



# **Gebrauchsanweisung**

**LyteStar™**

**2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0**



# LyteStar™

## 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0

Für die Detektion von SARS-CoV-2  
in humanem Probenmaterial

Zur Verwendung mit

Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (Qiagen)  
ABI Prism® 7500 SDS and 7500 Fast SDS (Applied Biosystems)  
QuantStudio™ 5 (Applied Biosystems)  
CFx96™ (BioRad)  
Magnetic Induction Cyclers (Mic; Bio Molecular Systems)  
ultraSBMS24 (MEDsan Biotech)



Zur Verwendung in der *in vitro*-Diagnostik



Produkt-Nr.: 888003



96 Reaktionen



Siehe Abschnitt „Lagerung und Haltbarkeit“ in diesem Handbuch



Version 02. Mai 2022



ADT Biotech • Phileo Damansara 1, 46350 Petaling Jaya, Malaysia

## Inhaltsverzeichnis

1.	Zweckbestimmung .....	3
2.	Kit-Komponenten .....	3
3.	Lagerung und Haltbarkeit .....	4
4.	Qualitätskontrolle .....	4
5.	Einschränkungen der Produktnutzung und Vorsichtsmaßnahmen.	4
6.	Produktgarantie .....	5
7.	Informationen zur Produktsicherheit .....	6
8.	Einleitung .....	6
9.	Produktbeschreibung .....	7
10.	Benötigtes, nicht mitgeliefertes Material und Geräte .....	10
11.	Probenlagerung .....	10
12.	Gebrauchsanweisung .....	11
13.	Programmierung des real-time-PCR-Geräts .....	15
14.	Datenanalyse .....	16
15.	Leistungsbewertung .....	19
16.	Technischer Support .....	26
17.	Anhang .....	26
18.	Bestellinformationen .....	27
	NOTIZEN .....	28

## 1. Zweckbestimmung

Das LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 dient dem spezifischen Nachweis von SARS-CoV-2-RNA in Probenmaterial des respiratorischen Trakts (bronchoalveoläre Lavage, Tracheal aspirat, Sputum, nasopharyngeale und oropharyngeale Abstrich-tupfer, die in Virustransportmedien (VTM) eingebracht werden, nasopharyngeale(s) Spülung/Aspirat und Nasenspülung/-aspirat). Das LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 ist ein Dual-Target-Test, bestehend aus einem Screening Test zum Nachweis des Sarbecovirus-spezifischen *E-gene* Amplifikationsziels, und einem Bestätigungstest zum Nachweis des SARS-CoV-2-spezifischen *RdRP-gene* Amplifikationsziels.

Neben kompatiblen Extraktionssystemen wurde das LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 auch für die Verwendung mit einem direkten PCR-Protokoll ohne vorherige Nukleinsäure-Extraktion validiert. Das direkte PCR-Protokoll wurde für Einzelproben und Pools mit bis zu 5 Einzelproben in Virustransportmedien (VTM) zugelassen. Siehe Abschnitt 12.1.2 Probenvorbereitung für das direkte PCR-Protokoll.

Das LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 ist ausschließlich für den Einsatz durch qualifiziertes Fachpersonal vorgesehen. Das direkte PCR-Protokoll ist nur für Virustransportmedien (VTM) zugelassen, die KEIN Guanidiniumthiocyanat enthalten. Siehe Abschnitt 9. Produktbeschreibung für validierte VTM.

### HINWEIS



***VTM die Guanidiniumthiocyanat enthalten, sind für direkte PCR-Protokolle NICHT geeignet.***

## 2. Kit-Komponenten

Katalognr.	888003
Master A	2 x 312 µl
Master B	4 x 324 µl
Internal Control (IC)	800 µl
Positive Control (PC)	200 µl
PCR grade water	500 µl

## 3. Lagerung und Haltbarkeit

- Das LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 hat eine Haltbarkeit von mindestens 12 Monaten ab dem Fertigungsdatum.
- Alle Reagenzien sind nach ihrer Ankunft bei Temperaturen zwischen -25 °C und -15 °C zu lagern.
- Wiederholtes Auftauen und Einfrieren sollte vermieden werden, da dies die Leistungsfähigkeit des Tests beeinträchtigen könnte. Es wird empfohlen Master B-Reagenzien in Aliquots einzufrieren, wenn die Reagenzien mit Unterbrechungen verwendet werden sollen.
- Master A-Reagenzien sollten vor der Verwendung mit einem Vortexmixer gründlich vermischt und anschliessend kurz zentrifugiert werden.
- Schützen Sie Master B vor Lichteinstrahlung.
- Sämtliche gefrorenen Reagenzien sollten vor der Verwendung auf Raumtemperatur aufgetaut werden. Stellen Sie ungenutzte Kit Komponenten sofort wieder zur Lagerung in den Gefrierschrank.

## 4. Qualitätskontrolle

In Übereinstimmung mit dem nach EN ISO 13485 zertifizierten Qualitätsmanagementsystem von ADT Biotech wird jede Charge des LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 anhand festgelegter Spezifikationen getestet, um eine gleichbleibende Produktqualität zu gewährleisten.

## 5. Einschränkungen der Produktnutzung und Vorsichtsmaßnahmen

- Die Verwendung dieses Produktes ist auf Fachpersonal beschränkt, das in der real-time-PCR-Technologie unterrichtet und geschult wurde.
- Behandeln Sie Proben nach den geltenden Laborvorschriften immer so, als seien diese potenziell infektiös oder biologisch gefährlich.
- Entsorgen Sie Proben- und Testabfälle immer in Übereinstimmung mit den lokalen und nationalen Vorschriften, um eine Kontamination der Umwelt zu vermeiden.
- Tragen Sie schützende Laborhandschuhe, einen Laborkittel und Augenschutz, wenn Sie mit biologischen Proben arbeiten.
- Waschen Sie grundsätzlich Ihre Hände nach der Handhabung von Proben und Testreagenzien gründlich, auch wenn Sie bei der Handhabung durchgehend Handschuhe tragen.

## LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0

- Vermeiden Sie mikrobielle und Nuklease-Kontaminierung (DNase/RNase) der Proben und der Komponenten des Kits mithilfe des konsequenten Tragens und des regelmäßigen Wechsels der Laborhandschuhe.
- Verwenden Sie immer DNase/RNase-freie Pipettenspitzen mit Aerosol-Barriere.
- Nutzen Sie getrennte Arbeitsbereiche für (i) die Proben-Vorbereitung, (ii) den PCR Reaktionsansatz und (iii) für die Amplifikation/Detektion.
- Die Arbeitsabläufe im Labor sollten so organisiert sein, dass sie fortschreitend nur in eine Richtung gehen.
- Tragen Sie in jedem Arbeitsbereich immer Einmalhandschuhe und wechseln Sie diese, bevor Sie andere Bereiche betreten.
- Ordnen Sie den einzelnen Arbeitsbereichen eigene Betriebsmittel und Geräte zu und belassen Sie diese im jeweiligen Arbeitsbereich.
- Lagern Sie positives bzw. potenziell positives Material getrennt von den anderen Bestandteilen des Kits.
- Zur Vermeidung einer Kontamination Ihres Arbeitsbereichs mit PCR Produkten (Amplifikaten), öffnen Sie niemals die PCR-Reaktionsgefäße (PCR tubes / PCR plates) nach der PCR-Reaktion.
- Abhängig von den lokalen Richtlinien oder Anforderungen regulatorischer oder staatlicher Vorschriften oder Maßgaben von Akkreditierungsorganisationen kann es erforderlich sein zusätzliche Kontrollen zu testen, die nicht im Kit enthalten sind.
- Verwenden Sie Kits nicht über das auf der Verpackung angegebene Verfallsdatum hinaus.
- Verwenden Sie keine Komponenten des Kits über ihr Verfallsdatum hinaus, welches auf den Etiketten angegeben ist.
- Verwenden Sie keine Kit Komponenten von Kits verschiedener Chargen zusammen in einer Reaktion. Verwenden Sie immer nur Komponenten einer Charge für eine PCR Reaktion.
- Benutzen Sie kein beschädigtes oder unvollständiges Produkt, da seine Leistungsfähigkeit beeinträchtigt sein könnte.

## 6. Produktgarantie

ADT Biotech garantiert die Leistungsfähigkeit des LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 für die im Handbuch beschriebenen Anwendungen. Der Nutzer hat die Eignung des Produkts für den jeweils beabsichtigten Zweck zu prüfen. Sollte das

Produkt bei den beschriebenen Anwendungen keine zufriedenstellende Leistung erbringen, wenden Sie sich bitte an den Technischen Support von ADT Biotech (siehe Abschnitt 16. Technischer Support).

ADT Biotech behält sich das Recht vor, Produkte zu verändern oder zu modifizieren, um ihre Leistung oder ihr Design zu verbessern oder an neue Erkenntnisse anzupassen.

### 7. Informationen zur Produktsicherheit

Tragen Sie bei der Arbeit mit Chemikalien immer einen passenden Laborkittel, Einmalhandschuhe und eine Schutzbrille oder geeigneten Gesichtsschutz. Weitere Informationen finden Sie in dem entsprechenden Datenblatt zur Materialsicherheit.

### 8. Einleitung

Coronaviren sind eine Gruppe membranumhüllter Viren mit einem einzelsträngigen, positiv orientierten RNA-Genom. Bisher waren sechs human-pathogene Coronaviren bekannt, die Erkrankungen von einer einfachen Erkältung bis hin zu schweren Krankheiten wie dem Middle East Respiratory Syndrome (MERS-CoV) und dem Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS-CoV) verursachen können.

Das neuartige Coronavirus SARS-CoV-2, zunächst 2019-nCoV (novel Coronavirus) genannt, das erstmals im Dezember 2019 in Wuhan in der chinesischen Provinz Hubei auftrat, wurde im Januar 2020 als eine neue Art des Coronavirus identifiziert, die Lungenentzündungen verursacht. Das Virus gehört zum Genus Betacoronavirus und ist eng verwandt mit dem bat-SARS-like Coronavirus, aber genetisch eigenständig und abweichend von SARS-CoV und MERS-CoV [1]. Es wird vermutet, dass SARS-CoV-2 seinen Ursprung in Fledermäusen hat und vom Tier auf den Menschen übertragen wird, jedoch sind die Zwischenwirte noch unbekannt. Berichte von Infektionen unter Mitarbeitern im Gesundheitswesen und Familienmitgliedern, die engen Kontakt zu SARS-CoV-2-Patienten hatten, wiesen schon früh darauf hin, dass das Virus effektiv von Mensch zu Mensch übertragen wird.

Am 30. Januar 2020 erklärte die WHO den Ausbruch des neuartigen Coronavirus zu einer gesundheitlichen Notlage internationaler Tragweite [Public Health Emergency of International Concern, PHEIC]. Bis zum 20. Februar 2022 wurden der WHO mehr als 418.650.474 bestätigte Fälle und 5.858.224 Todesfälle gemeldet [2]. Die Symptome sind unter anderem Fieber, Husten und Kurzatmigkeit und die Inkubationszeit beträgt 1 bis 14 Tage. In schweren Fällen kann die Infektion zu Lungenentzündung, akutem Lungenversagen, Nierenversagen und auch zum Tod führen. Seit 2020 wurde die Entwicklung eines Impfstoffs gegen COVID-19, die durch eine SARS-CoV-2-Infektion verursachte Erkrankung, durch eine beispiellose internatio-

nale Zusammenarbeit von Regierungen und Pharmaindustrie vorangetrieben. Bis zum 14. Februar 2022 wurden insgesamt 10.279.668.555 Dosen der Impfstoffe verabreicht [2].

Es wurden verschiedene real-time-RT-PCR-Tests für den Nachweis von SARS-CoV-2 veröffentlicht. Das LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 wurde auf Basis zwei zuvor beschriebener Tests entwickelt [3,4]. Eine PCR-Reaktion zielt auf den Nachweis des *E-gene* Amplifikationsziels ab (Screening-Test), während der zweite Nachweis auf das *RdRP-gene* ausgerichtet ist (Bestätigungstest).

- [1] Lu R, *et al.* Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*; published online January 29, 2020 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8).
- [2] Novel Coronavirus (2019-nCoV), WHO Situation Report – 13.
- [3] Corman V, Bleicker T, Brünink S, Drosten C. Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RT-PCR. Protocol and preliminary evaluation Jan 17th, 2020.
- [4] Chan JF-W, *et al.* Improved molecular diagnosis of COVID-19 by the novel, highly sensitive and specific COVID-19-RdRp/Hel real-time reverse Transcription PCR assay validated *in vitro* and with clinical specimens. (2020) *Journal of Clinical Microbiology*. (58) e003:10-20.

## 9. Produktbeschreibung

Das LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 ist ein auf der real-time-PCR Technologie basierender Test für die *in-vitro*-Diagnostik zum qualitativen Nachweis von spezifischer RNA des neuartigen Coronavirus (SARS-CoV-2).

