

Zweckbestimmung

Die COVID-19 *direct* RT-PCR+ ist ein *in-vitro*-Echtzeit-Test auf der Grundlage der reversen Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-qPCR) zum qualitativen Nachweis von Nukleinsäure aus SARS-CoV-2 in Proben der oberen und unteren Atemwege, die von Personen, bei denen der Verdacht auf COVID-19 besteht, von ihrem medizinischen Betreuer entnommen wurden. Die Ergebnisse dienen der **Identifizierung von SARS-CoV-2 RNA sowie der Differenzierung der Mutation N501Y**. Eine klinische Korrelation mit der Krankheitsgeschichte und anderen diagnostischen Informationen ist notwendig, um den Infektionsstatus des Patienten zu bestimmen.

Packungsinhalt

Vials mit Lösung A+ (1.6 mL) und Lösung B+ (18 µL) ausreichend für je eine Mikrotiterplatte (96 Well; nicht im Lieferumfang enthalten), Positivkontrolle PC (13 µL, optional), Negativkontrolle NC (13 µL, optional), Kurz-Gebrauchsanweisung.

Bevor Sie beginnen

Ausgangsmaterial für den COVID-19 *direct* RT-PCR+ Test sind **10 µL/Reaktionsansatz** einer **solubilisierten Patientenprobe**. Die Patientenprobe kann aus Sputum oder Abstrich stammen. Eine vorangegangene Hitzeinaktivierung der Patientenprobe wirkt sich nicht auf die Leistung der im Test eingesetzten Reagenzien aus. Eine mögliche Beeinflussung der Probe in Folge der Hitzeinaktivierung kann nicht ausgeschlossen werden. Pro qPCR-Lauf sind eine Positiv- und eine Negativkontrolle mitzuführen. Ein Reaktionsgefäß entspricht einem einzelnen Eppendorf-Tube, einem Tube eines PCR-Streifens oder einem Well einer 96-well-Mikrotiterplatte.

Vom Anwender bereitzustellen

- Geeignete Pipetten und sterile Filterspitzen
- PCR-Reaktionsgefäß mit Verschlussmöglichkeit
- qPCR-Gerät (z.B. LightCycler 480)

Testdurchführung

1. **Direkt** vor Testbeginn **alle Reagenzien vollständig auftauen** und kühl halten (+2 °C bis +8 °C).
2. Ansetzen der Reaktionslösung: geben Sie dazu **15 µL der Lösung B+ in das Vial der Lösung A+**; kurz mischen/schütteln und ggf. abzentrifugieren. **Nicht vortexen!**
3. Legen Sie je **15 µL/Reaktionsgefäß** der **Reaktionslösung** vor.
4. Fügen Sie je **10 µL/Reaktionsgefäß** einer solubilisierten **Patientenprobe bzw.** die Positiv- oder Negativkontrolle zu.
5. Verschließen Sie die Mikrotiterplatte mit einer adhäsiven, optischen Folie bzw. die PCR-Reaktionsgefäße mit den vorgesehenen Deckeln.
6. Die Mikrotiterplatte bzw. PCR-Reaktionsgefäße ggf. kurz zentrifugieren.
7. Stellen Sie die befüllte Platte/Reaktionsgefäße in den qPCR Cycler.



Einstellungen der qPCR

Schritte	Temperatur [°C]	Dauer	Anzahl der Zyklen
Reverse Transkription	55	10 min	1x
Denaturierung	95	2 min	1x
Denaturierung	95	5 sec	45x
Amplifikation/Elongation ¹	61	15 sec	

¹Aktivieren Sie den Detektionsmodus Ihres qPCR-Gerätes

Einstellungen der Detektionskanäle

	SARS-CoV-2 (N-Gen)	Interne Kontrolle	SARS-allgemein (E-Gen)	SARS-CoV-2 Mutation N501Y (Spike-Gen)
Farbstoff	FAM-Sonde	HEX-Sonde	CalFluor Red 610-Sonde	Atto647N-Sonde
Emission	510 nm	580 nm	610 nm	664 nm
Quencher	Black Hole Quencher			

