



PhoenixDx® SARS-CoV-2 Multiplex IVD

In-vitro Diagnostikum

Qualitativer Nachweis von SARS-CoV-2 RNA

GEBRAUCHSANWEISUNG



50 Tests



PCCSKU15263



v 1.1



Procomcure Biotech GmbH
Breitwies 1
5303 Thalgau
+43 6229 39608
office@procomcure.com

Quality Management
System Certified

ISO 9001:2015
EN ISO 13485:2016



INDEX

| | |
|---|-----------|
| 1) VERWENDUNGSZWECK | 4 |
| 2) PHOENIXDX® PRODUKTBESCHREIBUNG | 4 |
| 2.1) QPCR-BASIERTER NACHWEIS VON SARS-COV-2 | 4 |
| 2.2) INHALT | 5 |
| 2.3) ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE MATERIALIEN UND GERÄTE..... | 5 |
| 2.4) LAGERUNG..... | 5 |
| 3) SICHERHEITSHINWEISE UND VORBEREITUNGEN | 6 |
| 3.1) BIOLOGISCHE SICHERHEIT | 6 |
| 3.2) PROBEN..... | 6 |
| 3.3) PROBEN – HANDHABUNG UND LAGERUNG | 6 |
| 3.4) PROBENVORBEREITUNG / NUKLEINSÄURE-EXTRAKTION | 7 |
| 3.5) REAKTIONSAUFBAU..... | 7 |
| 4) AUSWERTUNG | 8 |
| 5) GRENZEN DES VERFAHRENS..... | 10 |
| 6) QUALITÄTSKONTROLLE..... | 10 |
| 7) NICHT-KLINISCHE LEISTUNGSBEWERTUNG..... | 11 |
| 7.1) ANALYTISCHE SPEZIFITÄT – <i>IN SILICO</i> ANALYSE..... | 11 |
| 7.2) ANALYTISCHE SPEZIFITÄT – <i>IN VITRO</i> ANALYSE | 11 |
| 7.3) ANALYTISCHE SENSITIVITÄT & LINEARITÄT | 12 |
| 8) KLINISCHE DATEN | 12 |
| 9) MARKEN | 12 |
| 10) LITERATURE..... | 12 |
| 11) TECHNISCHE UNTERSTÜTZUNG | 13 |
| 12) SYMBOL DEFINITION (GEBRAUCHSANWEISUNG & VERPACKUNG)..... | 13 |



PhoenixDx® SARS-CoV-2 Multiplex IVD

In-vitro Diagnostikum

©2023 v1.1

NOTICE TO PURCHASER

The purchase of this product includes a limited, non-transferable immunity from suit under patent claims for using only this amount of product solely in performance of diagnostic services for human in vitro diagnostics, including reporting results of purchaser's activities for a fee or other commercial consideration, and also for the purchaser's own internal research. No right under any other patent claim is conveyed expressly, by implication, or by estoppel. This product is for laboratory use only.

LICENSE AGREEMENT FOR THE PHOENIXDX® MANUAL:

Use of this product signifies the agreement of any purchaser or user of the product to the following terms:

1. The product may be used solely in accordance with the protocols provided with the product and this manual and for use with components contained in the kit only. Procomcure Biotech grants no license under any of its intellectual property to use or incorporate the enclosed components of this kit with any components not included within this kit except as described in the protocols provided with the product, this manual.
2. Other than expressly stated licenses, Procomcure Biotech makes no warranty that this kit and/or its use(s) do not infringe the rights of third parties.
3. This kit and its components are licensed for one-time use and may not be reused, refurbished, or resold.
4. Procomcure Biotech specifically disclaims any other licenses, expressed or implied other than those expressly stated.
5. The purchaser and user of the kit agrees not to take or permit anyone else to take any steps that could lead to or facilitate any acts prohibited above. Procomcure Biotech may enforce the prohibitions of this Limited License Agreement in any Court, and shall recover all its investigative and Court costs, including attorney fees, in any action to enforce this Limited License Agreement or any of its intellectual property rights relating to the kit and/or its components.

