

**DE**

# Gebrauchsanweisung

## ViroQ® SC2 Variant

Test Kit zum Nachweis von bestimmten Mutationen der SARS-CoV-2 RNA

Elektronische Gebrauchsanweisung siehe [www.bag-diagnostics.com](http://www.bag-diagnostics.com)

**RUO**

Nur für Forschungszwecke – nicht für diagnostische Zwecke.

**REF 728272 ViroQ® SC2 Variant 1 RUO 96 Tests**

**REF 728273 ViroQ® SC2 Variant 2 RUO 96 Tests**

Für die Verwendung mit			
Probentypen	RNA Extraktionskits / Automatisierte Extraktionsinstrumente	Real-time PCR Instrumente	
Nasopharyngeal (NP) Abstrich	QIAGEN QIAamp Viral RNA Mini QIAcube Kit / QIAcube	Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System	
Oropharyngeal (OP) Abstrich			
Nasal Abstrich	Roche Roche MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit / MagNA Pure 96 Instrument		Roche LightCycler® 480 System II
Anterior nasal Abstrich	Thermo KingFisher Thermo Fisher MagMAX Viral/PathogenNucleic Acid Isolation Kit		
Mittlerer Nasenmuschel Abstrich			

**Version: 6/2021 / Stand: 2021-06**

**Inhalt**

1. APPLIKATION .....	3
2. PRODUKT BESCHREIBUNG .....	3
3. TEST PRINZIP .....	3
4. MATERIAL .....	3
4.1 Inhalt des ViroQ® SC2 Variant Kits.....	4
4.2 Zusätzlich notwendige Reagenzien und Geräte .....	4
4.3 Validierte Cyclers und Reaktionsgefäße .....	4
5. LAGERUNG UND STABILITÄT .....	4
6. TESTVERFAHREN.....	5
6.1 Vorsichtsmaßnahmen und besondere Hinweise .....	5
6.2 RNA Isolierung.....	5
6.3 Vorbereitung der Reagenzien .....	5
6.4 Amplifikation .....	6
6.5 Cycler Einstellungen .....	7
6.6 Interpretation der Ergebnisse.....	8
7. WARNHINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN .....	13
8. GRENZEN DER METHODE .....	13
9. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE .....	14
10. TROUBLESHOOTING .....	14
11. IN DIESEM DOCUMENT/PRODUKT VERWENDETE MARKEN.....	14
12. ERKLÄRUNG DER AUF DEN ETIKETTEN VERWENDETEN SYMBOLE.....	15
13. LITERATUR.....	15

## 1. APPLIKATION

Die ViroQ® SC2 Variant Kits werden für den qualitativen Nachweis von SARS-CoV-2 RNA-Varianten (Nach RKI sind Alpha B.1.1.7, Beta B.1.351, Gamma P.1 und Delta B.1.617.2 besorgniserregende SARS-CoV-2-Virusvarianten (26.05.2021); [RKI - Coronavirus SARS-CoV-2 - Übersicht und Empfehlungen zu besorgniserregenden SARS-CoV-2-Virusvarianten \(VOC\)](#)) und deren korrespondierenden Spike-Protein Mutationen in Probenmaterial aus Atemwegen wie Nasopharyngeal- (NP), Oropharyngeal- (OP), Nasal-, Anterior Nasal- und mittlerer Nasenmuschel-Abstrich mittels reverser Transkription der RNA und anschließender Amplifikation in der Real-Time PCR verwendet.

Detektierte Varianten im ViroQ® SC2 Variant 1	
WHO label	Pango lineage
Alpha	B.1.1.7
Beta	B.1.351
Gamma	P.1
Zeta	P.2
-	B.1.1.28

Detektierte Varianten im ViroQ® SC2 Variant 2	
WHO label	Pango lineage
Alpha	B.1.1.7
Delta	B.1.617.2
Epsilon	B.1.427/B.1.429
Eta	B.1.525
Kappa	B.1.617.1
-	B.1.617.3

**Nur für Forschungszwecke - nicht für diagnostische Zwecke.**

## 2. PRODUKT BESCHREIBUNG

Die ViroQ® SC2 Variant Kits basieren auf einer Ein-Schritt-Reaktion in der Real-Time PCR-Technologie mit einem komprimierten PCR Profil ( $\leq 1$ h). Mit einer effizienten cDNA-Synthese aus RNA in Verbindung mit einer Real-Time PCR bieten die ViroQ® SC2 Variant Kits die Möglichkeit, den Test in einem Schritt durchzuführen. Die Kits enthalten Primer und fluoreszierende Sonden zur Amplifikation und zum Nachweis von Genfragmenten für SARS-CoV-2 und dessen Mutationen.

## 3. TEST PRINZIP

Der Test wird mit RNA als Ausgangsmaterial durchgeführt. Die RNA wird mit einer reversen Transkriptase in cDNA umgewandelt und anschließend in einer PCR amplifiziert. Die Primer wurden speziell für eine generische Amplifikation transkribierter cDNA der viralen RNA entwickelt. Die SARS-CoV-2 Varianten werden mit SNP-spezifischen fluoreszenz-markierten Hydrolysesonden (TaqMan®-Sonden) nachgewiesen (<https://dx.doi.org/10.15585%2Fmmwr.mm7003e2>).

