

GeneFinder™ COVID-19 Fast RealAmp Kit

사용 목적

본 제품은 호흡기 감염병 의심 환자의 상기도 및 하기도 검체에 SARS-CoV-2 유전자(N gene, RdRP gene, E gene)를 실시간 전사증합효소연쇄반응법 (Real-time RT-PCR)으로 정성하여 SARS-CoV-2 바이러스 감염 여부 진단에 도움을 주는 체외진단 의료가기이다.

시약의 명칭 및 구성

본 제품 (GeneFinder™ COVID-19 Fast RealAmp Kit)은 체외진단용 시약으로 COVID-19 Fast Reaction Buffer, COVID-19 Fast Enzyme Mixture, COVID-19 Fast Probe Mixture, COVID-19 Fast Positive Control, COVID-19 Fast Negative Control, DEPC Water로 구성된다.

본 제품은 1Kit당 100회 테스트가 가능하다.

#	명칭	외관상 특징	Cap Color	Volume
1	COVID-19 Fast Reaction Buffer	투명한 플라스틱 용기에 담겨 있는 무색 투명의 용액	보라색	1 X 400μl
2	COVID-19 Fast Enzyme Mixture	투명한 플라스틱 용기에 담겨 있는 무색 투명의 용액	노란색	1 X 200μl
3	COVID-19 Fast Probe Mixture	암갈색 플라스틱 용기에 담겨 있는 연보라색을 띄는 용액	흰색	1 X 500μl
4	COVID-19 Fast Positive Control	투명한 플라스틱 용기에 담겨 있는 무색 투명의 용액	붉은색	1 X 50μl
5	COVID-19 Fast Negative Control	투명한 플라스틱 용기에 담겨 있는 무색 투명의 용액	초록색	1 X 50μl
6	DEPC Water	투명한 플라스틱 용기에 담겨 있는 무색 투명의 용액	파란색	1 X 400μl

사용설명서 1부 (Quick Manual)

사용 방법

- 필요한 장비 및 재료 -

- Applied Biosystems™ 7500 Fast Real-time PCR Instrument system or Applied Biosystems™ QuantStudio 5 Real-Time PCR Instrument System or CFX96™ Real-Time PCR Detection System.
- Pipettes and Pipettes tips with aerosol barrier.
- vortex mixer.
- Centrifuge with rotor for microtiter plates.
- Disposable powder-free gloves.

1) 검체 준비

- (1) 본 진단 제품에 사용될 샘플은 사람의 상기도 및 하기도 검체로부터 추출한 RNA이다.
- (2) RNA의 추출은 상용화된 추출 키트 (QIAamp DSP viral RNA Mini Kit, QIAGEN 및 MagNa Pure 96, Roche)를 사용할 것을 권장한다.

2) 검사 전 준비 과정

- (1) 해당 장비의 준비
실행하고자 하는 Real-Time PCR 장비를 사용할 수 있도록 warming up 및 software를 실행시킨다. 장비의 사용법은 매뉴얼을 참고한다.
- (2) 시약
냉동 보관 시약은 검사하기 전에 상온에서 완전히 녹인 후 사용한다.

3) 검사 과정

- (1) RNA 추출
사용화된 RNA 추출 키트 (QIAamp DSP Viral RNA Mini Kit, QIAGEN 및 MagNa Pure 96, Roche)의 사용을 권장한다.
- (2) Master mixture의 제조
 - ① 4μl DEPC Water, 4μl COVID-19 Fast Reaction Buffer, 2μl COVID-19 Fast Enzyme Mixture와 5μl COVID-19 Fast Probe Mixture를 혼합하여 필요한 만큼의 Master mixture를 제조한다.
 - ② Master mixture 15μl를 각각의 well에 분주하고, 검체로부터 추출한 RNA 5 μl를 첨가한다. Positive Control과 Negative Control도 동일한 방식으로 준비한다.
 - ③ Real-time PCR 장비에 96 well plate/8-strips을 장착하여 “(3) Real-time PCR 조건 설정 및 실행” 조건에 따라 장비를 실행시킨다.

