PRODUKTNAME

MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR

PRODUKTUMFANG

Das Testkit beinhaltet Reagenzien für 24 Reaktionen.

ZWECKBESTIMMUNG

MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR ist eine einstufige Reverse Transkription und Echtzeit-PCR (rRT-PCR) Reaktion, bestimmt für den qualitativen oder quantitativen Nachweis von RNA von SARS-CoV-2 in Nasopharyngeal-, Oropharyngeal- (Rachen), kombinierten Nasopharyngeal-/Oropharyngealabstrichen, Oral-/Speichelabstrichen, vorderen Nasenabstrichen und Nasenabstrichen des mittleren Turbinats von Personen, bei denen eine COVID-19-Infektion vermutet wird oder zum Screening von asymptomatischen Personen oder aus anderen Gründen, die eine COVID-19-Infektion vermuten lassen. Die Ergebnisse beziehen sich auf den Nachweis von SARS-CoV-2-RNA. Die SARS-CoV-2-RNA ist im Allgemeinen in Atemwegsproben während der akuten Phase der Infektion nachweisbar. Positive Ergebnisse weisen auf das Vorhandensein von SARS-CoV-2-RNA hin; zur Bestimmung des Infektionsstatus des Patienten ist eine klinische Korrelation mit der Krankengeschichte und anderen diagnostischen Informationen erforderlich. Positive Ergebnisse schließen eine bakterielle Infektion oder eine Co-Infektion mit anderen Viren nicht aus. Der nachgewiesene Erreger ist möglicherweise nicht die eindeutige Ursache der Krankheit. Laboratorien sind verpflichtet, alle Testergebnisse an die zuständigen Gesundheitsbehörden zu melden.

Negative Ergebnisse schließen eine SARS-CoV-2-Infektion nicht aus und sollten nicht als alleinige Grundlage für Entscheidungen über die Behandlung des Patienten herangezogen werden. Negative Ergebnisse müssen mit klinischen Beobachtungen, der Krankengeschichte und epidemiologischen Informationen kombiniert werden.

MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR ist ausschließlich für den professionellen Einsatz in der in-vitro-Diagnostik bestimmt.

VERFAHRENSPRINZIP

MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR ist eine Reverse-Transkriptions-Polymerase-Kettenreaktion (rRT-PCR) in Echtzeit. Die SARS-CoV-2 Primer- und Sondensätze sind für den Nachweis spezifischer Nukleinsäuren von SARS-CoV-2 ausgelegt.

Der Nachweis mit dem Kit erfolgt über eine Nukleinsäuren-Extraktion aus Atemwegsproben, gefolgt von einer Multiplex-Echtzeit-RT-PCR, die auf die SARS-CoV-2-spezifischen ORF1ab- und N-Gene abzielt. Echtzeit-PCR-Geräte, die mit FAM- (ORF1ab- und N-Gen) und ROX- (Interne Kontrolle, RNase P) Detektionskanälen ausgestattet sind, können für die gezielte Detektion genutzt werden, einschließlich PCR-Geräte wie beispielsweise die ultraSBMS24.

PRODUKTKOMPONENTEN

Tabelle 1 – Im Kit enthaltene Produktkomponenten

Komponenten	Menge
Master Mix mit 8 Reaktionen je Tüte (3 Tüten je Testkit)	24 Reaktionen
Negativkontrolle	500 µL
Positivkontrolle	500 µL
Dilution Solution	600 µL
Paraffinöl*	800 µL
Gebrauchsanweisung	1 Stk.

Hinweis: Die Komponenten aus dem Testkit sollten nicht mit verschiedenen Chargen oder mit Reagenzien anderer Hersteller gemischt werden. Die Positivkontrolle von SARS-CoV-2 und die interne Referenz wurden künstlich hergestellt und sind daher nicht infektiös.

**Paraffinöl ist bei der Verwendung des PCR-Instruments ultraSBMS24 unbedingt erforderlich. Werden andere PCR-Geräte für die PCR-Detektion verwendet, beachten Sie bitte die Gebrauchsanweisung des entsprechenden Herstellers bezüglich der Verwendung von Paraffinöl.*

LAGERUNG UND STABILITÄT

Das Kit sollte bei -20±5°C gelagert und vor Licht geschützt werden. Das Kit sollte nicht in der Nähe von Nukleinsäure-Quellen und PCR-Amplikonen gelagert werden. Die Haltbarkeit des Kits beträgt 12 Monate. Jedes Reagenz kann, bei Einhaltung der empfohlenen Lagertemperatur, bis zu dem auf dem Röhrchen angegebenen Verfallsdatum verwendet werden. Für den Versand können die Produkte für maximal 7 Tage bei Raumtemperatur gelagert werden. Die Transportdauer von 7 Tagen, bei einer Temperatur von ≤ 20 °C, darf nicht überschritten werden.