Die spezifischen Sonden werden durch die Taq-Polymerase hydrolysiert und ein Fluoreszenzsignal erzeugt, das proportional zur Menge des PCR-Produkts mit der vorhandenen Spezifität zunimmt. Die Fluoreszenzsignale werden von der optischen Detektionseinheit des Real-Time PCR-Cycler gemessen.

Der Test wird in one PCR-Reaktionen durchgeführt, welche die jeweilig vorhandene Mutation entsprechend der SNPs mit unterschiedlichen fluoreszierenden Farben nachweisen.

## 4. MATERIAL

#### 4.1 Inhalt des ViroQ® SC2 Variant Kits

- **ViroQ|ENZYME** ViroQ® Enzyme, lyophilisiert, enthält Reverse Transkriptase, Taq Polymerase, dNTPs
- **ViroQ|SOLV** ViroQ® Solvent, gebrauchsfertig, enthält Rekonstitutionspuffer für das ViroQ® Enzyme
- **ViroQ|MIX V1** ViroQ® Mix V1, gebrauchsfertig, enthält Primer, Sonden, Lagerungspuffer
- **ViroQ|MIX V2** ViroQ® Mix V2, gebrauchsfertig, enthält Primer, Sonden, Lagerungspuffer
- **IFU** **or** **eIFU** Gebrauchsanweisung oder elektronische Gebrauchsanweisung

**Hinweis:** In ViroQ® SC2 Variant 1 ist ViroQ® Mix V1 enthalten und in ViroQ® SC2 Variant 2 ist ViroQ® Mix V2 enthalten. Alle anderen Kitkomponenten sind die selben.

#### 4.2 Zusätzlich notwendige Reagenzien und Geräte

- Reagenzien zur RNA Isolation (validierte RNA Isolationskits siehe 6.2)
- Real-Time-Cycler (validierte Cycler siehe 4.3)
- Real-Time-PCR Reaktionsgefäße mit Deckeln oder Folien (validierte Produkte siehe 4.3)
- RNase freies H<sub>2</sub>O
- Kolbenhubpipetten (0,5 – 1000 µl) und Spitzen
- Color Compensation kit für den LightCycler® 480 I+II, 2.0 (REF 728258 ViroQ CC Light Cycler®, zur Verfügung gestellt von BAG Diagnostics)

#### 4.3 Validierte Cycler und Reaktionsgefäße

Cycler	Reaktionsgefäße	Verschlussysteme
CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System Fa. Bio-Rad	Vari-Strip™ 8 Well PCR Tube Strips Product No. 4ti-0753 Fa. 4titude / Brooks Life Sciences	Crystal Strips™ Product No. 4ti-0755/120 Fa. 4titude / Brooks Life Sciences
	FrameStar® Break-A-Way PCR Plate, Low Profile, 96 white wells, black frame Product No. 4ti-1201 Fa. 4titude / Brooks Life Sciences	qPCR Seal Product No. 4ti-0560 Fa. 4titude / Brooks Life Sciences
LightCycler® 480 System II Fa. Roche	LightCycler® 480 Multiwell Plate 96, white Product No. 04729692001 Fa. Roche	qPCR Seal Product No. 4ti-0560 Fa. 4titude / Brooks Life Sciences
	Vari-Strip™ 8 Well PCR Tube Strips Product No. 4ti-0753 Fa. 4titude / Brooks Life Sciences	Crystal Strips™ Product No. 4ti-0755/120 Fa. 4titude / Brooks Life Sciences

**Besonderer Hinweis:** Wenn andere Real-Time Cycler, Reaktionsgefäße und Verschlussysteme verwendet werden, müssen diese vom Benutzer validiert werden.

## 5. LAGERUNG UND STABILITÄT

Die Kits werden ohne Kühlung versandt. Alle Reagenzien müssen nach Erhalt in temperaturüberwachten Geräten bei  $\leq -20^{\circ}\text{C}$  gelagert werden. Das Haltbarkeitsdatum ist auf dem Etikett der Reagenzien angegeben. Die Reagenzien ViroQ® Enzyme und ViroQ® Solvent können bis zum Ende der Laufzeit bei Raumtemperatur gelagert werden, solange das Lyophilisat noch nicht mit dem Rekonstitutionspuffer gelöst wurde. Nach Lösung hat es eine Haltbarkeit von 12 Monaten. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren von bereits gelösten Reagenzien (mehr als zweimal) sollte vermieden werden, da dies die Leistung des Assays beeinträchtigen kann. Bei intermittierender Verwendung sollten die Reagenzien aliquotiert werden.

## 6. TESTVERFAHREN

### 6.1 Vorsichtsmaßnahmen und besondere Hinweise

Molekulargenetische Techniken sind besonders empfindlich und sollten von gut geschultem Personal durchgeführt werden, das Erfahrung mit molekulargenetischen Techniken hat.

Besondere Vorsichtsmaßnahmen sind zu beachten, um Kontaminationen und damit falsche Reaktionen zu vermeiden:

- ◆ prinzipiell mit Handschuhen (möglichst puderfrei) arbeiten
- ◆ bei jedem Pipettierschritt neue Spitzen (mit Filtereinsatz oder integriertem Stempel) verwenden
- ◆ zwei getrennte Arbeitsbereiche für die Prä-Amplifikation (Ansetzen der Reaktionen) und die Post-Amplifikation (Detektion); möglichst zwei getrennte Räume nutzen
- ◆ Geräte und andere Materialien nur an den jeweiligen Arbeitsplätzen verwenden und nicht austauschen.

