






# SARS-Cov-2 Coronavirus (Covid-19) Real-Time RT-PCR (RT-qPCR) Detection Kit

**REF** : KBRT010

Ver 2.0

**IVD**

SARS-CoV-2 Coronavirus (Covid-19) Real-Time RT-PCR (RT-qPCR) Detection Kit is designed to detect the presence of SARS-CoV-2 Coronavirus in respiratory specimens and serum sample as recommended by CDC (Centre for Disease Control) Atlanta, USA.

<b>IVD</b>	<b>For In-Vitro Diagnostic Use Only</b>	<b>REF</b>	<b>Catalog Number</b>
	<b>Store At</b>	<b>LOT</b>	<b>Batch Code</b>
	<b>Manufactured By</b>		<b>Biological Risk</b>
	<b>Expiry Date</b>		<b>Consult Operating Instructions</b>

*For In-Vitro Diagnostic Use Only. Purchase does not include or carry the right to resell or transfer this product either as a stand-alone product or as a component of another product. Any use of this product other than the permitted use without the express written authorization of KRISHGEN BioSystems is strictly prohibited.*



**KRISHGEN BioSystems**

**REF** KBRT010

 100 reactions

Unit Nos#318/319, Shah & Nahar,  
Off Dr E Moses Road, Worli, Mumbai 400018.  
Tel: 91 (22) 49198700 | Email: sales@krishgen.com

**EC REP**

KinesisDx, Lyoner Strasse 14, Frankfurt, Germany

English Instructions	...	...	...	Pages 3 - 7
French Instructions	...	...	...	Pages 8 - 13
German Instructions	...	...	...	Pages 14 - 19
Spanish Instructions	...	...	...	Pages 20 - 25

**Introduction:**

Coronaviruses are a family of large RNA viruses with size ranging from 26 to 32 kb. These viruses are zoonotic and in human can cause respiratory infections. As the coronavirus is an RNA virus it has a relatively high mutation rate resulting in rapid evolution. In December 2019, a new deadly coronavirus known as SARS-CoV-2 (previously known as 2019-nCoV), which has a high sequence similarity to SARS-CoV, was identified and has caused a pneumonia, known as Covid-19, outbreak in Wuhan, China and spread globally.

**Intended Use:**

SARS-CoV-2 Coronavirus (Covid-19) Real-Time RT-PCR (RT-qPCR) Detection Kit is designed to detect the presence of SARS-CoV-2 Coronavirus in respiratory specimens and serum sample. The kit is designed as per guidelines issued by Centre for Disease Control (CDC), Atlanta, USA.

**Principle:**

This kit contain three primer/probe sets (N gene primer/probe set 1, N gene primer/probe set 2, and N gene primer/probe set 3) that target the conservative regions of coronavirus nucleocapsid (N) gene, the Human RPP30 gene primer/probe set (Human RPP30 gene primer/probe set) that targets exon 1 of human RPP30 gene and serves as a control to assess specimen quality, a non-infectious DNA positive control (Positive control (non-infectious DNA) to ensure reagents and instruments are working properly, and a negative human specimen extraction control (human RNA extract from non-infected samples, Human specimen extraction control) for assessing reverse transcription. Please refer to Tables 4 and 5 for results interpretation.

**Reagents and Materials Provided:**

Sr No	Component	Quantity	Storage
N1	N gene Primer/Probe set 1, lyophilized	1 vial	-20°C
N2	N gene Primer/Probe set 2, lyophilized	1 vial	-20°C
N3	N gene Primer/Probe set 3, lyophilized	1 vial	-20°C
RP	Human RPP30 gene Primer/Probe set, lyophilized	1 vial	-20°C
H2O	Nuclease-free H <sub>2</sub> O	8 ml	4°C
Pos	Positive Control (non-infectious DNA)	200 ul	-80°C
Hsc	Human specimen extraction Control (HSC) (human RNA extract from non-infected samples)	200 ul	-80°C

**Materials to be Provided by the End-User:**

Component	Recommended
RNA samples	user test sample
qPCR plate or tube	
RT-qPCR master mix	TaqPath™ 1-step RT-qPCR Master Mix, CG, 4X (Thermo Fisher)

**Handling / Storage:**

1. Store the Primer/Probes sets, N gene Primer/Probe set 1, N gene Primer/Probe set 2, N gene Primer/Probe set 3 at -20°C in a manual defrost freezer, and the Positive control and Human specimen extraction Control at -80°C, and nuclease-free H<sub>2</sub>O at 4°C.

**Sample Preparation and Storage:**

Wear appropriate personal protective equipment (e.g. gowns, gloves, eye protection) when working with clinical specimens.

Specimen processing should be performed in a certified class II biological safety cabinet following biosafety level 2 or higher guidelines.

1. Respiratory specimens including: nasopharyngeal or oropharyngeal aspirates or washes, nasopharyngeal or oropharyngeal swabs, bronchoalveolar lavage, tracheal aspirates, and sputum.
2. Swab specimens should be collected only on swabs with a synthetic tip (such as polyester or Dacron®) with aluminum or plastic shafts. Swabs with calcium alginate or cotton tips with wooden shafts are not acceptable.

**Assay Procedure:**

1. Prior to use, allow the **Primer/Probe sets (N1, N2, N3 and RP)** to warm to room temperature in the dark.
2. Centrifuge the vials at 1,500 g for 1 minute.
3. Add 200 ul **Nuclease-free H<sub>2</sub>O** to **N gene Primer/Probe set 1 (lyophilized)** and allow to rehydrate for 15 min at room temperature to make N1 primer/probe stock solution. Aliquot as needed. Store at -20°C in a manual defrost freezer. Avoid repeated freeze-and-thaw cycles. Maintain cold and in the dark when thawed.
4. Add 200 ul **Nuclease-free H<sub>2</sub>O** to **N gene Primer/Probe set 2 (lyophilized)** and allow to rehydrate for 15 min at room temperature to make N2 primer/probe stock solution. Aliquot as needed. Store at -20°C in a manual defrost freezer. Avoid repeated freeze-and-thaw cycles. Maintain cold and in the dark when thawed.
5. Add 200 ul **Nuclease-free H<sub>2</sub>O** to **N gene Primer/Probe set 3 (lyophilized)** and allow to rehydrate for 15 min at room temperature to make N3 primer/probe stock solution. Aliquot as needed. Store at -20°C in a manual defrost freezer. Avoid repeated freeze-and-thaw cycles. Maintain cold and in the dark when thawed.
6. Add 200 ul **Nuclease-free H<sub>2</sub>O** to **Human RPP30 gene Primer/Probe set (lyophilized)** and allow to rehydrate for 15 min at room temperature to make RP primer/probe stock solution. Aliquot as needed. Store at -20°C in a manual defrost freezer. Avoid repeated freeze-and-thaw cycles. Maintain cold and in the dark when thawed.
7. With test samples, three control samples should be run concurrently, the **Positive Control (non-infectious DNA)**, the **Human specimen extraction Control (HSC)** and **H<sub>2</sub>O** as the No Template Control (NTC). Prepare four RT-qPCR reactions for each control sample, one with **N1 Primer/Probe stock solution**, one with **N2 Primer/Probe stock solution**, one with **N3 Primer/Probe stock solution**, and one with **RP Primer/Probe stock solution**. Prepare **20 ul RT-qPCR reactions** for one well as shown in Table 1.

**Table 1.**

Control sample	5 ul
Primer/probe stock solution (N1, N2, N3 or	2 ul
1-step RT-qPCR Master mix, 4x	5 ul
Nuclease-free H <sub>2</sub> O	8 ul
<b>Total Volume</b>	<b>20 ul</b>

8. For each extracted RNA test sample, prepare four RT-qPCR reactions, one with **N1 Primer/Probe stock solution**, one with **N2 Primer/Probe stock solution**, one with **N3 Primer/Probe stock solution**, and one with **RP Primer/Probe stock solution**. Prepare **20 ul RT-qPCR reactions** for one well as shown in Table 2.

**Table 2.**

RNA test sample (concentration varies)	5 ul
Primer/Probe stock solution (N1, N2, N3 or RP)	2 ul
1-step RT-qPCR Master mix, 4x	5 ul
Nuclease-free H <sub>2</sub> O	8 ul
<b>Total Volume</b>	<b>20 ul</b>

- Seal the RT-qPCR reaction wells. Centrifuge the plates or tubes at 1,500 g for 15 seconds.
- Setup RT-qPCR reactions as shown in Table 3.

