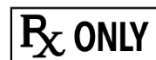




Lyra[®]Direct
SARS-CoV-2 ASSAY

Zum qualitativen Nachweis von viraler RNA des humanen Coronavirus SARS-CoV-2 in Proben aus direkten Nasen-, Nasenrachen- oder Mundrachen- Abstrichen.

Für den Einsatz in der *In-vitro*-Diagnostik.



Auf quidel.com/glossary finden Sie ein Glossar der Symbole.

INHALT

VERWENDUNGSZWECK.....	2
ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG	3
GRUNDLAGEN DES VERFAHRENS	3
BEREITGESTELLTE MATERIALIEN	4
BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN	4
WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN.....	5
LAGERUNG UND HANDHABUNG VON KIT-REAGENZIEN.....	6
Anzeichen einer Instabilität oder Zersetzung der Reagenzien.....	6
PROBENENTNAHME, LAGERUNG UND HANDHABUNG	6
AUFBEWAHRUNG VERARBEITETER PROBEN.....	6
ASSAY-VERFAHREN.....	6
Verfahren für die Probenverarbeitung	6
Verfahren zum Rehydrieren des Mastermix.....	7
RT-PCR Einrichtungsverfahren	7
QUALITÄTSKONTROLLE	7
AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE VON PATIENTENPROBEN.....	8
KLINISCHE LEISTUNGSFÄHIGKEIT	9
Studie 1	9
Studie 2	10
Studie 3	10
ANALYTISCHE LEISTUNGSFÄHIGKEIT.....	10
Nachweisgrenze.....	10
Studie 1.....	10
Studie 2 – Vergleichende LoD-Studie für den Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay und den Lyra SARS-CoV-2 Assay	11
Studienergebnisse der LoD-Bestätigung.....	11
ANALYTISCHE REAKTIVITÄT (INKLUSIVITÄT).....	12

ANALYTISCHE SPEZIFITÄT (KREUZREAKTIVITÄT)	13
STÖRSUBSTANZEN.....	15
EINSCHRÄNKUNGEN.....	16
KUNDENSERVICE UND TECHNISCHE UNTERSTÜTZUNG	16
GEISTIGES EIGENTUM	17
LITERATUR	17
ANHANG (SPEZIFISCHE PROGRAMMIER- UND TESTPROTOKOLLE FÜR JEDEN THERMOCYCLER)	18
Anleitung zum Programmieren von Applied Biosystems 7500 Fast Dx	18
Applied Biosystems 7500 Fast Dx Thermocycler Testverfahren	20
Anleitung zum Programmieren von Applied Biosystems 7500 Standard	20
Applied Biosystems 7500 Standard Thermocycler Testverfahren	22
Bio-Rad CFX96 Touch Thermocycler Programmiervorgang	23
Bio-Rad CFX96 Touch Thermocycler Testverfahren.....	25
Qiagen Rotor-Gene Q Programmieranweisungen	25
Qiagen Rotor-Gene Q Testlauf.....	27
Roche LightCycler 480 Instrument II Programmieranweisungen	28
Erstellung einer Vorlage für den LightCycler 480 Instrument II Assay-Lauf	28
Erstellung eines LightCycler 480 Instrument II Assay-Testverfahrens.....	29
Roche cobas z 480 Instrument Programmieranweisungen	30
Erstellung einer Vorlage für die cobas z 480 Assay-Lauf-Vorlage.....	30
Erstellung eines cobas z 480 Assay-Testverfahrens.....	32
Thermo Fisher QuantStudio 7 Pro Programmieranweisungen.....	33
Thermo Fisher QuantStudio 7 Pro Testlauf Anleitung zum Programmieren:.....	33
Erstellung eines Thermo Fisher QuantStudio 7 Pro Testverfahrens.....	34
GLOSSAR.....	37



Der Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay ist ein RT-PCR-Assay in Echtzeit für den qualitativen Nachweis von Nukleinsäure des SARS-CoV-2 in direkten Nasen-, Nasenrachen- (NS) oder Mundrachenabstrichproben (NP- oder OP-Abstrichproben) von Patienten, bei welchen der Gesundheitsdienstleister eine COVID-19-Infektion vermutet. Der Assay zielt auf das nicht strukturelle Polyprotein (pp1ab) des SARS-CoV-2-Virus ab.

Die Ergebnisse dienen der Identifikation von SARS-CoV-2-RNA. Das SARS-CoV-2 ist im Allgemeinen während der akuten Infektionsphase in Proben aus den oberen Atemwegen nachweisbar. Positive Ergebnisse weisen auf das Vorhandensein von SARS-CoV-2-RNA hin. Um den Infektionsstatus des Patienten zu bestimmen, ist die klinische Korrelation mit der Krankengeschichte des Patienten und anderen diagnostischen Informationen erforderlich. Positive Ergebnisse schließen eine bakterielle Infektion bzw. eine Co-Infektion mit anderen Viren nicht aus. Labore innerhalb des Staatsgebiets der USA müssen alle positiven Ergebnisse an die entsprechenden öffentlichen Gesundheitsbehörden melden. Negative Ergebnisse schließen eine Infektion mit SARS-CoV-2 nicht aus und dürfen nicht die alleinige Basis für Patienten-Management-Entscheidungen darstellen. Negative Ergebnisse müssen mit klinischen Beobachtungen, der Krankengeschichte des Patienten und epidemiologischen Informationen verknüpft werden.

Der Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay ist für die Verwendung durch qualifiziertes und geschultes klinisches Laborpersonal vorgesehen, das in die Techniken der PCR in Echtzeit und *In-vitro*-Diagnostik-Verfahren eingewiesen und dementsprechend geschult wurde.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

SARS-CoV-2, auch als COVID-19-Virus bekannt, wurde erstmals im Dezember 2019 in Wuhan, in der Provinz Hubei, China, identifiziert. Es wird davon ausgegangen, dass dieses Virus, wie auch die neuen Coronaviren SARS-1 und MERS, von Fledermäusen ausgeht, jedoch ist es möglich, dass SARS-CoV-2 einen Zwischenwirt, wie Schuppentiere, Schweine oder Zibetkatzen, hatte.¹ Seit April 2020 hat sich die Infektion beim Menschen in über 180 Ländern verbreitet, mehr als 846.000 Menschen infiziert und 41.400 getötet.¹ Am 11. März hat die WHO SARS-CoV-2 als globale Pandemie ausgerufen.

Die mittlere Inkubationszeit wird auf 5,1 Tage geschätzt, wobei das Auftreten von Symptomen innerhalb von 12 Tagen nach der Infektion erwartet wird.³ Die Symptome von COVID-19 ähneln anderen viralen Atemwegserkrankungen und beinhalten Fieber, Husten und Atemnot.⁴

Der Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay wurde speziell für den Nachweis von SARS-CoV-2-RNA entwickelt.

GRUNDLAGEN DES VERFAHRENS

Der Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay weist die virale RNA des SARS-CoV-2 nach, die mithilfe eines einfachen Wärmeschritts aus einer Patientenprobe extrahiert wurde. Eine Multiplex Real Time RT-PCR-Reaktion wird unter optimierten Bedingungen in einem Einzelröhrchen durchgeführt, wobei Amplifikate für das Zielvirus (falls vorhanden) und die Prozesskontrolle (PRC), die in der Probe vorhanden ist, generiert werden. Diese Reaktion wird mit einem von sieben Thermocyclern durchgeführt: Applied Biosystems® 7500 Fast Dx, Applied Biosystems 7500 Standard, Roche LightCycler® 480 Instrument II, Roche cobas® z 480, Qiagen Rotor-Gene® Q, Bio-Rad CFX96 Touch™, Thermo Fisher QuantStudio® 7 Pro. Die Identifizierung des SARS-CoV-2-Virus geschieht anhand der Verwendung von zielspezifischen Primern und fluoreszenzmarkierten Proben, die sich an eine konservierte Region des nicht strukturellen Polyproteins des SARS-CoV-2-Virus anlagern.

Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay – Sondenetiketten	
Ziel	Farbstoff
Nicht strukturelles Polyprotein (pp1ab)	FAM
Prozesskontrolle (PRC)	Quasar® 670 oder Cy5

Zusammenfassung des Verfahrens:

1. **Probenentnahme:** Mit Standardtechniken Nasen-, Nasopharyngeal- oder Oropharyngealabstriche nehmen. Diese Proben werden nach den Anweisungen weiter unten transportiert, aufbewahrt und verarbeitet.¹
2. **Nukleinsäure-Extraktion:** Extrahieren Sie Nukleinsäuren, indem Sie die Abstrichprobe in 400-µl Prozesspuffers geben und 10 Minuten lang bei 95 °C erhitzen. Die Prozesskontrolle (PRC) befindet sich im Prozesspuffer; sie dient zur Überwachung von Inhibitoren in der extrahierten Probe und gewährleistet, dass eine ausreichende Amplifikation stattgefunden hat.
3. **Rehydrierung des Mastermix:** Den lyophilisierten Mastermix unter Verwendung von 135 µl Rehydrierungslösung rehydrieren. Der Mastermix enthält Oligonukleotidprimer, Fluorophore und Quencher-markierte Sonden, die auf konservierte Regionen des SARS-CoV-2 sowie die Prozesskontrollsequenz ausgerichtet sind. Die Sonden sind zweifach markiert: mit einem am 5'-Ende gebundenen Reporterfarbstoff und einem am 3'-Ende gebundenen Quencher. Der rehydrierte Mastermix ist ausreichend für acht Reaktionen.
4. **Amplifizierung und Nachweis der Nukleinsäure:** Jeweils 15 µl rehydrierten Mastermix jeder Testplattenvertiefung (Applied Biosystems 7500 Fast Dx, Applied Biosystems 7500 Standard, Roche LightCycler 480 Instrument II, Roche cobas z 480, Bio-Rad CFX96 Touch, Thermo Fisher QuantStudio 7 Pro) oder jedem Reagenzröhrchen (Qiagen Rotor-Gene Q) hinzufügen. Anschließend werden 5 µl extrahierte Nukleinsäuren (Probe mit PRC) in die Testplattenvertiefung oder das Röhrchen gegeben. Die Testplatte oder das Reagenzröhrchen in dem entsprechenden Gerät platzieren.

Nach Platzierung der Testplatte oder des Reagenzröhrchens in dem Gerät wird das Assay-Protokoll initialisiert. Dieses Protokoll initialisiert die reverse Transkription von RNA-Zielen zur Generierung komplementärer DNA und anschließender Amplifizierung von Zielsequenzen. Der Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay basiert auf der TaqMan®-Chemie unter Verwendung

eines Enzyms mit reverser Transkriptase, DNA-Polymerase und 5'-3'-Exonuklease-Aktivitäten. Während der DNA-Amplifikation spaltet dieses Enzym die auf die komplementäre DNA-Sequenz ausgerichtete Sonde und trennt den Quencher-Farbstoff vom Reporterfarbstoff. Dieser Schritt verursacht einen Anstieg des Fluoreszenzsignals bei Anregung durch eine Lichtquelle einer geeigneten Wellenlänge. Mit jedem Zyklus werden weitere Farbstoffmoleküle von ihren Quenchern getrennt, was zu weiteren Signalen führt. Wenn eine ausreichende Fluoreszenz erreicht ist, wird die Probe für die nachgewiesene Zielsequenz als positiv beurteilt.

BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Kat.-Nr. M124

Nachweis-Kit (96 Reaktionen) – Bei 2 °C bis 8 °C lagern		
Nr.	Komponente	Menge
①	Direct-Rehydrierungslösung Art.-Nr. M5287	1 Fläschchen/Kit, 1,9 ml
②	Lyra SARS-CoV-2 Mastermix Artikelnr. M5150 Lyophilisierter Inhalt: DNA-Polymerase-Enzym mit reverser Transkriptase-Aktivität Oligonukleotid-Primerpaare; Oligonukleotid-Proben dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dUTP, dTTP) Stabilisatoren	12 Fläschchen/Kit, 8 Reaktionen/Fläschchen
③	Prozesspuffer Teil M5281	1 Röhrchen/Kit 40 ml
CONTROL +	Positivkontrolle mit synthetischer SARS-CoV-2 RNA, Art.-Nr. M5274	1 Fläschchen/Kit, 1,0 ml
CONTROL -	Negativkontrolle Art.-Nr. M5275	1 Fläschchen/Kit, 1,0 ml

- Gebrauchsanweisung für den Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

- Beflockter Nasenrachen-Tupfer zur Abnahme von NP-Proben
- Beflockter Nasaltupfer oder Tupfer mit gesponnenem Polyester zur Entnahme von nasalen Proben
- Regulärer beflockter Tupfer oder Tupfer mit gesponnenem Polyester zur Entnahme von oropharyngealen Proben
- Transportröhrchen für Tupfer
- Mikropipetten (Bereich zwischen 1–10 µl und 100–1000 µl)
- Aerosolfreie Filterbarriere-Pipettenspitzen
- Applied Biosystems 7500 Fast Dx, Softwareversion 1.4 oder höher
- Applied Biosystems Standard, Softwareversion 2.0.6 oder höher
- Roche LightCycler 480 Instrument II, Softwareversion 1.5.0.39 oder höher
- Roche cobas z 480 Instrument, Softwareversion 1.5.1.62 SP2- oder höher
- Qiagen Rotor-Gene Q, Softwareversion 2.0.2.4 oder höher
- Bio-Rad CFX96 Touch, Softwareversion 3.1 oder höher
- Thermo Fisher QuantStudio 7 Pro, Softwareversion 2.0 oder höher
- PCR-Platte mit 96 Vertiefungen:
 - ▶ Applied Biosystems 7500 Fast Dx: 4344906
 - ▶ Applied Biosystems Standard: N8010560
 - ▶ Roche LightCycler 480: 04729692001, inklusive Folie
 - ▶ Bio-Rad CFX96 Touch: HSP9631, Verschlussfolie MSB1001
 - ▶ Thermo Fisher QuantStudio 7 Pro: 4483354
- Optische Plattenfilme
- Qiagen 72-Well Rotor (Art.-Nr. 9018903)
- Qiagen Locking Ring 72-Well Rotor (Art.-Nr. 9018904)
- Qiagen Streifenröhrchen mit Verschlusskappen, 0.1 ml (250) (Art.-Nr. 981103)
- Plattenzentrifuge für Platte mit 96 Vertiefungen
- Trockenheizblock, der 1,5-ml-Röhrchen 10 Minuten bei 95 ±1 °C erhitzen kann

- 1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen
- Trockenheizblock, der Tief-Well-Mikrotiterplatten 10 Minuten bei $95 \pm 1^\circ\text{C}$ erhitzen kann (Eppendorf ThermoMixer® C, mit Tief-Well-Einsatz, Art.-Nr. 5382000023, 531000002)
- Tief-Well-Mikrotiterplatte (Eppendorf 951033103 oder gleichwertig)

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Lokale, länderspezifische oder bundesstaatliche Vorschriften für die Meldung meldepflichtiger Krankheiten werden laufend aktualisiert und beinhalten eine Reihe von Organismen für Überwachungs- und Ausbruchuntersuchungen. Die Laboratorien sind dafür verantwortlich, die staatlichen und/oder lokalen Vorschriften zu befolgen; sie müssen die lokalen und/oder staatlichen öffentlichen Gesundheitslaboratorien bezüglich Richtlinien für die Einreichung von Isolaten und/oder klinischen Proben konsultieren.

- Für den Einsatz in der *In-vitro*-Diagnostik.
- Positive Ergebnisse weisen auf das Vorhandensein von SARS-CoV-2-RNA hin.
- Labore innerhalb des Staatsgebiets der USA müssen alle positiven Ergebnisse an die entsprechenden öffentlichen Gesundheitsbehörden melden.
- Die Leistungsmerkmale dieses Tests wurden nur mit dem unter **Verwendungszweck** angegebenen Probentyp bestimmt. Die Leistung dieses Tests mit anderen Probentypen oder Proben wurde nicht beurteilt.
- Die Nutzung von Proben in Transportmedium beeinträchtigt die Sensitivität des Assays; sie sollten nicht mit dem Assay verwendet werden.
- Der Assay wurde unter Verwendung der Applied Biosystems 7500 Fast Dx Softwareversion 1.4. oder höher validiert. Bitte kontaktieren Sie vor der Modifizierung oder einer Aktualisierung dieser Software, die über diese Softwareversion hinausgeht, den technischen Support von Quidel.
- Der Assay wurde unter Verwendung der Applied Biosystems 7500 Standard Softwareversion 2.0.6 oder höher validiert. Bitte kontaktieren Sie vor der Modifizierung oder einer Aktualisierung dieser Software, die über diese Softwareversion hinausgeht, den technischen Support von Quidel.
- Der Assay wurde unter Verwendung von Roche LightCycler 480 Instrument II, Softwareversion 1.5.0.39 validiert. Bitte kontaktieren Sie vor der Modifizierung oder einer Aktualisierung dieser Software, die über diese Softwareversion hinausgeht, den technischen Support von Quidel.
- Der Assay wurde unter Verwendung von Roche LightCycler 480 Instrument II, Softwareversion 1.5.0.39 oder höher validiert. Bitte kontaktieren Sie vor der Modifizierung oder einer Aktualisierung dieser Software, die über diese Softwareversion hinausgeht, den technischen Support von Quidel.
- Der Assay wurde unter Verwendung von Roche cobas z 480 Instrument, Softwareversion 1.5.1.62 SP2- oder höher validiert. Bitte kontaktieren Sie vor der Modifizierung oder einer Aktualisierung dieser Software, die über diese Softwareversion hinausgeht, den technischen Support von Quidel.
- Der Assay wurde unter Verwendung von Qiagen Rotor-Gene Q, Softwareversion 2.0.2.4 oder höher validiert. Bitte kontaktieren Sie vor der Modifizierung oder einer Aktualisierung dieser Software, die über diese Softwareversion hinausgeht, den technischen Support von Quidel.
- Der Assay wurde unter Verwendung von Bio-Rad CFX96 Touch, Softwareversion 3.1 oder höher validiert. Bitte kontaktieren Sie vor der Modifizierung oder einer Aktualisierung dieser Software, die über diese Softwareversion hinausgeht, den technischen Support von Quidel.
- Der Assay wurde unter Verwendung von Thermo Fischer QuantStudio 7 Pro, Softwareversion 2.4 oder höher validiert. Bitte kontaktieren Sie vor der Modifizierung oder einer Aktualisierung dieser Software, die über diese Softwareversion hinausgeht, den technischen Support von Quidel.
- Dieses Produkt darf nur von Personen mit ausreichender Schulung in PCR- und RT-PCR-Techniken verwendet werden.
- Alle Proben/Untersuchungsproben als potenziell infektiös behandeln. Bei der Handhabung der Proben, dieses Kits und seinen Inhalten allgemeine Sicherheitsmaßnahmen anwenden.
- Korrekte Entnahme, Lagerung und korrekter Transport der Probe sind eine wesentliche Voraussetzung für korrekte Ergebnisse.
- Assay-Reagenzien gemäß den Angaben auf den jeweiligen Etiketten lagern.
- Bei der Verwendung dieses Kits geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
- Um genaue Ergebnisse zu erzielen, nur mit kalibrierter Ausrüstung vorsichtig pipettieren.
- Alle Oberflächen mit einer 10%-igen Bleichmittellösung gefolgt von hochreinem Wasser gründlich reinigen und desinfizieren.
- Mikropipetten mit einer Aerosolbarriere oder positiven Einweg-Spitzen für alle Prozesse verwenden.
- Mikrobielle und Kreuzkontaminationen von Kit-Reagenzien sind zu vermeiden. Gute Laborpraktiken einhalten.
- Reagenzien aus Kits mit unterschiedlichen Chargennummern dürfen nicht miteinander vermischt werden.
- Mit diesem Kit keine Reagenzien eines anderen Herstellers verwenden.
- Das Produkt nach dem Verfallsdatum nicht mehr verwenden.