### 6.2 RNA Isolierung

Das Probenmaterial zur Isolierung der RNA muss in geeigneten Probennahme-Systemen verschickt werden. Für die RNA-Isolation bitte angemessene RNA-Isolations Kits verwenden.

Validierte RNA-Isolierungskits:

- QIAamp® Viral RNA Mini QIAcube Kit
- Roche MagNA Pure 96 DNA und Viral NA Small Volume Kit
- Thermo KingFisher Thermo Fisher, MagMAX Viral/PathogenNucleic Acid Isolation Kit

Wenn die etablierte Standardmethode des Labors für die RNA-Isolierung verwendet wird und diese nicht einem der oben validierten Kits entspricht, muss sie vom Benutzer validiert werden.

### 6.3 Vorbereitung der Reagenzien

#### ViroQ® Enzyme

Der Enzymmix ViroQ® Enzyme ist lyophilisiert und muss vor Gebrauch mit 400  $\mu\text{l}$  ViroQ® Solvent mittels Auf- und Abpipettieren gelöst werden.

## 6.4 Amplifikation

Es sollten vom Hersteller des Real-Time Cyclers empfohlene Reaktionsgefäße oder die in Kapitel 4.3 empfohlenen Materialien verwendet werden.

Für jede Probe werden die folgenden Reagenzien in ein Reaktionsgefäß pipettiert:

### Reaktion

<b>4 µl</b>	ViroQ® Enzyme
<b>2 µl</b>	ViroQ® Mix V1 oder V2
<b>5 µl*</b>	RNA-Probe
<b>9 µl</b>	RNase freies H <sub>2</sub> O

\*Bei einer erwarteten sehr geringen Konzentration an Virus-Kopien kann das Volumen der Probe erhöht und gleichzeitig die Wassermenge verringert werden.

Das Reaktionsvolumen für jeden Real-Time PCR-Test beträgt 20 µl.

Wenn ein Prämix aus ViroQ® Enzyme, ViroQ® Mix V1 oder V2 und RNase freies H<sub>2</sub>O für mehr als eine Probe hergestellt wird, berücksichtigen Sie bitte eine angemessene zusätzliche Menge für Pipettierverluste.

Für das Ansetzen einer **No Template Control (NTC)** wird RNase freies H<sub>2</sub>O anstatt RNA verwendet.

Schließen Sie die Reaktionsgefäße und vergewissern Sie sich, dass sich die Flüssigkeit am Boden des Reaktionsgefäß befindet. Stellen Sie sicher, dass keine Bläschen in den Vertiefungen vorhanden sind. Wenn Bläschen vorhanden sind, tippen Sie vorsichtig mit dem Reaktionsgefäß auf die Werkbank, um die Bläschen zu entfernen.

Starten Sie das PCR-Programm mit den folgenden Parametern:

Schritt	Zeit	Temperatur	Anzahl Zyklen
Reverse Transkription	8 min	48°C	1 Zyklus
Polymerase Aktivierung	2 min	96°C	1 Zyklus
Denaturierung	2 sec	95°C	42 Zyklen
Annealing + Extension	10 sec + reading	60°C	

Die folgenden Real-Time Cycler wurden für das ViroQ® SC2 Variant Kits validiert. Bitte beachten Sie die unter [6.5 Cycler Einstellungen](#) beschriebenen Geräte spezifischen Einstellungen:

Biorad: CFX96 Touch™ Real-Time PCR-Detektion System

Roche: LightCycler® 480 System II

### Besondere Hinweise

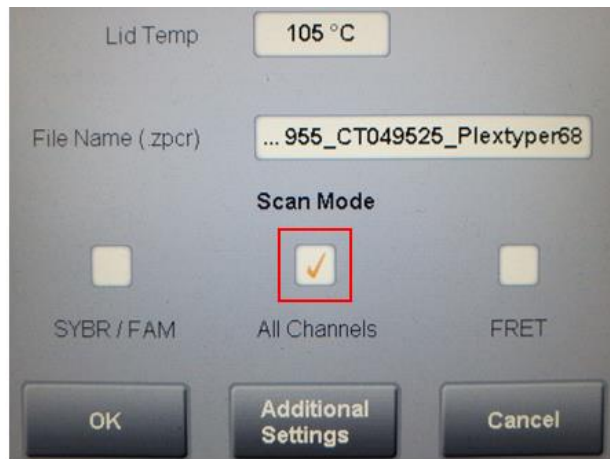
- Wenn andere Real-Time Cycler verwendet werden, müssen diese vom Benutzer validiert werden.



## 6.5 Cycler Einstellungen

### Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System

Für die Benutzung auf dem CFX96 Touch™ müssen folgende spezifische Einstellungen gemacht werden. Vor dem Start des Laufs muss ein Haken bei „All Channels“ gesetzt werden. Die Deckeltemperatur wird auf 105°C eingestellt. Die Standard Ramp Rate wird benutzt.