Das LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 beinhaltet zwei spezifische Nachweise, von denen einer auf das *E-gene* (Envelope) und der andere auf das *RdRP-gene* (RNA-dependent RNA-Polymerase) des SARS-CoV-2-Genoms abzielt. Das LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 enthält zusätzlich ein heterologes Amplifikationssystem (Interne Kontrolle [Internal Control, IC]) das der Identifizierung möglicher RT-PCR-Inhibition dient und die Unversehrtheit der Reagenzien des Kits überprüft. Das Template für die interne Kontrolle, das im LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 zum Einsatz kommt, ist eine *in-vitro* transkribierte RNA einer künstlichen Sequenz ohne Homologie zu bekannten Genomen.

Die real-time RT-PCR-Technologie nutzt eine Reverse Transkriptase (RT) Reaktion, um die virale RNA in komplementäre DNA (cDNA) umzuschreiben, eine Polymerase Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR) für die Amplifikation spezifischer

## LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0

Zielsequenzen und sequenzspezifische Sonden, um die amplifizierte DNA zu detektieren. Die Sonden sind mit fluoreszierenden Reporter- und Quencher Farbstoffen markiert.

Die *E-gene*-spezifische Sonde ist mit dem Fluorophor FAM™ und die spezifische Sonde für das *RdRP-gene* mit dem Fluorophor Cy5 markiert. Die *E-gene*-Sonde erkennt Mitglieder der Coronavirus Untergattung Sarbecovirus des Genus Betacoronavirus (welches SARS-CoV-2, SARS-CoV und bat-SARS-related CoV's [mit SARS verwandte Coronaviren bei Fledermäusen] umfasst). Die *RdRP-gene*-Sonde ist spezifisch nur für SARS-CoV-2. Die für die RNA-Sequenz der Internen Kontrolle (IC; Internal Control) spezifische Sonde ist mit dem Fluorophor HEX™ markiert. Die Verwendung unterschiedlich markierter Sonden ermöglicht die gleichzeitige Detektion von SARS-CoV-2-spezifischer RNA und der Internen Kontrolle in den entsprechenden Detektionskanälen der real-time-PCR-Geräte

Die in den beiden spezifischen Nachweisen enthaltenen Oligonukleotide wurden von Victor Corman *et al.* und von Jasper Fuk-Woo Chan *et al.* [4] veröffentlicht.

Der Test umfasst drei Prozesse, die in einem einzigen Reaktionsgefäß ablaufen:

- Reverse Transkription der RNA der Zielsequenzen und der IC zu cDNA
- PCR-Amplifikation der cDNA der Zielsequenzen und der IC
- Gleichzeitige Detektion der PCR-Amplifikate durch unterschiedlich markierte Sonden

Das LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 besteht aus:

- Zwei Master-Reagenzien (Master A und Master B)
- Dem Template der Internen Kontrolle (IC)
- Dem Template der Positivkontrolle (PC)
- PCR grade water (für die Erstellung der „Nicht-Template-Kontrolle“, NTC)

Die Master A- und Master B-Reagenzien enthalten alle Bestandteile (Puffer, Enzyme, Primer und Sonden), die für die PCR-basierte Reverse Transkription, die Amplifikation und die Detektion des *E-gene* Amplifikationsziels der Sarbecovirus spezifischen RNA (einschließlich SARS-CoV-2), des *RdRP-gene* Amplifikationsziels (SARS-CoV-spezifisch) und der Internen Kontrolle in einem Reaktionsansatz benötigt werden.

Die Positivkontrolle (PC) enthält *in-vitro*-Transkripte synthetisierter Gensequenzen von SARS-CoV-2.

## LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0

Das LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 wurde für die Verwendung mit folgenden real-time-PCR-Geräten entwickelt und validiert:

- Rotor-Gene Q 5/6 plex Platform (Qiagen)
- ABI Prism® 7500 SDS and 7500 Fast SDS (Applied Biosystems)
- QuantStudio™ 5 (Applied Biosystems)
- CFX96™ (BioRad)
- Magnetic Induction Cycler (Mic; Bio Molecular Systems)
- ultraSBMS24 (MEDsan Biotech)

Das LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 ist für die Verwendung mit einem direkten PCR-Protokoll ohne vorherige Nukleinsäure-Extraktion zugelassen. Das direkte PCR-Protokoll zur Verwendung mit dem LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 wurde für die Verwendung mit folgenden Virustransportmedien (Viral Transport Media; VTM) validiert:

- Viral Transport Medium:  
TRANSPORT MEDIUM - 2 ml - 16.5x57 mm Tube - No swab included  
(Vircell, Cat. No. TM005)
- Inactivating Viral Transport Medium:  
PD VTM with nasal & throat swab, 3 ml inactivated medium, 10 ml tube  
(Premier Diagnostics, Cat. No. 8011900)
- Non-Inactivating Viral Transport Medium:  
PD VTM with nasal & throat swab, 3 ml non-inactivated medium, 10 ml tube  
(Premier Diagnostics, Cat. No. 8011903)

### HINWEIS



***VTM die Guanidiniumthiocyanat enthalten, sind für direkte PCR-Protokolle NICHT geeignet.***

Das direkte PCR-Protokoll zur Verwendung mit dem LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 wurde für die Verwendung mit dem folgenden real-time-PCR-Gerät validiert:

- Magnetic Induction Cycler (Mic; Bio Molecular Systems)

Das direkte PCR-Protokoll wurde für einzelne Proben und für Pools mit bis zu 5 Einzelproben für eine Pooling Strategie validiert, bei der bis zu fünf Abstrichtupfer (swabs) gemeinsam in einem Röhrchen VTM gesammelt werden.