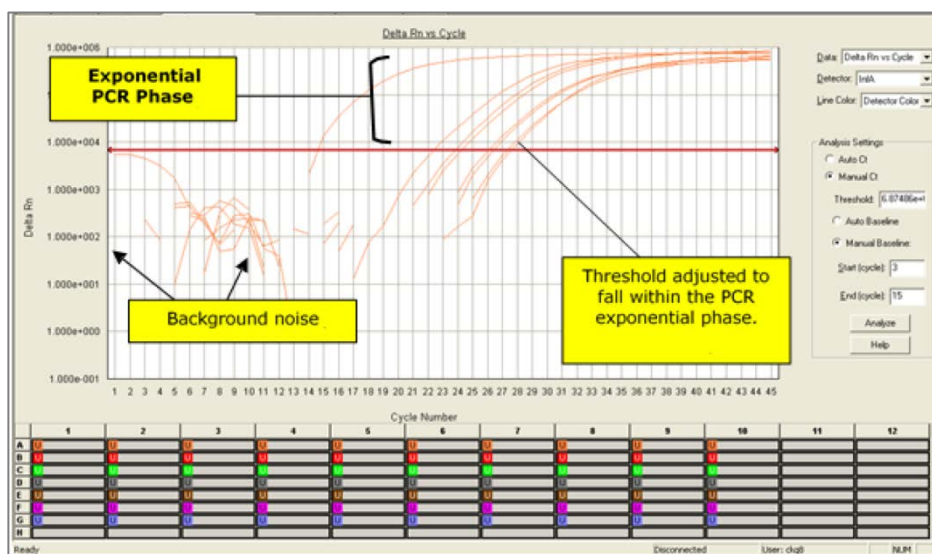
**Table 3.**

Instrument Settings for RT-qPCR reactions. Fluorescence data (FAM) should be collected during the data acquisition step.

Step	Temperature	Time	Number of cycles
UNG Incubation	25°C	2 min	1
Reverse Transcription	50°C	15 min	1
Enzyme Activation	95°C	2 min	1
Denaturation	95°C	3 sec	45
Annealing and Extension	55°C	30 sec	
Data Acquisition	Plate read, detector (FAM)		

**Data Analysis:**

After completion of the PCR run, save and analyze the data following the instrument manufacturer’s instructions. Analysis should be performed separately for each target using a manual threshold setting. Thresholds (Ct Values) should be adjusted to fall within the exponential phase of the fluorescence curves and above any background signal (refer to image below). The procedure chosen for setting the threshold should be used consistently.



**Interpretation of Results:**

**Table 4.** SARS-Cov-2 Kit Control Sample Test Results Interpretation.

Sample	KBRT010-N1	KBRT010-N2	KBRT010-N3	KBRT-RP	Results Interpretation
2020-Pos	+	+	+	+	Expected
	-	-	-	-	PCR Failed
2020-Hsc	-	-	-	+	Expected
	-	-	-	-	Reverse Transcription and/or PCR Failed
	If anyone of three targets is positive			±	Reagent(s) Contaminated
NTC (H <sub>2</sub> O)	-	-	-	-	Expected
	If anyone of four targets is positive				Reagent(s) Contaminated

**Table 5.** CVPD kit target sample test results interpretation when control results are as expected.

KBRT010-N1	KBRT010-N2	KBRT010-N3	KBRT010-RP	Results Interpretation
+	+	+	±	SARS-CoV-2 Detected
If only one, or two, of three targets is positive			±	Inconclusive Result
-	-	-	+	SARS-CoV-2 Not Detected
-	-	-	-	Invalid Result

**Quality Control:**

The primer/probe sets and positive / negative controls are validated by qPCR. The PCR products are analyzed by gel electrophoresis.

**Safety Precautions:**

- **This kit is For In-Vitro Diagnostic Use Only.** Follow the working instructions carefully.
- The expiration dates stated on the kit are to be observed. The same relates to the stability stated for reagents
- Do not use or mix reagents from different lots.
- Do not use reagents from other manufacturers.
- Avoid time shift during pipetting of reagents.
- All reagents should be kept in the original shipping container.
- Some of the reagents contain small amount of sodium azide (< 0.1 % w/w) as preservative. They must not be swallowed or allowed to come into contact with skin or mucosa.
- Source materials maybe derived from human body fluids or organs used in the preparation of this kit were tested and found negative for HBsAg and HIV as well as for HCV antibodies. However, no known test guarantees the absence of such viral agents. Therefore, handle all components and all patient samples as if potentially hazardous.
- Since the kit contains potentially hazardous materials, the following precautions should be observed
  - Do not smoke, eat or drink while handling kit material
  - Always use protective gloves
  - Never pipette material by mouth
  - Wipe up spills promptly, washing the affected surface thoroughly with a decontaminant.
- In any case GLP should be applied with all general and individual regulations to the use of this kit.



**LIMITED WARRANTY**

Krishgen Biosystems does not warrant against damages or defects arising in shipping or handling, or out of accident or improper or abnormal use of the Products; against defects in products or components not manufactured by Krishgen Biosystems, or against damages resulting from such non-Krishgen Biosystems made

products or components. Krishgen Biosystems passes on to customer the warranty it received (if any) from the maker thereof of such non Krishgen made products or components. This warranty also does not apply to Products to which changes or modifications have been made or attempted by persons other than pursuant to written authorization by Krishgen Biosystems.

**THIS WARRANTY IS EXCLUSIVE.** The sole and exclusive obligation of Krishgen Biosystems shall be to repair or replace the defective Products in the manner and for the period provided above. Krishgen Biosystems shall not have any other obligation with respect to the Products or any part thereof, whether based on contract, tort, and strict liability or otherwise. Under no circumstances, whether based on this Limited Warranty or otherwise, shall Krishgen Biosystems be liable for incidental, special, or consequential damages.

This Limited Warranty states the entire obligation of Krishgen Biosystems with respect to the Products. If any part of this Limited Warranty is determined to be void or illegal, the remainder shall remain in full force and effect.

Krishgen Biosystems. 2020

***THANK YOU FOR USING KRISHGEN PRODUCT!***



M/s Genuine Biosystem Private Limited,  
Plot No.97 & 98, Kattabomman Street Parvathi Nagar Extension, Old Perungalathur  
Chennai, Kanchipuram, Tamil Nadu (India) - 600063

Worldwide Exclusive Marketed by:

**KRISHGEN BioSystems**

Unit Nos#318/319, Shah & Nahar,  
Off Dr E Moses Road, Worli, Mumbai 400018.  
Tel: 91 (22) 49198700 | Email: sales@krishgen.com






# SARS-Cov-2 Coronavirus (Covid-19) Real-Time RT-PCR (RT-qPCR) Detection Kit

**REF** : KBRT010

Ver 2.0

**IVD**

Le kit de détection du SRAS-CoV-2 Coronavirus (Covid-19) real-time RT-PCR (RT-qPCR) est conçu pour détecter la présence de coronavirus SRAS-CoV-2 dans des échantillons respiratoires et des échantillons de sérum, comme le recommande les CDC (Centre for Disease Control) Atlanta, États-Unis.

<b>IVD</b>	<b>Pour l'usage Diagnostic In Vitro</b>	<b>REF</b>	<b>Numéro de catalogue</b>
	<b>Conserver à la</b>	<b>LOT</b>	<b>Code du lot</b>
	<b>Fabriqué par</b>		<b>Risque biologique</b>
	<b>Date d'Expiration</b>		<b>Consulter le mode d'emploi</b>

*Réservé à l'usage Diagnostique In Vitro. L'achat n'inclut ni ne confère le droit de revendre ou de transférer ce produit, en tant que produit autonome ou en tant que composant d'un autre produit. Toute utilisation de ce produit autre que celle autorisée sans l'autorisation écrite expresse de KRISHGEN BioSystems est strictement interdite.*



**REF** KBRT010

 100 reactions

**KRISHGEN BioSystems**

Unit Nos#318/319, Shah & Nahar,  
Off Dr E Moses Road, Worli, Mumbai 400018.  
Tel: 91 (22) 49198700 | Email: sales@krishgen.com

**EC REP**

KinesisDx, Lyoner Strasse 14, Frankfurt, Germany



**Introduction:**

Les coronavirus sont une famille de gros virus de l'ARN dont la taille varie de 26 à 32 kb. Ces virus sont zoonotiques et chez l'homme peuvent causer des infections respiratoires. Comme le coronavirus est un virus d'ARN, il a un taux de mutation relativement élevé résultant en une évolution rapide. En décembre 2019, un nouveau coronavirus mortel connu sous le nom de SRAS-CoV-2 (précédemment connu sous le nom de 2019-nCoV), qui a une similitude de séquence élevée avec le SRAS-CoV, a été identifié et a causé une pneumonie, connue sous le nom de Covid-19, une épidémie à Wuhan, en Chine, et s'est propagée dans le monde entier.

**Utilisation Prevue:**

Le kit de détection du coronavirus SRAS-CoV-2 (Covid-19) en temps réel RT-PCR (RT-qPCR) est conçu pour détecter la présence de coronavirus SRAS-CoV-2 dans des échantillons respiratoires et des échantillons de sérum. Le kit est conçu selon les lignes directrices émises par Le Centre for Disease Control (CDC), Atlanta, États-Unis.

**Principe:**

Ce kit contient trois ensembles d'amorce/sonde de gène N (N générateur/sonde 1, amorce/sonde de gène N 2, et l'apprêt/sonde de gène N 3) qui ciblent les régions conservatrices du gène du noyau de coronavirus (N), l'amorce/sonde de gène RPP30 humain (ensemble d'amorce/sonde de gène RPP30 humain) qui cible l'exon 1 du gène humain RPP30 et sert de contrôle pour évaluer la qualité des spécimens, un contrôle positif non infectieux de l'ADN (contrôle positif (ADN non infectieux) pour s'assurer que les réactifs et les instruments fonctionnent correctement, et un spécimen humain négatif contrôle d'extraction (extrait humain d'ARN d'échantillons non infectés, contrôle humain d'extraction de spécimens) pour évaluer la transcription inverse. Veuillez consulter les tableaux 4 et 5 pour l'interprétation des résultats.

