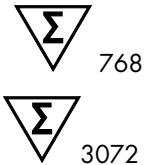


Januar 2022

# artus<sup>®</sup> SARS-CoV-2 Prep&Amp<sup>™</sup> UM Kit – bruksanvisning (håndbok)



Versjon 1



Til in vitro-diagnostikk på Rotor-Gene<sup>®</sup> Q MDx 5plex HRM-,  
ABI<sup>®</sup> 7500 Fast Dx-, QuantStudio<sup>®</sup> 5 Dx-, cobas<sup>®</sup> z 480- eller  
CFX96<sup>™</sup> Dx-instrumenter



4511460, 4511469



QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND

R4

# Innhold

Tiltentkt bruk .....	4
Beskrivelse og prinsipp.....	5
Patogeninformasjon .....	5
Oppsummering og forklaring .....	6
Materialer som følger med.....	9
Settets innhold.....	9
Settkomponenter.....	10
Plattformer og programvare .....	11
Nødvendige materialer som ikke følger med .....	12
Forbruksartikler og utstyr .....	12
Advarsler og forholdsregler.....	14
Sikkerhetsinformasjon .....	14
Forholdsregler .....	15
Håndtering og oppbevaring av reagenser .....	16
Transport, oppbevaring og håndtering av prøver.....	16
Protokoll: Prøveklargjøring og SARS-CoV-2-detektering på RGQ MDx 5plex HRM .....	18
Protokoll: Prøveklargjøring og SARS-CoV-2-detektering på ABI 7500 Fast Dx.....	24
Protokoll: Prøveklargjøring og SARS-CoV-2-detektering på CFX96 Dx .....	29
Protokoll: Prøveklargjøring og SARS-CoV-2-detektering på cobas z 480.....	34
Protokoll: Prøveklargjøring og SARS-CoV-2-detektering på QuantStudio 5 Dx .....	39
Resultater.....	44

---

Analyse på RGQ MDx 5plex HRM .....	44
Analyse på ABI 7500 Fast Dx.....	46
Analyse på CFX96 Dx .....	46
Analyse på cobas z 480.....	48
Analyse på QuantStudio 5 Dx .....	49
Tolkning av resultater .....	51
Begrensninger .....	53
Ytelse .....	54
Analytisk sensitivitet (deteksjonsgrense) .....	54
Studier av analytisk spesifisitet (inkludativitet og eksklusivitet / kryssreaktivitet) .....	55
Presisjon.....	65
Klinisk ytelse .....	66
Referanser .....	70
Feilsøkningsveiledning .....	72
Symboler .....	74
Kontaktinformasjon .....	76
Bestillingsinformasjon .....	77
Endringshistorikk for dokument .....	78

# Tiltenkt bruk

*artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit er en real-time RT-PCR-test for kvalitativ detektering av nukleinsyre fra SARS-CoV-2 i nasofaryngeale avstryk (Nasopharyngeal Swab, NPS), nasale avstryk og orofaryngeale avstryk fra personer med tegn og symptomer på infeksjon eller personer uten symptomer eller hvor det er andre årsaker til å mistenke covid-19-infeksjon. I forbindelse med prøver av rent spytt er testen beregnet på personer med tegn og symptomer på infeksjon eller med mistenkt covid-19.

Testen er ment som et hjelpemiddel ved diagnostisering av covid-19 i den akutte infeksjonsfasen sammen med kliniske observasjoner, pasienthistorikk og epidemiologisk informasjon.

*artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit skal brukes i et molekylærbiologisk laboratoriemiljø av profesjonelle brukere, for eksempel utdannet klinisk laboratoriepersonell, som har fått spesifikk instruksjon i prinsippene bak real-time RT-PCR og *in vitro*-diagnostiske prosedyrer.

Negative resultater utelukker ikke SARS-CoV-2-infeksjon og bør ikke brukes som eneste beslutningsgrunnlag i forbindelse med pasientbehandling.

*artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit er beregnet på bruk med Rotor-Gene Q MDx System, ABI 7500 Fast Dx, QuantStudio 5 Dx, cobas z 480 eller CFX96 Dx som real-time PCR-systemer.

# Beskrivelse og prinsipp

## Patogeninformasjon

Koronavirus, et genus i familien *Coronaviridae*, er store innkapslede RNA-virus med positive tråder som forårsaker svært smittsomme sykdommer hos mennesker og husdyr (1). Koronavirus er ansvarlige for en tredjedel av verdens forkjølelsesinfeksjoner og en velkjent årsak til nosokomiale infeksjoner i de øvre luftveiene hos premature spedbarn (2).

Det var et nytt medlem av koronavirusfamilien som startet et utbrudd av luftveissykdommen i den kinesiske byen Wuhan Kina (1, 3). SARS-CoV-2, som først ble kalt nytt koronavirus (2019-nCoV), skiller seg fra SARS-CoV (1, 3), som forårsaket utbruddet i 2003, og MERS-CoV, som har sirkulert i Midtøsten siden 2012. SARS-CoV-2 er det kausale stoffet i covid-19. SARS-CoV-2-RNA kan detekteres i de tidlige og akutte infeksjonsfasene ved hjelp av forskjellige prøver fra de øvre luftveiene tatt med nasale, orofaryngeale og nasofaryngeale avstryk og i prøver av rent spytt (3).

Kombinert med pasienthistorikken og SARS-CoV-2-epidemiologien er real-time RT-PCR-analyser blitt den foretrukne metoden for diagnostisering av SARS-CoV-2. EUs smittevernkontor (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) har foreslått å kombinere real-time RT-PCR-baserte analyser med immunanalyser for å overvåke infeksjonsstatus og evaluere effektiviteten av restriksjonene for å begrense utbruddet (4, 5).

*artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit skal dekke 2 N-genmål (N1 og N2) som er detektert med samme fluorescenskanal. Det skjelves ikke mellom de to målene, og amplifikasjon av det ene eller begge målene fører til et fluorescenssignal. Positive resultater indikerer forekomst av SARS-CoV-2, men utelukker ikke samtidig infeksjon med andre patogener. Negative real-time RT-PCR-resultater utelukker omvendt ikke en mulig infeksjon.

## Oppsummering og forklaring

*artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit er et bruksklart system med ett prøveklargjøringsstrinn etterfulgt av detektering av SARS-CoV-2-RNA ved hjelp av real-time RT-PCR på RGQ MDx-systemet, ABI 7500 Fast Dx, CFX96 Dx, cobas z 480 eller QuantStudio 5 Dx (figur 1).

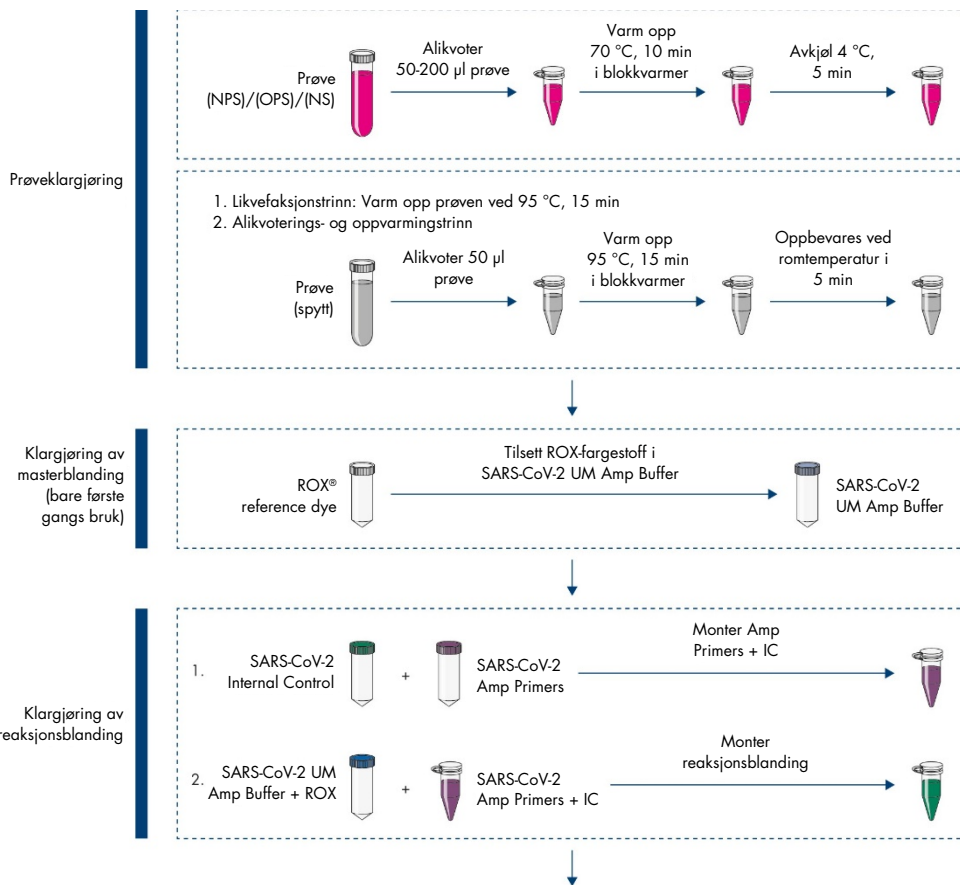
SARS-CoV-2 UM Amp Buffer inneholder reagenser og enzymer for spesifikk amplifikasjon av 72 basiske par (bp) og et 67 bp område med SARS-CoV-2-RNA-genom og for direkte detektering i fluorescenskanalen «Green» på RGQ MDx-instrumentene og i fluorescenskanalen «FAM» på ABI 7500 Fast Dx, CFX96 Dx, cobas z 480 eller QuantStudio 5 Dx.

Primer- og probeblandingen av *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit inneholder dessuten oligonukleotidene som kreves for RNase P-amplifikasjonene. Når disse amplifikasjonene detekteres i fluorescenskanalen «Yellow» på RGQ MDx-instrumentet, sikrer de at det er samlet inn tilstrekkelig med biologiske prøver i VIC/HEX på ABI 7500 Fast Dx, CFX96 Dx, cobas z 480 eller QuantStudio 5 Dx. Denne kontrollen er avgjørende for å sikre tilstedeværelsen av biologiske prøver i SARS-CoV-2-negative prøver. En amplifikasjon bør alltid kunne detekteres. I motsatt fall bør prøvekvaliteten kontrolleres.

*artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit inneholder dessuten et tredje heterologt amplifikasjonssystem for detektering av mulig real-time RT-PCR-hemming. Dette detekteres som en intern RNA-kontroll (Internal Control, IC) i fluorescenskanalen «Red» på RGQ MDx-instrumentene eller i Cy5/ATTO647N på ABI 7500 Fast Dx, CFX96 Dx, cobas z 480 eller QuantStudio 5 Dx. Siden IC inngår i SARS-CoV-2 Amp Primers Mix, må amplifikasjonen være konstant, med mindre det konstateres en real-time RT-PCR-hemmer i prøven eller RT-PCR-reaksjonen, noe som forsinket eller forhindrer amplifikasjonen.

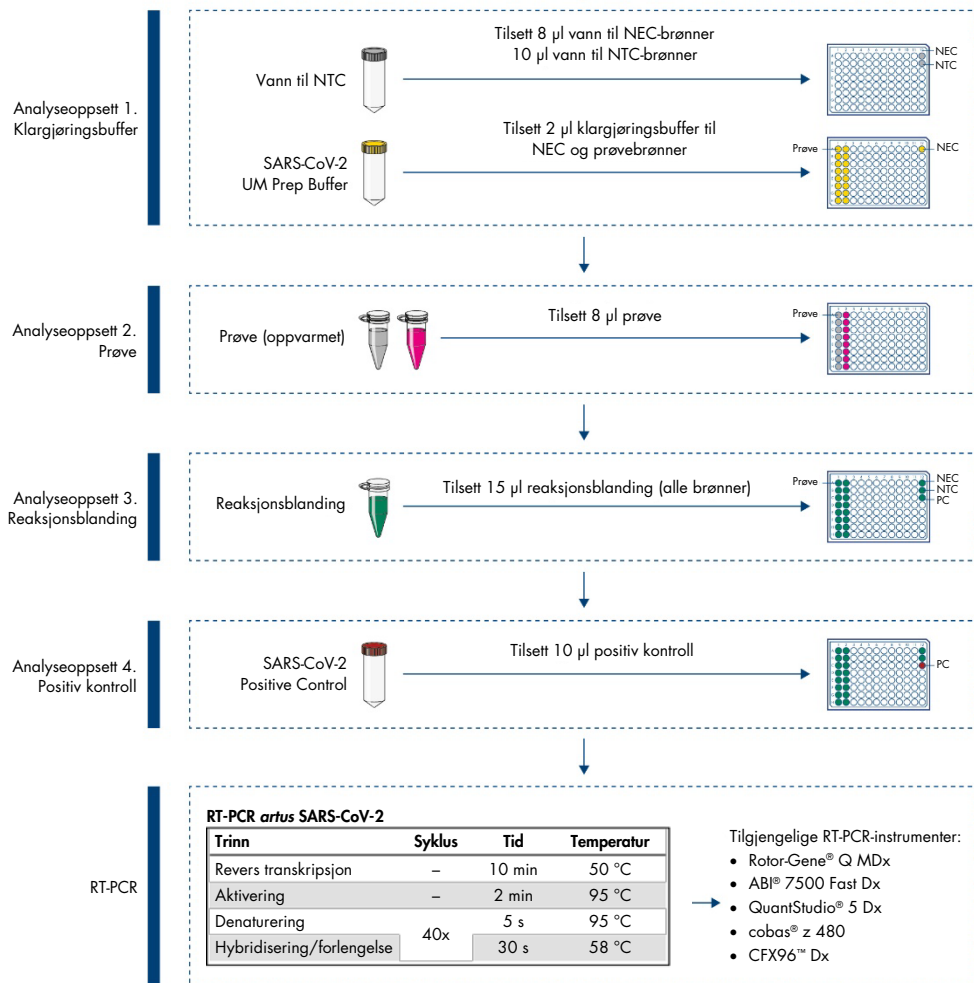
Eksterne positive og negative kontroller (henholdsvis SARS-CoV-2-Positive Control og nukleasefritt vann brukt som NTC) følger med i *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit for å attestere ytelsen til PCR-trinnet. Det anbefales på det sterkeste å utføre en ikke-ekstraksjonskontroll (SARS-CoV-2 UM Prep Buffer brukt som NEC) for å verifisere fravær av real-time RT-PCR-hemmere i klargjøringsbufferen.

Samlet sett overvåkes effektiviteten av revers transkripsjon og PCR-trinnene av disse kontrollene.



(Forts. på neste side)

(Forts. fra forrige side)



Figur 1. *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit-arbeidsflyt



# Materialer som følger med

## Settets innhold

<b>artus SARS-CoV-2 Prep&amp;Amp UM Kit</b>					
<b>Katalognr.</b>				<b>4511460</b>	<b>4511469</b>
<b>Antall reaksjoner</b>				<b>768</b>	<b>3072</b>
<b>Rørfarge</b>	<b>Lokkfarge</b>	<b>ID</b>	<b>Rør-ID</b>	<b>Volum (µl)</b>	<b>Volum (µl)</b>
Gjennomsiktig	<b>Gul</b>	SARS-CoV-2 UM Prep Buffer	<b>Preparation Buffer (Klærgjøringsbuffer)</b>	2 x 930	8 x 930
Gjennomsiktig	<b>Blå</b>	SARS-CoV-2 UM Amp Buffer	<b>Master Mix (Masterblanding)</b>	4 x 1440	16 x 1440
Gjennomsiktig	<b>Lilla</b>	SARS-CoV-2 Amp Primers	<b>Primers and Probes (Primere og prober)</b>	4 x 1680	16 x 1680
Gjennomsiktig	<b>Grønn</b>	SARS-CoV-2 Internal Control	<b>Intern kontroll (Internal Control, IC)</b>	1 x 1390	4 x 1390
Gjennomsiktig	<b>Rød</b>	SARS-CoV-2 Positive Control	<b>Positive Control (Positiv kontroll)</b>	1 x 220	4 x 220
Gjennomsiktig	<b>Gjennomsiktig</b>	Water for NTC (Vann til NTC)	<b>Water (Vann (NTC))</b>	1 x 1900	4 x 1900
Gjennomsiktig	<b>Gjennomsiktig</b>	ROX Reference Dye (ROX-referansefargestoff)	<b>ROX Dye (ROX-fargestoff)</b>	1 x 210	4 x 210

---

## Settkomponenter

### Reagenser

Reagensvolumene i hvert rør er optimalisert for 8 partier à 96 prøver (settet med 768 reaksjoner) eller 32 partier à 96 reaksjoner (settet med 3072 reaksjoner), herunder en positiv kontroll (Positive Control, PC), en ikke-templatkontroll (No Template Control, NTC) og en ikke-ekstraksjonskontroll (No Extraction Control, NEC).

Det kan kjøres færre eller flere prøver, men dette forringer bruken av reagensene. Det anbefales å unngå flere fryse-tine-sykluser. Reagenser kan alikvoteres for å unngå flere fryse-tine-sykluser.

### Primere og prober

Primere og prober rettet mot SARS-CoV-2-sekvensene er basert på primere og prober designet av Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

### Kontroller og kalibratorer

Analysen inneholder 5 kontroller for å overvåke real-time RT-PCR-effektiviteten.

Intern kontroll (Internal Control, IC): Den interne kontrollen er et enkelttrådet IVT RNA som kontrollerer forekomst av kontaminanter som kan hemme revers transkripsjon. Den interne kontrollen overvåker også effekten av revers transkripsjon i ikke-templatkontrollen (No Template Control, NTC) og i ikke-ekstraksjonskontrollen (No Extraction Control, NEC).

Ikke-templatkontroll (No Template Control, NTC): Ikke-templatkontrollen består av nukleasefritt vann. Det tilsettes i PCR-platen for å kontrollere innføring av kontaminanter under klargjøring av PCR-platen, noe som kan føre til feiltolkning av SARS-CoV-2-målene.