### 10. Benötigtes, nicht mitgeliefertes Material und Geräte

- Geeignetes real-time-PCR-Gerät
- Geeignetes System oder Kit für die Nukleinsäure-Extraktion
- 1,5 ml Reaktionsgefäße (Eppendorf Tubes)
- Mikrozentrifuge mit Rotor für 2 ml Reaktionsgefäße (mit einer Geschwindigkeit von  $\geq 13.000$  UPM)
- Einstellbare Pipetten (Bereich: 10  $\mu$ l, 100  $\mu$ l, 200  $\mu$ l, 1000  $\mu$ l)
- Pipettenspitzen (mit Aerosol-Barrieren)
- Einmalhandschuhe (puderfrei)
- Vortexmixer
- Heizblock, passend für 1,5 ml Reaktionsgefäße (Eppendorf Tubes)
- Geeignete 48-Well- oder 96-Well-PCR-Reaktionsplatten oder PCR Reaktionsgefäße mit passendem (optisch klarem) Verschlussmaterial

### 11. Probenlagerung

- Geeignete Proben umfassen bronchoalveoläre Lavage, Trachealaspirat, Sputum, nasopharyngeale und oropharyngeale Abstrichtupfer in VTM (Viral Transport Medium [Virustransportmedium]), nasopharyngeale(s) Spülung/Aspirat und Nasenspülung/-aspirat.
- Beachten Sie die in den folgenden Richtlinien festgelegten Bedingungen für Probentransport und -lagerung:
  - WHO Interim Guidance on Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases, Version vom 19. März 2020.
  - CDC Interim Guidelines for Collecting and Handling of Clinical Specimens for Covid 19 Testing, Version vom 25. Okt. 2021.

## 12. Gebrauchsanweisung

### 12.1. Probenvorbereitung

#### 12.1.1. Probenvorbereitung mittels Nukleinsäure-Extraktion

Startmaterial für das LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 ist extrahierte RNA. Die Qualität der extrahierten RNA hat großen Einfluss auf die Leistung des gesamten Tests. Es muss sichergestellt werden, dass das Nukleinsäure-Extraktionsverfahren mit der real-time-PCR-Technologie kompatibel ist.

Folgende Nukleinsäure-Extraktionskits und -Systeme sind für die Verwendung mit dem LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 geeignet:

- SpinStar™ Viral Nucleic Acid Kit (ADT Biotech)
- MagCore® Plus II Automated Nucleic Acid Extractor (RBC Bioscience)
- QIAamp® MinElute Virus Spin Kit (Qiagen)
- QIAamp® Viral RNA Mini Kit (Qiagen)
- HighPure® Viral Nucleic Acid Kit (Roche)
- QIASymphony® (Qiagen)
- NucliSENS® easyMag (bioMérieux)
- MagNA Pure 96 System (Roche)

Auch andere Nukleinsäure-Extraktionskits und -Systeme können geeignet sein. Die Eignung weiterer Nukleinsäure-Extraktionsverfahren für die Verwendung mit dem LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 muss vom Nutzer geprüft werden.

Bei der Verwendung von Nukleinsäure-Extraktionsverfahren, die auf der Nutzung von Zentrifugenröhrchen (spin columns) beruhen, bei denen Ethanol-haltige Waschpuffer zum Einsatz kommen, wird dringend empfohlen, vor der Elution einen zusätzlichen Zentrifugationsschritt für 10 Min. bei ca. 17.000 x g (~13.000 UPM) durchzuführen. Hierbei sollte ein neues Auffangröhrchen (collection tube) verwendet werden.

#### HINWEIS



***Ethanol ist ein PCR-Inhibitor. Sollten bei der Nukleinsäure-Extraktion Ethanol-haltige Waschpuffer zum Einsatz kommen, ist sicherzustellen, dass vor der Elution sämtliche Spuren von Ethanol entfernt werden.***

### 12.1.2. Probenvorbereitung für das direkte PCR-Protokoll

Abstrichproben (swabs) in VTM sind das Startmaterial für das direkte PCR-Protokoll zur Verwendung mit dem LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0.

Folgende direkte PCR-Protokolle sind für die Verwendung mit dem LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 geeignet.

#### **Protokoll 1:** Für Virustransportmedium (VTM)

- 1) Mischen Sie die im Virustransportmedium (VTM) gesammelte Probe mittels Vortexens oder durch Pipettieren.

**Achtung:** Dieser Schritt ist nur notwendig, wenn die Probe frisch in das VTM eingetragen wurde. Wurde die Probe im VTM bereits transportiert ist eine weitere Durchmischung nicht erforderlich.

- 2) Verdünnen Sie die Probe im Verhältnis 1:2 mit nukleasefreiem Wasser (200 µl Probe verdünnt in 400 µl nukleasefreiem Wasser) in einem 1,5 ml Reaktionsgefäß (Eppendorf Tube).
- 3) Vermischen Sie die Probe mit dem nukleasefreien Wasser durch pipettieren oder vortexen und zentrifugieren Sie das Reaktionsgefäß anschließend kurz.
- 4) Inkubieren Sie das Reaktionsgefäß für 4 Minuten in einem Heizblock, der auf 95°C vorgeheizt wurde.

**Achtung:** Dieser Schritt dient der Virus-Inaktivierung und kann bei der Verwendung bereits Virus-inaktivierender VTMs ausgelassen werden. Im letzteren Fall gehen Sie direkt zu Schritt 6).

- 5) Nach der Inkubation im Heizblock durchmischen Sie die Flüssigkeit im Reaktionsgefäß erneut durch leichtes Klopfen oder kurzes vortexen und zentrifugieren Sie das Reaktionsgefäß anschließend kurz.
- 6) Verwenden Sie 5 µl der Probe als PCR-Template und fahren Sie mit dem Master-Mix-Ansatz fort.

#### HINWEIS



***Schritt 4 der Virus-inaktivierung kann bei Verwendung eines inaktivierenden VTM's ausgelassen werden.***

### Protokoll 2: Für LyteStar™ Direct PCR VTM:

- 1) Mischen Sie die im LyteStar™ Direct PCR VTM gesammelte Probe mittels Vortexens oder durch Pipettieren.

**Achtung:** Dieser Schritt ist nur notwendig, wenn die Probe frisch in das LyteStar™ Direct PCR VTM eingetragen wurde. Wurde die Probe bereits im VTM transportiert ist eine weitere Durchmischung nicht erforderlich.

- 2) Verwenden Sie 5 µl der Probe als PCR-Template und fahren Sie mit dem Master-Mix-Ansatz fort.

### 12.1.3. Probenvorbereitung für die Pooling-Strategie

Für die Verwendung mit dem direkten PCR-Protokoll wurde eine Pooling-Strategie validiert in der während der Probennahme 5 Abstrichtupfer (swabs), in einem einzelnen Gefäß mit Virustransportmedium (VTM) gesammelt werden.

- 1) Sammeln Sie 5 Abstrichtupfer mit Proben in einem einzelnen Gefäß mit Virustransportmedium (VTM).
- 2) Bei Verwendung validierter Virustransportmedien (VTM) fahren Sie nach **Protokoll 1** fort. Bei Verwendung des LyteStar™ Direct PCR VTM fahren Sie nach **Protokoll 2** fort (siehe Abschnitt 12.1.2. Probenvorbereitung für das direkte PCR-Protokoll).
- 3) Verwenden Sie 5 µl der Probe als PCR-Template und fahren Sie mit dem Master-Mix-Ansatz fort.

