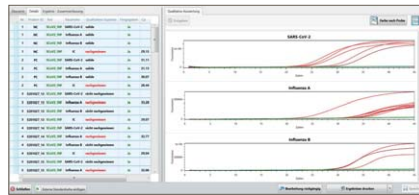




EURORealTime SARS-CoV-2/Influenza A/B



- **Zuverlässiger PCR-Test zur spezifischen Detektion von SARS-CoV-2 inklusive aller aktuell relevanten Varianten sowie von Influenzaviren vom Typ A und B in einer Probe**
- **Schneller und einfacher Erregernachweis mittels reverser Transkription und Real-Time-PCR in einem Schritt**
- **Zur differenzialdiagnostischen Abklärung von Symptomen, die sowohl mit COVID-19 als auch Influenza assoziiert sein können**

Technische Daten

Testprinzip	Reverse Transkription der Genome von SARS-CoV-2 und der Influenzaviren Typ A und B mit nachfolgender PCR-Amplifizierung und Real-Time-Detektion mithilfe spezifischer Primer und Sonden
Testablauf	Reverse Transkription und Real-Time-PCR in einem Ansatz (ca. 90 min), softwareunterstützte Auswertung
Probenmaterial	Nasopharynxabstrich
Reagenzien	Gebrauchsfertig
Kontrollen	Interne Inhibitions- und Extraktionskontrolle (RNA), SARS-CoV-2/Influenza-A/B-Positivkontrolle (RNA), Negativkontrolle
CE-Kennzeichnung	Testsystem validiert für die automatisierte Nukleinsäure-Extraktion mit dem Gerät chemagic 360-D (Revity), Testsystem validiert für folgende Real-Time-PCR-Cycler: Eonis Q96 (Revity), LightCycler 480 II (Roche), 7500 Fast Real-Time PCR Instrument (Applied Biosystems), CFX96 Touch (Bio-Rad), qTower ³ (Analytik Jena); andere Geräte sind vom Anwender selbst zu validieren.
Packungsformat	100, 200 oder 1.000 Reaktionen
Bestell-Nr.	MP 2606-0100-20, -0200-20, -1000-20 ; nicht erhältlich in Brasilien, China und den USA

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. 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). Influenzaviren (Grippeviren) gehören zur Familie der Orthomyxoviren, man unterscheidet die Typen A bis D. Anders als Typ-C- und Typ-D-Viren verursachen Typ-A und Typ-B-Viren saisonale Epidemien. Pandemien entstehen durch Influenza-A-Viren zoonotischen Ursprungs: Sie zirkulieren außer im Menschen auch in Nutztieren wie Schweinen, Pferden und Geflügel sowie in wildlebenden Vögeln und werden in 18 Hämagglutinin-Subtypen (H1–18) und 11 Neuraminidase-Subtypen (N1–11) unterteilt. Influenza-B-Viren, von denen weltweit zwei genetisch unterschiedlichen Linien (Yamagata und Victoria) kursieren, findet man dagegen nur im Menschen.

Die saisonalen Grippeausbrüche, meist in den Wintermonaten, breiten sich schnell aus. 5 bis 10% der Erwachsenen und 20 bis 30% der Kinder infizieren sich jährlich weltweit. Zwischen COVID-19 und einer Influenza kann im frühen Stadium anhand der Symptome nicht unterschieden werden, ebenso wenig lassen sich Infektionen mit Influenzaviren vom Typ A und B klinisch voneinander abgrenzen. Die Diagnose erfolgt nach Identifizierung des Erregers aus Proben der Atemwege mittels Nukleinsäure- oder Antigennachweis.

	SARS-CoV-2	Saisonale Influenzaviren
Übertragungsweg	Tröpfchen, Aerosole und Kontaktinfektion	
Höchste Infektiosität	in der Regel kurz vor Symptombeginn	nach Symptombeginn
Inkubationszeit	4 – 6 Tage	1 – 4 Tage
Risikofaktoren für schweren Verlauf	Risiko steigt mit dem Alter; Adipositas, Bluthochdruck, chronische Erkrankungen	jünger als 2 Jahre und älter als 65 Jahre; Immunsuppression, Schwangerschaft, Adipositas, chronische Erkrankungen
Häufigste Symptome der Erkrankung	Fieber, Schüttelfrost, Kopfschmerzen, Muskelschmerzen, trockener Husten, Kurzatmigkeit, Erschöpfung, Verlust des Geruchssinns, gastrointestinale Beschwerden	Fieber, Schüttelfrost, Kopfschmerzen, Muskelschmerzen, Husten, Auswurf, verstopfte Nase, Halsschmerzen, Erschöpfung
Peak der Erkrankung	während der 2. oder 3. Woche	innerhalb von 3 bis 7 Tagen