### Roche LightCycler® 480 II

Für die Benutzung auf dem LightCycler® 480 II müssen folgende spezifische Einstellungen gemacht werden. Beim Einprogrammieren des PCR-Programms muss die entsprechende Ramp Rate mit eingestellt werden.

Schritt	Zeit	Temperatur	Ramp rate	Anzahl Zyklen
Reverse Transkription	8 min	48°C	4,4°C/s	1 cycle
Polymerase Aktivierung	2 min	96°C	4,4°C/s	1 cycle
Denaturierung	2 sec	95°C	2,2°C/s	42 cycles
Annealing + Extension	10 sec + reading	60°C	2,2°C/s	

Die Filtereinstellungen müssen wie folgt gesetzt werden.

Excitation Filter	Emission Filter	Name	Melt Factor	Quant Factor	Max Integration Time (sec)
597	616	Texas Red	1	10	1
495	520	FAM	1	10	1
535	556	HEX	1	10	1
646	669	Cy5	1	10	1

Bei schwachen Signalen kann die Max Integration Time erhöht werden.

Um zu den Filtereinstellungen zu kommen bitte folgende Schritte ausführen.

Tools aufrufen → Detection Formats auswählen → Assay auswählen → Einstellungen vornehmen wie z.B. Quantfactor auf 10 setzen

Beispielbild mit 5 Kanälen. Für den ViroQ SC2 Variant Test werden nur die 4 Kanäle in der Tabelle oben verwendet werden.

The screenshot shows the 'Tools' window in the ViroQ software. It is divided into several sections:

- Tools:** A menu on the left with options like 'User Access', 'Current Password', 'System Settings', 'Report Settings', 'Error Log', 'Database Information', 'View Logged In Users', 'Update Query Engine', 'Clean-up Database', 'Instruments', and 'Detection Formats'.
- Detection Formats:** A list of active detection formats with checkboxes. 'ViroQ\_spike' is selected.
- Filter Combination Selection:** A table for selecting filter combinations based on excitation and emission wavelengths.
- Selected Filter Combination List:** A table showing the selected filter combinations and their parameters.

Callouts in the image point to specific features:

- 'Detection Formats' points to the 'Detection Formats' list.
- 'Select Assay' points to the 'ViroQ\_spike' entry in the 'Detection Formats' list.
- 'Set Quantfactor to 10' points to the 'Quant Factor' column in the 'Selected Filter Combination List' table, where the value '10' is highlighted.

	440	510	580	610	640	660
E						
x	<input checked="" type="checkbox"/>					
c		<input checked="" type="checkbox"/>				
i	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
a	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
t	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
l	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
n	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

Excitation Filter	Emission Filter	Name	Mult Factor	Quant Factor	Max Integration Time (Sec)
445	510	P201	1	10	1
533	590	Orange 540	1	10	1
533	410	Red 410	1	10	1
440	488	Atto 425	1	10	1
618	640	Quasar 670	1	10	1

## 6.6 Interpretation der Ergebnisse

Für alle Reaktionen im Multiplex-PCR-Mix wird ein Ct-Cutoff verwendet, um positive Reaktionen zu definieren. Wenn der Ct-Wert nicht eindeutig ist, kann es hilfreich sein, die Fluoreszenzkurven zu überprüfen. Die Nachweisreaktionen in den einzelnen Mixen werden durch maximal drei Reaktionen in den unterschiedlichen Farbkanälen charakterisiert. Hierbei ist das Auftreten von Hintergrundreaktionen in anderen Farbkanälen möglich (siehe Abbildungen am Ende des Kapitels). Im ViroQ® Mix V1 wurde dies bei den Motiven 484E (Texas Red) vs. 484K (Cy5) beobachtet. Durch den Aspekt, dass es sich um die selbe Nukleotidposition handelt, kann nur eine Reaktion die spezifische sein. Die Hintergrundreaktion erscheint hierbei immer signifikant schwächer im Vergleich zu den spezifischen Reaktionen. Es wird empfohlen, den Threshold für diese Reaktionen zur Unterdrückung des Ct-Wertes zu erhöhen. Die Intensität der spezifischen Reaktion des Motivs 1176F ist im Vergleich zu den spezifischen Reaktionen der anderen Motiven verhältnismäßig gering (siehe Abbildungen am Ende des Kapitels). Bei diesem Motiv entsteht keinerlei Hintergrund. Die Amplifikationssignale für SARS-CoV-2 negative Proben sollten außerhalb der definierten Ct-Werte für alle Kanäle liegen.

Die NTC wird als Kontaminationskontrolle verwendet. Wenn unbeabsichtigt RNA oder kontaminierendes Amplifikat hinzugefügt wurde, wird in der NTC ein positives Signal sichtbar. Wenn



der Ct kleiner als 35 ist, sollte dies als eine mögliche Kontamination betrachtet werden. Amplifikationssignale über Ct 35 in der NTC können auf PCR Artefakten beruhen und können unter Berücksichtigung der finalen Fluoreszenz (RFU) und der Form der Amplifikationskurve ignoriert werden (s.u. zur Interpretation von Ergebnissen zwischen Ct 35 und Ct 42). Wenn eine Kontamination vermutet wird, so wird empfohlen den lokalen Richtlinien zur Dekontamination zu folgen und die Reagenzien auszutauschen.

