

Nome del prodotto

Kit di rilevamento per la malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) (sonda di fluorescenza PCR)

Valutazione dell'imballaggio

48 test/ kit; 96 test/ kit

Inteso Use

Questo kit viene utilizzato per rilevare qualitativamente l'ORF1a/b, N e S (K417N, E484A) del SARS-CoV-2 nei tamponi per la gola umana o in ntamponi asofaringei. I risultati dei test vengono utilizzati per confermare l'infezione da SARS-CoV-2 e identificare la variante B.1.1.529 (Omicron) tra cui BA.1, BA.2 e BA.3.

Gli operatori sperimentali dovrebbero aver ricevuto una formazione professionale in amplificazione genica o test del metodo di biologia molecolare e avere qualifiche operative sperimentali pertinenti. Il laboratorio dovrebbe avere ragionevoli precauzioni di sicurezza biologica e procedure protettive.

Principio di prova

Questo kit utilizza la tecnologia PCR fluorescente multipla in tempo reale e la **tecnologia** della sonda LAN + MGB, i primer specifici e le corrispondenti sonde fluorescenti destinate al genoma COVID-19 progettate per un rilevamento altamente specifico. Rilevando i cambiamenti dei segnali fluorescenti, l'acido nucleico COVID-19 da un campione di tamponi per la gola o tamponi nasali può essere rilevato qualitativamente.

Componenti principali

Elementi	Nome	Spec.(48 test/ kit)	Spec.(96 test/ kit)	Costituenti
Kit di amplificazione PCR	PCR Buffer	950µL ×1 Tubo	950µL ×2 Tubo	Primers, Sonde, dNTPs
	Polimerasi Mix	50µL×1 Tubo	100µL×1 Tubo	DNA polimerasi, Transcriptasi inversa, UNG
Controllo qualità	PC-WT	400µL×1 Tubo	800µL×1 Tubo	Frammento del gene Target
	PC- B.1.1.529	400µL×1 Tubo	800µL×1 Tubo	Frammento del gene Target
	Control negativo	400µL×1 Tubo	800µL×1 Tubo	Terreno di coltura cellulare

Note:

I componenti di lotti diversi non devono essere miscelati.

Materiali di consumo richiesti: Fluorescent PCR speciale tubo a parete sottile, si consiglia di utilizzare i prodotti pertinenti di Axygen, si prega di selezionare i materiali di consumo corrispondenti in base all'uso dello strumento.

Condizioni di conservazione e validità

Il kit deve essere conservato alla temperatura di -20±5°C al buio ed evitare ripetuti congelamenti e

scongelamenti (in caso di congelamento e scongelamento, non devono superare le 4 volte), con un periodo di validità di 12 mesi. Può essere conservato a 2 ~ 8 ° C dopo l'apertura del coperchio, con un periodo di validità di 30 giorni. Il kit deve essere trasportato in una ghiacciaia.

Strumenti applicabili

Uno strumento PCR in tempo reale contenente almeno quattro canali di fluorescenza a colori, come singuway serie Singu9600, Bio-rad CFX96, ABI 7500, Roche Light Cycle 480.

Requisito del campione

1. Tipo di campione applicabile: tampone faringeo, tampone nasofaringeo.
2. Raccolta di campioni
- 2.1. Tempo del campione: il reagente non è influenzato dai sintomi clinici specifici dei pazienti.
- 2.2. Le prestazioni del test del reagente non sono influenzate quando si utilizzano i farmaci descritti nella valutazione delle prestazioni dell'analisi e il campione può essere prelevato normalmente. È meglio prelevare campioni prima di utilizzare altri farmaci non verificati.
- 2.3. Requisiti del materiale del tampone: è meglio usare un tampone a manico lungo con testa in fibra di polipropilene, selezionare la soluzione di conservazione adatta per cellule e virus. È meglio selezionare direttamente il tubo di campionamento del tampone faringeo commerciale.
3. Metodo di campionamento:
 - 3.1. Tampone faringeo: pulire le tonsille faringee su entrambi i lati del soggetto con una leggera forza avanti e indietro per almeno 3 volte, quindi pulire su e giù per la parete faringea posteriore per almeno 3 volte. Immergere la testa del tampone nel tubo della soluzione di conservazione del virus, scartare la coda e stringere il cappuccio del tubo.
 - 3.2. Ntampone asofaringeo: Il tampone portatile viene inserito nella narice e viene lentamente penetrato all'indietro lungo il fondo del passaggio nasale inferiore. Non usare troppa forza per evitare sanguinamenti traumatici. Quando la parte superiore del tampone raggiunge la parete posteriore della cavità rinofaringea, ruotarla delicatamente per un giro (in caso di tosse riflessa, dovrebbe rimanere per un po'), quindi estrarre lentamente il tampone e immergere la testa del tampone in un tubo contenente 2-3 ml di soluzione di conservazione del virus.
4. Conservazione e consegna dei campioni
 - 4.1. I campioni per il rilevamento devono essere conservati alle seguenti condizioni: meno di 24 ore a 2-8°C, meno di 1 mese a -20±5°C. Deve essere evitato un congelamento e uno scongelamento ripetuti (il congelamento e lo scongelamento non devono superare 3 volte).
 - 4.2. Una scatola di trasferimento del ghiaccio è stata utilizzata per il trasporto di campioni.

