

คู่มือการใช้งาน

Instruction Manual

Fastproof™ Dual

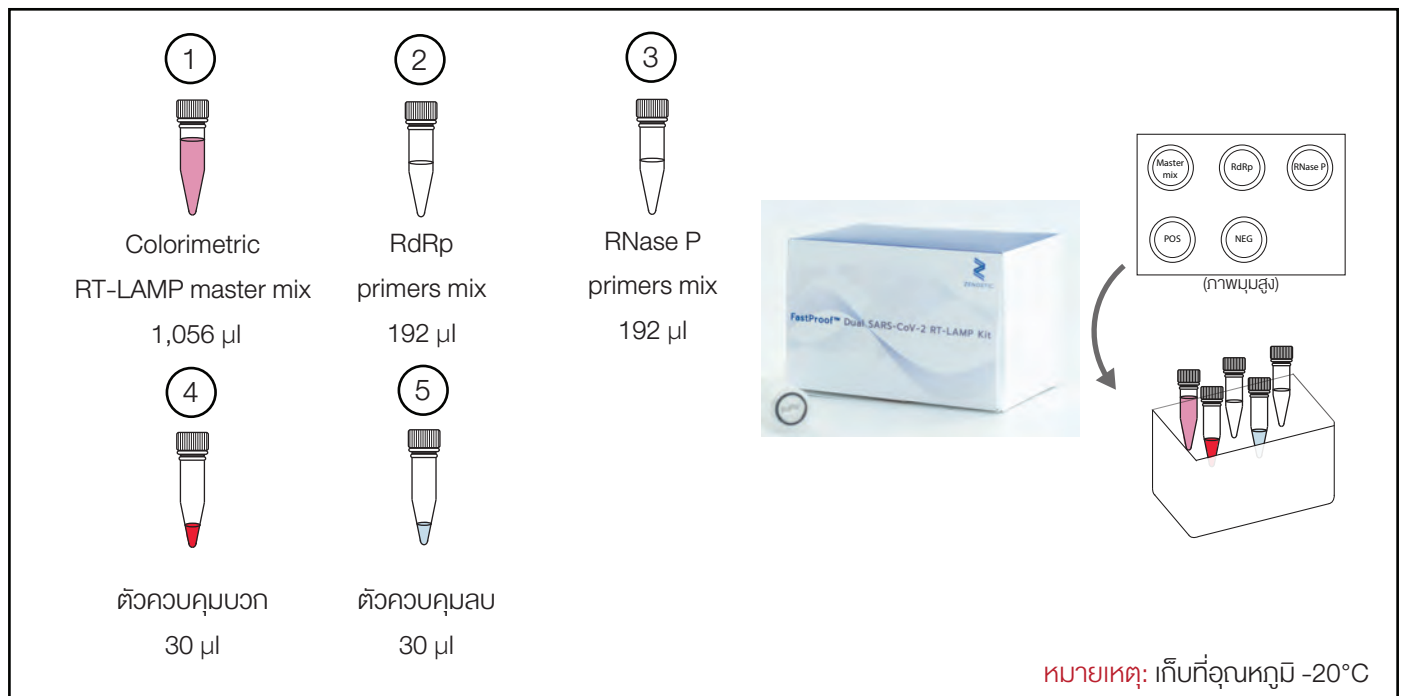
SARS-CoV-2 RT-LAMP Kit

Catalog Number ZE-P13

Publication Number 0002

IVD (In-Vitro Diagnostic)

ข้อมูลผลิตภัณฑ์



ส่วนประกอบสำคัญ

1 ชุดทดสอบสามารถใช้งานได้ 96 ปฏิกริยา (48 ปฏิกริยา/target gene)

ส่วนประกอบสำคัญ	ปริมาตรสุทธิ
1. Colorimetric RT-LAMP master mix	1,056 µl
2. RdRp primers mix	192 µl
3. RNase P primers mix	192 µl
4. ตัวควบคุมบวก	30 µl
5. ตัวควบคุมลบ	30 µl

