

**CZ****Návod k použití****ViroQ Rapid SARS-CoV-2**

Testovací souprava ke kvalitativnímu průkazu SARS-CoV-2 RNA

Návody k použití v elektronické podobě naleznete na [www.bag-diagnostics.com](http://www.bag-diagnostics.com)**REF** kat.č 728263      **ViroQ Rapid SARS-CoV-2**      **96 Testů****REF** kat.č. 728264      **ViroQ Rapid SARS-CoV-2**      **480 Testů**

Pro použití s		
Typ vzorku	Soupravy pro RNA extrakci / přístroje pro automatickou extrakci	Real-time PCR přístroje
Nosohltanové stěry (NS)	QIAGEN QIAamp Viral RNA Mini QIAcube Kit / QIAcube	Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System
Oropharyngeální (OP)		
Stěry z nosu	Roche Roche MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit / MagNA Pure 96 Instrument	Roche LightCycler® 480 System II
Stěry z přední části nosu		
Stěr ze středu nosní dutiny		Applied Biosystems QuantStudio™ 6 Pro Real- Time PCR 0,2 ml System

**Důležitá poznámka: pro některé cykléry je potřeba provést pro práci se se soupravou ViroQ Rapid SARS-CoV-2 barevnou kompenzaci, či kalibraci barev. Prosíme, zkontrolujte průběžně aktualizovaný seznam na naší webové stránce. Seznam zobrazíte kliknutím na tlačítko „Cycler Settings“ na stránce: <https://www.bag-diagnostics.com/en/sars-cov-2-en.html>**

Změny oproti minulé verzi označeny žlutě.

**Verze: 1/2020 / Publikováno: 2020-09**

## Obsah

1. POUŽITÍ.....	3
2. POPIS VÝROBKU.....	3
3. PRINCIP TESTU.....	3
4. MATERIÁL.....	3
4.1 Obsah soupravy ViroQ Rapid SARS-CoV-2.....	3
4.2 Další potřebné reagensie a přístroje.....	4
4.3 Validované cykléry a reakční zkumavky.....	4
5. SKLADOVÁNÍ A STABILITA.....	4
6. PRŮBĚH TESTU.....	5
6.1 Bezpečnostní a speciální poznámky.....	5
6.2 Izolace RNA.....	5
6.3 Příprava reagensií.....	5
6.4 Amplifikace.....	6
6.5 Interpretace výsledků.....	6
7. VÝKONOST TESTU.....	8
7.1 Limity detekce.....	8
7.2 Klinická studie.....	8
7.3 Zkřížená reaktivita.....	9
8. VAROVÁNÍ A PREVENTIVNÍ OPATŘENÍ.....	10
9. OMEZENÍ METODY.....	10
10. VNITŘNÍ KONTROLA KVALITY.....	11
11. ŘEŠENÍ PROBLÉMŮ.....	11
12. OCHRANNÉ ZNÁMKY POUŽITÉ V TOMTO DOKUMENTU A NA VÝROBCÍCH.....	11
13. VYSVĚTLENÍ SYMBOLŮ NA ETIKETÁCH.....	12
14. LITERATURA.....	12

## 1. POUŽITÍ

Souprava ViroQ Rapid SARS-CoV-2 slouží pro kvalitativní průkaz RNA viru SARS-CoV-2 RNA ve vzorcích jako jsou nosohltanové (NP) oropharyngeální (OP), nosní, přední nosní a střední nosní stěry pomocí reverzní transkripce RNA a real-time PCR. Test by měl být prováděn v specializovaných laboratořích kvalifikovanými pracovníky.

