

NAUDOJIMO INSTRUKCIJA



“GeneProof” SARS-CoV-2 nustatymui skirtas PGR rinkinys

REF COV2/GP/100



In vitro diagnostikos medicinos prietaisai.

Rinkinys buvo pagamintas pagal EB direktyvos 98/79/EB reikalavimus, kaip in vitro diagnostikos medicinos prietaisai, ir yra skirtas profesionaliam naudojimui specializuotose klinikinėse ir tyrimų laboratorijose.

RINKINĮ SUDARANTYS KOMPONENTAI

#	PAVADINIMAS	Tūris	COV2S/GP/100
1	Pagrindinis mišinys ("MasterMix")	375 µl	4
2	Teigiama kontrolė	200 µl	2
3	Vidinė kontrolė	250 µl	4

LAIKYMO IR GABENIMO SĄLYGOS

Rinkinys turi būti gabenamas -20°C arba žemesnėje temperatūroje. Jei laikoma nurodytoje temperatūroje (-20 ± 5°C), rinkinys išlieka stabilus iki tinkamumo naudoti termino, nurodytos ant pakuotės. Komponentai išlieka stabilūs atliekant daugiausiai 3 pakartotinius užšaldymo/atšildymo ciklus arba daugiausia 14 dienų po pirmo konkretaus buteliuko panaudojimo (atsižvelgiant į tai, kuris pirmesnis).

TECHNINĖ SPECIFIKACIJA

Tikslinė seka
Analitinis specifiškumas
Patvirtintas mėginys
Aptikimo kanalai
Jautrumas (*su 95 % tikimybe)

RdRp, N ir E genai.
SARS-CoV-2, 100%, nustatymas pagrįstas PSO rekomenduojamu metodu (Corman ir kt., 2020).
tamponas, transportavimo terpė
FAM, HEX, Cy5

Mėginio apdorojimas	Kanalas	Jautrumas	Kontrolė	Profilis
"GeneProof PathogenFree RNA Isolation Kit"	FAM	79,49 cp/ml*	Qnostics SARS-CoV-2 Medium Q Control	COVID TOUCH
	Cy5	364,82 cp/ml*		
"GeneProof Universal Nucleic Acid Extraction Kit"	FAM	59,95 cp/ml*		
	Cy5	349,34 cp/ml*		
"croBEE NA16 Nucleic Acid Extraction System"	FAM	314,44 cp/ml*	Traceability to Qnostics SARS-CoV-2 Medium Q Control	UNI PCR
	Cy5	612,27 cp/ml*		
Tiesioginis nustatymas (NUCLISWAB® COVID-19 VTM)	FAM	519 cp/ml		

Kokybės kontrolė
Reguliavimo statusas

Buvo tiriama išorinės kokybės vertinimo programų paslaugas teikiančiose grupėse "Instand e.V." ir "QCMD"
CE IVD

Kokybės vadybos sistema sertifikuota pagal ČSN EN ISO 13485 red. 2: 2016 standarto reikalavimus.

METODO PRINCIPAS

PGR rinkinys skirtas nustatyti SARS-CoV-2, naudojant atvirkštinės transkripcijos realaus laiko polimerazės grandininės reakcijos (PGR) metodą. Rinkinys aptinka specifines viruso genomo sekas (RdRp, E ir N genus) vienos reakcijos metu. Pakartotinių ciklų mechanizmas užtikrina maksimalų jautrumą ir aptikimo specifiškumą. RdRp/E buvimą rodo padidėjusi fluorescencija FAM kanale, tuo tarpu padidėjusi fluorescencija Cy5 kanale patvirtina N geno buvimą. Į rinkinį įeina vidinė kontrolė (IC), kuri naudojama kaip viso diagnostikos proceso, t.y. RNR gryninimo efektyvumo, atvirkštinės transkripcijos etapo efektyvumo (RNR transkripcija į cDNA) ir PGR amplifikacijos efektyvumo (PGR slopinimas), kontrolė. Teigiama IC amplifikacija nustatoma fluorescencijos kanale HEX fluoroforui. PGR rinkinys skirtas *in vitro* diagnostikai ir leidžia atlikti kokybinį įvertinimą. Jis naudoja „hot start“ technologiją, kuri sumažina nespecifinių reakcijų tikimybę ir užtikrina maksimalų jautrumą. Šiam tikslui yra naudojamas parengtas naudoti pagrindinis mišinys ("MasterMix").