Für gültige Ergebnisse werden alle Ct-Werte  $\leq 35$  als positiv bewertet (siehe Tabelle unten).

ViroQ® Mix V1	ViroQ® Mix V2	Kanal	Ct-Level	Prüfen	Wellenlänge in nm
484E	E484Q	Rot (Texas Red)	$\leq 35$	>35-42	Anregung: 597 Emission: 616
V1176F	Del69-70	Grün (FAM)	$\leq 35$	>35-42	Anregung: 495 Emission: 520
N501Y	P681R	Orange (HEX)	$\leq 35$	>35-42	Anregung: 535 Emission: 556
E484K	L452R	Rot (Cy5)	$\leq 35$	>35-42	Anregung: 646 Emission: 669

Unabhängig vom Ct-Wert sollte eine positive Reaktion eine sigmoide Amplifikationskurve und eine ausreichende finale Fluoreszenz (RFU) aufweisen. Die RFU ist abhängig vom Cycler. Aufgrund dessen sollten Ergebnisse mit einem Ct-Wert über 35 und niedriger finaler RFU bezüglich der sigmoiden Form der Amplifikationskurve und der Plausibilität der Reaktion geprüft werden. Proben mit uneindeutigem Ergebnis sollten wiederholt werden. Bei Fragen zur Anpassung des Thresholds oder grenzwertigen Ct-Werten wenden Sie sich bitte an den Service der BAG Diagnostics (Telefon: +49 (0) 6404 925125, E-Mail: [info@bag-diagnostics.com](mailto:info@bag-diagnostics.com)) oder Ihren Außendienstmitarbeiter.

Die folgende Tabelle zeigt die Interpretation der Amplifikationsergebnisse:

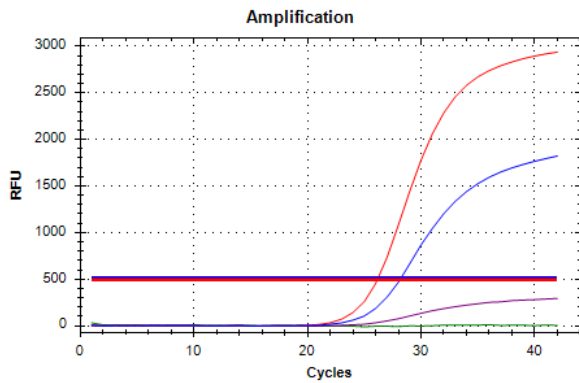
ViroQ® SC2 Variant	Spike Protein Variation	Dye	Alpha B.1.1.7	Beta B.1.351	Gamma P.1	Zeta P.2	B.1.1.28	Wildtyp*
1	E484K	Cy 5		X	X	X		
	484E	Texas Red	X				X	X
	N501Y	HEX	X	X	X			
	V1176F	FAM			X	X	X	

ViroQ® SC2 Variant	Spike Protein Variation	Dye	Alpha B.1.1.7	Epsilon B.1.427 /429	Kappa B.1.617.1 /3	Delta B.1.617.2	Eta B.1.525	Wildtyp*
2	L452R	Cy 5		X	X	X		
	E484Q	Texas Red			X			
	P681R	HEX			X	X		
	Del69-70	FAM	X				X	

\* Andere Varianten, die das gleiche Reaktionsmuster wie der Wildtyp aufweisen, können nicht ausgeschlossen werden.

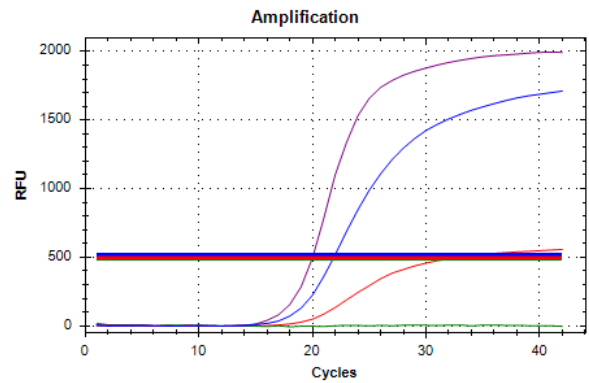
**Beispielbilder auf dem CFX Cyler von dem ViroQ® SC2 Variant 1 Kit**

**Beispiel einer positiven B.1.1.7 Reaktion**



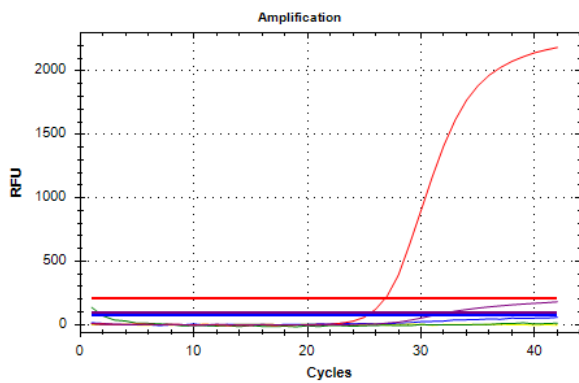
Texas Red = Rot  
 HEX = Blau  
 Cy5 = Lila → Hintergrundreaktion