## 2. POPIS VÝROBKU

Souprava ViroQ SARS-CoV-2 Kit je určena pro *in vitro* průkaz RNA viru SARS-CoV-2 ve vzorcích jako jsou nosohltanové (NP) oropharyngeální (OP), nosní, přední nosní a střední nosní stěry. Souprava a její reagentie slouží k jednokrokové reakci pomocí technologie RT-PCR se zkráceným PCR profilem ( $\leq 1$  hodina). Kombinace efektivní syntézy cDNA z RNA následovaná real-time PCR umožňuje v soupravě ViroQ SARS-CoV-2 provést test v jediné zkumavce. Test obsahuje primery a fluorescenční próby pro amplifikaci a detekci genových fragmentů viru SARS-CoV-2. Navíc obsahuje interní kontrolu informující, zda byl odběr vzorku z dýchacího traktu proveden správně a zda proběhla amplifikace.

## 3. PRINCIP TESTU

Zdrojovým materiálem pro test je RNA. RNA je přepsána do cDNA pomocí enzymu reverzní transkriptázy a následně amplifikována pomocí PCR. Primery jsou navrženy tak, aby selektivně amplifikovaly přepsanou cDNA odpovídající virovým genům RdRP a E (RdRP Gen: Institut Pasteur Protocol: Real-time RT-PCR assays for the detection of SARS-CoV-2.

[https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-sars-cov-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-sars-cov-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6_2); E Gen: Corman et al. 2020). Amplikony jsou detekovány pomocí taktéž k lokusu specifickým fluorescenčně značenými hydrolyzačními próbami (TaqMan® probes).

Pokud dojde k amplifikaci jsou próby hydrolyzovány Taq polymerázou a fluorescenční signál je generován proporčně k množství PCR produktu. Fluorescenční signál je měřen pomocí optického modulu RT-cykléru.

Test se provádí v jediné PCR reakci, ve které jsou detekovány pomocí různých fluorescenčních barev dva virové geny RdRP a E a univerzálně exprimovaný lidský housekeeping gen (Rnase P), který potvrzuje, zda byl správně proveden odběr vzorku, izolace RNA a RT-PCR amplifikace.

## 4. MATERIÁL

### 4.1 Obsah soupravy ViroQ Rapid SARS-CoV-2

- **ViroQ|ENZYME** ViroQ Enzyme, enzym, lyofilizovaný, obsahuje reverzní transkriptázu, Taq polymerázu a dNTPs
- **ViroQ|SOLV** ViroQ Solvent, rozpouštědlo, připraveno k použití, obsahuje rekonstituční pufr pro ViroQ Enzyme
- **ViroQ|MIX** ViroQ Mix, připraven k použití, primery, próby, reakční pufr
- **CONTROL|+** ViroQ Pos Ctrl, sušená, obsahuje lidskou mRNA, referenční RNA viru
- **IFU or eIFU** Návod k použití, nebo elektronický návod k použití

#### 4.2 Další potřebné reagenty a přístroje

- Reagenty pro izolaci RNA (validované soupravy pro izolaci RNA, viz kapitola 6.2)
- Real-time PCR cyklér (validované cykléry viz kapitola 4.3)
- RT-PCR reakční zkušavky a víčka / krycí folie (validované výrobky, viz kapitola 4.3)
- H<sub>2</sub>O bez RNáz
- Pístové pipety a špičky (0,5 – 1000 µl)
- Kolor-kompenzační souprava pro LightCycler® 480 I+II, 2.0 (REF 728258 ViroQ CC Light Cycler®, dodává BAG Diagnostics)
- Kolor-kompenzační souprava pro QuantStudio, StepOne, ABI 7500, ViiA7 (REF 728260 RT CC Universal Applied Biosystems®, dodává BAG Diagnostics)