**Réactifs et Matériaux Fournis:**

M. No	Composant	Quantité	Stockage
N1	N gène Primer/Probe set 1, lyophilisé	1 flacon	-20°C
N2	N gène Primer/Probe set 2, lyophilisé	1 flacon	-20°C
N3	N gène Primer/Probe set 3, lyophilisé	1 flacon	-20°C
RP	Human RPP30 gene Primer/Probe set, lyophilized	1 flacon	-20°C
H2O	H2O sans nucléase	8 ml	4°C
Pos	Contrôle positif (ADN non infectieux)	200 ul	-80°C
Hsc	Contrôle de l'extraction de spécimens humains (HSC) (extrait humain d'ARN provenant d'échantillons non infectés)	200 ul	-80°C

**Matériel à Fournir Par l'utilisateur Final:**

Composant	Recommandé
Échantillons d'ARN	échantillon de test utilisateur
plaque ou tube qPCR	
Mélange de maîtres RT-qPCR	TaqPath™ 1-étape RT-qPCR Master Mix, CG, 4X (Thermo Fisher)

**Manipulation / Stockage:**

1. Stockez les ensembles Primer/Probes, N gene Primer/Probe set 1, N gene Primer/Probe set 2, N gene Primer/Probe set 3 à -20 oC dans un congélateur de dégivrage manuel, et le contrôle positif et l'extraction des spécimens humains Contrôle à -80 oC, et le H2O sans nucléase à 4°C.

**Préparation et stockage des échantillons :**

1. Portez l'équipement de protection individuelle approprié (p. ex. robes, gants, protection oculaire) lorsque vous travaillez avec des spécimens cliniques.
1. Le traitement des échantillons doit être effectué dans un coffret certifié de sécurité biologique de classe II suivant des lignes directrices de biosécurité de niveau 2 ou plus élevées.
2. Spécimens respiratoires comprenant : aspirates ou lavages nasopharyngaires ou oropharyngés, écouvillons nasopharyngés ou oropharyngés, lavage bronchoalvéolaire, aspirates trachéaux et expectoration.
3. Les échantillons de tampons ne doivent être prélevés que sur des écouvillons à l'extrémité synthétique (comme le polyester ou le Dacron®) avec des arbres en aluminium ou en plastique. Les écouvillons avec l'alginate de calcium ou les pointes de coton avec des arbres en bois ne sont pas acceptables.

**Procédure d'Analyse:**

1. Avant utilisation, permettre aux ensembles **Primer/Probe (N1, N2, N3 et RP)** de se réchauffer à température ambiante dans l'obscurité.
2. Centrifuger les flacons à 1500 g pendant 1 minute.
3. Ajouter **200 ul Nuclease-libre H2O** à **N gène Primer/Probe set 1 (lyophilisé)** et permettre de se réhydrater pendant 15 minutes à température ambiante pour faire **N1 apprêt / solution de stock de sonde**. Aliquot au besoin. Conserver à -20°C dans un congélateur de décongélation manuel. Évitez les cycles répétés de gel et de dégel. Maintenir le froid et dans l'obscurité lorsqu'il est décongelé.
4. Ajouter **200 ul Nuclease-libre H2O** à **N gène Primer/Probe set 2 (lyophilisé)** et permettre de se réhydrater pendant 15 minutes à température ambiante pour faire **N2 apprêt / solution de stock de sonde**. Aliquot au besoin. Conserver à -20°C dans un congélateur de décongélation manuel. Évitez les cycles répétés de gel et de dégel. Maintenir le froid et dans l'obscurité lorsqu'il est décongelé.
5. Ajouter **200 ul Nuclease-libre H2O** à **N gène Primer/Probe set 3 (lyophilisé)** et permettre de se réhydrater pendant 15 minutes à température ambiante pour faire **N3 apprêt / solution de stock de sonde**. Aliquot au besoin. Conserver à -20°C dans un congélateur de décongélation manuel. Évitez les cycles répétés de gel et de dégel. Maintenir le froid et dans l'obscurité lorsqu'il est décongelé.
6. Ajoutez **200 ul Nuclease-libre H2O** à l'ensemble **humain de gène RPP30 Primer/Probe (lyophilisé)** et laissez se réhydrater pendant 15 min à température ambiante pour faire l'apprêt de RP/solution de stock de sonde. Aliquot au besoin. Conserver à -20°C dans un congélateur de décongélation manuel. Évitez les cycles répétés de gel et de dégel. Maintenir le froid et dans l'obscurité lorsqu'il est décongelé.
7. Avec les échantillons d'essai, trois échantillons témoins devraient être exécutés simultanément, le contrôle positif (ADN non infectieux), le contrôle de l'extraction des échantillons humains (HSC) et le H2O comme contrôle sans modèle (CNT). Préparer quatre réactions RT-qPCR pour chaque échantillon de contrôle, l'une avec la solution de stock **N1 Primer/Probe**, l'autre avec la solution de stock **N2 Primer/Probe**, l'autre avec la solution de stock **N3 Primer/Probe**, et une avec solution de stock **RP Primer/Probe**. Préparer 20 ul RT-qPCR réactions pour un ainsi que montré dans le tableau 1.

**Tableau 1.**

Échantillon de Contrôle	5 ul
Solution de stock d'apprêt/sonde (N1, N2, N3 ou RP)	2 ul
1-étape RT-qPCR Master mix, 4x	5 ul
H2O sans nucléase	8 ul
<b>Total Volume</b>	<b>20 ul</b>

8. Pour chaque échantillon d'essai d'ARN extrait, préparez quatre réactions RT-qPCR, une avec la solution de stock **N1 Primer/Probe**, une avec la solution de stock **N2 Primer/Probe**, une avec la solution de stock **N3 Primer/Probe**, et une avec la solution de stock **RP Primer/Probe**. Préparer 20 ul RT-qPCR réactions pour un ainsi que montré dans le tableau 2.

**Tableau 2.**

Échantillon de Test d'ARN (concentration varie)	5 ul
Solution de stock d'apprêt/sonde (N1, N2, N3 ou RP)	2 ul
1-étape RT-qPCR Master mix, 4x	5 ul
H2O sans nucléase	8 ul
<b>Total Volume</b>	<b>20 ul</b>

9, Scellez les puits de réaction RT-qPCR. Centrifugez les plaques ou les tubes à 1 500 g pendant 15 secondes.

10. Configurer les réactions RT-qPCR comme le montre le tableau 3.

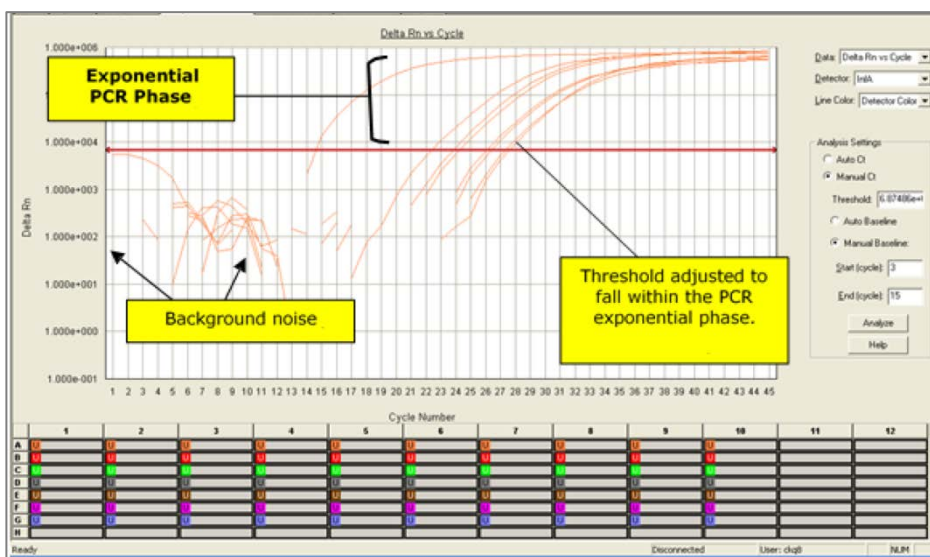
**Tableau 3.**

Paramètres d'instruments pour les réactions RT-qPCR. Les données sur la fluorescence (FAM) doivent être recueillies au cours de l'étape de l'acquisition de données.

Étape	Température	Temps	Nombre de cycles
Incubation de l'UNG	25°C	2 min	1
Transcription inversée	50°C	15 min	1
Activation enzymatique	95°C	2 min	1
Dénaturation	95°C	3 sec	45
Annealing et Extension	55°C	30 sec	
Acquisition de données	Plate lecture, détecteur (FAM)		

**Analyse Des Données:**

Après l'achèvement de l'exécution PCR, enregistrer et analyser les données en suivant les instructions du fabricant d'instruments. L'analyse doit être effectuée séparément pour chaque cible à l'aide d'un fix de seuil manuel. Les seuils (valeurs Ct) doivent être ajustés pour tomber dans la phase exponentielle des courbes de fluorescence et au-dessus de tout signal de fond (se référer à l'image ci-dessous). La procédure choisie pour fixer le seuil doit être utilisée de façon cohérente.



