

iDetect™ SARS-CoV-2 Detection kit

1. 명칭 (제품명, 품목명,모델명)및 허가번호

코스맥스파마(주),고위험성감염체유전자검사시약, iDetect™ SARS-CoV-2 Detection kit

2. 사용목적

호흡기 감염병 의심 환자의 상기도(구인두/비인두 가검물) 및 하기도(객담) 검체에서 SARS-CoV-2 유전자(RdRp, N)를 실시간 역전사 증폭법(RT-LAMP)으로 정성하여 COVID-19 응급용 선별 검사에 도움을 주는 체외진단의료기기

3. 제품구성[포장단위 : 100 tests / kit]

구성물 명칭	구성물	용량 / 포장단위
RT-LAMP Premix	RTase/DNA polymerase	1,000 µl / 2개 튜브
RdRp primer mix	RdRp유전자용프라이머	500 µl / 1개 튜브
N primer mix	N유전자용프라이머	500 µl / 1개 튜브
Positive control	양성대조군	200 µl / 1개 튜브
Negative control	음성대조군	200 µl / 1개 튜브

4. 검사방법

1) 검사준비 및 저장방법

- ① 사용가능한검체는 사람의 상기도(구인두/비인두도말)과 하기도(객담)검체이다.
- ② 검체 용기에 보관된 검체는 냉장보관(2-8°C)시 48시간 이내에 검사해야 하며, 장기 보관 시에는 -70°C에 보관하여야 한다. 운송 용기에 보관된 검체는 검사 시까지 냉장보관(2-8°C)하여야 하며, 2~3일 이상 보관 시에는 -70°C에서 보관 가능하다.
- ③ 반복되는 검체의 냉동/해동은 핵산을 분해시켜 검사 민감도를 감소시키므로 삼간다.

2) 검사 전 준비 과정

- ① 검체와 시약은 얼음에서 완전히 녹인 후에 사용한다.
- ② RNA의 추출은 상용화된 viral RNA extraction kit를 준비한다. (추출장비)Nextractor NX-48 (경인 체외 제신 14-66 호, (주)제놀루션) (추출시약) NX-48 Viral NA kit-NV-NV111 (서울 제신14-360호, (주)제놀루션)

③ 적용 가능 유전자증폭장치

장비) 7500 Real-Time PCR Instrument System(수허 12-365 호, ABI)

3) RNA 추출방법

- RNA의 추출키트를 이용하여 제조사의 사용법에 따라 추출한다.

4) RT-LAMP반응과정

- ① 아래와 같은 비율로 혼합하여 mastermix를 준비한다.

증폭용 mastermix의 구성물	용량 (µl)
RT-LAMP premix	10
Each primer mix	5

- ② 혼합은 vortexing한 후 가볍게 원심분리(spin-down) 한다.

- ③ 준비된 증폭용 mastermix를 PCR 튜브에 15µl씩 분주한다.

- ④ 검체, positive control 및 negative control의 핵산을 분주된 tube에 5µl씩 넣는다.

구성물	용량 (µl)
증폭용 mastermix	15
검체, positive control 및 negative control의 핵산	5

- ⑤ PCR 튜브를 장비에 장착하여 아래 조건으로 반응을 수행한다.

[유전자 및 형광의 설정]

유전자	형광
RdRp	FAM
N	FAM

[장비의 반응 조건]

Temperature	Times	Cycles
65°C	3 min	1
65°C	30 sec**	40

** : FAM 형광을 측정한다.

5. 결과 판정 및 해석

- ① 각 유전자별 threshold 및 baseline은 아래와 같이 설정한다.

장비	유전자	Threshold	Baseline start	Baseline end
7500 Real-Time PCR Instrument System	RdRp	1.0	5	10
	N	1.0	5	10

- ② 아래와 같은 기준에 따라 양성과 음성을 판정한다.