---

Positiv kontroll (Positive Control, PC): Den positive kontrollen er et dobbeltrådet DNA som er amplifisert med SARS-CoV-2-primere og -prober (P&P-blanding). Detekteringen kontrollerer effekten av reagenset som er involvert i PCR-amplifikasjonstrinnet.

Ikke-ekstraksjonskontroll (No Extraction Control, NEC): Ikke-ekstraksjonskontrollen består av SARS-CoV-2 UM Prep Buffer. Den behandles parallelt med de kliniske prøvene for å kontrollere innføring av kontaminanter under prøveklargjøringen, noe som kan føre til feiltolkning av SARS-CoV-2-målene.

Prøvetakingskontroll: Prøvetakingskontrollen detekterer RNase P-genet og er avgjørende for å sikre tilstedeværelsen av biologiske prøver i SARS-CoV-2-negative prøver. En amplifikasjon av prøvetakingskontrollen bør alltid kunne detekteres. I motsatt fall bør prøve kvaliteten kontrolleres.

## Plattformer og programvare

Før instrumentene tas i bruk, må det kontrolleres at de er vedlikeholdt og kalibrert i henhold til produsentens anbefalinger. Dette settet kan brukes i fem arbeidsflyter som krever bruk av følgende real-time RT-PCR-instrumenter og tilhørende programvare:

- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM: Rotor-Gene Q-programvareversjon 2.3.1 eller nyere
- ABI 7500 Fast Dx: SDS-programvareversjon 1.4.1 eller nyere
- CFX96 Dx med CFX Manager Dx-programvareversjon 3.1.3090.1022 eller nyere
- cobas z 480 med LightCycler® 480 SW UDF-versjon 2.0.0 eller nyere
- QuantStudio 5 Dx med QuantStudio 5 Dx IVD-programvareversjon 1.0.1 eller nyere og QuantStudio 5 Dx TD-programvareversjon 1.0.1 eller nyere

# Nødvendige materialer som ikke følger med

## Forbruksartikler og utstyr

### Vanlige forbruksartikler og utstyr

- Bordsentrifuge med rotor for 2 ml reaksjonsrør
- Pipetter (justerbare)
- Vorteksblender
- Blokkvarmer
- Pulverfrie engangshansker
- Sterile og nukleasefrie pipettespisser med filtre
- 1,5 ml eller 2 ml PCR-frie rør
- 96-brønners platesentrifugeinstrument

### Forbruksartikler og utstyr for hver plattform

#### **Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM-instrumentet**

- 0,1 ml PCR-rør til bruk med Rotor-Gene Q MDx (Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, kat.nr. 981103).
- 72-Well Rotor (kat.nr. 9018903) og Locking Ring 72-Well Rotor (kat.nr. 9018904)

#### **ABI 7500 Fast Dx-instrumentet**

- 96-Well MicroAmp™ (Thermo Fisher Scientific, kat.nr. N8010560)
- MicroAmp Optical Adhesive film (Thermo Fisher Scientific, kat.nr. 4360954)

#### **CFX96 Dx-instrumentet**

- Hard-Shell® 96-Well PCR Plate, low profile, thin wall, skirted white/clear (Bio-Rad Laboratories Inc., kat.nr. HSP9601)
- Microseal 'B' PCR Plate Sealing Film, Adhesive, Optical (Bio-Rad Laboratories Inc., kat.nr. MSB1001).

---

### **cobas z 480-instrumentet**

- LightCycler 480 Multiwell Plate, white (Roche Group, kat.nr. 04729692001).
- LightCycler 480 Sealing Foil (Roche Group, kat.nr. 04729757001).

### **QuantStudio 5 Dx-instrumentet**

- MicroAmp EnduraPlate™ Optical 96-Well Clear Reaction Plate (Thermo Fisher Scientific, kat.nr. A36924)
- MicroAmp Optical Adhesive film (Thermo Fisher Scientific, kat.nr. 4360954)

---

# Advarsler og forholdsregler

Vær oppmerksom på at alvorlige hendelser i forbindelse med bruken av utstyret muligens må rapporteres til produsenten og den ansvarlige myndigheten i det landet hvor brukeren og/eller pasienten befinner seg.

## Sikkerhetsinformasjon

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablader (Safety Data Sheets, SDS) hvis du ønsker mer informasjon. Disse er tilgjengelige i praktisk og kompakt PDF-format på [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), der du kan søke etter, vise og skrive ut sikkerhetsdatabladet for hvert QIAGEN-sett og hver settkomponent.

Bruk alltid egnet personlig verneutstyr, inkludert, men ikke begrenset til, pulverfrie engangshansker, en laboratoriefrakk og vernebriller. Beskytt hud, øyne og slimhinner. Bytt hansker ofte ved håndtering av prøver.

Alle prøver skal behandles som potensielt smittefarlig materiale. Overhold alltid sikkerhetsforholdsregler som beskrevet i relevante retningslinjer, som Clinical and Laboratory Standards Institute® (CLSI) *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guidelines (M29)*, eller andre egnede dokumenter.

Prøvene er potensielt smittefarlige. Kast prøve- og analyseavfall i henhold til lokale sikkerhetsprosedyrer.

---

## Forholdsregler

- Overhold standard laboratorieprosedyrer for å holde arbeidsområdet rent og kontamineringsfritt. Sett av et område med spesifikt utstyr for å håndtere RNA.
- Følg god laboratoriepraksis for å minimere krysskontaminering.
- Unngå kontaminering med RNAse under eksperimentet og bruk RNAse-frie plastvarer.
- Sørg for at alle registre, særlig for prøveidentifisering, kan spores.

# Håndtering og oppbevaring av reagenser

Vær spesielt oppmerksom på utløpsdatoene og oppbevaringsbetingelsene angitt på esken og alle komponentenes etiketter. Ikke bruk komponenter som er gått ut på dato eller oppbevart feil.

*artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit kan oppbevares ved -30 °C til -15 °C i 6 måneder, eller til utløpsdatoen.

## Transport, oppbevaring og håndtering av prøver

*artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit er beregnet brukt med nasofaryngeale, nasale og orofaryngeale avstryk og prøver av rent spytt. Alle prøver skal behandles som potensielt smittefarlig materiale. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) og Public Health England har gitt retningslinjer for prøvetaking, håndtering og testing av kliniske prøver. Se disse retningslinjene eller andre relevante nasjonale referanseprotokoller for laboratorier for ytterligere informasjon.

### Prøvetaking, transport og oppbevaring av nasofaryngeale, nasale og orofaryngeale avstryk

Se leverandørens anbefalinger for prøvetaking, oppbevaring og transport av avstryk. Vattpinner må senkes helt ned i transportmediene for å opprettholde prøvenes integritet. Nasofaryngeale avstrykprøver holder seg stabile og kan oppbevares ved:

- 4 °C (2 til 8 °C) i opptil 72 timer
- -70 °C i 2 uker

Nasofaryngeale avstrykprøver holder seg stabile i 3 fryse-tine-sykluser.



## Prøvetaking, transport og oppbevaring av prøver av rent spytt

Prøver av rent spytt må tas i sterile beholdere uten konserveringsmidler, buffere eller andre tilsetningsstoffer.

Anvisninger for prøvetaking av rent spytt:

- Unngå å hoste før prøvetaking av rent spytt.
- Ikke spis, drikk, røyk eller bruk elektroniske sigaretter eller tyggegummi, og ikke børst tennene 30 minutter før prøvetaking av rent spytt.
- Tannlegearbeid eller tannlegeundersøkelse må ikke utføres 24 timer før prøvetaking av rent spytt.

Prøvene av rent spytt holder seg stabile og kan oppbevares ved:

- romtemperatur (18–26 °C) i opptil 72 timer
- 4 °C (2 til 8 °C) i opptil 72 timer
- en kombinert oppbevaring ved romtemperatur, deretter 4 °C, så –20 °C (–30 til –15 °C) i opptil 12 dager
- –20 °C (–30 til –15 °C) i 1 måned

Prøver av rent spytt holder seg stabile i 3 fryse-tine-sykluser.

Hvis prøveoppbevaringsvilkårene avviker fra denne veiledningen, må egne oppbevaringsvilkår valideres.

# Protokoll: Prøveklargjøring og SARS-CoV-2-detektering på RGQ MDx 5plex HRM

Denne protokollen beskriver klargjøring av prøver og real-time RT-PCR for å påvise SARS-CoV-2-mål i humane nasale, nasofaryngeale eller orofaryngeale prøver som oppbevares i transportmedium og prøver av rent spytt på RGQ MDx 5plex HRM real-time RT-PCR-instrumentet knyttet til Rotor-Gene Q-programvareversjon 2.3.1.49 (eller nyere).

Viktige punkter før du starter

- Verifiser at utløpsdatoene og oppbevaringsvilkårene trykt på esken og alle komponentetiketter er fulgt. Ikke bruk komponenter som er gått ut på dato eller oppbevart feil.
- Bruk godt vedlikeholdt og kalibrert utstyr.
- Unngå kontaminering med RNAs-er under eksperimentet, og bruk nuklease-fritt plastutstyr.

Ting du skal gjøre før du starter.

- Respirasjonsprøver kan oppbevares ved romtemperatur (15–25 °C) under klargjøringstrinnene og reaksjonsoppsettet, men det anbefales å oppbevare dem på is eller ved 4 °C på et kjølestativ.
- Spyttprøver kan oppbevares på is eller ved 4 °C på et kjølestativ, men det anbefales å oppbevare dem ved romtemperatur (15–25 °C) under klargjøringstrinnene og reaksjonsoppsettet.
- Før bruk skal du la SARS-CoV-2 UM Prep Buffer, SARS-CoV-2 UM Amp Buffer, SARS-CoV-2 Amp Primers, SARS-CoV-2 IC, vann til NTC og SARS-CoV-2 Positive Control tine helt ved romtemperatur. Oppbevar rørene ved romtemperatur og beskyttet mot sollys inntil de brukes.

- Homogeniser SARS-CoV-2 UM Prep Buffer og SARS-CoV-2 UM Amp Buffer før bruk ved å snu dem 2–3 ganger (de må ikke vorteksblendes), etterfulgt av en hurtig rotering. Alle de andre individuelle reagensene kan homogeniseres ved pulsvorteksblending i 3–5 sekunder eller ved å snu dem 2–3 ganger, etterfulgt av en hurtig rotering.
- SARS-CoV-2 UM Prep Buffer hemmer RNAser i de kliniske prøvene for detekteringstrinnet, men er ikke en virusinaktiverende løsning. Alle prøver skal behandles som potensielt smittefarlig materiale.
- Kontroller at real-time RT-PCR-plattformens syklusforhold samsvarer med denne protokollen.
- Reagenser kan alikvoterer for å unngå flere fryse-tine-sykluser.
- Klargjør ny reaksjonsblanding (< 2 t til RT-PCR-platen starter).
- Klargjøring av prøver og RT-PCR bør utføres i atskilte soner for å minimere risikoen for kontaminering.

## Prosedyre

**Prøveklargjøring:** Følg trinn 1 for luftveisprøver (nasale, orofaryngeale og nasofaryngeale avstryk). Fortsett til trinn 2 for spyttprøver.

1. Luftveisprøver (nasale, orofaryngeale og nasofaryngeale avstryk):
  - 1a. Bland prøven og avstryket kraftig i en vorteksblender.
  - 1b. Alikvoter 50–200 µl prøve i 1,5 ml PCR-frie rør
  - 1c. Utfør oppvarmingstrinnet ved 70 °C i 10 min på en blokkvarmer. Legg prøvene på is i minst 5 min. Oppbevar deretter prøvene på is eller ved 4 °C.
2. Spyttprøver:
  - 2a. Likvefaksjon (pipetteringen forenkles): Varm opp spyttprøven ved 95 °C i 15 min (uspesifisert volum, beholder eller varmer).
  - 2b. Homogeniser prøven ved å pipettere forsiktig opp og ned 8–10 ganger.
  - 2c. Alikvoter 50 µl prøve i et 1,5 ml PCR-fritt rør.
  - 2d. Utfør oppvarmingstrinnet ved 95 °C i 15 min på en blokkvarmer. Oppbevar deretter prøven ved romtemperatur i minst 5 min til den plasseres i PCR-brønnen eller -røret.

3. Ved første gangs bruk ferdigstilles SARS-CoV-2 UM Amp Buffer med ROX Reference Dye.
  - 3a. Tilsett 32,8 µl ROX-fargestoff i 1 rør med SARS-CoV-2 UM Amp Buffer.
  - 3b. Lukk lokket på røret med SARS-CoV-2 UM Amp Buffer og ROX-fargestoff, og snu røret 3 ganger.
  - 3c. Roter SARS-CoV-2 UM Amp Buffer med ROX-fargestoff ned i bunnen av røret.
4. En full RGQ MDx-plate (72 brønner) krever klargjøring av en alikvotblanding med SARS-CoV-2 Amp Primers med SARS-CoV-2 Internal Control.
  - 4a. Overfør nødvendig volum av SARS-CoV-2 Amp Primers og SARS-CoV-2 Internal Control i henhold til tabell 1 i et nytt 1,5 ml PCR-fritt rør.
  - 4b. Lukk lokket, og snu røret 3 ganger, eller pulsverteksbland røret i 3–5 s.
  - 4c. Roter SARS-CoV-2 Amp Primers med IC ned i bunnen av røret.

**Tabell 1. Oppsett av SARS-CoV-2 Amp Primers + IC-blanding**

SARS-CoV-2 Amp Primers + IC-blanding				Antall reaksjoner volum (µl)	
Reagenser	Stamkonsentrasjon	Sluttkonsentrasjon	1 rxn	72 rxns (+20 % ekstra volum*)	
SARS-CoV-2 Amp Primers	3,45x	1x	7,25	626,4	
SARS-CoV-2 Internal Control	166,67 kopier/µl	10 kopier/µl	1,5	129,6	
Total SARS-CoV-2 Amp Primers + IC-blanding			8,75	756	

\* **Merk:** Juster volumene av SARS-CoV-2 Amp Primers og SARS-CoV-2 Internal Control etter antall prøver som skal testes. Vurder ekstra volum for å kompensere for dødvolumet.

5. Klargjør en reaksjonsblanding ifølge tabell 2, og bland den grundig ved å snu røret 3 ganger.

**Tabell 2. Oppsett av reaksjonsblanding**

RT-PCR-reaksjonsblanding				Antall reaksjoner volum (µl)
Reagenser	Stamkonsentrasjon	Sluttkonsentrasjon	1 rxn	72 rxns (+20 % ekstra volum*)
SARS-CoV-2 UM Amp Buffer + ROX-blanding	4x	1x	6,25	540
SARS-CoV-2 Amp Primers + IC-blanding	2,9x	1x	8,75	756
Totalt reaksjonsvolum		–	15,00	1296

\* **Merk:** Juster volumene av SARS-CoV-2 Amp Buffer og SARS-CoV-2 Amp Primers etter antallet prøver som skal testes. Vurder ekstra volum for å kompensere for dødvolumet.

- Dispenser 8 µl nukleasefritt vann i PCR-røret til NEC.
- Tilsett 10 µl nukleasefritt vann i PCR-røret til NTC.
- Dispenser 2 µl SARS-CoV-2 UM Prep Buffer i hvert PCR-rør til NEC og de klargjorte prøvene.
- Tilsett 8 µl av den klargjorte prøven i et PCR-rør med SARS-CoV-2 UM Prep Buffer. Bland ved å pipettere opp og ned 5 ganger.
- Tilsett 15 µl av reaksjonsblandingen fra trinn 5 i rørene for prøver og kontroller (eksempel: figur 2). Bland ved å pipettere opp og ned 5 ganger. Sett deretter lokk på PCR-rørene, bortsett fra det lokket til SARS-CoV-2 Positive Control.
 

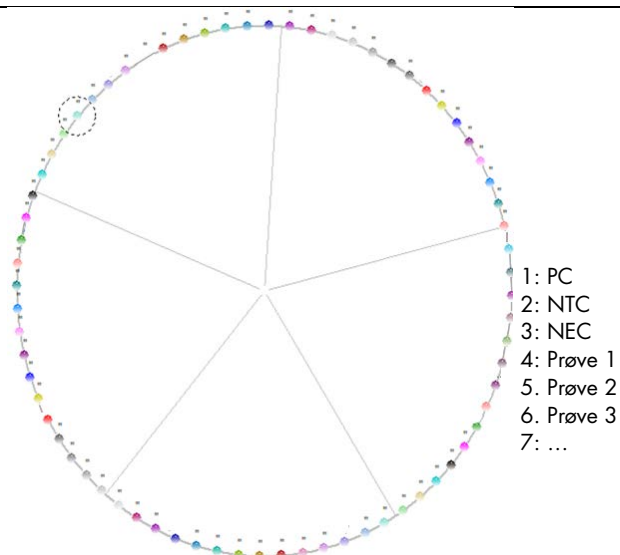
**Merk:** Verifiser at rør er godt lukket, for å hindre krysskontaminering.
- Tilsett 10 µl SARS-CoV-2 Positive Control i det relevante PCR-røret. Bland ved å pipettere opp og ned 5 ganger.
- Still inn RT-PCR-programmet på RGQ MDx 5plex HRM ifølge tabell 3.
 

**Merk:** Datainnsamling bør utføres under hybridiserings-/forlengelsestrinnet.
- Plasser rørene i real-time-cycleren (figur 2 viser et eksempel på røroppsett), og start syklusprogrammet ifølge tabell 3.
 

**Merk:** Husk å ha samme rørposisjon og rekkefølge mellom analyseoppsettet og trinnene i real-time-cycleren.

**Tabell 3. Programmering av SARS-CoV-2 Prep&Amp UM**

Trinn	Tid	Temperatur (°C)	Antall sykluser	Innsamling
Revers transkripsjon	10 min	50	1	Nei
Første aktivering av PCR-oppvarming	2 min	95	1	Nei
2-trinns syklus				
Denaturering	5 s	95	40	Nei
Hybridisering/forlengelse	30 s	58		Green, Yellow og Red



**Figur 2. Eksempel på røroppsett på RGQ MDx 5plex HRM-plattformen**

14. Klikk på Gain optimization (Forsterkningsoptimalisering) i «New Run Wizard» (Veiviser for ny kjøring), og åpne Auto-gain Optimization Setup (Oppsett av automatisk forsterkningsoptimalisering).