#### 4.3 Validované cykléry a reakční zkušavky

Cyklér	Real-time-PCR reakční zkušavky	Real-time-PCR uzavírací systémy
CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System Comp. Bio-Rad	FrameStar® Break-A-Way PCR Plate, Low Profile, 96 white wells, black frame Product No. 4ti-1201 Comp. 4titude / Brooks Life Sciences	Crystal Strips™ Product No. 4ti-0755/120 Comp. 4titude / Brooks Life Sciences
		qPCR Seal Product No. 4ti-0560 Comp. 4titude / Brooks Life Sciences
	Hard-Shell® 96-Well PCR Plates, Low Profile, thin wall, skirted, white/white Product No. HSP9655 Comp. Bio-Rad	0.2 ml Flat PCR Tube 8-Cap Strips, optical, ultraclear, Product No. TCS0803 Comp. Bio-Rad
LightCycler® 480 System II Comp. Roche	LightCycler® 480 Multiwell Plate 96, white Product No. 04729692001 Comp. Roche	qPCR Seal Product No. 4ti-0560 Comp. 4titude / Brooks Life Sciences
QuantStudio™ 6 Pro Real-Time PCR 0,2 ml System Comp. Applied Biosystems	Vari-Strip™ 8 Well PCR Tube Strips Product No. 4ti-0753 Comp. 4titude / Brooks Life Sciences	Crystal Strips™ Product No. 4ti-0755/120 Comp. 4titude / Brooks Life Sciences
	FrameStar® 96 Well Semi-Skirted, PCR Plate, ABI® FastPlate Style, white wells, clear frame Product No. 4ti-0911 Comp. 4titude / Brooks Life Sciences	qPCR seal, Product No. 4ti-0560 Comp. 4titude / Brooks Life Sciences

**Speciální poznámka:** Pokud je použit jiný real-time cyklér, reakční zkušavky či uzávěry, je nutno provést validaci uživatelem.

## 5. SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Soupravy jsou distribuovány při pokojové teplotě. Po přijetí je nutno skladovat reagenty při ≤ -20 °C v mrazících boxech s kontrolovanou teplotou. Datum expirace je vyznačeno na etiketě každé

reagencie. Datum expirace vyznačené na vnějším obalu soupravy odpovídá datu expirace té reagentie ze soupravy, která má dobu expirace nejkratší. Reagentie ViroQ Enzyme a ViroQ Solvent mohou být skladovány při pokojové teplotě po celou dobu trvanlivosti za podmínky, že enzym zůstává v lyofilizovaném stavu a není rozpuštěn v rekonstitučním pufru. Po rozpuštění lze enzym používat po dobu 12 měsíců. Vyhněte se opakovanému rozmrazování a zamrazování reagentií (více než dvakrát), neboť to může ovlivnit výkonnost testu. Pokud se chystáte využívat soupravu postupně, je dobré připravit aliquoty reagentií.

## 6. PRŮBĚH TESTU

### 6.1 Bezpečnostní a speciální poznámky

Molekulárně genetické metody jsou velmi citlivé a musí být prováděny pouze dobře zaškolenými osobami se zkušenostmi v technikách PCR.

Je nutné dodržovat zvláštní bezpečnostní opatření, aby se předešlo kontaminacím, a tím i falešným výsledkům:

- ◆ Pracujte v rukavicích (pokud je to možné, tak bez obsahu pudru).
- ◆ Používejte novou špičku (s integrovaným filtrem) na každý pipetovací krok.
- ◆ Používejte oddělená pracovní místa pro jednotlivé kroky: pre-amplifikační fáze (RNA izolace a příprava PCR reakce) a post-amplifikační fáze (detekce).
- ◆ Používejte nástroje, reagentie a přístroje samostatně pro každé pracovní místo zvlášť a nepřenášejte je.

### 6.2 Izolace RNA

Materiál pro izolaci RNA musí být dodán ve vhodném sběrném systému. Pro správný odběr vzorků postupujte podle instrukcí WHO na tomto odkazu <https://www.who.int/csr/sars/sampling/en/>

Doporučujeme pro izolaci RNA používat CE IVD certifikované soupravy.

Validované soupravy pro izolaci RNA:

#### Automatizované

- QIAGEN QIAamp® Viral RNA Mini QIAcube Kit
- Roche MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit

Pokud máte v laboratoři zavedenou standardní metodu izolace RNA, která není mezi výše zmíněnými, je nutné, abyste ji validovali.