สถานที่วิจัยและผลิตเครื่องมือแพทย์

บริษัท เซโนสติกส์ จำกัด

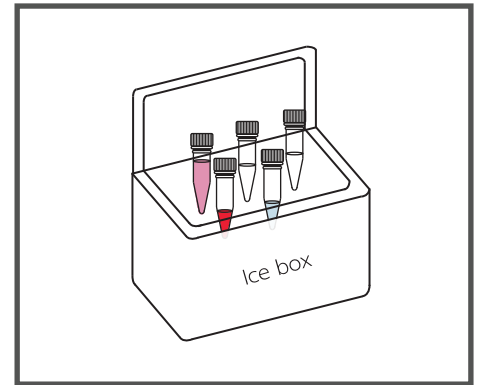
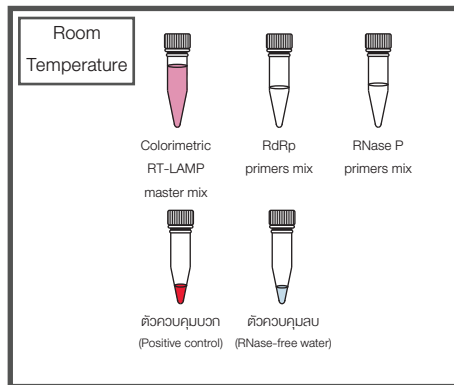
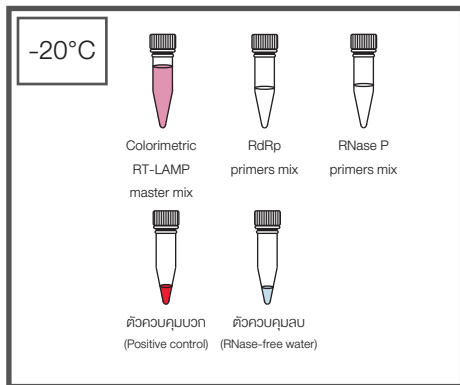
272 ถนนพระรามที่ 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400 (ประเทศไทย)

อีเมล: info@zenostic.com

www.zenosticbio.com

ขั้นตอนการใช้งาน Fastproof™ Dual SARS-CoV-2 RT-LAMP Kit

1. ละลายน้ำยาทดสอบ



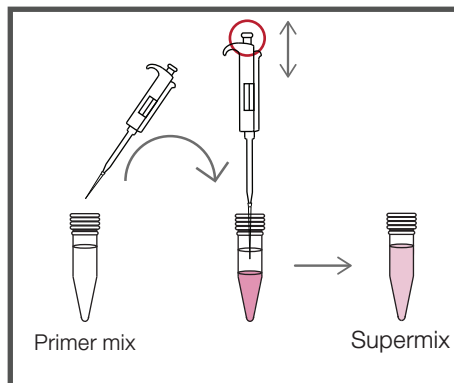
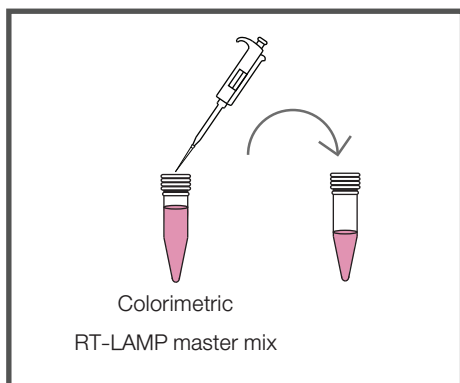
นำน้ำยา Colorimetric RT-LAMP master mix, Primers mix, ตัวควบคุมบวก และตัวควบคุมลบ (RNase-free water) ออกจากอุณหภูมิ -20°C

นำน้ำยามาทำให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง

นำน้ำยาไปแช่ในน้ำแข็ง

2. การเตรียมน้ำยา RT-LAMP Supermix สำหรับการทำปฏิกิริยา (เตรียมใน ตู้ Biosafety cabinet, ตู้ Laminar flow หรือ ตู้ระบบปิด)

2.1) ขั้นตอนการผสมน้ำยา



ผสมน้ำยา Colorimetric RT-LAMP master mix (สารละลายสีชมพู) กับ Primer mix ตามจำนวนตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ (ดังตารางที่ 1)

