

## The BioXsen SARS-CoV-2 Triple Gene RT-qPCR Kit zur patientennahen Labordiagnostik (POC)

### Beprobung

1- Nehmen Sie die Proben aus nasopharyngealen, oropharyngealen, oralen/saliva oder nasalen Abstrichen. Nutzen Sie ausschließlich den dem vNAT Transfer Tube beiliegenden Abstrichtupfer.

2- Geben Sie die Probe in das vNAT Transfer Tube, verschließen Sie es mit dem Deckel und inkubieren Sie die Probe für 5 Minuten, um eine Inaktivierung der Pathogene zu erreichen. Die Probe steht direkt danach zur Verwendung in der RT-qPCR zur Verfügung.

### Vor der RT-qPCR

3- Tragen Sie persönliche Schutzausrüstung (d.h. Maske, Handschuhe, Laborkittel, Schutzbrille, etc.).

4- Reinigen Sie die Oberflächen mit 0.5-1% (w/v) Natriumhypochlorit (10-20% v/v Bleiche) oder nutzen Sie Whatman Filterpapier, um eine saubere Arbeitsfläche zu gewährleisten.

### Master Mix Vorbereitung

5- Mischen Sie die beiden Kit Komponenten "2x Prime Script" und "Oligo Mix" in einem sterilen Reaktionsgefäß anhand folgender Tabelle, um den "Master Mix" zu erhalten.

Probenanzahl	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
2x Prime Script (µL)	15	20	25	30	35	40	45	50	60	65	70	75	80	85	90	95
Oligo Mix (µL)	7,5	10	12,5	15	17,5	20	22,5	25	30	32,5	35	37,5	40	42,5	45	47,5
Probenanzahl	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
2x Prime Script (µL)	100	115	120	125	130	135	140	145	150	155	160	165	170	175	180	185
Oligo Mix (µL)	50	57,5	60	62,5	65	67,5	70	72,5	75	77,5	80	82,5	85	87,5	90	92,5
Probenanzahl	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46		
2x Prime Script (µL)	190	195	200	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255		
Oligo Mix (µL)	95	97,5	100	102,5	105	107,5	110	112,5	115	117,5	120	122,5	125	127,5		

6- Mischen (Vortex) und zentrifugieren Sie den "Master Mix".

7- Kalkulieren Sie die Anzahl benötigter micPCR Reaktionsgefäße wie folgt: Anzahl Proben + 2 Kontrollen.

ACHTUNG: Gehen Sie beim Transfer jeglicher Flüssigkeiten in ein micPCR Reaktionsgefäß nur bis zum ersten Druckpunkt der Pipette. Gehen Sie nicht bis zum zweiten Druckpunkt, zur Vermeidung von Luftblasen am Boden des Reaktionsgefäßes.

8- Pipettieren Sie 7.5 µL des "Master Mix" in den Boden eines jeden micPCR Reaktionsgefäßes.

9- Pipettieren Sie 2.5 µL der NTC in den Boden des micPCR Reaktionsgefäßes als Negativkontrolle und schließen Sie das Reaktionsgefäß zügig.

10- Vortexen und transferieren Sie 2.5 µL jeder Probe in den Boden des entsprechenden micPCR Reaktionsgefäßes. Nach dem Mischen schließen Sie die Reaktionsgefäße zügig.

11- Pipettieren Sie 2.5 µL der PC in den Boden des micPCR Reaktionsgefäßes als Positivkontrolle und schließen Sie das Reaktionsgefäß zügig.

### RT-qPCR

12- Stellen Sie die Reaktionsgefäße in das micPCR Gerät. Das Gerät weist 48 Positionen auf. Falls Sie weniger als 48 Proben analysieren, nutzen Sie Ausgleichs-Reaktionsgefäße in den freien Positionen.

13- Starten Sie den PCR Lauf.

### Erstellung eines Befundes

14- Nachdem der Lauf beendet ist, werden die Ergebnisse automatisch von der online FastFinder Software evaluiert und der Befund erstellt.

### Nach der RT-qPCR

15- Geben Sie die Reaktionsgefäße nach dem Lauf sofort in eine Plastiktüte und verschließen Sie diese fest. Geben Sie diese Tüte wiederum in eine zweite Tüte und verschließen sie diese ebenfalls dicht, bevor Sie diese entsorgen.