1) VERWENDUNGSZWECK

PHOENIXDX® SARS-CoV-2 MULTIPLEX IVD ist ein in-vitro Diagnostik Test zum Nachweis viraler 2019-Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) RNA aus Proben aus dem Respirationstrakt von Patienten, die den klinischen und/oder epidemiologischen Kriterien entsprechen.

PHOENIXDX® SARS-CoV-2 MULTIPLEX IVD weist RNA aus nasopharyngealen und oropharyngealen Abstrichen während einer Infektion nach. Ein positives Ergebnis weist auf die Anwesenheit von SARS-CoV-2 RNA hin; eine klinische Korrelation mit der Patientengeschichte und klinische Daten anderer Analytikverfahren müssen berücksichtigt werden, um den tatsächlichen Infektionsstatus des Patienten angeben zu können. Positive Ergebnisse schließen keine zusätzlichen bakteriellen Infektionen oder Co-Infektionen mit anderen Viren aus.

Negative Ergebnisse mit **PHOENIXDX® SARS-CoV-2 MULTIPLEX IVD** schließen keine SARS-CoV-2 Infektion aus und dürfen nicht als alleiniges Kriterium zur Befundung herangezogen werden. Negative Ergebnisse müssen zusammen mit klinischer Beobachtung des Patienten, dessen Vorgeschichte und epidemiologischen Informationen betrachtet werden.

Die Verwendung von **PHOENIXDX® SARS-CoV-2 MULTIPLEX IVD** ist klinischem Personal vorbehalten, das speziell auf Technik und Anwendung von real-time PCR und der Arbeit im *in-vitro* Diagnostikbereich geschult wurde.

Dieses Analytikverfahren folgt den Richtlinien der CDC und WHO (03/2020).

2) PHOENIXDX® PRODUKTBESCHREIBUNG

PHOENIXDX® SARS-CoV-2 MULTIPLEX IVD ist ein Nachweisverfahren für das 2019 Wuhan Coronavirus (**SARS-CoV-2**, urspr. **2019-nCoV**). SARS-CoV-2 wird als neuartiges Coronavirus verstanden, welches sich von anderen humanen Coronavirus Stämmen (229E, NL63, OC43, HKU1) die Auslöser von saisonalen, akuten Atemwegserkrankungen sind, genetisch unterscheiden lässt. Es lässt sich zudem von den erst kürzlich bekannten Stämmen MERS-CoV und SARS-CoV genetisch unterscheiden.

PHOENIXDX® SARS-CoV-2 MULTIPLEX IVD weist ein virales Gen, das hochspezifisch für SARS-CoV-2 ist (N Gen), sowie ein spezifisches Gen für menschliche RNA nach, das als Extraktionskontrolle verwendet wird. Zusätzlich ist im Produkt eine nicht-infektiöse Positivkontrolle (**TPC**) enthalten, welche die Funktionalität beider Sonden (N Gen und HEC) sicherstellt. Die humane Extraktionskontrolle (**HEC**) gibt Aufschluss über die Qualität des Probenmaterials unabhängig von der Qualität der RNA Isolation. SARS-CoV-2 und HEC werden in unterschiedlichen Fluoreszenzkanälen detektiert, wodurch es möglich ist, beide Nachweise in einem einzigen Reaktionsgefäß durchzuführen.

2.1) qPCR-BASIERTER NACHWEIS VON SARS-CoV-2

Der erste Schritt im Nachweisverfahren ist die Übersetzung von viraler RNA in cDNA. Anschließend werden die Zielsequenzen (SARS-CoV-2 und HEC) parallel vervielfältigt und in Echtzeit in zwei unterschiedlichen Fluoreszenzkanälen gemessen. Durch den Einbau der Sonden in neu hergestellte DNA-Stränge werden die Fluorophore auf den Sonden getrennt und ein Anstieg des Fluoreszenzsignals kann gemessen werden. Aufgrund der intrinsischen

Mutationsrate von Coronaviren können Mutationen in der Zielsequenz auftreten, die zu falsch-negativen Ergebnissen in einem PCR-basierten Nachweisverfahren führen können.

Proben von Patienten, die positiv gemessen wurden, müssen immer durch ein komplementäres Verfahren in einem unabhängigen Labor bestätigt werden.

