



LiliF™ COVID-19 Multi Real-time RT-PCR sada

IVD In vitro diagnostika

REF IPH21506

Σ₁₀₀

-20 °C



IVD reagents for infectious disease [3]
MFDS Certificate No. 20-327, (Export only)

INHRON Biotechnology
#701 - 704, Jung-Ang Induspa V,
Sangdeonwon-dong)
137, Sangnagyo-ro, Jeongwon-gu,
Sungnam-si, Gyeonggi-do, Korea
CZ/COV/04/2020 Datum výroby materiálu 9/2020

novatín
Distributor v ČR
Novatín s.r.o., V sadech 1081/4a, 160 00 Praha 6, Česká republika
+420 800 305 503 | www.novatín.com | info@novatín.com

Rychlý návod k použití

Pozadí vývoje

Coronavirus (CoV), který řadíme k virům IV. třídy, je jeden z virů vyvolávajících nachlazení. Alfa a beta koronaviry napadají jak zvířata, tak lidi, gama a delta koronaviry napadají pouze zvířata. V minulosti se zatím objevilo šest typů koronavirů napadajících člověka, zahrnující typy 229E, OC43, NL63 a HKU1, které vyvolávají stavy nachlazení a typy SARS-CoV a MERS-CoV, které mohou vyvolávat velmi těžké pneumonie. Nedávno byl identifikován nový kmen koronaviru – COVID-19 (2019-nCoV).

Tento nový typ koronaviru (2019-nCoV) patří k beta koronavirům. Napadá lidské tělo a je původcem kolektivní pneumonie z prosince roku 2019 v čínském městě Wuhan v provincii Hubei.

Rychlá diagnóza infekce je velmi důležitá, protože proti tomuto kmenu neexistují ještě žádné vakcíny ani antivirotika schválená pro profylaktickou nebo terapeutickou léčbu. V souladu s tímto problémem byl vyvinut produkt, který dokáže zvýšit rychlost, přesnost a spolehlivost molekulární diagnostiky tohoto nového koronaviru. Produkt, který je schopen současně detekovat geny RdRP, N a E, které jsou specifické pro tento nový virus.

Princip

- Sada LiliF™ COVID-19 Multi Real-time RT-PCR dokáže detekovat nový coronavirus za pomoci sondové metody real-time RT-PCR reakcí specifického primeru a fluorescenční sondy ve vzorku.
- Sada LiliF™ COVID-19 Multi Real-time RT-PCR dokáže detekovat gen RdRP (2019-nCoV specifický) a gen E (betacoronavirus specifický), markery pro detekci nových koronavirů. Zároveň detekuje gen N (2019-nCoV specifický) navšený US CDC a gen RNasy P, který potvrzuje validitu všech reakcí testu. Tyto dva geny jsou převzaty a navrženy pro simultánní detekci.
- Sada LiliF™ COVID-19 Multi Real-time RT-PCR je kvadriletový RT-PCR produkt, který dokáže simultánně detekovat 3 typy s 2019-nCoV spřážených markerů a lidský intrinsický gen (RNAsa P) v jedné zkumavce.

Nástroje

- Real-time PCR termocykler
- Pipety a jednorázové špičky s filtrem
- Jednorázové latexové rukavice
- Sada pro extrakci virové DNA/RNA
- Stolní centrifuga pro PCR zkumavky
- Vortex

Obsah balení (sady)

No	Obsah	100 testů/balení
1	2x RT-PCR směs	1100 µl/1 zkumavka
2	COVID Multi detekční roztok	550 µl/1 zkumavka
3	Směs pro pozitivní kontrolu	150 µl/1 zkumavka
4	Voda prostá DNasy/RNasy (Směs pro negativní kontrolu)	1 ml/1 zkumavka

Popis

1. 2x RT-PCR směs: Bezbarvá a průhledná tekutina
2. COVID Multi detekční roztok: Bezbarvá (světle fialové zbarvená) a průhledná tekutina ve žluté zkumavce
3. Směs pro pozitivní kontrolu: Bezbarvá a průhledná tekutina
4. Voda prostá DNasy/RNasy (Směs pro negativní kontrolu): Bezbarvá a průhledná tekutina

