

1. Ürün Açıklaması

TÜSEB DiaKit SingleStep SARS-CoV-2 RT-qPCR Tanı Kiti, COVID-19 etkeni olan SARS-CoV-2 koronavirüsünün genomik RNA'sının kalitatif tespiti için hazırlanmış, spesifik Taqman prob sisteminin kullanıldığı tek basamaklı bir Real time PCR in-vitro tanı kitidir.

2. Kitin Tanımı

Koronavirüsler (CoV), memeli sınıfına ait hayvanları ve kuşları enfekte ederek hastalığa neden olabilen RNA virüs ailesine ait virüslerdir.

Çin'in Wuhan kentinde ortaya çıkan SARS-CoV-2 virüsü ise vakaların yaklaşık %2'sinin ölümlerle sonuçlandığı solunum sistemi enfeksiyonuna (COVID-19) sebep olan yeni bir koronavirüstür.

Kit, hastalık için belirlenen klinik semptomları gösteren bireylerde alınan alt solunum yolu örnekleri (balgam, bronkoalveolar lavaj) ve üst solunum yolu örnekleri (nazofaringeal-orofaringeal sürüntü) ile çalışmaktadır.

Test, viral RNA'daki, sırasıyla Orflab ve N genlerinin tespitinde kullanılır. Nazofaringeal veya orofaringeal sürüntü ile alınan örneklerin kalite ve inhibisyon kontrolü için "RNaseP" geni internal kontrol geni olarak seçilmiştir.

5. Kitin İçeriği

Kit içerikleri	Miktar
	1000 reaksiyon
2X Master Mix	4 x 1250 µL
Primer Mix	2 x 1250 µL
Negatif kontrol	1 x 1000 µL
Pozitif kontrol	1 x 250 µL

Tablo1. Kit içeriği

TÜSEB DiaKit SingleStep SARS-CoV-2 RT-qPCR Tanı Kiti ile birlikte verilen pozitif kontrol örneği sentetik olarak üretilmiş hedef gen bölgeleri içeren fragmenttir ve manuel metod ile ekstrakte edilmiştir. Negatif Kontrol olarak rutin laboratuvar çalışmalarında kullanılan nükleaz içermeyen su (NFW) kullanılır.

6. Reaksiyon Karışımının Hazırlanması

Bileşen	Reaksiyon (µL) (tek numune için)
RT-qPCR 2X Master Mix	5
Primer Mix	2,5
Total RNA	2,5
Final	Son hacim 10 µL olmalıdır.

Tablo 2. Reaksiyon kurulumu

*Master Mix ve Primer Mix karışımları numune sayısının %10 fazlası hesaplanarak, steril bir tüpte 2:1 oranında karıştırılır. Karışımın yavaşça alt üst edilerek homojenleştirilmesi sağlanır ve her numune için kuyulara 7,5 µL dağıtılır. White strip veya plate kullanılması önerilmektedir.

7. Reaksiyon Protokolü

Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süre	Floresan Kanallar	
1	42°C	5 dk		
1	95°C	1 dk	FAM (Green)	Orflab&N
39	95°C	1 sn	HEX (Yellow)	RNaseP
	60°C	1 sn (Floresan okuma)		

Tablo 3. Reaksiyon protokolü

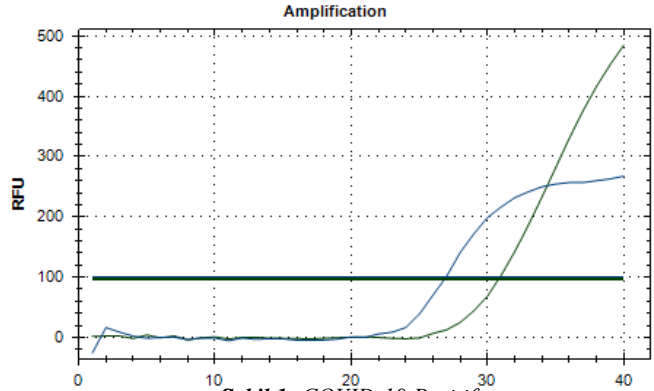
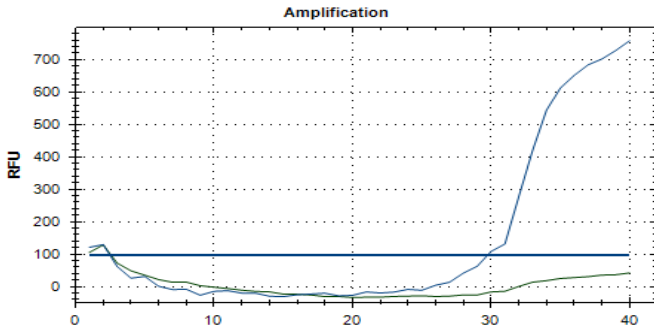
8. Sonuçların Yorumlanması