Das wiederholte Auftauen und Einfrieren sollte nicht mehr als 10-mal erfolgen. Verwenden Sie Reagenzien nicht mehr nach ihrem Verfallsdatum.

KOMPATIBLE INSTRUMENTE

Das Kit ist für alle PCR-Geräte mit den Mehrfarben-Fluoreszenzkanälen FAM und ROX geeignet. Das Testkit wurde mit der ultaSBMS24 validiert.

PROBENANFORDERUNGEN

Geeignete Probentypen

Nasopharyngealabstriche, Oropharyngealabstriche, Mund-/Speichelabstriche, kombinierte Nasopharyngeal-/Oropharyngealabstriche, vordere Nasenabstriche und mittlere Nasenabstriche im mid-turbinalen Bereich.

Entnahme und Transport der Proben

Da es sich bei SARS-CoV-2 um ein respiratorisches Virus handelt, sollte die biologische Sicherheit gemäß den einschlägigen Vorschriften gewährleistet werden. Es wird empfohlen, Abstrichtupfer mit einer Sollbruchstelle zu verwenden, um eine Kontamination während der Probennahme zu vermeiden. Die Probenentnahme und der Umgang mit den Proben sollten von medizinischem Personal unter Einhaltung persönlicher Schutzmaßnahmen anhand der aktualisierten Version der CDC „Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens for COVID-19" (Centers for Disease Control and Prevention) erfolgen.

Die Proben müssen gemäß der aktuellen Ausgabe der Gefahrgutvorschriften der International Air Transport Association (IATA) verpackt, versandt und transportiert werden. Befolgen Sie die Versandvorschriften für UN 3373 „Biologischer Stoff, Kategorie B", wenn Sie potenzielle SARS-CoV-2-Proben versenden.

Probenkonservierung

Mit dem MEDsan® Transfer Set/MEDsan® Transfer Single Set gesammelte Proben **sollten unmittelbar analysiert werden, andernfalls können sie für 24 Std. bei 2-8°C gelagert werden.** Die Proben können auch für 3 Monate bei -20 °C gelagert werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

Bitte lesen Sie vor Beginn der Anwendung das ganze Verfahren sorgfältig durch.

1. Extraktionsmethode

Extraktion mit dem MEDsan® Transfer Set/ MEDsan® Transfer Single Set

(1) Mischen Sie die Lösung nach dem Transfer des Probenabstrichtupfers in das Röhrchen mit der enthaltenen Lösung für **15 Sekunden** kräftig, idealerweise mit einer wirbelnden Bewegung. Stellen Sie das Röhrchen senkrecht bei Raumtemperatur auf. Lassen Sie es für **5 Minuten** inkubieren.

(2) Die freigesetzte Nukleinsäure kann direkt als Amplifikationsvorlage für den PCR-Nachweis verwendet werden.

Hinweis: Das hinzugefügte Probenvolumen zu jeder PCR-Reaktion ist 25 µL.

2. Vorbereitung der Reagenzien

Die PCR-Reaktionsgefäße, welche den Mastermix als Lyophilisat enthalten, müssen vor der Benutzung bei Raumtemperatur aufgetaut und 30 Sekunden lang zentrifugiert werden.

3. Probenzugabe

Geben Sie jeweils 25 µL der folgenden Substanzen in die entsprechenden Reaktionsgefäße gemäß der Testanordnung: Negativkontrolle, Probe(n), und Positivkontrolle. Mischen Sie die Proben/Kontrollen gründlich durch mehrmaliges Auf- und Abpipettieren (mindestens 5-mal oder bis die Lösung homogen ist). Geben Sie anschließend 25 µL Paraffinöl zusätzlich in jedes Gefäß. Wechseln Sie bei jedem Gefäß die Pipettenspitze.

Schließen Sie nach Zugabe der Proben und des Paraffinöls sofort den Deckel. Zentrifugieren Sie kurz den Reaktionsansatz runter, um Luftblasen zu entfernen. Überführen Sie anschließend die Reaktionsgefäße in den Amplifikationsbereich.

4. Einstellungen der PCR Amplifikation

Setzen Sie die Reaktionsgefäße auf den Probenhalter im Gerät. Richten Sie das Testfeld entsprechend den Positionen der Negativkontrolle, Positivkontrolle und der Proben ein.

Wählen Sie die Detektionskanäle wie folgt auss:

- Wählen Sie den Kanal FAM (ORF1ab- und N-Gen) für den Nachweis von SARS-CoV-2.
- Wählen Sie den ROX-Kanal zum Nachweis der internen Kontrolle (RNase P).