판정	시험결과
양성 (+)	10 < Ct ≤ 36
음성 (-)	N/D† 또는 Ct ≤ 10 또는 Ct > 36

† N/D : Not detected

- ③ 최종판정

사 례	PC†	NC†	유전자		결과해석
			RdRp	N	
1	+	-	+	+	SARS-CoV-2 양성
2	+	-	-	-	SARS-CoV-2 음성
3	+	-	+	-	SARS-CoV-2 양성
4	+	-	-	+	SARS-CoV-2 양성
5	+	+	+/-	+/-	불확정(재반응/신규제품개봉)
6	-	+	+/-	+/-	불확정(재반응/신규제품개봉)
7	-	-	+/-	+/-	불확정(재반응/신규제품개봉)

†PC : positive control, NC : negative control

6. 정도관리

- 1) Positive control 과 negative control 의 시험결과가 아래와 같이 산출되는지를 확인한다.
- 2) 부적합 시에는 동일 lot의 제품으로 재시험하고, 재시험도 부적합하면 공급자에게 문의한다.

기준	정도관리물질	시험결과
----	--------	------

iDetect™ SARS-CoV-2 Detection kit

적합	Positive control	10 < Ct ≤ 36
	Negative control	N/D† 또는 Ct ≤ 10 또는 Ct > 36
부적합	Positive control	N/D† 또는 Ct ≤ 10 또는 Ct > 36
	Negative control	10 < Ct ≤ 36

† N/D : Not detected

7. 저장방법 및 사용기간

- 1) 개봉 전의 모든 구성품은 -20°C 이하에서 12개월간 유효합니다.
- 2) 개봉 후의 모든 구성품은 4°C 에서 12일간 유효합니다.

8. 성능시험

- 1) **분석적 민감도(최소검출한계)** 최소검출한계(Limit of Detection)는 SARS-CoV-2 RNA를 1,000~0 copies로 희석하여 RdRp 와 N 유전자에 대해 각각 24 회 시험하였다. 농도별 빈도를 이용하여 probit 분석으로 95% 확률에 해당하는 값을 최소검출한계로 결정하였다.

유전자	확률	LOD
RdRp	95%	115copies/반응
N	95%	256 copies/반응

- 2) **판정기준치 Threshold**는 24회 최소검출결과에서 노이즈형광값을 배제하기 위해 1.0으로, 작용원리에 따라 초기 증폭값을 포함하기 위해 base line구간을 5~10 cycle로, 최소검출한계의 검출빈도가 30%로 관찰되는 36 cycle를 cut-off로 설정하였다.
- 3) **분석적 특이도(교차반응)** 15종의 호흡기관련바이러스에 대해 2.99x10⁷~1.29x10⁸/ 반응으로 3반복 실시하였다. 양성시료를 제외한 병원체에서는 교차반응이 일어나지 않음을 확인하였다 (Human coronavirus 229E, Human coronavirus OC43, Adenovirus type 1, Human Metapneumovirus, Human Parainfluenza virus 1, Human Parainfluenza virus 3, Influenza A virus(H1N1), Influenza A virus(H3N2), Influenza B virus, Enterovirus A, Human rhinovirus 8, Human herpesvirus 1, Human herpesvirus 2, Dengue virus 2, Dengue virus 3)
- 4) **분석적 특이도(간섭반응)** 검체에서 유래될 수 있는 저해물질에 의한 간섭정도의 시험결과로 hemoglobin 40/80µg, mucin 60ng, human serum 1/10%, nasal spray 0.1/1.0%에서는 간섭물질에 대해 성능저하가 없음을 확인하였다.
- 5) **정밀도(반복성)** 단일 Lot에 대해 1인의 시험자가 6일간, 일일 3회, 회당 2반복으로 고/중/저농도에 대해 시험하였다. 표준 형광값을 기준으로 시험 형광값의 CV는 9.2~14.7%로 분포하여 반복성이 있음을 확인하였다.
- 6) **정밀도(재현성)** 2인의 시험자가 3 Lot에 대해 5일간 일일 2회, 회당 2반복으로 고/중/저농도에 대해 시험하였다. 3 Lot의 형광값은 CV 4.8~15.0%로 분포하였고, 2 시험자간 형광값은 5.6~14.8%로 분포하였다. 표준 형광값과 전체 시험형광값의 CV는 7.1~14.5%로 확인되어 시험자 및 Lot의 재현성이 있음을 확인하였다.
- 7) **정밀도(장비간 재현성)** 1인 시험자가 단일 Lot에 대해 1일 3회