### 12.2. Master-Mix-Ansatz

1. Alle Reagenzien und Proben müssen vor der Verwendung vollständig aufgetaut, durchmischt (vorsichtiges Schütteln auf einem Vortexmischer) und abzentrifugiert worden sein. Bereiten Sie einen geringen Überschuss (zusätzliche 0,5 Reaktionen) des erforderlichen Master-Mix-Volumens auf.
2. Das LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 enthält eine heterologe Interne Kontrolle (Internal Control, IC), die entweder (i) als reine Inhibitionskontrolle für die RT-PCR oder (ii) als Kontrolle für die gesamte Probenaufbereitung (Nukleinsäure-Extraktion) und als Inhibitionskontrolle für die RT-PCR verwendet werden kann.

#### HINWEIS



**Für das direkte PCR-Protokoll wird die IC NUR als Inhibitionskontrolle verwendet und dem Master-Mix zugefügt.**

## LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0

Wenn die Interne Kontrolle (IC) ausschließlich als Inhibitionskontrolle für die RT-PCR, aber nicht als Kontrolle für die Probenaufbereitung verwendet werden soll, setzen Sie den Master-Mix wie im folgenden Pipettierschema beschrieben an:

Anzahl Reaktionen	1	12
Master A	6,5 µl	78 µl
Master B	13,5 µl	162 µl
IC	0,5 µl	6 µl
<b>Master-Mix-Volumen</b>	<b>20, 5 µl</b>	<b>246 µl</b>

- (i) Wenn die Interne Kontrolle (IC) als Kontrolle für die Probenaufbereitung und als Inhibitionskontrolle verwendet werden soll, geben Sie die IC während der Nukleinsäure-Extraktion hinzu.

Unabhängig davon, welche Methode oder welches System für die Nukleinsäure-Extraktion verwendet wird, **darf** die IC **nicht** direkt zum Probenmaterial gegeben werden. Geben Sie die IC in jedem Fall erst zu dem Gemisch aus Probe und Lyse-Puffer hinzu.

Das zuzugebende Volumen der IC hängt hierbei immer und ausschließlich vom Elutionsvolumen ab. Das IC-Volumen beträgt immer **10 % des Elutionsvolumens**. Wenn die Nukleinsäure aus einer Probe beispielsweise in 60 µl Elutionspuffer oder Wasser eluiert werden soll, müssen 6 µl der IC zu der Mischung aus Probe und Lyse-Puffer hinzugegeben werden.

Wenn die IC während der Probenaufbereitung hinzugefügt wurde, setzen Sie den Master-Mix wie im folgenden Pipettierschema beschrieben an:

Anzahl Reaktionen	1	12
Master A	6,5 µl	78 µl
Master B	13,5 µl	162 µl
<b>Master-Mix-Volumen</b>	<b>20 µl</b>	<b>240 µl</b>

### HINWEIS



**Fügen Sie die Interne Kontrolle (IC) niemals direkt zum Probenmaterial hinzu.**

## 12.3. Reaktionsansatz

1. Pipettieren Sie 20 µl des Master-Mixes in jedes benötigte Well einer passenden optisch klaren 48-Well- oder 96-Well-PCR-Reaktionsplatte oder in ein entsprechendes optisch klares PCR-Reaktionsgefäß.
2. Geben Sie 5 µl der Probe (eluierte Nukleinsäure) oder 5 µl der entsprechenden Kontrolle (Positivkontrolle oder PCR grade water als Nicht-Template-Kontrolle, NTC [Non-Template Control]) dazu.
3. Stellen Sie sicher, dass jeweils mindestens eine Positivkontrolle und eine NTC pro Lauf mitgetestet wird.
4. Mischen Sie die Proben und die Kontrollen mit dem Master-Mix gründlich, indem Sie auf- und abpipettieren.
5. Versiegeln Sie die 48-/96-Well-PCR-Reaktionsplatte mit einer passenden optisch klaren Folie bzw. die PCR-Reaktionsgefäße mit den passenden optisch klaren Deckeln.
6. Bei Verwendung von 48-Well/96-Well-PCR-Reaktionsplatten, zentrifugieren Sie diese in einer geeigneten Platten-Zentrifuge für 30 Sek. bei etwa 1.000 x g (ca. 3.000 UPM).

Reaktionsansatz	
Master-Mix	20 µl
Probe oder Kontrolle	5 µl
<b>Gesamtvolumen</b>	<b>25 µl</b>

## 13. Programmierung des real-time-PCR-Geräts

### 13.1 Einstellungen

- Nehmen Sie die folgenden Einstellungen vor:

Einstellungen	
Reaktionsvolumen	25 µl
Heizrate (Ramp Rate)	Standard
Passive Referenz*	Keine

\*Nur für ABI7500 und QuantStudio 5

## 13.2 Detektionskanäle (Fluorophore)

• Definieren Sie die folgenden Detektionskanäle:

Detektion	Detektorname	Reporter	Quencher
Sarbecovirus ( <i>E</i> gene) spezifische RNA	E	FAM	BHQ 1
SARS-CoV-2 ( <i>RdRP</i> gene) spezifische RNA	RdRP	Cy5	BHQ 1
Interne Kontrolle	IC	HEX	BHQ 1

## 13.3 Temperaturprofil und Fluoreszenzmessung

• Definieren Sie das Temperaturprofil und die Fluoreszenzmessung:

	Phase	Wiederholungen	Messung	Temperatur	Zeit
Reverse Transkription	Halten	1	-	50 °C	10:00 Min.
Denaturierung	Halten	1	-	95 °C	2:00 Min.
Amplifikation	Zyklus	45	-	95 °C	5 Sek.
			√	55 °C	30 Sek.

√ Signalmessung: Aktivierung der FAM- (Grün), HEX- (Gelb) und Cy5- (Rot) Kanäle in allen Läufen

## 14. Datenanalyse

Für grundlegende Informationen in Bezug auf die Datenanalyse für die spezifischen real-time-PCR-Geräte beachten Sie bitte die Gebrauchsanweisung des jeweiligen Gerätes. Für detaillierte Anweisungen hinsichtlich der mit dem LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 auf verschiedenen real-time-PCR-Geräten generierten Daten kontaktieren Sie bitte unseren Technischen Support (siehe Kapitel 16. Technischer Support).