### 6.3 Příprava reagentií

#### ViroQ Enzyme

Enzym ViroQ musí být rozpuštěn před použitím ve 400µl rozpouštědla ViroQ Solvent. Rozmíchejte pipetou pipetováním nahoru a dolů.

#### ViroQ Pos Ctrl

Pozitivní kontrola ViroQ Pos Ctrl musí být před použitím rozpuštěna v 30µl H<sub>2</sub>O bez RNáz. Rozmíchejte pipetou pipetováním nahoru a dolů, umožněte úplnou rehydrataci po dobu 15ti minut a pak znovu promíchejte pipetováním.

## 6.4 Amplifikace

Použity by měly být reakční zkumavky doporučené výrobcem nebo materiál doporučený v kapitole 4.3.

Pro každý vzorek napipetujte do reakční zkumavky následující množství reagensů:

<b>4 µl</b>	ViroQ Enzyme
<b>2 µl</b>	ViroQ Mix (Primery a próby)
<b>5 µl*</b>	vzorek RNA
<b>9 µl</b>	H <sub>2</sub> O bez RNáz

\* Při předpokládaném malém množství kopií viru lze zvýšit objem vzorku a recipročně zmenšit objem vody.

Reakční objem každé reakce RT-PCR je 20 µl.

Pokud připravujete premix ViroQ Enzyme, ViroQ Mix a H<sub>2</sub>O bez RNáz pro více než jeden vzorek, přidejte navíc rozumné množství s ohledem na ztráty při pipetování.

Pro provedení **pozitivní kontroly (PTC)** a **negativní kontroly (NTC)** připravte PCR reakci s ViroQ Pos. Ctrl, respektive pro negativní kontrolu s vodou místo s RNA.

Uzavřete reakční zkumavky a krátce stočte obsah. Ujistěte se, že ve zkumavkách nejsou žádné bublinky. Pokud jsou bublinky přítomny, odstraňte je lehkým poklepáním o desku stolu. Spusťte PCR program s následujícími parametry:

Krok	Čas	Teplota	Počet cyklů
Reverzní transkripce	8 min	48°C	1 cyklus
Aktivace polymerázy	2 min	96°C	1 cyklus
Denaturace	2 sec	95°C	42 cyklů
Anealing + Extenze	10 sec + čtení	60°C	

Pro soupravu ViroQ Rapid SARS-CoV-2 byly validovány následující cykléry:

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

Roche: LightCycler® 480 System II

Applied biosystems: QuantStudio™ 6 Pro Real-Time PCR 0,2 ml System

### Speciální poznámka:

- Při použití jiného RT-cykléru musíte jako uživatel provést validaci.

## 6.5 Interpretace výsledků

Všechny vzorky je třeba interpretovat až poté, co byly zkontrolovány pozitivní i negativní kontroly a byly shledány platnými a přijatelnými. Pokud kontroly nejsou platné, nelze interpretovat ani vzorek pacienta.



Pro všechny tři reakce v multiplexové PCR jsou pro určení positivity využívány definované hodnoty Cut-off. Pokud je hodnota Cq nejasná, může v rozhodování pomoci kontrola tvaru fluorescenční křivky.

Všechny testy, kromě negativní kontroly (NTC), musí vykazovat pozitivní fluorescenční signál v červeném kanálu, kde se nachází interní kontrola. Vzorky pozitivní na SARS-CoV-2 musí vykazovat pozitivní signál v FAM kanálu (RdRP gen) nebo v obou vyhrazených kanálech, tj. FAM (RdRP gen) a CFO560 / HEX / VIC / JOE (E gen). Pozitivní kontrola musí vykazovat amplifikační signál v každém kanálu uvnitř definovaných Cq-hodnot.