PHOENIXDX® SARS-CoV-2 MULTIPLEX IVD ist kompatibel mit jedem qPCR Gerät, das kalibrierte Kanäle für FAM™ und HEX/VIC besitzt, eine Normalisierung im ROX Kanal ist möglich, aber optional.

2.2) INHALT

| ANZAHL UND VOLUMEN | KOMPONENTE |
|--------------------|-------------------------------------|
| 1 x 50 µl | PhoenixDx® RT Enzyme Mix |
| 1 x 750 µl | PhoenixDx® SARS-COV-2 MULTIPLEX Mix |
| 1 x 200 µl | SARS-COV-2 MULTIPLEX TPC |

2.3) ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE MATERIALIEN UND GERÄTE

- Reagenzien und Geräte für RNA Isolation (siehe Kapitel 3.4)
- Real-time qPCR Cycler kalibriert für FAM™ und HEX/VIC (ROX optional)
- Pipetten und Pipettenspitzen mit Filter
- Nuklease-freies Wasser
- Persönliche Schutzausrüstung und geeignete Arbeitsplätze, um potenziell infektiöses Material bearbeiten zu können
- Oberflächenreinigungsmittel wie DNAzap™ (Life Technologies), DNA Away™ (Fisher Scientific), RNase Away™ (Fisher Scientific), 10% Bleiche (1:10 Verdünnung kommerziell erhältlichen 5.25-6.0% Natriumhypochlorids)
- Nuklease-freie Reaktionsröhrchen / -streifen / -platten um Verdünnungen, Mastermixe etc. herstellen zu können
- Nuklease-freie Reaktionsröhrchen / -streifen / -platten passend für das vorhandene qPCR Gerät
- Geeignete Lagermöglichkeiten für Reagenzien und Probenmaterial (4°C, -20°C, -70°C)

2.4) LAGERUNG

- Lagern sie alle Komponenten bei -20°C und vermeiden sie wiederholte Frieren/Tauen Zyklen (≤ 3 Zyklen, aliquotieren Sie die Reagenzien falls notwendig).
- Lagern Sie den PhoenixDx® SARS-COV-2 MULTIPLEX Mix lichtgeschützt. Ist der Mix längere Zeit Licht ausgesetzt, kann das die Leistung der Fluorophore beeinträchtigen.
- Sollten die Kit Komponenten beim Transport beschädigt worden sein, kontaktieren Sie Procomcure Biotech. Verwenden Sie das Kit nicht, da die Leistung beeinträchtigt sein kann.
- Lagern Sie die Reagenzien getrennt von Probenmaterial, um Kontamination vorzubeugen.
- Benutzen Sie das Kit nicht nach Ablauf der Haltbarkeit.

3) SICHERHEITSHINWEISE UND VORBEREITUNGEN

3.1) BIOLOGISCHE SICHERHEIT

- Tragen Sie immer angemessene Schutzkleidung, wenn Sie mit klinischen Proben arbeiten (puderfreie Handschuhe, Sicherheitsbrille, Labormantel).
- Klinische Proben müssen in einer Klasse II Sicherheitswerkbank bearbeitet werden. Verhaltensregeln zum Arbeiten unter der biologischen Sicherheitsstufe 2 müssen eingehalten werden.
- Weitere Informationen:
 - Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Patients Under Investigation (PUIs) for 2019 Novel Coronavirus (SARS-COV-2) <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/guidelines-clinical-specimens.html>
 - Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories 5th edition available at <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>.
- Die Benutzung von **PHOENIXDX® SARS-COV-2 MULTIPLEX IVD** und die anschließende Datenauswertung ist geschultem Laborpersonal vorbehalten.
- Gute Laborpraxis ist entscheidend für optimale Ergebnisse. Es ist besonders darauf zu achten, dass die Komponenten des Kits nicht verunreinigt werden. Dies muss ständig überwacht werden. Möglicherweise verunreinigte Reagenzien müssen je nach örtlichen Vorschriften entsorgt werden.

