

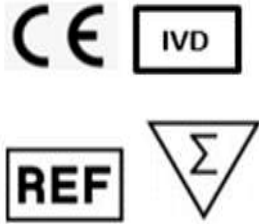
BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti Kullanım Kılavuzu

Yayınlanma Tarihi: 10.12.2020



BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti

KULLANIM KILAVUZU



RT-qPCR.018 - 100 Test

RT-qPCR.018500 - 500 Test



1. KULLANIM AMACI

- **BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti**, nazofaringeal sürüntüler, orofaringeal (boğaz) sürüntüler, kombine nazofaringeal/orofaringeal sürüntüler, ön nazal sürüntüler, orta konka nazal sürüntüler, nazal veya nazofaringeal aspiratlar, nazal yıkamalar, saliva (tükürük), balgam ve bronkoalveolar lavaj örneklerindeki SARS-CoV-2'den RNA'nın kalitatif tespiti için tasarlanmış gerçek zamanlı bir RT-PCR testidir. Bu belge, solunum örneklerinde in vitro kalitatif SARS-CoV-2 tespiti için gerçek zamanlı RT-qPCR testlerinin kullanımını açıklamaktadır. SARS-CoV-2 primer ve prob setleri, SARS-CoV-2'nin spesifik tespiti için tasarlanmıştır.
- **BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti** enfeksiyon nazofaringeal sürüntüler, orofaringeal (boğaz) sürüntüler, kombine nazofaringeal/orofaringeal sürüntüler, ön nazal swablar, orta konka nazal swablar, nazal veya nazofaringeal aspiratlar, nazal yıkama ve sağlık kuruluşları tarafından COVID-19 olduğundan şüphelenilen hastalardan alınan bronkoalveolar lavaj örnekleri örneklerinde SARS-CoV-2 RNA'yı saptar. Pozitif sonuçlar, SARS-CoV-2 RNA'nın varlığını gösterir; Hastanın gerçek enfeksiyon durumunu belirlemek için hasta geçmişi ve diğer tanı bilgileriyle klinik korelasyon dikkate alınmalıdır. Pozitif sonuçlar, bakteriyel enfeksiyonu veya diğer virüslerle birlikte enfeksiyonu ortadan kaldırmaz.
- Negatif sonuçlar, SARS-CoV-2 enfeksiyonunu çıkarmaz ve hasta yönetimi kararları için tek temel olarak kullanılmamalıdır. Negatif sonuçlar klinik gözlemler, hasta geçmişi ve epidemiyolojik bilgilerle birleştirilmelidir.
- **BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kitinin** kullanımı, gerçek zamanlı PCR ve in vitro diagnostik prosedürler konusunda özel talimat ve eğitim almış klinik laboratuvar personeli tarafından kullanılmak üzere tasarlanmıştır.
- **BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti** multiplex bir kittir. İnsan ekstraksiyon kontrolü ve COVID-19 testini aynı tüpde tespit eder.
- **BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti** Real-Time PCR Kiti ile algılama, solunum yolundan hızlı nükleik asit ekstraksiyonu ile sağlanır.

Ardından SARS-CoV-2'ye özgü N/ORF1ab/RdRp/E ve S genlerinden ikisini ve insan genom bölgelerinden RNaseP /GAPDH genlerinden birini hedefleyen gen bölgelerinin multipleks gerçek zamanlı RT-PCR ile FAM ve HEX kanallarında algılanması sağlanır.

- **BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kitinin** test edildiği Algılama Sistemleri; QuantStudio 5 Real-Time PCR Detection Systemi, Rotor-Gene 3000/6000, Applied Biosystems 7500, BIO-RAD CFX96-IVD 7500 Fast System (ABI®), Agilent AriaMx Real Time PCR systems, LongGene Q2000A, StepOnePlus™ Real-Time PCR System, SLAN-96P ve Bioneer-Exicycler-96 cihazında.
- Kitler, CDC'nin ve WHO'nun en son tespit kurallarına uygundur.