**Beispiel einer positiven B.1.351 Reaktion**



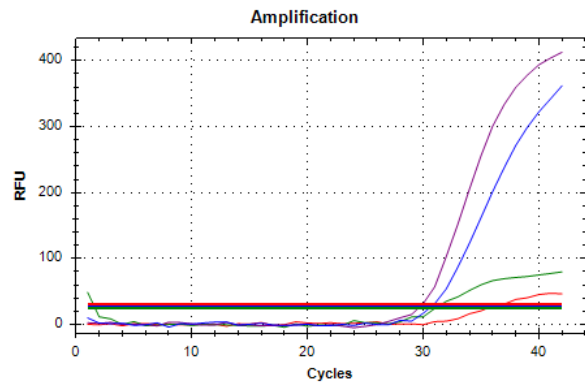
Texas Red = Rot → Hintergrundreaktion  
 HEX = Blau  
 Cy5 = Lila

**Beispiel einer positiven Wildtyp Reaktion**



Texas Red = Rot  
 Cy5 = Lila → Hintergrundreaktion

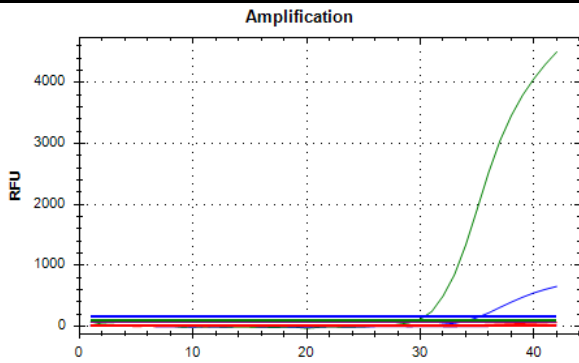
**Beispiel einer positiven P.1 Reaktion**



Cy5 = Lila  
 HEX = Blau  
 FAM = Grün  
 Texas Red = Rot → Hintergrundreaktion

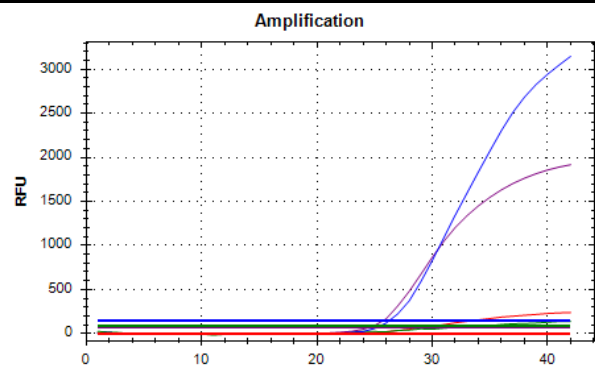
**Beispielbilder auf dem CFX Cyler von dem ViroQ® SC2 Variant 2 kit**

**Beispiel einer positiven B.1.1.7 Reaktion**



FAM = Grün  
 HEX = Blau → leichter Hintergrund

**Beispiel einer positiven B.1.617.2 Reaktion**



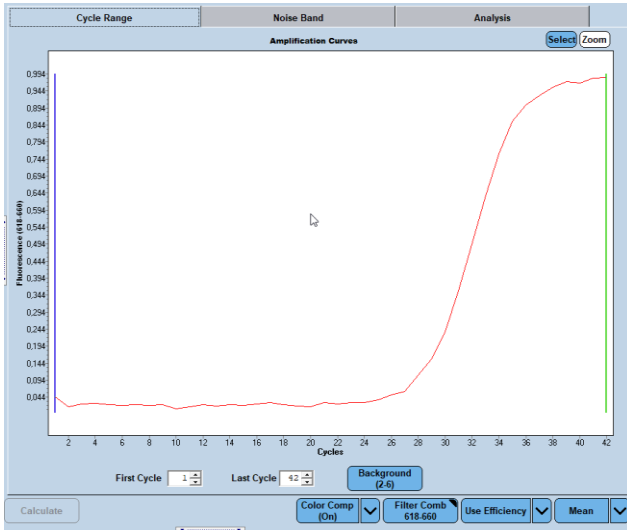
HEX = Blau  
 Cy5 = Lila

**Beispielbilder auf dem LightCycler 480 II Cyler von dem ViroQ® SC2 Variant 1 Kit**

**Beispiel einer positiven B.1.1.7 Reaktion**

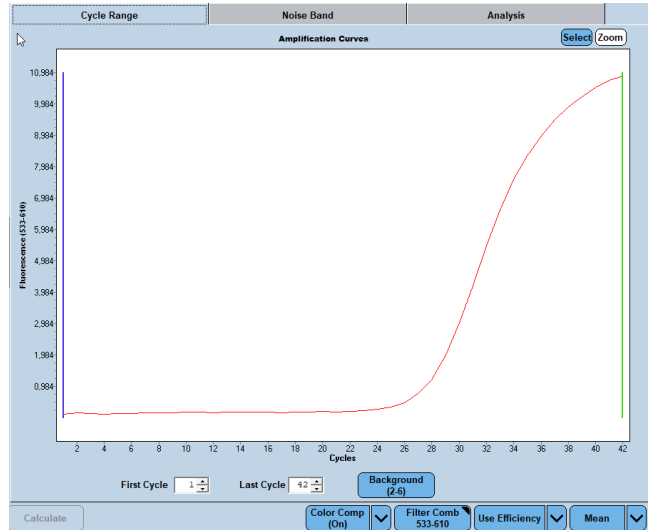
Kanal: Cy5

Hintergrund (Fluoreszenzintensität prüfen)