15. Kontroller at innsamlingskanalene er stilt inn ifølge tabell 4.

Tabell 4. Konfigurasjon av RGQ MDx 5plex HRM

Navn	PC-rørposisjon	Minste avlesning (FI)	Største avlesning (FI)	Minste forsterkning	Største forsterkning
Green	1 *	5 FI	10 FI	-10	10
Yellow	1 *	5 FI	10 FI	-10	10
Red	1 *	5 FI	10 FI	-10	10

\* **Merk:** Dette må endres ifølge plasseringen av røret med SARS-CoV-2 Positive Control.

16. Velg Perform optimization before the first acquisition (Utfør optimalisering før første innsamling).

17. Start kjøringen.

18. Analyser resultatene etter endt kjøring (se avsnittet Resultater).

# Protokoll: Prøveklargjøring og SARS-CoV-2-detektering på ABI 7500 Fast Dx

Denne protokollen er beregnet på klargjøring og detektering av SARS-CoV-2-mål i humane nasale, nasofaryngeale eller orofaryngeale prøver i transportmedium og prøver av rent spytt på ABI 7500 Fast Dx real-time RT-PCR-instrumentet.

## Viktige punkter før du starter

- Verifiser at utløpsdatoene og oppbevaringsvilkårene trykt på esken og alle komponentetiketter er fulgt. Ikke bruk komponenter som er gått ut på dato eller oppbevart feil.
- Bruk godt vedlikeholdt og kalibrert utstyr.
- Unngå kontaminering med RNAs'er under eksperimentet, og bruk nuklease-fritt plastutstyr.
- Når ABI 7500 Fast Dx brukes, må ROX-fargestoff tilsettes i røret med masterblanding før første gangs bruk.

## Ting du skal gjøre før du starter

- Respirasjonsprøver kan oppbevares ved romtemperatur (15–25 °C) under klargjøringstrinnene og reaksjonsoppsettet, men det anbefales å oppbevare dem på is eller ved 4 °C på et kjølestativ.
- Spyttprøver kan oppbevares på is eller ved 4 °C på et kjølestativ, men det anbefales å oppbevare dem ved romtemperatur (15–25 °C) under klargjøringstrinnene og reaksjonsoppsettet.
- ROX-fargestoffet er nødvendig ved bruk av ABI 7500 Fast Dx.
- Data må samles inn med den ROX-passive fargestoffinnstillingen.
- Før bruk skal du la SARS-CoV-2 UM Prep Buffer, SARS-CoV-2 UM Amp Buffer, SARS-CoV-2 Amp Primers, SARS-CoV-2 IC, vann til NTC og SARS-CoV-2 Positive Control tine helt ved romtemperatur. Oppbevar rørene ved romtemperatur og beskyttet mot sollys inntil de brukes.



- Homogeniser SARS-CoV-2 UM Prep Buffer og SARS-CoV-2 UM Amp Buffer før bruk ved å snu dem 2–3 ganger (de må ikke vorteksblendes), etterfulgt av en hurtig rotering. Alle de andre individuelle reagensene kan homogeniseres ved pulsvorteksblending i 3–5 sekunder eller ved å snu dem 2–3 ganger, etterfulgt av en hurtig rotering.
- SARS-CoV-2 UM Prep Buffer hemmer RNAser i de kliniske prøvene for detekteringstrinnet, men er ikke en virusinaktiverende løsning. Alle prøver skal behandles som potensielt smittefarlig materiale.
- Kontroller at real-time RT-PCR-plattformens syklusforhold samsvarer med denne protokollen.
- Reagenser kan alikvoterer for å unngå flere fryse-tine-sykluser.
- Klargjør ny reaksjonsblanding (< 2 t til RT-PCR-platen starter).
- Klargjøring av prøver og RT-PCR bør utføres i atskilte soner for å minimere risikoen for kontaminering.

## Prosedyre

**Prøveklargjøring:** Følg trinn 1 for luftveisprøver (nasale, orofaryngeale og nasofaryngeale avstryk). Fortsett til trinn 2 for spyttprøver.

1. Luftveisprøver (nasale, orofaryngeale og nasofaryngeale avstryk):
  - 1a. Bland prøven og avstryket kraftig i en vorteksblender.
  - 1b. Alikvoter 50–200 µl prøve i 1,5 ml PCR-frie rør.
  - 1c. Utfør oppvarmingstrinnet ved 70 °C i 10 min på en blokkvarmer.
  - 1d. Legg prøvene på is i minst 5 min. Oppbevar deretter prøvene på is eller ved 4 °C.
2. Spyttprøver:
  - 2a. Likvefaksjon (pipetteringen forenkles): Varm opp spyttprøven ved 95 °C i 15 min (uspesifisert volum, beholder eller varmer).
  - 2b. Homogeniser prøven ved å pipettere forsiktig opp og ned 8–10 ganger
  - 2c. Alikvoter 50 µl prøve i et 1,5 ml PCR-fritt rør.
  - 2d. Utfør oppvarmingstrinnet ved 95 °C i 15 min på en blokkvarmer. Oppbevar deretter prøven ved romtemperatur i minst 5 min til den plasseres i PCR-brønner eller -rør.

3. Ved første gangs bruk ferdigstilles SARS-CoV-2 UM Amp Buffer med ROX Reference Dye.
  - 3a. Tilsett 32,8 µl ROX-fargestoff i et rør med SARS-CoV-2 UM Amp Buffer.
  - 3b. Lukk lokket på røret med SARS-CoV-2 UM Amp Buffer og ROX-fargestoff, og snu røret 3 ganger.
  - 3c. Roter SARS-CoV-2 UM Amp Buffer med ROX-fargestoff ned i bunnen av røret.
4. En full ABI 7500 Fast Dx-plate (96 brønner) krever klargjøring av en alikvotblanding med SARS-CoV-2 Amp Primers med SARS-CoV-2 Internal Control.
  - 4a. Overfør nødvendig volum av SARS-CoV-2 Amp Primers og SARS-CoV-2 Internal Control ifølge tabell 5 i et nytt 1,5 ml PCR-fritt rør.
  - 4b. Lukk lokket, og snu røret 3 ganger, eller pulsverteksbland røret i 3–5 s.
  - 4c. Roter SARS-CoV-2 Amp Primers med IC for å samle løsningen i bunnen av røret.

**Tabell 5. Oppsett av SARS-CoV-2 Amp Primers + IC-blanding**

SARS-CoV-2 Amp Primers + IC-blanding				Antall reaksjoner volum (µl)
Reagenser	Stamkonsentrasjon	Sluttkonsentrasjon	1 rxn	96 rxns (+20 % ekstra volum*)
SARS-CoV-2 Amp Primers	3,45x	1x	7,25	835,2
SARS-CoV-2 Internal Control	166,67 kopier/µl	10 kopier/µl	1,5	172,8
Total SARS-CoV-2 Amp Primers + IC-blanding			8,75	1008

\* **Merk:** Juster volumene av SARS-CoV-2 Amp Primers og SARS-CoV-2 Internal Control etter antall prøver som skal testes. Vurder ekstra volum for å kompensere for dødvolumet.

5. Klargjør en reaksjonsblanding ifølge tabell 6, og bland den grundig ved å snu røret 3 ganger.

**Tabell 6. Oppsett av reaksjonsblanding**

RT-PCR-reaksjonsblanding				Antall reaksjoner volum (µl)
Reagenser	Stamkonsentrasjon	Sluttkonsentrasjon	1 rxn	96 rxns (+20 % ekstra volum*)
SARS-CoV-2 UM Amp Buffer + ROX-blanding	4x	1x	6,25	720
SARS-CoV-2 Amp Primers + IC- blanding	2,9x	1x	8,75	1008
Totalt reaksjonsvolum		–	15,00	1728

\* **Merk:** Juster volumet av SARS-CoV-2 UM Amp Buffer og SARS-CoV-2 Amp Primers etter antallet prøver som skal testes. Vurder ekstra volum for å kompensere for dødvolumet.

6. Dispenser 8 µl nukleasefritt vann i brønnen til NEC.
7. Overfør 10 µl nukleasefritt vann til brønnen til NTC.
8. Dispenser 2 µl SARS-CoV-2 UM Prep Buffer i hver brønn til NEC og de klargjorte prøvene.
9. Tilsett 8 µl av den klargjorte prøven i en brønn med SARS-CoV-2 UM Prep Buffer. Bland ved å pipettere opp og ned 5 ganger.
10. Tilsett 15 µl av reaksjonsblandingen fra trinn 5 i brønnene for prøver og kontroller (se eksempel på figur 3 på neste side). Bland ved å pipettere opp og ned 5 ganger.
11. Tilsett 10 µl SARS-CoV-2 Positive Control i den relevante brønnen. Bland ved å pipettere opp og ned 5 ganger.
12. Forsegl PCR-platebrønnen for å hindre krysskontaminering. Sørg for å fordele trykket på hele platen for å oppnå en hermetisk forsegling av alle brønnene.
13. Sentrifuger PCR-platen kort for å samle væsken i bunnen av brønnen.
14. Still inn real-time RT-PCR-programmet på kjøremodus «Standard 7500» på ABI 7500 Fast Dx ifølge tabell 7.

**Merk:** Klikk på **file** (fil) og **new** (ny), og kontroller deretter at analysen er **Standard Curve (Absolute Quantitation)** (Standardkurve (absolutt kvantitering)), og at kjøremodus er satt til **Standard 7500** (Standard 7500). Velg FAM, VIC og Cy5 som reportere med slukkerset til **None** (Ingen). Data må registreres med **ROX** som **passive reference** (passiv referanse).

**Merk:** Datainnsamling bør utføres under hybridiserings-/forlengelsestrinnet.

**Merk:** Se *bruksanvisning for ABI 7500 Fast Dx* for ytterligere opplysninger.

15. Plasser platen i real-time-cycleren (figur 3 viser et eksempel på PCR-plateoppsett), og start syklusprogrammet ifølge tabell 7.
16. Velg de brukte brønnene, og påfør reporterne FAM, VIC og Cy5. Data må samles inn med det ROX-passive fargestoffet **PÅ**.
17. Verifiser at standardkurven for ABI 7500 Fast Dx er konfigurert til Absolute Quantitation (Absolutt kvantifisering).
18. Start kjøringen.

19. Analyser resultatene etter endt kjøring (se avsnittet Resultater).

**Tabell 7. Programmering av SARS-CoV-2 Prep&Amp UM**

Trinn	Tid	Temperatur (°C)	Antall sykluser	Innsamling
Revers transkripsjon	10 min	50	1	Nei
Første aktivering av PCR-oppvarming	2 min	95	1	Nei
2-trinns syklus				
Denaturering	5 s	95	40	Nei
hybridisering/forlengelse	30 s	58		FAM, VIC og Cy5

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	PC											
B	NTC											
C	ABC											
D	Sample 1											
E	Sample 2											
F	Sample 3											
G	...											
H												

**Figur 3. Eksempel på plateoppsett på ABI 7500 Fast Dx**

# Protokoll: Prøveklargjøring og SARS-CoV-2-detektering på CFX96 Dx

Denne protokollen er beregnet på klargjøring og detektering av SARS-CoV-2-mål i humane nasale, nasofaryngeale, orofaryngeale prøver i transportmedium og prøver av rent spytt på CFX96 Dx (Bio-Rad Laboratories Inc., kat.nr. 1845097-IVD (optisk reaksjonsmodul) og 1841000-IVD (termosyklusmodul) med CFX Manager Dx-programvareversjon 3.1.309001022 eller nyere.

## Viktige punkter før du starter

- Verifiser at utløpsdatoene og oppbevaringsvilkårene trykt på esken og alle komponentetiketter er fulgt. Ikke bruk komponenter som er gått ut på dato eller oppbevart feil.
- Bruk godt vedlikeholdt og kalibrert utstyr.
- Unngå kontaminering med RNAs-er under eksperimentet, og bruk nukleasefritt plastutstyr.

## Ting du skal gjøre før du starter

- Respirasjonsprøver kan oppbevares ved romtemperatur (15–25 °C) under klargjøringstrinnene og reaksjonsoppsettet, men det anbefales å oppbevare dem på is eller ved 4 °C på et kjølestativ.
- Spyttprøver kan oppbevares på is eller ved 4 °C på et kjølestativ, men det anbefales å oppbevare dem ved romtemperatur (15–25 °C) under klargjøringstrinnene og reaksjonsoppsettet.
- Før bruk skal du la SARS-CoV-2 UM Prep Buffer, SARS-CoV-2 UM Amp Buffer, SARS-CoV-2 Amp Primers, SARS-CoV-2 IC, vann til NTC og SARS-CoV-2 Positive Control tine helt ved romtemperatur. Oppbevar rørene ved romtemperatur og beskyttet mot sollys inntil de brukes.

- Homogeniser SARS-CoV-2 UM Prep Buffer og SARS-CoV-2 UM Amp Buffer før bruk ved å snu dem 2–3 ganger (de må ikke vorteksblendes), etterfulgt av en hurtig rotering. Alle de andre individuelle reagensene kan homogeniseres ved pulsvorteksblending i 3–5 sekunder eller ved å snu dem 2–3 ganger, etterfulgt av en hurtig rotering.
- SARS-CoV-2 UM Prep Buffer hemmer RNAser i de kliniske prøvene for detekteringstrinnet, men er ikke en virusinaktiverende løsning. Alle prøver skal behandles som potensielt smittefarlig materiale.
- Kontroller at real-time RT-PCR-plattformens syklusforhold samsvarer med denne protokollen.
- Reagenser kan alikvoterer for å unngå flere fryse-tine-sykluser.
- Klargjør ny reaksjonsblanding (< 2 h til PCR-plate startes).
- Klargjøring av prøver og real-time RT-PCR bør utføres i atskilte soner for å minimere risikoen for kontaminering.

#### Prosedyre:

Prøveklargjøring: Følg trinn 1 for luftveisprøver (nasale, orofaryngeale og nasofaryngeale avstryk). Fortsett til trinn 2 for spyttprøver.

1. Luftveisprøver (nasale, orofaryngeale og nasofaryngeale avstryk):
  - 1a. Bland prøven og avstryket kraftig i en vorteksblender
  - 1b. Alikvoter 50–200 µl prøve i 1,5 ml PCR-frie rør
  - 1c. Utfør oppvarmingstrinnet ved 70 °C i 10 min på en blokkvarmer.
  - 1d. Legg prøvene på is i minst 5 min. Oppbevar deretter prøvene på is eller ved 4 °C.
2. Spyttprøver:
  - 2a. Likvefaksjon (pipetteringen forenkles): Varm opp spyttprøven ved 95 °C i 15 min (uspesifisert volum, beholder eller varmer).
  - 2b. Homogeniser prøven ved å pipettere forsiktig opp og ned 8–10 ganger.
  - 2c. Alikvoter 50 µl prøve i et 1,5 ml PCR-fritt rør.
  - 2d. Utfør oppvarmingstrinnet ved 95 °C i 15 min på en blokkvarmer. Oppbevar deretter prøven ved romtemperatur i minst 5 min til den plasseres i PCR-brønnen eller -røret.

3. Ved første gangs bruk ferdigstilles SARS-CoV-2 UM Amp Buffer med ROX Reference Dye.
  - 3a. Tilsett 32,8 µl ROX-fargestoff i 1 rør med SARS-CoV-2 UM Amp Buffer.
  - 3b. Lukk lokket på røret med SARS-CoV-2 UM Amp Buffer og ROX-fargestoff, og snu røret 3 ganger.
  - 3c. Roter SARS-CoV-2 UM Amp Buffer med ROX-fargestoff ned i bunnen av røret.
4. En full CFX96 Dx-plate (96 brønner) krever klargjøring av en alikvotblanding med SARS-CoV-2 Amp Primers med SARS-CoV-2 Internal Control.
  - 4a. Overfør nødvendig volum av SARS-CoV-2 Amp Primers og SARS-CoV-2 Internal Control ifølge tabell 8 i et nytt 1,5 ml PCR-fritt rør.
  - 4b. Lukk lokket, og snu røret 3 ganger, eller pulsverteksbland røret i 3–5 s.
  - 4c. Roter SARS-CoV-2 Amp Primers med IC for å samle løsningen i bunnen av røret.

**Tabell 8. Oppsett av SARS-CoV-2 Amp Primers + IC-blanding**

SARS-CoV-2 Amp Primers + IC-blanding				Antall reaksjoner volum (µl)	
Reagenser	Stamkonsentrasjon	Sluttkonsentrasjon	1 rxn	96 rxns (+20 % ekstra volum*)	
SARS-CoV-2 Amp Primers	3,45x	1x	7,25	835,2	
SARS-CoV-2 Internal Control	166,67 kopier/µl	10 kopier/µl	1,5	172,8	
Total SARS-CoV-2 Amp Primers + IC-blanding			8,75	1008	

\* **Merk:** Juster volumene av SARS-CoV-2 Amp Primers og SARS-CoV-2 Internal Control etter antall prøver som skal testes. Vurder ekstra volum for å kompensere for dødvolumet.

5. Klargjør en reaksjonsblanding ifølge tabell 9, og bland den grundig ved å snu røret 3 ganger.

**Tabell 9. Oppsett av reaksjonsblanding**

RT-PCR-reaksjonsblanding				Antall reaksjoner volum (µl)	
Reagenser	Stamkonsentrasjon	Sluttkonsentrasjon	1 rxn	96 rxns (+20 % ekstra volum*)	
SARS-CoV-2 UM Amp Buffer + ROX- blanding	4x	1x	6,25	720	
SARS-CoV-2 Amp Primers + IC- blanding	2,9x	1x	8,75	1008	
Totalt reaksjonsvolum		–	15,00	1728	

\* **Merk:** Juster volumene av SARS-CoV-2 UM Amp Buffer og SARS-CoV-2 Amp Primers etter antallet prøver som skal testes. Vurder ekstra volum for å kompensere for dødvolumet.

