

# COV19 qcLAMP kit

CE IVD

REF 000055

KULLANIM TALİMATLARI (KT)

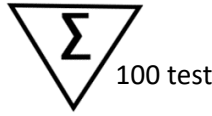
*in vitro* tanılama amaçlı kullanıma yöneliktir

Sadece profesyonel kullanım amaçlıdır

*Kendi kendine test için kullanılamaz*



## BIOPIX-T



100 test



BIOPIX DNA TECHNOLOGY P.C.  
Science and Technology Park of Crete  
N. Plastira 100, Vassilika Vouton  
GR-700 13, Heraklion, Yunanistan



[www.biopix-t.com](http://www.biopix-t.com)



[info@biopix-t.com](mailto:info@biopix-t.com)



(+30) 281 0391986



## GİRİŞ

AB IVD Direktifi 98/79/EEC kapsamındaki bilgiler

1. Ürün Kategorisi IVD Kiti
2. Ürün Adı: COV19 qcLAMP kiti
3. Ürün Katalog Numarası: kat. no.#000055
4. Kullanım amacı: "Kullanım Amacı" bölümüne bakın.

Sorgular ve müşteri hizmetleri

Ürünle ilgili sorularınızı ([info@biopix-t.com](mailto:info@biopix-t.com)) adresine gönderebilirsiniz.

## İçindekiler

Kullanım Amacı .....	3
Ürün açıklaması.....	3
Kit içeriği ve bileşenleri .....	3
Saklama ve taşıma koşulları .....	4
Kitin raf ömrü .....	4
Gerekli, ancak Tedarik Edilmeyen Ek Malzemeler ve Ekipman.....	4
Uyarılar ve Önlemler .....	5
Reaktiflerin hazırlanması.....	7
Testlerden önce Numune Alma, Kullanma ve Hazırlama .....	7
Test prosedürü .....	7
Sonuçların Yorumlanması .....	9
Yöntemin sınırlılıkları .....	11
Performans Özellikleri.....	11
Tespit sınırı .....	11
Analitik Hassasiyet, Özgünlük ve Doğruluk Değerlendirmesi .....	11
Klinik Hassasiyet ve Özgünlük Değerlendirmesi .....	13
Kullanılan semboller ve açıklamaları.....	14
Teknik destek .....	15
Literatür referansları .....	15
Kısaltmalar .....	15

## Kullanım Amacı

COV19 qcLAMP kiti, Pebble qcLAMP Bakım Noktası Platformu ile birlikte SARS-CoV-2 viral RNA'sının tespiti için kullanılması amaçlanan bir moleküler *in vitro* tanı testidir.

COV19 qcLAMP kiti RNA ekstraksiyonu gerektirmez ve COVID-19 şüphesi bulunan kişilerden toplanan nazofaringeal ve orofaringeal sürüntü numuneleriyle kullanılabilir. Kit, ekstrakte edilmiş RNA ile de kullanılabilir.

SARS-CoV-2 RNA genellikle enfeksiyonun akut fazında üst solunum yolu numunelerinde tespit edilebilir. Pozitif sonuçlar SARS-CoV-2 RNA varlığını gösterir. Hastanın enfeksiyon durumunu belirlemek için hasta öyküsü ve diğer tanı bilgileri ile klinik korelasyon gerekir. Pozitif sonuçlar bakteriyel enfeksiyonu veya diğer virüslerle eş zamanlı enfeksiyonu dışlamaz.

Negatif sonuçlar potansiyel olarak negatif olarak kabul edilmelidir ve SARS-CoV-2 enfeksiyonunu olanak dışı bırakmaz; bu nedenle hasta yönetimiyle ilgili kararlarda tek dayanak olarak kullanılmamalıdır. Negatif sonuçlar klinik gözlemler, hasta öyküsü ve epidemiyolojik bilgilerle birlikte değerlendirilmelidir.

COV19 qcLAMP kiti, Pebble qcLAMP Platformunda test yürütme konusunda yetkin eğitimli personel veya sağlık mesleği mensupları (uzmanlar) tarafından kullanıma yöneliktir. Kendi kendine test için kullanılamaz.

