

## LightMix<sup>®</sup> Modular RSV-A/B

TIB Molbiol Cat. No. 61-0110-96

610

Roche SAP n° 08 492 018 001

**EN: For use with Roche LightCycler<sup>®</sup> instruments**

FR: A utiliser avec les instruments Roche LightCycler<sup>®</sup>

ES: Para usar con instrumentos Roche LightCycler<sup>®</sup>

IT: Per l'utilizzo con gli strumenti Roche LightCycler<sup>®</sup>

PT: Para uso com instrumentos Roche LightCycler<sup>®</sup>

DE: Für die Verwendung mit Roche LightCycler<sup>®</sup> Geräten

### 1. Content, Composition and Storage

FR: Contenu, composition et conservation

ES: Contenido, composición y almacenamiento

IT: Contenuto, Composizione e Conservazione

PT: Conteúdo, Composição e armazenamento

DE: Inhalt, Zusammensetzung und Lagerung

1 **Purple** PSR 96 rxn RSV-A/B (dried)

≤ 26 % Synthetic oligonucleotides

≥ 74 % Buffer

1 **Black** Positive Control (dried)

### Storage at Arrival: 4 °C to 25 °C

Stockage à l'arrivée

Almacenamiento a la llegada

Conservazione all'arrivo

Armazenamento à chegada

Lagerung vor Nutzung

**Do not freeze dried reagents.**

Ne pas congeler les réactifs séchés.

No congelar los reactivos liofilizados.

Non congelare i reagenti essiccati.

Não congelar os reagentes secos.

Getrocknete Reagenzien nicht Einfrieren.

Total weight (incl. packaging) : 14 g



## 2. Intended Use

**This product is intended to be used to diagnose an infection by detection of the viral genome in a Total-NA nucleic acid extract obtained from respiratory tract specimen from patients with significant respiratory symptoms. This assay has been developed for use in multiplex PCR and can be run combined with a control reaction or combined with other kits as specified in section 5.**

**FR: Utilisation prévue:** Ce produit est destiné à la détection de génome viral dans des extraits d'acides nucléiques des voies respiratoires de patients présentant d'importants symptômes respiratoires. Ce test a été développé pour la détection en PCR multiplex et peut être exécuté avec une réaction de contrôle, seul ou combiné avec d'autres trousseaux comme spécifié dans la section 5.

**ES: Uso previsto:** Este producto está destinado a ser utilizado para detectar una infección del genoma viral en un extracto de ácidos nucleicos total obtenidos a partir de muestras de las vías respiratorias de los pacientes con síntomas respiratorios significativos. Este ensayo ha sido desarrollado para su uso en PCR multiplex y se puede ejecutar con una reacción de control o combinado con otros kits como se especifica en la sección 5.

**IT: Uso previsto:** Questo prodotto è destinato alla diagnosi di infezioni tramite rilevamento di genoma virale in Acidi Nucleici Totali estratti da campioni delle vie respiratorie di pazienti con sintomi respiratori significativi. Questo test è stato sviluppato per l'uso in PCR multiplex e può essere combinato con una reazione di controllo o con altri kit, come specificato nella sezione 5.

**PT: Utilização prevista:** Este produto destina-se a ser utilizado para diagnosticar uma infecção através da detecção de genoma viral num extracto total de ácidos nucleicos, obtido a partir de amostras do trato respiratório de pacientes com sintomas respiratórios graves. Este ensaio foi desenvolvido para uso em PCR multiplex e pode ser executado com uma reacção de controlo ou combinado com outros kits como especificado na secção 5.

**DE: Verwendungszweck:** Dieses Produkt erlaubt einen Einzel- oder zusammen mit anderen Kits einen Multiplex- Genom-Nachweis (Abschnitt 5) aus Total-NA Nukleinsäureextrakten gewonnen aus Proben der Atemwege und ist zur Identifikation des für eine respiratorische Erkrankung ursächlichen viralen Erregers gedacht.

### 3. Disclaimer

**Please note, a negative test result does not rule out infection, as factors like poor sample quality, low template concentration, or genetic variability may lead to false negatives. Therefore, test results must be interpreted alongside clinical signs, patient history, and other diagnostics. If infection is still suspected or when results are inconsistent with clinical indications, additional testing should be considered.**

**FR:** Veuillez noter qu'un résultat de test négatif n'exclut pas une infection, car des facteurs tels qu'une mauvaise qualité de l'échantillon, une faible concentration de la matrice ou variabilité génétique peuvent entraîner des faux négatifs. Par conséquent, les résultats des tests doivent être interprétés conjointement avec les signes cliniques, les antécédents du patient et d'autres diagnostics. Si une infection est toujours suspectée ou si les résultats ne sont pas conformes aux indications cliniques, des tests supplémentaires doivent être envisagés.