6. Dispenser 8 µl nukleasefritt vann i brønnen til NEC.
7. Overfør 10 µl nukleasefritt vann til brønnen til NTC.
8. Dispenser 2 µl SARS-CoV-2 UM Prep Buffer i hver brønn til NEC og de klargjorte prøvene.
9. Tilsett 8 µl av den klargjorte prøven i en brønn med SARS-CoV-2 UM Prep Buffer. Bland ved å pipettere opp og ned 5 ganger.
10. Tilsett 15 µl av reaksjonsblandingen fra trinn 5 i brønnene for prøver og kontroller (eksempel: figur 4). Bland ved å pipettere opp og ned 5 ganger.
11. Tilsett 10 µl SARS-CoV-2 Positive Control i den relevante brønnen. Bland ved å pipettere opp og ned 5 ganger.
12. Forsegl PCR-platebrønnen for å hindre krysskontaminering. Sørg for å fordele trykket på hele platen for å oppnå en hermetisk forsegling av alle brønnene.
13. Sentrifuger PCR-platen kort for å samle væsken i bunnen av brønnen.
14. På **CFX Manager Dx Software** (CFX Manager Dx-programvare) > **Startup Wizard** (Oppstartsveiviser), under **run type** (kjøringstype), velger du **user defined** (brukerdefinert).
15. Fanen **Protocol** (Protokoll): Still inn real-time RT-PCR-programmet ifølge tabell 10 for 25 µl reaksjonsvolum.  
**Merk:** I vinduet **Protocol Editor** (Protokollredigeringsprogram) klikker du på knappen **Step Options** (Trinnalternativer) for å justere stigningshastigheten ved 1,6 °C/s i hvert av de 4 trinnene i RT-PCR-programmet.  
**Merk:** Datainnnsamling bør utføres under hybridiserings-/forlengelsestrinnet.  
**Merk:** Se *bruksanvisning for CFX96 Dx* for ytterligere opplysninger.
16. Fanen **Plate** (Plate): Velg de brukte brønnene, og påfør reporterne FAM, HEX og Cy5.
17. Plasser platen i real-time-cycleren (figur 4 viser et eksempel på PCR-plateoppsett).
18. Fanen **Start Run** (Start kjøring): Klikk på Start the run (Start kjøringen).



## 19. Analyser resultatene etter endt kjøring (se avsnittet Resultater).

**Tabell 10. Programmering av SARS-CoV-2 Prep&Amp UM for CFX96 Dx**

Trinn	Tid	Temperatur (°C)	Stigningshastighet (°C/s)	Antall gjentakelser	Innsamling
1. Revers transkripsjon	10 min	50	1,6	1	Nei
2. Første aktivering av PCR-oppvarming	2 min	95	1,6	1	Nei
2-trinns syklus				39*	
Denaturering	5 s	95	1,6	1	Nei
hybridisering/forlengelse	30 s	58	1,6	1	FAM, HEX og Cy5

\*CFX fungerer ved gjentakelse. Angi 39 gjentakelser for de to syklustrinnene for at programmet skal kjøre 40 sykluser (som trinn 5 «GOTO» på programvaren).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	PC											
B	NTC											
C	NEC											
D	Sample 1											
E	Sample 2											
F	Sample 3											
G	—											
H												

**Figur 4. Eksempel på plateoppsett på CFX96 Dx**

---

# Protokoll: Prøveklargjøring og SARS-CoV-2-detektering på cobas z 480

Denne protokollen beskriver klargjøring av prøver og real-time RT-PCR for detektering av SARS-CoV-2-målene i humane nasale, nasofaryngeale, orofaryngeale prøver i transportmedium og prøver av rent spytt på cobas z 480 med LightCycler 480 SW UDF-versjon 2.0.0 (eller nyere).

Viktige punkter før du starter.

- Verifiser at utløpsdatoene og oppbevaringsvilkårene trykt på esken og alle komponentetiketter er fulgt. Ikke bruk komponenter som er gått ut på dato eller oppbevart feil.
- Bruk godt vedlikeholdt og kalibrert utstyr.
- Unngå kontaminering med RNAsere under eksperimentet, og bruk nukleasefritt plastutstyr.

Ting du skal gjøre før du starter.

- Respirasjonsprøver kan oppbevares ved romtemperatur under klargjøringstrinnene og reaksjonsoppsettet, men det anbefales å oppbevare dem på is eller ved 4 °C på et kjølestativ.
- Spyttprøver kan oppbevares på is eller ved 4 °C på et kjølestativ, men det anbefales å oppbevare dem ved romtemperatur (15–25 °C) under klargjøringstrinnene og reaksjonsoppsettet.
- Før bruk skal du la SARS-CoV-2 UM Prep Buffer, SARS-CoV-2 UM Amp Buffer, SARS-CoV-2 Amp Primers, SARS-CoV-2 IC, vann til NTC og SARS-CoV-2 Positive Control tine helt ved romtemperatur (15–25 °C). Oppbevar rørene ved romtemperatur og beskyttet mot sollys inntil de brukes.

- Homogeniser SARS-CoV-2 UM Prep Buffer og SARS-CoV-2 UM Amp Buffer før bruk ved å snu dem 2–3 ganger (de må ikke vorteksblendes), etterfulgt av en hurtig rotering. Alle de andre individuelle reagensene kan homogeniseres ved pulsvorteksblending i 3–5 sekunder eller ved å snu dem 2–3 ganger, etterfulgt av en hurtig rotering.
- SARS-CoV-2 UM Prep Buffer hemmer RNAser i de kliniske prøvene for detekteringstrinnet, men er ikke en virusinaktiverende løsning. Alle prøver skal behandles som potensielt smittefarlig materiale.
- Kontroller at real-time RT-PCR-plattformens syklusforhold samsvarer med denne protokollen.
- Reagenser kan alikvoterer for å unngå flere fryse-tine-sykluser.
- Klargjør ny reaksjonsblanding (< 2 t til real-time RT-PCR-platen starter).
- Klargjøring av prøver og real-time RT-PCR bør utføres i atskilte soner for å minimere risikoen for kontaminering.

## Prosedyre:

Prøveklargjøring: Følg trinn 1 for luftveisprøver (nasale, orofaryngeale og nasofaryngeale avstryk). Fortsett til trinn 2 for spyttprøver.

1. Luftveisprøver (nasale, orofaryngeale og nasofaryngeale avstryk):
  - 1a. Bland prøven og avstryket kraftig i en vorteksblender.
  - 1b. Alikvoter 50–200 µl prøve i 1,5 ml PCR-frie rør
  - 1c. Utfør oppvarmingstrinn ved 70°C i 10 min på en blokkvarmer.
  - 1d. Legg prøvene på is i minst 5 min. Oppbevar deretter prøvene på is eller ved 4 °C.
2. Spyttprøver:
  - 2a. Likvefaksjon (pipetteringen forenkles): Varm opp spyttprøven ved 95 °C i 15 min (uspesifisert volum, beholder eller varmer).
  - 2b. Homogeniser prøven ved å pipettere forsiktig opp og ned 8–10 ganger.
  - 2c. Alikvoter 50 µl prøve i 1,5 ml PCR-fritt rør.
  - 2d. Utfør oppvarmingstrinnet ved 95 °C i 15 min på en blokkvarmer. Oppbevar deretter prøven ved romtemperatur i minst 5 min til den plasseres i PCR-brønnen eller -røret.

3. Ved første gangs bruk ferdigstilles SARS-CoV-2 UM Amp Buffer med ROX Reference Dye.
  - 3a. Tilsett 32,8 µl ROX-fargestoff i 1 rør med SARS-CoV-2 UM Amp Buffer.
  - 3b. Lukk lokket på røret med SARS-CoV-2 UM Amp Buffer og ROX-fargestoff, og snu røret 3 ganger.
  - 3c. Roter SARS-CoV-2 UM Amp Buffer med ROX-fargestoff ned i bunnen av røret.
4. En full cobas z 480-plate (96 brønner) krever klargjøring av en alikvotblanding med SARS-CoV-2 Amp Primers med SARS-CoV-2 Internal Control.
  - 4a. Overfør nødvendig volum av SARS-CoV-2 Amp Primers og SARS-CoV-2 Internal Control ifølge tabell 11 i et nytt 1,5 ml PCR-fritt rør.
  - 4b. Lukk lokket, og snu røret 3 ganger, eller pulsverteksbland røret i 3–5 s.
  - 4c. Roter SARS-CoV-2 Amp Primers med IC for å samle løsningen i bunnen av røret.

**Tabell 11. Oppsett av SARS-CoV-2 Amp Primers + IC-blanding**

SARS-CoV-2 Amp Primers + IC-blanding				Antall reaksjoner volum (µl)
Reagenser	Stamkonsentrasjon	Sluttkonsentrasjon	1 rxn	96 rxns (+20 % ekstra volum*)
SARS-CoV-2 Amp Primers	3,45x	1x	7,25	835,2
SARS-CoV-2 Internal Control	166,67 kopier/µl	10 kopier/µl	1,5	172,8
Total SARS-CoV-2 Amp Primers + IC-blanding			8,75	1008

\* **Merk:** Juster volumene av SARS-CoV-2 Amp Primers og SARS-CoV-2 Internal Control etter antall prøver som skal testes. Vurder ekstra volum for å kompensere for dødvolumet.

5. Klargjør en reaksjonsblanding ifølge tabell 12, og bland den grundig ved å snu røret 3 ganger.

**Tabell 12. Oppsett av reaksjonsblanding**

RT-PCR-reaksjonsblanding				Antall reaksjoner volum (µl)
Reagenser	Stamkonsentrasjon	Sluttkonsentrasjon	1 rxn	96 rxns (+20 % ekstra volum*)
SARS-CoV-2 UM Amp Buffer + ROX-blanding	4x	1x	6,25	720
SARS-CoV-2 Amp Primers + IC-blanding	2,9x	1x	8,75	1008
Totalt reaksjonsvolum		–	15,00	1728

\* **Merk:** Juster volumene av SARS-CoV-2 UM Amp Buffer og SARS-CoV-2 Amp Primers etter antallet prøver som skal testes. Vurder ekstra volum for å kompensere for dødvolumet.

6. Dispenser 8 µl nukleasefritt vann i brønnen til NEC.
7. Overfør 10 µl nukleasefritt vann til brønnen til NTC.
8. Dispenser 2 µl SARS-CoV-2 UM Prep Buffer i hver brønn til NEC og de klargjorte prøvene.
9. Tilsett 8 µl av den klargjorte prøven i en brønn med SARS-CoV-2 UM Prep Buffer. Bland ved å pipettere opp og ned 5 ganger.
10. Tilsett 15 µl av reaksjonsblandingen fra trinn 5 i brønnene for prøver og kontroller (eksempel: figur 5). Bland ved å pipettere opp og ned 5 ganger.
11. Tilsett 10 µl SARS-CoV-2 Positive Control i den relevante brønnen. Bland ved å pipettere opp og ned 5 ganger.
12. Forsegl PCR-platebrønnen for å hindre krysskontaminering. Sørg for å fordele trykket på hele platen for å oppnå en hermetisk forsegling av alle brønnene.
13. Sentrifuger PCR-platen kort for å samle væsken i bunnen av brønnen.
14. **Første gangs bruk:** Klikk på **open tools** (åpne verktøy) i Light Cycler 480 SW UDF 2.0.0-programvaren, og velg **detection formats** (detekteringsformater) for å angi følgende kombinasjoner av magnetisering-emisjon: 465-510 (FAM), 540-580 (HEX) og 610-670 (ATTO647N).
15. Still inn real-time RT-PCR-programmet ifølge tabell 13 for 25 µl reaksjonsvolum.

**Merk:** Velg **detection format** (detekteringsformat) øverst på siden for å velge detekteringsformatet fra trinn 14.

**Merk:** Bruk en tilpasset stigningshastighet på 1,6 °C/s i hvert av de 5 trinnene i real-time RT-PCR-programmet.

**Merk:** Datainnsamling bør utføres under hybridiserings-/forlengelsestrinnet.

**Merk:** Se *bruksanvisning for cobas z 480* for ytterligere opplysninger.
16. Plasser platen i real-time-cycleren (figur 5 viser et eksempel på PCR-plateoppsett).
17. Start kjøringen.

18. Analyser resultatene etter endt kjøring (se avsnittet Resultater).

**Tabell 13. Programmering av SARS-CoV-2 Prep&Amp UM for cobas z 480**

Trinn	Tid	Temperatur (°C)	Stigningshastighet (°C/s)	Antall sykluser	Analysemodus
Revers transkripsjon	10 min	50	1,6	1	Ingen
Første aktivering av PCR-oppvarming	2 min	95	1,6	1	Ingen
2-trinns syklus				40	Kvantifisering
Denaturering	5 s	95	1,6		Ingen
Hybridisering/forlengelse	30 s	58	1,6		Enkelt
Avkjøling	1 min	37	1,6	1	Ingen

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	PC											
B	NTC											
C	NEC											
D	Sample 1											
E	Sample 2											
F	Sample 3											
G	...											
H												

**Figur 5. Eksempel på plateoppsett på cobas z 480**

---

# Protokoll: Prøveklargjøring og SARS-CoV-2-detektering på QuantStudio 5 Dx

Denne protokollen er beregnet på klargjøring og detektering av SARS-CoV-2-mål i humane nasale, nasofaryngeale eller orofaryngeale prøver i transportmedium og prøver av rent spytt på QuantStudio 5 Dx real-time RT-PCR-instrumentet.

Viktige punkter før du starter.

- Verifiser at utløpsdatoene og oppbevaringsvilkårene trykt på esken og alle komponentetiketter er fulgt. Ikke bruk komponenter som er gått ut på dato eller oppbevart feil.
- Bruk godt vedlikeholdt og kalibrert utstyr.
- Unngå kontaminering med RNAs-er under eksperimentet, og bruk nukleasefritt plastutstyr.
- Når QuantStudio 5 Dx brukes, må ROX-fargestoff tilsettes i røret med masterblanding før første gangs bruk.

Ting du skal gjøre før du starter

- Respirasjonsprøver kan oppbevares ved romtemperatur under klargjøringstrinnene og reaksjonsoppsettet, men det anbefales å oppbevare dem på is eller ved 4 °C på et kjølestativ.
- Spyttprøver kan oppbevares på is eller ved 4 °C på et kjølestativ, men det anbefales å oppbevare dem ved romtemperatur (15–25 °C) under klargjøringstrinnene og reaksjonsoppsettet.
- ROX-fargestoff er nødvendig ved bruk av QuantStudio 5.
- Før bruk skal du la SARS-CoV-2 UM Prep Buffer, SARS-CoV-2 UM Amp Buffer, SARS-CoV-2 Amp Primers, SARS-CoV-2 IC, vann til NTC og SARS-CoV-2 Positive Control tine helt ved (15–25 °C). Oppbevar rørene ved romtemperatur og beskyttet mot sollys inntil de brukes.

- Homogeniser SARS-CoV-2 UM Prep Buffer og SARS-CoV-2 UM Amp Buffer før bruk ved å snu dem 2–3 ganger (de må ikke vorteksblendes), etterfulgt av en hurtig rotering. Alle de andre individuelle reagensene kan homogeniseres ved pulsvorteksblending i 3–5 sekunder eller ved å snu dem 2–3 ganger, etterfulgt av en hurtig rotering.
- SARS-CoV-2 UM Prep Buffer hemmer RNAser i de kliniske prøvene for detekteringstrinnet, men er ikke en virusinaktiverende løsning. Alle prøver skal behandles som potensielt smittefarlig materiale.
- Kontroller at real-time RT-PCR-plattformens syklusforhold samsvarer med denne protokollen.
- Reagenser kan alikvoterer for å unngå flere fryse-tine-sykluser.
- Klargjør ny reaksjonsblanding (< 2 t til real-time RT-PCR-platen starter).
- Klargjøring av prøver og real-time RT-PCR bør utføres i atskilte soner for å minimere risikoen for kontaminering.

## Prosedyre

**Prøveklargjøring:** Følg trinn 1 for luftveisprøver (nasale, orofaryngeale og nasofaryngeale avstryk). Fortsett til trinn 2 for spyttprøver.

1. Luftveisprøver (nasale, orofaryngeale og nasofaryngeale avstryk):
  - 1a. Bland prøven og avstryket kraftig i en vorteksblender.
  - 1b. Alikvoter 50–200 µl prøve i 1,5 ml PCR-frie rør
  - 1c. Utfør oppvarmingstrinn ved 70°C i 10 min på en blokkvarmer.
  - 1d. Legg prøvene på is i minst 5 min. Oppbevar deretter prøvene på is eller ved 4 °C.
2. Spyttprøver:
  - 2a. Likvefaksjon (pipetteringen forenkles): Varm opp spyttprøven ved 95 °C i 15 min (uspesifisert volum, beholder eller varmer).
  - 2b. Homogeniser prøven ved å pipettere forsiktig opp og ned 8–10 ganger.
  - 2c. Alikvoter 50 µl prøve i 1,5 ml PCR-fritt rør.
  - 2d. Utfør oppvarmingstrinnet ved 95 °C i 15 min på en blokkvarmer. Oppbevar deretter prøven ved romtemperatur i minst 5 min til den plasseres i PCR-brønner eller -røret.



3. Ved første gangs bruk ferdigstilles SARS-CoV-2 UM Amp Buffer med ROX Reference Dye.
  - 3a. Tilsett 32,8 µl ROX-fargestoff i et rør med SARS-CoV-2 UM Amp Buffer.
  - 3b. Lukk lokket på røret med SARS-CoV-2 UM Amp Buffer og ROX-fargestoff, og snu røret 3 ganger.
  - 3c. Roter SARS-CoV-2 UM Amp Buffer med ROX-fargestoff ned i bunnen av røret.
4. En full QuantStudio 5 Dx-plate (96 brønner) krever klargjøring av en alikvotblanding med SARS-CoV-2 Amp Primers med SARS-CoV-2 Internal Control.
  - 4a. Overfør nødvendig volum av SARS-CoV-2 Amp Primers og SARS-CoV-2 Internal Control ifølge tabell 14 i et nytt 1,5 ml PCR-fritt rør.
  - 4b. Lukk lokket, og snu røret 3 ganger, eller pulsverteksbland røret i 3–5 s.
  - 4c. Roter SARS-CoV-2 Amp Primers med IC for å samle løsningen i bunnen av røret.