5. PCR-Amplifikation

Ausführliche Angaben des PCR-Amplifikationsprotokolls sind in Tabelle 2 dargestellt:

Tabelle 2 – RT-PCR Temperaturprotokoll

Schritt	Zyklen	Temperatur	Inkubationszeit
Reverse Transkription	1	50°C	3 min
Halten	1	95°C	10 s
Denaturierung	40	95°C	1 s
Annealing/ Elongation		55°C	1 s (Signalaufnahme)

Detektionskanäle des Instruments: FAM und ROX.

6. Interpretation der Ergebnisse

Nach Abschluss des PCR-Laufs werden die Ergebnisse automatisch gespeichert. Die Amplifikationskurven der detektierten Ziel-RNA und der internen Kontrolle werden separat analysiert.

Nach der Analyse werden im Amplifikationsdiagramm der Startwert, der Endwert und der Schwellenwert der Basislinie automatisch angepasst. Der Benutzer kann die Werte auch entsprechend der vorliegenden Testung anpassen. (Die Anpassung der Amplifikationskurve der negativen Kontrolle kann linear oder unterhalb der Schwellenwertlinie erfolgen.) Klicken Sie auf „Analysieren", um die Analyse durchzuführen. Die Parameter sollten die folgenden Anforderungen erfüllen, die in „Abschnitt 7. Qualitätskontrolle" angegeben sind. Speichern Sie sich die qualitativen Ergebnisse im angezeigten Fenster.

7. Qualitätskontrolle

Qualitätskontrollverfahren dienen der Überwachung der Reagenzien und der Assayleistung. Testen Sie alle Positivkontrollen vor der Durchführung diagnostischer Proben bei jeder neuen Charge, um sicherzustellen, dass alle Reagenzien und Kit-Komponenten ordnungsgemäß funktionieren. Bei jedem Amplifikations- und Detektionslauf müssen immer mindestens eine Negativkontrolle und die entsprechende Positivkontrolle mitgeführt werden.

Beide Kontrollen müssen in einem Durchgang die in Tabelle 3 beschriebenen Ergebnisse erzielen. Andernfalls ist der Lauf ungültig und muss wiederholt werden.

Tabelle 3 – Auswertung der Positiv- und Negativkontrollen

Qualitätskontrolle	Fluoreszenzkanal	Ergebnis
Negativkontrolle	FAM	Kein Ct oder Ct > 38
	ROX	Kein Ct oder Ct > 38
Positivkontrolle	FAM und ROX	Ct ≤ 30

8. Interpretation der Testergebnisse

Zunächst wird die Amplifikationskurve der internen Kontrolle im ROX-Kanal analysiert. Wenn der Ct-Wert ≤ 38 ist, zeigt dies an, dass die Messung gültig ist, und die Benutzer können mit der nachfolgenden Analyse fortfahren:

Wird mit dem FAM-Kanal eine typische sigmoidale Amplifikationskurve mit Ct ≤ 38 festgestellt, bedeutet dies, dass die Probe SARS-CoV-2 positiv ist.

Wird im FAM-Kanal keine typische sigmoidale Amplifikationskurve (kein Ct) oder Ct >38 festgestellt, ist kein genetisches Material von SARS-CoV-2 nachweisbar und somit das Ergebnis negativ.

Wenn der ROX-Kanal der internen Kontrolle kein Ct oder Ct >38 anzeigt, ist die Konzentration der getesteten Probe zu niedrig oder es liegt eine Hemmreaktion durch eine Störsubstanz vor. In diesem Fall muss der Test wiederholt werden.

Wenn eine Probe oder die Positivkontrolle hochkonzentriert ist und einen sehr kleinen Ct-Wert zeigt, kann die Dilution Solution benutzt werden, um die Probe vor einer erneuten RT-PCR zu verdünnen.

Für positive Proben und SARS-CoV-2-Kulturen sind die Ergebnisse der internen Kontrolle nicht erforderlich. Bei negativen Proben sollte die interne Kontrolle positiv sein. Wenn die interne Kontrolle negativ ist, ist das Testergebnis der Probe ungültig. Der Grund für das Fehlschlagen des Tests sollte ermittelt und beseitigt werden. Sowohl die Probenahme als auch der Versuch müssen wiederholt werden. (Wenn das Ergebnis des Wiederholungstests immer noch ungültig ist, wenden Sie sich bitte an den Hersteller.)

Zum besseren Verständnis sind alle möglichen Ergebnisse und die entsprechende Interpretation in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Table 4 – Interpretation der Testergebnisse

Fluoreszenzkanal		Ergebnisinterpretation
FAM (*ORF1ab*-Gen und *N-Gen*)	ROX (*RNase P* Gen)	
Ct ≤ 38	Ct ≤ 38	Positiv
Kein Ct oder Ct > 38		Negativ
Kein Ct oder Ct > 38	Kein Ct oder Ct > 38	Ungültig

Falls das Fluoreszenzsignal einer Probe einen signifikanten Anstieg im FAM-Kanal zeigt, der Ct-Wert jedoch über 38 liegt, sollte die Probe noch einmal analysiert werden. Falls im neuen Test erneut ein Ct-Wert über 38 angezeigt wird, ist eine neue Probenahme zu empfehlen.