**ES:** Tenga en cuenta que un resultado negativo no descarta una infección, ya que factores como una insuficiente calidad de la muestra, una baja concentración del ácido nucleico diana o una excesiva variabilidad genética pueden provocar falsos negativos. Por tanto, los resultados deben interpretarse junto con los signos clínicos, los antecedentes del paciente y otras pruebas diagnósticas. Si persiste la sospecha de infección o si los resultados no son coherentes con las indicaciones clínicas, deberán considerarse pruebas adicionales.

**IT:** Si prega di notare che un risultato negativo non esclude la presenza di infezione; fattori come scarsa qualità del campione, bassa concentrazione del template o variabilità genetica possono portare a falsi negativi. Pertanto, i risultati devono essere interpretati insieme alle condizioni cliniche, alla storia del paziente e ad altri dati diagnostici. Tuttavia, se si sospetta ancora un'infezione o se i risultati sono incoerenti con le indicazioni cliniche, dovrebbero essere considerati test supplementari.

**PT:** Observe que um resultado negativo não exclui uma infecção, pois fatores como má qualidade da amostra, baixa concentração do molde ou variabilidade genética podem levar a falsos negativos. Assim, os resultados devem ser interpretados em conjunto com as observações clínicas, o histórico do paciente e outros dados diagnósticos. Se a suspeita de infecção persistir ou se houver resultados inconsistentes com as observações clínicas, devem ser considerados testes adicionais.

**DE:** Bitte beachten Sie, dass ein negatives Testergebnis eine Infektion nicht ausschließt, da Faktoren wie schlechte Probenqualität, niedrige Template-Konzentration oder genetische Variabilität zu falsch-negativen Ergebnissen führen können. Testergebnisse müssen daher im Zusammenhang mit klinischen Symptomen, der Krankengeschichte des Patienten und anderen diagnostischen Befunden interpretiert werden. Wenn weiterhin ein Infektionsverdacht besteht oder die Ergebnisse nicht mit den klinischen Befunden übereinstimmen, sollten zusätzliche Tests in Betracht gezogen werden.

## 4. General Precautions and Warnings

**EN:** This product must be used by qualified personnel. Use the instructions as specified for the respective lot. Do not mix reagents from different lots. Do not use expired reagents. Dispose unused reagents.

The laboratory work-flow must conform to standard practices. Handle reagents at a different place than positive materials. Wear disposable protective gloves, laboratory coats and adequate eye protection. Sample materials and waste must be considered as potentially infectious. Reagent preparation, extraction and PCR should be performed in separated areas. Clean and disinfect work surfaces.

**FR:** Ce produit doit être utilisé par du personnel qualifié avec la version du manuel livrée avec la trousse. Ne pas mélanger les réactifs de différents lots. Ne pas utiliser après la date d'expiration. Éliminer les réactifs non-utilisés.

L'organisation du laboratoire doit être conforme aux standards en vigueur. Porter des gants, une blouse de laboratoire et une protection oculaire adéquate. Les échantillons et les déchets connexes doivent être considérés comme infectieux. La préparation et l'amplification PCR doivent être effectuées dans des zones distinctes. Nettoyer et désinfecter les surfaces de travail selon les normes en vigueur.

**ES:** Este producto debe ser utilizado por personal cualificado. Utilizar las instrucciones que se especifican para el lote respectivo. No mezclar reactivos de lotes diferentes. No utilizar reactivos caducados. Desechar los reactivos no utilizados.

El flujo de trabajo del laboratorio ha de ajustarse a las prácticas estándares. Usar todos los reactivos en un lugar diferente que los materiales positivos. Usar guantes protectores desechables, batas de laboratorio y protección ocular adecuada. Las muestras de materiales y residuos deben ser considerados como potencialmente infecciosos. La preparación de los reactivos, la extracción y la PCR se deben realizar en zonas separadas. Limpiar y desinfectar las superficies de trabajo.

**IT:** Questo prodotto deve essere utilizzato da personale qualificato. Utilizzare le istruzioni indicate per lo specifico lotto. Non mescolare i reagenti di lotti diversi. Non utilizzare reagenti scaduti. Smaltire i reagenti non utilizzati.