**Interprétation Des Résultats:**
**Tableau 4.** Interprétation des résultats de l'échantillon de contrôle des trousse SRAS-Cov-2.

Sample	KBRT010-N1	KBRT010-N2	KBRT010-N3	KBRT-RP	Interprétation des résultats
2020-Pos	+	+	+	+	Attendu
	-	-	-	-	PCR a échoué
2020-Hsc	-	-	-	+	Attendu
	-	-	-	-	Transcription inversée et/ou PCR a échoué
	Si quelqu'un de trois cibles est positif			±	Réactif(s) Contaminé
NTC (H2O)	-	-	-	-	Attendu
	Si quelqu'un de quatre cibles est positif				Réactif(s) Contaminé

**Tableau 5.** L'interprétation des résultats des tests d'échantillons de la trousse CVPD lorsque les résultats de contrôle sont comme prévu.

KBRT010-N1	KBRT010-N2	KBRT010-N3	KBRT010-RP	Interprétation des résultats
+	+	+	±	SRAS-CoV-2 détecté
Si seulement un, ou deux, des trois cibles est positif			±	Résultat non concluant
-	-	-	+	SRAS-CoV-2 non détecté
-	-	-	-	Résultat invalide

**Contrôle De La Qualité :**

Les ensembles d'amorce/sonde et les contrôles positifs/négatifs sont validés par qPCR. Les produits PCR sont analysés par l'électrophoresie gel.

**Précautions De Sécurité :**

- Ce kit est pour l'utilisation du diagnostic in vitro seulement. Suivez attentivement les instructions de travail.
- Les dates d'expiration indiquées sur le kit doivent être observées. Il en va de même pour la stabilité indiquée pour les réactifs
- Ne pas utiliser ou mélanger les réactifs de différents lots.
- N'utilisez pas de réactifs d'autres fabricants.
- Éviter le décalage horaire pendant le tuyautage des réactifs.
- Tous les réactifs doivent être conservés dans le conteneur d'expédition d'origine.
- Certains des réactifs contiennent une petite quantité d'azide de sodium (0,1 % w/w) comme agent de conservation. Ils ne doivent pas être avalés ou autorisés à entrer en contact avec la peau ou la muqueuse.
- Les matériaux sources peut-être dérivés de fluides corporels humains ou d'organes utilisés dans la préparation de ce kit ont été testés et trouvés négatifs pour le HBsAg et le VIH ainsi que pour les anticorps contre le VHC. Cependant, aucun test connu ne garantit l'absence de tels agents viraux. Par conséquent, manipulez tous les composants et tous les échantillons de patients comme s'ils étaient potentiellement dangereux.
- Étant donné que la trousse contient des matières potentiellement dangereuses, les précautions suivantes doivent être observées
  - Ne fumez pas, ne mangez pas ou ne buvez pas pendant la manipulation du matériel du kit
  - Utilisez toujours des gants de protection
  - Jamais de matériau de pipette par la bouche
  - Essayez rapidement les déversements, en lavant complètement la surface affectée à l'égard d'un décontaminant.

- Dans tous les cas, GLP devrait être appliqué avec tous les règlements généraux et individuels à l'utilisation de ce kit.

## **GARANTIE LIMITÉE**

Krishgen Biosystems ne justifie pas contre les dommages ou les défauts découlant de l'expédition ou de la manipulation, ou par accident ou l'utilisation inappropriée ou anormale des produits; contre les défauts dans les produits ou composants non fabriqués par Krishgen Biosystems, ou contre les dommages résultant de ces biosystèmes non-Krishgen produits ou composants. Krishgen Biosystems transmet au client la garantie qu'il a reçue (le cas échéant) du fabricant de ces produits ou composants non fabriqués par Krishgen. Cette garantie ne s'applique pas non plus aux produits auxquels des modifications ou des modifications ont été apportées ou tentées par des personnes autres que la suite de l'autorisation écrite de Krishgen Biosystems.

**CETTE GARANTIE EST EXCLUSIVE.** L'obligation unique et exclusive de Krishgen Biosystems doit être de réparer ou de remplacer les produits défectueux de la manière et pour la période prévue ci-dessus. Krishgen Biosystems n'a aucune autre obligation à l'égard des Produits ou de toute partie de celui-ci, qu'elle soit fondée sur un contrat, un délit, et une responsabilité stricte ou autrement. En aucun cas, que ce soit sur la base de cette garantie limitée ou autrement, Krishgen Biosystems ne doit être responsable de dommages accessoires, spéciaux ou conséquents.

Cette garantie limitée énonce l'obligation totale de Krishgen Biosystems à l'égard des produits. Si une partie de cette garantie limitée est jugée nulle ou illégale, le reste demeure en pleine vigueur et en vigueur.

Krishgen Biosystems. 2020

## **MERCI D'AVOIR UTILISÉ LE PRODUIT KRISHGEN!**



M/s Genuine Biosystem Private Limited,  
Plot No.97 & 98, Kattabomman Street Parvathi Nagar Extension, Old Perungalathur  
Chennai, Kanchipuram, Tamil Nadu (India) - 600063

Worldwide Exclusive Marketed by:

**KRISHGEN BioSystems**

Unit Nos#318/319, Shah & Nahar,  
Off Dr E Moses Road, Worli, Mumbai 400018.  
Tel: 91 (22) 49198700 | Email: sales@krishgen.com






# SARS-Cov-2 Coronavirus (Covid-19) Real-Time RT-PCR (RT-qPCR) Detection Kit

**REF** : KBRT010

Ver 2.0

**IVD**

SARS-CoV-2 Coronavirus (Covid-19) Real-Time RT-PCR (RT-qPCR) Detection Kit wurde entwickelt, um das Vorhandensein von SARS-CoV-2 Coronavirus in Atemproben und Serumproben zu erkennen, wie vom CDC (Centre for Disease Control) Atlanta, USA empfohlen.

<b>IVD</b>	<b>Für die In-Vitro-Diagnostik</b>	<b>REF</b>	<b>Katalognummer</b>
	<b>Speichern bei</b>	<b>LOT</b>	<b>Batch-Code</b>
	<b>Hergestellt von</b>		<b>Biologisches Risiko</b>
	<b>Verfallsdatum</b>		<b>Konsultieren Sie die Bedienungsanleitung</b>

*Nur zur In-Vitro-Diagnostik. Der Kauf beinhaltet nicht das Recht, dieses Produkt weiterzuverkaufen oder zu übertragen, weder als eigenständiges Produkt noch als Bestandteil eines anderen Produkts. Jegliche Verwendung dieses Produkts außer der erlaubten Verwendung ohne die ausdrückliche schriftliche Genehmigung von KRISHGEN BioSystems ist strengstens untersagt.*



**REF** KBRT010

 100 reactions

**KRISHGEN BioSystems**

Unit Nos#318/319, Shah & Nahar,  
Off Dr E Moses Road, Worli, Mumbai 400018.  
Tel: 91 (22) 49198700 | Email: sales@krishgen.com

**EC REP**

KinesisDx, Lyoner Strasse 14, Frankfurt, Germany

**Einführung:**

Coronaviren sind eine Familie großer RNA-Viren mit einer Größe von 26 bis 32 kb. Diese Viren sind zoonotisch und können beim Menschen Atemwegsinfektionen verursachen. Da das Coronavirus ein RNA-Virus ist, hat es eine relativ hohe Mutationsrate, die zu einer schnellen Evolution führt. Im Dezember 2019 wurde ein neues tödliches Coronavirus namens SARS-CoV-2 (früher bekannt als 2019-nCoV) identifiziert, das eine hohe Sequenzähnlichkeit mit SARS-CoV hat und eine Lungenentzündung verursacht hat, bekannt als Covid-19, Ausbruch in Wuhan, China und sich weltweit ausbreitet.

**Beabsichtigte Verwendung:**

SARS-CoV-2 Coronavirus (Covid-19) Real-Time RT-PCR (RT-qPCR) Detection Kit wurde entwickelt, um das Vorhandensein von SARS-CoV-2 Coronavirus in Atemproben und Serumproben zu erkennen. Das Kit ist gemäß den Richtlinien des Centre for Disease Control (CDC), Atlanta, USA, konzipiert.

**Prinzip:**

Dieses Kit enthält drei Primer/Sondensätze (N-Genprimer/Sondensatz 1, N-Genprimer/Sondensatz 2, und N-Genprimer/Sondensatz 3), die auf die konservativen Regionen des Coronavirus-Nukleocapsid(N)-Gens, des Human RPP30 Genprimer/Sonatsatzes (Human RPP30 Gen primer/probe set) abzielen, das auf Exon 1 des menschlichen RPP30-Gens abzielt und als Kontrolle dient, um die Probenqualität zu bewerten, eine nicht-infektiöse DNA-Positivkontrolle (Positive Kontrolle (nicht-infektiöse DNA) Extraktionskontrolle (humaner RNA-Extrakt aus nicht infizierten Proben, Human Specimen Extraction Control) zur Beurteilung der Reverse-Transkription. Die Ergebnisse finden Sie in den Tabellen 4 und 5.

