitsablauf und Zielsequenzen.

Richtig-positive und -negative Werte, falsch-positive und -negative Werte sowie Sensitivität und Spezifität für das VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System wurden in Relation zu den verschiedenen Vergleichstests bestimmt wie in den folgenden Tabellen dargestellt:

Ort	Vergleichstests	Ziel	TP	TN	FP	FN	Sensitivität	Spezifität
1	Simplexa™ COVID-19 Direct assay	SARS-CoV-2	63	189	2	0	100% (94-100)	99% (96-99)
	Cobas® SARS-CoV-2 real time RT-PCR test	SARS-CoV-2	16	58	2	0	100% (79-100)	96% (88-99)
	Allplex™2019-nCoV Assay	SARS-CoV-2	71	75	0	0	100% (94-100)	100% (95-100)
2	TaqPath COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kit molecular assay + sequencing	SARS-CoV-2	99	0	0	0	100% (96-100)	n.a*

Tabelle 8. Richtig-positive und -negative Werte, falsch-positive und -negative Werte, Sensitivität, Spezifität für das VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

*Aufgrund der Tatsache, dass negative Proben nicht analysiert wurden, konnte die Spezifität des Tests nicht bestimmt werden.

Zur Beurteilung der Kompatibilität verschiedener Probenmatrizes (nasopharyngeale Abstriche, oropharyngeale Abstriche und nasopharyngeale/oropharyngeale Abstriche in VTM von Vircell) wurde eine Kompatibilitätsstudie durchgeführt. Die erhaltenen Ergebnisse zeigen, dass die drei verschiedenen Probenmatrizes mit dem SARS-CoV-2 (N1 + N2) reaction tube kompatibel sind.

Die Leistung des VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System bei Verwendung von Speichelproben wurde beurteilt. Es wurden negative Speichelproben, versetzt mit einer bekannten Konzentration von gefrorenen, quantifizierten Kulturen des von SARS-CoV-2, Stamm 2019-nCoV/USA-WA-1/2020 (ATCC-VR-1986HK), getestet. Die Beurteilung wurde mit 30 positiven Proben (20 Proben 2-fache LoD (2 x LoD), entspricht 0,53 Genomkopien (GC)/µl, und 10 Proben 5-fache LoD (5 x LoD), entspricht 1,32 Genomkopien (GC)/µl) und 10 negativen Proben durchgeführt. Dieser Assay wurde unter allen Bedingungen mit einem Probenvolumen von 750 µl, das in das Sample Buffer Tube (SBT) des TNA-3 Extraction Kits gegeben wurde, und im vollständigen Prozessmodus (automatisierte Extraktion und PCR-Amplifikation) mit BD MAX™ ExK™TNA-3 durchgeführt.

Die prozentuale Übereinstimmung wurde in Relation zu den erwarteten Ergebnissen für jede einzelne Probe bestimmt, und die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Speichelprobe	Übereinstimmung
Positive Probe (2 x LoD)	97.5%
Negative Probe (5 x LoD)	100%
Negative Probe	100%

Tabelle 9. Prozentuale Übereinstimmung der Ergebnisse des VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System bei Verwendung von Speichelproben.

Daraus folgt, dass Speichelproben mit dem VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System kompatibel sind.

Die Ergebnisse belegen beim Nachweis von SARS-CoV-2 mit dem VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System eine hohe Übereinstimmung.

12.2. Analytische Empfindlichkeit

Die Nachweisgrenze des VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System liegt bei ≥ 5 Genomkopien pro Reaktion bei Verwendung von nasopharyngealen Abstrichen und ≥ 10 Genomkopien pro Reaktion bei Verwendung von Speichelproben mit einem Anteil positiver Ergebnisse von ≥ 95 %.

Hinweis: Die Nachweisgrenze bei Speichelproben wurde mit einem Probenvolumen von 750 μ l (Verdünnung 1:3 in VTM) bestimmt.

Abbildung 2. Verdünnungsreihe von SARS-CoV-2 (N1 + N2) ($9,9 \cdot 10^4$ – $9,9 \cdot 10^0$ und $5,0 \cdot 10^0$ Genomkopien pro Reaktion), analysiert auf dem BD MAX™ System (Kanal 475/520 (FAM)).

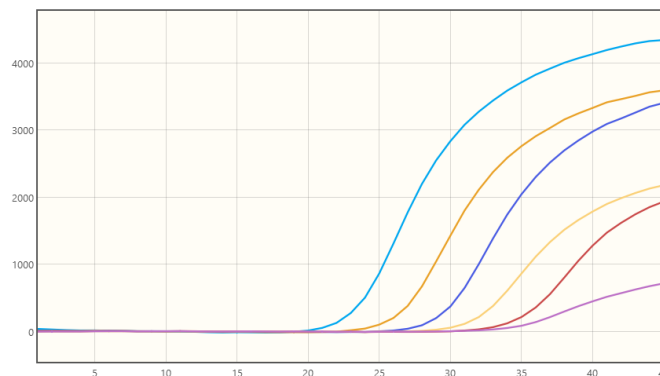
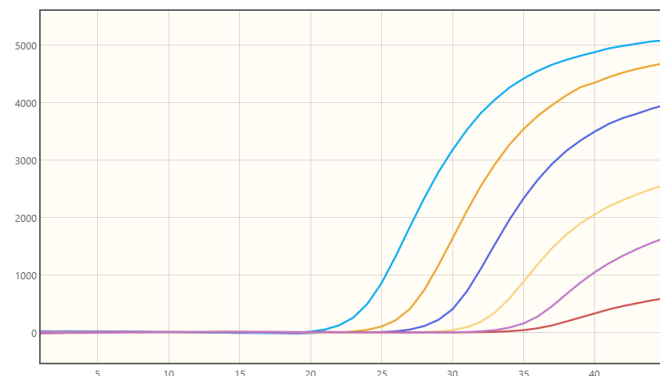


Abbildung 3. Verdünnungsreihe von SARS-CoV-2 (N1 + N2) ($9,9 \cdot 10^4$ – $9,9 \cdot 10^0$ und $5,0 \cdot 10^0$ Genomkopien pro Reaktion), analysiert auf dem BD MAX™ System (Kanal 630/665 (Cy5)).