2. ÜRÜN TANITIMI

BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti, 2019 Wuhan korona virüsü (SARS-CoV-2, eski adıyla 2019-nCoV) için gerçek zamanlı RT-qPCR tabanlı bir tespit sistemidir. SARS-CoV-2, mevsimsel akut solunum yolu hastalığına neden olan yaygın insan korona virüslerinden (229E, NL63, OC43, HKU1) genetik olarak farklı yeni bir insan korona virüsü olarak kabul edilir. Aynı zamanda yeni insan korona virüsü, MERS-CoV ve SARS-CoV'den genetik olarak farklıdır.

BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti, pipetleme hatasını elimine etmek için kit solüsyonu non-interfere özellikte mavi renkli görünür takip boyası ile üretilmiştir. (Kit solüsyonu renkli (mavi)'dir).

BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti, SARS-CoV-2: N, Orf1ab, RdRp, S ve E geninin 2 farklı oldukça spesifik gen dizisinin varlığını tespit eder.

Numunenin SARS-CoV-2 pozitif olduğunu doğrulamak için 2 farklı gen bölgeleri testlerinden biri pozitif olarak test edilmelidir.

Ek olarak, bulaşıcı olmayan bir pozitif kontrol ve bir negatif insan ekstraksiyon kontrolü dahildir. Mix içinde bulunan İnsan Ekstraksiyon Kontrolü (HEC), ekstraksiyon adımı sırasında veya hızlı moleküler taşımalı izolasyon sıvılarında swabdan ekstrakte edilen endojen bir insan hedefi için primerler ve prob içerir. Pozitif kontrol, testlerin işlevselliğini ve genel PCR performansını doğrulamak için kullanılır.

2.1. SARS-CoV-2'nin GERÇEK ZAMANLI PCR TABANLI TESPİTİ

SARS-CoV-2'nin RT-qPCR yöntemiyle saptanmasındaki ilk adım, viral RNA'nın cDNA'ya dönüştürülmesidir. Daha sonra, SARS-CoV-2 için benzersiz olan hedef diziler, floresan etiketli problar kullanılarak gerçek zamanlı olarak izlenen amplifikasyon ile spesifik olarak amplifiye edilir: yeni amplifiye edilmiş DNA zincirlerine dahil edildiğinde, florofor (FAMTM, HEXTM / VIC / JOE) serbest bırakılır ve floresan sinyalinde bir artış gözlemlenebilir.

Koronavirüsün içsel mutasyon oranı nedeniyle, hedef sekansta mutasyonların meydana gelmesi ve zamanla birikmesi mümkündür. Bu, PCR tabanlı tespit yaklaşımıyla yanlış negatif sonuçlara yol açabilir.

BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti, değiştirilmiş bir hedef sekansın neden olduğu yanlış negatif sonuç olasılığını en aza indirmek için 2 farklı hedef sekans üzerinde 2 tespit testi kullanarak bu sorunu giderir. SARS-CoV-2 için orijinal hedef sekansları, tespit deneylerinin bütünlüğünü kontrol etmek için bulaşıcı olmayan hedef pozitif kontrol (TPC) olarak dahil edilir.

Pozitif olarak test edilen numuneler her zaman tamamlayıcı yöntemler ve bağımsız bir laboratuvarında ek analizlerle doğrulanmalıdır.

BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti, kalibre edilmiş FAM™ ve HEX / VIC/JOE kanallı her qPCR ile uyumludur. Pasif referans boyası kullanmayanlar ve düşük ve yüksek konsantrasyonda pasif referans boya (ROX) kullananlar da dahil olmak üzere çeşitli qPCR cihaz tipleriyle uyumlu referans boya ile formüle edilmiştir. (Bu cihazlarla uyumluluğu sağlamak için ek bileşene ihtiyaç yoktur).