**Zur Verfügung gestellte Reagenzien und Materialien:**

Sr No	Komponente	Menge	Speicher
N1	N Gen Primer/Probe Set 1, lyophilisiert	1 Durchstechflasche	-20°C
N2	N Gen Primer/Probe Set 2, lyophilisiert	1 Durchstechflasche	-20°C
N3	N Gen Primer/Probe Set 3, lyophilisiert	1 Durchstechflasche	-20°C
RP	Humanes RPP30-Gen Primer/Probe-Set, lyophilisiert	1 Durchstechflasche	-20°C
H2O	Nukleasefrei H2O	8 ml	4°C
Pos	Positive Kontrolle (nicht-infektiöse DNA)	200 ul	-80°C
Hsc	Human Specimen Extraction Control (HSC) (Human RNA Extract from non-infected samples)	200 ul	-80°C

**Vom Endbenutzer zur Verfügung zu gestellte Materialien:**

Komponente	Recommended
RNA-Proben	Benutzertestbeispiel
qPCR Platte oder Rohr	
RT-qPCR Master Mix	TaqPath™ 1-step RT-qPCR Master Mix, CG, 4X (Thermo Fisher)

**Handhabung / Lagerung:**

1. Bewahren Sie die Primer/Probes-Sets, N-Gen-Primer/Probe-Set 1, N-Gen-Primer/Probe-Set 2, N-Gen-Primer/Probe-Set 3 bei -20°C in einem manuellen Abtaugefrieren und die Positive-Kontrolle und die menschliche Probenextraktionskontrolle bei -80°C und nukleasefreies H2O bei 4°C auf.

**Probenvorbereitung und-lagerung:**

1. Tragen Sie bei der Arbeit mit klinischen Proben geeignete persönliche Schutzausrüstung (z. B. Kleider, Handschuhe, Augenschutz).
2. Die Probenverarbeitung sollte in einem zertifizierten biologischen Sicherheitsschrank der Klasse II nach Denksicherheitsstufen 2 oder höheren Richtlinien durchgeführt werden.
3. Atemwegsproben, einschließlich: nasopharyngeale oder oropharyngeale Aspiranten oder -wass, nasopharyngeale oder oropharyngeale Tupfer, broncheoalveolare Lavage, Trachealaspirapiren und Sputum.
4. Tupferproben sollten nur auf Tupfern mit einer synthetischen Spitze (wie Polyester oder Dacron®) mit Aluminium- oder Kunststoffwellen gesammelt werden. Tupfer mit Calciumalginat oder Baumwollspitzen mit Holzschäften sind nicht akzeptabel.

**Assay-Verfahren:**

1. Lassen Sie vor der Verwendung die Primer/Probe-Sets (N1, N2, N3 und RP) im Dunkeln auf Raumtemperatur erwärmen.
2. Zentrifugieren Sie die Fläschchen bei 1.500 g für 1 Minute.
3. Fügen Sie **200 ul Nuklease-freie H2O** zu **N Gen Primer/Probe Set 1 (lyophilisiert)** und lassen Sie für 15 min bei Raumtemperatur rehydrieren, um **N1 Primer / Sonde** Lagerlösung zu machen. Aliquot nach Bedarf. Bei -20°C in einem manuellen Gefrierschrank auftauen. Vermeiden Sie wiederholte Frost-und-Tau-Zyklen. Halten Sie kalt und im Dunkeln, wenn aufgetaut.
4. Fügen Sie **200 ul Nuklease-freie H2O** zu **N Gen Primer/Probe Set 2 (lyophilisiert)** und lassen Sie für 15 min bei Raumtemperatur rehydrieren, um **N2 Primer / Sonde** Lagerlösung zu machen. Aliquot nach Bedarf. Bei -20°C in einem manuellen Gefrierschrank auftauen. Vermeiden Sie wiederholte Frost-und-Tau-Zyklen. Halten Sie kalt und im Dunkeln, wenn aufgetaut.
5. Fügen Sie **200 ul Nuklease-freie H2O** zu **N Gen Primer/Probe Set 3 (lyophilisiert)** und lassen Sie für 15 min bei Raumtemperatur rehydrieren, um **N3 Primer / Sonde** Lagerlösung zu machen. Aliquot nach Bedarf. Bei -20°C in einem manuellen Gefrierschrank auftauen. Vermeiden Sie wiederholte Frost-und-Tau-Zyklen. Halten Sie kalt und im Dunkeln, wenn aufgetaut.
6. Fügen Sie **200 ul Nuklease-freie H2O** zum **Human RPP30 Gen Primer/Probe Set (lyophilisiert)** und lassen Sie für 15 min bei Raumtemperatur rehydratisieren, um **RP Primer / Sonde** Lagerlösung zu machen. Aliquot nach Bedarf. Bei -20°C in einem manuellen Gefrierschrank auftauen. Vermeiden Sie wiederholte Frost-und-Tau-Zyklen. Halten Sie kalt und im Dunkeln, wenn aufgetaut.
7. Bei **Testproben sollten drei Kontrollproben gleichzeitig durchgeführt werden, die Positive Control (nicht-infektiöse DNA), die Human Specimen Extraction Control (HSC) und H2O als No Template Control (NTC)**. Bereiten Sie vier RT-qPCR-Reaktionen für jede Kontrollprobe vor, eine mit N1 Primer/Probe-Lagerlösung, eine mit N2 Primer/Probe-Lagerlösung, eine mit N3 Primer/Probe-Lagerlösung und eine mit RP Primer/Probe-Lagerlösung. Bereiten Sie 20 ul RT-qPCR-Reaktionen für eine, die in Tabelle 1 dargestellt ist.

**Tabelle 1.**

Kontrollbeispiel	5 ul
Primer/Sonden-Lagerlösung (N1, N2, N3 oder RP)	2 ul
1-stufiger RT-qPCR Master-Mix, 4x	5 ul
Nukleasefrei H2O	8 ul
<b>Gesamtvolumen</b>	<b>20 ul</b>



- Bereiten Sie für jede extrahierte RNA-Testprobe vier RT-qPCR-Reaktionen vor, eine mit **N1 Primer/Probe-Lagerlösung**, eine mit **N2 Primer/Probe-Lagerlösung**, eine mit **N3 Primer/Probe-Lagerlösung** und eine mit **RP Primer/Probe-Lagerlösung**. Bereiten Sie 20 ul RT-qPCR-Reaktionen für eine, die in Tabelle 2 dargestellt ist.

**Tabelle 2.**

RNA-Testprobe (Konzentration variiert)	5 ul
Primer/Probe Lagerlösung (N1, N2, N3 oder RP)	2 ul
1-stufiger RT-qPCR Master-Mix, 4x	5 ul
Nukleasefrei H2O	8 ul
<b>Gesamtvolumen</b>	<b>20 ul</b>

- Versiegeln Sie die RT-qPCR-Reaktionsbrunnen. Zentrifugieren Sie die Platten oder Rohre 15 Sekunden lang bei 1.500 g.
- Richten Sie RT-qPCR-Reaktionen ein, wie in Tabelle 3 dargestellt.

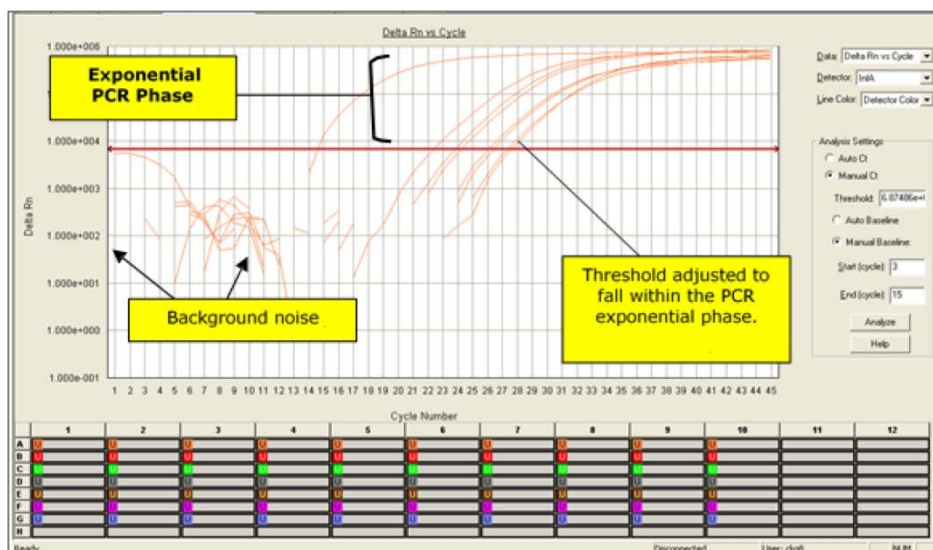
**Tabelle 3.**

Instrumenteneinstellungen für RT-qPCR-Reaktionen. Fluoreszenzdaten (FAM) sollten während des Datenerfassungsschritts erfasst werden.