**Tabell 14. Oppsett av SARS-CoV-2 Amp Primers + IC-blanding**

SARS-CoV-2 Amp Primers + IC-blanding				Antall reaksjoner volum (µl)
Reagenser	Stamkonsentrasjon	Sluttkonsentrasjon	1 rxn	96 rxns (+20 % ekstra volum*)
SARS-CoV-2 Amp Primers	3,45x	1x	7,25	835,2
SARS-CoV-2 Internal Control	166,67 kopier/µl	10 kopier/µl	1,5	172,8
Total SARS-CoV-2 Amp Primers + IC-blanding			8,75	1008

\* **Merk:** Juster volumene av SARS-CoV-2 Amp Primers og SARS-CoV-2 Internal Control etter antall prøver som skal testes. Vurder ekstra volum for å kompensere for dødvolumet.

5. Klargjør en reaksjonsblanding ifølge tabell 15, og bland den grundig ved å snu røret 3 ganger.

**Tabell 15. Oppsett av reaksjonsblanding**

RT-PCR-reaksjonsblanding				Antall reaksjoner volum (µl)
Reagenser	Stamkonsentrasjon	Sluttkonsentrasjon	1 rxn	96 rxns (+20 % ekstra volum*)
SARS-CoV-2 UM Amp Buffer + ROX-blanding	4x	1x	6,25	720
SARS-CoV-2 Amp Primers + IC-blanding	2,9x	1x	8,75	1008
Totalt reaksjonsvolum		–	15,00	1728

\* **Merk:** Juster volumene av SARS-CoV-2 UM Amp Buffer og SARS-CoV-2 Amp Primers etter antallet prøver som skal testes. Vurder ekstra volum for å kompensere for dødvolumet.

6. Dispenser 8 µl nukleasefritt vann i brønnen til NEC.
7. Overfør 10 µl nukleasefritt vann til brønnen til NTC.
8. Dispenser 2 µl SARS-CoV-2 UM Prep Buffer i hver brønn til NEC og de klargjorte prøvene.
9. Tilsett 8 µl av den klargjorte prøven i en brønn med SARS-CoV-2 UM Prep Buffer. Bland ved å pipettere opp og ned 5 ganger.
10. Tilsett 15 µl av reaksjonsblandingen fra trinn 5 til brønnene for prøver og kontroller (eksempel: figur 6). Bland ved å pipettere opp og ned 5 ganger.
11. Tilsett 10 µl SARS-CoV-2 Positive Control i den relevante brønnen. Bland ved å pipettere opp og ned 5 ganger.
12. Forsegl PCR-platebrønnen for å hindre krysskontaminering. Sørg for å fordele trykket på hele platen for å oppnå en hermetisk forsegling av alle brønnene.
13. Sentrifuger PCR-platen kort for å samle væsken i bunnen av brønnen.
14. **Første gangs bruk:** Templatet må genereres i QuantStudio 5 Dx TD-programvareversjon 1.0.1 eller nyere og publiseres før kjøringen startes i QuantStudio 5 Dx IVD-programvaren. Sett opp templatet i samsvar med dette:
  - Merk:** På fanen **Properties** (Egenskaper) konfigurerer du **Experiment type** (Eksperimenttype) til **Standard Curve** (Standardkurve) og **Run mode** (Kjøringsmodus) til **Standard** (Standard).
  - Merk:** På fanen **Method** (Metode) setter du opp real-time RT-PCR-programmet for 25 µl reaksjonsvolum (tabell 16).
  - Merk:** Datainnnsamling bør utføres under hybridiserings-/forlengelsestrinnet.
  - Merk:** På fanen **Plate** (Plate) velger du **ROX** som **Passive Reference** (Passiv referanse) og setter opp FAM, VIC og Cy5 som mål uten slukker (velg **None** (Ingen)).
  - Merk:** Se *bruksanvisning for QuantStudio 5 Dx* for ytterligere opplysninger.
15. Last inn templatet fra trinn 14 i QuantStudio 5 Dx IVD-programvaren. Velg de brukte brønnene, og påfør målene FAM, VIC og Cy5.
16. Plasser platen i sanntidscyklere (et eksempel på et PCR-plateoppsett representeres på figur 6).

17. Start kjøringen.

18. Analyser resultatene etter endt kjøring (se avsnittet Resultater).

Tabell 16. Programmering av SARS-CoV-2 Prep&Amp UM for QuantStudio 5 Dx

Fase	Trinn	Tid	Temperatur (°C)	Antall sykluser	Innsamling
Pause	1. Revers transkripsjon	10 min	50	1	Nei
	2. Første aktivering av PCR-oppvarming	2 min	95	1	Nei
PCR	2-trinns syklus			40	
	Denaturering	5 s	95	1	Nei
	hybridisering/forlengelse	30 s	58	1	FAM, VIC og Cy5

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	PC											
B	NTC											
C	NSC											
D	Sampla 1											
E	Sampla 2											
F	Sampla 3											
G	—											
H												

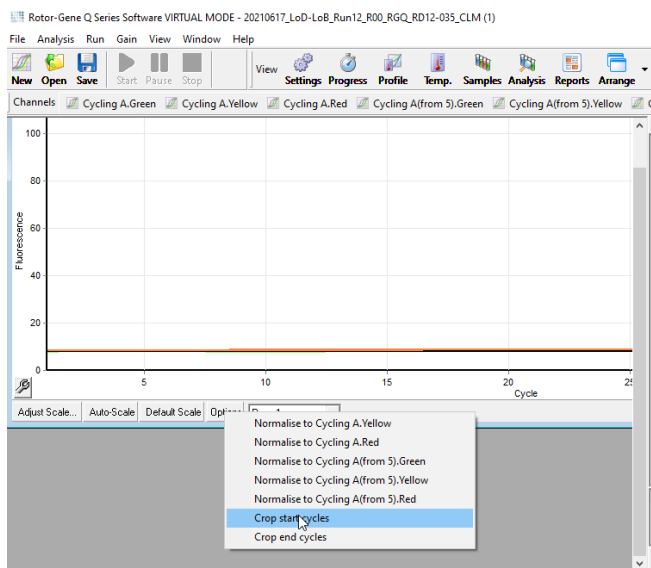
Figur 6. Eksempel på plateoppsett på QuantStudio 5 Dx

# Resultater

## Analyse på RGQ MDx 5plex HRM

På RGQ MDx 5plex HRM analyseres dataene med Rotor-Gene Q-programvareversjon 2.3.1 (eller nyere) i henhold til produsentens instruksjoner (brugerhåndbok for Rotor-Gene Q MDx, revisjon 7, september 2018).

Til dataanalyse må «crop cycle» (avkort syklus) brukes (figur 7): Åpne den rå kanalen **Cycling A.Green**. Gå til Option (Alternativer) > **Crop Start Cycles** (Avmkort startsykluser) og angi **5** i dialogboksen. En ny kanal genereres med navnet Cycling A(from 5).Green. Det samme må gjøres for de rå kanalene Red og Yellow for å generere kanalene **Cycling A(from 5).Red** og **Cycling A(from 5).Yellow**.



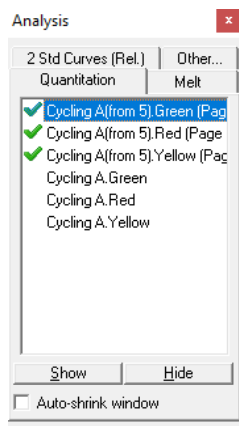
Figur 7. Skjerm bilde for innstilling av «crop cycles» (avkort sykluser) for analyse av RGQ MDx 5plex HRM-kjøringer

Åpne analysemenyen (figur 8), og bruk følgende analyseparametere for hver genererte kanal Cycling A(from 5) for å opprettholde konsistens mellom ulike analyser (tabell 17).

**Tabell 17. Analyseparametere for RGQ MDx 5plex HRM**

Kanaler	Green	Red	Yellow
Fluorescenssterkel	0,03	0,03	0,03
Korrigerings av helling	Ja	Ja	Ja
Dynamisk rør	Ja	Ja	Ja
Startpunkt	Nei	10–20	10–20
Fjerning av avvikende observasjoner: Reaksjonseffektivitetsterkel	Ja Aktivert 0 %	Nei	Nei
Avkortede startsykluser	5	5	5
Cutoff-sykluser	Ct > 38,00 anses som 40,00	Nei	Ct > 35,00 anses som 40,00

I RGQ-programvaren er det mulig å se kjøringresultater i tabellen over kvantifiseringsresultater som åpnes under analysen. Dataene kan eksporteres som en .csv-fil med kommadelte verdier: Velg **File** (Fil) > **Save as** (Lagre som) > **Excel analysis sheet** (Excel-analyseark) i RGQ-programvarevinduet. Påse at alle prøver er valgt før du eksporterer resultatene (figur 8).



**Figur 8. Skjerm bilde for utvalgte kanaler for å bruke analyseparametere og eksportere resultater (analyse av RGQ MDx 5plex HRM-kjøring).**

## Analyse på ABI 7500 Fast Dx

På ABI 7500 Fast Dx analyseres dataene med 7500 Fast System-programvareversjon 1.4.1 (eller nyere) i henhold til produsentens bruksanvisning. Velg en brønnggruppe eller hele platen i analysen på fanen **setup** (oppsett). Høyreklikk for å åpne brønninspeksjonsvindue. De 3 fluoroforene (FAM, VIC og Cy5) må velges, og **ROX** må velges som **Passive reference** (Passiv referanse). Følgende parametere er nødvendige for å sikre konsekvens mellom de forskjellige analysene (tabell 18).

Tabell 18. Analyseparametere for ABI 7500 Fast Dx

Kanaler	FAM	Cy5	VIC
Passivt fargestoff	ROX	ROX	ROX
Fluorescenssterskel	0,13	0,025	0,05
Baselinesett	Automatisk	Automatisk	Automatisk
Cutoff-sykluser	Ct > 39,00 anses som 40,00	Nei	Ct > 35,00 anses som 40,00

I ABI SDS-programvaren er det mulig å Ct-verdiene for en valgt brønnggruppe eller hele platen i arket **data** (data) på hovedsiden **Results** (Resultater). Dataene kan eksporteres som en .csv-fil med kommadelte verdier: Velg **File** (Fil) > **Export** (Eksporter) > **Results** (Resultater) (alternativt menyelementet **Ct**) i SDS-programvarevinduet. Velg formatet på den eksporterte filen som .csv.

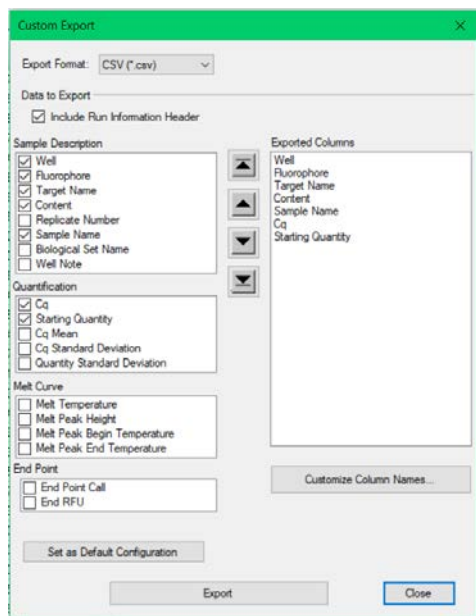
## Analyse på CFX96 Dx

På CFX96 Dx analyseres dataene med CFX Manager Dx-programvareversjon 3.1.3090.1022 (eller nyere) i henhold til produsentens instruksjoner. FAM, HEX og Cy5 må velges for alle brønnene som brukes i eksperimentet. Følgende parametere er nødvendige for å sikre konsekvens mellom de forskjellige analysene (tabell 19).

**Tabell 19. Analyseparametere for CFX96 Dx**

Kanaler	FAM	HEX	Cy5
Cq-bestemmelsesmodus:	Ja	Ja	Ja
Enkeltterskel			
Baselineinnstilling:			
• fratrukket kurvetilpasning	Ja	Ja	Ja
• Bruk fluorescensdriftkorrigering	Ja	Ja	Ja
Terskel (RFU)	250	300	100
Cutoff-sykluser	Ct > 39,00 anses som 40,00	Ct > 35,00 anses som 40,00	Nei

I CFX manager Dx-programvaren er det mulig å se Ct-verdiene (kalt **Cq** i programvaren) for en valgt brønnggruppe eller hele platen i dataarket i avsnittet **Quantification Data** (Kvantifiseringsdata). Dataene kan eksporteres som en **.csv**-fil med kommadelte verdier. Velg **Export** (Eksporter) > **Custom Export** (Tilpasset eksport), og still inn parameterne ifølge figur 9.



**Figur 9. Rådatafilparametere for CFX96 Dx**

## Analyse på cobas z 480

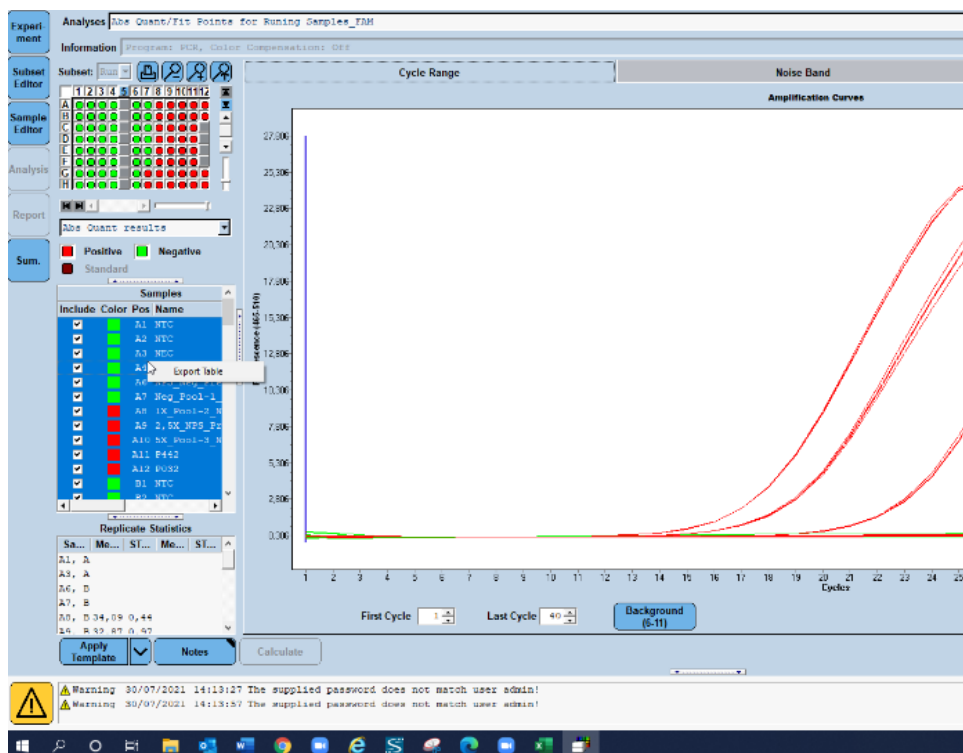
På cobas z 480 analyseres dataene med LightCycler 480 SW UDF-versjon 2.0.0 (eller nyere) i henhold til produsentens instruksjoner. Opprett et prøvedelsett bare med brønnene som er brukt i eksperimentet. Opprett en analyseside **Abs Quant/Fit Points** (Kvantifiserings-/tilpasningspunkter for antistoffer) for hver kanal, og bruk følgende parametere for å sikre konsekvens mellom de forskjellige eksperimentene (tabell 20).

Tabell 20. Analyseparametere for cobas z 480

Kanaler	FAM (465–510)	HEX (540–580)	ATTO647N (610-670)
Fanen Cycle range (Syklusområde)	1-40	1-40	6-40
• Første – siste syklus			
• Bakgrunn	5/10	5/10	6/11
Fanen Noise band (Støyband)	STD-multiplikator	STD-multiplikator	STD-multiplikator
• Metode			
• STD-multiplikatorverdi	50	40	25
Fanen Analysis (Analyse)	2	2	2
• Tilpasningspunkter			
• Terskelmetode	Automatisk	Automatisk	Automatisk
<b>Cutoff-syklus</b>	Ct > 39,00 anses som 40,00	Ct > 35,00 anses som 40,00	Nei

I LightCycler 480 SW UDF-versjon 2.0.0 (eller nyere) er det mulig å se Ct-verdiene (kalt **Cp** i programvaren) for en valgt brønngruppe eller hele platen i avsnittet **analysis** (analyse) (figur 10). Dataene kan eksporteres som en **.txt**-fil per kanal. Høyreklikk på resultattabellen, og velg **Export table** (Eksporter tabell).





Figur 10. Skjermbilde for eksporterte data i LightCycler 480 SW UDF-versjon 2.0.0 (eller nyere).

## Analyse på QuantStudio 5 Dx

På QuantStudio 5 Dx analyseres dataene med QuantStudio 5 Dx IVD-programvareversjon 1.0.1 (eller nyere) i henhold til produsentens instruksjoner. I vinduet **Assign Targets and Samples** (Tilordne mål og prøver) må de 3 fluoroforene (FAM, VIC og Cy5) velges for alle brønnene som ble brukt i eksperimentet, og **ROX** må velges som **Passive reference** (Passiv referanse). Følgende parametere er nødvendige for å sikre konsekvens mellom de forskjellige analysene (tabell 21).