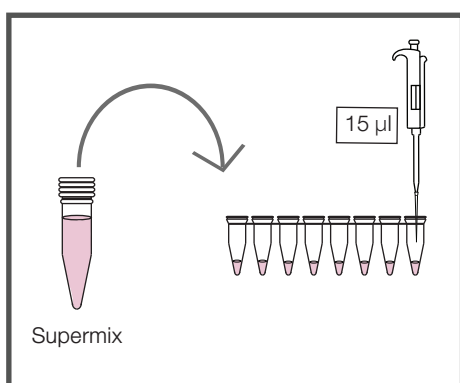
ผสมน้ำยาทั้งสองเข้าด้วยกัน

ตารางที่ 1

ปริมาณสารสำหรับการเตรียม RT-LAMP supermix สำหรับตรวจ SARS-CoV-2

	จำนวน Reaction ที่ต้องการ		
	1 Reaction (μl)	10 Reaction (μl)	20 Reaction (μl)
Colorimetric RT-LAMP master mix	11	110	220
Primers mix (แต่ละ target genes)	4	40	80
รวม	15	150	300

2.2) ขั้นตอนการแบ่งน้ำยา RT-LAMP Supermix

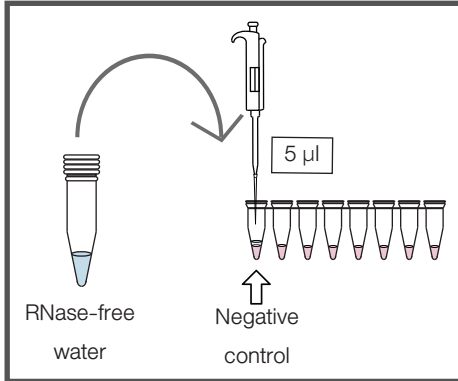


ทำการแบ่งน้ำยา RT-LAMP supermix ลงในหลอด PCR โดยแบ่งใส่หลอดละ 15 μl

ขั้นตอนการใช้งาน Fastproof™ Dual SARS-CoV-2 RT-LAMP Kit

2. การเตรียมน้ำยา RT-LAMP Supermix สำหรับการทำปฏิกิริยา (เตรียมใน ตู้ Biosafety cabinet, ตู้ Laminar flow หรือ ตู้ระบบปิด)

2.3) ทำการเตรียมหลอดตัวควบคุมลบ (Negative control)

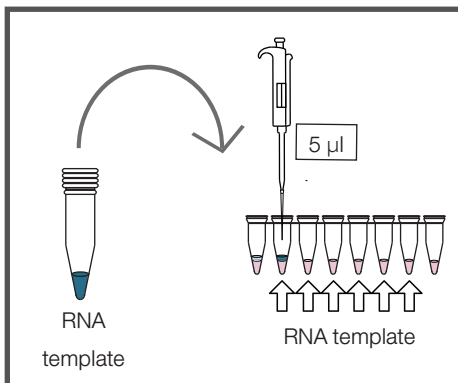


ทำการเตรียมหลอดตัวควบคุมลบ (negative control) โดย
การใส่น้ำ (RNase-free water)
ปริมาตร 5 µl ลงในหลอด PCR จำนวน 1 หลอด

***ควรทำขั้นตอนนี้ให้เสร็จสิ้นก่อนที่จะมีการใส่
template จากตัวอย่างผู้ป่วยหรือตัวควบคุมบวก***

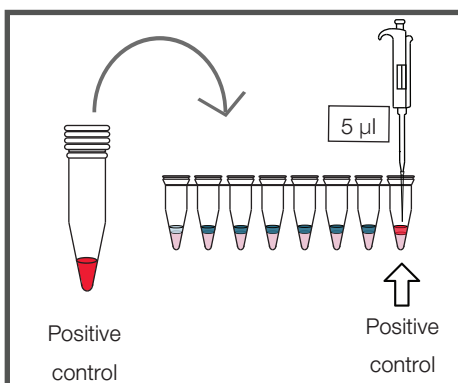
หมายเหตุ: เพื่อป้องกันการเกิดการปนเปื้อน (Contamination) ในปฏิกิริยา ควรทำการเตรียม RT-LAMP Supermix ลงในหลอด PCR รวมถึงตัวควบคุมลบ ให้เสร็จสิ้นก่อนทำการหยิบจับ RNA template และไม่ควรเตรียมน้ำยา RT-LAMP Supermix ในบริเวณพื้นที่เดียวกันกับพื้นที่ที่ใช้เตรียมหรือใส่ Template