Reagent	1	3	5	Total volume of Master mixture
DEPC Water	4 μl	12 μl	20 μl	4 X (n+3)
COVID-19 Fast Reaction Buffer	4 μl	12 μl	20 μl	4 X (n+3)
COVID-19 Fast Probe Mixture	5 μl	15 μl	25 μl	5 X (n+3)
COVID-19 Fast Enzyme Mixture	2 μl	6 μl	10 μl	2 X (n+3)
Total	15 μl	45 μl	75 μl	15 X (n+3)

- Pipetting error로 인한 Master mixture의 부족함을 막기 위해 1 sample 분량을 여분으로 더 준비한다.
- Total Master mixture number = n sample + 1 Positive Control + 1 Negative Control + 1 extra

(3) Real-time PCR 조건 설정 및 실행

Cycle	Temp.	Time		
		ABF	QS5	CFX96
1 cycle	50 °C	5 min	5 min	5 min
1 cycle	95 °C	20 sec	20 sec	20 sec
45 cycle	95 °C	1 sec	1 sec	1 sec
	58°C*	30 sec	20 sec	5 sec

* “Collect data”를 선택한다.

Target	ABF	QS5	CFX96
RdRp gene	FAM	FAM	FAM
N gene	JOE	VIC	VIC
E gene	Texas Red	ROX	Texas Red
IC	Cy5	Cy5	Cy5

NO Quencher, Reference Dye None

4) 결과 분석

아래 조건에 따라 장비에 맞는 Threshold와 Baseline 값을 설정하여 분석을 수행한다

Target	Threshold			Baseline	
	ABF	QS5	CFX96	Begin	End
RdRp gene	100,000	75,000	1,000	3	15
N gene	50,000	50,000	500	3	15
E gene	50,000	50,000	500	3	15
IC	10,000	10,000	100	3	15

5) 결과 해석

#	RdRP	N	E	IC	Assay Result
1	≤40	≤40	≤40	≤35*	COVID-19 (+)
2	≤40	≤40	U.D**	≤35	COVID-19 불확정 [†] (Inconclusive)
3	≤40	U.D	≤40	≤35	
4	≤40	U.D	U.D	≤35	
5	U.D	≤40	≤40	≤35	
6	U.D	≤40	U.D	≤35	
7	U.D	U.D	≤40 ^{††}	≤35	Negative
8	U.D	U.D	U.D	≤35	
9	U.D	U.D	U.D	U.D	Invalid (re-test)

[†] 샘플의 농도를 높여서 재검사 진행 후, 결과가 동일하면 COVID-19 양성

^{††} E gene만 검출 될 경우 SARS-CoV-2가 아닌 다른 베타코로나바이러스의 가능성이 있음

* 높은 양성 결과가 나타나는 well에서는 Internal control의 증폭이 약하거나 보이지 않을 수 있음

** U.D : Undetermined (or N/A : Not Applicable)

6) 정도 관리 (Quality Control)

제품의 사용설명서에 따라 COVID-19 Fast Positive Control과 COVID-19 Fast Negative Control의 시험 결과가 다음과 같이 측정되어야 한다.

#	FAM	Texas Red / ROX	JOE / VIC	Cy5
PC	≤35	≤35	≤35	≤35
NC	U.D or N/A	U.D or N/A	U.D or N/A	U.D or N/A

성능

1) 분석적 특이도

GeneFinder™ COVID-19 Fast RealAmp Kit의 특이도를 평가하기 위하여 자사에서 보유중인 표준균주(출처: 연구소중앙센터(KNRRC) 및 국가병원 체자원은행 (NCCPI)) DNA/RNA 30종을 대상으로 실험을 하였다. 제품 3개 로트와 1ng/μl농도의 표준균주 핵산을 이용하여 3회 반복 시험한 결과 SARS-Coronavirus를 제외한 모든 균주에서 교차반응이 일어나지 않음을 확인했다.