Tabell 21. Analyseparametere for QuantStudio 5 Dx

Kanaler	FAM	VIC	Cy5
Passivt fargestoff	ROX	ROX	ROX
Fluorescenssterskel	0,21	0,062	0,04
Baselinesett	Automatisk	Automatisk	Automatisk
Cutoff-sykluser	Ct > 39,00 anses som 40,00	Ct > 35,00 anses som 40,00	Nei

Dataene kan eksporteres som **.xls-**, **.xlsx-** eller **.txt-**fil. På fanen **Export** (Eksporter) i QuantStudio 5 Dx IVD-programvarevinduet velger du alle alternativene i avsnittet **content** (innhold) og velger alternativet **unify the above content into one file** (samle ovenstående innhold i én fil).

# Tolkning av resultater

Positiv kontroll (Positive Control, PC)-, N1- og N2-genene detekteres i fluorescenskanalen Green med RGQ MDx 5plex HRM eller i fluorescenskanalen FAM på ABI 7500 Fast Dx, CFX96 Dx, cobas z 480 og QuantStudio 5 Dx.

Prøvetakingskontrollen, som består av RNase P, detekteres i fluorescenskanalen Yellow med RGQ MDx 5plex HRM eller i fluorescenskanalen VIC/HEX med ABI 7500 Fast Dx, CFX96 Dx, cobas z 480 og QuantStudio 5 Dx. Hver klinisk prøve bør vise en prøvetakingskontrollamplifikasjon. For PC ses en gul amplifikasjon tross fravær av humane sekvenser. I dette tilfellet kan et signal i PC-kanalen Yellow ignoreres fordi det sterke fluorescenssignalet i kanalen Green kan interferere med kanalen Yellow. Den interne kontrollen (Internal Control, IC) inngår i SARS-CoV-2 Amp Primers. Den detekteres i ikke-templatkontrollen (No Template Control, NTC), ikke-ekstraksjonskontrollen (No Extraction Control, NEC), den positive kontrollen (Positive Control, PC) og de kliniske prøvene med fluorescenskanalen Red med RGQ MDx 5plex HRM eller i fluorescenskanalen Cy5/ATTO647N med ABI 7500 Fast Dx, CFX96 Dx, cobas z 480 og QuantStudio 5 Dx. En gyldig real-time RT-PCR-kjøring forutsetter at PC-, NTC- og NEC-kontrollene yter ifølge tabell 22, tabell 23.

Tabell 22. Kjøringsgyldighetskriterier og tolkning av resultater for RGQ MDx 5plex HRM

Kontroll	Detektering i kanalen Green	Detektering i kanalen Yellow	Detektering i kanalen Red	Tolkning
Positiv kontroll (Positive Control, PC)	Ct ≤ 38,00	Likegyldig	Likegyldig	PC er gyldig.
	Ct > 38,00 eller ingen Ct	Likegyldig	Likegyldig	PC er ugyldig.
Ikke-templatkontroll (No Template Control, NTC) eller Ikke-ekstraksjonskontroll (No Extraction Control, NEC)	Ct > 38,00 eller ingen Ct	Ct > 35,00 eller ingen Ct	Ja	NTC/NEC er gyldig.
	Andre kombinasjoner med amplifikasjon i Green eller Yellow		Likegyldig	NTC/NEC er ugyldig.

**Tabell 23. Kjøringsgyldighetskriterier og tolkning av resultater for ABI 7500 Fast Dx, CFX96 Dx, cobas z 480 og QuantStudio 5 Dx real-time RT-PCR-instrumenter**

Kontroll	Detektering i FAM-fargestoff*	Detektering i VIC/HEX-fargestoff*	Detektering i Cy5/ATTO647N-fargestoff*	Tolkning
<b>Positiv kontroll (Positive Control, PC)</b>	Ct ≤ 39,00	Likegyldig	Likegyldig	PC er gyldig.
	Ct > 39,00 eller ingen Ct	Likegyldig	Likegyldig	PC er ugyldig.
<b>Ikke-templatkontroll (No Template Control, NTC) eller</b>	Ct > 39,00 eller ingen Ct	Ct > 35,00 eller ingen Ct	Ja	NTC/NEC er gyldig.
<b>Ikke-ekstraksjonskontroll (No Extraction Control, NEC)</b>	Andre kombinasjoner med amplifikasjon i FAM eller VIC/HEX		Likegyldig	NTC/NEC er ugyldig.

Hvis du vil validere de testede prøvene, må prøvene amplifiseres og detekteres som forventet.

**Tabell 24. Prøvegyldighetskriterier og tolkning av resultater for RGQ MDx 5plex HRM**

Detektering i kanalen Green	Detektering i kanalen Yellow	Detektering i kanalen Red	Tolkning
Ct ≤ 38,00	Likegyldig	Likegyldig	Prøven er positiv for SARS-CoV-2 RNA.
Ct > 38,00 eller ingen Ct	Ct ≤ 35,00	Likegyldig	Prøven er negativ, SARS-CoV-2 RNA er ikke detektert.
Ct > 38,00 eller ingen Ct	Ct > 35,00 eller ingen Ct	Ja	Ugyldig prøve. Ikke noe eller utilstrekkelig humant materiale oppdaget. Ny prøvetaking er nødvendig.
Ct > 38,00 eller ingen Ct	Ct > 35,00 eller ingen Ct	Nei	Ugyldig prøve. Real-time RT-PCR-reaksjon er hemmet. En ny test er nødvendig.

**Tabell 25. Prøvegyldighetskriterier og tolkning av resultater for ABI 7500 Fast Dx, CFX96 Dx, cobas z 480 og QuantStudio 5 Dx real-time RT-PCR-instrumenter.**

Detektering i FAM-fargestoff*	Detektering i VIC/HEX-fargestoff*	Detektering i Cy5/ATTO647N-fargestoff*	Tolkning
Ct ≤ 39,00	Likegyldig	Likegyldig	Prøven er positiv.
Ct > 39,00 eller ingen Ct	Ct ≤ 35,00	Likegyldig	Prøve er negativ, SARS-CoV-2 er ikke detektert.
Ct > 39,00 eller ingen Ct	Ct > 35,00 eller ingen Ct	Ja	Ugyldig prøve. Humant materiale ikke detektert. Ny prøvetaking er nødvendig.
Ct > 39,00 eller ingen Ct	Ct > 35,00 eller ingen Ct	Nei	Ugyldig prøve. Real-time RT-PCR-reaksjon er hemmet. En ny test er nødvendig.

---

# Begrensninger

- Kun til *in vitro*-diagnostikk.
- Resultater fra *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit skal ikke brukes som eneste grunnlag for diagnose, behandling eller andre beslutninger i forbindelse med pasientbehandling. Negative resultater utelukker ikke infeksjon med SARS-CoV-2 og bør ikke være eneste beslutningsgrunnlag i forbindelse med pasientbehandling.
- Produktet skal kun brukes av personale som er spesielt instruert og opplært i *in vitro*-diagnostiske prosedyrer.
- Brukerhåndboken for real-time RT-PCR-plattformen (Rotor-Gene Q 5-plex HRM MDx, ABI 7500 Fast Dx, CFX96 Dx, cobas z 480 eller QuantStudio 5 Dx) må følges til punkt og prikke for å oppnå optimale PCR-resultater.
- Vær spesielt oppmerksom på utløpsdatoene som er angitt på komponentenes esker og etiketter. Bruk ikke komponenter som er gått ut på dato.
- Ytelsen til denne testen er ikke fastslått for spyttprøver fra pasienter uten tegn og symptomer på luftveisinfeksjon.
- For å unngå risiko for å få et falskt-negativt resultat hvis lav positiv klinisk prøve testes når det observeres blodspor i røret, bør dette registreres, og hvis prøven gir et negativt resultat ved bruk av *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit, bør prøven tas på nytt fra pasienten og testes igjen med *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit.

# Ytelse

## Analytisk sensitivitet (deteksjonsgrense)

Den analytiske sensitiviteten eller deteksjonsgrensen er definert som den laveste konsentrasjonen der  $\geq 95$  % av testede prøver gir et positivt resultat. Deteksjonsgrensen ble vurdert ved å analysere seriefortynninger av negative nasofaryngeale prøver og flytende prøver av rent spytt som ble klargjort med lagre av inaktiverte viruspartikler med høy titer fra kommersielle leverandører (ZeptoMetrix®). To prøvegrupper ble brukt til hver prøve for eksperimentene med deteksjonsgrensen. For å bekrefte den fastslåtte deteksjonsgrensekonsentrasjonen må deteksjonsraten for alle replikater være  $\geq 95$  % (minst 19/20 replikater må generere et positivt signal).

Deteksjonsgrensekonsentrasjonen ble kontrollert på nasofaryngeale prøver og prøver av rent spytt på real-time RT-PCR-plattformene (RGQ MDx, ABI 7500 Fast Dx, CFX96 Dx, QuantStudio 5 Dx og cobas z 480).

### Nasale, orofaryngeale og nasofaryngeale prøver

Den spesifiserte deteksjonsgrensen for RGQ MDx, ABI 7500 Fast Dx, CFX96 Dx og QuantStudio 5 Dx er 950 cp/ml og 475 cp/ml for cobas z 480 (se tabell 26)

### Prøver av rent spytt

Den spesifiserte deteksjonsgrensene for RGQ MDx er 950 cp/ml og 1200 cp/ml for ABI 7500 Fast Dx, cobas z 480, QuantStudio 5 Dx og CFX96 Dx (se tabell 26).

Tabell 26. Oppsummering av deteksjonsgrenseresultater for hver real-time RT-PCR-plattform

Plattform	Prøvetype	Deteksjonsgrense kontrollert (cp/ml)
RGQ MDx	NPS	950
	Rent spytt	950
ABI 7500 Fast Dx	NPS	950
	Rent spytt	1200
QuantStudio5 Dx	NPS	950
	Rent spytt	1200
cobas z 480	NPS	475
	Rent spytt	1200
CFX96 Dx	NPS	950
	Rent spytt	1200

## Studier av analytisk spesifisitet (inkludativitet og eksklusivitet / kryssreaktivitet)

### Inklusivitet

Inklusiviteten til *artus* SARS-CoV-2 Amp-primere og -prober er blitt vurdert med en *in silico*-analyse av sekvenser fra GISAID-databasen ([www.gisaid.org](http://www.gisaid.org)). Totalt 722 488 sekvenser (tilgjengelige 23.03.2021) ble analysert på COVID CG (<https://covidcg.org>), alimentert ved hjelp av GISAID-metadata. Sekvensene ble tilpasset WIV04-referansesekvens (100 % identisk med Wuhan-Hu-1/NC\_045512.2, bortsett fra lengden på poly-A-halen), og enkeltnukleotidvariasjonene (Single Nucleotide Variations, SNV-ene) ble analysert i det genomiske området som *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit-primere og -prober var rettet mot. Prevalensen av de identifiserte SNV-ene ble under 1 %, og det samme gjorde frekvensen av mutasjonene -som forekom samtidig. Det var ingen SNV på de siste 1 til 3 nukleotidene fra 3'-enden i de aktuelle oligonukleotidene, noe som ville være forventet hvis ytelsen skulle være påvirket. *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit anses å kunne detektere 100 % av de publiserte sekvensene.

## Eksklusivitet/kryssreaktivitet

### In silico-analyse

Eksklusiviteten til *artus* SARS-CoV-2 Amp-primere og -prober er blitt vurdert med en *in silico*-analyse av sekvenser lagret i NCBI-databanken. *In silico*-analysen viste at noen av de testede patogenene hadde mer enn 80 % homologi med én av *artus* SARS-CoV-2-primere eller -probene. Blant disse er *Candida albicans*, SARS-CoV-1, *Streptococcus pyogenes* og *Streptococcus salivarius*. *Pseudomonas aeruginosa* hadde mindre enn 80 % homologi med én av primerne/probene i SARS-CoV-2-analysen. *artus* SARS-CoV-2 Amp-primere og -probene viste imidlertid ingen mulig amplifikasjon med forskjellige sekvenser lagret i NCBI nr/-databasen.

I alt 36 bakterie-, virus- og soppstammer (tabell 27) er analysert ved *in silico*-PCR med en begrenset potensiell amplikonstørrelse på 500 bp. Det ble samlet inn patogensekvenser fra NCBI-databasen, men ingen av disse patogenene viste amplifikasjon *in silico*. Tabell 27 viser listen over patogener som ble testet *in silico*.

**Tabell 27. Liste over *in silico*-testede patogener.**

Patogener	Stamme/type	Taksonomi-ID	<i>In silico</i> PCR-resultater
Adenovirus type 3	Type 3	45659	Ingen treff
Adenovirus type 4	Type 4	28280	Ingen treff
Adenovirus type 5	Type 5	28285	Ingen treff
Adenovirus type 7A	Type 7A	85755	Ingen treff
Adenovirus type 14	Type 14	10521	Ingen treff
Adenovirus type 31	Type 31	10529	Ingen treff
<i>Bordetella pertussis</i>	A639	520	Ingen treff
<i>Candida albicans</i>	Z006 SC5314	5476	Ingen mulig amplifikasjon*†
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	CWL-029 TW-183	115713	Ingen treff
Enterovirus	Type 68	42789	Ingen treff

\* Sekvenstreff med én av primerne/probene viste < 80 % homologi.

† Sekvenstreff med en av primerne/probene viste ≥ 80 % homologi.

(Forts. på neste side)



Tabell 27. (forts. fra forrige side)

Patogener	Stamme/type	Taksonomi-ID	<i>In silico</i> PCR-resultater
<i>Haemophilus influenzae</i>	KW20	727	Ingen treff
Humant koronavirus	229E	11137	Ingen treff
Humant koronavirus	NL63	277944	Ingen treff
Humant koronavirus	HKU-1	290028	Ingen treff
Humant koronavirus OC43	OC43	31631	Ingen treff
Humant koronavirus	MERS-CoV	1335626	Ingen treff
Humant metapneumovirus	Ikke relevant	162145	Ingen treff
Influenza A	H1N1	114727	Ingen treff
Influenza A	H3N2	119210	Ingen treff
Influenza B	Ikke relevant	11520	Ingen treff
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	M129 FH	272634	Ingen treff
Parainfluenzavirus	Type 1	12730	Ingen treff
Parainfluenzavirus	Type 2	2560525	Ingen treff
Parainfluenzavirus	Type 3	11216	Ingen treff
Parainfluenzavirus	Type 4	2560526	Ingen treff
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	RU7	42068	Ingen treff
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PAO1	287	Ingen mulig amplifikasjon*
Respiratorisk syncytialvirus	Type A (RSV-A)	208893	Ingen treff
Respiratorisk syncytialvirus	Type B (RSV-B)	208895	Ingen treff
Rhinovirus	Type A	147711	Ingen treff
Rhinovirus	Type B	147712	Ingen treff
SARS-koronavirus	Tor2	694009	Ingen mulig amplifikasjon†
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Ikke relevant	1282	Ingen treff
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Ikke relevant	1314	Ingen mulig amplifikasjon†
<i>Streptococcus salivarius</i>	ATCC® BAA-1024D-5 CCHSS3	1304	Ingen mulig amplifikasjon†
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC 700669 NCTC11032	1313	Ingen treff

\* Sekvenstreff med én av primerne/probene viste < 80 % homologi.

† Sekvenstreff med en av primerne/probene viste ≥ 80 % homologi.

### In vitro-analyse

Kryssreaktiviteten ble verifisert *in vitro* med patogener med  $\geq 80$  % homologi med SARS-CoV-2 Amp Primers i *in silico*-analysen. Prøvene ble klargjort ved å tilsette potensielt kryssreaktive organismer i den nasofaryngeale avstrykmatrisen ved  $10^6$  cp/ml, bortsett fra SARS-CoV-1 som ble testet uforynnet i henhold til leverandørens anbefaling. Ingen av disse patogenene viste *in vitro*-kryssreaktivitet.

Den mikrobielle interferensen til *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit-analysen er vurdert *in vitro* på et panel med anbefalte patogener (tabell 28). Prøvene ble klargjort ved å tilsette maksimalt 5 patogener ved 105 TCID50/ml for virale mål,  $10^6$  cp/ml for bakterie- og soppmål eller med høyeste mulige konsentrasjon basert på stamkonsentrasjonen i negative nasofaryngeale avstryk ved  $2,87 \times \text{LoD}$  med inaktiverede SARS-CoV-2-partikler (Zeptomatrix). NATrol™-panelene og SARS-CoV-1 ble tilsatt inaktiverede SARS-CoV-2 viruspartikler direkte (Zeptomatrix) ved  $2,87 \times \text{LoD}$ . Resultatene for hver testet mikroorganismegruppe og de aktuelle konsentrasjonene er oppsummert nedenfor.

Tabell 28 viser listen over testede patogener i mikrobiell interferens.

Tabell 28. Liste over *in vitro* testede patogener i mikrobiell interferens.