HINWEISE ZUR ERGEBNISINTERPRETATION

1. Die Bewertung der Testergebnisse klinischer Proben muss erfolgen, nachdem die Positiv- und Negativkontrollen untersucht und für gültig und akzeptabel befunden wurden. Wenn die Kontrollen nicht gültig sind, können die Patientenergebnisse nicht interpretiert werden.
2. Ist das Ergebnis der internen Kontrolle negativ und sind die Ergebnisse des FAM- und ROX-Kanals ebenfalls negativ, dann wurde die Reaktion gehemmt oder das Arbeitsverfahren nicht ordentlich ausgeführt. Dies bedeutet, dass der Versuch ungültig ist und die Probe erneut untersucht werden sollte.
3. Befindet sich das Bestimmungsergebnis außerhalb des definierten Bereichs, bedeutet dies, dass die Probe erneut getestet oder erneut eine Probe für einen neuen Test gesammelt werden sollte. Handelt es sich bei der Kurve um eine offensichtlich sigmoidale Kurve, so ist das Ergebnis positiv; ist keine offensichtlich sigmoidale Kurve zu sehen, so ist das Ergebnis als negativ zu interpretieren.

EINSCHRÄNKUNGEN DES TESTS

1. Die Testergebnisse dieses Produkts dienen nur zur Unterstützung klinischer Diagnosen.
2. Die Testergebnisse hängen mit der Entnahme, der Lagerung und den Transportbedingungen der Proben zusammen, wobei jeder damit verbundene Fehler zu falsch-negativen Ergebnissen führen kann; kommt es bei der Probenverarbeitung zu einer Kreuzkontamination, können falsch-positive Ergebnisse auftreten.
3. Mutationen innerhalb der Zielregionen der MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR könnten die Primer- und/oder Sonden-Bindung beeinträchtigen, was dazu führen kann, dass das Virus nicht nachgewiesen werden kann und die Ergebnisse falsch negativ sind.
4. Inhibitoren oder andere Arten von Störungen können ein falsch-negatives Ergebnis hervorrufen.
5. Falsch-negative Ergebnisse können auch auftreten, wenn in der Probe nicht genug Material für die Detektion vorhanden ist.
6. Der Nachweis von SARS-CoV-2-RNA kann durch individuelle Patientenfaktoren (z.B. das Vorhandensein von Symptomen) und/oder das Stadium der Infektion beeinflusst werden.

LEISTUNGSMERKMALE DES PRODUKTS

1. Spezifität

Die Nachweisergebnisse dieses Kits zeigen keine Kreuzreaktionen mit endemischen, humanen Coronaviren (HKU1, OC43, NL63 und 229E), SARS-Coronavirus, MERS-Coronavirus, H1N1 (Influenza A (2009), saisonales H1N1-Influenzavirus), H3N2, H5N1, H7N9, Influenza B (Yamagata, Victoria), Respiratorisches Synzytialvirus (Typ A,B), Parainfluenzavirus (Typ 1,2,3), Rhinovirus (Gruppe A,B,C), Adenovirus (Typ 1,2,3,4,5,7,55), Enterovirus (Gruppe A,B,C,D), Humanes Pneumovirus, humanes partielles Pneumovirus, EB-Virus, Masernvirus, humanes Cytomegalovirus, Rotavirus, Norovirus, Mumpsvirus, Varizella-Zoster-Virus, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia pneumoniae, Legionella pertussis, Haemophilus influenzae, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis, Aspergillus fumigatus, Candida albicans, Candida glabrata, Cryptococcus neoformans.

2. Nachweisgrenze:

500 Kopien/mL.

3. Präzision:

Der Variationskoeffizient (CV) der Ct-Werte für die Präzision innerhalb der Testreihe beträgt ≤5 %.

4. Klinische Auswertung:

In dieser Studie wurden 300 Rachenabstriche und 305 Nasenabstriche in der klinischen Studie gewonnen, um die Leistung des MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR Kit mit einem PCR-Vergleichstest zu vergleichen. Die Ergebnisse der Sensitivität und Spezifität sind in Tabelle 5 und 6 für die getesteten Probentypen dargestellt.