Ergebnis-Interpretation für COVID-19 *direct* RT-PCR + Test

SARS-allg. (E-Gen)	SARS-CoV-2 (N-Gen)	Interne Kontrolle	Ergebnis	Interpretation
Positiv	Positiv	Positiv/Negativ	Positiv!	SARS-Coronaviren im untersuchten Material gefunden; Bestätigung für SARS-CoV-2. Bei positivem Signal im Atto647N-Kanal liegt die N501Y-Mutation des SARS-CoV-2 vor.
Positiv	Negativ	Positiv/Negativ	Potenziell positiv	SARS-Coronaviren im untersuchten Material detektiert; keine Bestätigung für SARS-CoV-2; Probe bei Bedarf erneut analysieren. Bei positivem Signal im Atto647N-Kanal liegt die N501Y-Mutation des SARS CoV-2 vor.
Negativ	Negativ	Positiv	Negativ!	Keine SARS-Coronaviren und kein SARS-CoV-2 im untersuchten Material gefunden.
Negativ	Positiv	Positiv/Negativ	Potenziell positiv	Keine SARS-Coronaviren im untersuchten Material detektiert, aber SARS-CoV-2; Probe bei Bedarf erneut analysieren. Bei positivem Signal im Atto647N-Kanal liegt die N501Y-Mutation des SARS-CoV-2 vor.
Negativ	Negativ	Negativ	Ungültig	Testergebnis ist nicht auswertbar.

Die Ergebnisse dienen der Identifizierung von SARS-CoV-2 RNA. Die SARS-CoV-2 RNA ist im Allgemeinen in respiratorischen Proben während der akuten Phase der Infektion nachweisbar. Positive Ergebnisse sind ein Hinweis auf das Vorhandensein von SARS-CoV-2 RNA. Ein negatives Ergebnis schließt das Vorhandensein von SARS-CoV-2 RNA nicht aus, da die Ergebnisse von einer korrekten Probenentnahme sowie einer ausreichenden Menge zu detektierender RNA abhängen.

Wichtige Hinweise

Alle Proben biologischen Ursprungs sowie gebrauchte Platten/Tupfer sind wie potentielle Überträger von Infektionskrankheiten zu behandeln.

Bei Arbeiten mit Chemikalien sowie beim Umgang mit Proben biologischen Ursprungs sind die Sicherheitsvorkehrungen des Labors einzuhalten.

Lesen Sie vor der Durchführung dieses Tests die Gebrauchsanweisung, um sich mit dem Testverfahren vertraut zu machen. Diese finden Sie auf www.frizbiochem.de/labdirectintro.html.

Bei Fragen oder Problemen wenden Sie sich an den Service der FRIZ Biochem GmbH (<http://www.frizbiochem.de/contact.html>).

Lagerung: -25°C

Anwendung: +2°C

IVD REF FBC102

Entsorgung:

Gemäß den örtlichen, regionalen bzw. staatlichen Bestimmungen

Qualitätskontrolle:

Interne Kontrolle im Test; 1 Positivkontrolle pro Lauf;

Kreuzreaktionen:

Keine festgestellt



Quick Start Protocol

COVID-19 direct RT-PCR+

Test for the direct qualitative detection of SARS-CoV-2 on a qPCR cycler



Intended Use

The COVID-19 direct RT-PCR+ is an *in vitro* real-time test based on the reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-qPCR) for the qualitative detection of nucleic acid from SARS-CoV-2 in samples of the upper and lower respiratory tract collected from suspected COVID-19 individuals by their healthcare provider. Positive results permit the **identification of SARS-CoV-2 RNA and the mutation N501Y, respectively**. Clinical correlation with medical records and other diagnostic information is necessary to determine the patient's infection status.

Package Content

Vials with solution A+ (1.6 mL) and solution B+ (18 µL), each for one microtiter plate (96 well; not included), positive control PC (13 µL, optional), negative control NC (13 µL, optional), instructions for use.