Barevný kanál	Specifita
FAM	Sars-Cov-2 / RdRP gen (RNA-dependend RNA-Polymerase)
CFO560 / HEX / VIC / JOE	Beta-Cov-2 / E gene (Sarbeco, Envelope)
CFR610 / Texas Red / ROX	Buněčná kontrola / Rnase P

Amplifikační signál negativní kontroly (SARS-CoV-2 negativní) musí být mimo definovanou oblast hodnot Cq pro oba kanály (zelený a oranžový).

Negativní kontrola (NTC) je použita jako kontaminační kontrola. Pokud se dostane nechtěně RNA nebo amlikony do NTC objeví se pozitivní signál. Pokud je Ct menší než 35, je třeba to považovat za možnou kontaminaci. Amplifikační signál větší než Ct 35 může být PCR artefaktem a lze ho pominout v závislosti na finálním RTU a tvaru křivky (viz níže intepretace výsledků s Ct mezi 35 a 42). Pokud máme podezření na kontaminaci PCR je vhodné postupovat podle místních dekontaminačních zásad a vyměnit reagentie.

Pro všechny validní výsledky jsou hodnoty Cq  $\leq 35$  jsou považovány za pozitivní (viz tabulka níže)

	Channel/kanál	Ct-Level / hodnota Ct	Inspect / kontrola	Vlnová délka v nm
Buněčná kontrola	Red-Červený (CFR610)	$\leq 35^*$	$>35-42^{**}$	Excitation: 590 Emission: 610
Virový gen RdRP	Green-Zelený (FAM)	$\leq 35$	$>35-42$	Excitation: 495 Emission: 520
Virový gen E	Orange-Oranžový (CFO560)	$\leq 35$	$>35-42$	Excitation: 538 Emission: 559

\*Vysoká koncentrace/nálož SARS-CoV-2 RNA ve vzorku může vést k oslabení nebo i zmizení signálu buněčné kontroly.

\*\* Nedostatečná koncentrace/nálož lidského buněčného materiálu. Nesprávné odebrání nebo převoz vzorku.

Nezávisle na hodnotě Ct musí mít křivka pozitivní reakce sigmoidální tvar a přijatelné konečné RFU. Hodnota RFU je závislá na použitém cykléru, koncové RFU pozitivní kontroly lze použít jako přibližnou hodnotu pro normální finální RFU daného cykléru. Pozitivní kontrolu lze také použít jako vzor správné sigmoidální křivky. Z toho plyne, že u vzorků s hodnotou Ct  $> 35$  a nízkou hodnotou RFU, je nutné zkontrolovat tvar křivky pro ověření důvěryhodnosti reakce. Vzorky s nejasnými výsledky je nutno opakovat a při intepretaci vzít v potaz klinický obraz pacienta. Pokud máte otázky k úpravě prahu nebo k hraničním hodnotám Cq neváhejte kontaktovat podporu BAG Diagnostic na

telefoním čísle: +49 (0)6404 925 125 nebo emailem na [info@bag-diagnostics.com](mailto:info@bag-diagnostics.com) nebo kontaktujte vašeho obchodního zástupce.

V následující tabulce najdete interpretaci výsledků amplifikace:

FAM	CFO560	CFR610	Interpretace
+	+	+*	Detekována SARS-CoV-2 specifická RNA.
+	-	+*	Detekována SARS-CoV-2 specifická RNA.
-	+	+*	Detekována Beta-CoV specifická RNA. Zopakujte test se stejným nebo novým vzorkem.
-	-	+	Nebyla detekována specifická RNA SARS-CoV-2. Vzorek neobsahuje detekovatelné množství (LoD) specifické RNA.
-	-	-**	Neplatný výsledek způsobený inhibicí PCR v reálném čase nebo selháním činidla. Opakujte izolaci a / nebo testování RNA z původního vzorku.

\* Vysoká koncentrace SARS-CoV-2 RNA ve vzorku může vést ke slabému nebo chybějícímu signálu buněčné kontroly.