- Eine angemessene Planung der Arbeitsabläufe verringert das Kontaminationsrisiko wesentlich. Labor-Arbeitsabläufe stets unidirektional planen, wobei mit der Prä-Amplifizierung zu beginnen ist und mit der Amplifizierung und der Detektion fortgefahren wird.
- Speziell vorgesehene Materialien und Geräte in den Bereichen vor der Amplifikation während der Amplifikation verwenden.
- Das Bewegen von Personen und Geräten zwischen den Bereichen ist zu vermeiden.
- Amplifikationszubehör ist stets von Vor-Amplifikationszubehör getrennt zu halten.
- Probenröhrchen oder Testplatten nach der Amplifikation nicht öffnen bzw. entsiegeln.
- Amplifiziertes Material sorgsam und gemäß den lokalen Gesetzen und Vorschriften entsorgen, um das Risiko einer Amplicon-Kontamination zu minimieren.
- Für die Reagenzien- oder Probenvorbereitung vorgesehene Materialien nicht für die Verarbeitung der Ziel-Nukleinsäure verwenden.
- Bitte lesen Sie das Sicherheitsdatenblatt (SDB) auf quidel.com, um weitere Informationen zu Gefahrensymbolen, Sicherheit, Handhabung und Entsorgung der Komponenten in diesem Kit zu erhalten.

LAGERUNG UND HANDHABUNG VON KIT-REAGENZIE

- Das ungeöffnete Kit bis zum auf der äußeren Kit-Schachtel aufgedruckten Verfallsdatum bei 2 °C bis 8 °C lagern.
- Der rehydrierte Mastermix sollte innerhalb von 2 Stunden nach der Rehydrierung verwendet werden. Übrig gebliebener Mastermix kann bis zu 24 Stunden lang bei -20 °C aufbewahrt werden.

Anzeichen einer Instabilität oder Zersetzung der Reagenzien

Eine Trübheit der Rehydrierungslösung vor dem Verfallsdatum kann auf eine Zersetzung dieses Reagens hinweisen. Kontaktieren Sie den technischen Support von Quidel bzgl. einer Ersatzlieferung.

PROBENENTNAHME, LAGERUNG UND HANDHABUNG

Nasen-, Nasenrachen- oder Mundrachenabstrichproben sollten nach der Abnahme in einem sauberen, trockenen Transportröhrchen aufbewahrt werden. Die Proben sollten so schnell wie möglich nach der Entnahme transportiert und geprüft werden. Die Proben sind bei Raumtemperatur bis zu 48 Stunden oder bei Lagerung bei 2 bis 8 °C bis zu 72 Stunden stabil. Wenn Proben nicht innerhalb von 72 Stunden nach der Probenentnahme getestet werden können, müssen sie bis zum Testzeitpunkt bei mindestens -70 °C eingefroren werden. Die Stabilität bei -70 °C wurde bis zu 8 Tage nach der Entnahme bewertet.

AUFBEWAHRUNG VERARBEITETER PROBEN

In Prozesspuffer verarbeitete Proben können bei 2 bis 8 °C bis zu 7 Tage gelagert werden.

ASSAY-VERFAHREN

Die folgenden Verfahren bei einer kontrollierten Raumtemperatur von 20 °C bis 25 °C durchführen.

Verfahren für die Probenverarbeitung

1. 25 Minuten vor dem Wärmelyse-Schritt den Heizblock auf 95 °C anheizen.
2. 400 µl Prozesspuffer in die erforderliche Anzahl von Wells (2 für Kontrollen und 1 pro Patient) einer Deep-Well-Mikrotiterplatte oder ein Mikrozentrifugenröhrchen geben.
3. Den Abstrichtupfer in das gekennzeichnete Lyseröhrchen geben und 10 Sekunden lang energisch schwenken, um das Probematerial zu eluieren. Den Kopf des Abstrichtupfers beim Herausnehmen an der Innenseite der Vertiefung entlangrollen. Den gebrauchten Tupfer im Behälter für biologisch gefährlichen Abfall entsorgen.
4. Die Platte oder die Röhrchen 10 Minuten bei 95 ± 1 °C erhitzen:
 - Hinweis: Die Platte bei der Erhitzung nicht versiegeln oder abdecken.**
 - a. Für die Tief-Well-Platte eine Drehzahl von 300 U/min einstellen.
 - b. Röhrchen vor und nach der Erhitzung 5 Sekunden lang vortexen.

Hinweis: Das 10-minütige Lyseverfahren nach Einsetzen der Röhrchen in den Block starten und warten, bis der Block 95 °C erreicht.

5. Die verarbeiteten Proben aus dem Röhrchen- oder Platten-Heizblock nehmen und auf eine Temperatur zwischen Raumtemperatur und Kühltemperatur abkühlen lassen. Hierzu gehören auch Proben in einer Tief-Well-Mikrotiterplatte oder einem Mikrozentrifugenröhrchen. Die Probe erscheint trüb.

Hinweis: Die lysierten Proben können bis zu 7 Tage bei 2-8 °C, -20 °C oder -70 °C aufbewahrt werden.

Verfahren zum Rehydrieren des Mastermix

1. Die Anzahl der extrahierten Proben, die getestet werden sollen bestimmen und die richtige Anzahl von Fläschchen mit lyophilisiertem Mastermix für acht Tests für die Tests bereitstellen.
2. Nicht verwendete Reagenzien wieder den ordnungsgemäßen Lagerbedingungen zuführen.
3. Mastermix vorsichtig öffnen, um einen Zerfall des Pellets zu vermeiden.
4. In den Mastermix 135 µl Rehydrierungslösung geben.
5. Das Pellet im Fläschchen 1–2 Minuten bei Raumtemperatur rehydrieren lassen.
6. Vor dem Dispensieren in die erste Testplattenvertiefung oder das erste Reagenzröhrchen vorsichtig 2–3 Mal hoch- und runterpipettieren und dabei die Bildung von Bläschen vermeiden.

Hinweis: Der rehydrierte Mastermix ist ausreichend für 8 Reaktionen.

Hinweis: Der rehydrierte Mastermix kann bis zu 2 Stunden lang bei Raumtemperatur (20 °C bis 25 °C) aufbewahrt werden.

RT-PCR Einrichtungsverfahren

1. Jeder Testplattenvertiefung oder jedem Reagenzröhrchen jeweils 15 µl rehydrierten Mastermix zufügen.
2. Bei Mikrozentrifugenröhrchen jedes Röhrchen 10 Sekunden lang vortexen, bevor es auf die Platte gegeben wird. Darauf achten, dass das gesamte ausgefällte Material wieder gelöst ist. Anschließend 5 µl verarbeitete Probe (Probe mit Prozesskontrolle) in die PCR-Plattenvertiefung oder das Reagenzröhrchen geben. Das Mischen der Reagenzien ist nicht erforderlich.

Hinweis: Für jede extrahierte Probe eine neue Barriere-Mikropipettenspitze verwenden.

Hinweis: Das Vortexen und das Umfüllen von 5 µl aus dem Röhrchen müssen separat erfolgen. Das Vortexen der Röhrchen vor dem Umfüllen darf nicht chargenweise erfolgen.

3. Für eine Tief-Well-Mikrotiterplatte den Inhalt jeder Vertiefung dreimal auf- und abpipettieren, um ihn zu mischen. Die Pipette sollte auf 150 µl eingestellt sein. Sofort 5 µl der verarbeiteten Probe in die PCR-Platte oder das PCR-Röhrchen umfüllen.

Hinweis: Für jede extrahierte Probe eine neue Barriere-Mikropipettenspitze verwenden.

Hinweis: Das Mischen und das Umfüllen von 5 µl aus jeder Vertiefung müssen separat durchgeführt werden. Das Mischen aller Vertiefungen einer Platte vor dem Umfüllen darf nicht chargenweise erfolgen.

4. Die Testplatte oder die Reagenzröhrchen versiegeln.
5. Die Testplatte mindestens 15 Sekunden zentrifugieren. Sicherstellen, dass sich sämtliche Flüssigkeit am Boden der Plattenvertiefungen befindet und dass keine Luftbläschen vorhanden sind.
Hinweis: Die im Qiagen Rotor-Gene Q verwendeten Röhrchen müssen nicht zentrifugiert werden, bevor sie ins Instrument geladen werden.
6. Den entsprechenden Thermocycler einschalten.
7. Platte oder Röhrchen in den entsprechenden Thermocycler geben.

Hinweis: Spezifische Programmier- und Testprotokolle für jeden Thermocycler finden Sie im Anhang (Seite 16).

QUALITÄTSKONTROLLE

Der Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay beinhaltet verschiedene Kontrollen, um die Leistung des Assays zu überwachen.

1. Die **Prozesskontrolle** (PRC) besteht aus einem inaktivierten und stabilisierten MS2-Bakteriophagen, der ein RNA-Genom enthält und im Prozesspuffer enthalten ist. Die PRC dient der Überwachung von Inhibitoren in der extrahierten Probe und stellt sicher, dass eine ausreichende Amplifikation stattgefunden hat.
2. Die **Positivkontrolle** (mit SARS-CoV-2-RNA, Teil M5274) muss als Patientenprobe behandelt werden und in jeden Extraktions- und RT-PCR-Lauf mit einbezogen werden. Die Positivkontrolle kann eingetaucht werden, indem ein trockener Nasenrachenabstrich zehn Sekunden lang in die Kontrolle getaucht und dann 10 Sekunden lang energisch in einen aliquotierten Prozesspuffer geschwenkt wird, oder es können 50 µl in einen aliquotierten Prozesspuffer umgefüllt werden.

- Die **Negativkontrolle** (Teil M5275) muss als Patientenprobe behandelt werden und in jeden Extraktions- und RT-PCR-Lauf mit einbezogen werden. Die Negativkontrolle kann eingetaucht werden, indem ein trockener Nasenrachenabstrich zehn Sekunden lang in die Kontrolle getaucht und dann 10 Sekunden lang energisch in einen aliquotierten Prozesspuffer geschwenkt wird, oder es können 50 µl in einen aliquotierten Prozesspuffer umgefüllt werden.
- Eine fehlgeschlagene **Positiv-** oder **Negativkontrolle** macht den RT-PCR-Lauf ungültig und die Ergebnisse dürfen nicht berichtet werden. Der RT-PCR-Lauf muss zuerst mit den extrahierten Kontrollen und Proben wiederholt werden. Ein weiteres Aliquot aus den Kontrollen und Proben extrahieren und testen oder neue Proben gewinnen und diese erneut testen, falls die Kontrollen erneut fehlschlagen.

Erwartete Ergebnisse der Kontrollen (Applied Biosystems 7500 Fast Dx, Applied Biosystems 7500 Standard, Bio-Rad CFX96 Touch, Qiagen Rotor-Gene Q oder Thermo Fisher QuantStudio 7 Pro)					
Kontrolltyp/Name	Zur Überprüfung	SARS-CoV-2	Erwartete Ct-Werte	PRC	Erwartete Ct-Werte
Positivkontrolle	Grundlegendes Versagen der Reagenzien inklusive Primer- und Probenintegrität	+	$5,0 \leq Ct \leq 30,0$	+/-	NA ¹
Negativkontrolle	Kontamination der Reagenzien und/oder der Umgebung	-	Nicht nachgewiesen	+	$5,0 \leq Ct \leq 30,0$

¹Für die Prozesskontrolle ist für eine positive Kennzeichnung kein Ct-Wert erforderlich.

Erwartete Ergebnisse der Kontrollen (Roche LightCycler 480 und Roche cobas z 480)					
Kontrolltyp/Name	Zur Überprüfung	SARS-CoV-2	Erwartete Ct-Werte	PRC	Erwartete Ct-Werte
Positivkontrolle	Grundlegendes Versagen der Reagenzien inklusive Primer- und Probenintegrität	+	$5,0 \leq Ct \leq 40,0$	+/-	NA ¹
Negativkontrolle	Kontamination der Reagenzien und/oder der Umgebung	-	Nicht nachgewiesen	+	$5,0 \leq Ct \leq 40,0$

¹Für die Prozesskontrolle ist für eine positive Kennzeichnung kein Ct-Wert erforderlich.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE VON PATIENTENPROBEN

Interpretation der Assay-Ergebnisse des Lyra Direct SARS-CoV-2 auf dem Applied Biosystems 7500 Fast Dx, Applied Biosystems 7500 Standard, Bio-rad Cfx96, Qiagen Rotor-Gene Q oder ThermoFisher QS7				
Assay-Ergebnis	Detektor: SARS-CoV-2	Detektor: Prozesskontrolle	Auswertung der Ergebnisse	Anmerkungen und spezielle Anweisungen
Negativ	Kein Ct nachgewiesen	$5,0 \leq Ct \leq 30,0$	Keine SARS-CoV-2-Virus-RNA nachgewiesen; PRC nachgewiesen.	
SARS-CoV-2 Positiv	$5,0 \leq Ct \leq 30,0$ ¹	NA ²	SARS-CoV-2 Virus-RNA nachgewiesen.	
Ungültig	Kein Ct nachgewiesen	Kein Ct nachgewiesen	Keine SARS-CoV-2-Virus-RNA und keine PRC-RNA nachgewiesen.	Ungültiger Test. Dieselbe verarbeitete Probe erneut testen. Wenn der Test ebenfalls ungültig ist, eine neue Probe nehmen und den Test wiederholen.

Auswertung der Assay-Ergebnisse des Lyra Direct SARS-CoV-2 auf dem Roche LightCycler 480 und dem Roche Cobas z480				
Assay-Ergebnis	Detektor: SARS-CoV-2	Detektor: Prozesskontrolle	Auswertung der Ergebnisse	Anmerkungen und spezielle Anweisungen
Negativ	Kein Ct nachgewiesen	$5,0 \leq Ct \leq 40,0$	Keine SARS-CoV-2-Virus-RNA nachgewiesen; PRC nachgewiesen.	
SARS-CoV-2 Positiv	$5,0 \leq Ct \leq 40,0^1$	NA ²	SARS-CoV-2 Virus-RNA nachgewiesen.	
Ungültig	Kein Ct nachgewiesen	Kein Ct nachgewiesen	Keine SARS-CoV-2-Virus-RNA und keine PRC-RNA nachgewiesen.	Ungültiger Test. Dieselbe verarbeitete Probe erneut testen. Wenn der Test ebenfalls ungültig ist, eine neue Probe nehmen und den Test wiederholen.

¹ Proben, die einen Ct-Wert zwischen 0 (unbestimmt) und 5 erzeugen, 1:10- und 1:100-Verdünnungen mit nicht inokuliertem Prozesspuffer vornehmen. Verarbeiten (einschließlich des Wärmeschritts) und die verdünnten Proben gemäß den obigen Anweisungen testen. Die Ergebnisse gemäß Tabelle 5 oben auswerten. Bitte beachten: Wenn die Prüfung der ursprünglichen Amplifikationskurve aus der unverdünnten Probe nicht auf ein positives Ergebnis hindeutet, kann die Verarbeitung der verdünnten Proben aufgeschoben werden. Wenn die verdünnten Proben Ct-Werte zwischen 0 (unbestimmt) und 5 aufweisen, kontaktieren Sie bitte einen Quidel-Vertreter unter (800) 874-1517 (gebührenfrei in den USA) oder (858) 552-1100 (außerhalb der USA), Montag bis Freitag, zwischen 8:00 und 17:00 Uhr, US-Ostküstenzeit für weitere Anweisungen.

² Damit die Prozesskontrolle ein positives Ergebnis zeigt, ist kein Ct-Wert erforderlich.

KLINISCHE LEISTUNGSFÄHIGKEIT

Die klinische Leistungsfähigkeit des Lyra Direct SARS-CoV-2-Assays wurde anhand von zwei Studien mit vollständig künstlichen positiven Proben unter Verwendung von nasopharyngealen Abstrichen und oropharyngealen Proben sowie einer prospektiven Studie mit abgestimmten Nasenabstrichen bewertet.

Studie 1

Es wurden dreißig (30) positive künstliche NP-Proben hergestellt, indem dreißig (30) einzelne klinische Proben, die mit dem Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay für SARS-CoV-2-negativ befunden wurden, geimpft wurden. Die geimpften Proben wurden auf die Tupfer aufgebracht (ca. 50 µl) und dann gemäß Packungsbeilage des Lyra Direct SARS-CoV-2 Assays verarbeitet und getestet. Zwanzig (20) Proben wurden mit 1 x LoD (3,40e+4 cp/ml) des Virus geimpft. Zehn (10) weitere Proben wurden mit 5 x LoD (1,7E+5 cp/ml) des Virus geimpft.