Tabelle 5 - Leistung der MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR bei Oropharyngealabstrichen

Oropharyngealabstrich-proben		PCR-Vergleichsproben		
		Positiv	Negativ	Gesamt
MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR	Positiv	78	1	79
	Negativ	1	220	221
	Gesamt	79	221	300
Positive prozentuale Übereinstimmung (Sensitivität)		(78/79) x 100 = 98.73%		
Negative prozentuale Übereinstimmung (Spezifität)		(220/221) x 100 = 99.55%		

Tabelle 6 - Leistung der MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR bei Nasopharyngealabstrichen

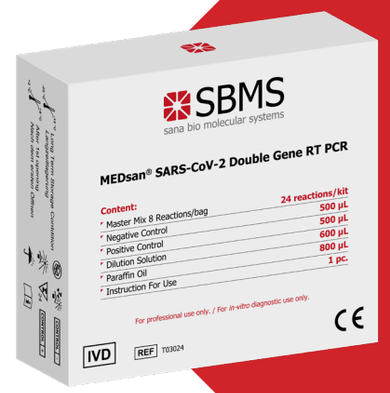
Nasopharyngealabstrich-proben		PCR-Vergleichsproben		
		Positiv	Negativ	Gesamt
MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR	Positiv	83	2	85
	Negativ	0	220	220
	Gesamt	83	222	305
Positive prozentuale Übereinstimmung (Sensitivität)		(83/83) x 100 = 100%		
Negative prozentuale Übereinstimmung (Spezifität)		(220/222) x 100 = 99.10%		

WARNHINWEISE / VORSICHTSMAßNAHMEN

1. Dieses Produkt ist nur für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
2. Die Anwender sollten vor dem Test mit dem jeweiligen Betriebsverfahren und den Vorsichtsmaßnahmen für jedes Gerät vertraut sein. Bitte stellen Sie sicher, dass Sie bei jedem Test eine Qualitätskontrolle durchführen.
3. Die Laborleitung muss sich streng an die Managementpraktiken eines PCR-Genamplifikationslabors halten. Das Laborpersonal muss professionell geschult sein. Die Testverfahren müssen in getrennten Bereichen durchgeführt werden. Alle Verbrauchsmaterialien sollten nur für den einmaligen Gebrauch bestimmt sein. Nach der Sterilisation sollten für jeden Prozess spezielle Instrumente und Geräte verwendet werden, und alle Laborgeräte, die in verschiedenen Prozessen und Standorten verwendet werden, sollten nicht für diesen Test verwendet werden, um eine Kontamination zu minimieren.
4. Alle zu untersuchenden Proben sollten als potenziell infektiös behandelt werden. Tragen Sie Laborkittel und Einweg-Schutzhandschuhe und wechseln Sie die Handschuhe häufig, um Kreuzkontaminationen zwischen den Proben zu vermeiden. Die Handhabung von Proben und Abfällen muss den einschlägigen Anforderungen der örtlichen, staatlichen und nationalen Vorschriften entsprechen.
5. Hinweis: Unsachgemäße Handhabung während der Lagerung, des Transports und der Verwendung der Reagenzien können die Testergebnisse beeinträchtigen. Sind beispielsweise unsachgemäße Lagerung und Transport, Probenentnahme, Probenverarbeitung und Testverfahren nicht standardisiert, halten Sie sich bitte streng an die vorgegebenen Anweisungen. Aufgrund verschiedener Faktoren von Abstrichen, anderen Probenentnahmeverfahren und des Virusinfektionsprozesses selbst, können falsch-negative Ergebnisse durch ein unzureichendes Probenvolumen verursacht werden, sodass andere klinische Diagnose- und Behandlungsinformationen für eine umfassende Beurteilung hinzugezogen werden sollten.
6. Die Proben müssen innerhalb kurzer Zeit nach der Probenahme getestet werden.
7. Beachten Sie die allgemeinen Schutzmaßnahmen. Alle Patientenproben und Positivkontrollen sind als potenziell infektiös zu betrachten und entsprechend zu behandeln.

SBMS
sana bio molecular systems

MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR



SYMBOLINDEX

Symbol	Bedeutung
IVD	*In-vitro* Diagnostikum
	Verwendbar bis
	Temperaturbegrenzung
	Vor Sonnenlicht schützen
	Vor Hitze und radioaktiver Strahlung schützen
	Vor Nässe schützen
CONTROL +	Positivkontrolle
CONTROL -	Negativkontrolle
LOT	Chargennummer
	Nicht verwenden wenn Verpackung beschädigt
	Hersteller
	Ausreichend für *N* Tests
	Gebrauchsanweisung beachten
CE	Europäische Konformität

MEDsan® GmbH
Brandshofer Deich 10 | 20539 Hamburg | Germany
E-Mail: info@sanagroup.com

IVD

CE

Nur für die *In-vitro* Diagnostik
Nur für den professionellen Gebrauch

DE

PRODUCT NAME

MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR

SPECIFICATION

The testkit includes reagents for 24 reactions.

INTENDED USE

The MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR is a one-step reverse transcription and real-time PCR (rRT-PCR) test intended for the qualitative or quantitative detection of RNA from SARS-CoV-2 in nasopharyngeal swabs, oropharyngeal (throat) swabs, oral/ saliva swabs, combined nasopharyngeal/oropharyngeal swabs, anterior nasal swabs, mid-turbinate nasal swabs, or mid-turbinate nasal swabs from individuals suspected of COVID-19 by their healthcare provider or for screening of individuals without symptoms or other reasons to suspect COVID-19 infection.