Schritt	Temperatur	Zeit	Anzahl der Zyklen
UNG Inkubation	25°C	2 min	1
Reverse Transcription	50°C	15 min	1
Enzymaktivierung	95°C	2 min	1
Denaturierung	95°C	3 sec	45
Glühen und Erweiterung	55°C	30 sec	
Datenerfassung	Plattenablesung, Detektor (FAM)		

**Datenanalyse:**

Speichern und analysieren Sie nach Abschluss des PCR-Laufs die Daten nach den Anweisungen des Geräteherstellers. Die Analyse sollte für jedes Ziel separat mit einer manuellen Schwellenwerteneinstellung durchgeführt werden. Schwellenwerte (Ct-Werte) sollten so eingestellt werden, dass sie innerhalb der Exponentialphase der Fluoreszenzkurven und über jedem Hintergrundsignal liegen (siehe Bild unten). Das verfahren, das für die Festlegung des Schwellenwerts gewählt wurde, sollte konsistent verwendet werden.



**Interpretation der Ergebnisse:**

**Tabelle 4.** SARS-Cov-2 Kit Control Sample Test Results Interpretation.

Beispiel	KBRT010-N1	KBRT010-N2	KBRT010-N3	KBRT-RP	Ergebnis-Interpretation
2020-Pos	+	+	+	+	Erwartet
	-	-	-	-	PCR fehlgeschlagen
2020-Hsc	-	-	-	+	Erwartet
	-	-	-	-	Reverse Transcription und/oder PCR fehlgeschlagen
	Wenn jemand von drei Zielen positiv ist			±	Reagenz(en) Kontaminiert
NTC (H <sub>2</sub> O)	-	-	-	-	Erwartet
	Wenn jemand von vier Zielen positiv ist				Reagenz(en) Kontaminiert

**Tabelle 5.** Interpretation der Testergebnisse des CVPD-Kits, wenn die Kontrollergebnisse wie erwartet vorliegen

KBRT010-N1	KBRT010-N2	KBRT010-N3	KBRT010-RP	Ergebnis-Interpretation
+	+	+	±	SARS-CoV-2 detektiert
If only one, or two, of three targets is positive			±	Unschlüssiges Ergebnis
-	-	-	+	SARS-CoV-2 nicht erkannt
-	-	-	-	I Ungültiges Ergebnis

**Qualitätskontrolle:**

Die Primer/Probe-Sets und die positiven/negativen Kontrollen werden durch qPCR validiert. Die PCR-Produkte werden durch Gelelektrophorese analysiert.

**Sicherheitsvorkehrungen:**

- **Dieses Kit ist nur für die Forschung.** Befolgen Sie die Arbeitsanweisungen sorgfältig. Die auf dem Kit angegebenen Ablaufdaten sind zu beachten. Dasselbe gilt für die Stabilität, die für Reagenzien angegeben ist.
- Verwenden oder mischen Sie keine Reagenzien aus verschiedenen Loses.
- Verwenden Sie keine Reagenzien anderer Hersteller.
- Vermeiden Sie Zeitverschiebungen beim Pipetieren von Reagenzien.
- Alle Reagenzien sollten im Original-Versandbehälter aufbewahrt werden.
- Einige der Reagenzien enthalten eine geringe Menge Natriumazid (ca. 0,1 % w/w) als Konservierungsmittel. Sie dürfen nicht geschluckt werden oder dürfen nicht mit Haut oder Schleimhaut in Berührung kommen.
- Quellmaterialien, die möglicherweise aus menschlichen Körperflüssigkeiten oder Organen gewonnen wurden, die bei der Herstellung dieses Kits verwendet wurden, wurden getestet und negativ auf HBsAg und HIV sowie auf HCV-Antikörper gefunden. Kein bekannter Test garantiert jedoch das Fehlen solcher viralen Wirkstoffe. Behandeln Sie daher alle Komponenten und alle Patientenproben wie potenziell gefährlich.
- Da das Kit potenziell gefährliche Stoffe enthält, sollten folgende Vorsichtsmaßnahmen
  - Rauchen, essen oder trinken Sie nicht, während Sie Das Material des Kits behandeln
  - Verwenden Sie immer Schutzhandschuhe
  - Niemals Pipettenmaterial durch den Mund
  - Verschütten Sie verschüttet eisschnell und waschen Sie die betroffene Oberfläche gründlich mit einem Dekontaminationsmittel.

- In jedem Fall sollte GLP mit allen allgemeinen und individuellen Vorschriften auf die Verwendung dieses Kits angewendet werden.

**BEGRENZTE GARANTIE**

Krishgen Biosystems übernimmt keine Garantie für Schäden oder Mängel, die bei der Verschiffung oder Handhabung oder bei Unfällen oder unsachgemäßer oder ungewöhnlicher Verwendung der Produkte entstehen; gegen Mängel an Produkten oder Komponenten, die nicht von Krishgen Biosystems hergestellt werden, oder gegen Schäden, die aus solchen Nicht-Krishgen Biosystems produkte oder Komponenten. Krishgen Biosystems gibt die Garantie, die es (falls vorhanden) vom Hersteller solcher nicht von Krishgen hergestellten Produkte oder Komponenten erhalten hat, an den Kunden weiter. Diese Garantie gilt auch nicht für Produkte, an denen Änderungen oder Modifikationen von anderen Personen als auf schriftliche Genehmigung von Krishgen Biosystems vorgenommen oder versucht wurden.

**DIESE GARANTIE IST EXKLUSIV.** Die einzige und ausschließliche Verpflichtung von Krishgen Biosystems besteht darin, die defekten Produkte in der oben genannten Weise und für den oben genannten Zeitraum zu reparieren oder zu ersetzen. Krishgen Biosystems hat keine andere Verpflichtung in Bezug auf die Produkte oder Teile davon, sei es aufgrund von Verträgen, unerlaubter Handlung und strenger Haftung oder anderweitig. Krishgen Biosystems haftet unter keinen Umständen, sei es aufgrund dieser eingeschränkten Garantie oder auf andere Weise, für Neben-, Sonder- oder Folgeschäden.

Diese eingeschränkte Garantie stellt die gesamte Verpflichtung von Krishgen Biosystems in Bezug auf die Produkte dar. Sollte ein Teil dieser beschränkten Garantie für nichtig oder illegal erklärt werden, bleibt der Rest in vollem Umfang in Kraft.

**Krishgen Biosystems. 2020**

**DANKE FÜR DIE VERWENDUNG VON KRISHGEN PRODUKT!**



M/s Genuine Biosystem Private Limited,  
Plot No.97 & 98, Kattabomman Street Parvathi Nagar Extension, Old Perungalathur  
Chennai, Kanchipuram, Tamil Nadu (India) - 600063

Worldwide Exclusive Marketed by:  
**KRISHGEN BioSystems**

Unit Nos#318/319, Shah & Nahar,  
Off Dr E Moses Road, Worli, Mumbai 400018.  
Tel: 91 (22) 49198700 | Email: sales@krishgen.com






# SARS-Cov-2 Coronavirus (Covid-19) Real-Time RT-PCR (RT-qPCR) Detection Kit

**REF** : KBRT010

Ver 2.0

**IVD**

EL kit de detección SARS-CoV-2 Coronavirus (Covid-19) RT-PCR en tiempo real (RT-qPCR) está diseñado para detectar la presencia de coronavirus SARS-CoV-2 en muestras respiratorias y muestras de suero según lo recomendado por los CDC (Centre for Disease Control) de Atlanta, EE. UU.

<b>IVD</b>	Para uso diagnóstico in vitro	<b>REF</b>	Numero de catalogo
	Almacenado en	<b>LOT</b>	Código de lote
	Fabricado por		Riesgo biologico
	Fecha de caducidad		Consultar las instrucciones de funcionamiento

*Sólo para uso diagnóstico in vitro. La compra no incluye ni tiene el derecho de revender o transferir este producto como un producto independiente o como un componente de otro producto. Cualquier uso de este producto que no sea el uso permitido sin la autorización expresa por escrito de KRISHGEN BioSystems está estrictamente prohibido.*



**REF** KBRT010

 100 reactions

**KRISHGEN BioSystems**

Unit Nos#318/319, Shah & Nahar,  
Off Dr E Moses Road, Worli, Mumbai 400018.  
Tel: 91 (22) 49198700 | Email: sales@krishgen.com

**EC REP**

KinesisDx, Lyoner Strasse 14, Frankfurt, Germany

**Introducción:**

Los coronavirus son una familia de virus de ARN grandes con un tamaño que oscila entre 26 y 32 kb. Estos virus son zoonóticos y en humanos pueden causar infecciones respiratorias. Como el coronavirus es un virus de ARN, tiene una tasa de mutación relativamente alta que resulta en una rápida evolución. En diciembre de 2019, se identificó un nuevo coronavirus mortal conocido como SARS-CoV-2 (anteriormente conocido como 2019-nCoV), que tiene una alta similitud de secuencia con el SARS-CoV, y ha causado una neumonía, conocida como Covid-19, brote en Wuhan, China y propagación a nivel mundial.