NAUDOJIMO INSTRUKCIJA

Mėginio paėmimas ir laikymas

Tamponai: mėginiai turi būti surenkami naudojant sausus sterilius nailono tamponus arba nedelsiant įdedant juos į viruso transportavimo terpę. Mėginiai laikomi 4°C temperatūroje ir apdorojami per 72 valandas nuo paėmimo. Ilgesnį laiką mėginiai gali būti laikomi -70°C temperatūroje.

Nukleorūgščių gryninimas

Nukleorūgščių gryninimas gali būti atliekamas naudojant komerciškai prieinamus gryninimo rinkinius pagal tam tikros klinikinės medžiagos gryninimo protokolus. Gamintojas rekomenduoja šiuos gryninimo rinkinius:

Terpė	Gryninimo rinkinys			Tiesioginis nustatymas
	"GeneProof PathogenFree RNA Isolation Kit"	"GeneProof Universal Nucleic Acid Extraction Kit"	"croBEE NA16 Nucleic Acid Extraction System"	
"ESwab"	TAIP	NE	NE	NE
"UTM"	TAIP	TAIP	TAIP	NE
"eNAT"	TAIP	TAIP	TAIP	NE
"PBS"	TAIP	TAIP	TAIP	NE
Vanduo be nukleazės	-	-	-	TAIP
"-NUCLISWAB® COVID-19 vtm"	-	-	-	TAIP

Gryninimo proceso pradžioje tiesiogiai į mėginį įdėkite vidinės kontrolės (IC), kad 1 µl eliuento tūrio būtų 0,1 µl IC:

Eliuento tūris	25 µl	50 µl	100 µl	200 µl
Vidinė kontrolė	2,5 µl	5 µl	10 µl	20 µl

Tiesioginis nustatymas

Mėginio paruošimo procedūra tiesioginiam aptikimui be nukleorūgščių gryninimo:

Naudojimo instrukcija

© "GeneProof a.s."

1/2

www.geneproof.com

- **10 µl vidinės kontrolės (IC)** įdėkite į **90 µl mėginio**, inkubuokite klinikinį mėginį **sauso kaitinimo bloke 10 minučių 90°C temperatūroje** (po 5 minučių trumpai pamaišykite naudodami purtyklę ir tęskite inkubaciją).
- **Centrifuguokite** mėginį **11 000 g greičiu 1 minutę**.
- Įdėkite mėginį į šaldantį stovėlį ir aušinkite **10 minučių 4°C temperatūroje**.
- Paruoštas mėginys (supernatantas) naudojamas tiesioginiam nustatymui PGR metodu.

PRIETAISAI

Šis diagnostikos rinkinys skirtas naudoti su įvairių gamintojų realaus laiko PGR prietaisais:

“croBEE” realaus laiko PGR sistema
 “Applied Biosystems 7500” realaus laiko PGR sistema
 “AriaMx” realaus laiko PGR sistema
 “CFX96™/ Dx” realaus laiko PGR nustatymo sistema
 “LineGene 9600 Plus”
 “LightCycler® 480”
 “LineGene 9600 Plus”
 “QuantStudio™ 3 / 5” realaus laiko PGR sistema
 “Rotor-Gene 3000 / Q”
 “SLAN®” realaus laiko PGR sistema

Slenkstinė vertė FAM kanale turi būti 10% teigiamos kontrolės fluorescencijos vertės

“GeneProof” diagnostikos rinkiniai nuolat tikrinami naudojant įvairius prietaisus. Dabartinį sąrašą galite rasti interneto svetainėje www.geneproof.com arba paprašykite sąrašo siųsdami elektroninį laišką adresu support@geneproof.com.