Results are for the identification of SARS-CoV-2 RNA. The SARS-CoV-2 RNA is generally detectable in respiratory specimens during the acute phase of infection. Positive results are indicative of the presence of SARS-CoV-2 RNA; clinical correlation with patient history and other diagnostic information is necessary to determine patient infection status. Positive results do not rule out bacterial infection or co-infection with other viruses. The agent detected may not be the definite cause of the disease. Laboratories are required to report all test results to the appropriate public health authorities.

Negative results do not preclude SARS-CoV-2 infection and should not be used as the sole basis for patient management decisions. Negative results must be combined with clinical observations, patient history, and epidemiological information.

The MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR is intended for professional use and in in vitro diagnostic procedures only.

TEST PRINCIPLE

The MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR is a real-time reverse transcription polymerase chain reaction (rRT-PCR) test. The SARS-CoV-2 primer and probe sets are designed to detect specific nucleic acids from the SARS-CoV-2.

Detection with the kit is achieved via nucleic acids extraction from respiratory tract samples followed by multiplex real-time RT-PCR targeting the SARS-CoV-2 specific ORF1ab and N genes. Real-time PCR instruments that are equipped with FAM (ORF1ab and N gene) and ROX (Internal control, RNase P) detection channels can be used for specific detection including PCR instruments such as the ultraSBMS24.

PRODUCT COMPONENTS

Table 1 – Product components included in the kit

Components	Amount
Master Mix with 8 reactions/bag (3 bags/kit)	24 reactions
Negative Control	500 µL
Positive Control	500 µL
Dilution Solution	600 µL
Paraffin Oil*	800 µL
Instructions	1 pc.

Note: The components in the kit should not be mixed with components with different lot numbers or chemicals of the same name but from different manufacturers.

The positive control of SARS-CoV-2 and internal reference were constructed artificially, and therefore they are not infectious.

** Paraffin oil is required if using the PCR Instrument ultraSBMS24. If other PCR instruments are used for PCR detection, please consult the instructions for use of the corresponding manufacturer regarding the use of paraffin oil.*

STORAGE AND STABILITY

The kit should be stored under -20 ± 5°C and protected from light. The kit should be stored away from nucleic acid sources and PCR amplicons. The period of validity of the kit is 12 months. Each reagent, when stored at the recommended storage temperature, may be used until the expiration date indicated on the tube.

Products can be shipped at room temperature for 7 days. The transportation time shall not exceed 7 days with a temperature of ≤ 20 °C.

Repeated thawing and freezing should not exceed more than 10 times for all reagents.

Do not use reagents beyond their expiration date.

COMPATIBLE INSTRUMENTS

The kit is applicable with PCR instruments with multi-color fluorescence channels FAM and ROX. The kit was validated with the ultraSBMS24.

SPECIMEN REQUIREMENTS

Appropriate Specimen types

Nasopharyngeal swabs, oropharyngeal swabs, oral/ saliva swabs, combined nasopharyngeal /oropharyngeal swabs, anterior nasal swabs, and mid-turbinate nasal swabs.

Specimen collection and transportation

Because SARS-CoV-2 is a respiratory virus, biosafety should be carried out in accordance with relevant regulations. It is recommended to use swabs with a breakable shaft to prevent contamination during sampling. Swab specimens and specimen handling should be collected by a healthcare provider in accordance with the updated version of the CDC "Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens for COVID-19" (Centers for Disease Control and Prevention).

Specimens must be packaged, shipped, and transported according to the current edition of the International Air Transport Association (IATA) Dangerous Goods Regulation. Follow shipping regulations for UN 3373 Biological Substance, Category B when sending potential SARS-CoV-2 specimens.

Specimen preservation

Collected Specimen with the MEDsan® Transfer Set/ MEDsan® Transfer Single Set **should be processed immediately, otherwise, it should be stored for 24h at 2-8 °C.** Specimens can also be stored for 3 months at -20 °C.

TEST METHOD

Please read this manual carefully before use.

1. Extraction of nucleic acids

Extraction with the MEDsan® Transfer Set/ MEDsan® Transfer Single Set

(1) Mix vigorously the solution after transferring the swab sample into the nucleic acid-releasing agent for **15 seconds**, ideally with a vortex. Place it vertically at room temperature for incubation for **5 minutes.**

(2) The released nucleic acid can be directly used as an amplification template for PCR detection. Note: The sample volume added to each PCR reaction is 25 µL.

2. Reagent Preparation

The PCR tubes containing the lyophilized Master Mix need to be thawed at room temperature and centrifuged for 30s before use.