Neunundzwanzig (29) von dreißig (30) künstlich hergestellten Proben waren im Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay positiv. Die Ergebnisse für die künstlich hergestellten positiven Proben sind in der nachfolgenden Tabelle dargestellt:

Klinische Bewertung von geimpften Nasenrachenabstrichproben			
Konzentration der Proben-RNA	Anz. positive/Anz. getestete	Mittlerer SARS-CoV-2 Ct	% CV
nicht geimpft	0/30	Nicht verfügbar	Nicht verfügbar
1x LoD	19/20	27,06	6,6
5 x LoD	10/10	23,51	4,7

Leistung im Vergleich zu den erwarteten Ergebnissen:

Positiv-Übereinstimmung in Prozent 29/30 = 97 % (95 % KI: 83,3 % bis 99,4 %)
 Negativ-Übereinstimmung in Prozent 30/30 = 100 % (95 % KI: 88,6 % bis 100 %)

Studie 2

Es wurden fünfzehn (15) positive künstliche OP-Proben hergestellt, indem fünfzehn (15) einzelne klinische Proben, die mit dem Lyra SARS-CoV-2 Assay für SARS-CoV-2-negativ befunden wurden, geimpft wurden. Die geimpften Proben wurden auf die Tupfer aufgebracht (ca. 50 µl) und dann gemäß Packungsbeilage des Lyra Direct SARS-CoV-2 Assays verarbeitet und getestet. Sieben (7) Proben wurden mit 1 x LoD (3,40e+4 cp/ml) des Virus geimpft, vier (4) Proben wurden mit 10 x LoD (3,4e+5 cp/ml) des Virus geimpft und vier (4) Proben wurden mit 100 x LoD (3,4e+6 cp/ml) des Virus geimpft. Acht (8) zusätzliche negative OP-Proben, nach dem Lyra SARS-CoV-2 Assay, wurden nach der Packungsbeilage des Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay getestet.

Fünfzehn (15) von fünfzehn (15) künstlich hergestellten Proben waren im Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay positiv. Die Ergebnisse für die OP-Proben sind in der nachfolgenden Tabelle dargestellt:

Klinische Bewertung in aufgestockten oropharyngealen Abstrichproben			
Konzentration der Proben-RNA	Anz. positive/Anz. getestete	Mittlerer SARS-CoV-2 Ct	% CV
nicht geimpft	0/8	Nicht verfügbar	Nicht verfügbar
1x LoD	7/7	23,2	5,1
10 x LoD	4/4	20,1	0,6
100 x LoD	4/4	17,1	0,5

Leistung im Vergleich zu den erwarteten Ergebnissen:

Positiv-Übereinstimmung in Prozent 15/15 = 100 % (95 % KI: 79,6 % bis 100 %)

Negativ-Übereinstimmung in Prozent 8/8 = 100 % (95 % KI: 67,6 % bis 100 %)

Studie 3

Es wurde eine prospektive Studie durchgeführt, in der der Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay mit einem zugelassenen molekularen EUA-Assay verglichen wurde. Einhunderteinundachtzig (181) passende Nasenproben wurden gleichzeitig mit beiden Geräten gemäß den jeweiligen Packungsbeilagen getestet. Die Proben wurden an drei Standorten entnommen und auf Kühlakkus zum Testen verschickt. Die Nasenabstriche wurden randomisiert, verarbeitet und mit beiden Geräten getestet.

Drei (3) Proben (1,7 %) waren im Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay ungültig und wurden aus der weiteren Analyse entfernt. Die Daten für die verbleibenden einhundertachtundsiebzig (178) Proben sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Vergleich des Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay mit dem Reference Extracted SARS-CoV-2 Assay								
	SARS-CoV-2 RT-PCR Komparator				95 % KI			
		POS	NEG	Gesamt	PPA	96,0 %	86,5 %	98,9 %
Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay	POS	48	0	48	NPA	100,0%	97,1 %	100,0%
	NEG	2	128	130	PPV	100,0%	92,6 %	100,0%
	Gesamt	50	128	178	NPV	98,5 %	94,6 %	99,6 %

ANALYTISCHE LEISTUNGSFÄHIGKEIT

Nachweisgrenze

Studie 1

Die Detektionsgrenze (LoD) des Lyra Direct SARS-CoV-2 Assays nutzte Grenzverdünnungen von gamma-bestrahltem SARS-bezogenen Coronavirus 2 (SARS-CoV-2), der in eine negative Nasenrachen-Matrix im Puffer eingeimpft wurde. Jede Verdünnung wurde zu den Tupfern hinzugefügt (ca. 50 µl), dann nach der Packungsbeilage des Assays verarbeitet und mit dem Applied Biosystems 7500 Fast Dx, Applied Biosystems 7500 Standard, Roche LightCycler 480, Roche cobas z 480, Qiagen Rotor-Gene Q, Bio-Rad CFX96 Touch oder Thermo Fisher QuantStudio 7 Pro getestet. Die analytische Sensitivität (LoD; limit of detection) ist als die tiefste Konzentration definiert, bei der mindestens 95 % aller Wiederholungen positiv getestet werden.

Mit dieser Studie wurde die LoD für den Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay wie unten angegeben ermittelt und anschließend durch die Testung von 20 Replikaten bestätigt.

**LoD-Bestätigungsergebnisse wurden auf Applied Biosystems 7500 Fast Dx,
Applied Biosystems 7500 Standard, Roche LightCycler 480 und cobas z 480, Qiagen Rotor-Gene Q,
Bio-Rad CFX96 Touch oder Thermo Fisher QuantStudio 7 Pro getestet**

Thermocycler	NP-Tupfer – 7500 Fast Dx	NP-Tupfer – 7500 Standard	NP-Tupfer – LightCycler 480 ²	NP-Tupfer – cobas z 480 ²	NP-Tupfer – CFX96 Touch	NP-Tupfer – Rotor-Gene Q	NP-Tupfer – QuantStudio 7 Pro
Konzentration ¹	3,40E+04	3,40E+04	3,40E+04	3,40E+04	3,40E+04	3,40E+04	6,80E+04
COVID-19							
AVE gesamt	25,85	28,48	33,87	33,55	25,10	26,89	26,47
STDEV gesamt	1,25	0,95	1,55	1,19	1,06	1,24	0,77
% CV gesamt	4,8 %	3,3 %	4,6 %	3,6 %	4,2 %	4,6 %	2,9 %
Detektion	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20
PRC							
AVE gesamt	21,69	20,03	21,96	23,98	17,85	19,79	23,20
STDEV gesamt	0,68	0,20	1,13	1,07	1,29	0,33	0,75
% CV gesamt	3,1 %	1,0 %	5,1 %	4,5 %	7,2 %	1,6 %	3,2 %
Detektion	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20

¹ Konzentration wird in RNA-Kopien/ml angegeben

² Die Ergebnisse umfassen 10 Zyklen, die von den anderen Geräten nicht aufgezeichnet wurden

Studie 2 – Vergleichende LoD-Studie für den Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay und den Lyra SARS-CoV-2 Assay

Es wurde eine zweite LoD-Studie durchgeführt, um die Detektionsgrenze (LoD) des Lyra Direct SARS-CoV-2 Assays und des Lyra SARS-CoV-2 Assays auf dem ABI 7500 Fast Dx unter Verwendung von Grenzverdünnungen von gammabestrahltm SARS-CoV-2-Virus zu vergleichen. Bei dieser Studie wurde eine Virenkonzentration von 1 x LoD in negativer NP-Matrix auf den NP-Tupfer geimpft. Zwanzig (20) Replikate der inokulierten Tupfer wurden nach der Packungsbeilage zum Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay direkt getestet oder zum Testen mit dem Lyra SARS-CoV-2 Assay zu 3,0 ml UTM hinzugefügt (insgesamt vierzig Tupfer-Replikate). Der Test wurde mit dem ABI 7500 Fast Dx durchgeführt.

Studienergebnisse der LoD-Bestätigung

Lyra Extracted Assay Replikat	1,28E+04 cp/ml	
	SARS-CoV-2	PRC
1	26,03	18,62
2	24,02	18,41
3	23,58	18,59
4	24,00	18,48
5	23,70	18,63
6	25,27	18,71
7	24,70	19,13
8	24,42	19,19
9	23,99	19,26
10	26,63	19,21
11	25,29	19,65
12	24,73	19,84
13	25,28	19,56
14	25,01	19,56
15	25,66	19,44
16	26,34	19,57
17	26,23	19,29
18	24,12	19,43
19	25,30	19,24

Lyra Extracted Assay	1,28E+04 cp/ml	
Replikat	SARS-CoV-2	PRC
20	24,40	19,47
% nachgewiesen	100 %	100 %
Durchschnitt für Pos	24,93	19,16
STDEV für Pos	0,92	0,44
% CV	3,7 %	2,3 %

Lyra Direct Assay	1,28E+04 cp/ml	
Replikat	SARS-CoV-2	PRC
1	24,93	18,37
2	24,02	17,71
3	27,80	18,21
4	24,62	17,75
5	24,75	18,07
6	23,67	18,03
7	23,32	17,83
8	22,53	17,64
9	24,15	17,91
10	22,93	18,47
11	24,07	17,59
12	24,38	18,45
13	25,80	18,01
14	24,99	17,87
15	23,11	17,67
16	24,52	18,42
17	24,72	18,35
18	24,26	18,30
19	24,70	18,45
20	26,59	18,31
% nachgewiesen	100 %	100 %
Durchschnitt für Pos	24,49	18,07
STDEV für Pos	1,23	0,31
% CV	5,0 %	1,7 %

Basierend auf diesem Studiendesign haben die 2 Versionen des Lyra Assays (Lyra SARS-CoV-2 Assay und Lyra Direct SARS-CoV-2) eine Eingabe-LoD von $1,28 \times 10^4$ Genomäquivalente/ml. Dabei ist anzumerken, dass die veröffentlichte LoD des Lyra SARS-CoV-2 Assay ($8,00E-01$ genomische RNA-Kopien/ μ l) korrekt ist. Die Endkonzentration des mit dem Assay getesteten Virus nach der Verdünnung beträgt 3,0 ml UTM und die Konzentration beim Extraktionsverfahren beträgt ungefähr 800 cp/ml.

ANALYTISCHE REAKTIVITÄT (INKLUSIVITÄT)

Die Inklusivität des Lyra SARS-CoV-2 Assay wurde durch das Testen von gammabestrahltm SARS-verwandten Coronavirus 2 (SARS-CoV-2), Isolat USA-WA1/2020 und über eine *In-silico*-Analyse festgestellt.

Die Inklusivität des Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay wurde durch eine *In-silico*-Analyse verfügbarer SARS-CoV-2-Sequenzen ermittelt. Mit Stand vom 22. April 2021 waren insgesamt 1.378.013 SARS-CoV-2-Sequenzen in den Datenbanken GISAID und NCBI verfügbar. Davon enthalten 1.356.832 (98,46 %) die Amplikonregion (<5 undefinierte Nukleotidbasen in jeder Oligonukleotidregion) und sind zu 71,43–100 % mit den Lyra Direct SARS-CoV-2 Oligonukleotiden konserviert. Die Anzahl der Sequenzen, die zu 100 % und ≥ 95 % mit dem Oligo-Set konserviert sind, sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Datenbank	Verfügbare Sequenzen	Sequenzen einschl. Ampliconregion	Sequenzen mit 100 % Homologie zum Oligo-Set	Sequenzen mit ≥95 % Homologie zum Oligo-Set
GISAID	1.183.880	1.165.604	1.159.422	1.165.595
NCBI	194.133	191.228	189.505	191.228

Inklusivität des Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay mit sieben (7) veröffentlichten Varianten (Variante B.1.1.7 (VUI202012/01), Variante B.1.351 (501Y.N2), Variante P.1 (501Y.V3), Variante B.1.429+B.1.427 (452R.V1), Variante B.1.525 (484K.V3), Variante B.1.526 (NY), Variante B.1.617 (Indische Doppelmutante) wurde durch eine In-silico-Analyse von verfügbaren SARS-CoV-2-Sequenzen ermittelt. Alle Sequenzen sind zu 90,48–100 % gegenüber den Lyra Direct SARS-CoV-2-Oligonukleotiden konserviert. Die Anzahl von Sequenzvarianten, die zu 100 % und ≥95 % gegenüber dem Oligo-Set konserviert sind, ist in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst.

Datenbank	Variante	Verfügbare Sequenzen	Sequenzen einschl. Ampliconregion	Sequenzen mit 100 % Homologie zum Oligo-Set	Sequenzen mit ≥95 % Homologie zum Oligo-Set
GISAID	B.1.1.7 (VUI202012/01)	399.189	395.236	394.338	395.235
	SA Variante B.1.351 (501Y.N2)	10.658	10.436	10.385	10.436
	Variante P.1 (501Y.V3)	4.735	4.696	4.688	4.696
	Variante B.1.429+B.1.427 (452R.V1)	30.306	30.107	29.981	30.103
	Variante B.1.525 (484K.V3)	1.882	1.860	1.853	1.860
	Variante B.1.526 (NY)	8.793	8.771	8.176	8.771
	Variante B.1.617 (Indien Doppelmutante)	862	850	843	850

52 B.1.1.7 Varianten haben einen SNP, der am 3'-Ende eines Primers ausgerichtet ist. Eine RNA-Sequenz, die eine UK-Variante mit dem SNP repräsentiert, und eine, die eine Kontrollsequenz (MN908947.3) repräsentiert, wurden bestellt und mit dem Lyra SARS-CoV-2 Assay getestet. Beide RNA-Templates lieferten vergleichbare Ergebnisse, was darauf hindeutet, dass das am 3'-Ende ausgerichtete SNP die Detektion nicht beeinträchtigt. Das Ergebnis korreliert mit den vorausgegangenen Studien über mit dem 3'-Ende des Lyra-Primer ausgerichtete SNPs.

ANALYTISCHE SPEZIFITÄT (KREUZREAKTIVITÄT)

Die analytische Spezifität des Assays wurde mit dem Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay sowohl durch die direkte Testung von Organismen mit dem Assay („Wet Testing“) und durch die In-silico-Analyse bestimmt. Beim „Wet Testing“ wurden 25 Mikroorganismen in hohen Konzentrationen verwendet, die von der FDA für die Evaluierung mit hoher Priorität eingestuft wurden, da sie mit hoher Wahrscheinlichkeit in den Proben der oberen Atemwege vorhanden sind. Alle Mikroorganismen waren im „Wet Testing“ mit dem Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay nicht nachweisbar, wie unten gezeigt. **HINWEIS:** Die Primer und Proben, die für den Lyra Direct SARS-CoV-2 verwendet werden, sind mit denen des Lyra SARS-CoV-2 Assays identisch.

Testergebnisse zur Kreuzreaktivität				
Virus/Bakterien/Parasiten	Stamm	Herkunft/Probentyp	Konzentration	Ergebnisse
Adenovirus	Typ 1	Isolat	1 x 10 ^{7,53} U/ml	Neg., Neg., Neg.
Coronavirus	229e	Isolat	1 x 10 ^{6,10} U/ml	Neg., Neg., Neg.
Coronavirus	OC43	Isolat	9,55 x 10 ⁶ TCID ₅₀ /ml	Neg., Neg., Neg.
Coronavirus	NL63	Isolat	1 x 10 ^{4,67} U/ml	Neg., Neg., Neg.

Testergebnisse zur Kreuzreaktivität				
Virus/Bakterien/Parasiten	Stamm	Herkunft/Probentyp	Konzentration	Ergebnisse
MERS-CoV (hitzeinaktiviert)	Florida/USA-2 Saudi Arabien 2014	Isolat	4,17 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	Neg., Neg., Neg.
SARS -1	2003-00592	Inaktiviertes Virus	Nicht verfügbar	Neg., Neg., Neg.
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	M129	Isolat	3 x 10 ⁷ CCU/ml	Neg., Neg., Neg.
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Z018	Isolat	3,8 x 10 ⁹ cfu/ml	Neg., Neg., Neg.
Influenza A H3N2	Brisbane/10/07	Isolat	1 x 10 ^{5,07} U/ml	Neg., Neg., Neg.
Influenza A H1N1	New Caledonia/20/99	Isolat	1 x 10 ^{6,66} U/ml	Neg., Neg., Neg.
Influenza B	Brisbane/33/08	Isolat	1 x 10 ^{5,15} U/ml	Neg., Neg., Neg.
Parainfluenza	Typ 1	Isolat	1 x 10 ^{8,01} U/ml	Neg., Neg., Neg.
Parainfluenza	Typ 2	Isolat	1 x 10 ^{6,34} U/ml	Neg., Neg., Neg.
Parainfluenza	Typ 3	Isolat	8,51 x 10 ⁷ TCID ₅₀ /ml	Neg., Neg., Neg.
Parainfluenza	Typ 4b	Isolat	1 x 10 ^{7,53} U/ml	Neg., Neg., Neg.
Enterovirus	Typ 68	Isolat	1 x 10 ^{6,5} U/ml	Neg., Neg., Neg.
Humanes Metapneumovirus	A1 (IA10-s003)	Isolat	1 x 10 ^{5,55} U/ml	Neg., Neg., Neg.
Respiratorisches Syncytial-Virus	Type A (3/2015 Isolat Nr. 3)	Isolat	1 x 10 ^{5,62} U/ml	Neg., Neg., Neg.
Humanes Rhinovirus	Nicht verfügbar	Inaktiviertes Virus	Nicht verfügbar	Neg., Neg., Neg.
<i>Chlamydomonas pneumoniae</i>	AR-39	Isolat	2,9 x 10 ⁷ IFU/ml	Neg., Neg., Neg.
<i>Haemophilus influenzae</i>	Typ b; Eagan	Isolat	7,87 x 10 ⁸ cfu/ml	Neg., Neg., Neg.
<i>Legionella pneumophila</i>	Philadelphia	Isolat	6,82 x 10 ⁹ cfu/ml	Neg., Neg., Neg.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Z022; 19f	Isolat	2,26 x 10 ⁹ cfu/ml	Neg., Neg., Neg.
<i>Bordetella pertussis</i>		Isolat		Neg., Neg., Neg.
<i>Pneumocystis jirovecii</i> -S. <i>cerevisiae</i> Rekombinant	W303-Pji	Isolat	1,56 x 10 ⁸ cfu/ml	Neg., Neg., Neg.

Die *In-silico*-Analyse war auf zweiunddreißig (32) Mikroorganismen begrenzt, die aufgrund ihres möglichen Vorhandenseins in Proben der oberen Atemwege von der FDA für die Bestimmung mit hoher Priorität eingestuft wurden.