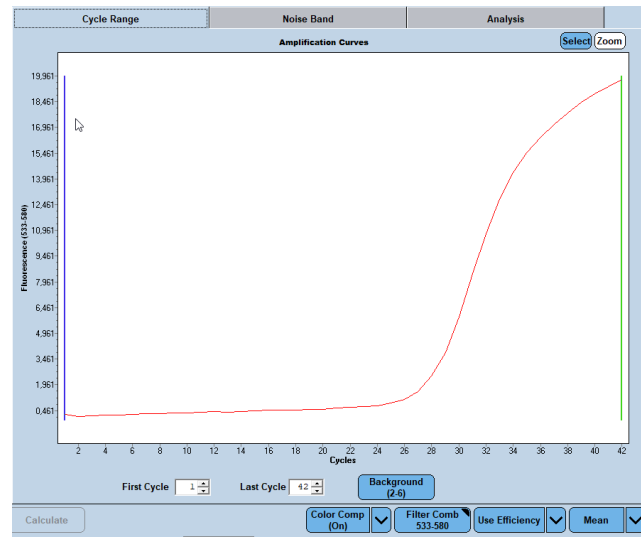


Kanal: Texas Red

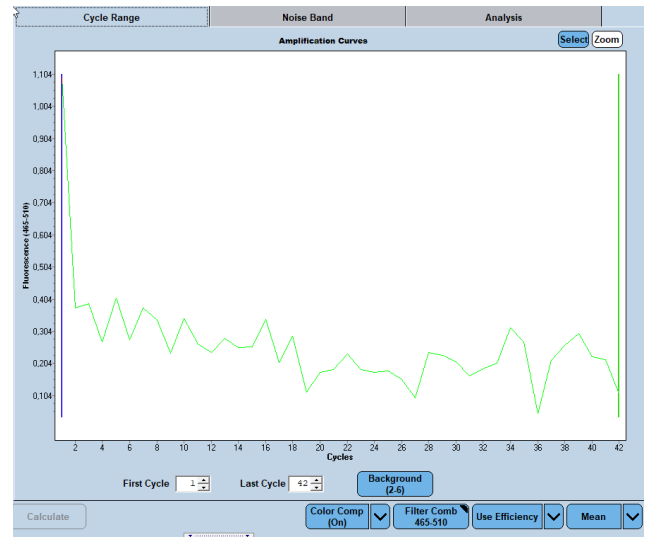
Spezifisches Signal (Fluoreszenzintensität prüfen)



Kanal: HEX



Kanal: FAM



## 7. WARNHINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

ViroQ® SC2 Variant wurde für Forschungszwecke entwickelt und sollte nur von entsprechend geschultem, qualifiziertem Personal verwendet werden. Alle Arbeiten sollten unter Verwendung guter Laborpraktiken durchgeführt werden.

Das Reagenz ViroQ® Solvent unterliegt einer Gefahrenstoffkennzeichnung für **Warnung** und **Gesundheitsgefahren**. Weitere Informationen hierzu entnehmen Sie bitte der Tabelle in Kapitel 12.

Biologisches Material, das zur Extraktion von RNA verwendet wird, z.B. Proben aus den Atemwegen sollten als potenziell infektiös behandelt werden. Beim Umgang mit biologischem Material werden geeignete Sicherheitsvorkehrungen empfohlen (nicht mit dem Mund pipettieren; beim Umgang mit biologischem Material und bei der Durchführung des Tests Einweghandschuhe und Mund-Nasen-Schutz tragen; Hände nach Beendigung des Tests desinfizieren).

Biologische Materialien müssen vor der Entsorgung inaktiviert werden (z.B. durch Autoklavieren). Einwegmaterialien sind nach Gebrauch zu autoklavieren oder zu verbrennen.

Verschüttetes potentiell infektiöses Material sollte unverzüglich mit einem saugfähigen Papiertuch entfernt werden und der kontaminierte Bereich mit einem geeigneten Desinfektionsmittel oder 70%igem Ethanol desinfiziert werden. Material, das für die Entfernung von Verschüttetem benutzt wurde, muss vor der Entsorgung inaktiviert werden (z.B. durch Autoklavieren).

Die Entsorgung aller Proben, ungebrauchter Reagenzien und Abfälle sollte entsprechend der Gesetzgebung des jeweiligen Landes und der lokalen Behörden erfolgen.

**Mikrobielle Kontamination der Reagenzien bei der Entnahme von Aliquots sollte vermieden werden. Der Gebrauch von sterilen Einmalpipetten und Pipettenspitzen wird empfohlen. Keine Reagenzien mit Trübung oder Anzeichen für mikrobielle Kontamination verwenden.**

Ein Sicherheitsdatenblatt bzw. eine Erklärung zu Sicherheitsdatenblättern (MSDS) kann unter [www.bag-diagnostics.com](http://www.bag-diagnostics.com) heruntergeladen werden.

## 8. GRENZEN DER METHODE

Mutationen oder Polymorphismen an den Primer- und Sondenbindungsstellen können zu falsch negativen Ergebnissen führen.