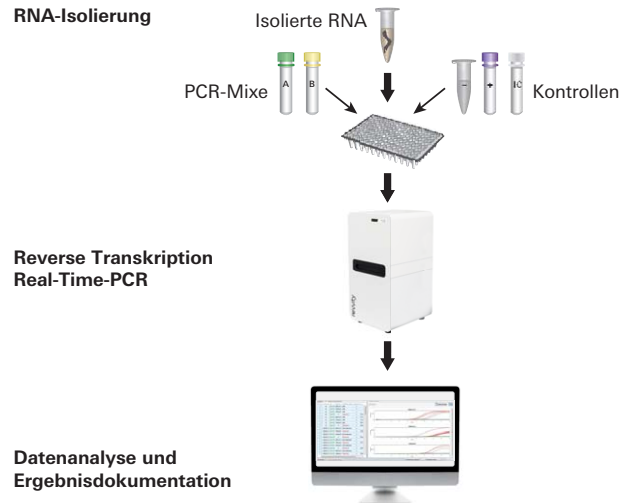
Klinische Charakteristika der Infektionen mit SARS-CoV-2 und Influenzaviren A und B

Koinfektionen mit Influenzaviren vom Typ A und B sind ungewöhnlich und in erster Linie nosokomial; Koinfektionen mit Influenzaviren wurden nur in 0,7% der Patienten mit einer SARS-CoV-2-Infektion beobachtet.



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) sowie je eines definierten Abschnitts in den Genomen der Influenzaviren vom Typ A und B. Reverse Transkription, Amplifizierung und Detektion der cDNA von SARS-CoV-2 sowie der Influenzaviren vom Typ A und B werden mithilfe spezifischer Primer und Sonden durchgeführt. Der Test beinhaltet eine interne Amplifikationskontrolle, die als Inhibitionskontrolle und zusätzlich als Extraktionskontrolle dient. Eine im Testsetz enthaltene SARS-CoV-2/Influenza-A/B-Positivkontrolle wird als externe Kontrolle in jedem Testlauf mitgeführt. 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 Testsystem verwendeten Primer und Sonden wurden auf Basis der folgenden Sequenzen, eingetragen im National Center for Biotechnology Information (NCBI), entwickelt: NC_045512.2 (SARS-CoV-2), NC_007367.1 (Influenzavirus-A-Subtyp H3N2), NC_026431.1 (Influenzavirus-A-Subtyp H1N1), NC_002211.1 (Influenzaviren Typ B). Die untere Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) wurde mit quantifizierter SARS-CoV-2- und Influenzaviren-A/B-spezifischer RNA 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 bei jeweils 1,5 cp/µl (SARS-CoV-2 und Influenzavirus-A-Subtypen H3N2 und H1N1) bzw. 3 cp/µl (Influenzaviren Typ B) 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 mit Sequenzvergleichsanalysen auf mögliche Homologien zu allen in der „nr“-Datenbank des NCBI verfügbaren Sequenzen (Stand SARS-CoV-2: 13.02.20, Stand Influenzaviren: 17.09.20) überprüft, um mögliche Kreuzreaktivitäten auszuschließen (www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast). Zusätzlich wurde Nukleinsäure von Erregern, die im Respirationstrakt vorkommen können oder eng mit SARS-CoV-2 bzw. Influenzaviren verwandt sind, mit dem EURORealTime SARS-CoV-2/Influenza A/B untersucht. In keinem Fall wurde eine Kreuzreaktion detektiert. Um Kreuzreaktionen mit humaner genomischer DNA oder RNA auszuschließen, wurden je 100 ng/Reaktion eingesetzt. In keinem Fall wurde eine Kreuzreaktion detektiert.

Evaluierung

Es wurde evaluiert, inwieweit die mit dem EURORealTime SARS-CoV-2/Influenza A/B für ein klinisches Probenkollektiv erzielten Ergebnisse mit denen übereinstimmen, die man mit anderen Referenztests für SARS-CoV-2, Influenza-A oder B erhält.

SARS-CoV-2:

132 Proben (Nasopharynxabstriche)		Externe Vorcharakterisierung mit SARS-CoV-2-Real-Time-PCR-Referenztest	
		positiv	negativ
EURORealTime SARS-CoV-2/Influenza A/B	positiv	55	0
	negativ	1*	76

* gemäß Vorcharakterisierung sehr schwach positiv

Influenzaviren Typ A:

175 Proben (Nasopharynxabstriche)		Externe Vorcharakterisierung mit Influenza-Real-Time-PCR-Referenztest	
		positiv	negativ
EURORealTime SARS-CoV-2/Influenza A/B	positiv	50	0
	negativ	3**	122

** gemäß Vorcharakterisierung schwach bzw. sehr schwach positiv

Influenzaviren Typ B:

175 Proben (Nasopharynxabstriche)		Externe Vorcharakterisierung mit Influenza-Real-Time-PCR-Referenztest	
		positiv	negativ
EURORealTime SARS-CoV-2/Influenza A/B	positiv	47	1***
	negativ	0	127

*** gemäß Testergebnis sehr schwach positiv

Positive Übereinstimmung: 98,2%
Negative Übereinstimmung: 100%

Positive Übereinstimmung: 94,3%
Negative Übereinstimmung: 100%

Positive Übereinstimmung: 100%
Negative Übereinstimmung: 99,2%