Kreuzreaktivität-Organismen			
Organismus	Gesamtzahl Sequenzen	Anzahl komplette Genome	Anzahl WGS Stämme
Adenovirus	532	532	0
Coronavirus (saisonal)	288	288	0
Enterovirus ^B	2.708	2.674	34
Influenza A Virus ^{A B}	172.455	21444 (+39 A/Mexiko/4108/2009)	108
Influenza B Virus ^{A B}	53.952	6755 (+16 B/Florida/4/2006)	0
Influenza C Virus ^B	2.205	Nicht verfügbar	Nicht verfügbar
Humanes Metapneumovirus	145	145	0
Humanes Parainfluenzavirus 1–4	439	439	0
Humanes Parechovirus	124	124	0
Humanes Respiratorisches Synzytial-Virus ^B	1.275	1.275	0
Rhinovirus	214	214	0
SARS-1	236 ^C	232 (+4 pp1ab Sequenzen)	0
<i>Bacillus anthracis</i>	4.152	69	86
<i>Candida albicans</i>	1.541	59	34
<i>Chlamydomonas pneumoniae</i>	466	5	20
<i>Chlamydia psittaci</i>	11.179	23	45
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	20.797	17	194
<i>Coxiella burnetii</i>	419	28	3
<i>Haemophilus influenzae</i>	45.267	61	692

Kreuzreaktivität-Organismen			
Organismus	Gesamtzahl Sequenzen	Anzahl komplette Genome	Anzahl WGS Stämme
Legionella ^B	4.843	98	65
Leptospira ^B	64.456	133	266
Moraxella catarrhalis ^B	8.333	11	184
Mycobacterium tuberculosis	194	194	0
Mycoplasma pneumoniae	808	51	45
Neisseria elongata und N. meningitidis ^B	312.050	116	1.318
Pneumocystis jirovecii	487	15	3
Pseudomonas aeruginosa	195	195	0
Staphylococcus aureus	634	634	0
Staphylococcus epidermidis ^B	61.880	23	508
Streptococcus pneumoniae ^B	1.633.369	107	8.526
Streptococcus pyogenes ^B	46.153	201	1.733
Streptococcus salivarius ^B	9.417	18	48

^A Genomzahlen für Influenza A und Influenza B wurden für Stämme erhalten, die alle 8 Segmente beinhalteten, außer für A/Mexico/4108/2009(H1N1) und B/Florida/4/2006; alle verfügbaren Gensequenzen wurden eingeschlossen.

^B Für BLAST wurden „Max Target Seqs“ (maximale Zielsequenzen) auf 5.000 eingestellt.

^C 4 Polyprotein-Codon-Sequenzen wurden auch eingeschlossen.

Die *In-silico*-Analyse zeigte eine < 80 %-ige Homologie mit allen Organismen außer bei den folgenden: Drei (3) Enterovirus-Sequenzen sind 80,9 % homolog mit dem Reversprimer, der Vorwärtsprimer ist jedoch nur 76 % homolog und das Alignment der Probe zeigte eine generelle Homologie von 56 %. Die SARS-1 Sequenzen sind ≥ 80 % mit beiden Primern homolog, jedoch ist die letzte Base an den 3'-Enden beider Primer nicht homolog. Im „Wet Testing“ mit dem Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay war der einzig verfügbare SARS-1-Stamm nicht nachweisbar.

STÖRSUBSTANZEN

Es wurde eine Studie durchgeführt, um nachzuweisen, dass potenzielle Störsubstanzen, die eventuell in den oberen Atemwegen zu finden sind, keine Kreuzreaktion aufweisen und den Nachweis von SARS-CoV-2 RNA mit dem Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay nicht stören.

Es wurden vierzehn (14) potenzielle Störsubstanzen in den unten angegebenen Konzentrationen bei Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von SARS-CoV-2 getestet.

Liste der untersuchten Störsubstanzen		
Substanzen	Wirkstoff	Geprüfte Konzentration
Afrin – Nasenspray	Oxymetazolin	5 %
Blut (menschlich)	Blut	5 %
Chloraseptic, Cepacol	Benzocain, Menthol	0,7 g/ml
Flonase	Fluticason	5 %
Halls Relief mit Kirschgeschmack	Menthol	0,8 g/ml
Nasocort Allergy 24 Stunden	Triamcinolon	5. %
Neo-Synephrin	Phenylephrin Hydrochlorid	5 %
Oseltamivir	Oseltamivir	2,2 µg/ml
Gereinigtes Mucinprotein	Mucinprotein	2,5 mg/ml
Rhinocort	Budesonid (Glucocorticoid)	5 %
Salzlösung Nasenspray	Kochsalzlösung	15 %
Tobramycin	Tobramycin	1,25 mg/ml
Zanamivir	Zanamivir	282,0 ng/ml
Zicam Cold Remedy	Galphimia glauca, Luffa operculata, Sabadilla	5 %

Keine der vierzehn (14) in der Studie getesteten potenziellen Störsubstanzen zeigte eine Kreuzreaktivität oder störende Wirkung.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Bei diesem Assay dürfen keine Proben in Transportmedien verwendet werden.
- Negative Ergebnisse schließen eine Infektion mit SARS-CoV-2 nicht aus und dürfen nicht alleinige Basis für Entscheidungen zur Patientenbehandlung sein.
- Negative Ergebnisse sollten als vermutlich betrachtet und zur klinischen Behandlung bei Bedarf mit einem von der FDA zugelassenen Molekular-Assay bestätigt werden, bei dem ein chemischer Lyseschritt, gefolgt von einer Festphasenextraktion von Nukleinsäure zum Einsatz kommt.
- Die Leistungsfähigkeit dieses Tests wurde unter Verwendung von Nasenrachen- und Mundrachen-Abstrichproben beurteilt. Nasenabstriche und Nasenabstriche aus der mittleren Nasenmuschel (unter Aufsicht medizinischen Personals selbst abgenommen oder von medizinischem Personal abgenommen) gelten ebenfalls als akzeptable Probetypen zur Verwendung mit dem Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay.
- Fehler bei Entnahme, Lagerung oder dem Transport von Proben können zu falsch-negativen Ergebnissen führen.
- In der Probe vorhandene Inhibitoren und/oder Fehler im Befolgen des Assay-Verfahrens können zu falsch negativen Ergebnissen führen.
- Assay-Ergebnisse müssen von einer ausgebildeten Medizinfachperson in Kombination mit der Krankengeschichte, klinischen Zeichen und Symptomen und den Ergebnissen anderer diagnostischer Tests des Patienten interpretiert werden.
- Analyt-Ziele (virale Sequenzen) können *in vivo* unabhängig von der Lebensfähigkeit des Virus weiterbestehen. Die Entdeckung von (einem) Analyt-Ziel(en) bedeutet weder, dass ein entsprechender Virus/entsprechende Viren infektiös ist/sind, noch dass sie die Erreger für klinische Symptome sind.
- Es besteht das Risiko von falsch-positiven Ergebnissen aufgrund einer Kreuzkontamination durch Zielorganismen, ihren Nukleinsäuren oder ihrem amplifizierten Produkt oder durch nicht-spezifische Signale im Assay.
- Es besteht ein Risiko von falsch-negativen Werten aufgrund des Vorhandenseins von Sequenzvarianten in den viralen Zielen des Assays.
- Die Leistung des Assays bei immungeschwächten Patienten wurde nicht untersucht.
- Die klinische Leistung wurde nicht für alle im Umlauf befindlichen Varianten nachgewiesen, es wird jedoch erwartet, dass sie die vorherrschenden im Umlauf befindlichen Varianten zum betreffenden Zeitpunkt am Ort der klinischen Beurteilung widerspiegeln wird. Die Leistung zum Zeitpunkt des Tests kann je nach den im Umlauf befindlichen Varianten unterschiedlich sein, einschließlich der neu auftretenden SARS-CoV-2-Stämme und ihrer Prävalenz, die sich mit der Zeit ändern.

KUNDENSERVICE UND TECHNISCHE UNTERSTÜTZUNG

Wenn Sie Fragen zur Verwendung dieses Produkts haben oder ein Problem mit einem Produkt melden möchten, wenden Sie sich bitte an den technischen Support von Quidel unter +1 800 874 1517 (in den USA) oder technicalsupport@quidel.com. Außerhalb der USA können weitere Informationen von Ihrem Vertriebshändler oder direkt von Quidel unter einer der nachstehend angegebenen Nummern eingeholt werden. Auf quidel.com finden Sie weitere Support-Optionen.

Land	Telefon	E-Mail-Adresse
Europa, Nahost und Afrika	+353 (91) 412 474 (Hauptrufnummer) 0 1800 200441 (gebührenfrei)	emeatechnicalsupport@quidel.com
Österreich	+43 316 231239	
Belgien	+32 (2) 793 0180	
Frankreich	0 (805) 371674	
Deutschland	+49 (0) 7154 1593912	
Niederlande	0 800 0224198	
Schweiz	0 800 554864	
Vereinigtes Königreich	0 800 3688248	
Irland	+353 (91) 412 474	
Italien	+39 (800) 620 549	
Nordamerika, Asien-Pazifik, Lateinamerika	858 552 1100	technicalsupport@quidel.com
Kanada	(437) 266-1704 (Hauptrufnummer) (888) 415-8764 (gebührenfrei)	technicalsupport@quidel.com
China	0400 920 9366 oder +86 021 3217 8300	chinatechnicalservice@quidel.com

GEISTIGES EIGENTUM

Die in diesem Produkt beinhaltenen Farbstoffpräparate werden unter der Lizenz von BioSearch Technologies Inc. vertrieben und sind durch bestehende oder angemeldete US-amerikanische und weltweite Patente geschützt.

Quidel und Lyra sind eingetragene Marken der Quidel Corporation. Alle anderen in diesem Dokument enthaltenen Marken sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber und ihre Verwendung hierin impliziert keine Förderung oder Billigung von Produkten oder Dienstleistungen.

LITERATUR

1. Mahbubani, R., McFall-Johnsen, M. und Baker, S., Coronavirus live updates: Death toll soars past 41.400 with more than 846.000 people infected around the world. Business Insider. 31. März 2020.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Viral Culture; Approved Guidelines. CLSI document M41-A [ISBN 1562386239] Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA 2006.
3. Lauer, S.A., et. al. The incubation period of Coronavirus disease 2019 (COVID-19) from publicly reported confirmed cases: estimation and application, Ann Intern Med. 2020
4. www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/about/symptoms.html

ANHANG (SPEZIFISCHE PROGRAMMIER- UND TESTPROTOKOLLE FÜR JEDEN THERMOCYCLER)

Anleitung zum Programmieren von Applied Biosystems 7500 Fast Dx

Weitere Informationen finden sich im Benutzerhandbuch Artikelnummer 4406991.

- Das 7500 Fast Dx Softwarepaket starten.
- Das Dialogfeld „**Quick Startup document**“ (Dokument-Schnellstart) öffnet sich. Die Schaltfläche „**Create New Document**“ betätigen, um den „**New Document Wizard**“ (Neues Dokument-Assistent) zu starten. Zur Aktivierung des Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay-Protokolls die einzelnen Schritte durchführen.

- Dokument definieren: Die meisten der folgenden Einstellungen sollten Standardeinstellungen sein. Bei Bedarf entsprechend anpassen.
 - Die folgenden Angaben bestätigen oder eingeben.

Assay:	Standardkurve (Absolute Quantifikation)
Gefäß:	96-Vertiefungen durchsichtig
Vorlage:	Leeres Dokument
Durchlauf-Modus:	Schnell 7500
Bediener:	<i>Ihr Bedienername</i>
Kommentare:	SDS v1.4
Plattenname:	„Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay“

- Die Schaltfläche „**Next**“ (Weiter) wählen.
- Detektoren wählen: Neue Detektoren für SARS-CoV-2 und die Prozesskontrolle (PRC) müssen hinzugefügt werden. Für jedes Ziel die Schaltfläche „**New Detector**“ (Neuer Detektor) wählen, um das Dialogfenster „**New Detector**“ zu öffnen. Alternativ kann im Dialogfenster „**New Detector**“ die Schaltfläche „**Create Another**“ (Weiteren erstellen) für die letzten beiden Detektoren gewählt werden.

- Für jeden Detektor die folgenden Informationen eingeben.

Name	Reporterfarbstoff	Quencher-Farbstoff	Farbe
SARS-CoV-2	FAM	(keine)	(wählen)
PRC	Cy5	(keine)	(wählen)

- Für jeden Detektor eine spezifische Farbe wählen.
 - Die neuen Detektoren markieren und über die Schaltfläche „**Add**“ (**Hinzufügen**) der Spalte „**Detectors in Document**“ (Detektoren im Dokument) hinzufügen.
 - Aus dem Dropdown-Menü „**Passive Reference**“ (**Passivreferenz**) „**(none)**“ (keine) auswählen.
 - Die Schaltfläche „**Next**“ (Weiter) wählen.
 - Die Schaltfläche „**Finish**“ (Beenden) wählen, ohne Vertiefungen festzulegen.
- Der Assistent wird geschlossen und die Software wird beginnend mit der Registerkarte „**Setup**“ (Setup) aktiviert. Dies ruft die Probenplatte auf, die im Rahmen des Schnellstarts eingerichtet wurde. Für die Ersteinrichtung muss hier keine Änderung vorgenommen werden.
 - Das Thermocycler Protokoll definieren: Die Registerkarte „**Instrument**“ (Gerät) wählen, um Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay RT-PCR-Zykluszeiten und Temperaturen einzurichten. Unter „**Thermal Profile**“ (Wärmeprofil) sollte ein vordefiniertes 2-Phasen-Protokoll vorliegen. Jede Phase bietet dem Benutzer 3 editierbare Textfelder. Der obere Feldwert gibt die Anzahl an Wiederholungen oder Zyklen für diese Phase an. Der mittlere Feldwert gibt die Temperatur (°C) an und der untere Feldwert die Zeit (Minuten: Sekunden) an.

- Es sind die folgenden Änderungen am voreingestellten **Thermal Cycler Protokoll** vorzunehmen:

- Phase 1

- Wdh.: 1
- Temp.: 55
- Zeit: 5:00

- Den Balken zwischen Phase 1 und Phase 2 wählen. Die Schaltfläche „**Add Hold**“ (Hold hinzufügen) wählen, um eine weitere Phase hinzuzufügen.

3. Phase 2
 - a. Wdh.: 1
 - b. Temp.: 60
 - c. Zeit: 5:00
4. Den Balken zwischen Phase 2 und Phase 3 wählen. Die Schaltfläche „Add Hold“ (Hold hinzufügen) wählen, um eine weitere Phase hinzuzufügen.
5. Phase 3
 - a. Wdh.: 1
 - b. Temp.: 65
 - c. Zeit: 5:00
6. Phase 4 (2-stufige Dissoziationsphase)
 - a. Wdh.: 10
 - b. Schritt 1
 - i. Temp.: 92
 - ii. Zeit: 0:05
 - c. Schritt 2
 - i. Temp.: 57
 - ii. Zeit: 0:40
7. Den Balken rechts neben der Phase 4 wählen. Die Schaltfläche „Add Cycle“ (Zyklus hinzufügen) wählen, um eine weitere Phase hinzuzufügen.
8. Phase 5 (2-stufige Dissoziationsphase)
 - a. Wdh.: 30
 - b. Schritt 1
 - i. Temp.: 92
 - ii. Zeit: 0:05
 - c. Schritt 2
 - i. Temp.: 57
 - ii. Zeit: 0:40
9. Wenn eine falsche Phase hinzugefügt wurde, kann diese Phase durch Drücken auf die Schaltfläche „Delete“ (Löschen) nach Markieren der Phase zwischen den vertikalen Linien wieder entfernt werden.

- ii. Unter „Settings“ (Einstellungen) das Folgende eingeben:

Probenvolumen (µl):	20 (Standardeinstellung)
Durchlauf-Modus:	7500 Fast (Standardeinstellung)
Datenerhebung:	Phase 5, Schritt 2 (57,0 @ 0:40)
HINWEIS: Das Kästchen neben „Expert Mode“ (Expertenmodus) darf nicht markiert werden.	

- e. Für jeden Analyt einen Schwellenwert festlegen.
 - i. Die Registerkarte „Results“ (Ergebnisse) wählen.
 - ii. Die Registerkarte „Amplification Plot“ (Amplifizierungsdarstellung) wählen.
 - iii. Von der Registerkarte „Detector“ (Detektor) in der rechten oberen Ecke „SARS-CoV-2“ wählen.
 - iv. Im Block „Analysis Settings“ (Analyseeinstellungen), den „Threshold“ (Schwellenwert) auf „7.5e+004“ setzen.
 - v. Das Optionsfeld „Manual Baseline“ (Manuelle Basislinie) wählen.
 - vi. „3“ für „Start“ und „15“ für „Ende“ eingeben.
 - vii. Von der Registerkarte „Detector“ in der rechten oberen Ecke „PRC“ wählen.
 - viii. Im Block „Analysis Settings“ (Analyseeinstellungen), den „Threshold“ (Schwellenwert) auf „1,0e+004“ setzen.
 - ix. Das Optionsfeld „Manual Baseline“ (Manuelle Basislinie) wählen.
 - x. „3“ für „Start“ und „15“ für „Ende“ eingeben
- f. Das neue Protokoll für eine zukünftige Verwendung als Vorlage speichern.
 - i. Im oberen Teil des Bildschirms erst „File“ (Datei) auswählen und anschließend „Save As“ (Speichern als).
 - ii. **Speichern unter:** D:\Applied Biosystems\7500 Fast System\Templates\
 - iii. **Dateiname:** 'Lyra Direct SARS-CoV-2'
 - iv. **Speichern als Dateityp:** „SDS Templates (*.sdt)“
- g. Die Software beenden.

Applied Biosystems 7500 Fast Dx Thermocycler Testverfahren

1. Das Applied Biosystems® 7500 Fast Dx Softwarepaket v1.4 starten.
2. Das Dialogfeld „**Quick Startup document**“ (Dokument-Schnellstart) öffnet sich.
3. Auf „**Create a new document**“ (Neues Dokument erstellen) klicken.
4. Die meisten der folgenden Einstellungen sollten Standardeinstellungen sein. Bei Bedarf entsprechend anpassen.