2.2. KİT BİLEŞENLERİ

	Reaktifler	Miktar ve Hacim (100test)	Miktar ve Hacim (500test)
1	BNG One Step Reaction Mix	1 x 1500 µL	1 x 7500 µL
2	Negative Control (NTC)	1 x 500 µL	1 x 2500 µL
3	TargetPositive Control (TPC)	1 x 500 µL	1 x 2500 µL

3. GEREKLİ EK MATERYALLER

- Hızlı moleküler taşınabilir izolasyon kitleri kullanılacaksa cihaza ihtiyaç yoktur. Kullanım önerileri dahilinde vortex kullanılabilir. Reaksiyon öncesi nükleik asit ekstraksiyonu için tercih edilen kite uygun araçlar ve ekipmanlar
- FAMTM ve HEX / VIC / JOE algılama için donanımlı gerçek zamanlı PCR algılama sistemi
- Ayarlanabilir pipetler ve uygun filtrelili pipet uçları
- Olası bulaşıcı örneklerle çalışmak için uygun kişisel koruyucu ekipman ve çalışma alanları
- DNAZap™ (Life Technologies), DNA Away™ (FisherScientific), RNase Away™ (FisherScientific), %10 çamaşır suyu (1:10 seyreltilmiş ticari %5,25-6,0 sodyum hipoklorit) gibi yüzey dekontaminantları
- Seyreltme, ana karışımlar vb. Hazırlamak için nükleaz içermeyen tüpler / şeritler / plakalar
- PCR cihazına karşılık gelen nükleaz içermeyen tüpler / şeritler / plakalar
- Reaktifler ve numune için uygun saklama seçenekleri (4°C, -20°C, -70°C)

4. SAKLAMA

- BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti bileşenleri -200C'de saklayın ve tekrarlanan dondurma ve çözme döngülerini önleyin.
- RT-qPCR ana karışımlarını ışıktan koruyun, çünkü uzun süre maruz kalma floroforların performansını düşürebilir.

- Kit bileşenleri nakliye sırasında hasar görmüşse, BNG Laboratuvarları ile iletişime geçin. Performans düşebileceğinden kullanmayın. Soğuk zincirde temin edilip saklandığından emin olun.
- Kontaminasyonu önlemek için reaktifleri numune materyalinden ayrı tutun.
- Belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

5. UYARILAR

- Kit; nükleik asit kaynaklarından ve qPCR ampliconlarından uzak bir yerde muhafaza edilmelidir.
- Kit içeriğindeki bileşenler farklı lot numaralı bileşenler ile ya da aynı isimli fakat farklı üreticilere ait kimyasal maddeler ile karıştırılmamalıdır.
- Ana stok reaktifler qPCR kurulumu sırasında, mümkünse soğuk blok üzerinde bekletilmelidir ve qPCR kurulumu mümkünse soğuk blok üzerinde gerçekleştirilmelidir.
- Kit bileşenleri kullanım öncesinde hafifçe çalkalanarak karıştırılmalıdır. Tüp yüzeyindeki mix sıvısının tamamını alabilmek için 3 sn mini spinlenir.
- qPCR miksleri ve kalıp nükleik asitleri pipetlemek için kullanılan mikropipetler ayrı olmalıdır.
- Kalıp nükleik asit ve pozitif kontrol tüpleri, sıvı transferleri dışında sürekli kapalı tutulmalıdır.
- Analizin gerçekleştirileceği odalar, tezgahlar ve cihazların silinebilir yüzeyleri düzenli olarak %10'luk NaClO, RNase away ve %70'lik Ethonol ile temizlenmelidir.
- qPCR'ı tamamlanmış reaksiyon tüpleri laboratuvarında açılmadan bertaraf edilmelidir.

6. PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Klinik Performans

BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti testleri 277 gerçek pozitif, 100 gerçek negatif ve 1 yanlış negatif ile sonuçlandı. BNG® COVID-19 RT-qPCR saptama Kitinin duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %99,6 ve %100'dür.

Hasta Numuneleri (Tüm türleri için)	Numuneleri numune	Klinik Test		
		Pozitif	Negatif	Toplam
BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti	Pozitif	276	0	276
	Negatif	1	100	101
	Toplam	277	100	377
Pozitif Yüzdesi		276/277= 99.6 %		
Negatif Yüzdesi		100/100=100%		

Analitik Hassasiyet

BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kitinin analitik hassasiyeti, kontrol numunelerinin seyreltme serileri kullanılarak analiz edilmiştir. Saptama Sınırı (LoD) değeri 10cp/μL'dir güven aralıkları Tablo 1'de özetlenmiştir.