## 14.1. Gültigkeit diagnostischer Testläufe

### 14.1.1 Gültiger diagnostischer Testlauf (qualitativ)

Ein diagnostischer Testlauf ist **gültig**, wenn die folgenden Kontrollbedingungen erfüllt sind:

ID der Kontrolle	FAM/Cy5 Detektionskanal	HEX Detektionskanal
Positivkontrolle	POSITIV	POSITIV
Negativkontrolle	NEGATIV	POSITIV

### 14.1.2 Ziel-CT-Werte der PC und IC

	Positivkontrolle (E-Gen)	Positivkontrolle (RdRP-Gen)	Interne Kontrolle (IC)
Ziel-CT-Wert	< 35 Zyklen	< 35 Zyklen	≤ 40 Zyklen*

\*Erforderlich für Proben, die in FAM- und Cy5-Kanälen nicht amplifiziert werden

**Hinweis:** Die oben genannten CT-Werte werden nur für die **Überwachung der Produktintegrität und die validierten Testbedingungen** angegeben und sollten **NUR für die im Kit enthaltene Positivkontrolle (PC) und Interne Kontrolle (IC)** erreicht werden, wenn diese gemäß den in Abschnitt 12.3 Reaktionsansatz beschriebenen Anweisungen verwendet werden. **Die Ziel-CT-Werte für die PC DÜRFEN NICHT als diagnostische Cut-off-Werte für klinische Proben fehlinterpretiert werden.**

### 14.1.3 Ungültiger diagnostischer Testlauf (qualitativ)

Ein **qualitativer** diagnostischer Testlauf ist **ungültig**, (i) wenn der Lauf nicht vollständig beendet wurde oder (ii) wenn eine der Kontrollbedingungen für einen gültigen diagnostischen Testlauf nicht erfüllt wurde.

Im Falle eines **ungültigen** diagnostischen Testlaufs **wiederholen Sie den Test ausgehend von restlicher aufgereinigter Nukleinsäure** oder starten Sie die Prozedur inklusive Probenaufbereitung mit der Originalprobe neu.

## 14.2 Interpretation der Ergebnisse

FAM <i>E-gene</i>	Cy5 <i>RdRP-gene</i>	HEX <i>Interne Kontrolle</i>	Ergebnisinterpretation
+	+	+*	Sarbecovirus <i>E</i> - und SARS-CoV-2 <i>RdRP</i> spezifische RNA detektiert. <i>Positiv für SARS-CoV-2.</i>
+	-	+*	Nur Sarbecovirus <i>E</i> -spezifische RNA detektiert. Keine SARS-CoV-2 <i>RdRP</i> -spezifische RNA detektiert. <i>Mutmaßlich positiv für SARS-CoV-2<sup>A,B</sup>.</i>
-	+	+*	Keine Sarbecovirus <i>E</i> -spezifische RNA detektiert. Nur SARS-CoV-2 <i>RdRP</i> -spezifische RNA detektiert. <i>Mutmaßlich positiv für SARS-CoV-2<sup>A,B</sup>.</i>
-	-	+	Weder Sarbecovirus <i>E</i> - noch SARS-CoV-2 <i>RdRP</i> -spezifische RNA detektiert. Die Probe enthält keine nachweisbaren Mengen SARS-CoV-2-spezifischer RNA.
-	-	-	PCR-Inhibition oder Reagenzversagen. Wiederholen Sie den Test mit der Originalprobe oder entnehmen und testen Sie eine neue Probe.

**Hinweis:** Für *E-gene* (FAM) und *RdRP-gene* (Cy5) bezieht sich „+“ auf die Amplifikationskurve, die im Rahmen von CT ≤ 45 Zyklen detektiert wurde. „-“ bedeutet, dass eine Amplifikation ausblieb und kein CT gemessen wurde.

\* Die Detektion der Internen Kontrolle im HEX-Kanal ist für positive Ergebnisse in den FAM/Cy5-Detektionskanälen nicht erforderlich. Eine hohe Konzentration von SARS CoV-2 in der Probe kann zu einem reduzierten oder ausbleibenden Signal der Internen Kontrolle führen.

<sup>A</sup> Ursachen für eine Detektion in lediglich einem der beiden Kanäle für *E-gene* oder *RdRP-gene* können in einer geringen viralen RNA-Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze der entsprechenden Gene ODER einer Mutation innerhalb der entsprechenden Zielsequenz liegen.

<sup>B</sup> Die Probe kann durch Wiederholung der Extraktion erneut getestet werden. Sollte das Ergebnis wieder „mutmaßlich positiv“ lauten, können weitere Bestätigungstests durchgeführt werden.

## 14.2.1 Schwellenwerteinstellungen für die Cyclers-Software

Cycler			
	<i>E-Kanal</i>	<i>RdRP-Kanal</i>	<i>IC-Kanal</i>
Rotor-Gene	0,05 norm. fluoro	0,05 norm. fluoro	0,05 norm. fluoro
CFX96	100 RFU	100 RFU	100 RFU
ABI7500	15.000 ΔRn	15.000 ΔRn	5.000 ΔRn
QuantStudio 5	50.000 ΔRn	25.000 ΔRn	10.000 ΔRn
Mic qPCR	Auto	Auto	Auto

## 15. Leistungsbewertung

Die analytische Leistungsbewertung des LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 erfolgte mittels quantifizierter SARS-CoV-2-spezifischer RNA.

### 15.1 Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität (Nachweisgrenze, LoD [Limit of Detection]) des LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 ist definiert als die Konzentration von SARS CoV-2-RNA-Molekülen, die mit einer Positivitätsrate von  $\geq 95$  % detektiert werden kann. Die analytische Sensitivität wurde unter Berücksichtigung einer ausgewählten Nukleinsäure-Extraktionsmethode und für das direkte PCR-Protokoll ermittelt, indem Proben mit bekannter SARS-CoV-2-Konzentration analysiert wurden.

#### 15.1.1 Unter Berücksichtigung einer Nukleinsäure-Extraktion

Eine Verdünnungsreihe der Amplirun® Total SARS-CoV-2-Kontrolle (swab) wurde in TE-Puffer angesetzt und mit dem SpinStar™ Viral Nucleic Acid Extraction Kit extrahiert. Die extrahierte SARS-CoV-2-RNA wurde mit dem LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 analysiert. Die Ergebnisse wurden einer Probit-Analyse unterzogen (Tabelle 1 und 2).