3. Sample Adding

Add 25 µL of the following into the appropriate tubes according to your setup: Negative Control, Sample(s), and Positive Control. Make sure to mix thoroughly with the pipette at least 5 times or until the solution is homogenous. Add 25 µL paraffin oil into each tube. change the pipette-tip for each one.

After adding the samples and the paraffin oil, close the lid immediately. Spin down briefly using a centrifuge to remove air bubbles. Transfer the mixture to the amplification area.

4. PCR Amplification Set Up

Place the tubes on the sample holder in the instrument. Set up of the test panel according to the positions of negative control, positive control, and your samples.

Select the detection channels:

- Select FAM (ORF1ab gene and N gene) channel to detect SARS-CoV-2 RNA.
- Select ROX channel to detect the human internal control (RNase P).

5. PCR amplification

PCR amplification protocol details are set as depicted in table 2:

Table 2 – RT PCR program details

Step	Cycle Nr.	Temperature	Time
Reverse Transcription	1	50°C	3 min
Hold	1	95°C	10 s
Denature	40	95°C	1 s
Anneal/ Elongation		55°C	1 s (collection of fluorescence)

Instrument detection channel: FAM and ROX.

6. Result Interpretation

After the reaction is completed, the results are automatically saved. The amplification curves of the detected target RNA and the internal control are analyzed separately.

Certain devices have the function of automatically adjusting the threshold value of the Baseline. Users can also adjust the values based on the actual situation and PCR instrument. (Adjustment of the amplification curve of negative control can be linear or below the threshold line). Click "Analyze" to perform the analysis and the parameters should meet the following requirements mentioned in "Section 7. Quality Control". At last, record the qualitative results in the Plate window.

7. Quality Control

Quality control procedures are intended to monitor reagent and assay performance. Test all positive controls prior to running diagnostic samples with each new kit lot to ensure all reagents and kit components are working properly. Always include a negative control and the appropriate positive control in each amplification and detection run.

Both controls must meet the described results in one run as shown in table 3. Otherwise, the run is invalid and should be repeated.

Table 3 – Positive and Negative Control interpretation

Quality Control	Fluorescence Channel	Results
Negative Control	FAM	No Ct or Ct > 38
	ROX	No Ct or Ct > 38
Positive Control	FAM and ROX	Ct ≤ 30

8. Interpretation of test results

First, analyze the amplification curve of the internal control ROX channel. If Ct ≤ 38, it indicates that the detection is valid, and users can continue the subsequent analysis:

If a typical sigmoidal amplification curve is detected by the FAM channel, with Ct ≤ 38, it indicates that SARS-CoV-2 is positive.

If the FAM channel does not detect a typical S-type amplification curve (No Ct) or Ct > 38, it indicates that no genetic material of SARS-CoV-2 was detected, the result is negative.

If the internal control ROX channel failed to detect Ct or Ct > 38, it indicates that the concentration of the tested sample is too low or there is an inhibitory reaction from the interfering substance. Users have to repeat the experiment.

In case a sample or the positive control are very concentrated with a very low Ct, the dilution solution can be used to dilute the sample before running the RT PCR.

For positive samples and virus cultures, there is no requirement of the internal control results. For negative samples, the internal control should be positive. If the internal control is negative, the test result of the sample is invalid. The reason for failed testing should be determined and eliminated. Users should redo the sampling and repeat the experiment. (If the retest result is still invalid, please contact the manufacturer). For better understanding, all possible results and the corresponding interpretation are summarized in the table below:

Table 4 – Interpretation of patient specimen results

Channel		Result Interpretation
FAM (*ORF1ab* gene and *N* gene)	ROX (*RNase P* gene)	
Ct ≤ 38	Ct ≤ 38	Positive
No Ct or Ct > 38		Negative
No Ct or Ct > 38	No Ct or Ct > 38	Invalid

If the fluorescence signal of a sample has a significant increase in the FAM channel, but the Ct value is greater than 38, the sample should be re-examined. If the retest result still shows a Ct value above 38, it is recommended to re-collect a new swab sample.

ASSAY EXPLANATION

(1) Assessment of clinical specimen test results must be performed after the positive and negative controls have been examined and determined to be valid and acceptable. If the controls are not valid, the patient results cannot be interpreted.

(2) In case the internal standard result is negative as well as the results in FAM and ROX channels, the reaction is inhibited or the operation procedure is not properly conducted, showing that the experiment is invalid, and the specimen should be rechecked.

(3) If the result is out of the specified range, this indicates that the specimen should be re-tested or re-collected for a new test. If there is an obvious sigmoidal curve, the result is positive; if there is no sigmoidal curve, then the result is negative.