Způsob uchovávání a doba životnosti

No	Obsah	Způsob uchovávání	Doba životnosti
1	2x RT-PCR směs		
2	COVID Multi detekční roztok	Uchovávat zamražené při teplotě pod -20 °C	12 měsíců od data výroby
3	Směs pro pozitivní kontrolu		
4	Voda prostá DNasy/RNasy (Směs pro negativní kontrolu)		

Zamýšlené použití

LiliF™ COVID-19 Multi Real-time RT-PCR Sada je medicínský prostředek pro in vitro diagnostiku založen na metodě kvantitativní (real-time) PCR spojené s reverzní transkripcí. Tato metoda je určená pro kvalitativní detekci nukleové kyseliny koronaviru kmenu 2019-nCoV z nasofaryngeálního/orofaryngeálního stěru a ze sputa jedinců trpících příznaky a symptomy infekce, u kterých je podezření na COVID-19.

Upozornění

1. Tento produkt by měl být používán specialisty (včetně zdravotnického personálu) pouze pro testy in vitro.
2. Všechny úkony musí být prováděny na čistém povrchu a je doporučeno povrch po použití vyčistit alkoholem.
3. Osoba zacházející s tímto produktem by měla být vždy opatrná a chráněná laboratorním pláštěm, rukavicemi a maskou.
4. Vzorek sebou nese risk zapříčinění vzniku infekce a neznámé choroby, proto by zácházení s ním mělo být velice opatrné, aby se předešlo infekci.
5. Nemíchejte reagenty z jiných várek tohoto produktu.
6. Zacházejte s reagenty a vzorky opatrně, abyste zabránili jejich rozstříkání při otevírání víčka a jejich následnému zachycení na vašich ústech. Proto byste měli vždy nosit masku.
7. Při zacházení s tímto produktem nepoužívejte žádné nástroje, které by mohly uživatele zranit (např. jehly, nože, atd.).
8. Pokud je koncentrace cílené nukleové kyseliny vysoká nebo jsou přítomny inhibitory, tak nemusí dojít k IPC amplifikaci. Rozředte nukleovou kyselinu sterilní destilovanou vodou a proveďte opakovaný test.
9. V případě likvidování suspektních vzorků, kontaminovaných testovacích materiálů a nástrojů, by měly být všechny nejprve inaktivovány autoklávním nebo dezinfikovány alespoň 10-30 minut za použití 70% roztoku ethanolu a 0,5% roztoku chlornanu sodného.

Příprava vzorku

※ Extrakce nukleových kyselin ze vzorku

- Použijte vhodnou sadu pro extrakci virové nukleové kyseliny nebo automatizované extrakční zařízení a extrahujte nukleovou kyselinu.
- V souvislosti s možností použití různých metod extrakce, se může výtěžek a čistota extrahované nukleové kyseliny lišit, což může ovlivnit výsledky real-time PCR analýzy.
- Doporučujeme použít automatizované zařízení pro extrakci nukleových kyselin Miracle-AutoXT extraktor nukleových kyselin a korespondující extrakční sadu AutoXT PGS DNA/RNA Kit. V případě použití metody Spin-Column doporučujeme naši sadu Patho Gene-spin DNA/RNA Extraction Kit.

Protokol

※ Příprava reagentů

1. Příprava obsahu sady
 - Připravte si požadované množství před zahájením testu.
 - Nechte plně roztát při pokojové teplotě, ale ne déle než 1 hodinu. Opětovné zamrazování a tání může mít vliv na výsledky.
 - Po roztátí produkt mírně centrifugujte a použijte roztok na dně zkumavky.
2. Voda prostá DNasy/RNasy (Směs pro negativní kontrolu) a Směs pro pozitivní kontrolu
 - Před zahájením testu nechte roztát při pokojové teplotě či na ledu 10–15 minut. Mírně promíchejte a centrifugujte. Použijte pro pozitivní templátovou kontrolu a non-templátovou kontrolu (NTC) k ujištění, že reakční směs řádně pracuje.

※ Inspekční proces

1. Připravte zkumavky vzorových detekčních směsí a stále o 2 zkumavky navíc než je počet vzorků.

Náležité množství zkumavek znamená kombinaci dalších 2 zkumavek k celkovému počtu vzorků. To zahrnuje pozitivní kontrolu a negativní kontrolu. V případě real-time PCR fluorescenční signál postupuje skrze transparentní víčko PCR zkumavky. Ujistěte se, že toto víčko není nijak označené a najděte si jiný způsob, jak tuto zkumavku odlišit.