Nukleinsäure-Extraktionsverfahren:

SpinStar™ Viral Nucleic Acid Extraction Kit 1.0 (ADT Biotech)

Probenvolumen: 200 µl

Elutionsvolumen: 60 µl

Die analytische Sensitivität des LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 auf Basis der SpinStar™ Nukleinsäure-Extraktion liegt bei 2,14 Kopien/µl [copies/µl] für das *E-gene* Amplifikationsziel und bei 1,68 Kopien/µl [copies/µl] für das *RdRP-gene* Amplifikationsziel ( $p \leq 0,05$ ).

## LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0

Tabelle 1. PCR-Ergebnisse für die Berechnung der analytischen Sensitivität des *E-gene* Amplifikationsziels des LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 unter Berücksichtigung einer bestimmten Extraktionsmethode und in Kombination mit der Rotor-Gene Q 5-plex platform (Qiagen)

Konzentration (copies/µl)	Anzahl getesteter Proben	Anzahl positiver Proben	Hit rate (%)
20	12	12	100
6,3	12	12	100
2	12	12	100
0,63	12	10	83,3
0,2	12	6	50
0,063	12	2	16,7
0,02	12	0	0
0,0063	12	2	16,7
0,002	12	0	0
0,00063	12	0	0

Tabelle 2. PCR-Ergebnisse für die Berechnung der analytischen Sensitivität des *RdRP-gene* Amplifikationsziels des LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 unter Berücksichtigung einer bestimmten Extraktionsmethode und in Kombination mit der Rotor-Gene Q 5-plex Plattform (Qiagen).

Konzentration (copies/µl)	Anzahl getesteter Proben	Anzahl positiver Proben	Hit rate (%)
20	12	12	100
6,3	12	12	100
2	12	12	100
0,63	12	9	75
0.2	12	6	50
0,063	12	2	16,7
0,02	12	1	8,3
0,0063	12	0	0
0,002	12	0	0
0,00063	12	0	0

### 15.1.2 Unter Berücksichtigung eines direkten PCR-Protokolls

Eine Verdünnungsreihe der Amplirun® Total SARS-CoV-2-Kontrolle (swab) wurde in Virustransportmedium (VTM) und in LyteStar™ Direct PCR VTM angesetzt und die Proben entsprechend der Protokolle 1 und 2 der Probenvorbereitung für das direkte PCR-Protokoll aufbereitet (siehe Kapitel 12.1.2 Probenvorbereitung für das direkte PCR-Protokoll). Die derart gewonnene SARS-CoV-2-RNA wurde mit dem LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 analysiert. Die Ergebnisse wurden einer Probit-Analyse unterzogen.

Die analytische Sensitivität des LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 bei Verwendung des Virustransportmediums (VTM) und einer Probenaufbereitung auf Basis des Protokoll 1 (siehe Kapitel 12.1.2 Probenvorbereitung für das direkte PCR Protokoll) liegt bei 5538,1 Kopien/ml (5,38 Kopien/µl [copies/µl]) für das *E-gene* Amplifikationsziel und bei 7518,2 Kopien/ml (7,52 Kopien/µl [copies/µl]) für das *RdRP-gene* Amplifikationsziel ( $p \leq 0,05$ ) (Tabelle 3 und 4).

Die analytische Sensitivität des LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 bei Verwendung des LyteStar™ Direct PCR VTM und einer Probenaufbereitung auf Basis des Protokoll 2 (siehe Kapitel 12.1.2 Probenvorbereitung für das direkte PCR Protokoll) liegt bei 2024,4 Kopien/ml (2,03 Kopien/µl [copies/µl]) für das *E-gene* Amplifikationsziel und bei 2080,7 Kopien/ml (2,08 Kopien/µl [copies/µl]) für das *RdRP-gene* Amplifikationsziel ( $p \leq 0,05$ ) (Tabelle 5 und 6).

Tabelle 3. PCR-Ergebnisse für die Berechnung der analytischen Sensitivität des *E-gene* Amplifikationsziels des LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 unter Berücksichtigung von Protokoll 1 der Probenvorbereitung für das direkte PCR-Protokoll bei der Verwendung von Virustransportmedien und in Kombination mit dem Magnetic Induction Cycler (Mic; Bio Molecular Systems)

Konzentration (copies/ml)	Anzahl getesteter Proben	Anzahl positiver Proben	Hit rate (%)
10,000	12	12	100
5000	12	12	100
3164,4	12	10	83,3
1001,4	12	7	58,3
316,9	12	1	8,3
100,3	12	2	16,7
31,7	12	0	0
10,0	12	0	0
3,2	12	0	0

## LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0

Tabelle 4. PCR-Ergebnisse für die Berechnung der analytischen Sensitivität des *RdRP-gene* Amplifikationsziels des LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 unter Berücksichtigung von Protokoll 1 der Probenvorbereitung für das direkte PCR- Protokoll bei der Verwendung von Virustransportmedien und in Kombination mit dem Magnetic Induction Cycler (Mic; Bio Molecular Systems)

Konzentration (copies/ml)	Anzahl getesteter Proben	Anzahl positiver Proben	Hit rate (%)
10,000	12	12	100
5000	12	12	100
3164,4	12	9	75,0
1001,4	12	3	25,0
316,9	12	1	8,3
100,3	12	1	8,3
31,7	12	0	0
10,0	12	0	0
3,2	12	0	0

Tabelle 5. PCR-Ergebnisse für die Berechnung der analytischen Sensitivität des *E-gene* Amplifikationsziels des LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 unter Berücksichtigung von Protokoll 2 der Probenvorbereitung für das direkte PCR- Protokoll bei der Verwendung von LyteStar™ Direct PCR VTM und in Kombination mit dem Magnetic Induction Cycler (Mic; Bio Molecular Systems)

Konzentration (copies/ml)	Anzahl getesteter Proben	Anzahl positiver Proben	Hit rate (%)
10,000	12	12	100
5000	12	12	100
3164,4	12	12	100
1001,4	12	10	83,3
316,9	12	3	25,0
100,3	12	2	16,7
31,7	12	0	0
10,0	12	0	0
3,2	12	0	0

## LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0

Tabelle 6. PCR-Ergebnisse für die Berechnung der analytischen Sensitivität des *RdRP-gene* Amplifikationsziels des LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 unter Berücksichtigung von Protokoll 2 der Probenvorbereitung für das direkte PCR- Protokoll bei der Verwendung von LyteStar™ Direct PCR VTM und in Kombination mit dem Magnetic Induction Cycler (Mic; Bio Molecular Systems)

Konzentration (copies/ml)	Anzahl getesteter Proben	Anzahl positiver Proben	Hit rate (%)
10,000	12	12	100
5000	12	12	100
3164,4	12	12	100
1001,4	12	8	66,7
316,9	12	6	50,0
100,3	12	0	16,7
31,7	12	0	0
10,0	12	0	0
3,2	12	0	0

### 15.1.3 Äquivalenz einer Pooling-Strategie

Für Pools mit bis zu 5 Einzelproben pro Pool wurde eine Pooling-Strategie angewendet, wobei 5 Abstrichtupfer (swabs) in nur einem einzelnen Gefäß mit Virus-transportmedium (VTM) gesammelt werden.