\*\* Nedostatečná koncentrace/množství lidského buněčného materiálu. Nevhodně odebraný vzorek nebo špatná přeprava vzorku.

## 7. VÝKONOST TESTU

Použitá kombinace primerů a prób zaručuje důvěryhodnou identifikaci specifické RNA SARS-CoV-2. Přesnost a reprodukovatelnost specifity testu je verifikována pro každou šarži pomocí předem otypovaných referenčních vzorků.

### 7.1 Limity detekce

Nejnižší koncentrace SARS-CoV-2, která je detekována s pravděpodobností 95% a vyšší, určuje limit detekce (LoD). Limit detekce byl stanoven pomocí tří následných ředění referenční virové RNA (AccuPlex™ SARS-CoV-2 Verification Panel), každé ředění pak bylo testováno 20krát. Podle výsledků tohoto experimentu je analytická senzitivita RT-PCR soupravy ViroQ Rapid SARS-CoV-2 RT-PCR **5 kopií / 20 µl reakce** pro cílový gen RdRP a **10 kopií / 20 µl reakce** pro cílový gen E při použití cykléru LightCycler® 480 II Systém.

### 7.2 Klinická studie

Klinická studie pro soupravu ViroQ Rapid SARS-CoV-2 byla provedena na skupině 171 předem otypovaných RNA vzorků. Výsledky byly porovnány s výsledky získanými soupravou ViroQ SARS CoV-2. Studie byla prováděna na 3 různých PCR cyklérech a 45 vzorků bylo testováno na dvou z nich. Výsledných 216 výsledků bylo použito pro kalkulaci diagnostické specifity a senzitivity testu. Z těchto vzorků byly 4 vyloučeny pro nedostatek buněčného materiálu ve vzorku.

		ViroQ SARS-CoV-2	
		pozitivní	negativní
ViroQ Rapid SARS-CoV-2	pozitivní	89	2*
	negativní	1*	120

Diagnostická specifita: 98,4%

Diagnostická senzitivita: 98,9%

\* slabá reakce s pozdními Ct, neboť vzorky jsou blízko detekční hranice



### 7.3 Zkřížená reaktivita

Zkřížená reaktivita primerů s dalšími respiračními viry a bakteriemi byla testována s pozitivními vzorky v Pasteurově institutu (Paříž) a Corman et al. 2020. Žádný z testovaných organismů nevykazoval reaktivitu.

Pro průkaz analytické specifity soupravy ViroQ SARS-CoV-2 byl použit kontrolní panel obsahující 22 respiračních patogenů (nepoškozené virové částice a bakteriální buňky). RNA byla extrahována z každého poolu (viz tabula níže) a otestována pomocí soupravy ViroQ SARS-CoV-2 (REF 728250, 728251). Ani jeden pool nevykazoval reaktivitu pro RdRP nebo E gen.

Respirační kontrolní panel					
	Pool 1	Pool 2	Pool 3	Pool 4	Pool 5
Adenovirus Type 3	✓				
Coronavirus OC43	✓				
Human Metapneumovirus (Peru6-2003)**	✓				
Parainfluenza Type 2	✓				
<i>B. pertussis</i> (A639)	✓				
Coronavirus NL63		✓			
Bocavirus-Lambda (recombinant, Isolate 2)		✓			
Influenza A H1 (A/New Caledonia/20/99)		✓			
Parainfluenza Type 3		✓			
Coronavirus 229E			✓		
Rhinovirus (1A)			✓		
Influenza A H3 (A/Brisbane/10/07)			✓		
<i>C. pneumoniae</i> (CWL-029)			✓		
Influenza B (B/Florida/02/06)				✓	
Parainfluenza Type 4A				✓	
Respiratory Syncytial Virus B (CH93(18)-18)				✓	
<i>M. pneumoniae</i> (M129)				✓	
Coronavirus HKU-1 (recombinant)				✓	
Influenza A H1N1 (A/NY/02/09)					✓
Parainfluenza Type 1					✓
Respiratory Syncytial Virus A (2006 Isolate)					✓
<i>L. pneumophila</i> (Philadelphia)					✓

