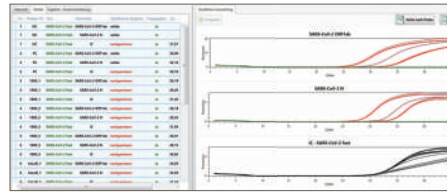




EURORealTime SARS-CoV-2 Fast



- **Besonders schneller PCR-Test zur spezifischen Detektion von SARS-CoV-2 inklusive aller aktuell relevanten Varianten**
- **Sensitiver Nachweis von zwei SARS-CoV-2-Zielsequenzen in getrennten Fluoreszenzkanälen**
- **Reverse Transkription der viralen RNA und Real-Time-PCR in einem Schritt**
- **Automatisierter Workflow von der Probe bis zum Ergebnis**

Technische Daten

Testprinzip	Reverse Transkription des SARS-CoV-2-Genoms mit nachfolgender PCR-Amplifizierung und Real-Time-Detektion mithilfe spezifischer Primer und Sonden
Testablauf	Reverse Transkription und Real-Time-PCR in einem Ansatz (ca. 45 min), softwareunterstützte Auswertung
Probenmaterial	Nasopharynxabstrich
Reagenzien	Gebrauchsfertig
Kontrollen	Interne Inhibitions- und Extraktionskontrolle (RNA), SARS-CoV-2-Fast-Positivkontrolle (RNA), Negativkontrolle
CE-Kennzeichnung	Testsystem validiert für die automatisierte Nukleinsäure-Extraktion und das PCR-Set-up mit dem Gerät Automated Workstation Pre-NAT II (PerkinElmer) sowie die automatisierte Nukleinsäure-Extraktion mit dem Gerät chemagic 360-D (PerkinElmer chemagen), Testsystem validiert für folgende Real-Time-PCR-Cycler: Eonis Q96 (PerkinElmer), LightCycler 480 II (Roche), 7500 Fast Real-Time PCR Instrument (Applied Biosystems), CFX96 Touch (Bio-Rad), qTower3 (Analytik Jena); andere Geräte sind vom Anwender selbst zu validieren.
Packungsformat	200 oder 1.000 Reaktionen
Bestell-Nr.	MP 2606-0200-8, -1000-8

Klinische Bedeutung

Das Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus 2 (SARS-CoV-2, vormals 2019-nCoV) gehört zur Familie der Coronaviren und wird wie SARS-CoV in die Gattung *Betacoronavirus* eingeordnet. Ende 2019 wurde SARS-CoV-2 als ursächlicher Erreger von gehäuft auftretenden Pneumonien unklarer Ursache identifiziert. Es löste eine Infektionswelle aus, die sich weltweit rasch ausbreitete und Anfang 2020 von der WHO zur Pandemie erklärt wurde.