Hedef Gen	Saptama Sınırı /kopya/μL
N/Orf1ab/RdRp/S/E	10

Table 1: BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti-Saptama Sınırı (LoD)

Teshis Özgüllüğü

SARS-CoV-2 RNA negatif klinik örnekler, BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kitinin tanısal özgüllüğünü belirlemek için analiz edilmiştir. 100 SARS-CoV-2 RNA negatif klinik sürüntü örneği kullanılmıştır. 100 SARS-CoV-2 negatif klinik numuneden hiçbiri SARS-CoV-2 için pozitif test sonucu vermedi. BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kitinin tanısal özgüllüğü %100'dür. İç kontrolün tamamı pozitif sonuç verdi.

Çapraz-Reaktivite

Bu çalışmada, testin özgüllüğü 24 referans potansiyel çapraz reaktif markör test edilerek değerlendirildi.

BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti, aşağıdaki Tablo 2'de verilen diğer potansiyel çapraz reaktif belirteçlerle herhangi bir çapraz reaktivite göstermez:

HEDEF	SONUÇ	HEDEF	SONUÇ
HCoV-HKU1	Negatif	Respiratory syncytical virus (A/B)	Negatif
HCoV-OC43	Negatif	Parainfluenza 1 virus	Negatif
HCoV-NL63	Negatif	Parainfluenza 2 virus	Negatif
HCoV-229E	Negatif	Parainfluenza 3 virus	Negatif
MERS-CoV	Negatif	Parainfluenza 4 virus	Negatif
Influenza A(H1N1)	Negatif	Human metapneumo virus	Negatif
Influenza A(H3N2)	Negatif	Adenovirus	Negatif
Influenza A(untyped)	Negatif	Human bocavirus	Negatif
Influenza A(H5N1)	Negatif	<i>Legionellaspp.</i>	Negatif
Influenza B (Victoria or Yamagata)	Negatif	<i>Mycoplasmaspp.</i>	Negatif
Rhinovirus/enterovirus	Negatif	HRV	Negatif
MERS	Negatif	TPC	Pozitif
HMPV	Negatif	NTC	Negatif

7. BİYOGÜVENLİK

- Klinik örneklerle çalışırken uygun kişisel koruyucu ekipman (örn. Önlük, pudrasız eldiven, göz koruması) giyin.
- Numune ile çalışma, biyogüvenlik düzeyi 2 veya daha yüksek yönergelere göre sertifikalı bir sınıf II biyolojik güvenlik kabini içinde gerçekleştirilmelidir.

- Daha fazla bilgi için, bakınız: 2019 Yeni Korona virüs (SARS-CoV-2) için Araştırma Altındaki Hastalardan (PUI'ler) Klinik Örnekleri Toplama, İşleme ve Test Etmeye Yönelik Ara Yönergeler
- Mikrobiyolojik ve Biyomedikal Laboratuvarlarda Biyogüvenlik 5. baskısı şu adresten temin edilebilir: <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
- BNG®SARS-CoV-2 Tespit Kitinin kullanımı ve veri değerlendirmesi yalnızca eğitimli laboratuvar personeli ile sınırlıdır.

8. ÖRNEKLER

- Bu testin optimum performansı için iyi laboratuvar uygulaması gereklidir. Kitin bileşenlerinin kontaminasyonundan kaçınmak için özel dikkat gösterilmelidir. Tüm reaktifler, safsızlıklar ve kontaminasyon açısından yakından izlenmelidir. Şüpheli reaktifleri yerel yönergeler ve düzenlemelere göre atın.