3. การใส่ RNA template ที่สกัดได้จากตัวอย่างลงในหลอด PCR

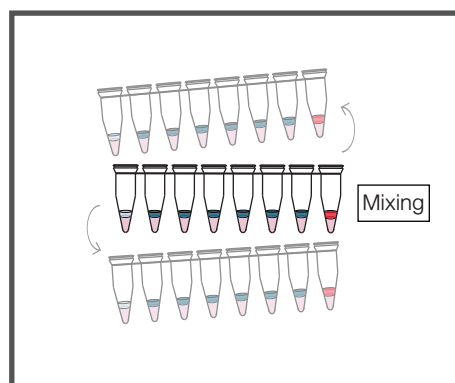


ทำการใส่ RNA template ที่สกัดได้จากตัวอย่าง ลง
ในหลอด PCR ที่ได้ทำการแบ่งสาร RT-LAMP
Supermix ไว้เรียบร้อยแล้ว (ข้อ 2.2) โดยใส่หลอด

4. การเตรียมหลอดตัวควบคุมบวก (Positive control)



ดูตัวอย่างจากหลอดตัวควบคุมบวก ปริมาตร
5 µl ใส่ลงในหลอด PCR ที่เตรียมไว้สำหรับเป็น
หลอดตัวควบคุมบวกจำนวน 1 หลอดต่อ
1 รอบการทดสอบ

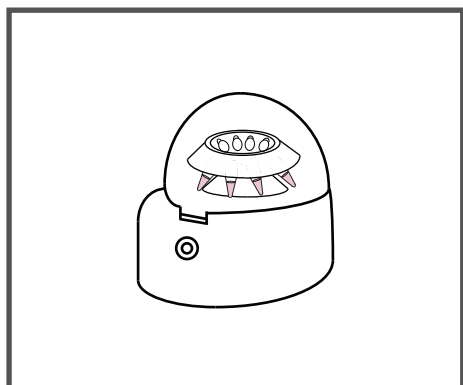


ผสมน้ำยาให้เข้ากัน

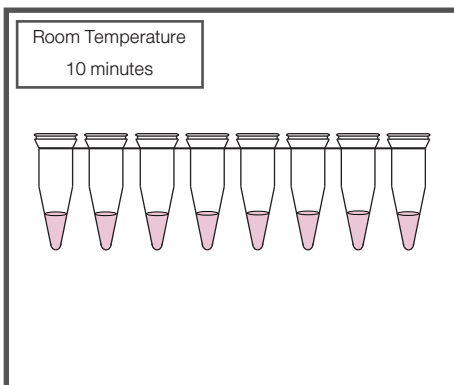
หมายเหตุ: ให้ทำการใส่ตัวควบคุมบวกหลังจากที่ใส่ RNA
template ที่สกัดได้จากตัวอย่างเสร็จเรียบร้อยแล้ว

ขั้นตอนการใช้งาน **Fastproof™** Dual SARS-CoV-2 RT-LAMP Kit

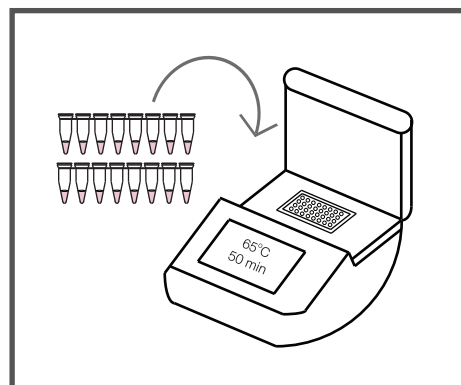
5. การทำปฏิกิริยาชุดทดสอบ



หลังผสมเสร็จให้ทำการ Spin down
หลอด PCR



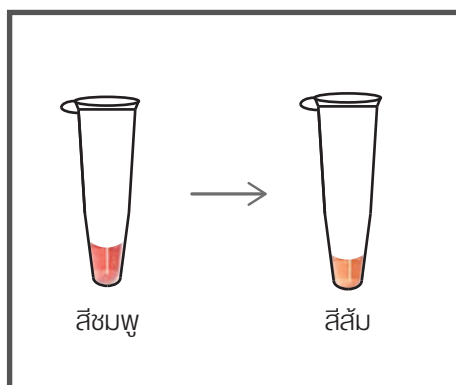
ตั้งไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที
หรือบ่มด้วยอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 10 นาที
ด้วยเครื่อง Heating block