Obsah	Vzorek	Pozitivní kontrola	Negativní kontrola
2x RT-PCR směs	10 µl	10 µl	10 µl
COVID Multi detekční roztok	5 µl	5 µl	5 µl
Vzorek	5 µl	-	-
Směs pro pozitivní kontrolu	-	5 µl	-
Voda prostá DNasy/RNasy (Směs pro negativní kontrolu)	-	-	5 µl
Celkový objem	20 µl	20 µl	20 µl



2. Přidejte 5 µl vzorku (RNA), 5 µl směsi pro pozitivní kontrolu, nebo 5 µl destilované vody (NTC) ke každé předpřipravené směsi a utěsněte zkumavky víčkem.

- Pro negativní kontrolu použijte 5 µl vody prosté DNasy/RNasy namísto genetických vzorků a pro pozitivní kontrolu použijte 5 µl směsi pro pozitivní kontrolu obsahující DNA vzorky, která je přiložená v balení.
- Real-time PCR (nebo real-time RT-PCR) je velice citlivá metoda, proto může být kontaminace snadno identifikována v negativních kontrolách. Doporučujeme věnovat pozornost kontaminaci, jako je použití špičky s filtrem a pipety pro pozitivní kontrolu.

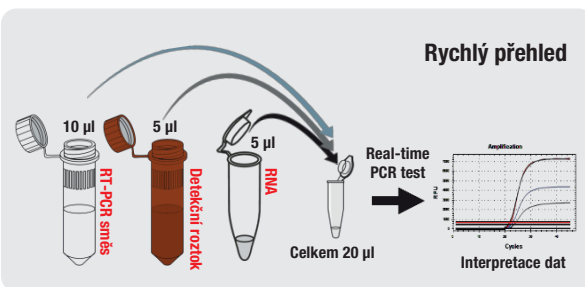
3. Zamíchejte rovnoměrně reakční roztok a odstřed'te, abyste se zbavili vzduchových bublin na dně a odstranili roztok ze stěn zkumavky.

- Při real-time PCR se zkumavky neoznačují, buďte tedy opatrní, abyste nezaměnili zkumavky během zpracování.

4. Nastavte program dle pokynů níže a zahajte PCR.

Krok	Cyklus	Teplota	Čas	Nastavení kanálu	
Reverzní transkripce/aktivace Taq	1	50 °C	30 min.	RdRP	FAM
		95 °C	10 min.	E	HEX, JOE, VIC
PCR a detekce signálu	40	94 °C	15 sek.	N	CAL610, ROX, Texas Red
		*58 °C	*60 sek.	RNase P	Cy5, Alexa Fluore647

* Krok detekce signálu.



Informace pro objednávky

No	Jméno produktu	Kat. č.
1	Lilif™ COVID-19 Multi Real-time RT-PCR sada	IPH21506
2	Miracle-AutoXT extraktor nukleových kyselin	IMC-NC15PLUS
3	AutoXT PGS DNA/RNA sada	17168-48, 17168-96
4	Patho Gene-spin DNA/RNA extrakční sada	17154, 17154.2

Analýza a interpretace výsledků

※ Nastavení parametrů

Nástroj	Kanál	Výchozí nastavení	Práh
CFX-96	FAM	3~15 nebo Auto	200 nebo Auto
	HEX	3~15 nebo Auto	200 nebo Auto
	Texas Red, CAL610	3~15 nebo Auto	200 nebo Auto
ABI 7500 fast	Cy5	3~15 nebo Auto	20,000
	FAM	3~15 nebo Auto	20,000
	JOE	3~15 nebo Auto	20,000
	Texas Red	3~15 nebo Auto	20,000
	Cy5	3~15 nebo Auto	20,000



[Cut-off]

- Hodnota Ct ≤35: pozitivní, Hodnota Ct >35 nebo N/A: negativní
- Pokud Ct hodnota RNase P je >35, je nutná opětovná extrakce a testování



Hodnota parametru pro výchozí nastavení je založena na směsi pro pozitivní kontrolu. Pokud je zaznamenán abnormální signál, hodnota nastavení může být upravena dle manuálu daného vybavení.