Metodo di prova

1. Estrazione di acidi nucleici (nell'area di elaborazione del campione del laboratorio)
 - 1.1. Si raccomanda di utilizzare il kit di estrazione dell'acido nucleico del virus, la colonna centrifuga o il metodo delle microsferi magnetiche di SINGUWAY BIOTECH INC. L'acido nucleico è stato estratto da circa 200µL di campione seguendo le istruzioni del kit di estrazione dell'acido nucleico..
 - 1.2. Il controllo positivo (PC-WT,PC-B.1.1.529) e il controllo negativo vano analizzati contemporaneamente ai campioni da testare.

2. Preparazione del reagente PCR (nell'area di preparazione del reagente)
 - 2.1. Preparare la soluzione di reazione PCR secondo la seguente composizione ("n" è il numero di reazioni necessarie): Add 19µL×n PCR Buffer e 1µL×n PCR Poliasi Mix in un nuovo tubo e mescolare bene.
(Notes: assicurarsi che il buffer PCR sia completamente disciolto prima dell'uso, e che la miscela PCR debba essere centrifugata prima dell'uso per garantire che tutto il liquido sia affondato sul fondo).
 - 2.2. Miscelare nuovamente la soluzione di reazione PCR preparata nella fase precedente e quindi imballare separatamente 20µL/tubo nel tubo di reazione PCR. Transfer il tubo di reazione contenente la soluzione di reazione PCR all'area di elaborazione del campione.
3. Aggiungere campioni (nell'area di elaborazione del campione)
 - 3.1. 5µL dei campioni trattati, il controllo negativo estratto e il controllo positivo sono stati rispettivamente aggiunti al tubo di reazione PCR contenente la soluzione di reazione PCR. Coprire il cappuccio, miscelare bene ed eseguire una breve rotazione per consentire alla soluzione di reazione di affondare sul fondo del tubo
4. Amplificazione PCR (Nell'area di test di amplificazione)
 - 4.1. Caricare il tubo di reazione PCR nello strumento PCR in tempo reale per l'amplificazione.
 - 4.2. Configurazione del programma di amplificazione:

Passo	Ciclo	Temperatura (°C)	Tempo(min:sec)	Raccogli il segnale di fluorescenza
1	1	25	02:00	No
2	1	50	15:00	No
3	1	95	3:00	No
4	5	95	0:10	No
		55	0:20	
		72	0:05	
5	40	95	0:10	No
		60	0:30	Si

*: Impostato su 32 secondi su ABI7500.

Selezione del canale di rilevamento dello strumento:

Channel	FAM	ESAGONALE/VIC	ROX	Cy5
Signal	S: K417N	ORF1a/b+N	IC	S:E484A

5. Qc standard
 - 5.1. Controllo negativo: i risultati di FAM, HEX / VIC, CY5 channels sono negativi, mentre il risultato del canale ROX è positivo e Ct≤37.
 - 5.2. Controllo positivo PC-WT: il risultato del canale HEX/VIC è positivo e Ct≤37.
 - 5.3. Controllo positivo PC-B.1.1.529: Tutti i canali FAM, HEX/VIC, CY5 sono positivi e Ct≤37.
 - 5.4. Gli elementi di cui sopra devono essere soddisfatti contemporaneamente in un esperimento, altrimenti questo esperimento non è valido e l'esperimento deve essere ripetuto.
6. Analisi dei risultati
 - 6.1. Dopo l'esperimento, analizzare secondo il software degli strumenti correlati, regolare la

tolleranza al rumore al di sopra del rumore di base.

