

DE

Gebrauchsanweisung

ViroQ® SC2 Variant 1

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

Elektronische Gebrauchsanweisung siehe www.bag-diagnostics.com

RUO

Nur für Forschungszwecke – nicht für diagnostische Zwecke.

REF 728272 ViroQ® SC2 Variant 1 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 Roche Roche MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit / MagNA Pure 96 Instrument Thermo KingFisher Thermo Fisher MagMAX Viral/PathogenNucleic Acid Isolation Kit | Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System Roche LightCycler® 480 System II |
| Oropharyngeal (OP) Abstrich | | |
| Nasal Abstrich | | |
| Anterior nasal Abstrich | | |
| Mittlerer Nasenmuschel Abstrich | | |

Version: 3/2021 / Stand: 2021-03

Inhalt

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

1. APPLIKATION

Das ViroQ® SC2 Variant 1 Kit wird für den qualitativen Nachweis von SARS-CoV-2 RNA-Varianten (UK B.1.1.7; ZA B.1.351; BR P.1; BR P.2; BR B.1.1.28; Nach RKI sind B.1.1.7, B.1.351 und P.1 besorgniserregende SARS-CoV-2-Virusvarianten (17.02.2021). [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.

Nur für Forschungszwecke - nicht für diagnostische Zwecke.

2. PRODUKT BESCHREIBUNG

Das ViroQ® SC2 Variant 1 Kit basiert auf einer Ein-Schritt-Reaktion in der Real-Time PCR-Technologie mit einem komprimierten PCR Profil (≤ 1 h). Mit einer effizienten cDNA-Synthese aus RNA in Verbindung mit einer Real-Time PCR bietet das ViroQ® SC2 Variant 1 Kit die Möglichkeit, den Test in einem Schritt durchzuführen. Das Kit enthält 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 1 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
- **IFU or eIFU** Gebrauchsanweisung oder elektronische Gebrauchsanweisung

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 H₂O
- 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 | Verschlusssysteme |
|--|---|---|
| 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 Verschlusssysteme 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 µl 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

| | |
|--------------|-------------------------------|
| 4 µl | ViroQ® Enzyme |
| 2 µl | ViroQ® Mix V1 |
| 5 µl* | RNA-Probe |
| 9 µl | RNase freies H ₂ 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 und RNase freies H₂O 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 H₂O 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 1 Kit 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 Cyclers 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 ViroQ software interface. On the left, a 'Tools' menu is open, with 'Detection Formats' selected. In the center, a list of 'Detection Formats' is shown, with 'ViroQ_5plex' selected. On the right, the 'Filter Combination Selection' table is visible, showing emission filters for channels E, X, C, I, A, T, L, and H. Below this, the 'Selected Filter Combination List' table is shown, with a callout pointing to the 'Quant Factor' column, which is set to 10.

| Excitation Filter | Emission Filter | Name | Melt Factor | Quant Factor | Max Integration Time (Sec) |
|-------------------|-----------------|------------|-------------|--------------|----------------------------|
| 445 | 510 | F201 | 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 ≤ 35 als positiv bewertet (siehe Tabelle unten).

| ViroQ® Mix V1 | Kanal | Ct-Level | Prüfen | Wellenlänge in nm |
|---------------|--------------------|-----------|--------|--------------------------------|
| 484E | Rot (Texas Red) | ≤ 35 | >35-42 | Anregung: 597 Emission: 616 |
| 1176F | Grün (FAM) | ≤ 35 | >35-42 | Anregung: 495 Emission: 520 |
| 501Y | Orange (HEX) | ≤ 35 | >35-42 | Anregung: 535 Emission: 556 |
| 484K | Rot (Cy5) | ≤ 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) oder Ihren Außendienstmitarbeiter.

Die folgende Tabelle zeigt die Interpretation der Amplifikationsergebnisse:

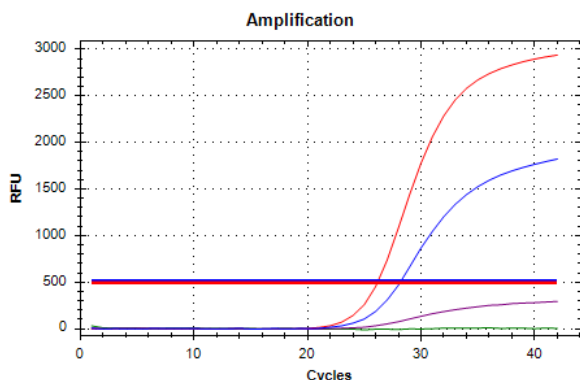
| ViroQ® Mix | Spike Protein Variation | Dye | UK B.1.1.7 (22,8%)* | ZA B.1.351 (1,3%)* | BR P.1 (0,1%)* | BR P.2 (<1%)** | BR B.1.1.28 | Wildtyp** |
|------------|-------------------------|-----------|---------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|----------------|-----------|
| 1 | 484K | Cy 5 | | X | X | X | | |
| | 484E | Texas Red | X | | | | X | X |
| | 501Y | HEX | X | X | X | | | |
| | 1176F | FAM | | | X | X | X | |

* Bericht RKI 17.02.2021 [2. Bericht zu Virusvarianten von SARS-CoV-2 in Deutschland, insbesondere zur Variant of Concern \(VOC\) B.1.1.7 \(rki.de\)](#).