3.2) PROBEN

Verwenden Sie nur geeignetes Probenmaterial für die Tests wie z.B:

- Respiratorische Proben, darunter nasopharyngeale / oropharyngeale Punktate, Spülungen oder Abstriche, broncheoalveolare Spülungen, tracheale Punktate oder Sputum.
- Abstrich-Proben dürfen nur mit Tupfern mit synthetischer Spitze und Plastik- oder Aluminium-Schaft genommen werden (z.B. Polyester oder Dacron®). Tupfer mit Calciumalginat oder Baumwollspitzen und Holzschäften sind nicht empfohlen, da sie Bestandteile enthalten können, die einige Viren inaktivieren und die PCR inhibieren können. Diese Tupfer dürfen nur verwendet werden, wenn keine geeigneten Tupfer zur Verfügung stehen.

3.3) PROBEN – HANDHABUNG UND LAGERUNG

- Proben können nach Probennahme für bis zu 72 h auf 4°C gelagert werden.
- Können die Proben nicht zeitnah bearbeitet werden, müssen sie auf -70°C gelagert werden.
- Klinische Proben müssen als potenziell infektiös angesehen und dementsprechend gehandhabt werden.



Vortexen Sie niemals das Probenmaterial.
Dies kann zu einer Fragmentierung der RNA und so zu einem falsch-negativen Ergebnis von **PHOENIXDX® SARS-CoV-2 MULTIPLEX IVD** führen.

Verwenden Sie keine Proben die

- nicht auf 2-4°C für ≤ 4 Tage oder gefroren bei ≤ 70°C gelagert wurden.
- unzureichend beschriftet oder dokumentiert sind.
- nicht den Vorgaben für passendes Probenmaterial entsprechen (siehe oben).
- ein zu geringes Probenvolumen aufweisen.

3.4) PROBENVORBEREITUNG / NUKLEINSÄURE-EXTRAKTION

- Die Performance von rt-PCR Tests hängt sehr stark von Menge und Qualität der eingesetzten RNA ab. Es wird empfohlen, den RNA-Extraktionsprozess in Hinblick auf Ausbeute und Reinheit zu qualifizieren und validieren bevor Proben getestet werden.
- Geeignete Nukleinsäure-Extraktionssysteme, die erfolgreich zusammen mit PhoenixDx® Detektionskits verwendet wurden: Quick-RNA Viral Kits (Zymo Research), bioMérieux NucliSens® systems, QIAamp® Viral RNA Mini Kit, QIAamp® MinElute Virus Spin Kit or RNeasy® Mini Kit (QIAGEN), EZ1 DSP Virus Kit (QIAGEN), Roche MagNA Pure Compact RNA Isolation Kit, Roche MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit.
- Extrahieren Sie nur so viele Proben, wie am selben Tag getestet werden.
- Frieren und tauen Sie die extrahierte RNA nicht mehr als 1x vor dem Testen, da jeder Frieren/Tauen Zyklus die Qualität der RNA beeinträchtigt. Verwenden Sie für optimale Ergebnisse die extrahierte RNA direkt.
- Extrahierte RNA sollten auf ≤ -70°C gelagert werden und aliquotiert, falls wiederholte Tests zu erwarten sind.

3.5) REAKTIONSAUFBAU

- 1) Bevor Sie beginnen, stellen Sie sicher, dass Ausrüstung und benötigte Geräte geeignet, kalibriert und funktional sind.
- 2) Dekontaminieren Sie Ausrüstung und Arbeitsplätze und bereiten Sie alles für den folgenden Test vor, um den Arbeitsablauf kurz und wiederholbar zu halten.
- 3) Schalten Sie das PCR Gerät ein und stellen Sie die Parameter ein, um Verzögerungen nach Ansetzen der Reaktionen zu vermeiden.
- 4) Tauen Sie alle Komponenten von **PHOENIXDX® SARS-CoV-2 MULTIPLEX IVD** auf Eis und mischen Sie vorsichtig aber gründlich um sicherzustellen, dass alle Komponenten gleichmäßig verteilt sind. Zentrifugieren Sie die Röhrchen kurz ab, um allen Inhalt am Boden der Röhrchen zu sammeln.
- 5) Stellen Sie die **Mastermix Platte** her:
 - a. Planen Sie immer Kontrollreaktionen mit nuklease-freiem dH₂O anstelle von Probenmaterial (**NTC**) ein. So können kontaminierte Reagenzien zuverlässig erkannt werden.
 - b. Verwenden Sie **4 µl / Reaktion** von der enthaltenen Positivkontrolle (**TPC**)
 - c. > 2 Replikate pro Probe sind empfohlen.
 - d. Bereiten Sie genug Mastermix für alle geplanten Reaktion inklusive der Kontrollen vor. Mastermix für 2 zusätzliche Reaktionen hilft, Pipettierungenauigkeiten zu kompensieren.
 - e. Verteilen Sie den Mastermix auf die verwendeten Streifen / Platten.