- 6.2. Il principio di impostazione della soglia è che la linea di soglia supera appena il punto più alto della normale curva di controllo negativa (linea di rumore irregolare), 6-15 aree di circolazione sono state generalmente selezionate per la linea di base.
- 6.3. Registrare il valore Ct del campione calcolato mediante l'analisi automatica dello strumento.

Risultato

1. Determinazione del risultato relativo sars-CoV-2 n: Se la curva di amplificazione del canale FAM(S: K417N), HEX/VIC(ORF1a/b+N), CY5(S: E484A) del canale non ha una curva di crescita logaritmica significativa, mentre il risultato del canale ROX(IC) è positivo e il valore Ct è ≤37, il risultato è SARS-CoV-2 negativo(-).
2. Determinazione dei risultati positivi di SARS-CoV-2: Se il canale HEX/VIC(ORF1a/b+N) ha una curva di crescita logaritmica e il valore Ct è ≤37, il risultato ha determinato che SARS-CoV-2 è positivo.
3. Determinazione dei risultati positivi della variante B.1.1.529 (Omicron):
Se i canali FAM(S: K417N), HEX/VIC(ORF1a/b+N), CY5(S: E484A) hanno una curva di crescita logaritmica e il valore Ct è ≤37, il risultato ha determinato che la variante B.1.1.529 (Omicron) è positiva.

Tabella 1. Il giudizio di risultati diversi.

Interpretazione	Detection Target				Qualità Control		
	FAM (K417N)	ESAGONALE/VIC (ORF1a/b+N)	ROX (IC)	Cy5 (E484A)	PC-WT	PC-B.1.1.529	NC
SARS-CoV-2 Negativo	-	-	+	-	+	+	-
SARS-CoV-2 Positivo	-	+	+/-*	-	+	+	-
Informazioni sumicron Positive	+	+	+/-*	+	+	+	-
INVALIDO	+/-	-	+/-*	+/-	+/-	+/-	+/-
INVALIDO	+/-	+/-	+/-*	+/-	+/-	+/-	+

*: Quando la concentrazione del virus è troppo alta, l'amplificazione dell'IC può essere inibita.

(+) : con curva di amplificazione a forma di "S" e il valore Ct è ≤37.

(-) : senza curva di amplificazione .

4. Area grigia sperimentale: se il canale FAM(S: K417N), HEX/VIC(ORF1a/b+N), CY5(S: E484A) ha solo una curva di crescita logaritmica e un valore 37<Ct<40, il risultato viene determinato come situato nell'area grigia sperimentale e il campione deve essere ricontrollato. Se c'è un'evidente curva di crescita logaritmica nel risultato del nuovo test, il risultato può essere giudicato positivo; se non c'è una curva di crescita logaritmica evidente, il risultato è negativo.
5. Le operazioni di "ricontrollo" menzionate nei passaggi 4 sono le seguenti: Si consiglia di concentrare il campione: prelevare 1 ml di campione ben miscelato; centrifugare 12000 giri /min per 5 minuti a 4°C; rimuovere con cura il surnatante e lasciare circa 200µL di strato inferiore come campione. Quindi eseguire l'estrazione e l'amplificazione come il campione generale.

Valore di cut-off (CO) o intervallo di riferimento

La soglia di riferimento Ct value di questo kit è pari a 37.

Limitazioni del metodo di test

1. Possibilità di analisi dei risultati falsi negativi.
 - 1.1 La raccolta, il trasporto e l'elaborazione impropri dei campioni o le goccioline di virus troppo basse nei campioni possono causare risultati falsi negativi.
 - 1.2 I risultati falsi negativi possono essere causati da mutazioni della sequenza bersaglio di COVID-19.
 - 1.3 Per il COVID-19, il tipo di campione più adatto e il miglior tempo di campionamento dopo l'infezione potrebbero non essere confermati. Pertanto, la possibilità di risultati falsi negativi sarà ridotta se i campioni vengono raccolti in più parti e volte nello stesso paziente (secondo il rapporto corrente, il tasso di rilevamento dei falsi negativi può essere efficacemente ridotto dopo che la miscela di tampone rinofaringeo e tampone orofaringeo è stata raccolta contemporaneamente).
 - 1.4 Altri fattori non verificati.
2. Se la contaminazione incrociata non è stata ben controllata durante la raccolta, il trasporto e la lavorazione dei campioni, possono verificarsi risultati falsi positivi.