Assay:	Standardkurve (Absolute Quantifikation)
Gefäß:	96-Vertiefungen durchsichtig
Vorlage:	Lyra Direct SARS-CoV-2
Durchlauf-Modus:	Schnell 7500
Bediener:	<i>Ihr Bedienername</i>
Kommentare:	SDS v1.4
Plattenname:	TT.MM.JJ- Lyra Direct SARS-CoV-2

5. Probenplatte einrichten
 - a. Unter den Registerkarten „**Setup**“ (Setup) und „**Plate**“ (Platte) erscheint das Platten-Setup.
 - b. Alle Vertiefungen auswählen, die eine Probe enthalten, rechtsklicken und aus dem Dropdown-Menü den „**Well Inspector**“ (Vertiefungsinspektor) wählen. Wenn sich das Dialogfenster „Well Inspector“ öffnet, die Detektoren für SARS-CoV-2 und PRC wählen.
 - c. Mithilfe des „**Well Inspectors**“ die Probenamen eingeben. Die Patienten-ID kann über das Well Inspector-Fenster eingegeben werden. Es wird jedoch empfohlen, dies vor dem Re-Suspendieren des lyophilisierten Mastermixes, nach dem Durchlauf oder unter Verwendung der Importierfunktion durchzuführen, um den Zeitraum zu minimieren, während dessen die PCR-Reaktionen vor dem Durchlaufstart der Raumtemperatur ausgesetzt sind.
 - d. Den Lauf als **TTMMJJ- Lyra Direct SARS-CoV-2.sds** speichern.
 - e. Es öffnet sich ein Fenster, das nach dem „Reason for change of entry“ (Grund für die Änderung des Eintrags) fragt. „**Setup**“ (Setup) und andere für den Lauf wichtige Kommentare eingeben.
6. PCR starten
 - a. Die Registerkarte „**Instrument**“ (Gerät) wählen.
 - b. Die 96-Vertiefungen-PCR-Platte in das Gerät geben.
 - c. Unter „**Instrument Control**“ (**Gerätesteuerung**) die Schaltfläche „**Start**“ wählen, um den Lauf zu starten.
7. Nach der PCR

WICHTIG: Nach Abschluss des Laufs auf „OK“ drücken.

 - a. Zur Analyse der Daten auf die Schaltfläche „**Analyze**“ (Analysieren) im oberen Menü drücken und die Datei anschließend speichern.
 - b. Die Datei durch Drücken auf „**Save Document**“ (Dokument speichern) in der Anwendungsleiste speichern. Es öffnet sich ein Fenster, das nach dem „Reason for change of entry“ (Grund für die Änderung des Eintrags) fragt.
 - c. „**Data analysis post run**“ (Datenanalyse nach dem Durchlauf) sowie andere für den Durchlauf wichtige Kommentare eingeben
8. Auswertung der Ergebnisse (siehe Tabelle 5).

Anleitung zum Programmieren von Applied Biosystems 7500 Standard

Weitere Informationen finden sich im Benutzerhandbuch Artikelnummer 4387783 Rev. C.

1. Das ABI 7500 Softwarepaket starten.
2. Die Schaltfläche „**Advanced Setup**“ (Erweitertes Setup) wählen, um Setup- und Experimenteigenschaften zu öffnen.

Zur Aktivierung des Lyra SARS-CoV-2-Protokolls die einzelnen Schritte durchführen.

 - a. Experimentbezeichnung: „Experiment Name“ (Experimentkennung) als SARS-CoV-2 eingeben. Lassen Sie die Felder „Barcode“ (Strichcode), „User Name“ (Benutzername) und „Comments“ (Kommentare) leer
 - b. Setup des Experiments definieren: 7500 (96 wells (Vertiefungen)), Quantitation-Standard Curve (Quantifizierungs-Standardkurve), TaqMan® Reagents (Reagenzien) und Standard (ca. 2 Stunden für einen kompletten Lauf) auswählen

3. Im Menü oben links „**Plate Setup**“ (Platten-Setup) wählen.
 - a. Ziele definieren: Neue Detektoren für SARS-CoV-2 und die Prozesskontrolle (PRC) müssen hinzugefügt werden.
 - i. Für jeden Detektor die folgenden Informationen eingeben.

Name	Reporterfarbstoff	Quencher-Farbstoff	Farbe
SARS-CoV-2	FAM	(keine)	(wählen)
PRC	Cy5	(keine)	(wählen)

- ii. Für jedes Ziel die Schaltfläche „**Add New Target**“ (Neues Ziel hinzufügen) wählen.
 - iii. Aus jedem Dropdown-Menü „Reporter“, „Quencher“ und „Color“ (Farbe) wählen
 - iv. Für jeden Detektor eine spezifische Farbe wählen
 - b. Ziele und Proben zuweisen: Unter dieser Registerkarte in der linken unteren Ecke „**none**“ (keine) als Passivreferenz auswählen.
4. „**Run Method**“ (Laufmethode) aus dem Menü oben links auswählen
 - a. Unter „**Graphical**“ (Grafische Darstellung) oder „**Tabular View**“ (Tabellarische Darstellung) das „**Reaction Volume**“ (Reaktionsvolumen) je Vertiefung auf 20 µl setzen.
 - b. Thermocycler-Protokoll definieren: Unter „**Graphical**“ (Grafische Darstellung) oder „**Tabular View**“ (Tabellarische Darstellung) sollte das Standardprofil 2 Haltephasen und ein 2-stufiges Zyklusprotokoll sein. Jede Phase bietet dem Benutzer 3 editierbare Textfelder. Der erste Wert repräsentiert die Rate für die Temperaturänderung pro Sekunde (%) für diese Stufe, der zweite Wert die Temperatur (°C) und der dritte Wert die Zeit (Minuten:Sekunden).
 - i. Es sind die folgenden Änderungen am voreingestellten Thermalcycler-Protokoll vorzunehmen:
 1. Phase 1 Erste „**Holding Stage**“ (Haltephase)
 - a. Rate für Temperaturänderung pro Sek.: 100 %
 - b. Temp.: 55
 - c. Zeit: 5:00
 2. Schritt 1 Zweite „**Holding Stage**“ (Haltephase).
 - a. Rate für Temperaturänderung pro Sek.: 100 %
 - b. Temp.: 60
 - c. Zeit: 5:00
 3. Die zweite „**Holding Stage**“ (Haltephase) markieren und die Schaltfläche „**Add Stage**“ (Phase hinzufügen) wählen. Im Dropdown-Menü „**Holding**“ (Halten) wählen
 4. Schritt 1 „**Third Holding Stage**“ (Dritte Haltephase)
 - a. Rate für Temperaturänderung pro Sek.: 100 %
 - b. Temp.: 65
 - c. Zeit: 5:00
 5. Erste „**2-Step Cycling Stage**“ (2-stufige Zyklusphase)
 - a. Anzahl der Zyklen: 10
 - b. „Enable Auto Delta“ (Auto Delta aktivieren) NICHT auswählen
 - c. Schritt 1
 - i. Rate für Temperaturänderung pro Sek.: 100 %
 - ii. Temp.: 92
 - iii. Zeit: 0:05
 - d. Schritt 2
 - i. Rate für Temperaturänderung pro Sek.: 100 %
 - ii. Temp.: 57
 - iii. Zeit: 0:40
 - iv. Die Datenaufnahme auf „Off“ (Aus) stellen, indem die Schaltfläche „**Data Selection**“ (Datenauswahl) unter dem Temperaturschritt ausgewählt wird.
 6. Schritt 2 markieren und die Schaltfläche „**Add Stage**“ (Phase hinzufügen) wählen. Im Dropdown-Menü „**Cycling**“ (Zyklus) wählen
 7. Zweite „**2-Step Cycling Stage**“ (2-stufige Zyklusphase)
 - a. Anzahl der Zyklen: 30
 - b. „Enable Auto Delta“ (Auto Delta aktivieren) NICHT auswählen

c. Schritt 1

- i. Rate für Temperaturänderung pro Sek.: 100 %
- ii. Temp.: 92
- iii. Zeit: 0:05

d. Schritt 2

- i. Rate für Temperaturänderung pro Sek.: 100 %
- ii. Temp.: 57
- iii. Zeit: 0:40
- iv. Sicherstellen, dass die Datenaufnahme für diesen Schritt auf „On“ (Ein) gestellt ist (Standardeinstellung)

8. Wenn eine falsche Phase hinzugefügt wurde, kann diese Phase durch Klicken auf die Schaltfläche „**Undo Add Stage**“ (Phase hinzufügen rückgängig machen) sofort nach dem Hinzufügen der Phase oder durch Markieren der Phase zwischen den vertikalen Linien und der Auswahl der Schaltfläche „**Delete Selected**“ (Auswahl löschen) wieder entfernt werden.

5. Für jeden Analyt einen Schwellenwert festlegen.

- a. Die Registerkarte „**Analysis**“ (Analyse) im Menü oben links wählen.
- b. Die Schaltfläche „**Analysis Settings**“ (Analyseeinstellungen) in der oberen rechten Ecke wählen.
- c. SARS-CoV-2 markieren und das Feld „**Use Default Settings**“ (Standardeinstellungen verwenden) deaktivieren. „**Automatic Threshold**“ (Automatischer Schwellenwert) deaktivieren und den Schwellenwert auf 75.000 stellen. Die Markierung von **Automatic Baseline** (Automatische Baseline) aufheben. Eine „3“ für „**Baseline Start Cycle**“ (Baseline-Start-Zyklus) und 15 für „**End Cycle**“ (Endzyklus) eingeben. Hierzu die Schaltfläche „Analysis Settings“ (Analyseeinstellungen) in der rechten oberen Ecke klicken.
- d. PRC hervorheben und die Markierung des Felds „**Use Default Settings**“ (Standardeinstellungen verwenden) aufheben. „**Automatic Threshold**“ (Automatischer Schwellenwert) deaktivieren und den Schwellenwert auf 10.000 einstellen. Die Markierung von „**Automatic Baseline**“ (Automatische Baseline) aufheben. Eine „3“ für „**Baseline Start Cycle**“ (Baseline-Start-Zyklus) und 15 für „**End Cycle**“ (Endzyklus) eingeben. Hierzu die Schaltfläche „Analysis Settings“ (Analyseeinstellungen) in der rechten oberen Ecke klicken
- e. Unten im Feld die Schaltfläche „**Apply Analysis Settings**“ (Analyseeinstellungen anwenden) auswählen

Ziel	Schwellenwert	Anfang der Basislinie	Ende der Basislinie
SARS-CoV-2	75.000	3	15
PRC	10.000	3	15

- i. Das neue Protokoll für eine zukünftige Verwendung als Vorlage speichern.
 - i. Oben auf dem Bildschirm das Dropdown-Menü neben „**Save**“ (Speichern) wählen
 - ii. „**Save as Template**“ (Als Vorlage speichern) wählen
 - iii. In einem geeigneten Ordner speichern
 - iv. **Dateiname:** 'Lyra Direct SARS-CoV-2'
 - v. „**Save as type**“ (**Speichern als Dateityp**): „Experiment Document Template files (*.edt)“ (Experiment-Dokumentvorlagendateien)
 - vi. Die Software beenden.

Applied Biosystems 7500 Standard Thermocycler Testverfahren

1. Das Applied Biosystems® 7500 Standard Softwarepaket v2.06 starten.
2. Das Dialogfeld „**Quick Startup document**“ (Dokument-Schnellstart) öffnet sich.
3. Auf „**Create a new document**“ (Neues Dokument erstellen) klicken.
4. Die meisten der folgenden Einstellungen sollten Standardeinstellungen sein. Bei Bedarf entsprechend anpassen.

Assay:	Standardkurve (Absolute Quantifikation)
Gefäß:	96-Vertiefungen durchsichtig
Vorlage:	Lyra Direct SARS-CoV-2
Durchlauf-Modus:	7500 Standard
Bediener:	<i>Ihr Bedienername</i>
Kommentare:	SDS v1.4
Plattenname:	TT.MM.JJ- Lyra Direct SARS-CoV-2

5. Probenplatte einrichten
 - a. Unter den Registerkarten „**Setup**“ (Setup) und „**Plate**“ (Platte) erscheint das Platten-Setup.
 - b. Alle Vertiefungen auswählen, die eine Probe enthalten, rechtsklicken und aus dem Dropdown-Menü den „**Well Inspector**“ (Vertiefungsinspektor) wählen. Wenn sich das Dialogfenster „**Well Inspector**“ öffnet, die Detektoren für SARS-CoV-2 und PRC wählen.
 - c. Mithilfe des „**Well Inspectors**“ die Probenamen eingeben. Die Patienten-ID kann über das Well Inspector-Fenster eingegeben werden. Es wird jedoch empfohlen, dies vor dem Re-Suspendieren des lyophilisierten Mastermixes, nach dem Durchlauf oder unter Verwendung der Importierfunktion durchzuführen, um den Zeitraum zu minimieren, während dessen die PCR-Reaktionen vor dem Durchlaufstart der Raumtemperatur ausgesetzt sind.
 - d. Den Lauf als **TTMMJJ- Lyra SARS-CoV-2.sds** speichern.
 - e. Es öffnet sich ein Fenster, das nach dem „Reason for change of entry“ (Grund für die Änderung des Eintrags) fragt. „**Setup**“ (Setup) und andere für den Lauf wichtige Kommentare eingeben.
6. PCR starten
 - a. Die Registerkarte „**Instrument**“ (Gerät) wählen.
 - b. Die 96-Vertiefungen-PCR-Platte in das Gerät geben.
 - c. Unter „**Instrument Control**“ (Gerätesteuerung) die Schaltfläche „**Start**“ wählen, um den Lauf zu starten.
7. Nach der PCR

WICHTIG: Nach Abschluss des Laufs auf „OK“ drücken.

 - a. Zur Analyse der Daten auf die Schaltfläche „**Analyze**“ (Analysieren) im oberen Menü drücken und die Datei anschließend speichern.
 - b. Die Datei durch Drücken auf „**Save Document**“ (Dokument speichern) in der Anwendungsleiste speichern. Es öffnet sich ein Fenster, das nach dem „Reason for change of entry“ (Grund für die Änderung des Eintrags) fragt.
 - c. „**Data analysis post run**“ (Datenanalyse nach dem Durchlauf) sowie andere für den Durchlauf wichtige Kommentare eingeben.
8. Auswertung der Ergebnisse (siehe Tabelle 4)

Bio-Rad CFX96 Touch Thermocycler Programmiervorgang

Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch Artikelnummer 10010424 Rev. D.

Programmieranweisungen:

1. CFX96 Touch Softwarepaket starten
2. Im Dialogfenster des „**Startup Wizard**“ (Startup-Assistent) das **CFX96**-Gerät aus dem Dropdown-Menü wählen
3. Unter „**Select Run Type**“ (Laufart wählen) die Schaltfläche „**User-defined**“ (Benutzerdefiniert) drücken
4. Ein neues Thermocycler-Protokoll erstellen, indem „**Create New**“ (Neu erstellen) aus dem Fenster „**Run Setup**“ (Lauf-Setup) gewählt wird
5. Die folgenden Änderungen an den Zyklusbedingungen im „**Protocol Editor**“ (Protokoll-Editor) vornehmen:
 - a. Das „**Sample Volume**“ (Probenvolumen) auf **20 ul** ändern
 - b. Unter „**Tools**“ (Werkzeuge) in der Symbolleiste oben links „**Run Time Calculator**“ (Laufzeitkalkulator) wählen und „**96 Wells-All Channels**“ (96 Vertiefungen-Alle Kanäle) markieren
 - c. **Schritt 1** (Hold) (Halten)
 - i. Wdh.: 1
 - ii. Temp.: 55 °C
 - iii. Zeit: 5:00
 - d. **Schritt 2** (Hold) (Halten)
 - i. Wdh.: 1
 - ii. Temp.: 60 °C
 - iii. Zeit: 5:00
 - e. **Schritt 3** (Hold) (Halten)
 - i. Wdh.: 1
 - ii. Temp.: 65 °C
 - iii. Zeit: 5:00
 - iv. Das Ablesen der Platte aus dieser Phase entfernen, indem unten links die Schaltfläche „**Remove Plate Read**“ (Plattenablesen entfernen) gewählt wird.