PGR procedūra

1. Naudodamiesi purtykle, švelniai išmaišykite ir trumpai centrifuguokite pagrindinio mišinio („MasterMix“) ir teigiamos kontrolės mėgintuvėlius
 2. Į PGR mėgintuvėlius įpilkite 15 µl pagrindinio mišinio („MasterMix“).
 3. Į PGR mėgintuvėlius įpilkite 10 µl izoliuotos nukleorūgšties mėginio arba 10 µl teigiamos kontrolės ir sumaišykite kelis kartus pipetuodami. Bendras reakcijos mišinio tūris bus 25 µl.
 4. Uždarykite mėgintuvėlius, juos trumpai centrifuguokite, įdėkite į prietaisą ir leiskite vykti amplifikacijai pagal šį PGR profilį. ĮSPĖJIMAS! Norint nustatyti “UNI PGR” profilį, reakcijos tūris turi būti 40 µl.
- *Suplanuokite darbo eigą. Įstatykite vidinę kontrolę į aušinimo stovėlį. Įdėkite aušinimo stovėlį kartu su vidine kontrolę į šaldytuvą. Vidinę kontrolę visada atitirpinkite nuo +2 iki +8 °C. Nešildykite vidinės kontrolės ilgiau nei 15 minučių.*
 - *Labai rekomenduojama likusius rinkinio komponentus (pagrindinį mišinį („MasterMix“) ir teigiamą kontrolę) išimti iš šaldiklio likus 30 minučių iki mėginių gryninimo pabaigos, kad PGR būtų galima pradėti nuošaliu po mėginių gryninimo (kuo mažiau laiko rinkinys laikomas aukštesnėje temperatūroje, tuo geriau).*
 - *Išimkite teigiamą kontrolę iš dėžutės ir leiskite jai atitirpti laboratorijos temperatūroje (nuo 15°C iki 25°C). Teigiamos kontrolės atitirpinimo greitis gali skirtis priklausomai nuo faktinės laboratorijos temperatūros. Esant žemesnei laboratorijos temperatūrai gali reikėti išimti teigiamą kontrolę iš dėžutės ir leisti jai atitirpti anksčiau nei pagrindinį mišinį „MasterMix“.*
 - *Įdėkite pagrindinį mišinį („MasterMix“) į aušinimo stovėlį. Įdėkite aušinimo stovėlį kartu su pagrindiniu mišiniu („MasterMix“) į šaldytuvą. Pagrindinį mišinį („MasterMix“) visada atitirpinkite nuo +2 iki +8°C. Nešildykite pagrindinio mišinio „MasterMix“ ilgiau nei 30 minučių.*
 - *Visada naudokite rinkinio komponentus, kai visas mėgintuvėlyje esantis tūris yra visiškai ištirpęs.*
 - *Nešildykite pagrindinio mišinio „MasterMix“ mėgintuvėlių rankomis ir nepalikite jų laboratorijos temperatūroje. Dirbdami su rinkiniu, visada laikykite pagrindinio mišinio „MasterMix“ mėgintuvėlius tinkamai atšaldytame aušinimo stovelyje.*
 - *Išgrynintus mėginius įstatykite tiesiai į aušinimo stovėlį ir nedelsdami atlikite PGR per trumpiausią įmanomą laiką. Po naudojimo likusius rinkinio komponentus nedelsdami perkelkite į šaldiklį, palaikantį -20 ± 5°C temperatūrą. Maksimalus patvirtintas rinkinio komponentų laikymo laikas šaldytuve nuo +2 iki +8°C yra 4 valandos neatliekant pakartotinio užšalimo ar atšildymo. Maksimalus patvirtintas rinkinio komponentų laikymo laikas laboratorijos temperatūroje nuo 15°C iki 25°C yra 1 valanda neatliekant pakartotinio užšalimo ar atšildymo.*
 - *Kiekvieno bandymo metu turėtų būti naudojama neigiamos izoliacijos kontrolė ir vidinė kontrolė. PBS, fiziologinis druskos tirpalas arba buferis gali būti naudojamas kaip neigiamą izoliacijos kontrolę (nėra rinkinyje).*
 - *Būkite labai atsargūs dirbdami su teigiamą kontrolę ar klinikinę medžiagą; neteisingas elgesys gali užteršti ir dėl to sugadinti rinkinio komponentus! Gamintojas neatsako už rinkinio sugadinimą dėl neteisingo naudojimo.*