## 8. VAROVÁNÍ A PREVENTIVNÍ OPATŘENÍ

Souprava ViroQ Rapid SARS-CoV-2 je navržena pro in-vitro-diagnostiku a měla by být používána pouze dobře zaškolenými a kvalifikovanými osobami. Veškerá práce by měla probíhat za dodržování Standardů správné laboratorní práce.

Reagencie ViroQ Solvent je látka označená **Warning** a **Health hazard (varování a zdravotní riziko)**. Prosíme nahlédněte do kapitoly 13 pro více informací.

Biologický materiál použitý pro extrakci RNA, t.j. vzorek z dýchacích cest, je třeba považovat za potenciálně infekční. Při manipulaci s biologickým materiálem je třeba dodržovat přísná bezpečnostní opatření (tj. nepipetujte ústy, používejte jednorázové rukavice při manipulaci s biologickým vzorkem a při provádění testů, desinfikujte ruce po ukončení práce).

Biologický materiál je třeba před likvidací deaktivovat (např. autoklávováním). Jednorázový materiál by měl být autoklávován nebo spálen.

Vylitý potenciálně infekční materiál by měl být ihned odstraněn savým papírovým ubrouskem a kontaminovaná oblast očištěna standardním desinfekčním prostředkem nebo 70% alkoholem. Materiál použitý na úklid včetně rukavic je nutné před likvidací inaktivovat (např. v autoklávu).

Likvidace všech vzorků, nepoužitých činidel a odpadu by měla být v souladu s místní legislativou a nařízeními.

Je třeba zabránit mikrobiální kontaminaci reagensů při tvorbě aliquotů. Doporučujeme používat sterilní jednosměrné pipety a špičky. Zakalené reagensie a/nebo reagensie vykazující jakékoli znaky mikrobiální kontaminace nesmí být použity.

Bezpečnostní listy, respektive prohlášení k Bezpečnostním listům jsou k dispozici ke stažení na [www.bag-diagnostics.com](http://www.bag-diagnostics.com).

## 9. OMEZENÍ METODY

Mutace a/nebo polymorfismus v oblasti vazby primerů a prób může vést k falešně negativním výsledkům. Z důvodů vysoké citlivosti metody RT-PCR je nezbytná velmi přesná práce při izolaci RNA, čímž bude vyloučena kontaminace vzorku jiným vzorkem.

Přítomnost inhibitorů RNA může vést ke špatným výsledkům s touto soupravou. Negativní výsledky nevylučují možnou infekci, neboť jsou závislé na vhodném odběru vzorků, absenci inhibitorů a definovaném LoD.

Extrémní opatrnost je nutná k zabránění kontaminace reagensů a dalšího laboratorního materiálu a vybavení amplicony, DNA nebo RNA. Pravidelné stěrové testy a negativní kontrola s destilovanou vodou v každém běhu testu jsou důrazně doporučovány.

V kontrole bez templátu s destilovanou vodou nesmí být žádný fluorescenční signál ( $Cq > N.A.$ ). V případě, že se objeví v negativní kontrole jakýkoli signál, je třeba dekontaminovat pracovní prostor PCR a v případě potřeby vyměnit reagensie.

Veškeré nástroje a přístroje (t.j. pipety, RT-cykléry atd.) musí být kalibrovány podle pokynů výrobce.

Negativní výsledky testu nevylučují infekci SARS-CoV-2 a neměly by samy o sobě sloužit jako jediný zdroj pro rozhodování o diagnóze pacienta. Negativní výsledky je třeba vždy hodnotit také s klinickým pozorováním, historií pacienta a epidemiologickými informacemi.