Aufgrund der hohen Anfälligkeit der Real-Time PCR Methode für Kreuzkontaminationen ist bei der RNA-Isolierung besondere Vorsicht geboten.

Das Vorhandensein von PCR-Inhibitoren kann bei diesem Produkt zu ungültigen Ergebnissen führen. Ein negatives Ergebnis schließt das Vorhandensein von SARS-CoV-2 RNA nicht aus, da die Ergebnisse von einer geeigneten Probenentnahme und dem Fehlen von Inhibitoren abhängt.

Es ist äußerste Vorsicht geboten, um eine Kontamination der Kit-Reagenzien und anderer Labormaterialien und -geräte mit Amplikons, RNA oder DNA zu verhindern. Regelmäßige Wischtests und Negativkontrollen (NTC) mit Aqua dest. bei jedem Assay werden dringend empfohlen.

In der Negativkontrolle mit Aqua dest. darf kein Fluoreszenzsignal vorhanden sein ( $C_t > N.A.$ ). Bei einer Signalentwicklung in der Negativkontrolle bitte Kapitel 6.5 beachten und gegebenenfalls den PCR-Arbeitsplatz dekontaminieren und bei Bedarf die Reagenzien austauschen.

Alle Instrumente (z.B. Pipetten, Real-Time Cycler) müssen gemäß den Anweisungen des Herstellers kalibriert werden.

## 9. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

Die interne Qualitätskontrolle neuer Chargen des ViroQ® SC2 Variant 1 Kits kann unter Verwendung einer Kombination von RNA-Proben durchgeführt werden, von denen bekannt ist, dass sie positiv oder negativ sind. Negativkontrollen zur Erkennung möglicher Kontaminationen werden empfohlen. Verwenden Sie zu diesem Zweck eine PCR-Reaktion mit RNase-freiem Wasser als NTC.

## 10. TROUBLESHOOTING

Symptom	Mögliche Ursache	Mögliche Lösung
<b>Schlechtes oder kein Signal</b>	Anwesenheit von Inhibitoren.	Frische Reagenzien verwenden.
	Keine RNA in der Reaktion.	Test wiederholen. Auf korrektes pipettieren achten.
	Degradierung der fluoreszierenden Sonden oder der Primer.	Frischen ViroQ® Mix verwenden. Lichteinwirkung und häufiges Auftauen und Einfrieren vermeiden. Lagerbedingungen beachten!
	Bläschen in der PCR-Reaktion, Flüssigkeitsrückstände an der Innenwand des Reaktionsgefäß.	Sorgfältiges Pipettieren. PCR Platte kurz herunterzentrifugieren.
	Plastikware nicht kompatibel oder von niedriger Qualität	Kompatible Plastikware guter Qualität verwenden (siehe Kapitel 4.3).
	Verdampfung der Reagenzien durch falsches Verschließen der PCR Reaktionsgefäße.	Sicherstellen, dass die PCR Reaktionsgefäße richtig verschlossen sind. Vorsicht an den Kanten der Versiegelungsfolien.
<b>Signal in der Negativkontrolle</b>	Kontamination mit RNA oder DNA in der Negativkontrolle	Wiederholung der Negativkontrolle. Dekontamination des Arbeitsplatz.









## 11. IN DIESEM DOCUMENT/PRODUKT VERWENDETE MARKEN

TaqMan® ist eine Marke von Roche Molecular Systems Inc.

Cal Fluor® ist ein registrierter Markenname der Firma LGC Biosearch Technologies



**12. ERKLÄRUNG DER AUF DEN ETIKETTEN VERWENDETEN SYMBOLE**

	Ausreichend für n Tests
	Lagertemperatur / Unterer Temperaturgrenzwert
	Verwendbar bis
	Gebrauchsinformation beachten
	Hersteller
	Herstelldatum
<b>CONT</b>	Inhalt, enthält
<b>IFU</b>	Gebrauchsinformation
<b>or</b>	Oder
<b>eIFU</b>	Elektronische Gebrauchsinformation
<b>LOT</b>	Lot-Nr.
<b>LYOPH</b>	Lyophilisiert
<b>REF</b>	Bestell-Nr.
<b>RUO</b>	Nur für Forschungszwecke
<b>ViroQ   ENZYME</b>	Enzym-Mix für ViroQ®-Produkte
<b>ViroQ   MIX V1</b> oder <b>ViroQ   MIX V2</b>	Primermix für ViroQ®-Produkte
<b>ViroQ   SOLV</b>	Solvens für den ViroQ® Enzym-Mix
	<b>Warnung</b> H302: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung
	<b>Gesundheitsgefahren</b> H371: Kann die Organe schädigen. Expositionsweg: oral

**13. LITERATUR**

Emergence of SARS-CoV-2 B.1.1.7 Lineage — United States, December 29, 2020–January 12, 2021 <https://dx.doi.org/10.15585%2Fmmwr.mm7003e2>

Gebrauchsanweisungen in anderen Sprachen siehe: <http://www.bag-diagnostics.com> oder kontaktieren Sie uns direkt unter [info@bag-diagnostics.com](mailto:info@bag-diagnostics.com) oder Telefon: +49 (0)6404-925-125