## Ürün açıklaması

COV19 qcLAMP kiti, SARS-CoV-2 N-gen RNA hedefinin tespitine yönelik gerçek zamanlı kolorimetrik LAMP yöntemine (qcLAMP) dayalı bir Nükleik Asit Amplifikasyon Testi (NAAT) kitidir. COV19 qcLAMP kiti RNA ekstraksiyonu gerektirmez ve doğrudan nazofaringeal ve orofaringeal sürüntü numuneleriyle kullanılabilir. Alternatif olarak, kit ekstrakte edilmiş RNA ile kullanılabilir.

Kit, Bst polimeraz ve termostabil ters transkriptaz, optimize edilmiş reaksiyon tamponu, Mg<sup>2+</sup> ve dNTP'lerin bir karışımından oluşan 2X Enzim karışımı içerir. Ayrıca, SARS-CoV-2'ye özgü primerler ve hidrokinaftol mavisini (HNB) göstergesi içeren ayrı bir 5X COV19 primer karışımı ve bir insan endojen hedefinin (RNase P) amplifikasyonuna yönelik bir 5X Kontrol Primeri karışımı içerir. Tedarik edilen 2X BPX numune tamponu, doğrudan ham numune amplifikasyonu ve tespiti için yaygın numune inhibitörlerini nötralize eder. Kit aynı zamanda çapraz kontaminasyonu önlemeye ve buharlaşmayı en aza indirmeye yardımcı olan bir mineral yağ içerir.

Her kit 100 reaksiyon için yeterlidir. Testler, reaksiyon sıcaklığını ve zamanlamasını kontrol eden ve amplifikasyon reaksiyonlarının gerçek zamanlı dijital kolorimetrik analizini kolaylaştıran Pebble qcLAMP Platformunda yürütülür. Pebble qcLAMP Platformunda negatif bir sonucun değerlendirilmesi için toplam test süresi 30 dakikadır. Pozitif sonuca kadar geçen süre, ilk hedef konsantrasyona bağlı olarak 10 ile 27 dakika arasında değişiklik gösterebilir.

## Kit içeriği ve bileşenleri

COV19 qcLAMP kiti, **100 qcLAMP testi/reaksiyonu** gerçekleştirmek için aşağıdaki bileşenleri içerir:

### COV19 qcLAMP kiti bileşenleri

Bileşen	Miktar	Hacim	Açıklama
<b>2X Enzim karışımı</b>	1 tüp	1,25 mL	Renksiz çözelti/Siyah kapak
<b>5X COV19 Primer karışımı</b>	1 tüp	0,5 mL	Mor çözelti/Mor kapak



<b>5X Kontrol Primer karışımı</b>	1 tüp	0,25 mL	Mor çözelti/Yeşil kapak
<b>Nükleaz içermeyen su</b>	1 tüp	1,0 mL	Renksiz çözelti/Beyaz kapak
<b>2X BPX numune tamponu</b>	6 tüp	1,8 mL	Renksiz çözelti/Nötral kapak
<b>Mineral yağ</b>	1 tüp	1,8 mL	Renksiz çözelti/Mavi kapak

## Saklama ve taşıma koşulları

Kit alındığında içeriği orijinal ambalajında -20°C'de saklanmalıdır.

Test reaksiyonlarının hazırlanması sırasında mineral yağ dışındaki tüm malzemeler buz üzerinde veya soğutuculu bir saklama bölmesinde (0-4°C) saklanmalıdır. Malzemelerin kullanımı sırasında mineral yağ oda sıcaklığında kalabilir.

Kit bileşenlerinin yanlış kullanımı COV19 qcLAMP kitinin bozulmasına ve dolayısıyla hatalı sonuçlara neden olabilir.

COV19 qcLAMP kitinin ilk kez kullanımından önce, çoklu dondurma-çözdürme döngüleri nedeniyle kitin bozulma riskini azaltmak için **2X Enzim karışımı ve 5X COV19 Primer karışımı** reaktiflerinin başlangıçtaki hacminin alikotlara ayrılması önerilir. İki'den fazla dondurma-çözdürme döngüsünden kaçınınız.

## Kitin raf ömrü

Kit, -20°C'de 12 ay stabil kalır.