| KOMPONENTE | VOLUMEN |
|-------------------------------------|--------------------------------------|
| PhoenixDx® RT Enzyme Mix | 1 µl |
| PhoenixDx® SARS-COV-2 MULTIPLEX Mix | 15 µl |
| Isolierte Proben-RNA / TPC / NTC | 4 µl / 4 µl / 4 µl dH ₂ O |

- 6) Bringen Sie die Mastermix Platte zu einem separaten Arbeitsplatz, um das Probenmaterial dazuzugeben. Getrennte Arbeitsbereiche für die Vorbereitung der Reagenzien und der Zugabe des Probenmaterials helfen, eine Kontamination von Reagenzien und Ausrüstung mit Probenmaterial zu vermeiden.
 - a. Stellen Sie negative Reaktionen zuerst her und versiegeln Sie diese bevor Sie (potenziell) positive Proben bearbeiten. Im Idealfall werden Probenmaterial und Positivkontrollen erst zum Arbeitsplatz gebracht, wenn die NTC bereits hergestellt und verschlossen wurde.
 - b. Fügen Sie Ihre Proben zur Mastermix-Platte hinzu.
 - c. Lagern Sie die fertigen Reaktionen auf Eis bevor sie ins PCR Gerät überführt werden.

- 7) Stellen Sie die fertige Reaktionsplatte ins PCR Gerät und verwenden Sie folgendes PCR Programm:

| SCHRITT | ZYKLEN | TEMPERATUR | DAUER |
|------------------------|--------|-------------------|-------------|
| Reverse Transkription | 1 | 50°C | 5 Minuten |
| Initiale Denaturierung | 1 | 95°C | 5 Minuten |
| Amplifikation | 40 | 95°C | 5 Sekunden |
| | | 60°C ¹ | 30 Sekunden |

¹ Stellen Sie die Detektion auf **FAM™** (Virus Detektion) und **HEX/VIC** (für die humane Extraktionskontrolle) ein. Wenn notwendig, stellen Sie **ROX** als Passive Reference ein.

Öffnen Sie die Streifen / Platten nach der PCR nicht und autoklavieren Sie diese nicht um Kontamination durch positive Amplikons zu vermeiden. Entsorgen Sie die Streifen / Platten gemäß den örtlichen Vorschriften.

4) AUSWERTUNG

- **dH₂O Kontrollen (NTC) dürfen im FAM™ Kanal keinen positiven Ct ergeben.** Falls doch, ist die Reaktion mit Proben-RNA / cDNA verunreinigt. Dekontaminieren Sie Ausrüstung und Arbeitsplätze und wiederholen Sie die betroffenen Reaktionen. Schließen Sie außerdem Geräte-bedingte Artefakte und einen falsch gesetzten Threshold aus. **Besteht das Problem weiterhin, verwenden Sie frische Reagenzien.**