Notes before starting

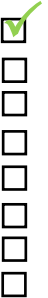
The starting material for the COVID-19 direct RT-PCR+ test is **10µL/reaction solubilised patient sample** obtained from sputum or smear. **Heat inactivation of the patient sample beforehand does not affect the performance of the reagents used in the test. A possible influence of the heat inactivation on the sample can not be excluded.** One positive and one negative control should be included in each PCR run. A reaction vessel corresponds to a single Eppendorf tube, one tube of a PCR-stripe or one well of a 96-well microtiter plate.

Material provided by user

- Adequate Pipettes and sterile filter-tips for PCR testing
- PCR-reaction vessel and sealing foil or lid
- qPCR instrument (e.g. LightCycler 480)

Test-procedure

1. **Thaw all reagents** completely and **keep them cool (+2 °C to +8 °C)** directly before starting the test.
2. Prepare the reaction solution: **add 15 µL of solution B+ to the vial of solution A+**; mix/shake briefly and centrifuge if necessary. **Do not vortex!**
3. Pipette **15 µL/reaction vessel** of the **reaction solution**.
4. **Add 10 µL/reaction vessel** of a solubilised **patient sample** or Positive Control or Negative Control.
5. Close the reaction vessel with an adhesive optical film or with the lids provided.
6. Briefly centrifuge the reaction vessel, if necessary.
7. Place the filled reaction vessel in the qPCR cycler. Start program.



Instrument settings

Steps	Temperature [°C]	Time	Number of cycles
Reverse Transcription	55	10 min	1x
Denaturation	95	2 min	1x
Denaturation	95	5 sec	45x
Amplification/Elongation ¹	61	15 sec	

¹Activate the detection mode of your qPCR-instrument

Detection settings

	SARS-CoV-2 (N-Gen)	Interne Kontrolle	SARS-allgemein (E-Gen)	SARS-CoV-2 Mutation N501Y (Spike-Gen)
Reporter dye	FAM-Probe	HEX-Probe	CalFluor Red 610-Probe	Atto647N-Probe
Emission	510 nm	580 nm	610 nm	664 nm
Quencher	Black Hole Quencher			

Interpretation of COVID-19 direct RT-PCR + test results

SARS-general (E-gene)	SARS-CoV-2 (N-gene)	Internal Control	Result	Interpretation
Positive	Positive	Positive/Negative	Positive!	SARS coronaviruses detected in the examined material; confirmation for SARS-CoV-2. If the signal in the Atto647N channel is positive, the N501Y mutation of SARS-CoV-2 is present.
Positive	Negative	Positive/Negative	Potentially positive	SARS corona virus detected in the examined material; no confirmation for SARS-CoV-2; re-analysis of sample if necessary. If the signal in the Atto647N channel is positive, the N501Y mutation of SARS-CoV-2 is present.
Negative	Negative	Positive	Negative!	No SARS coronavirus and no SARS-CoV-2 were found in the examined material.
Negative	Positive	Positive/Negative	Potentially positive	No SARS coronavirus detected in the material examined, but SARS-CoV-2; re-analysis of sample if necessary. If the signal in the Atto647N channel is positive, the N501Y mutation of SARS-CoV-2 is present.
Negative	Negative	Negative	Invalid	The test result cannot be evaluated.

The results are used to identify SARS-CoV-2 RNA. The SARS-CoV-2-RNA is generally detectable in respiratory samples during the acute phase of the infection. Positive results are an indication of the presence of SARS-CoV-2 RNA. A negative result does not rule out the presence of SARS-CoV-2 RNA, as the results depend on correct sampling and a sufficient amount of RNA to be detected.

Important notes

All samples of biological origin and used plates/swabs are to be treated as potential carriers of infectious diseases.

When working with chemicals or when handling samples of biological origin, the safety precautions of the laboratory must be observed.

Before performing this test, read the instructions for use to familiarise yourself with the testing procedure. You can find them on www.frizbiochem.de/labdirectintro.html.

If you have any questions or problems, please contact service at FRIZ Biochem GmbH (<http://frizbiochem.de/contact.html>).

Storage: -25°C to -18°C

Usage: +2°C to +8°C

IVD REF FBC102

Disposal: According to the local, regional or governmental regulations

Quality control: Internal Control in the test; 1 positive control per run; 1 negative control per run

Cross reactions: None found