- f. **Schritt 4** (2-stufige Amplifizierungsstufe)
 - i. „**Step 3**“ (Schritt 3) markieren und zur unteren linken Seite des Fensters gehen und insgesamt 2 Mal „**Insert Step**“ (Schritt einfügen) wählen, bis Schritt 5 erreicht ist (sicherstellen, dass oben links im Fenster im Dropdown-Menü für „**Insert Step**“ (Schritt einfügen) „**After**“ (Danach) ausgewählt ist).
 - ii. „**Step 4**“ (Schritt 4) markieren und Folgendes einstellen:
 - 1. Temp.: 92 °C
 - 2. Zeit: 0:05
 - iii. „**Step 5**“ (Schritt 5) markieren und Folgendes einstellen:
 - 1. Temp.: 57 °C
 - 2. Zeit: 0:40
 - 3. Im linken Teil des Bildschirms die Schaltfläche „**Remove Plate Read**“ (Plattenablesen entfernen) auswählen
 - iv. „**Step 6**“ (Schritt 6), den „**GOTO step**“ (GEH-ZU-Schritt) auswählen und auf „**GOTO step 4**“ (GEH-ZU-Schritt 4) und dann die Wiederholungen auf **9** stellen
 - g. **Schritt 7** „(2-Step Amplification Stage)“ (2-stufige Amplifizierungsphase)
 - i. Schritt 6 ist markiert; nun die Schaltfläche „**Insert Step**“ (Schritt einfügen) links unten im Fenster insgesamt zweimal auswählen (bis Schritt 8 erreicht ist)
 - ii. „**Step 7**“ (Schritt 7) markieren und Folgendes einstellen:
 - 1. Temp.: 92 °C
 - 2. Zeit: 0:05
 - iii. „**Step 8**“ (Schritt 8) markieren und Folgendes einstellen:
 - 1. Temp.: 57 °C
 - 2. Zeit: 0:40
 - 3. Im linken Teil des Bildschirms die Schaltfläche „**Add Plate Read to Step**“ (Plattenablesen dem Schritt hinzufügen) auswählen
 - 4. „**Step 8**“ (Schritt 8) markieren und links unten im Fenster die Schaltfläche „**Insert GOTO**“ (GEH-ZU einfügen) auswählen
 - iv. „**Step 9**“ (Schritt 9), den „**GOTO step**“ (GEH-ZU-Schritt) auswählen und auf „**GOTO step 7**“ (GEH-ZU-Schritt 7) und dann die Wiederholungen auf **29** stellen.
 - h. Die neuen Zyklusbedingungen als Protokoll für die zukünftige Verwendung speichern
 - i. Oben links im Bildschirm die Schaltfläche „**Save**“ (Speichern) wählen
 - ii. Im „**ExpressLoad**“ (Schnell laden) Ordner speichern
 - iii. **Die Datei** „Lyra Direct SARS-CoV-2“ benennen
 - iv. **Als Dateityp** „Protocol File (*.prcl)“ (Protokolldatei) speichern
 - v. „**Save**“ (Speichern) auswählen
 - vi. Im Fenster Protokollreditor auf „**Ok**“ klicken
6. Platten-Setup definieren
- a. Im Fenster „**Run Setup**“ (Lauf-Setup) die Registerkarte „**Plate**“ (Platte) wählen
 - b. Unter „**Express Load**“ im Dropdown-Menü „**Quick Plate 96 wells All Channels.pltd**“ (Schnell-Platte 96 Vertiefungen Alle Kanäle) wählen
 - c. Die Schaltfläche „**Edit Selected**“ (Auswahl bearbeiten) auswählen, um das Platten-Setup individuell anzupassen
 - d. In der oberen Symbolleiste „**Settings**“ (Einstellungen) auswählen. Es müssen die Standardeinstellungen eingestellt werden.
 - i. Unter „**Plate Size**“ (Plattengröße) „**96 Wells**“ (96 Vertiefungen) auswählen
 - ii. Unter „**Plate Type**“ (Plattentyp) „**BR Clear**“ (BR durchsichtig) auswählen
 - iii. Unter „**Number Convention**“ (Zahlenkonvention) „**Scientific Notation**“ (Wissenschaftliche Notation) auswählen
 - iv. Unter „**Units**“ (Einheiten) „**Copy Number**“ (Kopienzahl) auswählen
 - e. Den „**Scan Mode**“ (Scanmodus) oben im Fenster auf „**All Channels**“ (Alle Kanäle) gestellt lassen
 - f. Die Schaltfläche „**Select Fluorophores**“ (Fluorophore auswählen) oben rechts im Platteneditor-Fenster auswählen
 - i. Alle Standard-Fluorophore deaktivieren
 - ii. „**FAM**“ und „**Cy5**“ auswählen und auf „**OK**“ klicken
 - g. Im Fenster „**Plate Editor**“ (Platteneditor) die ganze Platte markieren und das Kästchen vor allen Fluorophoren anklicken: **FAM** und **Cy5**

- h. Die Schaltfläche „**Experiment Settings**“ (Experimenteinstellungen) wählen, um die Ziele zu definieren
 - i. Unten links im Fenster „**Experiment Settings**“ (Experimenteinstellungen) in das „**New**“ (Neu) Feld **SARS-CoV-2** eingeben und „**Add**“ (Hinzufügen) auswählen
 - ii. Dasselbe für die **PRC** wiederholen
 - iii. **Ok** wählen
- i. Im Fenster „**Plate Editor**“ (Platteneditor) neben **FAM** im Dropdown-Menü unter „**Target Name**“ (Zielname) **SARS-CoV-2** auswählen und für **Cy5 PRC** auswählen
- j. Das neue Platten-Setup für die zukünftige Verwendung speichern
 - i. Oben links im Bildschirm die Schaltfläche „**Save**“ (Speichern) wählen
 - ii. Im „**ExpressLoad**“ (Schnell laden) Ordner speichern
 - iii. **Die Datei** „Lyra Direct SARS-CoV-2 plate“ nennen
 - iv. **Als Dateityp** „Plate File (*.pltd)“ (Plattendatei) speichern
 - v. „**Save**“ (Speichern) auswählen
 - vi. Im Fenster „**Plate Editor**“ (Platteneditor) auf **Ok** klicken
- k. Die Software beenden

Bio-Rad CFX96 Touch Thermocycler Testverfahren

Anweisungen für die Analyse:

1. Die zu analysierende Lauf-Datei öffnen
2. Oben links „**Quantification Tab**“ (Registerkarte Quantifizierung) auswählen
3. In der Ansicht Amplifizierungskurve „**Log Scale**“ (Log-Skala) aktivieren
4. „**Settings**“ (Einstellungen) in der Symbolleiste oben links am Bildschirm auswählen
 - a. Unter „**Cq Determination Mode**“ (Cq Bestimmungsmodus) „**Single Threshold**“ (Einzel-Schwellenwert) auswählen
 - b. Unter „**Baseline Setting**“ (Einstellung Basislinie) „**Baseline Subtracted Curve Fit**“ (Abzug Basislinie mit Kurvenanpassung) auswählen
 - c. Unter „**Analysis Mode**“ (Analysemodus) „**Target**“ (Ziel) auswählen
 - d. Unter „**Cycles to Analyze**“ (Zu analysierende Zyklen) 1-30 auswählen und dann auf **Ok** klicken
 - e. Es müssen die Basislinienzyklen und der Schwellenwert für jedes Ziel eingestellt werden
 - i. Sicherstellen, dass nur das Kästchen **SARS-CoV-2** in der Amplifizierungsdarstellung markiert ist
 - ii. In „**Settings**“ (Einstellungen) in der Symbolleiste „**Baseline Threshold**“ (Basislinien-Schwellenwert) auswählen
 1. Oben im Kästchen „**Auto Calculated**“ (Autom. Berechnung) für die „**Baseline Cycles**“ (Basislinienzyklen) auswählen
 2. Unten im Kästchen „**Single Threshold**“ (Einzel-Schwellenwert) „**User Defined**“ (Benutzerdefiniert) auswählen
 - a. Auf **164** stellen
 - b. **OK** wählen
 - iii. **Das Kästchen SARS-CoV-2** deaktivieren und das Kästchen **PRC** in der Amplifizierungsdarstellung markieren
 - iv. In „**Settings**“ (Einstellungen) in der Symbolleiste „**Baseline Threshold**“ (Basislinien-Schwellenwert) auswählen
 1. Oben im Kästchen „**Auto Calculated**“ (Autom. Berechnung) für die „**Baseline Cycles**“ (Basislinienzyklen) auswählen
 2. Unten im Kästchen „**Single Threshold**“ (Einzel-Schwellenwert) „**User Defined**“ (Benutzerdefiniert) auswählen
 - a. Diesen Wert auf **25** einstellen
 - b. **OK** wählen
5. Die Software beenden
6. Auswertung der Ergebnisse (siehe Tabelle 5)

Qiagen Rotor-Gene Q Programmieranweisungen

Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch Artikelnummer 1065453EN.

Programmieranweisungen:

1. Rotor-Gene Q Softwarepaket starten
2. Im Dialogfenster „**New Run**“ (Neuer Lauf) die Registerkarte „**Advanced**“ (Erweiterte Einstellungen) oben im Bildschirm auswählen
3. „**Empty Run**“ (Leerer Lauf) und dann „**New**“ (Neu) unten rechts im Dialogfenster auswählen, um den „**Advanced Run Wizard**“ (Assistent für erweiterte Laufeinstellungen) zu starten

- a. Im „**Advanced Run Wizard**“ (Assistent für erweiterte Laufeinstellungen) oben links im Bildschirm die entsprechende Rotorgröße auswählen
- b. Das Feld markieren, das anzeigt, dass der „**Locking Ring**“ (Sicherungsring) „**Attached**“ (Befestigt) ist und „**Next**“ (Weiter) auswählen
- c. Die Abschnitte „**Operator**“ (Bediener) und „**Notes**“ (Anmerkungen) leer lassen
- d. Unten links im Bildschirm **20 ul** als „**Reaction Volume**“ (Reaktionsvolumen) eingeben
- e. Für das „**Sample Layout**“ (Proben-Layout) **1, 2, 3...** wählen und dann „**Next**“ (Weiter) wählen
- f. Unter „**Channel Setup**“ (Kanal-Setup) „**Create New**“ (Neu erstellen) auswählen, um Informationen für jeden Detektor einzugeben
 - i. Unter „**Name**“ **SARS-CoV-2** eingeben
 - ii. **Unter Quelle** 470 nm auswählen
 - iii. **Unter Detektor** 510 nm auswählen
 - iv. Die standardmäßige „**Gain**“ (Verstärkung)-Einstellung von 7 nicht anpassen, da diese in einem späteren Schritt eingestellt wird
 - v. **OK** wählen
- g. Den Schritt oben wiederholen, indem „**Create New**“ (Neu erstellen) gewählt wird
 - i. Unter **Name PRC** eingeben
 - ii. **Unter Quelle** 625 nm auswählen
 - iii. **Unter Detektor** 660 nm auswählen
 - iv. Die standardmäßige „**Gain**“ (Verstärkung)-Einstellung von 7 nicht anpassen, da diese in einem späteren Schritt eingestellt wird
 - v. **OK** wählen
- h. Die Schaltfläche „**Edit Profile**“ (Profil bearbeiten) in der Mitte des Fensters auswählen, um ein Zyklusprofil einzurichten
 - i. Im Fenster „**Edit Profile**“ (Profil bearbeiten) oben links im Bildschirm auf „**New**“ (Neu) gehen und im Dropdown-Menü **Cycling** (Zyklus) auswählen. Es sollte eine Halte- und Drei-Stufen-Zyklusphase aufscheinen.
 - ii. Die Haltephase auf eine Temperatur von **55 °C** und eine Zeit von **5:00 Minuten** anpassen
 - iii. Die Schaltfläche „**Insert After**“ (Einfügen nach) in der Mitte des Dialogfensters auswählen und dann „**New Hold at Temperature**“ (Neuen Halteschritt bei Temperatur) auswählen
 - iv. Die zweite Haltephase auf eine Temperatur von **60 °C** und eine Zeit von **5:00 Minuten** anpassen
 - v. Die Schaltfläche „**Insert After**“ (Einfügen nach) in der Mitte des Dialogfensters auswählen und dann „**New Hold at Temperature**“ (Neuen Halteschritt bei Temperatur) auswählen, um eine dritte Haltephase einzufügen
 - vi. Die dritte Haltephase auf eine Temperatur von **65 °C** und eine Zeit von **5:00 Minuten** anpassen
 - vii. Die erste „**Cycling Stage**“ (Zyklusphase) markieren und wie folgt modifizieren:
 1. Dieser Zyklus wiederholt sich **10** mal
 2. „**Timed Step**“ (Zeitlich festgelegter Schritt) aus dem Dropdown-Menü in der Mitte links im Bildschirm auswählen
 3. Nicht „**Long Range**“ (Langer Bereich) oder „**Touchdown**“ (Schrittweise Absenkung) links im Bildschirm auswählen
 4. Der erste Schritt:
 - a. **92 °C**
 - b. **5 Sekunden**
 - c. „**Not Acquiring**“ (Keine Aufnahme)
 5. Schritt zwei auswählen und wie folgt einstellen:
 - a. **57 °C**
 - b. **40 Sekunden**
 - c. „**Not Acquiring**“ (Keine Aufnahme)
 6. Schritt drei markieren und löschen, indem die Schaltfläche „-“ in der Mitte des Fensters ausgewählt wird
 7. Die Schaltfläche „**Insert After**“ (Einfügen nach) in der Mitte des Dialogfensters auswählen und dann „**New Cycling**“ (Neuer Zyklus) auswählen
 - viii. Die zweite „**Cycling Stage**“ (Zyklusphase) markieren und wie folgt modifizieren:
 1. Dieser Zyklus wiederholt sich **30** mal
 2. „**Timed Step**“ (Zeitlich festgelegter Schritt) aus dem Dropdown-Menü in der Mitte links im Bildschirm auswählen

3. Nicht „Long Range“ (Langer Bereich) oder „Touchdown“ (Schrittweise Absenkung) links im Bildschirm auswählen
4. Der erste Schritt:
 - a. **92 °C**
 - b. **5 Sekunden**
 - c. **„Not Acquiring“** (Keine Aufnahme)
5. Schritt zwei auswählen und wie folgt einstellen:
 - a. **57 °C**
 - b. **40 Sekunden**
 - c. **„Acquiring to Cycling A“** (Aufnahme an Cycling A) auswählen
 - i. **Unter „Acquiring Channels“** (Kanäle aufnehmen) den standardmäßigen Kanalnamen (Grün) markieren und die Schaltfläche < auswählen, um ihn in die Liste **„Available Channels“** (Verfügbare Kanäle) zu verschieben
 - ii. In der Liste **„Available Channels“** (Verfügbare Kanäle) **SARS-CoV-2** auswählen und die Schaltfläche > auswählen, um ihn in die Liste **„Acquiring Channels“** (Kanäle aufnehmen) zu verschieben
 - iii. Den Schritt oben für **PRC** wiederholen und dann **OK** auswählen
6. Schritt drei markieren und löschen, indem die Schaltfläche “-“ in der Mitte des Fensters ausgewählt wird
 - ix. Im Fenster **„Edit Profile“** (Profil bearbeiten) **OK** auswählen
- i. Im Fenster **„New Run Wizard“** (Assistent für neuen Lauf) **„Gain Optimisation“** (Optimierung der Verstärkung) auswählen
 - i. In der Mitte des Fensters **„Auto-Gain Optimisation Setup“** (Setup Autom. Optimierung der Verstärkung) das Dropdown-Menü unter **„Channel Settings“** (Kanaleinstellungen) auswählen und **SARS-CoV-2** auswählen.
 - ii. Die Schaltfläche **„Add“** (Hinzufügen) auf der rechten Seite auswählen
 1. Sicherstellen, dass im Fenster **„Auto-Gain Optimisation Channel Settings“** (Einstellung des Kanals für die autom. Optimierung der Verstärkung) die SARS-CoV-2 **„Tube Position“** (Röhrchenposition) auf **1** eingestellt ist. Dafür ist es erforderlich, dass eine Positivkontrolle, die SARS-CoV-2 und PRC enthält, mit jedem PCR-Lauf getestet und in das erste Röhrchen gegeben wird. Wird dies nicht beachtet, kann die Verstärkung falsch eingestellt werden.
 2. Die Standardeinstellungen 5-10 FI und -10 bis 10 für **„Target Sample Range“** (Zielprobenbereich) und **„Acceptable Gain Range“** (Akzeptabler Verstärkungsbereich) eingestellt lassen.
 3. **OK** wählen
 4. Die Schritte 3. j. ii. 1-3 für die **PRC** wiederholen
 - iii. Im Fenster **„Auto-Gain Optimisation Setup“** (Setup Autom. Optimierung der Verstärkung) das Kästchen neben **„Perform Optimisation Before 1st Acquisition“** (Optimierung vor der ersten Aufnahme durchführen) markieren
 - iv. **„Close“** (Schließen) auswählen
- j. Im Fenster **„New Run Wizard“** (Assistent für neuen Lauf) die Schaltfläche **„Next“** (Weiter) auswählen
- k. Das neue Protokoll für eine zukünftige Verwendung als Vorlage speichern
 - i. Unten rechts im Fenster die Schaltfläche **„Save Template“** (Vorlage speichern) auswählen
 - ii. **Speichern unter:** C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates
 - iii. **Dateiname:** ‘Lyra Direct SARS-CoV-2’
 - iv. **Als Dateityp:** „Template (*.ret)“ speichern
- l. Die Software beenden

Qiagen Rotor-Gene Q Testlauf

Anweisungen für die Analyse:

1. Im „New Run Wizard“ (Assistent für neuen Lauf) die Vorlage für Direct SARS-CoV-2 laden.
2. Start drücken.
3. Die zu analysierende Lauf-Datei öffnen

4. In der oberen Menü-Symboleiste die Schaltfläche „**Analysis**“ (Analyse) auswählen
 - a. „**Quantitation**“ (Quantifizierung), dann „**Cycling A. SARS-CoV-2**“ und „**Show**“ (Zeigen) auswählen
 - b. Der Schwellenwert muss für SARS-CoV-2 eingestellt sein
 - i. Ganz rechts unten im Bildschirm unter „**CT Calculation**“ (CT-Berechnung) **0.03** für den „**SARS-CoV-2 Threshold**“ (SARS-CoV-2 Schwellenwert) eingeben.
 - ii. Sicherstellen, dass in dem Kästchen „**Eliminate Cycles before**“ (Ausschluss der Zyklen vor) der Standardwert **1** eingegeben ist
 - iii. Sicherstellen, dass die Amplifizierungskurve auf „**Log Scale**“ (Log-Skala) eingestellt ist [Umschaltknopf unten links in der Darstellung zeigt „**Linear Scale**“ (Lineare Skala) oder „**Log Scale**“ (Log-Skala) an]
 - c. „**Quantitation**“ (Quantifizierung), dann „**Cycling A. PRC**“ und „**Show**“ (Zeigen) auswählen
 - d. Der Schwellenwert muss für PRC eingestellt sein
 - i. Ganz rechts unten im Bildschirm unter „**CT Calculation**“ (CT-Berechnung) **0.05** für den „**PRC Threshold**“ (PRC-Schwellenwert) eingeben
 - ii. Sicherstellen, dass in dem Kästchen „**Eliminate Cycles before**“ (Ausschluss der Zyklen vor) der Standardwert **1** eingegeben ist
 - iii. Sicherstellen, dass die Amplifizierungskurve auf „**Log Scale**“ (Log-Skala) eingestellt ist [Umschaltknopf unten links in der Darstellung zeigt „**Linear Scale**“ (Lineare Skala) oder „**Log Scale**“ (Log-Skala) an]
5. Auswertung der Ergebnisse (siehe Tabelle 5)

Roche LightCycler 480 Instrument II Programmieranweisungen

Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch Artikelnummer 05152062001 0208.