Indice di performance del prodotto

1. Limite minimo di rilevamento (sensibilità all'analisi):
La sensibilità al saggio di questo reagente è stata di 500 copie/mL.
2. Test di riferimento aziendale
 - 2.1 Sono stati testati cinque campioni di riferimento positivi per l'impresa e otto campioni di riferimento negativi e il tasso di coincidenza è stato del 100%.
 - 2.2 Sensibilità di riferimento di incidenza L (ORF1a/b+N, S:K417N, S:E484A) rilevata 20 volte rispettosamente, almeno 17 volte positiva.
 - 2.3 Un riferimento di precisione aziendale con 1×10^4 copie/mL di B.1.1.529 pseudo virus wcome eseguito rispettivamente per 10 test, e il CV del valore Ct non era superiore al 3%.
3. Specificità dell'analisi
 - 3.1 Reazione incrociata:
I virus al di sotto delle seguenti concentrazioni non hanno ioni di reazione incrociata con questo kit.

Nome di esempio	Concentrazione	Nome di esempio	Concentrazione
Influenza A (H1N1)	1.1×10^5 TCID50/ml	Un flusso (H3N2)	10×2^6 TCID50/ml
Influenza B	3.2×10^8 TCID50/ml	Virus respiratorio sinciziale di tipo B	8.9×10^8 TCID50/ml
Adenovirus (Tipo 3)	$3,2 \times 10^5$ TCID50/ml	Rhinovirus Tipo 1A	3×10^7 TCID50/ml
Adenovirus (tipo 7)	$1,1 \times 10^6$ TCID50/ml	Chlamydia pneumoniae	10×6^5 CFU/ml

Coronavirus umano HCOV-OC43	3.7×10^7 TCID50/ml	Coronavirus umano HCOV-HKU1	3.8×10^5 PFU/ml
Citomegalovirus	1.9×10^6 PFU/ml	Mycoplasma pneumoniae	1.2×10^5 CFU/ml
Enterovirus EV71	2.1×10^5 PFU/ml	Mycobacterium tuberculosis	1×10^8 CFU/ml
Virus della parainfluenza umana (tipo 1)	$1,7 \times 10^7$ TCID50/ml	Legionella pneumophila	3.3×10^9 CFU/ml

3.2 Sostanze interferenti:

Le sostanze interferenti endogene, come la secrezione di sangue e rinofaringe, non interferiscono con il rilevamento di questo kit. Zanamivir, epinefrina, budesonide, zolfo, Jinying, mentolo, mupirocina e tobramicina, che sono farmaci terapeutici comuni, non interferiscono con i risultati dei test di questo kit.



