Amplifikacijos profilis

Atkreipkite dėmesį, kad “COVID TOUCH PCR” profilis yra skirtas konkrečiam atskiram SARS-CoV-2 nustatyti. “UNI PCR” profilis skirtas nustatyti SARS-CoV-2 kartu su kitais „GeneProof“ PGR rinkiniais.

“UNI PCR” profilis			
#	Temperatūra	Laikas	Ciklai
1 PARUOŠIMAS	42 °C	15 min	1x
2 PARUOŠIMAS	95 °C	10 min	1x
PGR	95 °C	5 s	45x
	60 °C (DUOMENYS)*	40 s	
	72 °C	20 s	

“COVID TOUCH PCR” profilis			
#	Temperatūra	Laikas	Ciklai
1 PARUOŠIMAS	42 °C	15 min	1x
2 PARUOŠIMAS	95 °C	10 min	1x
PGR	95 °C	5 s	7x
	55 °C	40 s	
	72 °C	20 s	
PGR	95 °C	5 s	38x
	60 °C (DUOMENYS)*	40 s	
	72 °C	20 s	

*Duomenų rinkimas. Reikalingi kanalai: FAM, HEX

KLINIKINIŲ MĖGINIŲ ANALIZĖS VERTINIMAS

FAM RdRp/E	Cy5 N genas	HEX IC	Rezultatas	Paiškinimas
+	+	+/-	galiojantis	SARS-CoV-2 teigiamas
-	+	+/-	galiojantis	SARS-CoV-2 teigiamas*
+	-	+/-	galiojantis	SARS-CoV-2 teigiamas
-	-	+	galiojantis	SARS-CoV-2 teigiamas
-	-	-	negaliojantis	-

ĮSPĖJIMAS

Vienintelė galiojanti konkretaus rinkinio naudojimo instrukcija yra pakuotėje arba konkrečiai partijai ją galima gauti iš gamintojo. Naudokite tik tam tikrame PGR rinkinyje esančių komponentų derinį. Panaudotą rinkinį reikia išmesti laikantis galiojančių teisės reglamentų, atsižvelgiant į tai, kad rinkinyje nėra jokių pavojingų, infekcinių ar toksiškų komponentų, kuriems būtų taikomos specialios saugos taisyklės, o pakavimo medžiagos pagamintos iš popieriaus ir polipropileno. Jei turite klausimų, susisiekite su mūsų klientų aptarnavimo skyriumi.

Klientų aptarnavimas ir techninė pagalba
 Tel.: +420543211679
 El. paštas: support@geneproof.com

Užsakymai
 Tel.: +420543211679
 El. paštas: sales@geneproof.com



“GeneProof a.s.”
 Videňská 101/119 / Dolní Heřpice / CZ-619 00 Brno / +420 543 211 679 / info@geneproof.com
 Versija: DOK_857_20_03; Įsigalioja nuo: 2020 05 22

Išvertė vertimų biuras UAB „Tarptautinių vertimų biuras“, Kareivių g. 19-196, Vilnius, Lietuvos Respublika.

Versta iš anglų kalbos.

Vertėjui yra žinomas Lietuvos Respublikos BK 235 straipsnio turinys, numatantis baudžiamąją atsakomybę už neteisingą vertimą.