Um die Leistung des LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 für gepoolte Proben zu prüfen, wurde jeweils ein Set mit 2 Abstrichtupfern (swabs) mit identischen Konzentrationen (10x LoD oder 5x LoD) der Amplirun® Total SARS-CoV-2-Kontrolle (swab) vorbereitet. Ein Abstrichtupfer jedes Sets wurde als Einzelprobe in seinem eigenen VTM-Gefäß aufbereitet, während der zweite Abstrichtupfer jedes Sets in einem Pool von 5 Abstrichtupfern zusammen mit jeweils 4 negativen Abstrichtupfern zusammen in einem VTM-Gefäß aufbereitet wurde. Die Detektion von positiven Abstrichtupfern (swabs) in einem Pool von 5 Proben ist äquivalent zur Detektion von einzeln getesteten positiven Abstrichtupfern. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

## LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0

Tabelle 7. PCR-Ergebnisse für die *E-gene* und *RdRP-gene* Amplifikation für das LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 bei Einsatz einer Pooling-Strategie und in Kombination mit dem Magnetic Induction Cycler (Mic; Bio Molecular Systems)

Probe	Konzentration	Anzahl getesteter Proben	Anzahl positiver Proben		Hit rate
			<i>E-gene</i>	<i>RdRP-gene</i>	
Einzelner Abstrich-tupfer	5 x LoD	6	6	6	100%
	10 x LoD	6	6	6	100%
Gepoolte Abstrich-tupfer	5 x LoD	6	6	6	100%
	10 x LoD	6	6	6	100%

### 15.2 Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität des LyteStar® 2019 nCoV RT-PCR Kit 2.0 ist durch die sorgfältige Auswahl der Oligonukleotide (Primer und Sonden) gesichert. Die Oligonukleotide wurden mittels eines Sequenzabgleichs mit den veröffentlichten Sequenzen überprüft, um sicherzustellen, dass mit den verwendeten Primern und Sonden im LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 spezifisch alle relevanten SARS CoV-2 Genotypen detektiert werden.

Die Spezifität des LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 wurde mittels PCR-Tests der genomischen RNA/DNA überprüft, die aus anderen Pathogenen extrahiert wurde, welche mit hoher Wahrscheinlichkeit im selben Probenmaterial vorliegen wie das SARS-CoV-2-Virus oder ähnliche Symptome wie SARS-CoV-2 verursachen (Tabelle 8). Das LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 zeigte keine Kreuzreaktionen mit den spezifizierten Organismen.

## LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0

Tabelle 8. Mikroorganismen, die getestet wurden, um die analytische Spezifität des LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0 Kit zu belegen

LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR 2.0			
Organismen	<i>E gene (FAM)</i>	<i>RdRP gene (Cy5)</i>	<i>Interne Kontrolle (HEX)</i>
Humanes Metapneumovirus	negativ	negativ	gültig
Enterovirus 68	negativ	negativ	gültig
Humanes Respiratory Synzytial-Virus	negativ	negativ	gültig
Humanes Rhinovirus	negativ	negativ	gültig
Humanes Parainfluenza-Virus 1	negativ	negativ	gültig
Humanes Adenovirus 1	negativ	negativ	gültig
Humanes Coronavirus OC43	negativ	negativ	gültig
Humanes Coronavirus NL63	negativ	negativ	gültig
Humanes Coronavirus HKU1	negativ	negativ	gültig
Humanes Coronavirus 229E	negativ	negativ	gültig
Influenza virus A, H1N1	negativ	negativ	gültig
Influenza virus A, H3N2	negativ	negativ	gültig
Influenza virus A, H5N6	negativ	negativ	gültig
Influenza virus A, H7N9	negativ	negativ	gültig
Influenza virus A, H9N2	negativ	negativ	gültig
Influenza virus B, Victoria-Linie	negativ	negativ	gültig
Influenza virus B, Yamagata-Linie	negativ	negativ	gültig
<i>Haemophilus influenzae</i>	negativ	negativ	gültig
<i>Legionella pneumophila</i> subsp. <i>Pneumophila</i>	negativ	negativ	gültig
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	negativ	negativ	gültig
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	negativ	negativ	gültig
<i>Streptococcus pyogenes</i>	negativ	negativ	gültig
<i>Bordetella pertussis</i>	negativ	negativ	gültig
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	negativ	negativ	gültig
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	negativ	negativ	gültig

## 16. Technischer Support

Zur Inanspruchnahme von Kundenbetreuung kontaktieren Sie bitte unseren technischen Support:

**E-mail:**      [techsupport@adt-biotech.com](mailto:techsupport@adt-biotech.com)  
**Telefon:**     +603 7931 6760

## 17. Anhang

Erläuterung von Symbolen

Symbol	Erläuterung
	CE-Konformitätskennzeichnung
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Produktnummer
	Chargennummer
	Hersteller
	Enthält ausreichend Reagenz für „n“ Tests
	Lagertemperatur
	Version
	Verwendbar bis
	European Authorized Representative

### 18. Bestellinformationen

Produkte	Anzahl der Reaktionen	Bestell-Nummer
LyteStar™ 2019-nCoV RT-PCR Kit 2.0	96	888003
SpinStar™ Viral Nucleic Acid Extraction Kit 1.0	100	811803

**NOTIZEN**





**MT Promedt Consulting GmbH**

Altenhofstrasse 80  
66386 St. Ingbert  
Germany



**ADT Biotech Sdn Bhd** [200901035495 (878612-H)]

307, Block B, Phileo Damansara 1,  
9 Jalan 16/11, 46350 Petaling Jaya,  
Selangor, Malaysia

phone +603 7931 6760  
fax +603 7931 5352  
email [info@adt-biotech.com](mailto:info@adt-biotech.com)

[www.adt-biotech.com](http://www.adt-biotech.com)