นำหลอด PCR ไปใส่ในเครื่อง Heating block
ตั้งค่าอุณหภูมิและเวลาของเครื่อง Heating
block ที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 50 นาที
และนำไปไว้ที่เย็นเป็นเวลา 1 นาทีก่อนการอ่านผล

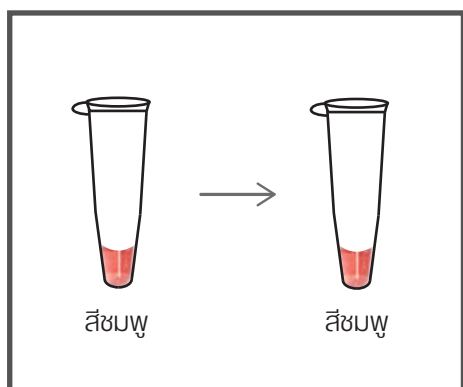
การอ่านผลของ **Fastproof™** Dual SARS-CoV-2 RT-LAMP Kit

1. ผลทดสอบเป็น “บวก” (Detected)



หากสารละลายปรากฏเป็นสีเหลืองหรือสีส้ม
“ผลเป็นบวก”

2. ผลทดสอบเป็น “ลบ” (Not detected)



หากสารละลายปรากฏเป็นสีชมพู
“ผลเป็นลบ”

การแปลผลชุดทดสอบ

RdRp	RNase P (Internal control)	ผลทดสอบ
+	+	ตรวจพบสารพันธุกรรม SARS-CoV-2
-	+	ไม่พบสารพันธุกรรม SARS-CoV-2
+/-	-	ไม่สามารถสรุปได้/ทดสอบซ้ำ

ข้อควรปฏิบัติ/ข้อควรระวัง

- ห้ามเปิดฝาหลอด RT-LAMP supermix หลังจากใส่ template เป็นเวลานาน ทั้งนี้เพื่อป้องกันการเกิดกระบวนการ oxidation และการปนเปื้อน ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อคุณภาพของปฏิกิริยา ทำให้กระบวนการ อ่านผลทดสอบหลังเสร็จสิ้นปฏิกิริยาได้
- เพื่อป้องกันการเกิดการปนเปื้อนในสถานที่ที่ใช้ทำการทดสอบ ห้ามเปิดฝาหลอด RT-LAMP supermix หลังเสร็จสิ้นการทำปฏิกิริยาการทดสอบกับตัวอย่างโดยเด็ดขาด
- การกำจัดหลอดปฏิกิริยา RT-LAMP supermix เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของ LAMP amplicons หลังเสร็จสิ้นกระบวนการทดสอบแล้ว ให้ทำการบรรจุใส่ถุงขยะติดเชื้อและนำไปกำจัดตามแนวปฏิบัติด้าน ความปลอดภัยทางชีวภาพที่เหมาะสม

การแก้ไขปัญหาเบื้องต้น

ปัญหาที่อาจเกิดขึ้น	แนวทางการแก้ไขปัญหา
มีตะกอนในหลอด Master mix หลังผ่านการ freeze/thaw หลายครั้ง	● ผสมสารด้วยการ Vortex หรือพลิกหลอด ไปมาจนกระทั่งตะกอนหายไป
ผลการทดลองที่ตัวควบคุมลบให้ผลเป็นสีเหลือง (False positive)	● ทำความสะอาดพื้นที่ทำงานรวมทั้งอุปกรณ์ที่ใช้ ● เปลี่ยน RNase-free water ● ตรวจสอบความสามารถในการควบคุมอุณหภูมิของเครื่อง Thermal cycler ● หลีกเลี่ยงการเปิดฝาหลอดที่มีน้ำยา (Colorimetric RT-LAMP master mix และ Supermix) ควรรักษาอุณหภูมิของน้ำยา (Colorimetric RT-LAMP master mix และ Supermix) ให้อยู่ที่ 4°C ตลอดระยะเวลาในการทำงาน