Erstellung einer Vorlage für den LightCycler 480 Instrument II Assay-Lauf

1. LightCycler 480 Softwarepaket starten
2. Das „**Detection Format**“ (Detektionsformat) muss festgelegt sein, damit die Kanäle definiert werden können, in denen die Fluoreszenz gelesen wird
 - a. Im Startup-Bildschirm rechts unten im Bildschirm „**Tools**“ (Werkzeuge) auswählen
 - b. „**Detection Formats**“ (Detektionsformate) und dann „**New**“ (Neu) auswählen
 - c. Das Format „**Lyra Direct SARS-CoV-2**“ benennen
 - d. Im Fenster „**Filter Combination Selection**“ (Auswahl Filterkombination) 465-510 und 618-660 auswählen
 - e. Im Fenster „**Selected Filter Combination List**“ (Ausgewählte Filterkombinationsliste) unter dem Namen SARS-CoV-2 für 465-510 und PRC für 618-660 eingeben
 - f. Unter Melt Factor, Quant Factor und Max Integration Time alle Standardeinstellungen auf 1 belassen
 - g. „**Close**“ (Schließen) auswählen, um das neue Detektionsformat zu speichern und zum Startup-Bildschirm zurückzukehren
 - h. Um auf dieses neu erstellte „**Detection Format**“ (Detektionsformat) zuzugreifen, muss die LightCycler 480 Software geschlossen und neu geladen werden
3. Nach dem Schließen und erneutem Laden der Software „**White Plates**“ (Weiße Platten) und „**New Experiment**“ (Neues Experiment) unter dem Fenster „**Experiment creation**“ (Experimenterstellung) auswählen
4. Auf dem nächsten Bildschirm „**Lyra Direct SARS-CoV-2**“ vom Pulldown-Menü unter „**Detection Formats**“ (Detektionsformate) auswählen
5. Oben rechts im Bildschirm **20 ul** als „**Reaction Volume**“ (Reaktionsvolumen) eingeben
6. Die Namen für jedes RT-PCR-Programm eingeben
 - a. Unter „**Program Name**“ (Programmname) „**Stage 1**“ (Phase 1) eingeben, unter „**Cycles**“ (Zyklen) **1** eingeben und in „**Analysis Mode**“ (Analysemodus) „**none**“ (Keine) auswählen
 - b. Das Symbol „**+**“ auswählen, um ein Programm hinzuzufügen
 - c. Das nächste Programm „**Stage 2**“ (Phase 2) benennen, unter „**Cycles**“ (Zyklen) **1** eingeben und in „**Analysis Mode**“ (Analysemodus) „**none**“ (Keine) auswählen
 - d. Das Symbol „**+**“ auswählen, um ein Programm hinzuzufügen
 - e. Das nächste Programm „**Stage 3**“ (Phase 3) benennen, unter „**Cycles**“ (Zyklen) **1** eingeben und in „**Analysis Mode**“ (Analysemodus) „**none**“ (Keine) auswählen
 - f. Das Symbol „**+**“ auswählen, um ein Programm hinzuzufügen
 - g. Das nächste Programm „**Stage 4**“ (Phase 4) benennen, unter „**Cycles**“ (Zyklen) **40** eingeben und in „**Analysis Mode**“ (Analysemodus) „**Quantification**“ (Quantifizierung) auswählen

7. Die RT-PCR-Zykluszeiten und die Temperaturen einstellen
 - a. „**Stage 1**“ (Phase 1) unter „**Program Name**“ (Programmname) markieren und „**Stage 1 Temperature Targets**“ (Temperaturziele Phase 1) wie folgt ändern:
 - i. „**Target**“ (Ziel) (°C) auf **55 einstellen**
 - ii. „**Acquisition Mode**“ (Akquisitionsmodus) „**none**“ (Keine) **auswählen**
 - iii. „**Hold**“ (Halten) (hh:mm:ss) auf **5:00 einstellen**
 - iv. **Rate für Temperaturänderung pro Sek. (°C/s)** auf 4,4
 - v. „**Sec Target**“ (Zweite Zieltemperatur) (°C), „**Step Size**“ (Schrittgröße) (°C) und „**Step Delay**“ (Schrittverzögerung) (Zyklen) für die Phasen 1-4 auf 0 belassen.
 - b. „**Stage 2**“ (Phase 2) unter „**Program Name**“ (Programmname) markieren und „**Stage 2 Temperature Targets**“ (Temperaturziele Phase 2) wie folgt ändern:
 - i. „**Target**“ (Ziel) (°C) auf **60 einstellen**
 - ii. „**Acquisition Mode**“ (Akquisitionsmodus) „**none**“ (Keine) **auswählen**
 - iii. „**Hold**“ (Halten) (hh:mm:ss) auf **5:00 einstellen**
 - iv. **Rate für Temperaturänderung pro Sek. (°C/s)** auf 4,4
 - c. „**Stage 3**“ (Phase 3) unter „**Program Name**“ (Programmname) markieren und „**Stage 3 Temperature Targets**“ (Temperaturziele Phase 3) wie folgt ändern:
 - i. „**Target**“ (Ziel) (°C) auf **65 einstellen**
 - ii. „**Acquisition Mode**“ (Akquisitionsmodus) „**none**“ (Keine) **auswählen**
 - iii. „**Hold**“ (Halten) (hh:mm:ss) auf **5:00 einstellen**
 - iv. **Rate für Temperaturänderung pro Sek. (°C/s)** auf 4,4
 - d. „**Stage 4**“ (Phase 4) unter „**Program Name**“ (Programmname) markieren und „**Stage 4 Temperature Targets**“ (Temperaturziele Phase 4) wie folgt ändern:
 - i. Der erste Schritt:
 1. „**Target**“ (Ziel) (°C) auf **92 einstellen**
 2. „**Acquisition Mode**“ (Akquisitionsmodus) „**none**“ (Keine) **auswählen**
 3. „**Hold**“ (Halten) (hh:mm:ss) auf **0:05 einstellen**
 4. **Rate für Temperaturänderung pro Sek. (°C/s)** auf 4,4
 - ii. Das Symbol „+“ auswählen, um einen Schritt hinzuzufügen und den zweiten Schritt einzustellen:
 1. „**Target**“ (Ziel) (°C) auf **57 einstellen**
 2. „**Acquisition Mode**“ (Akquisitionsmodus) „**single**“ (Einzel) **auswählen**
 3. „**Hold**“ (Halten) (hh:mm:ss) auf **0:40 einstellen**
 4. **Rate für Temperaturänderung pro Sek. (°C/s)** auf 2,2
8. Das neue Protokoll für eine zukünftige Verwendung als Lauf-Vorlage speichern.
 - a. In der linken unteren Ecke des Bildschirms das Pulldown-Menü neben der Schaltfläche „**Apply Template**“ (Vorlage verwenden) auswählen
 - b. „**Save as Template**“ (Als Vorlage speichern) wählen
 - c. Den „**Templates Folder**“ (Vorlagen-Ordner) auswählen
 - d. Den „**Run Templates Folder**“ (Ordner Lauf-Vorlagen) markieren
 - e. Die Vorlage Lyra Direct SARS-CoV-2 Lauf-Vorlage nennen und auf die Schaltfläche zum Bestätigen klicken
9. Die Software beenden.

Erstellung eines LightCycler 480 Instrument II Assay-Testverfahrens

1. Die Lauf-Vorlage Lyra Direct SARS-CoV-2 laden.
2. Start drücken.
3. Die Analysevorlage kann erst nach Abschluss des anfänglichen Experiments erstellt werden und es werden zwei Vorlagen erstellt: eine zur Erkennung von SARS-CoV-2 und eine zur PRC-Erkennung.
4. In dem Lyra Direct SARS-CoV-2 Lauf die Schaltfläche „**Analysis**“ (Analyse) in der Modulleiste auswählen
 - a. „**Abs Quant/Fit Points**“ wählen
 - b. In dem Dialogfenster „**Create New Analysis**“ (Neue Analyse erstellen) Ihre vordefinierte Untergruppe aus dem Dropdown-Menü „**Subset**“ (Untergruppe) auswählen und dann die Schaltfläche zum Bestätigen klicken
 - c. Auf „**Background**“ (Hintergrund) für alle Analyten klicken.
 - i. „**Min Offset**“ auf 1 stellen
 - ii. „**Max Offset**“ auf 9 stellen
 - d. In der Mitte unten auf dem Bildschirm sicherstellen, dass „**Color Compensation**“ (Farbkompensation) für alle Analyten ausgeschaltet ist

- e. Die Standardeinstellungen „**First Cycle**“ (Erster Zyklus) auf 7 ändern und „**Last Cycle**“ (Letzter Zyklus) auf 40 bestätigen
5. Oben in der Mitte auf dem Bildschirm „**Noise Band**“ (Rauschband) auswählen
6. **Filter Comb** (Filterkombination) 465-510 auswählen
7. Das Pulldown-Menü neben der Schaltfläche „**Noise Band**“ (Rauschband) auswählen und danach Folgendes:
 - a. SARS-CoV-2-Rauschband-Fluoreszenz. Auf 1,5 einstellen.
8. „**Calculate**“ (Berechnen) unten links im Bildschirm auswählen
9. Das neue SARS-CoV-2-Analyseprotokoll für eine zukünftige Verwendung als Vorlage speichern
 - a. In der linken unteren Ecke des Bildschirms das Pulldown-Menü neben der Schaltfläche „**Apply Template**“ (Vorlage verwenden) auswählen
 - b. „**Save as Template**“ (Als Vorlage speichern) wählen
 - c. Den „**Templates Folder**“ (Vorlagen-Ordner) auswählen
 - d. Den „**Analysis Templates Folder**“ (Ordner Analyse-Vorlagen) markieren
 - e. Die Vorlage Lyra Direct SARS-CoV-2 465-510 Analyse-Vorlage nennen und auf die Schaltfläche zum Bestätigen klicken.
10. Zurückgehen und **Filter Comb** (Filterkombination) 618-660 auswählen
11. Das Pulldown-Menü neben der Schaltfläche „**Noise Band**“ (Rauschband) auswählen und danach Folgendes:
 - a. PRC-Rauschband Auto
12. „**Calculate**“ (Berechnen) unten links im Bildschirm auswählen
13. Das SARS-CoV-2-Analyseprotokoll für eine zukünftige Verwendung als Vorlage speichern
 - a. In der linken unteren Ecke des Bildschirms das Pulldown-Menü neben der Schaltfläche „**Apply Template**“ (Vorlage verwenden) auswählen
 - b. „**Save as Template**“ (Als Vorlage speichern) wählen
 - c. Den „**Templates Folder**“ (Vorlagen-Ordner) auswählen
 - d. Den „**Analysis Templates Folder**“ (Ordner Analyse-Vorlagen) markieren
 - e. Die Vorlage Lyra Direct SARS-CoV-2_618-660-Analyse-Vorlage nennen und auf die Schaltfläche zum Bestätigen klicken.
14. Einen Bericht erstellen
 - a. Das Symbol „**Save**“ (Speichern) in der globalen Aktionsleiste auf der rechten Seite des Bildschirms auswählen
 - b. Dies wird unter jedem analysierten Kanal durchgeführt.
 - c. Die Schaltfläche „**Report**“ (Bericht) in der Modulleiste auf der linken Seite des Bildschirms auswählen
 - d. Die entsprechenden Einstellungen auswählen und die Schaltfläche „**Generate**“ (Generieren) drücken
15. Anwendung einer Analyse-Vorlage für spätere Läufe
 - a. Sobald der Lauf abgeschlossen ist, die Schaltfläche „**Analysis**“ (Analyse) in der Modulleiste auswählen
 - b. „**Abs Quant/Fit Points**“ wählen
 - c. In dem Dialogfenster „**Create New Analysis**“ (Neue Analyse erstellen) Ihre vordefinierte Untergruppe aus dem Dropdown-Menü „**Subset**“ (Untergruppe) auswählen und dann die Schaltfläche zum Bestätigen klicken
 - d. Die Schaltfläche „**Apply Template**“ (Vorlage verwenden) ganz links am Bildschirm auswählen und die Lyra Direct SARS-CoV-2_465-510 oder Lyra Direct SARS-CoV-2_618-660 Analysevorlage aus dem „**Analysis Templates Folder**“ (Ordner Analysevorlagen) auswählen
 - e. Im Dialogfenster „**Yes**“ (Ja) auswählen
16. Auswertung der Ergebnisse (siehe Tabelle 5)

Roche cobas z 480 Instrument Programmieranweisungen

Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch Version 1.1.2.

Erstellung einer Vorlage für die cobas z 480 Assay-Lauf-Vorlage

1. Starten des cobas z 480 Softwarepakets
2. Das „**Detection Format**“ (Detektionsformat) muss festgelegt sein, damit die Kanäle definiert werden können, in denen die Fluoreszenz gelesen wird
 - a. Im Startup-Bildschirm rechts unten im Bildschirm „**Tools**“ (Werkzeuge) auswählen
 - b. „**Detection Formats**“ (Detektionsformate) und dann „**New**“ (Neu) auswählen
 - c. Das Format „Lyra Direct SARS-CoV-2“ benennen
 - d. Im Fenster „**Filter Combination Selection**“ (Auswahl Filterkombination) 465-510 und 610-670 auswählen

- e. Im Fenster „**Selected Filter Combination List**“ (Ausgewählte Filterkombinationsliste) unter dem Namen SARS-CoV-2 für 465-510 und PRC für 610-670 eingeben
 - f. Unter Melt Factor, Quant Factor und Max Integration Time alle Standardeinstellungen auf 1 belassen
 - g. „**Close**“ (Schließen) auswählen, um das neue Detektionsformat zu speichern und zum Startup-Bildschirm zurückzukehren
 - h. Um auf dieses neu erstellte „**Detection Format**“ (Detektionsformat) zuzugreifen, muss die cobas z 480 Software geschlossen und neu geladen werden
3. Nach dem Schließen und erneutem Laden der Software „**White Plates**“ (Weiße Platten) und „**New Experiment**“ (Neues Experiment) unter dem Fenster „Experiment creation“ (Experimenterstellung) auswählen
 4. Auf dem nächsten Bildschirm „Lyra Direct SARS-CoV-2“ vom Pulldown-Menü unter „**Detection Formats**“ (Detektionsformate) auswählen
 5. Oben rechts im Bildschirm **20 ul** als „**Reaction Volume**“ (Reaktionsvolumen) eingeben
 6. Die Namen für jedes RT-PCR-Programm eingeben
 - a. Unter „**Program Name**“ (Programmname) „**Stage 1**“ (Phase 1) eingeben, unter „**Cycles**“ (Zyklen) **1** eingeben und in „**Analysis Mode**“ (Analysemodus) „**none**“ (Keine) auswählen
 - b. Das Symbol „+“ auswählen, um ein Programm hinzuzufügen
 - c. Das nächste Programm „**Stage 2**“ (Phase 2) benennen, unter „**Cycles**“ (Zyklen) **1** eingeben und in „**Analysis Mode**“ (Analysemodus) „**none**“ (Keine) auswählen
 - d. Das Symbol „+“ auswählen, um ein Programm hinzuzufügen
 - e. Das nächste Programm „**Stage 3**“ (Phase 3) benennen, unter „**Cycles**“ (Zyklen) **1** eingeben und in „**Analysis Mode**“ (Analysemodus) „**none**“ (Keine) auswählen
 - f. Das Symbol „+“ auswählen, um ein Programm hinzuzufügen
 - g. Das nächste Programm „**Stage 4**“ (Phase 4) benennen, unter „**Cycles**“ (Zyklen) **40** eingeben und in „**Analysis Mode**“ (Analysemodus) „**Quantification**“ (Quantifizierung) auswählen
 7. Die RT-PCR-Zykluszeiten und die Temperaturen einstellen
 - a. „**Stage 1**“ (Phase 1) unter „**Program Name**“ (Programmname) markieren und „**Stage 1 Temperature Targets**“ (Temperaturziele Phase 1) wie folgt ändern:
 - i. „**Target**“ (Ziel) (°C) auf **55 einstellen**
 - ii. „**Acquisition Mode**“ (Akquisitionsmodus) „**none**“ (Keine) auswählen
 - iii. „**Hold**“ (Halten) (hh:mm:ss) auf **5:00 einstellen**
 - iv. **Rate für Temperaturänderung pro Sek. (°C/s)** auf 4,4
 - v. „**Sec Target**“ (Zweite Zieltemperatur) (°C), „**Step Size**“ (Schrittgröße) (°C) und „**Step Delay**“ (Schrittverzögerung) (Zyklen) für die Phasen 1-4 auf 0 belassen.
 - b. „**Stage 2**“ (Phase 2) unter „**Program Name**“ (Programmname) markieren und „**Stage 2 Temperature Targets**“ (Temperaturziele Phase 2) wie folgt ändern:
 - i. „**Target**“ (Ziel) (°C) auf **60 einstellen**
 - ii. „**Acquisition Mode**“ (Akquisitionsmodus) „**none**“ (Keine) auswählen
 - iii. „**Hold**“ (Halten) (hh:mm:ss) auf **5:00 einstellen**
 - iv. **Rate für Temperaturänderung pro Sek. (°C/s)** auf 4,4
 - c. „**Stage 3**“ (Phase 3) unter „**Program Name**“ (Programmname) markieren und „**Stage 3 Temperature Targets**“ (Temperaturziele Phase 3) wie folgt ändern:
 - i. „**Target**“ (Ziel) (°C) auf **65 einstellen**
 - ii. „**Acquisition Mode**“ (Akquisitionsmodus) „**none**“ (Keine) auswählen
 - iii. „**Hold**“ (Halten) (hh:mm:ss) auf **5:00 einstellen**
 - iv. **Rate für Temperaturänderung pro Sek. (°C/s)** auf 4,4
 - d. „**Stage 4**“ (Phase 4) unter „**Program Name**“ (Programmname) markieren und „**Stage 4 Temperature Targets**“ (Temperaturziele Phase 4) wie folgt ändern:
 - i. Der erste Schritt:
 1. „**Target**“ (Ziel) (°C) auf **92 einstellen**
 2. „**Acquisition Mode**“ (Akquisitionsmodus) „**none**“ (Keine) auswählen
 3. „**Hold**“ (Halten) (hh:mm:ss) auf **0:05 einstellen**
 4. **Rate für Temperaturänderung pro Sek. (°C/s)** auf 4,4
 - ii. Das Symbol „+“ auswählen, um einen Schritt hinzuzufügen und den zweiten Schritt einzustellen:
 1. „**Target**“ (Ziel) (°C) auf **57 einstellen**
 2. „**Acquisition Mode**“ (Akquisitionsmodus) „**single**“ (Einzel) auswählen
 3. „**Hold**“ (Halten) (hh:mm:ss) auf **0:40 einstellen**

4. Rate für Temperaturänderung pro Sek. (°C/s) auf 2,2

8. Das neue Protokoll für eine zukünftige Verwendung als Lauf-Vorlage speichern.
 - a. In der linken unteren Ecke des Bildschirms das Pulldown-Menü neben der Schaltfläche „**Apply Template**“ (Vorlage verwenden) auswählen
 - b. „**Save as Template**“ (Als Vorlage speichern) wählen
 - c. Den „**Templates Folder**“ (Vorlagen-Ordner) auswählen
 - d. Den „**Run Templates Folder**“ (Ordner Lauf-Vorlagen) markieren
 - e. Die Vorlage Lyra Direct SARS-CoV-2 Lauf-Vorlage nennen und auf die Schaltfläche zum Bestätigen klicken
9. Die Software beenden.