반복으로 고/중/저농도에 대해 시험하였다. 두 장비에 대한 형광값의 CV는 0.9~12.0%로 분포하여 장비간 재현성이 있음을 확인하였다.

8) 임상적 성능(민감도/특이도/일치도/소요시간)

PowerCheck™ 2019-nCoV Real-time PCR kit ((주)코젠바이텍, 긴급사용승인제품)의 결과와 일치도를 확인한 결과, 상기도 검체(비인두 및 구인두 도말)에서의 양성 일치도는 97.0(32/33)%, 음성 일치도는 100.0(50/50)%이며, 하기도 검체(객담)에서의 양성 일치도는 97.2(35/36)%, 음성 일치도는 100.0(30/30)%임을 확인하였다.

9. 사용시 주의사항

- 1) 본 제품은 응급용 선별검사의 목적으로만 사용되며, 최종 확진을 위해서는 긴급사용승인제품(RT-PCR) 또는 허가된 제품을 사용해야 한다.
- 2) 본 제품은 응급용 및 선별검사용 긴급사용승인제품으로 사용승인기간은 2020.07.24부터 코로나바이러스감염증-19(COVID-19)유행 종료 시까지입니다.
- 3) 본 제품 사용 시에는 반드시 매 시험마다 첨부된 양성대조물질과 음성대조물질을 사용하여 양성과 음성 대조시험을 해야 합니다.
- 4) 본 제품은 정성검사를 기반으로 하기에 동일 검체를 반복 적용 시 통계적 유의성이 보증되지 않을 수 있습니다.
- 5) 본 제품은 체외진단용으로만 사용할 수 있습니다.
- 6) 본 제품설명서를 충분히 숙지한 후 사용해야 합니다.
- 7) 검사 및 시약을 취급할 때에는 일회용 장갑, 보호구, 보안경, 마스크 등의 적절한 보호장비를 착용해야 눈이나 피부를 보호하며, 접촉 시에는 흐르는 물로 행군 뒤 의학적 진단을 받아야 합니다.
- 8) 본 제품은 등온증폭기술기반으로 민감도가 높기에 증폭산물에 의한 교차오염이 발생하지 않도록 주의하세요.
- 9) 실험 장비 및 공간은 0.5% sodium hypochloride나 적절한 소독제를 사용하여 철저히 소독을 해야 합니다.
- 10) 반응이 완료된 증폭산물은 재사용을 금하며 지정된 장소에 폐기해야 합니다.
- 11) 모든 시료는 잠재적 감염성을 배제할 수 없기에 각 검사실의 안전 및 폐기지침을 준수해야 합니다.
- 12) 본 제품의 저장방법을 준수하지 않을 시에는 성능의 저하가 발생할 수 있습니다.
- 13) 유효기간이 지난제품은 사용하지 않으며, 서로 다른 lot 또는 동일 lot 다른 포장 간의 혼합을 금합니다.
- 14) 본 제품의 결과만을 토대로 최종 진단을 해서는 안되며 다른 검사 방법이나 전문의의 판단에 의한 임상적 결과를 조합하여 최종 진단하여야 합니다.



코스맥스파마(주)

충청북도 청주시 흥덕구 오송생명4로 168-23

Tel.043.238.8477 Fax.043.232.7735

응급용 및 긴급선별용 긴급사용승인제품

(사용기간 :2020.07.24~ 코로나바이러스감염증-19(COVID-19)유행 종료시까지)

iDetect™ SARS-CoV-2 Detection kit