#	Name	#	Name
1	Human coronavirus 229E	16	Respiratory Syncytial Virus
2	Human coronavirus OC43	17	Rhinovirus
3	Human coronavirus HKU1	18	Chlamydia pneumoniae
4	Human coronavirus NL63	19	Haemophilus influenzae
5	SARS-coronavirus	20	Legionella pneumophila
6	MERS-coronavirus	21	Mycobacterium tuberculosis
7	Adenovirus (e.g. C1 Ad. 71)	22	Streptococcus pyogenes
8	Human Metapneumovirus (hMPV)	23	Bordetella pertussis
9	Parainfluenza virus 1	24	Mycoplasma pneumoniae
10	Parainfluenza virus 2	25	Pneumocystis jirovecii (PJP)
11	Parainfluenza virus 3	26	Candida albicans
12	Parainfluenza virus 4b	27	Pseudomonas aeruginosa
13	Influenza A virus (H1N1)	28	Staphylococcus epidermis
14	Influenza B virus	29	Streptococcus pneumoniae
15	Enterovirus (e.g. EV68)	30	Streptococcus salivarius

2) 분석적 민감도

GeneFinder™ COVID-19 Fast RealAmp Kit의 검출 한계를 평가하기 위해 COVID-19의 Target RNA를 이용하여 자사 제품 3개 로트를 이용하여 5, 2, 1, 0.2 copies/μl에서 20회 반복 시험한 결과를 통해 아래 검출한계를 확인했다

Target	LoD (copies/μl)
RdRp gene	5
E gene	5
N gene	2

3) 반복성/재현성

GeneFinder™ COVID-19 Fast RealAmp Kit의 반복성/재현성을 확인하기 위해, 3 가지 농도의 표준물질을 대상으로 제조일이 서로 다른 Lot 간, 검사자 간, 시험장 소 간의 재현성은 실험 결과 CV % 적정범위 (<5 CV%)내에서 값이 확인되었으며 5일간 하루에 2회씩, duplicate로 진행된 반복성은 기준 값 (CV % 기준 5% 이내)에 부합하였다.

4) 임상적 성능

기 허가된 제품을 통해 양/음성이 판정 된 임상검체 (양성-객담:100개, 구인두 및 비인두 가검물:100개 / 음성-객담:200개, 구인두 및 비인두 가검물:200 개)를 사용하여 시험했을 때 대조제품과 모두 일치함을 확인했다.