12.3. Analytische Spezifität

Die Spezifität des SARS-CoV-2 (N1 + N2) Assays wurde durch Testen eines Panels mit verschiedenen Mikroorganismen, welche die häufigsten Erreger für Atemwegserkrankungen darstellen, bestätigt. Mit keinem der nachfolgenden untersuchten Mikroorganismen konnte eine Kreuzreaktivität festgestellt werden:

Test auf Kreuzreaktionen					
Humanes Adenovirus, Typen 1-5, 8, 15, 31, 40 und 41	-	Influenza A/New Caledonia/20/99(H1N1)-Virus	-	<i>Legionella longbeachae</i>	-
Humanes 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	-	Humanes Metapneumovirus A und 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/Schweiz/9715293/2013 (H3N2)-Virus	-	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , nicht rifampinresistent	-
<i>Chlamydia psittaci</i> Genotyp A und C	-	Influenza A/Hong Kong/4801/2014, NYMC X-263B (H3N2)-Virus	-	Humane Parainfluenza-Viren 1, 2, 3 und 4	-
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> CM-1	-	Influenza A/South Australia/55/2014, IVR-175 (H3N2)-Virus	-	<i>Pneumocystis jirovecii</i> Typ A1 und g885652	-
Humanes Coronavirus 229E, OC43, NL63 und HKU1	-	Influenza A/DE-SH/Reihenente/AR8444/2016 (H5N8)-Virus	-	Humanes Rhinovirus Typ C	-
MERS-Coronavirus	-	Influenza A/Anhui/1/2013 (H7N9)-Virus	-	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	-
SARS Coronavirus Stamm Frankfurt-1	-	Influenza B/Brisbane/60/2008-Virus	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Enterovirus 68 und 71	-	Influenza B/Florida/04/06-Virus	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i> Z022	-
Enterovirus Echovirus 11 und 30	-	Influenza B/Phuket/3073/2013-Virus	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Enterovirus Coxsackievirus A24, A9 und B3	-	<i>Legionella bozemanii</i>	-	<i>Streptococcus salivarius</i>	-
<i>Haemophilus influenzae</i> MinnA	-	<i>Legionella dumoffii</i>	-	Respiratorisches Synzytialvirus (RSV) A und B	-

Tabelle 10. Bei dieser Untersuchung verwendete pathogene Referenz-Mikroorganismen.

12.4. Analytische Reaktivität











Die Reaktivität des VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System wurde überprüft anhand von RNA des humanen 2019-nCoV-Stammes BetaCoV/Germany/BavPat1/2020 p.1, des humanen 2019-nCoV-Stammes 2019-nCoV/Italy-INM11, des SARS-CoV-2-Stammes 2019-nCoV/USA-WA1/2020, des SARS-CoV-2-stammes BetaCoV/Berlin/ChVir1670/2020_IsolatBER, des SARS-CoV-2-stammes BetaCoV/Munich/ChVir984/2020, des SARS-CoV-2-stammes BetaCoV/Baden-Wuerttemberg/1/ChVir1577/2020_IsolatBER sowie von synthetischen RNA-Kontrollen für vier Varianten des SARS-CoV-2-Virus, SARS-CoV-2 isolate Australia/VIC01/2020, SARS-CoV-2 isolate Wuhan-Hu-1, B.1.1.7_710528 and B.1.1.7_601443, wobei positive Ergebnisse erhalten wurden.

Bibliography/ Literaturverzeichnis

1. 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.
2. Zhu N. *et al.* A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine.*, 2020. DOI : 10.1056/NEJMod2001017.
3. World Health Organization. MERS situation update. January 2020. Available from <https://applications.emro.who.int/docs/EMCSR254E.pdf?ua=1> Accessed January 2021.
4. 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 January 2021.
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 January 2021.
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 January 2021.
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 January 2021.
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 January 2021.
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 January 2021.
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 January 2021.

Symbols for IVD components and reagents/ Symbole auf IVD-Komponenten und Reagenzien

 <p>In vitro diagnostic device In-vitro-Diagnostikum</p>	 <p>Keep dry Trocken aufbewahren</p>	 <p>Use by Verfallsdatum</p>	 <p>Manufacturer Hersteller</p>	 <p>Batch code (Lot) Chargennummer</p>
 <p>Consult Instructions for Use Siehe Gebrauchsanweisung</p>	 <p>Temperature limitation Temperaturbegrenzung</p>	 <p>Contains sufficient for <n> test Ausreichend für <n> Test(s)</p>	 <p>Sample diluent Probenverdünner</p>	 <p>Catalognumber Katalognummer</p>

Trademarks

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

Change Control / Änderungshistorie		
Version No. / Version Nr.	Changes / Änderungen	Date / Datum
00	Original version/ Ursprüngliche Version.	21/05/2021

Table A 2. Control change table / Tabelle Änderungshistorie.

Revision: 21st May 2021

VIASURE



CerTest Biotec, S.L.

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

Tel. (+34) 976 520 354

Fax (+34) 976 106 268

certest@certest.es | viasure@certest.es

www.certest.es

One step ahead



F-566 rev01