Il flusso di lavoro di laboratorio deve essere conforme alle procedure standard. Manipolare i reagenti in un luogo diverso da quello dei materiali positivi. Indossare guanti protettivi monouso, camici da laboratorio e un'adeguata protezione per gli occhi. I materiali biologici ed i loro rifiuti devono essere considerati come potenzialmente infettivi. La preparazione dei reagenti, l'estrazione e la PCR devono essere eseguite in aree separate. Pulire e disinfettare le superfici di lavoro.

**PT:** Este produto deve ser utilizado por pessoal qualificado. Use as instruções especificadas para o respectivo lote. Não misturar reagentes de lotes diferentes. Não utilize reagentes expirados. Descarte os reagentes não utilizados.

O fluxo de trabalho de laboratório deve estar em conformidade com as práticas padrão. Manusear os reagentes num lugar diferente dos materiais positivos. Usar luvas de proteção descartáveis, batas de laboratório e proteção ocular adequada. Os materiais de amostra e os desperdícios devem ser consideradas como potencialmente infecciosos. A preparação do reagente e a extracção de PCR devem ser efectuada em zonas separadas. Limpar e desinfectar as superfícies de trabalho.

**DE:** Dieses Produkt darf nur von qualifiziertem Personal bedient werden. Folgen Sie der Bedienungsanleitung. Mischen Sie keine Reagenzien aus verschiedenen Chargen. Verfallene Reagenzien dürfen nicht verwendet werden. Entsorgen Sie nicht benötigte Reagenzien.

Tragen Sie Einweg-Schutzhandschuhe, Laborkittel und eine Schutzbrille. Probenmaterialien und Abfälle müssen als potenziell infektiös betrachtet werden. Vorbereitung der Reagenzien, Extraktion und PCR sollten in getrennten Bereichen durchgeführt werden. Reinigen und Desinfizieren Sie die Arbeitsflächen.

## 5. Application procedures for this product

FR:	Procédures d'application pour ce produit	PT:	Procedimentos de aplicação para este produto
ES:	Procedimientos de aplicación de este producto	DE:	Anwendungsverfahren für dieses Produkt
IT:	Procedura di applicazione di questo prodotto		

### 5.1. LightCycler® PRO LCAP, LightCycler® 480 Detection Format and Settings:

#### LightCycler® PRO Instrument:

For a matching LightCycler® Analysis Package (LCAP) file for *RSV-A/B* (see Section 6, Table 3) please visit [navifyportal.roche.com](http://navifyportal.roche.com) to download. Please check for the latest version of the LCAP. Save the LCAP file in the **assay** folder of the SFTP or USB device.

**Import and install** the downloaded LCAP onto the LightCycler® PRO Instrument and **Activate** it.

#### LightCycler® 480 Instrument and cobas z 480 Analyzer:

Set Quant Factor 10, Max. Integration time 2 sec:

LightCycler® 480 Instrument:	558-610
LightCycler® 480 II Instrument:	533-610
cobas z 480 Analyzer (open channel):	540-610

Table 1: Cycling condition programming.

Program Step:	RT Step	Denaturation	Cycling			Cooling
<b>Parameter</b>						
Analysis Mode	<b>None</b>	None	Quantification mode			None
Cycles	1	1	45			1
Target °C	55	95	95	60	72	40
Hold hh:mm:ss	00:05:00	00:05:00	00:00:05	00:00:15	00:00:15	00:00:30
Ramp Rate °C/s <b>96</b>	4.4	4.4	4.4	2.2	4.4	1.5
Ramp Rate °C/s <b>384</b>	4.6	4.6	4.6	2.4	4.6	2.0
Acquisition Mode	None	None	None	<b>Single</b>	None	None

### 5.2. Preparation of Parameter-Specific Reagents (PSR, **purple cap**):

Check for the colored pellet, then **add 50 µl** PCR-grade water, mix (vortex or by pipetting up and down 10 times) and spin down. **Use 0.5 µl** PSR per 20 µl PCR reaction.

Store dissolved PSR frozen (-20 °C, until expiry) or cooled (2 to 8 °C, up to 14 days).

### 5.3. Preparation of the Positive Control (**black cap**)

Check for the colored pellet, then **add 160 µl** RNase/DNase-free 10 mM Tris buffer pH 8 - 8.5.

Mix (vortex or by pipetting up and down 10 times) and spin down vial prior to opening. **Use 5 µl** Positive Control per 20 µl PCR reaction.

Store dissolved Positive Control frozen (-20 °C, until expiry).

## 5.4. Preparation of PCR Reaction Mix

In a cooled reaction tube, prepare the reaction mix for one reaction (left) or 100 reactions (right):

Table 2: Preparation of the Reaction Mix.