**Uso Previsto:**

EL kit de detección SARS-CoV-2 Coronavirus (Covid-19) RT-PCR en tiempo real (RT-qPCR) está diseñado para detectar la presencia de coronavirus SARS-CoV-2 en muestras respiratorias y muestras séricas. El kit está diseñado según las directrices emitidas por el Centro para el Control de Enfermedades (CDC), Atlanta, EE. UU.

**Principio:**

Este kit contiene tres conjuntos de imprimación/sonda (Set 1 de imprimación/sonda del gen N, conjunto 2 de imprimación/sonda del gen N, y N gene primer/probe set 3) que se dirigen a las regiones conservadoras del gen del coronavirus nucleocapsidos (N), el conjunto de imprimación/sonda de genes RPP30 humano (conjunto de imprimación/sonda genética rpp30 humana) que se dirige al exón 1 del gen RPP30 humano y sirve como control para evaluar la calidad de las muestras, un control positivo del ADN no infeccioso (control positivo (ADN infeccioso no infeccioso) para garantizar que los reactivos e instrumentos funcionen correctamente, y un espécimen negativo control de extracción (extracto de ARN humano de muestras no infectadas, control de extracción de muestras humanas) para evaluar la transcripción inversa. Consulte los Cuadros 4 y 5 para la interpretación de los resultados.

**Reactivos y Materiales Proporcionados:**

Sr No	Componente	Cantidad	Almacenamiento
N1	N gen Primer/Sonda set 1, liofilizado	1 vial	-20°C
N2	N gen Primer/Sonda set 2, liofilizado	1 vial	-20°C
N3	N gen Primer/Sonda set 3, liofilizado	1 vial	-20°C
RP	Conjunto de primer/sonda del gen RPP30 humano, liofilizado	1 vial	-20°C
H2O	H2O libre de nucleasas	8 ml	4°C
Pos	Control positivo (ADN no infeccioso)	200 ul	-80°C
Hsc	Control de extracción de muestras humanas (HSC) (extracto de ARN humano de muestras no infectadas)	200 ul	-80°C

**Materiales Que Debe Proporcionar el Usuario Final:**

Componente	Recomienda
Muestras de ARN	ejemplo de prueba de usuario
placa o tubo qPCR	
Mezcla maestra RT-qPCR	TaqPath™ mezcla maestra RT-qPCR de 1 paso, CG, 4X (Thermo Fisher)

**Manipulación / Almacenamiento:**

1. Almacene los conjuntos de Imprimación/Sondas, el conjunto de imprimación/sonda Del gen N 1, el conjunto de imprimación/sonda del gen N, el conjunto de imprimación/sonda N de la primera a -20°C en un congelador de descongelación manual, y el control positivo y el control de extracción de muestras humanas a -80°C y el H2O sin nucleasas 4°C.

**Preparación y Almacenamiento De Muestras:**

1. Use el equipo de protección personal adecuado (por ejemplo, batas, guantes, protección ocular) cuando trabaje con muestras clínicas. El procesamiento de muestras debe realizarse en un gabinete de seguridad biológica certificado de clase II siguiendo las directrices de nivel 2 o superior de bioseguridad.
2. Especímenes respiratorios incluyendo: aspirados o lavados nasofaríngeos u orofaríngeos, hisopos nasofaríngeos u orofaríngeos, lavado broncoalveolar, aspirados traqueales y esputo.
3. Los especímenes de hisopo deben recogerse únicamente en hisopos con punta sintética (como poliéster o Dacron®) con ejes de aluminio o plástico. Los hisopos con alginato de calcio o puntas de algodón con ejes de madera no son aceptables.

**Procedimiento De Ensayo:**

1. Antes de su uso, permita que los conjuntos de Imprimación/Sonda (N1, N2, N3 y RP) se calienten a temperatura ambiente en la oscuridad.
2. Centrifugar los viales a 1.500 g durante 1 minuto.
3. Añadir **200 ul Sin Nucleasas H2O** al gen **N Primer/Sonda set 1 (lío filizado)** y dejar rehidratar durante 15 minutos a temperatura ambiente para hacer **N1 solución de material de imprimación/sonda**. Aliquot según sea necesario. Conservar a -20°C en un congelador manual de descongelación. Evite ciclos repetidos de congelación y descongelación. Mantener el frío y en la oscuridad cuando se desconde.
4. Añadir **200 ul Sin Nucleasas H2O** al gen **N Primer/Sonda set 2 (lío filizado)** y dejar rehidratar durante 15 minutos a temperatura ambiente para hacer **N2 primer/sonda solución de stock**. Aliquot según sea necesario. Conservar a -20°C en un congelador manual de descongelación. Evite ciclos repetidos de congelación y descongelación. Mantener el frío y en la oscuridad cuando se desconde.
- 5.. Añadir **200 ul Sin Nucleasas H2O** al gen **N Primer/Sonda set 3 (lío filizado)** y dejar rehidratar durante 15 minutos a temperatura ambiente para hacer **N3 solución de material de imprimación/sonda**. Aliquot según sea necesario. Conservar a -20°C en un congelador manual de descongelación. Evite ciclos repetidos de congelación y descongelación. Mantener el frío y en la oscuridad cuando se desconde.
6. Añadir **200 ul Sin Nucleasas H2O** al conjunto de imprimación/sonda del gen **RPP30 humano (lío filizado)** y permitir rehidratar durante 15 minutos a temperatura ambiente para hacer la solución de stock de imprimación/sonda RP. Aliquot según sea necesario. Conservar a -20°C en un congelador manual de descongelación. Evite ciclos repetidos de congelación y descongelación. Mantener el frío y en la oscuridad cuando se desconde.
7. Con **muestras de ensayo, se deben ejecutar simultáneamente tres muestras de control, el Control Positivo (ADN no infeccioso), el Control de extracción de muestras humanas (HSC) y H2O como Control Sin Plantilla (NTC)**. Prepare cuatro reacciones RT-qPCR para cada muestra de control, una con solución de stock **N1 Primer/Probe**, otra con solución de stock **N2 Primer/Probe**, otra con solución de stock **N3 Primer/Probe** y otra con solución de stock **RP Primer/Probe**. Prepare 20 reacciones RT-qPCR para una bien como se muestra en la Tabla 1.

**Tabla 1.**

Muestra de control	5 ul
Solución de stock de imprimación/sonda (N1, N2, N3 o	2 ul
Mezcla maestra RT-qPCR de 1 paso, 4x	5 ul
H2O libre de nucleasas	8 ul
<b>Volumen total</b>	<b>20 ul</b>

8. Para cada muestra de prueba de ARN extraída, prepare cuatro reacciones RT-qPCR, una con solución de stock **N1 Primer/Probe**, otra con solución de stock **N2 Primer/Probe**, otra con solución de stock **N3 Primer/Probe** y otra con solución de stock **RP Primer/Probe**. Prepare 20 reacciones RT-qPCR para una bien como se muestra en la Tabla 2.

**Tabla 2.**

Muestra de prueba de ARN (la concentración varía)	5 ul
Solución de material de imprimación/sonda (N1, N2, N3 o RP)	2 ul
Mezcla maestra RT-qPCR de 1 paso, 4x	5 ul
H2O libre de nucleasas	8 ul
<b>Volumen Total</b>	<b>20 ul</b>

- Selle los pozos de reacción RT-qPCR. Centrifugar las placas o tubos a 1.500 g durante 15 segundos.
- Configure las reacciones RT-qPCR como se muestra en el Cuadro 3.

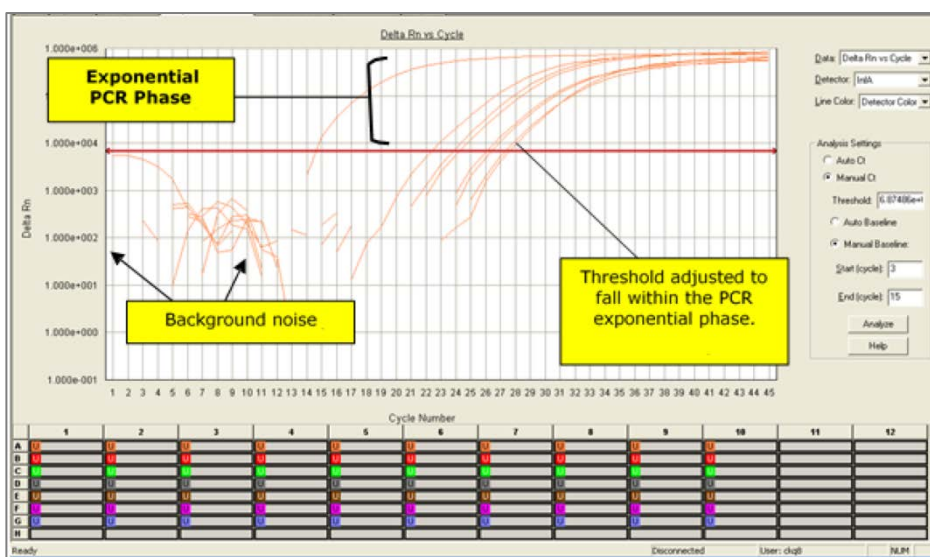
**Cuadro 3.**

Ajustes del instrumento para reacciones RT-qPCR. Los datos de fluorescencia (FAM) deben recopilarse durante el paso de adquisición de datos.