Yalnızca test için uygun örnekleri kullanın, örneğin:

- Nazofaringeal sürüntüler, orofaringeal (boğaz) sürüntüler, kombine nazofaringeal/orofaringeal sürüntüler, ön nazal sürüntüler, orta konka nazal sürüntüler, nazal veya nazofaringeal aspiratlar, nazal yıkamalar, saliva (tükürük), balgam ve bronkoalveolar lavaj örnekleri dahil solunum örnekleri.
- Swab örnekleri yalnızca plastik şaftlı sentetik uçlu (polyester veya Dacron® gibi) swablar üzerinde toplanmalıdır. Kalsiyum aljinatlı çubuklar veya tahta şaftlı pamuk uçlar kabul edilebilir. Balgam tükürük ve diğer solunum örnekleri için onaylı aparat ve solüsyonlar kullanılmalıdır.

9. ÖRNEKLER KULLANMA VE SAKLAMA

- Örnekler, toplandıktan sonra 4°C'de 72 saate kadar saklanabilir.
- Ekstraksiyonda bir gecikme bekleniyorsa, örnekleri -200C veya daha düşük sıcaklıkta saklayın.
- Çıkarılan nükleik asitler -200C ve uzun süreli saklama için -700C veya daha düşük sıcaklıkta saklanmalıdır.
- Aşağıdaki durumlarda numuneleri kullanmayın:
- 2-40C'de (≤ 4 gün) tutulmamış veya -200C veya altında dondurulmamış olanlar

- Yeterince etiketlenmemişler veya belgeleri olmayanlar bu amaç için uygun değildirler (uygun numune materyali için yukarıya bakın).
- Örnek hacmi yetersiz

10. ÖRNEK HAZIRLAMA

- RT-qPCR testlerinin performansı, örnek şablon RNA'nın miktarına ve kalitesine büyük ölçüde bağlıdır. Örnekleri test etmeden önce geri kazanım ve saflık için RNA ekstraksiyon prosedürlerinin nitelendirilmesi ve doğrulanması şiddetle tavsiye edilir.
- BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti ile kombinasyon halinde moleküler taşınabilir hızlı izolasyon sıvıları ve klasik izolasyon yöntemleri başarıyla kullanılan uygun nükleik asit ekstraksiyon sistemleri şunları içerir: BNG® Quick RNA Isolation and Molecular Transport Kit, BNG® Quick RNA Isolation Kit, Roche MagNA Pure Compact RNA Isolation Kit, QIAmp® Viral RNA Mini Kit, Quick-RNA Viral Kits (Zymo Research), TIANamp Virus DNA/RNA Kit and Roche MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit.
- Yalnızca tek bir günde test edilecek örnek sayısını çıkarın.
- Her dondurma / çözme döngüsü RNA kalitesini düşüreceğinden, ekstraktları test etmeden önce birden fazla dondurmaya / çözümü yapmayın. Optimum sonuçlar için doğrudan kullanın ve kullanmadan önce dondurup çözümü yapmayın.
- Ekstrakte edilen nükleik asitler -20 ° C veya uzun süreli saklama için -70°C altında saklanmalı ve (yeniden test bekleniyorsa) alikotlar halinde saklanmalıdır.

11. REAKSİYON KURULUMU

1. Deneyle başlanmadan önce gerekli tüm ekipman ve cihazların uygun, kalibre edilmiş ve çalışır durumda olduğundan emin olun.
2. Ekipmanı ve çalışma alanını arındırın ve iş akışını kısa ve tekrarlanabilir tutmak için aşağıdaki deney için gereken her şeyi hazırlayın.
3. PCR algılama sistemini açın ve reaksiyonları kurduktan sonra gecikmeleri önlemek için programlayın.
4. **BNG® COVID-19 RT-qPCR Tespit Kitinin** tüm bileşenlerini buz üzerinde çözün ve bileşenlerin eşit dağılımını sağlamak için yavaşça ancak tamamen

kariştirin. Hızlı bir döndürme ile 3 sn tüpün altındaki sıvıyı toplayın. Numunenin iyice kariştirıldığından emin olun.

5. Karişım numune sayısına göre hesaplanır ve karişım steril 1,5 mL hazırlanır. Pipetleme hatalarını telafi etmek için 2 ek reaksiyon için ana karişım hazırlanması önerilir.