Gruppe-ID/ Prøve-ID	Mikroorganisme	Kilde	Sluttkonsentrasjon	Enhet	Resultat
Gruppe 1	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,72E+03	kopier/ml	Ingen interferens
	Humant koronavirus 229E	Zeptomatrix (0810229CFHI)	1,43E+05	TCID50/ml	
	Humant koronavirus OC43	Zeptomatrix (0810024CFHI)	5,86E+04	TCID50/ml	
	Humant koronavirus NL63	Zeptomatrix (0810228CFHI)	2,84E+04	TCID50/ml	
	Adenovirus T3	Zeptomatrix (0810016CFHI)	1,43E+05	TCID50/ml	
	Parainfluenzavirus 1	Zeptomatrix (0810014CFHI)	9,14E+06	TCID50/ml	
Gruppe 2	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,72E+03	kopier/ml	Ingen interferens
	Adenovirus T31	Zeptomatrix (0810073CFHI)	1,67E+04	TCID50/ml	
	Parainfluenzavirus 2	Zeptomatrix (0810015CFHI)	4,29E+04	TCID50/ml	
	Influenza B Florida/02/2006	Zeptomatrix (0810037CFHI)	1,43E+05	TCID50/ml	
	Rhinovirus T 1A	Zeptomatrix (0810012CFNHI)	2,86E+04	TCID50/ml	

(Forts. på neste side)

Tabell 28 (Forts. fra forrige side)

Gruppe-ID/ prøve-ID	Mikroorganisme	Kilde	Sluttkonsentrasjon	Enhet	Resultat
Gruppe 3	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,72E+03	kopier/ml	Ingen interferens
	Parainfluenzavirus T3	Zeptomatrix (0810016CFHI)	1,43E+07	TCID50/ml	
	<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC (51907D-5)	1,00E+06	CFU/ml	
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC (700669DQ)	3,30E+06	CFU/ml	
	<i>Candida albicans</i>	Zeptomatrix (0801504DNA)	1,00E+06	CFU/ml	
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC (12228DQ)	4,60E+06	CFU/ml	
Gruppe 4	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,73E+03	kopier/ml	Ingen interferens
	Adenovirus T7A	Zeptomatrix (0810021CFHI)	1,02E+06	TCID50/ml	
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC (700294DQ)	1,00E+07	CFU/ml	
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Zeptomatrix (0801579DNA)	1,00E+08	CFU/ml	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC (47085DQ)	1,00E+07	CFU/ml	
Gruppe 5	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,72E+03	kopier/ml	Ingen interferens
	Respiratorisk syncytialvirus RSVA	Zeptomatrix (0810482CFHI)	7,14E+04	TCID50/ml	
	Influenza A H1N1 California	Zeptomatrix (0810165CFHI)	1,43E+04	TCID50/ml	
	Enterovirus Type 68, hovedgruppe	Zeptomatrix (0810300CFHI)	1,43E+05	TCID50/ml	
	Adenovirus T14	Zeptomatrix (0810108CFHI)	2,86E+04	TCID50/ml	
Gruppe 6	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,73E+03	kopier/ml	Ingen interferens
	MERS-koronavirus	Zeptomatrix (0810575CFHI)	1,43E+04	TCID50/ml	
	Adenovirus T4	Zeptomatrix (0810070CFHI)	1,43E+05	TCID50/ml	
	Humant metapneumovirus (hMPV) type B	Zeptomatrix (0810156CFHI)	7,14E+03	TCID50/ml	
	Respiratorisk syncytialvirus type B (RSV-B)	Zeptomatrix (0810040CFHI)	1,43E+03	TCID50/ml	

(Forts. på neste side)

Tabell 28 (Forts. fra forrige side)

Gruppe-ID/ prøve-ID	Mikroorganisme	Kilde	Sluttkonsentrasjon	Enhet	Resultat
Gruppe 7	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,73E+03	kopier/ml	Ingen interferens
	Adenovirus T5	Zeptomatrix (0810020CFHI)	6,43E+05	TCID50/ml	
	Parainfluenzavirus 4B	Zeptomatrix (0810060BCFHI)	7,14E+04	TCID50/ml	
	Influenza A H3N2 Sveits/9715293/13	Zeptomatrix (0810511CFHI)	2,86E+04	TCID50/ml	
	<i>Streptococcus salivarius</i>	Zeptomatrix (BAA-1024D-5)	1,00E+06	CFU/ml	
Gruppe 8	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,73E+03	kopier/ml	Ingen interferens
	NATrol Panel RP1 (influenza A H3N2 (Brisbane/10/07), influenza A H1N1 (NY/02/2009), rhinovirus (type 1A), adenovirus T3, parainfluenza T1, parainfluenzavirus T4, metapneumovirus (Peru 6- 2003) <i>C. pneumoniae</i> (CWL- 029), <i>M. pneumoniae</i> (M129), coxsackievirus (type A1)	Zeptomatrix (MDZ001)	Ukjent*	Ikke relevant	
Gruppe 9	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,73E+03	kopier/ml	Ingen interferens
	NATrol Panel RP2 (influenza A H1 (New Caledonia/20/99), influenza B (Florida/02/06), RSV-A, parainfluenza T2, parainfluenza T3, koronavirus HKU rekombinant, koronavirus (OC43, NL63, 229E), <i>Bordetella pertussis</i> (A639)	Zeptomatrix (MDZ001)	Ukjent*	Ikke relevant	
Gruppe 10	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,73E+03	kopier/ml	Ingen interferens
	SARS-CoV-1	Zeptomatrix (NATSARS-ST)	Ukjent*	Ikke relevant	

\* Konsentrasjon ikke opplyst av leverandøren.

## Interfererende stoffer

### Nasale, orofaryngeale og nasofaryngeale avstrykprøver

Effekten av antatte interfererende stoffer (for stoffene i tabell 29) er blitt vurdert på ytelsen til *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit. Det ble utført tester i 3 grupper med negative nasofaryngeale avstryk og i 3 grupper med positive nasofaryngeale avstryk tilsatt ved 4 x LoD med inaktiverede SARS-CoV-2-viruspartikler (Zeptomatrix). Eksperimentene ble utført på RGQ MDx 5plex HRM-plattformen (på 4 instrumenter) av 1 operatør med 1 pilotsett.

Hver gruppe ble delt i 2 for å teste enten det interfererende stoffet oppløst i et løsningsmiddel (testprøve) eller løsningsmidlet alene (kontrollprøve). Treffrater i fluorescenskanalene Green og Red ble sammenlignet med testen og tilsvarende kontrollprøver. I fravær av interferens har testen og tilsvarende kontrollprøver samme treffrate.

Tabell 29 viser at ingen av de testede stoffene påvirker ytelsen til *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit i fluorescenskanalen Green.

**Tabell 29. Liste over interfererende stoffer og treffrater i kanalen Green.**

Interfererende stoffer	Funksjon	Testet konsentrasjon	Treffrateresultater i negativt nasofaryngealt avstryk	Treffrateresultater i positivt (4x LoD) nasofaryngealt avstryk
<b>Tobramycin</b>	Systemisk antibiotikum	1 mg/ml	Ingen interferens 0/15	Ingen interferens 15/15
<b>Mupirocin</b>	Antibiotisk nesosalve	6,6 mg/ml	Ingen interferens 0/15	Ingen interferens 15/15
<b>Flutikason</b>	Nasalt kortikosteroid	5 % (v/v)	Ingen interferens 0/15	Ingen interferens 15/15
<b>Mentol (Halssugetabletter)</b>	Orale bedøvelsesmidler og smertestillende midler	0,5 mg/ml	Ingen interferens 0/15	Ingen interferens 15/15
<b>Oksymetazolin</b>	Nesespray	10 % (v/v)	Ingen interferens 0/15	Ingen interferens 15/15

Forts. på neste side

Tabell 29 (Forts. fra forrige side)

Interfererende stoffer	Funksjon	Testet konsentrasjon	Treffrateresultater i negativt nasofaryngealt avstryk	Treffrateresultater i positivt (4x LoD) nasofaryngealt avstryk
<b>Oseltamivir</b>	Antiviralt legemiddel	3,3 mg/ml	Ingen interferens 0/15	Ingen interferens 15/15
<b>Mucin (Bovin submaksillær kjertel type I-5)</b>		2,5 mg/ml	Ingen interferens 0/15	Ingen interferens 15/15
<b>Fullblod</b>		4 % (v/v)	Ingen interferens 1/15*	Ingen interferens 15/15

\* Det er detektert en amplifikasjon som tilsvarer en artefakt.

### Prøver av rent spytt

Effekten av åtte antatte interfererende stoffer (for stoffene i tabell 30) er vurdert på ytelsen til *artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit*. Det ble utført tester i 1 gruppe med negative prøver av rent spytt, som er delt i to for å utføre to fortynningsnivåer: (1) negative prøver av rent spytt, og (2) konstruerte positive prøver av rent spytt (oppnådd ved tilsetning ved 3x LoD (3600 cp/ml) med inaktiverte SARS-CoV-2-viruspartikler (Zeptometrix) i den negative gruppen). Prøver av rent spytt ble testet med cobas z 480-plattformen av 3 operatører med ett kommersielt sett.

For hvert interfererende stoff ble prøvereplikatene delt i 2 for å teste enten det interfererende stoffet oppløst i et løsemiddel (testprøve) eller løsemidlet alene (kontrollprøve). Treffrater i fluorescenskanalene Green, Red og Yellow ble sammenlignet med testen og tilsvarende kontrollprøver. I fravær av en interferens har testen og tilhørende kontrollprøver samme treffrate.

Når det gjelder kvalitativ analyse (av prøvestatus), påvirker ikke de åtte testede interfererende stoffene (se tabell 30) resultatene av *artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit* på positive og negative spyttprøver.

Tabell 30 viser at ingen av de testede stoffene påvirker ytelsen til *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit i fluorescenskanalen Green.

Tabell 30. Liste over interfererende stoffer og treffrater i kanalen Green.

Interfererende stoff*	Funksjon	Testet konsentrasjon	Treffrateresultater i negative prøver av rent spytt	Treffrateresultater i positive (3 til 5x LoD) prøver av rent spytt
<b>Fullblod</b>	Endogent stoff: Humant gDNA, leukocytter, erytrocytter	1 % v/v	Ingen interferens* 0/8	Ingen interferens* 8/8
<b>Altoids®</b>	Godteri	2 % w/v	Ingen interferens 0/8	Ingen interferens 8/8
<b>Aspirin</b>	Antiinflammatorisk legemiddel	1 % w/v	Ingen interferens 0/8	Ingen interferens 8/8
<b>Listerine®</b>	Antiseptisk munnvann	1 % v/v	Ingen interferens 0/8	Ingen interferens 8/8
<b>Ricola®</b>	Godteri	1 % w/v	Ingen interferens 0/8	Ingen interferens 8/8
<b>Colgate® Total SF Whitening™ Toothpaste</b>	Tannblekende tannkrem	0,1 % w/v	Ingen interferens 0/8	Ingen interferens 8/8
<b>Tussidane® Sirop</b>	Legemiddel for tørrhoste	1 % v/v	Ingen interferens 0/8	Ingen interferens 8/8
<b>Pulmofluide®</b>	Legemiddel for slimhoste	1 % v/v	Ingen interferens 0/8	Ingen interferens 8/8

\*For fullblod ble det observert en interfererende effekt for IC-detektering i kanalen Red (10–40 % hemming) uten at dette påvirket prøvegylldigheten. I kanalen Green ble ikke prøvestatus påvirket av fullblod, men det ble observert litt Ct-drift (gjennomsnittlig 1,35 Ct senere med fullblod sammenlignet med kontrollprøven).

For å unngå risiko for å få et falskt-negativt resultat hvis lav positiv klinisk prøve testes når det observeres blodspor i røret, bør dette registreres, og hvis prøven gir et negativt resultat ved bruk av *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit, bør rent spytt tas på nytt fra pasienten, og prøven bør testes igjen med *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit.

## Prøvestabilitetsstudie

Prøvestabilitetsstudien ble utført for å vurdere hvordan forskjellige prøveoppbevaringsvilkår påvirket de kvalitative (treffrateanalyse) og kvantitative (Ct-driftnalyse) *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit-resultatene. Det ble utført eksperimenter ved å analysere to forfyningsnivåer: (1) negative prøver og (2) konstruerte positive prøver tatt ved å tilsette inaktiverede SARS-CoV-2-viruspartikler (Zeptomatrix). For å bekrefte prøvenes (spytt og NPS) stabilitet måtte  $\geq 95\%$  av replikatene gi samme treffrate og en Ct-drift  $\leq 10\%$  ved tidspunktet 0 for hvert stabilitetsvilkår.

### Nasale, orofaryngeale og nasofaryngeale prøver:

De forskjellige stabilitetsvilkårene som er testet, er angitt i tabell 31. Det ble utført tester ved hjelp av 3 prøvegrupper. Negative NPS-prøver, 5x deteksjonsgrensen (4750 cp/ml) for konstruerte positive NPS-prøver og tre partier med partifrigivelsesprøver BRS1 (N2-streng, 1000 cp/10  $\mu$ l), BRS2 (RNase P gblock, 1000 cp/10  $\mu$ l) og BRS3 (N1-streng, 1000 cp/10  $\mu$ l) ble testet med ABI 7500 Fast Dx-plattformen.

De kvalitative og kvantitative analyseresultatene viste at oppbevaringsvilkårene for de testede NPS-prøvene ikke påvirket treffraten (samme status detektert som forventet) og ikke førte til vesentlig Ct-drift av *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit-resultatene. Settet hadde derfor en stabil ytelse tross alle de forskjellige oppbevaringsvilkårene for NPS-prøvene som ble testet (se tabell 31).

Tabell 31 viser stabilitetsvilkår for nasofaryngeale prøver

**Tabell 31. Stabilitetsvilkår for nasofaryngeale prøver.**

Vilkår	Prøvestabilitetsspesifikasjon
F/T	3 F/T
4 °C (2 °C til 8 °C)	72 t
-70 °C	2 uker



## Prøver av rent spytt

De forskjellige stabilitetsvilkårene som er testet, er angitt i tabell 32. Det ble utført tester ved hjelp av 2 prøvegrupper. Negative prøver av rent spytt og 3x LoD (3600 cp/ml) konstruerte positive prøver av rent spytt ble testet med ABI 7500 Fast Dx-plattformen.

De kvalitative og kvantitative analyseresultatene viste at de testede oppbevaringsvilkårene ikke påvirket treffraten (samme status detektert som forventet) og ikke førte til vesentlig Ct-drift av *artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit*-resultatene. Settet hadde derfor en stabil ytelse tross de forskjellige oppbevaringsvilkårene for prøvene av rent spytt som ble testet.

Tabell 32 viser stabilitetsvilkår for rent spytt.

**Tabell 32.** Stabilitetsvilkår for prøver av rent spytt

Vilkår	Prøvestabilitetsspesifikasjon
F/T	3 F/T
Romtemperatur (18 °C til 26 °C)	72 t
4 °C (2 °C til 8 °C)	72 t
Kombinert vilkår: (6 h ved romtemperatur kombinert med 72 h ved 4 °C (2 til 8 °C) kombinert med 8 dager ved -20 °C (-30 °C til -15 °C)	6 h romtemperatur, deretter 72 h ved 4 °C (2 til 8 °C), så 7 dager -20 °C (-30 °C til -15 °C)
-20 °C (-30 °C til -15 °C)	1 måned (30,5 dager)

## Presisjon

Presisjonsstudien vurderte reproduserbarheten (samme prøve gjentas i forskjellige kjøring og under forskjellige forhold: 5 dager, 3 settpartier, 3 operatører og 2 instrumenter) og repeterbarheten (samme prøve gjentas i samme kjøring og under samme forhold). Det ble utført tester på negative nasofaryngeale prøver og negative nasofaryngeale prøver tilsatt 5 x LoD på RGQ MDx.

Det ble samlet inn 204 datapunkter per fortynningsnivå. Repeterbarhets- og reproducerbarhetsdata ble brukt til å bestemme standardavviket (Standard Deviation, SD) og variasjonskoeffisienten (Coefficient of Variation, %CV) for SARS-CoV-2-målene i kanalene Green, Yellow og Red. Tabell 33 viser at *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit har en generell presisjon på 0,63 SD (2,03 % CV) i Green-kanalen, 0,54 SD (2,22 % CV) i Yellow-kanalen og 1,28 SD (4,10 % CV) i Red-kanalen.

**Tabell 33. Standardavvik og variasjonskoeffisient for *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit.**

Prøver og deteksjonskanal	Totalt	Dag til dag	Parti til parti	Operatør til operatør	Instrument til instrument	Kjøring til kjøring	Innen kjøring
<b>Standardavvik (SD)</b> <b>(Variasjonskoeffisient (%CV))</b>							
Negativ NPS	0,54	0,09	0,10	0,06	0,11	0,09	0,50
Kanalen Yellow	(2,22)	(0,37)	(0,42)	(0,27)	(0,47)	(0,36)	(2,05)
Negativ NPS	1,15	0,0	0,55	0,00	0,12	0,39	0,92
Kanalen Red	(3,68)	(0,00)0	(1,76)	(0,00)	(0,40)	(1,26)	(2,96)
Tilsatt NPS	0,63	0,18	0,31	0,00	0,08	0,00	0,51
Kanalen Green	(2,03)	(0,59)	(1,00)	(0,00)	(0,25)	(0,00)	(1,64)
Tilsatt NPS	0,47	0,13	0,24	0,05	0,18	0,00	0,33
Kanalen Yellow	(1,93)	(0,53)	(0,98)	(0,20)	(0,73)	(0,00)	(1,38)
Tilsatt NPS	1,28	0,12	0,58	0,11	0,00	0,49	1,02
Kanalen Red	(4,10)	(0,37)	(1,84)	(0,34)	(0,00)	(1,57)	(3,27)

## Klinisk ytelse

### Nasofaryngeale avstryk

Den kliniske ytelsen til *artus* SARS-CoV-2 UM Prep&Amp-analysen ble evaluert ved bruk av retrospektive nasofaryngeale avstrykprøver i transportmedium bestående av 150 kliniske prøver.

Alle prøver ble tatt hos pasienter med tegn og symptomer på COVID-19-infeksjon og oppbevart nedfrost til bruk.

Den kliniske valideringen ble utført på ABI 7500 Fast Dx. Tabell 34 viser ytelsen til *artus* SARS-CoV-2 Prep & Amp UM Kit i forhold til en referansemetode.

**Tabell 34. Klinisk ytelse til *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit i forhold til en referansemetode.**

Prøvestatus	N	% positiv	95 % CI	% negativ	95 % CI
Positiv	52	98,1 (51/52)	89,9–99,7	1,9 (1/52)	–
Negativ	98	5,1 (5/98)	–	94,9 (93/98)	88,7–97,8

Avvikende resultater ble evaluert ved en tredje metode og analysert på nytt ved hjelp av en kontingenstabell. De generelle resultatene for den kliniske ytelsen vises som positivt prosentvis samsvar (Positive Percent Agreement, PPA) og negativt prosentvis samsvar (Negative Percent Agreement, NPA) i tabell 35.