Paso	Temperatura	hora	Número de ciclos
Incubación de UNG	25°C	2 min	1
Transcripción inversa	50°C	15 min	1
Activación de enzimas	95°C	2 min	1
Desnaturalización	95°C	3 sec	45
Annealing y extensión	55°C	30 sec	
Adquisición de datos	Lectura de placas, detector (FAM)		

**Análisis De Datos:**

Después de completar la ejecución de PCR, guarde y analice los datos siguiendo las instrucciones del fabricante del instrumento. El análisis debe realizarse por separado para cada destino mediante una configuración de umbral manual. Los umbrales (valores CT) deben ajustarse para que entren dentro de la fase exponencial de las curvas de fluorescencia y por encima de cualquier señal de fondo (consulte la imagen a continuación). El procedimiento elegido para establecer el umbral debe utilizarse de forma coherente.



**Interpretación De Los Resultados:**

**Cuadro 4.** SARS-Cov-2 Kit Control de La Interpretación de los Resultados de la Muestra.

Muestra	KBRT010-N1	KBRT010-N2	KBRT010-N3	KBRT-RP	Interpretación de resultados
2020-Pos	+	+	+	+	Esperado
	-	-	-	-	Error de PCR
2020-Hsc	-	-	-	+	Esperado
	-	-	-	-	Error en la transcripción inversa y/o PCR
	Si alguien de tres objetivos es positivo			±	Reactivo(s) Contaminado(s)
NTC (H <sub>2</sub> O)	-	-	-	-	Esperado
	Si alguien de cuatro objetivos es positivo				Reactivo(s) Contaminado(s)

**Tabla 5.** Interpretación de los resultados de la prueba de muestra de destino del kit CVPD cuando los resultados del control son los esperados.

KBRT010-N1	KBRT010-N2	KBRT010-N3	KBRT010-RP	Interpretación de resultados
+	+	+	±	SARS-CoV-2 Detectado
Si sólo uno, o dos, de tres objetivos es positivo			±	Resultado no concluyente
-	-	-	+	SARS-CoV-2 No detectado
-	-	-	-	Resultado no válido

**Control De Calidad:**

Los conjuntos de imprimación/sonda y los controles positivos/negativos son validados por qPCR. Los productos PCR son analizados por electroforesis de gel.

**Precauciones de seguridad:**

- Este kit es solo para uso de investigación. Siga cuidadosamente las instrucciones de trabajo.
- Deben observarse las fechas de caducidad indicadas en el kit. Lo mismo se refiere a la estabilidad declarada para los reactivos
- No utilice ni mezcle reactivos de diferentes lotes.
- No utilice reactivos de otros fabricantes.
- Evite el cambio de hora durante el pipeteo de los reactivos.
- Todos los reactivos deben conservarse en el contenedor de envío original.
- Algunos de los reactivos contienen una pequeña cantidad de azida sódica (<<0,1 % p/p) como conservante. No deben tragarse ni permitirse que entren en contacto con la piel o la mucosa.
- Los materiales de origen tal vez derivados de fluidos u órganos corporales humanos utilizados en la preparación de este kit fueron probados y encontrados negativos para HBsAg y VIH, así como para los anticuerpos contra el VHC. Sin embargo, ninguna prueba conocida garantiza la ausencia de tales agentes virales. Por lo tanto, maneje todos los componentes y todas las muestras de pacientes como si fueran potencialmente peligrosas.
- Dado que el kit contiene materiales potencialmente peligrosos, se deben observar las siguientes precauciones
  - No fume, coma ni beba mientras manipula el material del kit
  - Utilice siempre guantes de protección



- Nunca pipetee el material por vía oral
- Limpie los derrames rápidamente, lavando bien la superficie afectada con un decontaminante.
- En cualquier caso, GLP debe aplicarse con todas las normativas generales e individuales al uso de este kit.

## **GARANTIA LIMITADA**

Krishgen Biosystems no garantiza daños o defectos que surjan en el envío o manipulación, o por accidente o uso indebido o anormal de los Productos; contra defectos en productos o componentes no fabricados por Krishgen Biosystems, o contra daños resultantes de tales biosistemas no-Krishgen

productos o componentes. Krishgen Biosystems transmite al cliente la garantía que recibió (si la hubiera) del fabricante de los mismos de dichos productos o componentes no fabricados en Krishgen. Esta garantía tampoco se aplica a los Productos a los que se hayan realizado o intentado realizar cambios o modificaciones por personas que no sean de conformidad con la autorización por escrito de Krishgen Biosystems.

ESTA GARANTIA ES EXCLUSIVA. La única y exclusiva obligación de Krishgen Biosystems será reparar o reemplazar los Productos defectuosos en la forma y durante el período previsto anteriormente. Krishgen Biosystems no tendrá ninguna otra obligación con respecto a los Productos o cualquier parte de los mismos, ya sea por contrato, agravio y responsabilidad estricta o de otra manera. Bajo ninguna circunstancia, ya sea basado en esta Garantía Limitada o de otra manera, Krishgen Biosystems será responsable de daños incidentales, especiales o consecuentes.

Esta Garantía Limitada establece toda la obligación de Krishgen Biosystems con respecto a los Productos. Si se determina que alguna parte de esta Garantía limitada es nula o ilegal, el resto permanecerá en pleno vigor y efecto.

**Krishgen Biosystems. 2020**

**¡GRACIAS POR USAR EL PRODUCTO KRISHGEN!**



M/s Genuine Biosystem Private Limited,  
Plot No.97 & 98, Kattabomman Street Parvathi Nagar Extension, Old Perungalathur  
Chennai, Kanchipuram, Tamil Nadu (India) - 600063

Worldwide Exclusive Marketed by:

**KRISHGEN BioSystems**

Unit Nos#318/319, Shah & Nahar,  
Off Dr E Moses Road, Worli, Mumbai 400018.  
Tel: 91 (22) 49198700 | Email: sales@krishgen.com



**\*\*\*\*\*DISCLAIMER\*\*\*\*\***

These sequences are intended to be used for the purposes of respiratory virus surveillance and research. The recipient agrees to use them in compliance with all applicable laws and regulations. Every effort has been made to assure the accuracy of the sequences, but CDC cannot provide any warranty regarding their accuracy. The recipient can acknowledge the source of sequences in any oral presentations or written publications concerning the research project by referring to the Division of Viral Diseases, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA.

**2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-time rRT-PCR Panel****Primers and Probes**

Division of Viral Diseases

<b>2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-time rRT-PCR Panel Primers and Probes</b>				
<b>Name</b>	<b>Description</b>	<b>Oligonucleotide Sequence (5'&gt;3')</b>	<b>Label<sup>1</sup></b>	<b>Working Conc.</b>
2019-nCoV_N1-F	2019-nCoV_N1 Forward Primer	5'-GAC CCC AAA ATC AGC GAA AT-3'	None	20 µM
2019-nCoV_N1-R	2019-nCoV_N1 Reverse Primer	5'-TCT GGT TAC TGC CAG TTG AAT CTG-3'	None	20 µM
2019-nCoV_N1-P	2019-nCoV_N1 Probe	5'-FAM-ACC CCG CAT TAC GTT TGG TGG ACC-BHQ1-3'	FAM, BHQ-1	5 µM
2019-nCoV_N2-F	2019-nCoV_N2 Forward Primer	5'-TTA CAA ACA TTG GCC GCA AA-3'	None	20 µM
2019-nCoV_N2-R	2019-nCoV_N2 Reverse Primer	5'-GCG CGA CAT TCC GAA GAA-3'	None	20 µM
2019-nCoV_N2-P	2019-nCoV_N2 Probe	5'-FAM-ACA ATT TGC CCC CAG CGC TTC AG-BHQ1-3'	FAM, BHQ-1	5 µM
2019-nCoV_N3-F	2019-nCoV_N3 Forward Primer	5'-GGG AGC CTT GAA TAC ACC AAA A-3'	None	20 µM
2019-nCoV_N3-R	2019-nCoV_N3 Reverse Primer	5'-TGT AGC ACG ATT GCA GCA TTG-3'	None	20 µM
2019-nCoV_N3-P	2019-nCoV_N3 Probe	5'-FAM-AYC ACA TTG GCA CCC GCA ATC CTG-BHQ1-3'	FAM, BHQ-1	5 µM
RP-F	RNAse P Forward Primer	5'-AGA TTT GGA CCT GCG AGC G-3'	None	20 µM
RP-R	RNAse P Reverse Primer	5'-GAG CGG CTG TCT CCA CAA GT-3'	None	20 µM
RP-P	RNAse P Probe	5'-FAM – TTC TGA CCT GAA GGC TCT GCG CG – BHQ-1-3'	FAM, BHQ-1	5 µM

<sup>1</sup>TaqMan® probes are labeled at the 5'-end with the reporter molecule 6-carboxyfluorescein (FAM) and with the quencher, Black Hole Quencher 1 (BHQ-1) (Biosearch Technologies, Inc., Novato, CA) at the 3'-end.

Note: Oligonucleotide sequences are subject to future changes as the 2019-Novel Coronavirus evolves.