6. PCR plakanızın her bir kuyucuğuna ana karişımdan (karişım ve enzim içeren) 15 µL dağıtın.

7. İzole edilen RNA örneklerinde kuyucuklara 5µL (20-100 ng) eklenir. Her kuyuya sadece 5µL numune eklenir.

BİLEŞEN	HACİM
BNG One-Step Reaction Mix (N,Orf1ab,RdRp,S,E ve HEC)	15 µL
Isolated Sample RNA/TPC/NTC	5 µL
	Total 20µL

8. Negatif kontrolde RNA yerine kitle sağlanan nükleaz içermeyen suyu ve pozitif kontrolde kitle sağlanan plazmid DNA'yı kullanın.

9. qPCR plaka yüzeyi bir seal ile kapatılmıştır.

10. Reaksiyonları PCR cihazına aktarın, ardından aşağıdaki yönergelere göre döngü yapın:

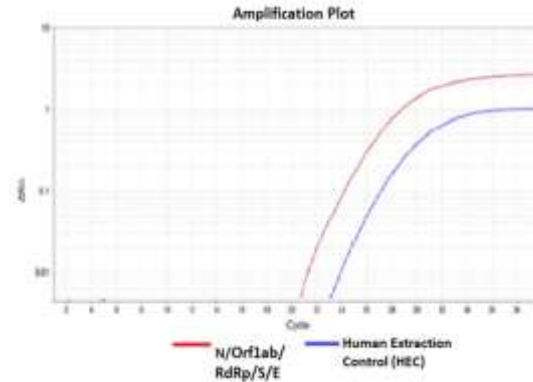
BASAMAK	DÖNGÜ	SICAKLIK	SÜRE
Ters Transkripsiyon	1	55°C	5 dk
Başlangıç Denatürasyonu	1	95°C	5 dk
Uzama	40	95°C	5 sn
		60°C*	30 sn

* FAMTM (N/Orf1ab/RdRp/S/E virüs tespiti için), HEX/ JOE / VICTM (İnsan ekstraksiyon kontrolü GAPDH/RNaseP için) için Veri Toplamayı etkinleştirin.

Gerekirse Pasif Referansı ROX olarak ayarlayın. (QuantStudio 5 Real-Time PCR cihazında 63 dakika da tamamlanmaktadır).

11. Çalışma bittiğinde, kontaminasyonu önlemek için reaksiyon tüplerini açmayın ve yerel yönergelere ve düzenlemelere göre atın. Laboratuvar ekipmanını ampliconlarla kontamine edebileceğinden otoklavlamayın.

12. ANALİZ & SORUN GİDERME



*Human Extraction Control (HEC) HEX/VIC/JOE boyası kullanılmıştır. (GAPDH/RNaseP gen bölgeleri), SARS-CoV-2 için FAMTM boyası N/Orf1ab/RdRp/S/E gen bölgelerinden ikisi). Multiplex kitte her kuyu için cihaz ara yüzünde FAM ve HEX/VIC/JOE boyası tanımlanmalıdır.

dH2O kontrolleri (NTC) herhangi bir test için pozitif Ct vermemelidir. Olursa, reaksiyon örnek RNA / DNA ile kontamine olmuştur. Ekipmanı ve çalışma alanını dekontamine edin ve reaksiyonları tekrarlayın.

- Bir örneğin SARS-CoV-2 için **pozitif kabul edilmesi için**, 2 bölgenin (N/Orf1ab/RdRp/S/E) herhangi birinin pozitif Ct değeri vermelidir. İnsan ekstraksiyon kontrolü çoğalmazsa, numune yine de pozitif kabul edilmelidir. Ct değerleri (<38 döngü).
- Bir örneğin SARS-CoV-2 için **negatif olarak kabul edilmesi için**, 2 bölgenin (N/Orf1ab/RdRp/S/E) hiçbiri pozitif Ct değerleri vermemelidir. İnsan ekstraksiyon kontrolü, uygun kalitede numune materyalinin mevcut olduğundan emin olmak için bu numuneler için pozitif bir Ct değeri (<38 döngü) vermelidir.