Reaction Mix to be used with LightMix® Modular RSV-A/B:		
LightCycler® Multiplex RNA Virus Master		Roche Cat. No. 06 754 155 001 Roche Cat. No. 07 083 173 001
One reaction	Component	100 reactions
10.4 µl	Water, PCR-grade	1040 µl
0.5 µl	PSR (purple cap)	50 µl
--	Control Reaction and additional assays (Multiplex PCR) – substitute water	--
4.0 µl	RT-qPCR Reaction Mix, 5x conc. (LightCycler® Multiplex RNA Virus Master)	400 µl
0.1 µl	RT Enzyme Solution, 200x conc. (LightCycler® Multiplex RNA Virus Master)	10 µl
<b>15.0 µl</b>	<b>Volume of Reaction Mix</b>	<b>1500 µl</b>

Mix gently, spin down and transfer 15 µl per well.

Add 5 µl of sample or Positive Control to each well for a final reaction volume of 20 µl.

Seal plate and spin down. **Start run.**

## 6. Multiplex PCR Respiratory Virus

**EN: This assay can be combined with other assays up to 6plex as depicted below. If used in multiplex setup, detection format changes and a color compensation must be applied. Please see IFU for differing detection format and settings setup:**

FR: Cet essai peut être combiné jusqu'en 6plex comme indiqué ci-dessous:

ES: Este ensayo puede combinarse con otros ensayos hasta 6plex como se describe a continuación:

IT: Questo test può essere combinato con altri test fino a 6plex come illustrato di seguito:

PT: Este ensaio pode ser combinado com outros ensaios até 6plex conforme ilustrado abaixo:

DE: Dieser Assay kann in einer Multiplex PCR mit den folgenden Produkten kombiniert werden:

LightMix® Universal Color Compensation Hexaplex Plus (TIB Molbiol Cat. No. 40-0320-12; Roche Cat. No. 06 296 971 001) is not necessary for the LightCycler® PRO, but mandatory for all LightCycler® 480 instruments.

Table 3: Options for combining LightMix® Modular RSV-A/B in Multiplex PCR and Instrument Compatibility.

### Multiplex PCR and Instrument Compatibility

500	530	580	610	640	660
			RSV-A/B		
Parainfluenza	Influenza A	Influenza B	RSV-A/B	Picornavirus HRV+EV	EAV or Roche RPC*
Influenza A H1	Influenza A	Influenza B	RSV-A/B	Picornavirus HRV+EV	
Influenza A H1	Influenza A	Influenza B	RSV-A/B	Parechovirus	
Parainfluenza	Influenza A	Influenza B	RSV-A/B	Parechovirus	
Sarbecovirus	Influenza A	Influenza B	RSV-A/B	Picornavirus HRV+EV	EAV

LC PRO	LC 480 II	LC 480 I	z 480	LC96
#	X	X	X	X
1	X	X	§	
2	X	X	§	
3	X	X	§	
4	X	X	§	
5	X	X	§	

# any of the LightCycler® PRO LCAPs mentioned below

1. 0701\_RespiV1-96\_mPCR1 Run profile: ModularDx7plex\_96\_R6G
2. 0702\_RespiV1-96\_mPCR2 Run profile: ModularDx7plex\_96\_R6G
3. 0803\_RespiV2-96\_mPCR3 Run profile: LMM\_7plex\_96
4. 0804\_RespiV2-96\_mPCR4 Run profile: LMM\_7plex\_96
5. 0601\_SARS-CoV2-96\_mPCR1 Run profile: ModularDx7plex\_96\_R6G

\* LightMix® Modular *Influenza B* (TIB Product No. 58-0102-96) cannot be combined with Roche RNA Process Control Kit (RPC, Roche Cat. No. 07 099 592 001).

§ LightMix® Modular *RSV-A/B* may be used with the cobas® z 480 analyzer in a multiplex setup, up to a 5plex, without a product in the channel 500.

## 7. Version History

**EN:** Red notes mark changes in procedures, blue change of components

FR: Notes rouges: changements dans les procédures, bleues: des composants  
 ES: Notas rojas marcan cambios en los procedimientos, en azul de componentes  
 IT: Le note in rosso indicano cambiamenti nelle procedure, in blu di componenti  
 PT: Notas vermelhas marcam mudanças nos procedimentos, a azul nos componentes  
 DE: Geänderte Prozeduren sind rot, bei geänderten Komponenten blau markiert.

V190123	Editorial changes. CoA notes clarified.	2019-03-01
V231220	Addition of the LightCycler® PRO and editorial changes	2023-12-20
V250815	3. Disclaimer added, 5.1 LightCycler® PRO information updated, 6. Table 3 updated and editorial changes	2025-08-15