## Gerekli, ancak Tedarik Edilmeyen Ek Malzemeler ve Ekipman

SARS-CoV-2'nin tespiti için gerekli olan ve kit içerisinde bulunmayan malzemeler ve bileşenler şunlardır:

### Ekstrakte edilmiş RNA veya ham numunelerle kullanım için:

- Üst solunum yolu numunelerini etkileyen virüsler içeren numunelerin toplanması ve taşınmasına yönelik kitler
- Pebble qcLAMP Bakım Noktası Platformu (BIOPIX-T)
- Pozitif kontroller (SARS-CoV-2 için BIO-RAD Sentetik Moleküler Standartlar gibi sentetik RNA şablonu veya plazmidi ya da eşdeğeri) ve negatif kontroller (Genomik DNA veya RNaz içermeyen su).
- Diğer Ekipman ve Malzemeler:
  - Ayarlanabilir kalibre edilmiş pipetler.
  - Sterilize edilmiş pipet filtre uçları (10 µL, 200 µL ve 1000 µL).
  - 0,2 mL maksimum hacme sahip PCR tüpleri (örn., SARSTEDT Multiply-Pro. PCR tekli tüp, 0,2 ml).

Teknik Özellikler: Güvenli kilitli, yüksek profilli mini PCR tüpleri.

Boyutlar: Kapaklı yükseklik: 21,6 mm-21,7 mm, dış çap (DÇ): 5,9 mm-6,1 mm.

- 1,5 mL maksimum hacme sahip PCR tüpleri.
- DNAZap™, RNAZap™, %10 ağartıcı (1:10 oranında seyreltilmiş ticari %5,25-6,0 sodyum hipoklorit) veya eşdeğeri gibi DNA ve RNA bozunma çözeltileri.
- Koruyucu ekipman (tek kullanımlık pudrasız eldivenler ve laboratuvar önlüğü).

### Yalnızca ekstrakte edilmiş RNA ile kullanım için:

- Klinik numunelerden toplam RNA ekstraksiyonu için RNA ekstraksiyon kitleri ve araçları.

## Uyarılar ve Önlemler

1. *in vitro* tanılama (IVD) amaçlı kullanıma yöneliktir.
2. COV19 qCLAMP kiti, diğer virüsler veya patojenler için değil, sadece SARS-CoV-2'den nükleik asitlerin tespiti için onaylanmıştır.
3. Birden fazla dondurma-çözdürme döngüsünden kaçınmak için, reaktifler doğrudan kullanılmamaları halinde daha küçük alikotlara bölünmelidir.
4. Numune işleme, biyogüvenlik seviyesi 2 (BSL-2) veya üzeri yönergelere uygun olarak gerçekleştirilmelidir.
5. Alanın DNA amplikonları ile kontaminasyonunu önlemek için qCLAMP reaksiyonları sona erdikten sonra tüpleri açmayın.
6. Reaktiflerin bulunduğu ve insan numunelerinin kullanıldığı alanlarda yiyecek ve içecek tüketmeyin, sigara içmeyin, kozmetik ürünler uygulamayın veya kontakt lens takıp çıkartmayın.
7. COV19 qCLAMP kitinin kullanımı ve veri değerlendirmesi yalnızca eğitimli personel tarafından yapılabilir.
8. Son kullanma tarihi geçmiş COV19 qCLAMP kiti bileşenlerini kullanmayın.
9. COV19 qCLAMP kiti, Pebble qCLAMP Platformu ile kullanılmak üzere optimize edilmiştir.
10. Numuneyi işlemeye başlamadan önce lütfen numunenin bulanıklığını ve viskozitesini kontrol edin. Bulanık ve viskoz numuneler reaksiyonu ve buna bağlı olarak sonuçları etkileyebilir. Numunelerin çok bulanık olması halinde, teste devam etmeden önce sürüntü numunelerinin 1:10 veya 1:100 oranında dilüsyonlarının yapılmasını öneririz. Ancak bu işlem, COV19 qCLAMP testinin tespit sınırını (LOD) da düşürür.
11. Kullanılmamış ve kullanılmış reaktif, kap ve insan numunelerini federal, eyalete ait ve yerel yönetmeliklere uygun olarak atın.
12. Klinik numunelerle çalışırken uygun kişisel koruyucu ekipman (örn. eldiven, önlük, koruyucu gözlük) kullanın.