사용 시 주의사항

- (1) 본 제품은 체외진단의료기기입니다.
- (2) 본 제품은 의료인을 포함한 전문가만 사용 가능한 제품입니다. 제품을 사용하기 전에 반드시 사용자 매뉴얼을 읽고 숙지하시기 바랍니다.
- (3) 0.1% v/v 치아염소산나트륨(sodium hypochlorite)을 이용하거나 또 다른 소독제를 사용하여 검체가 사용된 주변을 청소하고 소독하시기 바랍니다.
- (4) 사용한 모든 검체, 시약 또는 다른 잠재적인 오염 물질을 규제에 따라서 처리하고 폐기하시기 바랍니다.
- (5) 실험 시 보편적인 주의사항을 반드시 따르며, 검체를 다룰 시 감염을 일으킬 수 있는 가능성을 내포하고 있으므로 조심하여 취급하시기 바랍니다.
- (6) 본 제품 및 검체를 다루는 동안 마스크, 일회용 장갑 등의 보호 장비를 착용하여야 합니다.
- (7) 실험 후에는 반드시 손을 깨끗하게 세척하시고 사용한 일회용 장갑은 생물학적 위험 폐기물로 처리하시기 바랍니다.
- (8) 생물학적 샘플과 접촉한 모든 구성물은 반드시 폐기 전에 120°C에서 20~30분 고온멸균 후 폐기 처분하시길 바랍니다.
- (9) 본 제품 및 검체를 다루는 공간에서는 흡연, 음식물 섭취, 음로수 섭취 및 화장을 하지 마십시오.
- (10) 절대로 입으로 파이펫팅 하지 마십시오.
- (11) 제품 박스 및 모든 구성품의 라벨에 적혀있는 유효기간을 준수하여 사용하시기 바랍니다.
- (12) 유효기간이 지난 제품은 사용하지 마십시오.
- (13) Aerosol-resistant tip을 사용하고 시약 사용 시 매번 새로운 tip을 사용하시기 바랍니다.
- (14) 모든 구성 시약은 반드시 권장 온도에서 보관하시기 바랍니다.
- (15) 서로 다른 배치의 제품의 구성물을 혼합하여 사용하지 마십시오.
- (16) 제품은 DNA 오염원으로부터 멀리 떨어진 곳에 보관하시기 바랍니다.
- (17) 모든 실험실 소모품 등은 반드시 멸균된 것을 사용하고, 재사용을 금합니다.
- (18) 제품이나 구성품의 변형 또는 파손이 일어난 경우 제품의 안정성이 떨어지거나 손상이 나타날 수 있습니다.
- (19) 모든 기구 및 장비는 주의 깊게 다루며, 정도관리 및 캘리브레이션 등에 대해서는 제조사의 매뉴얼에 따르시기 바랍니다.
- (20) 실험에 사용되는 본 제품의 구성 시약 및 샘플의 양을 임의로 변형하거나 사용방법에서 권장하는 방법이 아닌 다른 방법을 사용하지 마십시오.
- (21) Probe Mixture 시약은 반드시 어두운 곳에 냉동 보관하십시오.
- (22) 이 제품에 의해 산출되는 결과는 다른 임상적, 실험적 결과와 함께 해석되어야 합니다. 제조사에서 권장하지 않은 실험 방법에 의한 잘못된 결과는 사용자에게 책임이 있습니다.
- (23) 이 제품은 사람의 생물학적 샘플을 사용하므로 이에 알맞은 방법에 의해 RNA가 추출되어야 합니다.
- (24) 오염된 RNA를 이용하여 이 제품에 사용하지 마십시오. 유효하지 않은 결과가 발생할 수 있습니다.
- (25) 약제에 의한 저해효과에 대한 데이터는 제공하지 않습니다.
- (26) 헤파린과 같은 물질은 PCR 저해제이므로 사용을 금합니다.

보관 및 취급방법

구성품	개봉여부	보관조건	사용기한 (제조일로부터)
COVID-19 Fast Reaction Buffer	미개봉	-20°C (냉동보관)	12개월
	개봉	-20°C (냉동보관)	6개월
COVID-19 Fast Enzyme Mixture	미개봉	-20°C (냉동보관)	12개월
	개봉	-20°C (냉동보관)	6개월
COVID-19 Fast Probe Mixture	미개봉	-20°C (냉동보관)	12개월
	개봉	-20°C (냉동보관)	6개월
COVID-19 Fast Positive Control	미개봉	-20°C (냉동보관)	12개월
	개봉	-20°C (냉동보관)	6개월
COVID-19 Fast Negative Control	미개봉	-20°C (냉동보관)	12개월
	개봉	-20°C (냉동보관)	6개월
DEPC Water	미개봉	-20°C (냉동보관)	12개월
	개봉	-20°C (냉동보관)	6개월

* 냉·해동 가능 횟수 : 12회

* 사용기한은 용기의 외장 또는 박스를 참조하시기 바랍니다.

기호(Symbol)

Symbol	Description
	사용설명서 (CONSULT INSTRUCTIONS FOR USE)
	온도 상한선 (UPPER LIMIT OF TEMPERATURE)
	경고 (CAUTION)
	사용기한 (USE BY)
	제조사 (MANUFACTURER)
	로트(배치)번호 (BATCH CODE)
	카탈로그 번호 (CATALOGUE NUMBER)

제조번호 및 사용기한 : 제품 외장에 표기

제조사 : (주)오상헬스케어
14040 경기도 안양시 동안구 안양천동로 132
TEL. (031) 460 - 0300
FAX. (031) 460 - 9933
WEB. <http://www.osanghc.com>

허가 번호 : 체외제허21-329호
제품명 : GeneFinder COVID-19 Fast RealAmp Kit
모델명 : IFMR-49
품목명 : 고위험성감염체유전자검사시약
포장단위 : 100 Tests/Kit