※ Analýza výsledků

1. Jelikož posuzování výsledků záleží na použitém PCR zařízení, je doporučeno řídit se na manuálem daného zařízení. Pro kritéria interpretace výsledků se prosím podívejte do části „Nastavení parametrů“.
2. Součástí tohoto produktu je pozitivní kontrola. Proto jeho efektivita může být posuzována podle reakce s pozitivní a negativní kontrolou. Při vyhodnocování validity se můžete odkazovat na hodnoty Ct, které jsou uvedeny v tabulce níže.

Obsah	FAM	HEX	CAL610	Cy5
Pozitivní kontrola (PC)	20~25	20~25	20~25	20~25
Negativní kontrola (non-templátová kontrola, NTC)	-	-	-	-

3. Pokud dochází k zisku abnormálních výsledků, i když je produkt skladován ve správném prostředí a v rámci lhůty skladovatelnosti, může výrobce požadovat výměnu.
2. Detekce IPC není prekvizitou při stanovování pozitivního výsledku vzorku. Dominantní amplifikace jiných kanálů může interferovat s IPC signálem, čímž může dojít k poklesu signálu nebo jeho ztrátě.

※ Interpretace

- Zkontrolujte Ct hodnotu výsledku získanou z každého vzorku.
- Hodnota Ct je pozitivní, pokud je v rozmezí cut-off kritéria, nebo negativní, pokud je mimo toto kritérium.
- Následující tabulka je příkladem posouzení výsledků. Prosím odkazujte se na interpretaci výsledků.

Případ	Pozitivní kontrola	Negativní kontrola	RdRP	E	N	RNase P	Interpretace
1	+	-	+	+	+	+/-	Detekován COVID-19
2	+	-	+	+	-	+/-	Nepřekážný výsledek*
3	+	-	-	+	+	+/-	
4	+	-	+	-	-	+/-	
5	+	-	-	+	-	+/-	Betacoronavirus pozitivní, ale COVID-19 nebyl detekován
6	+	-	-	-	-	+	Negativní
7	+	-	-	-	-	-	Chyba (proved'te test znovu)
8	+/-	+	+/-	+/-	+/-	+/-	
9	-	-	+/-	+/-	+/-	+/-	

* Doporučeno provést test znovu s větší koncentrací vzorku. Doporučeno testovat spolu se sekvenací.

- RNase P, která je použita jako vnitřní kontrola, je amplifikována, pokud je RNA extrahovaná z lidského vzorku platná. Negativní RNase P, zatímco ostatní výsledky jsou pozitivní, neovlivňuje interpretaci výsledků. Avšak pokud je RNase P vyhodnocena jako negativní a stejně tak i ostatní výsledky, znamená to, že výtěžek extrakčního procesu mohl být nízký nebo mohly být inkorporovány látky, které inhibují reakci. V tomto případě je doporučeno opětovné provedení testu.

Výkon produktu

Kritérium	Výsledek
Analytická specificita	31 DNA/RNA vzorků bylo testováno sadou Lilif™ COVID-19 Multi Real-time RT-PCR pro vyloučení možnosti zkřížené reaktivity. 31 DNA/RNA vzorků, které neobsahovaly detekční cíl, bylo vyhodnoceno negativně. * Specificita: 100 %
Analytická senzitivita	Byla testována sériově ředěná SARS CoV-2 virová RNA (3 série, 24 opakování každého testu). *Analytický senzitivita: 1) RdRp gen: 4,93×10 ² kopii/test; 2) N gen: 4,93×10 ¹ kopii/test; 3) E gen: 4,93×10 ² kopii/test
Opakovatelnost	Opakovatelnost byla potvrzena identickými standardními substancemi za různých podmínek; různá místa, časy a testeři. Testovaná vždy 3 sadami. Kritérium opakovatelnosti bylo stanoveno CV <1 % Ct hodnoty.
Bezpečnost zamrazování/tání	Bezpečnost zamrazování/tání sady Lilif™ COVID-19 Multi Real-time RT-PCR byla potvrzena 30× opakovaným testem zamrazování/tání. Kritérium bezpečnosti bylo stanoveno CV <5 % Ct hodnoty.

VYSVĚLENÍ SYMBOLŮ

LOT Číslo šarže

IVD in-vitro diagnostika

REF Katalogové číslo

Výrobce

Pozor

Datum výroby

Datum expirace

Chraňte před přímým slunečním zářením