- **Damit eine Probe als positiv für SARS-CoV-2 gilt, muss im FAM™ Kanal ein positiver Ct (CT < 37) detektiert werden.** Die Amplifikation der HEC im HEX/VIC Kanal ist bei Zyklus 22-29 zu erwarten. Sollte die HEC nicht amplifiziert werden, muss die Probe trotzdem bis auf Weiteres als positiv gewertet werden. Dieses Ergebnis wird oft bei ungewöhnlich hohem Virustiter beobachtet oder wenn die Proben nicht humanen Ursprungs sind wie z.B. Zellkulturproben oder Proben von kontaminierten Oberflächen.
- **Damit eine Probe als negativ für SARS-CoV-2 gilt, darf im FAM™ Kanal kein positives Signal / positiver Ct detektiert werden.** Die HEC muss einen positiven Ct Wert im HEX/VIC Kanal (Ct 22-29) liefern, um sicherzustellen, dass genug Probenmaterial in ausreichender Qualität eingesetzt wurde.
- **Wenn weder in FAM™ noch im HEX/VIC Kanal ein Signal detektiert wird, ist die PCR fehlgeschlagen.** Überprüfen Sie den Reaktionsansatz und die Geräteeinstellungen und wiederholen Sie bei Bedarf die RNA Extraktion. Das Ergebnis darf nicht interpretiert werden.
- **Alle Reaktionen, die isolierte RNA enthalten, müssen positive Ct-Werte für die HEC ergeben, sofern mit Proben humanen Ursprungs gearbeitet wird. Der erwartete Ct liegt bei 22-29.** Schlägt die Amplifikation der HEC fehl, war entweder die RNA Isolation fehlerbehaftet oder die Probe ist mit RNase kontaminiert. Sehr späte Ct-Werte für die HEC deuten auf eine geringe Menge / Qualität der eingesetzten RNA hin.
- **Wird die Kit-eigene Positivkontrolle verwendet, muss ein positiver Ct-Wert in FAM™ und HEX/VIC Kanal detektiert werden. Der Ct-Wert sollte < 35 sein.** Sollten die Ct Werte grob von den erwarteten Werten abweichen oder nur ein Kanal positive Ct Werte ergeben, liegt ein Problem mit der PCR vor. Überprüfen Sie Reaktionsansatz und Geräteeinstellungen und wiederholen Sie die Reaktionen. Vermeiden Sie wiederholte Frieren/Tauen Zyklen der TPC, da dies die Qualität beeinträchtigt und zu verspäteten Ct Werten führt.



Analysieren Sie die Proben in der Gerätesoftware immer unabhängig von den TPC-Reaktionen. Die TPC ist ein künstliches Kontrollkonstrukt, das in der Amplifikation ein deutlich höheres Fluoreszenzsignal erzeugt als echte Proben. Das kann Ergebnisse verzerren, wenn Proben und TPC gemeinsam analysiert werden. Für die Analyse darf der Threshold nur für Wells gesetzt werden, die Proben enthalten, nicht aber für die Wells, die die TPC enthalten. Wenn Reaktionen mit Probenmaterial fehlgeschlagen zu sein scheinen, überprüfen Sie, ob die Darstellung die TPC beinhaltet.

Tabelle 1 Interpretation der Ergebnisse mit PhoenixDx® SARS-CoV-2 Multiplex IVD

| SARS-CoV-2 | HEC | INTERPRETATION |
|------------|-----|---|
| + | + | Die Zielsequenzen für SARS-CoV-2 und HEC wurden amplifiziert. Die Probe ist positiv für SARS-CoV-2 . |
| / | + | Nur die Zielsequenzen für HEC wurden amplifiziert. Die Probe ist negativ für SARS-CoV-2 . |
| + | / | Nur die Zielsequenz für SARS-CoV-2 wurde amplifiziert, nicht aber die HEC . Die Probe gilt dennoch als positiv für SARS-CoV-2 . Dieses Ergebnis ist möglich bei ungewöhnlich hohem Virustiter oder Proben nicht-humaner Herkunft z.B. Zellkultur oder Oberflächenproben. |
| / | / | Die PCR ist fehlgeschlagen, das Ergebnis ist nicht valide. |
| + | + | Zu erwartendes Ergebnis für die TPC. |