Erstellung eines cobas z 480 Assay-Testverfahrens

1. Die Lauf-Vorlage Lyra Direct SARS-CoV-2 laden.
2. Start drücken.
3. Die Analysevorlage kann erst nach Abschluss des anfänglichen Experiments erstellt werden und es werden zwei Vorlagen erstellt: eine zur Erkennung von SARS-CoV-2 und eine zur PRC-Erkennung.
4. In dem Lyra Direct SARS-CoV-2 Lauf die Schaltfläche „**Analysis**“ (Analyse) in der Modulleiste auswählen
 - a. „**Abs Quant/Fit Points**“ wählen
 - b. In dem Dialogfenster „**Create New Analysis**“ (Neue Analyse erstellen) Ihre vordefinierte Untergruppe aus dem Dropdown-Menü „**Subset**“ (Untergruppe) auswählen und dann die Schaltfläche zum Bestätigen klicken
 - c. Auf „**Background**“ (Hintergrund) für alle Analyten klicken.
 - i. „**Min Offset**“ auf 1 stellen
 - ii. „**Max Offset**“ auf 9 stellen
 - d. In der Mitte unten auf dem Bildschirm sicherstellen, dass „**Color Compensation**“ (Farbkompensation) für alle Analyten ausgeschaltet ist
 - e. Die Standardeinstellung „**First Cycle**“ (Erster Zyklus) auf 7 ändern und „**Last Cycle**“ (Letzter Zyklus) auf 40 bestätigen
5. Oben in der Mitte auf dem Bildschirm „**Noise Band**“ (Rauschband) auswählen
6. **Filter Comb** (Filterkombination) 465-510 auswählen
7. Das Pulldown-Menü neben der Schaltfläche „**Noise Band**“ (Rauschband) auswählen und danach Folgendes:
 - a. SARS-CoV-2-Rauschband-Fluoreszenz. Auf 1,5 einstellen.
8. „**Calculate**“ (Berechnen) unten links im Bildschirm auswählen
9. Das SARS-CoV-2-Analyseprotokoll für eine zukünftige Verwendung als Vorlage speichern
 - a. In der linken unteren Ecke des Bildschirms das Pulldown-Menü neben der Schaltfläche „**Apply Template**“ (Vorlage verwenden) auswählen
 - b. „**Save as Template**“ (Als Vorlage speichern) wählen
 - c. Den „**Templates Folder**“ (Vorlagen-Ordner) auswählen
 - d. Den „**Analysis Templates Folder**“ (Ordner Analyse-Vorlagen) markieren
 - e. Die Vorlage Lyra Direct SARS-CoV-2_465-510 Analyse-Vorlage nennen und auf die Schaltfläche zum Bestätigen klicken.
10. Zurückgehen und **Filter Comb** (Filterkombination) 610–670 auswählen
11. Das Pulldown-Menü neben der Schaltfläche „**Noise Band**“ (Rauschband) auswählen und danach Folgendes:
 - a. PRC-Rauschband Auto
12. „**Calculate**“ (Berechnen) unten links im Bildschirm auswählen
13. Das SARS-CoV-2-Analyseprotokoll für eine zukünftige Verwendung als Vorlage speichern
 - a. In der linken unteren Ecke des Bildschirms das Pulldown-Menü neben der Schaltfläche „**Apply Template**“ (Vorlage verwenden) auswählen
 - b. „**Save as Template**“ (Als Vorlage speichern) wählen
 - c. Den „**Templates Folder**“ (Vorlagen-Ordner) auswählen
 - d. Den „**Analysis Templates Folder**“ (Ordner Analyse-Vorlagen) markieren
 - e. Die Vorlage Lyra Direct SARS-CoV-2_610-670 Analyse-Vorlage nennen und auf die Schaltfläche zum Bestätigen klicken.
14. Einen Bericht erstellen
 - a. Das Symbol „**Save**“ (Speichern) in der globalen Aktionsleiste auf der rechten Seite des Bildschirms auswählen
 - b. Dies wird unter jedem analysierten Kanal durchgeführt.
 - c. Die Schaltfläche „**Report**“ (Bericht) in der Modulleiste auf der linken Seite des Bildschirms auswählen
 - d. Die entsprechenden Einstellungen auswählen und die Schaltfläche „**Generate**“ (Generieren) drücken

15. Anwendung einer Analyse-Vorlage für spätere Läufe
 - a. Sobald der Lauf abgeschlossen ist, die Schaltfläche „**Analysis**“ (Analyse) in der Modulleiste auswählen
 - b. „**Abs Quant/Fit Points**“ wählen
 - c. In dem Dialogfenster „**Create New Analysis**“ (Neue Analyse erstellen) Ihre vordefinierte Untergruppe aus dem Dropdown-Menü „**Subset**“ (Untergruppe) auswählen und dann die Schaltfläche zum Bestätigen klicken
 - d. Die Schaltfläche „**Apply Template**“ (Vorlage verwenden) ganz links am Bildschirm auswählen und die Lyra Direct SARS-CoV-2_465-510 oder Lyra Direct SARS-CoV-2_610-670 Analysevorlage aus dem „**Analysis Templates Folder**“ (Ordner Analysevorlagen) auswählen
 - e. Im Dialogfenster „Yes“ (Ja) auswählen
16. Auswertung der Ergebnisse (siehe Tabelle 5)

Thermo Fisher QuantStudio 7 Pro Programmieranweisungen

Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch Artikelnummer 4489822 Revision A.

Thermo Fisher QuantStudio 7 Pro Testlauf Anleitung zum Programmieren:

1. Die Design- und Analysesoftware öffnen
2. Die Option „SET UP PLATE“ (Platte einrichten) auswählen
3. In der Seitenleiste auf dem Bildschirm die folgenden Eigenschaften zum Filtern auswählen:
 - a. Instrument – QuantStudio 7 Pro
 - b. Block – 96-Well 0.2 mL (96 Vertiefungen)
 - c. Run Mode – Fast (Laufmodus - Schnell)
 - d. Die Analyseoptionen leer belassen
4. Aus den auf dem Bildschirm angezeigten Plattenauswahlmöglichkeiten die Systemvorlage „Presence/Absence“ (Vorhandensein/Nichtvorhandensein) auswählen und das System wird automatisch zur Registerkarte „Run Method“ (Lauf-Methode) navigieren
5. Run Method (Lauf-Methode)
 - a. Das „Reaction Volume“ (Reaktionsvolumen) auf 20.0 uL stellen
 - b. Die Temperatur der aktivierten beheizten Abdeckung bleibt bei 105,0 Grad C
 - c. Über die „Hold stage“ (Haltephase) scrollen, die in den Zyklusparametern vorhanden ist, und die Schaltflächen Hinzufügen und Entfernen werden sowohl oben als auch unten in der ersten Phase sichtbar.
 - d. Mit der linken Maustaste auf die rechte Schaltfläche Hinzufügen oben klicken, und eine Liste der Auswahlmöglichkeiten für die Phasen wird sichtbar. Hinunterscrollen und „Hold“ (Halten) auswählen.
 - e. Die vorherigen Schritte wiederholen, sodass drei Haltephasen in den Zyklusparametern vorhanden sind.
 - f. Zur PCR-Phase scrollen und die Schaltflächen Hinzufügen und Entfernen werden sowohl oben als auch unten sichtbar. Mit der linken Maustaste auf die rechte Schaltfläche Hinzufügen oben klicken, und eine Liste der Auswahlmöglichkeiten für die Phasen wird sichtbar. Hinunterscrollen und „PCR“ auswählen.
 - g. Zur ersten Stufe zurückkehren, und die folgenden Parameter eingeben:
 - i. Phase 1 Hold (Halten)
 1. 2,63 Rate für Temperaturänderung pro Sek.
 2. 55 °C
 3. 5 Minuten
 - ii. Phase 2 Hold (Halten)
 1. 2,63 Rate für Temperaturänderung pro Sek.
 2. 60 °C
 3. 5 Minuten
 - iii. Phase 3 Hold (Halten)
 1. 2,63 Rate für Temperaturänderung pro Sek.
 2. 65 °C
 3. 5 Minuten
 - iv. Phase 4 PCR
 1. Schritt 1:
 - a. 2,63 Rate für Temperaturänderung pro Sek.
 - b. 92 °C
 - c. 5 Sekunden
 2. Schritt 2:
 - a. 2,32 Rate für Temperaturänderung pro Sek.

- b. 57 °C
 - c. 40 Sekunden
 - d. Unter Schritt 2 auf das Kamerasymbol klicken. Es öffnet sich ein Fenster mit der Bitte um Bestätigung, die Datenaufnahme während dieses Schrittes abzuschalten. „OK“ klicken.
 - v. Die Anzahl der Zyklen am unteren Ende der PCR-Stufe 4 auf 10 ändern
 - vi. Phase 5 PCR
 - 1. Schritt 1:
 - a. 2,63 Rate für Temperaturänderung pro Sek.
 - b. 92 °C
 - c. 5 Sekunden
 - 2. Schritt 2:
 - a. 2,32 Rate für Temperaturänderung pro Sek.
 - b. 57 °C
 - c. 40 Sekunden
 - d. Sicherstellen, dass das Bild des Kamerasymbols für die Datenaufnahme während der 30 Zyklen von Phase 5, Schritt 2 fett/an ist.
 - vii. Die Anzahl der Zyklen am unteren Ende der PCR-Stufe 5 auf 30 ändern
 - h. Hinaufscrollen und die Registerkarte „Plate Setup“ (Platteneinrichtung) im oberen Bildschirmbereich auswählen.
- 6. Platten-Setup (Platteneinrichtung)
 - a. Die Passivreferenz auf „NONE“ (KEINE) stellen
 - b. Sicherstellen, dass auf der unteren rechten Seite des Bildschirms die Registerkarte „Targets“ (Ziele) ausgewählt ist, dann markieren und die Schaltfläche Hinzufügen drücken, um „Target 1“ (Ziel 1) hinzuzufügen. Noch einmal drücken, um „Target 2“ (Ziel 2) hinzuzufügen
 - c. Auf das Feld „Target 1“ (Ziel 1) klicken und den Namen zu CoV-2 ändern.
 - d. Auf das zugehörige Reporter-Feld unter der Reporter-Registerkarte klicken und aus dem Dropdown-Menü FAM auswählen.
 - e. Auf das Feld „Target 2“ (Ziel 2) klicken und den Namen zu PRC ändern.
 - f. Auf das zugehörige Reporter-Feld unter der Reporter-Registerkarte klicken und aus dem Dropdown-Menü CY5 auswählen.
 - g. Die Schaltfläche „Actions“ (Aktionen) auf der oberen rechten Seite des Bildschirms markieren und die Dropdown-Schaltfläche drücken. Im Dropdown-Menü „Analysis Setting“ (Analyseeinstellung) wählen
 - h. Unter Analyseeinstellung Folgendes für alle Ziele deaktivieren:
 - i. Use Default Column (Standardspalte verwenden)
 - ii. Auto Threshold Column (Autom. Schwellenwertspalte)
 - iii. Auto Baseline Column (Autom. Basislinienspalte)
 - iv. Der Anfang der Basislinie und das Ende der Basislinie sollten standardmäßig 3 und 15 sein
 - i. Unter „Threshold“ (Schwelle) auf das Kästchen, das mit dem CoV-Target (CoV-Ziel) verbunden ist, klicken und 40.000 eingeben.
 - j. Unter „Threshold“ (Schwelle) auf das Kästchen, das mit dem PRC-Target (PRC-Ziel) verbunden ist, klicken und 10.000 eingeben
 - k. Auf „Save“ (Speichern) klicken
 - l. Zurück zur Schaltfläche „Actions“ (Aktionen) navigieren, die Dropdown-Schaltfläche drücken und „Save as“ (Speichern unter) wählen. Dadurch wird Ihre Vorlage an einem Ort Ihrer Wahl gespeichert. Die Vorlage als „Lyra Direct SARS Cov-2 Assay“ speichern.

Erstellung eines Thermo Fisher QuantStudio 7 Pro Testverfahrens

Hinweis: Diese Anweisungen basieren darauf, dass der Benutzer das QuantStudio 7-Real-Time-PCR-Gerät und die ABI Design und Analyse 2.4-Software nicht verknüpft hat. Der Benutzer muss die zuvor mit der Software erstellte Lyra Direct SARS CoV-2-Vorlage öffnen und jede neu erstellte Probenlaufvorlage auf einen USB-Stick speichern und die Vorlage auf das Gerät übertragen.

Für Fragen bei Verbindungsproblemen im Zusammenhang mit der Software und dem Gerät wenden Sie sich bitte an Ihren Thermo Fisher/ABI QuantStudio-Vertreter.

1. Die zuvor erstellte Lyra Direct SARS CoV-2 Assay-Vorlage öffnen.
2. Auf die Registerkarte „Plate Setup“ (Platten-Setup) im oberen Bildschirmbereich klicken.
3. Sicherstellen, dass auf der rechten Seite des Bildschirms die Registerkarte „Samples“ (Proben) markiert ist, und auf die Schaltfläche Hinzufügen drücken, um die Anzahl der zu testenden Proben hinzuzufügen.
4. Auf das Feld „Sample 1“ (Probe 1) klicken, um die Probe neu zu benennen. Diesen Schritt für alle danach eingegebenen Proben wiederholen.
5. Auf die Vertiefung klicken, die sich in der Plattenkarte befindet, und dann das Kästchen neben dem Namen der Probe in der rechten Seitenleiste markieren, um den Namen der Vertiefung zuzuordnen.
 - a. Der Benutzer hat auch die Möglichkeit, die Position der Vertiefung in der Plattenkarte zu markieren und auf das Feld „Enter Sample“ (Probe eingeben) zu klicken. Die Probenkennung eingeben und auf die Registerkarte drücken, um zur nächsten Vertiefung in der Plattenkarte weiterzugehen. Dadurch wird der Probenname automatisch in die Seitenleiste geladen.
6. Nachdem die Namen der Proben eingegeben wurden, können die Vertiefungen markiert werden, indem man mit der linken Maustaste auf die Startvertiefung klickt und die Maus über alle im Lauf assoziierten Vertiefungen zieht. Dann werden die Ziele ausgewählt, indem man auf die Kästchen neben jedem Ziel in der Seitenleiste klickt.
7. Auf die Schaltfläche „Actions“ (Aktionen) klicken, die sich oben rechts auf dem Bildschirm befindet, und „Save as“ (Speichern unter) im Dropdown-Menü auswählen.
 - a. Es erscheint ein Dialogfenster, in dem der Benutzer aufgefordert wird, die Datei entsprechend den Informationen zum Probenlauf und dem Speicherort der zu speichernden Datei zu benennen.
 - b. Die neu benannte (.edt) Lauf-Datei auf einem USB-Stick speichern, und diesen in den Computer einstecken.
8. Den USB-Stick auf den Anschluss an der Vorderseite des Geräts übertragen.
9. In den Optionen auf dem Bildschirm des Geräts auf „Load plate file“ (Plattendatei laden) drücken. Das QuantStudio 7 ist ein Gerät mit Touchscreen.
10. Im Bildschirm „Run Queue“ (Laufliste) auf "USB-Laufwerk" auf der rechten Seite drücken. Dadurch werden alle auf dem USB gespeicherten Plattendateien angezeigt.
11. Auf die Plattendatei drücken, die mit dem durchzuführenden Lauf verbunden ist.
12. Sobald der Lauf abgeschlossen ist, erscheint ein neues Fenster, in dem der Ort der Ergebnisse abgefragt wird.
 - a. Auf „USB drive Connected“ (USB-Laufwerk angeschlossen) drücken, wenn das Symbol nicht bereits hervorgehoben ist, und „Done“ (Fertig) drücken.
13. Die Probenplatte mit 96 Vertiefungen zentrifugieren, um sicherzustellen, dass sich die gesamte Flüssigkeit am Boden der einzelnen Vertiefungen befindet.
 - a. Sicherstellen, dass die Zentrifuge richtig ausbalanciert ist.
 - b. Die Platte vorsichtig aus der Zentrifuge ziehen um sicherzustellen, dass alle Flüssigkeiten auf dem Boden der Vertiefungen bleiben.
14. Auf das Doppelpfeil-Symbol drücken, das sich in der oberen rechten Ecke des Bildschirms auf dem Gerät befindet.
 - a. Die Geräteschublade öffnet sich vorne.
15. Die zentrifugierte Platte in den Plattenhalter einsetzen und dabei die korrekte Ausrichtung der Platte sicherstellen.
 - a. Die Vertiefung A1 sollte sich in der Position in der linken oberen Ecke befinden
 - b. Die Platte erscheint leicht schwebend über dem Block aufgrund von zwei Silikonstreifen über und unter dieser Platte. Dies ist zu erwarten, und der Gerätedeckel wird die Platte nach dem Schließen der Schublade nach unten drücken.
16. „Start Run“ (Lauf starten) auf dem Gerätebildschirm drücken.
 - a. Es erscheint ein Dialogfenster, in dem der Benutzer aufgefordert wird, zu bestätigen, dass die Platte geladen wurde.
 - b. Wenn die Platte geladen wurde, erneut „Start Run“ (Lauf starten) drücken oder „Open Drawer“ (Schublade öffnen) drücken, um die Platte in den Block zu legen und dann „Start Run“ (Lauf starten) zu drücken
17. Auswertung der Ergebnisse (siehe Tabelle 5)

REF

M124 – Lyra Direct SARS-CoV-2 Assay-Kit

IVD



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover
Deutschland



Quidel Corporation
2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701, USA
quidel.com

PIM124101DE00 (06/21)

GLOSSAR

REF

Katalognummer



CE-Konformitätszeichen

EC REP

Autorisierter Vertreter in der Europäischen Union

LOT

Chargencode



Verfallsdatum



Hersteller



Temperaturbegrenzung



Verwendungszweck

R_x ONLY

Verschreibungspflichtig



Für die Verwendung Anleitungen der digitalen Kennzeichnung beachten



Biologische Risiken

IVD

Medizinprodukt für die In-vitro-Diagnostik



Enthält ausreichend für <n> Bestimmungen

CONT

Inhalt/Enthält

CONTROL

Kontrolle