**Stand 26.02.2021 [PANGO lineages \(cov-lineages.org\)](#).

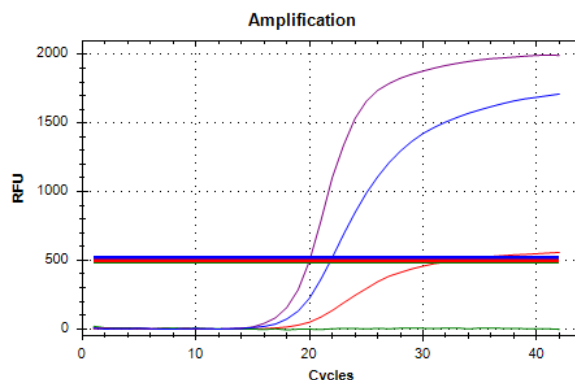
Beispielbilder auf dem CFX Cycloer

Beispiel einer positiven B.1.1.7 Reaktion



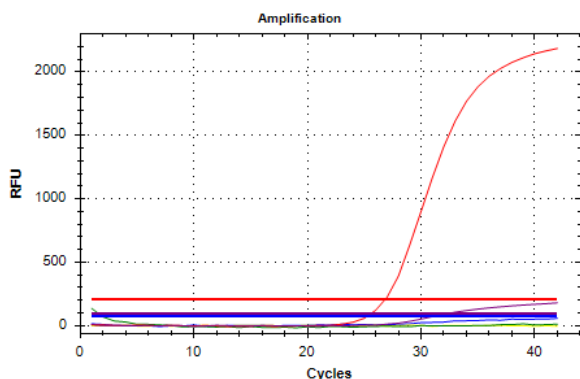
Texas Red = Rot
 HEX = Blau
 Cy5 = Lila → Hintergrundreaktion

Beispiel einer positiven B.1.351 Reaktion



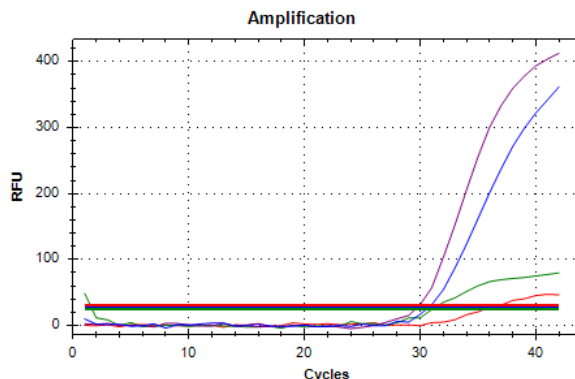
Texas Red = Rot → Hintergrundreaktion
 HEX = Blau
 Cy5 = Lila

Beispiel einer positiven Wildtyp Reaktion



Texas Red = Rot
 Cy5 = Lila → Hintergrundreaktion

Beispiel einer positiven P.1 Reaktion



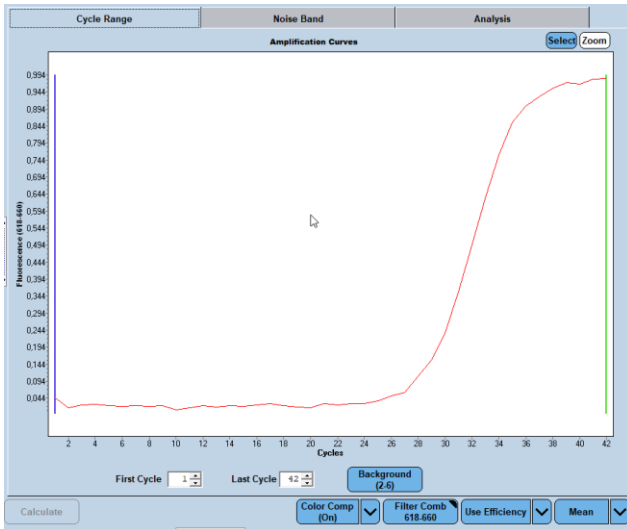
Cy5 = Lila
 HEX = Blau
 FAM = Grün
 Texas Red = Rot → Hintergrundreaktion