5) GRENZEN DES VERFAHRENS

- Für valide Ergebnisse ist es essenziell, die Vorgaben in dieser Gebrauchsanweisung zu befolgen. Änderungen an Reaktionsansatz oder PCR Programm können dazu führen, dass der Test fehlschlägt.
- Abhängig von der Probenmatrix kann die isolierte RNA Inhibitoren enthalten, die die reverse Transkription oder die PCR stören. In dem Fall ist ein anderer Proben-Typ oder eine alternative Isolationsmethode zu empfehlen.
- Spontane Mutationen in der Zielsequenz können dazu führen, dass die Zielsequenz nicht mehr detektiert wird.
- Die Ergebnisse müssen immer im Zusammenhang mit allen anderen zu einer Probe verfügbaren Daten interpretiert werden. Die Auswertung darf nur durch geschultes Personal erfolgen, das Erfahrung mit dieser Art von Test hat.
- Aus Sicherheitsgründen darf die Probennahme, -transport, -lagerung und weitere Bearbeitung nur durch geschultes Personal erfolgen.
- Dieser Test darf nicht direkt mit Probenmaterial durchgeführt werden. Eine geeignete Methode zur Nukleinsäure-Extraktion muss vorher angewendet werden.
- Valide Ergebnisse erfordern zwingend richtige Probennahme, -lagerung und -bearbeitung.

6) QUALITÄTSKONTROLLE

Jede LOT PHOENIXDX® SARS-CoV-2 MULTIPLEX IVD wird in Übereinstimmung mit Procomcure Biotech GmbH's EN ISO 13485-zertifiziertem Qualitätsmanagementsystem anhand vorgegebener Spezifikationen getestet, um gleichbleibende Produktqualität zu gewährleisten.

7) NICHT-KLINISCHE LEISTUNGSBEWERTUNG

7.1) ANALYTISCHE SPEZIFITÄT – IN SILICO ANALYSE

Die *in silico* Analyse für mögliche Kreuzreaktionen mit den in **Tabelle 2** gelisteten Organismen wurde durchgeführt, indem die in **PHOENIXDX® SARS-COV-2 MULTIPLEX IVD** verwendeten Primer auf SARS-CoV-2 Sequenzen aus NCBI gemappt wurden. Mögliche Amplifikationen (d.h. eines der Primersets wurde auf den entgegengesetzten Strängen mit kurzer Distanz gemappt) wurden als solche markiert.

Laut den Ergebnissen der *in silico* Analyse sind keine Kreuzreaktionen zu erwarten.

7.2) ANALYTISCHE SPEZIFITÄT – IN VITRO ANALYSE

PHOENIXDX® SARS-COV-2 MULTIPLEX IVD wurde gegen ein Set von 60 verschiedenen Kontrollen (viral, bakteriell und human) auf Spezifität getestet. Das Set enthielt außer den Kontrollgenomen ein künstliches SARS-CoV-2 Genom und ein SARS-CoV-2 Isolat. Der Test wurden anhand der Vorgaben dieser Gebrauchsanweisung durchgeführt.

Tabelle 2 Liste der für den *in vitro* Spezifitätstest verwendeten Organismen

| TARGET | RESULT | TARGET | RESULT | TARGET | RESULT |
|-------------------------------|--------|----------------------------|--------|------------------------------|--------|
| HSV-1 (herpes simplex 1) | / | Candida albicans | / | Salmonella subterranea | / |
| HSV-2 (herpes simplex 2) | / | Enterococcus faecalis | / | Salmonella bongori | / |
| HHV-6 (human herpesvirus 6) | / | Salmonella enterica | / | Plasmodium falciparum | / |
| HHV-6B (human herpesvirus 6B) | / | Bacillus subtilis | / | Trypanosoma brucei | / |
| HHV-8 (human herpesvirus 8) | / | Pseudomonas aeruginosa | / | Leishmania major | / |
| HHV-5 (HCMV) | / | Staphylococcus epidermidis | / | Neisseria gonorrhoeae | / |
| EBV (epstein barr virus) | / | Clostridium perfringens | / | Neisseria lactamica | / |
| human gDNA (pool male/female) | / | Candida kefyr | / | Toxoplasma gondii | / |
| Staphylococcus aureus (Mu50) | / | Candida tropicalis | / | Chlamydia trachomatis D | / |
| Clostridium difficile | / | Candida glabrata | / | Chlamydia trachomatis LGV | / |
| Listeria monocytogenes | / | Streptococcus pneumoniae | / | Chlamydia trachomatis C.S. | / |
| Listeria innocua | / | Serratia marcescens | / | Chlamydia pneumoniae | / |
| Listeria ivanovii | / | Shigella flexneri | / | VZV (varicella zoster virus) | / |
| Legionella pneumophila | / | Pseudomonas sp. AOP | / | Influenza A | / |
| TOP10 (E.coli) | / | Haemophilus influenzae | / | Influenza B | / |
| EPEC (E.coli) | / | Pseudomonas stutzeri | / | MERS-CoV | / |
| Cronobacter sakazakii | / | Enterococcus faecium | / | Artificial SARS-CoV-2 | + |
| Chlamydia trachomatis | / | Acinetobacter baumannii | / | SARS-CoV-2 isolate | + |
| Helicobacter pylori | / | Campylobacter jejuni | / | TPC (SARS-CoV-2) | + |
| Yersinia enterocolitica | / | Mycoplasma | / | NTC | / |