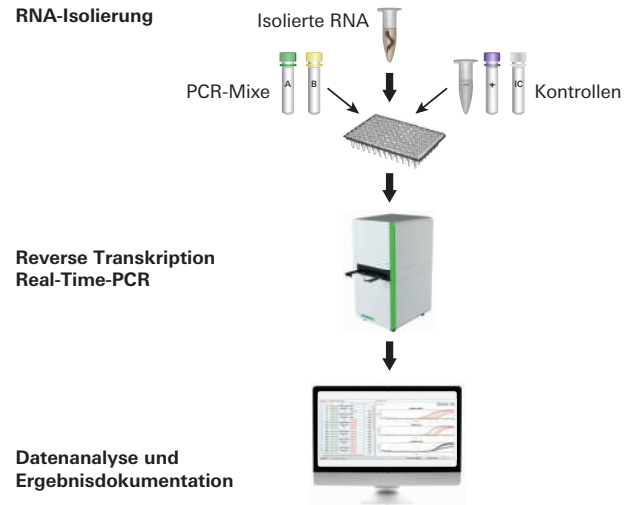
SARS-CoV-2 wird hauptsächlich durch Tröpfcheninfektion beim Husten oder Niesen und bei engem Kontakt mit Infizierten übertragen. Humanpathogene Coronaviren stammen aus dem Tierreich, das Reservoir von SARS-CoV-2 ist jedoch nicht bekannt. Die Inkubationszeit beträgt drei bis sieben, maximal 14 Tage. Die Symptome einer SARS-CoV-2-Erkrankung sind Fieber, Husten, Atembeschwerden, Erschöpfung und Verlust des Geruchs- und Geschmackssinns sowie gastrointestinale Beschwerden. Bei den meisten Patienten äußert sich die Infektion durch Symptome einer leichten fieberhaften Erkrankung mit unregelmäßigen Lungeninfiltraten. Ein Teil der Patienten, vor allem alte und chronisch kranke Menschen, entwickelt ein akutes Atemnotsyndrom (Acute Respiratory Distress Syndrome, ARDS). Die Erkrankung, die durch SARS-CoV-2 hervorgerufen wird, wurde im Februar 2020 von der WHO „COVID-19“ genannt. Bis Ende 2021 wurden weltweit mehr als 281 Millionen COVID-19-Fälle mit mehr als 5,4 Millionen Toten gemeldet. Im Verlauf der Pandemie traten mehrere Virusvarianten mit Mutationen auf, die Immunevasion, Infektiosität und Krankheitsverlauf beeinflussen können (Variants Of Concern, VOC).

Zur Diagnose einer SARS-CoV-2-Infektion ist insbesondere der Nachweis viraler RNA mittels RT-PCR (Reverse-Transkriptase-Polymerasekettenreaktion) oder von Virusprotein im ELISA oder Schnelltest in erster Linie aus Probenmaterialien der oberen Atemwege (Naso- und Oropharynxabstriche, vorderer Nasenabstrich) geeignet. Die Viruslast hat ihr Maximum in der ersten Erkrankungswoche, Virus-RNA kann bis zu 14 bis 17 Tage nach Symptombeginn detektiert werden. Der Nachweis viraler Antigene ist weniger sensitiv als der RT-PCR-Test.



Testprinzip

Das Testsystem beruht auf einer One-Tube-Reaktion, basierend auf reverser Transkription (RT) zur Konvertierung viraler RNA in komplementäre DNA (cDNA, complementary DNA), gefolgt von PCR-Amplifizierung und fluoreszenzbasiertem Real-Time-Nachweis zweier definierter Abschnitte innerhalb des SARS-CoV-2-Genoms (ORF1ab- und N-Gen). Der Nachweis der Zielsequenzen erfolgt in zwei getrennten Fluoreszenzkanälen. Reverse Transkription, Amplifizierung und Detektion der SARS-CoV-2-cDNA werden mithilfe spezifischer Primer und Sonden durchgeführt. Der Test beinhaltet eine interne Amplifikationskontrolle, die als Inhibitionskontrolle und zusätzlich als Extraktionskontrolle dient. Eine im Testsatz enthaltene SARS-CoV-2-Fast-Positivkontrolle wird als externe Kontrolle in jedem Testlauf mitgeführt. Die Real-Time-PCR ist in ca. 45 Minuten (je nach Gerätetyp) abgeschlossen. Die Software EURORealTime-Analysis unterstützt den Anwender bei der Analyse und Auswertung der Messwerte verschiedener Real-Time-Cycler unter Berücksichtigung aller Kontrollen. Zudem trägt sie zur einfachen, fehlerfreien Testdurchführung bei, indem sie durch jeden einzelnen Arbeitsschritt führt.