RNA izolatu içeren tüm reaksiyonlar, HEC testi için pozitif Ct değerleri vermelidir. Ct değerleri <38 döngü olmalıdır. HEC amplifiye edilememesi, hatalı bir RNA ekstraksiyonunu veya RNaz kontaminasyonu nedeniyle RNA izolatu kaybını gösterir. Örnek yeterli değil, sonuçlar yorumlanamıyor.

Hasta örneği pozitif, NTC kontrolün negatif çıkması durumunda; kontaminasyon problemi Uyarılar bölümündeki hususlara dikkat edilerek deney tekrarlanır.

Hasta örneği negatif, NTC kontrolün pozitif çıkması durumunda; hedef negatif çıktığı için kontaminasyon problemi yoktur. Kit içeriği ile birlikte sağlanan ve negatif kontrol örneğine eklenen NTC kontamine olmuş olabilir. Sorunun devam etmesi durumunda, üretici ile irtibata geçip, yeni bir negatif kontrol talep edilir.

Bio-Rad için threshold 20-30 arasında tutulmalıdır. **Qiagen Rotor Gene** cihazlarında çoğalma eğrilerinin sigmoidal olup olmadığı RAW DATA ekranından değerlendirilmelidir. Rotor-Gene cihazlarında sigmoidal eğrilerin Ct değerlerini görmek için analiz ekranından DYNAMIC TUBE aktif SLOPE CORRECT seçenekleri pasif olmalıdır. Outlier removal seçeneği 0 olmalıdır. Threshold 0,03'e ayarlanmalı.

SARS-CoV-2 (FAM)	HEC (VIC/HEX/JOE)	Sonuçların Yorumlanması
+	+	SARS-CoV-2 ve HEC için tüm hedef sekans büyütüldü. Örnek, SARS-CoV-2 için pozitif kabul edilir.
+	-	Sonuçlar hala aynıysa testi tekrarlayın, hasta pozitif olarak değerlendirilir.
-	+	Sadece HEC için hedef sekans büyütüldü. Örnek, SARS-CoV-2 için negatif kabul edilir
-	-	PCR çalışmadı, sonuçlar geçersiz.

13. SINIRLAMALAR

Güvenilir sonuçlar için, bu kılavuzda verilen yönergelere uymak önemlidir. Reaksiyon kurulumundaki veya döngü protokolündeki değişiklikler, başarısız deneylere yol açabilir.

Örnek matrisine bağlı olarak, inhibitörler izole edilmiş RNA'da mevcut olabilir ve ters transkripsiyon ve / veya PCR amplifikasyonunu devre dışı bırakabilir. Bu durumda, başka bir numune tipi veya izolasyon yöntemi faydalı olabilir.

Hedef sekans içindeki kendiliğinden olan mutasyonlar, hedef sekansın tespit edilememesine neden olabilir.

Sonuçlar her zaman bir örnekten toplanan diğer tüm veriler dikkate alınarak yorumlanmalıdır. Yorumlama, bu tür deneylerde eğitilmiş ve deneyimli personel tarafından yapılmalıdır.

Güvenlik nedenleriyle örnek toplama, taşıma, saklama ve işleme prosedürleri yalnızca eğitimli personel tarafından gerçekleştirilmelidir.

Bu test doğrudan numuneler üzerinde kullanılmamalıdır. Bu test kullanılmadan önce uygun nükleik asit ekstraksiyon yöntemleri gerçekleştirilmelidir. Moleküler Taşımalı Hızlı İzolasyon çözeltilerinde çalışır.

Güvenilir sonuçlar büyük ölçüde doğru numune toplama, saklama ve işleme prosedürlerine bağlıdır.



BIONANOGEN TEKNOLOJİ GELİŞTİRME SANAYİ VE TİCARET A.Ş.

Adatepe Mah. 10 Sokak No:5/A Buca/İZMİR

Tel: +90 232 440 62 46

E-mail: info@bionanogen.com.tr

Web: www.bionanogen.com.tr