**Tabell 35. Klinisk ytelse til *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit etter avvikende analyseresultater.**

Prøvestatus	N	% positiv	95 % CI	% negativ	95 % CI
Positiv	52	98,1 (51/52)	89,9–99,7	1,9 (1/52)	–
Negativ	98	5,1 (5/98)	–	94,9 (93/98)	88,7–97,8

Nedenfor er den brøkdelen av prøver som samsvarer, og positivt og negativt prosentvis samsvar (hvv. PPA og NPA) med de forventede prøvestatusene:

Positivt prosentvis samsvar

(Positive Percent Agreement, PPA):  $51/52 = 98,1\%$  (95 % CI: 89,9 % – 99,7 %)

Negativt prosentvis samsvar

(Negative Percent Agreement, NPA):  $93/98 = 94,9\%$  (95 % CI: 88,6 % – 97,8 %)

## Nasofaryngeale avstryk inkludert asymptomatiske personer

Den kliniske ytelsen til *artus* SARS-CoV-2 UM Prep&Amp-analysen ble evaluert ved bruk av retrospektive nasofaryngeale avstrykprøver i transportmedium bestående av 153 kliniske prøver.

Alle prøver ble tatt fra pasienter uten symptomer eller annen mistanke om covid-19-infeksjon.

Den kliniske valideringen ble utført på ABI 7500 Fast Dx. Seksten prøver ble utelukket fra analysen etter testing med *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit på grunn av en ugyldig status ifølge prøvegyldighetskriteriene (tabell 23).

Tabell 36 viser ytelsen til *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit i forhold til en referansemethode, som vises som positivt prosentvis samsvar (Positive Percent Agreement, PPA) og negativt prosentvis samsvar (Negative Percent Agreement, NPA).

**Tabell 36. Klinisk ytelse til *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit i forhold til en referansemethode**

Prøvestatus	N	% positiv	95 % CI	% negativ	95 % CI
Positiv	50	64,0 (32/50)	50,1–75,9	36,0 (18/50)	–
Negativ	87	1,15 (1/87)	–	98,85 (86/87)	93,8–99,8

Nitten avvikende resultater ble evaluert ved en tredje metode og analysert på nytt ved hjelp av en kontingenstabell. De generelle resultatene for den kliniske ytelsen vises som positivt prosentvis samsvar (Positive Percent Agreement, PPA) og negativt prosentvis samsvar (Negative Percent Agreement, NPA) i tabell 37.

**Tabell 37. Klinisk ytelse til *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit etter avvikende analyseresultater.**

Prøvestatus	N	% positiv	95 % CI	% negativ	95 % CI
Positiv	32	100,0 (32/32)	89,3–100,0	0 (0/32)	–
Negativ	105	0,95 (1/105)	–	99,05 (104/105)	94,8–99,8

Atten falskt negative prøver ble omklassifisert som sant negative, mens den ene falskt positive forble falskt positiv.

Nedenfor er den brøkdelen av prøver som samsvarer, og positivt og negativt prosentvis samsvar (hvv. PPA og NPA) med de forventede prøvestatusene:

Positivt prosentvis samsvar

(Positive Percent Agreement, PPA):  $32/32 = 100,0\%$  (95 % CI: 89,3 % – 100,0 %)

Negativt prosentvis samsvar

(Negative Percent Agreement, NPA):  $104/105 = 99,05\%$  (95 % CI: 94,8 % – 99,8 %)

### Prøver av rent spytt

Den kliniske ytelsen til *artus* SARS-CoV-2 UM Prep&Amp-analysen ble evaluert ved hjelp av prøver av rent spytt bestående av 142 spyttprøver.

Alle prøver ble tatt hos pasienter med tegn og symptomer på COVID-19-infeksjon. Den kliniske valideringen ble utført på ABI 7500 Fast Dx. Tolv prøver ble ekskludert fra analysen etter testing med *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit, og også referansemetoden, på grunn av at begge tester ga en ugyldig status i henhold til prøvegyldighetskriteriene.

Tabell 38 viser ytelsen til *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit i forhold til en referansemetode.

**Tabell 38. Klinisk ytelse til artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit i forhold til en referansemetode.**

Prøvestatus	N	% positiv	95 % CI	% negativ	95 % CI
Positiv	45	93,33 (42/45)	82,14–97,71	6,67 (3/45)	–
Negativ	85	0 (0/85)	–	100 (85/85)	95,68–100,00

Tre avvikende resultater ble evaluert ved en tredje metode og analysert på nytt ved hjelp av en kontingenstabell. De samlede resultatene for klinisk ytelse uttrykkes som positivt prosentvis samsvar (Positive Percent Agreement, PPA) og negativt prosentvis samsvar (Negative Percent Agreement, NPA) og vises i tabell 39.

**Tabell 39. Klinisk ytelse til artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit etter avvikende analyseresultater.**

Prøvestatus	N	% positiv	95 % CI	% negativ	95 % CI
Positiv	43	97,67 (42/43)	87,94–99,59	2,32 (1/43)	–
Negativ	87	0 (0/87)	–	100 (87/87)	95,77–100,00

To falskt negative resultater ble omklassifisert som sant negative, mens det ene falskt negative resultatet ble værende falskt negativt.

Nedenfor er den brøkdelen av prøver som samsvarer, og positivt og negativt prosentvis samsvar (hhv. PPA og NPA) med de forventede prøvestatusene:

Positivt prosentvis samsvar

(Positive Percent Agreement, PPA):  $42/43 = 97,67\%$  (95 % CI: 87,94% – 99,59%)

Negativt prosentvis samsvar

(Negative Percent Agreement, NPA):  $87/87 = 100,00\%$  (95 % CI: 95,77% – 100,00%)

---

# Referanser

1. CUI J *et al.* (2019) Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* **17**, 181-192
2. Gagneur *et al.* (2002) Infections nosocomiales à coronavirus humains chez le nouveau-né. *Arch Pédiatr* **9**, 61-69
3. HU *et al.* (2020) Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol* **6**:1-14.
4. Mackay IM. (2004) Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin Microbiol. Infect* **10**(3), 190–212
5. European Commission. (2020) Current performance of COVID-19 test methods and devices and proposed performance criteria. 16 April 2020. <https://ec.europa.eu/docsroom/documents/40805/attachments/1/translations/en/renditions/native>

# Feilsøkingsveiledning

Denne feilsøkingsveiledningen kan bidra til å løse problemer som kan oppstå. Hvis du ønsker mer informasjon, kan du også se siden med ofte stilte spørsmål på vårt tekniske supportsenters: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx).

## Kommentarer og forslag

### Svakt eller intet grønt signal (FAM) i positiv kontroll (Positive Control, PC)

- |   |  |
|---|--|
| a) Den valgte fluorescenskanalen for RT-PCR-dataanalyse oppfyller ikke kravene i protokollen.   | Ved dataanalyse velges fluorescenskanalen FAM (Green) for de analytiske SARS-CoV-2 RT-PCR-målene, fluorescenskanalen HEX/VIC/JOE (Yellow) for prøvetakingskontrollen og Cy5/Atto (Red) for den interne kontrollen.   |
| b) Feil programmering av temperaturprofilen.  | Sammenlign RT-PCR-programmet med protokollen.  |
| c) Feil konfigurering av PCR-reaksjonen   | Kontroller arbeidstrinn ved hjelp av pipetteringsskjema, og gjenta PCR om nødvendig.   |
| d) Oppbevaringsvilkårene for én eller flere settkomponenter overholder ikke anvisningene, eller <i>artus</i> SARS-CoV-2 RT-PCR Kit er utløpt. | Følg oppbevaringsvilkårene, og kontroller reagensenes utløpsdato. Bruk et nytt sett om nødvendig.  |
| e) Uriktig konfigurering av real-time RT-PCR-plattformen under datakonfigureringen.   | Bruk de anbefalte konfigureringene knyttet til real-time RT-PCR-plattformen som er beskrevet i denne håndboken.  |
| f) PCR ble hemmet.  | Følg god praksis for molekylærbiologiske laboratorier for å unngå at kontaminanter blir innført. Sørg for at arbeidsområdet og instrumentene dekontamineres regelmessig. Følg protokollen som er nevnt i denne bruksanvisningen. Kontroller utløpsdatoen på reagenset, og bruk et nytt sett om nødvendig. Gjenta analysen med en ny prøve. |

### Grønt signal (FAM) i ikke-templatkontrollen eller i ikke-ekstraksjonskontrollen

Kontaminering med SARS-CoV-2-sekvenser skjedde under RT-PCR-plateklargjøringen.

Gjenta RT-PCR med nye reagenser. Følg god praksis for molekylærbiologiske laboratorier for å unngå at kontaminanter blir innført. Følg protokollen som er nevnt i denne håndboken. Sørg for at arbeidsområdet og instrumentene dekontamineres regelmessig.



## Kommentarer og forslag

---

### Svakt eller intet rødt signal (Cy5/Atto) fra den interne kontrollen











- a) En interferent er innført i RT-PCR-reaksjonen. PCR er hemmet.
- Følg god praksis for molekylærbiologiske laboratorier for å unngå at kontaminanter blir innført.
- Sørg for at arbeidsområdet og instrumentene dekontamineres regelmessig.
- Følg protokollen som er nevnt i denne bruksanvisningen.
- Gjenta eksperimentet med en nyinnsamlet prøve.
- b) Den interne kontrollen er brutt ned.
- Følg god praksis for molekylærbiologiske laboratorier for å unngå at RNAs-er blir innført. Følg anbefalingene i denne bruksanvisningen.
- Sørg for at arbeidsområdet og instrumentene dekontamineres regelmessig.
- Følg oppbevaringsvilkårene, og kontroller reagensenes utløpsdato. Bruk et nytt sett om nødvendig.
- c) Uriktig konfigurering av real-time RT-PCR-plattformen under datakonfigureringen.
- Bruk de anbefalte konfigureringene knyttet til real-time RT-PCR-plattformen som er beskrevet i denne håndboken.

### Svakt eller intet gult signal (VIC/HEX) fra prøvetakingskontrollen

- a) Den kliniske prøven er brutt ned.
- Følg anbefalingene fra leverandøren av prøvetakingsutstyret for oppbevaring, håndtering og transport.
- Følg protokollen i denne bruksanvisningen, herunder prøveklargjøringstrinnene med SARS-CoV-2 UM Prep Buffer.
- Følg oppbevaringsvilkårene og kontroller reagensenes utløpsdato, f.eks. SARS-CoV-2 UM Prep Buffer, og bruk et nytt sett om nødvendig.
- b) Prøven ble ikke tatt på riktig måte. Ikke nok humane celler ble samlet inn på avstryket eller overført i transportmediet.
- Følg anbefalingene fra leverandøren av prøvetakingsutstyret for prøvetaking og -håndtering.
- c) Uriktig konfigurering av real-time RT-PCR-plattformen under datakonfigureringen.
- Bruk konfigureringene knyttet til real-time RT-PCR-plattformen som er beskrevet i denne håndboken.

# Symboler

Følgende symboler kan eventuelt finnes i bruksanvisningen eller på emballasjen og etiketten:

Symbol	Symboldefinisjon
	Inneholder nok reagenser til 768 eller 3072 reaksjoner
	Siste forbruksdato
	In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr
	Katalognummer
	Partinummer
	Komponenter
	Innhold
	Nummer
	Globalt artikkelnummer
<b>R<sub>n</sub></b>	R står for for revisjon av bruksanvisningen, og n står for revisjonsnummeret
	Temperaturbegrensning

Symbol

Symboldefinisjon

---



Produsent



Se bruksanvisningen



Må beskyttes mot sollys



Advarsel/forsiktig

---

# Kontaktinformasjon

Kontakt QIAGENs tekniske serviceavdeling på **support.qiagen.com** for å få teknisk assistanse og mer informasjon.

# Bestillingsinformasjon

Produkt	Innhold	Kat.nr.
<i>artus</i> SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit (768)	Til 768 reaksjoner: Klargjøringsbuffer, ROX-fargestoff, masterblanding, primere og prober, intern kontroll, vann (NTC) og positiv kontroll	4511460
<i>artus</i> SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit (3072)	Til 3072 reaksjoner: Klargjøringsbuffer, ROX-fargestoff, masterblanding, primere og prober, intern kontroll, vann (NTC) og positiv kontroll	4511469
Instrument og tilbehør		
PCR tubes, 0.1 ml for Rotor-Gene Q 5-plex HRM MDx	Til bruk med 72-Well Rotor, remserør og lokk	981103
Rotor-Gene Q software	Rotor-Gene Q-programver v2.3.1 (eller nyere)	
Rotor-Gene Q 5-plex HRM MDx	Real-time PCR-cycler med 5 kanaler, smelteanalysator med høy oppløsning, programvare, bærbar PC og tilbehør; 1 års garanti på deler og arbeid, installasjon	9002032
72-Well Rotor	Til å holde Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, med reaksjonsvolumer på 10–50 µl	9018903
Locking Ring 72-Well Rotor	Til å låse Strip Tubes and Caps, 0.1 ml i 72-Well Rotor	9018904

Oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser finnes i håndboken eller bruksanvisningen for det aktuelle QIAGEN-settet. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN-sett kan fås på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller rekvireres fra QIAGENS tekniske serviceavdeling eller den lokale distributøren.

# Endringshistorikk for dokument

Revisjon	Beskrivelse
R1, april 2021	Første versjon.
R2, juli 2021	Utvidelse av spesifikasjon: Testen er etablert for asymptomatiske personer. Tiltent bruk ble oppdatert til å inkludere personer uten symptomer på eller andre årsaker til mistenkt covid-19-infeksjon. Avsnitt om klinisk ytelse, herunder asymptomatiske personer, ble satt inn i Ytelsesdata.
R3, september 2021	Utvidelse av spesifikasjon: <ol style="list-style-type: none"><li>1. Testing ved hjelp av spyttprøver er tilføyd.</li><li>2. Arbeidsflyten er endret.</li><li>3. Tiltent bruk er sammen med 3 ytterligere plattformer og tilhørende programvare: CFX96 Dx med CFX Manager Dx-programvareversjon 3.1.3090.1022 (eller nyere), cobas z 480 med LightCycler 480 SW UDF-versjon 2.0.0 (eller nyere) og QuantStudio 5 Dx med QuantStudio 5 Dx IVD-programvareversjon 1.0.1 (eller nyere).</li><li>4. Detekteringsgrensen for de 3 ytterligere plattformene (CFX96 Dx, cobas z 480, QuantStudio 5 Dx) ble satt inn i ytelsesavsnittet for de nasofaryngeale, nasale og orofaryngeale prøvene.</li><li>5. Avsnittet Ytelsesegenskaper er oppdatert.</li><li>6. Bare fluorescenskanalene (Green, Red, Yellow) ble bevart for RGQ-instrumentet (fargestoffnavnene i parentes ble slettet).</li><li>7. Bare fargestoffnavnene ble bevart for CFX96 Dx, ABI7500 Fast Dx, cobas z 480 og QuantStudio 5 Dx.</li><li>8. For ABI7500 Fast Dx ble fluorescensfiltrene A/1, B/2 og E/5 slettet. Bare fargestoffnavnene ble beholdt (Fam, Vic og Cy5).</li><li>9. Endringer i tabell 34–37 i delen om klinisk ytelse for å tydeliggjøre dette bedre.</li></ol>
R4, januar 2022	Retting av skrivefeil i tabell 39.

### Begrenset lisensavtale for *artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit*

Bruk av dette produktet innebærer at enhver kjøper eller bruker av produktet samtykker i følgende vilkår:

1. Produktet kan bare brukes i samsvar med protokollene som leveres med produktet og denne håndboken, og skal bare brukes med komponenter som er inkludert i panelet. QIAGEN gir ingen lisens for noen av sine åndsprodukter til å bruke eller innlemme komponenter i dette panelet med andre komponenter som ikke er inkludert i dette panelet, med unntak av det som er beskrevet i protokollene som leveres med produktet, denne håndboken og andre protokoller som er tilgjengelige på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Noen av disse andre protokollene er utarbeidet av QIAGEN-brukere for QIAGEN-brukere. Disse protokollene er ikke blitt grundig testet eller optimalisert av QIAGEN. QIAGEN garanterer ikke for dem og gir heller ingen garanti for at de ikke krenker rettighetene til tredjeparter.
2. QIAGEN gir ingen garanti for at dette panelet og/eller dets bruk ikke krenker rettighetene til tredjeparter, bortsett fra uttrykkelig oppgitte lisenser.
3. Dette panelet og tilhørende komponenter er lisensiert til engangsbruk og kan ikke brukes flere ganger, modifiseres eller selges på nytt.
4. QIAGEN frasier seg spesifikt andre lisenser, uttrykt eller antydnet, bortsett fra de som er uttrykkelig oppgitt.
5. Kjøperen og brukeren av panelet samtykker i at de ikke skal gjøre eller la noen andre gjøre noe som kan resultere i eller fremme handlinger som er forbudt ovenfor. QIAGEN kan håndheve forbud i denne begrensede lisensavtalen i en hvilken som helst domstol, og skal få tilbake alle sine etterforsknings- og domstolskostnader, inkludert advokathonorarer, knyttet til enhver handling som iverksettes for å håndheve denne begrensede lisensavtalen eller eventuelle immaterielle rettigheter forbundet med panelet og/eller komponentene.

Oppdaterte lisensvilkår er tilgjengelige på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, *artus*®, Prep&Amp™, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); ATCC® (American Type Culture Collection); CFX96™, Hard-Shell® (Bio-Rad Laboratories, Inc.); Clinical and Laboratory Standards Institute®, CLSI® (Clinical and Laboratory Standards Institute, Inc); ZepTometrix®, NATrol™ (Cole-Parmer); Colgate®, Total SF Whitening™ (Colgate-Palmolive Company); Listerine® (Johnson & Johnson); Tussidane® (Laboratoires Des Realisations Therapeutiques Elerte); Pulmofluide® (Laboratoires Gerda); Excel® (Microsoft Corporation); Ricola® (Ricola Group); cobas®, LightCycler® (Roche Group); ABI®, MicroAmp™, EnduraPlate™, QuantStudio®, Thermo Fisher Scientific® (Thermo Fisher Scientific eller datterselskaper); Altoids® (Wm. Wrigley Jr. Company). Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet, er beskyttet av den relevante lovgivningen også når de ikke er spesifikt merket som sådan.

01/2022 R4 HB-2850-004 © 2021 QIAGEN. Med enerett.



---

Bestilling [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Teknisk støtte [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Nettside [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)