Analytische Sensitivität

Die im EURORealTime SARS-CoV-2 Fast verwendeten Primer und Sonden wurden auf Basis der folgenden Sequenz für SARS-CoV-2 entwickelt: NC_045512.2 (National Center for Biotechnology Information (NCBI)). Die untere Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) in Bezug auf die RNA-Probe wurde mit quantifizierter SARS-CoV-2-spezifischer RNA (In-vitro-Transkripte (IVT)) für beide Nachweisregionen bestimmt. Die Nachweisgrenze wurde in drei unabhängigen Untersuchungen mit drei unabhängigen Chargen mit jeweils 21 Replikaten in Anwesenheit von 200 ng humaner Nukleinsäure in $\geq 95\%$ der Ansätze bestätigt. Die untere Nachweisgrenze versteht sich als Mindestnachweisgrenze und liegt für SARS-CoV-2 ORF1ab (IVT) bei 3 cp/μl bzw. für SARS-CoV-2 N (IVT) bei 6 cp/μl Nukleinsäureeluat. In der Regel werden mit dem Testsystem tatsächlich auch weniger Kopien (cp) der RNA nachgewiesen.

Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität des Testsystems wird durch das Primer- und Sondendesign sowie die in der Gebrauchsanweisung angegebenen PCR-Bedingungen gewährleistet. Alle verwendeten Primer und Sonden wurden anhand von Sequenzvergleichsanalysen auf mögliche Homologien zu allen in der „nr“-Datenbank des NCBI verfügbaren Sequenzen (Stand: 20. April 2022) überprüft, um mögliche Kreuzreaktivitäten auszuschließen (www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast).

Zusätzlich wurde Nukleinsäure von Erregern, die im Respirations-trakt vorkommen können oder eng mit SARS-CoV-2 verwandt sind, mit dem EURORealTime SARS-CoV-2 Fast getestet. In keinem Fall wurde eine Kreuzreaktion (KR) detektiert (s. Tabelle). Um Kreuzreaktionen mit humaner genomischer DNA oder RNA auszuschließen, wurden jeweils 100 ng/Reaktion eingesetzt. In keinem Fall wurde eine Kreuzreaktion detektiert.

Erreger-Nukleinsäure (1 ng Nukleinsäure/Reaktion)	KR		
<i>Bordetella pertussis</i>	0%	Respiratorisches Syncytial-Virus A	0%
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	0%	Respiratorisches Syncytial-Virus B	0%
Coronavirus MERS	0%	Rhinovirus	0%
Coronavirus NL63	0%	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	0%
Coronavirus OC43	0%	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0%
Coronavirus SARS HKU39849	0%	<i>Streptococcus pyogenes</i>	0%
Coronavirus 229E	0%		
Enterovirus 71	0%	Erreger-Nukleinsäure (< 1 ng Nukleinsäure/Reaktion)	KR
<i>Haemophilus influenzae</i>	0%	Adenovirus 5	0%
Influenza-Virus A	0%	Coronavirus HKU1	0%
Influenza-Virus B	0%	Parainfluenza-Virus 3	0%
<i>Legionella pneumophila</i>	0%		
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0%	Erreger-Nukleinsäure (50.000 cp/Reaktion)	KR
Parainfluenza-Virus 1, 2 und 4	0%	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	0%

Evaluierung

Zur Evaluierung der klinischen Leistung des EURORealTime-SARS-CoV-2-Fast-Tests wurde ein klinisches Probenkollektiv (Nasopharynxabstriche) untersucht und die Ergebnisse mit denen von Referenztests verglichen. Alle Proben wurden mit zwei unabhängigen Bestimmungen übereinstimmend vorcharakterisiert:

Positive Übereinstimmung: 100%
Negative Übereinstimmung: 100%

201 Proben (Nasopharynxabstriche)	Vorcharakterisierung mit SARS-CoV-2-Real-Time-PCR-Referenztests*	
	positiv	negativ
Ergebnisse des EURORealTime- SARS-CoV-2 Fast	positiv: 102 negativ: 0	positiv: 0 negativ: 99

* Bestimmung 1: ViroQ Rapid SARS-CoV-2 (BAG Diagnostics),
Bestimmung 2: EURORealTime SARS-CoV-2 (EUROIMMUN)