7.3) ANALYTISCHE SENSITIVITÄT & LINEARITÄT

Der LOD95 (Limit of Detection) definiert die Anzahl an Zielsequenzen (Kopienzahl), die in $\geq 95\%$ der Reaktionen nachweisbar ist. Der LOD95 wurde bestimmt, indem eine serielle Verdünnung von isolierter SARS-CoV-2 RNA in 8 Konzentrationen und 24 Replikaten pro Konzentration analysiert wurde. Eine Kopie der viralen genomischen RNA konnte in 6 von 24 Replikaten nachgewiesen werden. Der LOD95 für **PHOENIXDX® SARS-COV-2 MULTIPLEX IVD** sind 11 Kopien / 20 μ l Reaktion bzw. 3 Kopien / μ l Eluat der Isolation

8) KLINISCHE DATEN

Die Leistung von **PHOENIXDX® SARS-COV-2 MULTIPLEX IVD** wurde in einem paarweisen Vergleich mit nasopharyngealen Abstrichen evaluiert. Die Proben stammten von 100 Patienten mit Symptomen eines Infekts der oberen Atemwege, getestet wurde gegen ein validiertes CE IVD Referenzprodukt für den Nachweis von SARS-CoV-2 RNA. Die RNA wurde manuell im Spin Column Verfahren nach Angaben des Herstellers isoliert. Die klinischen Proben wurden durch qualifiziertes Personal nach Angaben des Herstellers der Tupfer genommen. Alle Proben wurden mit einem kommerziell erhältlichen Nukleinsäure-Nachweis negativ auf Mikroorganismen getestet, die üblicherweise Infekte der oberen Atemwege auslösen.

| REFERENZMETHODE | N | PHOENIXDX® SARS-CoV-2 MULTIPLEX IVD | |
|--|----|-------------------------------------|---------|
| | | POSITIV | NEGATIV |
| Positiv | 42 | A= 40 | B= 2 |
| Negativ | 42 | C= 0 | D= 42 |
| Klinische Sensitivität = $[a/(a+c)] \times 100 = [40/(40+0)] \times 100 =$ | | | 100 % |
| Klinische Spezifität = $[d/(b+d)] \times 100 = [42/(2+42)] \times 100 =$ | | | 95,40 % |

9) MARKEN

PhoenixDx®, NucliSens® (bioMérieux), QIAamp®, RNeasy® (QIAGEN), ChargeSwitch® (Invitrogen), ROXTM, FAM™ (Life Technologies), DNAZap™, DNA Away™, RNase Away™

Registered names, trademarks, etc. used in this document, even if not specifically marked as such, are not to be considered unprotected by law.

10) LITERATURE

Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020;25(3):2000045. doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045

11) TECHNISCHE UNTERSTÜTZUNG

Bei Fragen und für technische Unterstützung kontaktieren Sie Procomcure Biotech:

Procomcure Biotech GmbH
Breitwies 1
5303 Thalgau
+43 6229 39608
support@procomcure.com



12) SYMBOL DEFINITION (MANUAL & PACKAGING)



Ausreichend für <n> Prüfungen



Artikelnummer



Hersteller



Charge



Temperaturbegrenzung



Verwendbar bis



Gebrauchsanweisung beachten



In vitro Diagnostikum



NOTIZEN



NOTIZEN

Procomcure Biotech GmbH

Breitwies 1

5303 Thalgau

+43 6229 39608

www.procomcure.com