## 10. VNITŘNÍ KONTROLA KVALITY

Interní kontrolu kvality nové šarže soupravy ViroQ Rapid SARS-CoV-2 kit lze provést pomocí kombinace RNA vzorků, u kterých víme, zda jsou pozitivní či negativní. Doporučujeme provádět negativní kontrolu pro vyloučení možné kontaminace. Využijte pro ni PCR s vodou bez RNasy jako NTC.

## 11. ŘEŠENÍ PROBLÉMŮ








Projev	Možná příčina	Možné/á řešení
<b>Špatný nebo žádný signál</b>	Přítomnost inhibitoru.	Použijte čisté reagensie.
	Nepřítomnost RNA v reakci.	Zopakujte test. Buďte pozorní na správné pipetování.
	Fluorescenční próby nebo primery jsou degradovány.	Použijte čerstvý ViroQ Mix. Zabraňte osvětlení a častému zamrazování a rozmrazování. Zkontrolujte podmínky skladování!
	Bublinky v PCR reakčních zkumavkách / zbytky roztoku na vnitřních stěnách zkumavky.	Pečlivě pipetujte. Stočte PCR desku.
	Nekompatibilní nebo nekvalitní spotřební plast.	Použijte kompatibilní a vysoce kvalitní spotřební plast (viz kapitola 4.3).
	Vypaření reagensií díky nesprávnému uzavření reagenčních zkumavek.	Ujistěte se, že zkumavky jsou správně uzavřeny. Buďte opatrní na krajích přelepovací fólie.
<b>Signál v negativní kontrole</b>	RNA nebo DNA kontaminace negativní kontroly.	Zopakujte negativní kontrolu. Dekontaminujte pracovní prostor.

## 12. OCHRANNÉ ZNÁMKY POUŽITÉ V TOMTO DOKUMENTU A NA VÝROBCÍCH

TaqMan® je ochranná známka společnosti Roche Molecular Systems Inc.

Cal Fluor® je ochranná známka společnosti LGC Biosearch Technologies

## 13. VYSVĚTLENÍ SYMBOLŮ NA ETIKETÁCH

	Dostatečné pro N testů
	Teplota skladování / Spodní hranice teploty
	Spotřebujte do
	Viz návod k použití
	Výrobce
<b>DRY</b>	Sušené
<b>CONT</b>	Obsah, obsahuje
<b>CONTROL   +</b>	Pozitivní kontrola
<b>IFU</b>	Návod k použití
<b>or</b>	nebo
<b>eIFU</b>	Elektronický Návod k použití
<b>IVD</b>	Pro použití in vitro
<b>LOT</b>	Číslo šarže
<b>LYOPH</b>	Lyofilizované
<b>REF</b>	Katalogové číslo
<b>ViroQ   ENZYME</b>	Směs enzymů pro výrobky ViroQ
<b>ViroQ   MIX</b>	Směs primerů pro výrobky ViroQ
<b>ViroQ   SOLV</b>	Rozpouštědlo pro Směs enzymů ViroQ
	<b>POZOR!</b> H302: Poškozující při požití. H412: Poškozující pro život ve vodě s dlouhotrvajícími účinky.
	<b>Zdravotní nebezpečí</b> H371: Může poškodit centrální nervový systém. Způsob expozice: Orální

## 14. LITERATURA

Victor M Corman, Christian Drosten et.al.(2020), Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR, Euro Surveill. 2020;25(3):pii=2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>

Institut Pasteur Protocol: Real-time RT-PCR assays for the detection of SARS-CoV-2.  
[https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-ofsars-cov-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-ofsars-cov-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6_2)

Více informací naleznete na našich webových stránkách <http://www.bag-diagnostics.com>

Návody k použití v jiných jazycích na:

<http://www.bag-diagnostics.com> nebo přímo na [info@bag-diagnostics.com](mailto:info@bag-diagnostics.com) nebo na telefonu +49 (0)6404-925-125