Sonuç	Beklenen Ct Değerleri		Değerlendirme
	FAM (Orflab&N)	HEX (RnaseP)	
Negatif Kontrol	-	-	Beklenen NK
Pozitif Kontrol	≤38	≤38	Beklenen PK
1.	≤38	≤38 / -	COVID-19 Pozitif
2.	-	-	Test tekrarı
3.	-	≤38	COVID-19 Negatif

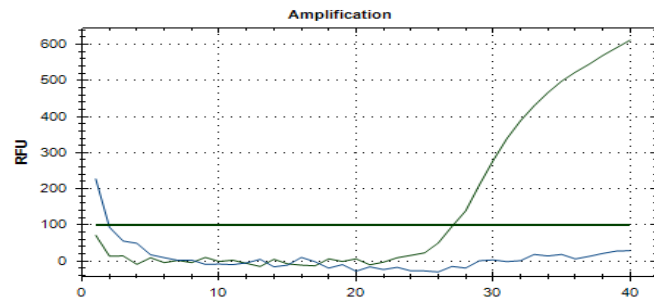
Tablo 4. Reaksiyon sonuçlarının değerlendirilmesi

*FAM ve HEX kanalının ortalama trashold değeri 100 RFU olarak belirlenmiştir. RFU değeri sabit bir değer olmayıp numunenin viral yükü ve grafiğin sigmoid yapısına göre değişiklik gösterebilir.

*In-vitro Diagnostic Tıbbi Cihazlar Direktifi (98/79/EC) uygunluğu için; TÜSEB DiaKit SingleStep SARS-CoV-2 RT-qPCR Tanı Kiti, SBTvNAT2022-100 referans numaralı TÜSEB DiaVnat Ekstraksiyon ve Transfer Tüpü markalı NAEKTS (Nükleik Asit Ekstrakte Edici ve Koruyucu Taşıma Sıvısı) ile birlikte kullanımının tam uyumluluğunu beyan ederiz.



Şekil 1: COVID-19 Pozitif



Şekil 2: COVID-19 Negatif

9. Validasyon Beyanı

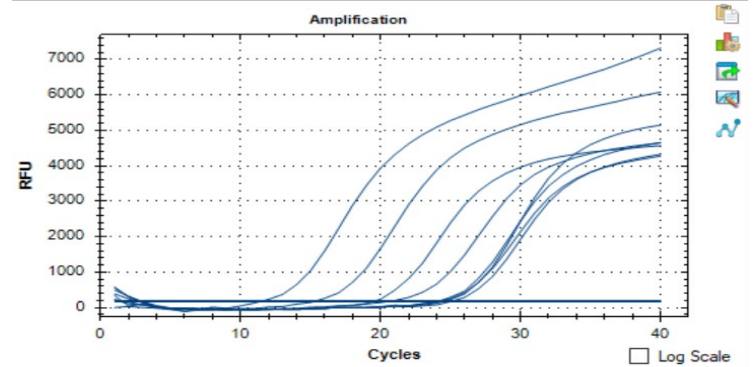
TÜSEB DiaKit SingleStep SARS-CoV-2 RT-qPCR Tanı Kiti'nin validasyon çalışması, $10^7/\mu\text{L}$ kopya sayısı ile $10^0/\mu\text{L}$ kopya sayısı arasında sentetik SARS-CoV-2 RNA fragmanı içeren numuneler ile üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Reaksiyon sonuçları ve optimum grafikler aşağıda verilmiştir. TÜSEB DiaKit SingleStep SARS-CoV-2 RT-qPCR Tanı Kiti; mikrolitere başına 1 (bir) kopya sayısını dahi tespit edebilmektedir.

10. TÜSEB DiaVnat Ekstraksiyon ve Transfer Tüpü ile hazırlanmış çözeltilerin reaksiyon sonuçları

Kopya sayısı/ μL	Cq Değerleri		
	1	2	3
10^7	14.02	11.31	13.58
10^6	17.18	15.16	17.26
10^5	19.22	19.37	20.22
10^4	21.02	20.38	22.10
10^3	23.83	24.9	24.96
10^2	24.02	24.03	23.24
10^1	-	24.92	24.42
10^0	24.43	24.35	24.23

Tablo 5. TÜSEB DiaVnat Ekstraksiyon ve Transfer Tüpü ile hazırlanmış çözeltilerin reaksiyon sonuçları

11. TÜSEB DiaVnat Ekstraksiyon ve Transfer Tüpü ile hazırlanmış çözeltilerin reaksiyon sonuçları



Tablo 6. TÜSEB DiaVnat Ekstraksiyon ve Transfer Tüpü ile hazırlanmış çözeltilerin grafik görünümleri