Avviso

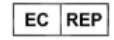
1. Questo prodotto viene utilizzato solo per la diagnosi in vitro; si prega di leggere attentamente questo manuale prima dell'uso.
2. Al fine di evitare qualsiasi potenziale pericolo biologico nel campione, il campione di prova è considerato una sostanza infettiva per evitare il contatto con la pelle e le mucose; si raccomanda di utilizzare il campione nell'armadio di biosicurezza che può impedire il deflusso della nebbia d'aria e il funzionamento e il trattamento del campione devono soddisfare i requisiti delle leggi e dei regolamenti pertinenti.
3. La sostanza di controllo positiva del kit è l'acido nucleico sintetico artificiale che non ha potenziale infettività; Sebbene abbia superato i test di HBs-Ag, HIV1/2-Ab, HCV-Ab e altri articoli, fino ad ora, non esiste un test in grado di garantire la sicurezza assoluta, quindi i componenti di cui sopra devono essere trattati come sostanza infettiva durante il funzionamento.
4. Gli operatori sperimentali devono aver ricevuto la formazione professionale di amplificazione genica o di individuazione di metodi biologici molecolari e possedere la relativa qualifica di operazione sperimentale. Il laboratorio è dotato di adeguati impianti di prevenzione della biosicurezza e procedure di protezione e la gestione del laboratorio deve essere effettuata in stretta conformità con le specifiche di gestione dei pertinenti laboratori nazionali di biologia molecolare e dei laboratori clinici di amplificazione genica. Il processo sperimentale deve essere effettuato in diversi settori quali l'area di preparazione dei reagenti, l'area di preparazione dei campioni, l'area di amplificazione e l'area di analisi del prodotto. In ogni fase dell'operazione sperimentale devono essere utilizzati strumenti e attrezzature speciali e le forniture in ciascuna fase di ciascuna zona non devono essere utilizzate in modo intercambiabile. Devono essere stabiliti requisiti rigorosi per il flusso di personale e il flusso d'aria in ciascuna sezione al fine di evitare la massima contaminazione incrociata. I materiali di consumo, come il tubo centrifugo, la testa di aspirazione, ecc. per l'esperimento devono essere adeguate procedure di pulizia e controllo della qualità per evitare la contaminazione da RNasi o l'amplificazione di inibitori reattivi con risultati falsi negativi.
5. Ogni componente del kit deve essere completamente fuso e scosso prima dell'uso, ma è

necessario evitare ripetuti congelamenti-scongelamenti (in caso di congelamento e scongelamento, non devono superare le 4 volte). Il reagente nel tubo della centrifuga deve essere centrifugato per alcuni secondi prima dell'uso.

6. Dopo aver completato l'estrazione dell'acido nucleico del campione, si consiglia di condurre immediatamente l'esperimento successivo. In caso contrario, conservare il campione a $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ e completare il test entro una settimana. I prodotti di pirolisi del campione conservati a $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ devono essere scongelati a $2 \sim 30^{\circ}\text{C}$ prima dell'aggiunta del campione e utilizzati dopo una centrifugazione di breve durata.
7. Quando i reagenti sono confezionati separatamente, le bolle dovrebbero essere evitate il più possibile. Prima di caricare, si prega di prestare attenzione a verificare se il coperchio di ciascun tubo di reazione è stretto, in modo da evitare perdite di sostanze fluorescenti e contaminazione dello strumento.
8. Dopo l'esperimento, sono necessari 50ppm ~ 2000ppm ipoclorito di sodio o alcool al 75% e lampada a raggi ultravioletti per trattare il tavolo e la pipetta.
9. Secondo l'attuale esperienza dell'epidemia, il virus può sopravvivere a lungo nell'intestino. Si consiglia di misurare il tampone anale allo stesso tempo.
10. I rifiuti sanitari generati nel test devono essere trattati in conformità con le normative locali.

Simboli

Etichetta a	Istruzione	Etichetta	Istruzione	Etichetta	Istruzione
	Dispositivo medico-diagnostico o in vitro		Cautela		Numero di catalogo
	Consultare le istruzioni per l'uso		Non riutilizzare		Codice lotto
	Rischi biologici		Conservare asciutto		Data di fabbricazione
	Oggetti fragili, maneggiare con cura		Fabbricante		Data di scadenza
	Ascensionale		Marchio CE		Contiene un numero sufficiente per i test <n>
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata		Limite di temperatura		Ombreggiamento

Etichetta a	Istruzione	Etichetta	Istruzione	Etichetta	Istruzione
	Limite di impilamento per numero		Rappresentante e autorizzato nella Comunità Europea		

Informazioni di base

Produttore: SINGUWAY BIOTECH INC.

Aggiungi: B1302, Life Science Park, Shen Cheng Tou Innovation Factory, Julongshan A Road, Xiuxin Community, Kengzi Street, Pingshan District, Shenzhen City, 518122 Guangdong, P.R. Cina

Tel: +86-755-23704711 Web: www.singuway.com

CMC Medical Devices & Drugs SL

Aggiunto: C/ Horacio Lengo N° 18, CP 29006, Málaga, Spagna

Telefono: +34951214054 Fax: +34952330100

C/Horacio Lengo N° 18, CP 29006, Málaga-Spagna

Data di approvazione e data di modifica del disciplinare

Febbraio 08, 2022