Beispielbilder auf dem LightCycler 480 II Cyclor

Beispiel einer positiven B.1.1.7 Reaktion

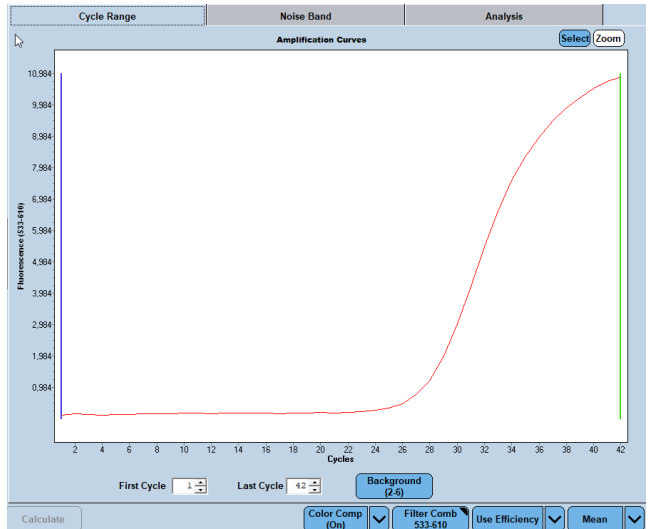
Kanal: Cy5

Hintergrund (Fluoreszenzintensität prüfen)

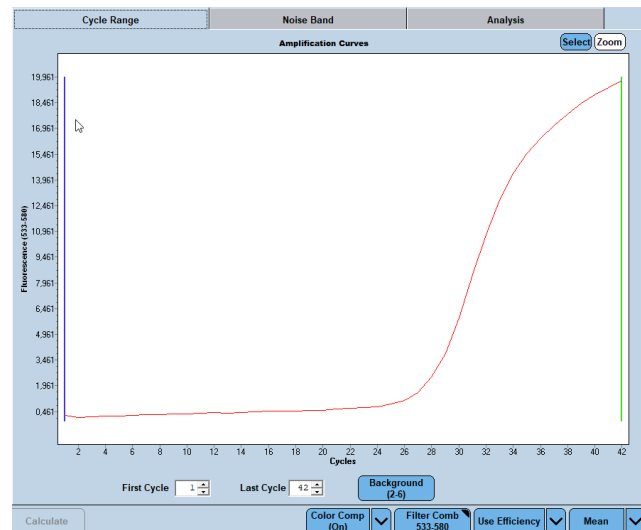


Kanal: Texas Red

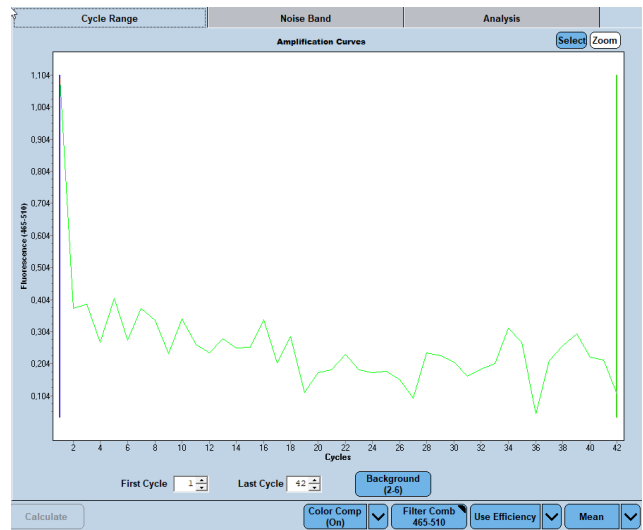
Spezifisches Signal (Fluoreszenzintensität prüfen)



Kanal: HEX



Kanal: FAM



7. WARNHINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

ViroQ® SC2 Variant 1 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 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 (Ct > 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 |
|---------------------------------------|---|---|
| Schlechtes oder kein Signal | 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. |
| Signal in der Negativkontrolle | 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 |
| CONT | Inhalt, enthält |
| IFU | Gebrauchsinformation |
| or | Oder |
| eIFU | Elektronische Gebrauchsinformation |
| LOT | Lot-Nr. |
| LYOPH | Lyophilisiert |
| REF | Bestell-Nr. |
| RUO | Nur für Forschungszwecke |
| ViroQ ENZYME | Enzym-Mix für ViroQ®-Produkte |
| ViroQ MIX V1 | Primermix für ViroQ®-Produkte |
| ViroQ SOLV | Solvens für den ViroQ® Enzym-Mix |
|  | Warnung H302: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung |
|  | Gesundheitsgefahren 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 oder Telefon: +49 (0)6404-925-125