LIMITATION OF TEST METHODS

1. The test results are only for supportingclinical diagnosis.
2. Test results are related to the collection, preservation, and transportation conditions of the specimens, in which any linked error can lead to false negative results; if cross contamination occurs in the process of specimen processing, false positive results may occur.
3. Mutations within the target regions of the MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR could affect primer and/or probe binding resulting in failure to detect the presence of virus and false negative results.
4. Inhibitors or other types of interference may produce a false negative result.
5. False negative results may also occur if an inadequate amount of material for detection is present in the specimen.
6. Detection of SARS-CoV-2 RNA may be affected by factors related to the patient (e.g., presence of symptoms), and/or stage of infection.

PERFORMANCE EVALUATION OF PRODUCT

1. Specificity

The detection results of this kit have no cross reaction with endemic human coronavirus (HKU1, OC43, NL63 and 229E), SARS coronavirus, MERS coronavirus, H1N1 (influenza A (2009), seasonal H1N1 influenza virus), H3N2, H5N1, H7N9, influenza B (Yamagata, Victoria), respiratory syncytial virus (type A,B), Parainfluenza virus (type 1,2,3), rhinovirus (group A,B,C), adenovirus (type 1,2,3,4,5,7,55), Enterovirus (group A,B,C,D), Human pneumovirus, human partial pneumovirus, EB virus, measles virus, human cytomegalovirus, rotavirus, Norovirus, mumps virus, varicella-zoster virus, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia pneumoniae, Legionella pertussis, Haemophilus influenzae, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis, Aspergillus fumigatus, Candida albicans, Candida glabrata, Cryptococcus neoformans.

2. Limit of Detection:

500 copies/mL.

3. Precision:

The coefficient of variation (CV) of Ct values of within-run precision is ≤5%.

4. Clinical Evaluation:

In this study, 300 oropharnygeal swab specimens and 305 nasal swab specimens were obtained in the clinical study to compare the performance of MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR Kit with a PCR Comparator. The results of sensitivity and specificity are depicted in table 5 and 6 for the tested specimen types.

Table 5 – Performance of the MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR on oropharyngeal swab samples

Oropharyngeal swab samples		PCR Comparator		
		Positive	Negative	Total
MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR	Positive	78	1	79
	Negative	1	220	221
	Total	79	221	300
Positive Percent Agreement (Sensitivity)		(78/79) x 100 = 98.73%		
Negative Percent Agreement (Specificity)		(220/221) x 100 = 99.55%		

Table 6 – Performance of the MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR on nasopharyngeal swab samples

Nasopharyngeal swab samples		PCR Comparator		
		Positive	Negative	Total
MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR	Positive	83	2	85
	Negative	0	220	220
	Total	83	222	305
Positive Percent Agreement (Sensitivity)		(83/83) x 100 = 100%		
Negative Percent Agreement (Specificity)		(220/222) x 100 = 99.10%		

ATTENTIONS & PRECAUTIONS

1. This product is for in vitro diagnostic use only.
2. Users should be familiar with the operation procedures and precautions for each instrument before test. Please make sure to conduct a quality control for each test.
3. Laboratory management shall strictly follow management practices of PCR gene amplification laboratory. Laboratory personnel must receive professional training. Test processes must be performed in separated regions. All consumables should be for single use only. After sterilization, special instruments and devices should be used for every process, all lab devices used in different processes and regions should not be cross used.
4. All specimens for detection should be handled as if infectious. Wear laboratory coats, and protective disposables. Change the gloves often to avoid cross-contamination between specimens. Handling of specimens and waste must meet the relevant requirements outlined in local, state, and national regulations.
5. Note: Improper operation during the storage, transportation, and use of the reagent may affect the test results. For example, improper storage and transportation, specimen collection, specimen processing, and test process are not standardized, please strictly follow the instructions. Due to the characteristics of the swab and other specimen collection processes and the viral infection process itself, false negative results may be caused by insufficient specimen volume, which should be combined with other clinical diagnosis and treatment information for comprehensive judgment, re-test when necessary.
6. Specimens shall be tested within a short time after sampling.
7. Follow standard precautions. All patient specimens and positive controls should be considered potentially infectious and handled accordingly.

Index of Symbols

Symbol	Meaning
IVD	*In vitro* diagnostic medical device
	Use by date
	Temperature Limit
	Keep away from sunlight
	Protect from heat and radioactive sources
	Keep dry
CONTROL +	Positive control
CONTROL -	Negative control
	Do not use if package is damaged and consult instructions for use
LOT	Lot Number/Batch Code
REF	Catalog Number/Reference Number
	Manufacturer
	Contains sufficient for <n> tests
	Consult instructions for Use
CE	European Conformity

MEDsan® GmbH

Brandshofer Deich 10 | 20539 Hamburg | Germany

E-Mail: info@sanagroup.com

SBMS
sana bio molecular systems

MEDsan® SARS-CoV-2 Double Gene RT PCR

IVD

CE

For *in-vitro* diagnostic use only.
For professional use only

EN