Kit kullanılırken aşağıdaki uyarılar dikkate alınmalıdır:

Uyarı	Nedeni	Tavsiye
<b>5X COV19 Primer karışımı ve 5X Kontrol Primer karışımının başlangıçtaki rengi mor değil.</b>	Kitin uygun olmayan koşullarda saklanması.	Kiti -20°C'de saklayın.
	Kit reaktifleri çok fazla dondurma-çözdürme döngüsüne girmiş.	Dondurma-çözdürme döngülerinin sayısını en aza indirin.
<b>Reaksiyonun başlangıçtaki rengi gök mavisi (daha önce Pebble qCLAMP Platformuna yerleştirilmiş).</b>	Reaksiyon uygun şekilde hazırlanmamış.	Reaktiflerin uygun şekilde karıştırıldığından ve pipetlenen hacimlerin doğru olduğundan emin olun.
	Kitin uygun olmayan koşullarda saklanması.	Kiti -20°C'de saklayın.
	Kit son kullanma tarihinden sonra kullanılmış.	Son kullanma tarihinden önce kullanın.
	Kit reaktifleri çok fazla dondurma-çözdürme döngüsüne girmiş.	Dondurma-çözdürme döngülerinin sayısını en aza indirin.
<b>Pozitif kontrol reaksiyonlarında amplifikasyon görülüyor.</b>	Kit reaktifleri çok fazla dondurma-çözdürme döngüsüne girmiş.	Dondurma-çözdürme döngülerinin sayısını en aza indirin.
	Kitin uygun olmayan koşullarda saklanması.	Kiti -20°C'de saklayın.
	Kit son kullanma tarihinden sonra kullanılmış.	Son kullanma tarihinden önce kullanın.

	Reaksiyon doğru şekilde hazırlanmamış.	Reaktiflerin uygun şekilde karıştırıldığından ve pipetlenen hacimlerin doğru olduğundan emin olun.
	RNA eklenmemiş.	Numunenin reaksiyona eklendiğinden emin olun.
	Pozitif RNA kontrolü bozunmuş.	Çoklu dondurma-çözdürme döngülerinden kaçının ve reaktifleri uygun şekilde alikotlara ayırın.
	Kit reaktifleri ribonükleazlar tarafından kontamine edilmiş.	Yüzeyleri ve cihazları temizlemek için çözeltiler (örn. etanol, klor çözeltisi, deterjan) kullanın. Koruyucu ekipman kullanın. Reaktif stoklarını yeni malzemelerle değiştirin.
<b>RNA ekstraksiyonu yapılmış numunelerde amplifikasyon görülüyor.</b>	Ekstraksiyon işlemi uygun şekilde yapılmamış.	Ekstraksiyon sürecinin doğrulanması için 5X Kontrol Primer karışımı kullanın.
	Viral yük tespit sınırının altında.	Negatif SARS-CoV-2 enfeksiyonunu olanak dışı bırakmaz; bu nedenle hasta yönetimiyle ilgili kararlarda tek dayanak olarak kullanılmamalıdır. Numune alma ve test işlemleri en az 24 s sonra tekrar edilmelidir.
<b>Ham numunelerde amplifikasyon görülüyor.</b>	Ham numuneler mukus veya kan içeriyor.	Devam etmeden önce sürüntü numunelerini 10x veya 100x oranında seyrelterek viskoziteyi azaltın veya tekrar sürüntü numunesi alın.
	Viral yük tespit sınırının altında.	Negatif SARS-CoV-2 enfeksiyonunu olanak dışı bırakmaz; bu nedenle hasta yönetimiyle ilgili kararlarda tek dayanak olarak kullanılmamalıdır. Numune alma ve test işlemleri en az 24 s sonra tekrar edilmelidir.
<b>Negatif reaksiyonlarda amplifikasyon görülüyor.</b>	Numunenin RNA ile kontamine olması.	Amplifikasyondan sonra reaksiyon tüplerini kesinlikle açmayın. Sadece güvenli kapaklara sahip olan ve daha önce kullanılmamış tüpler kullanın. Çalışma alanını ve ekipmanı temizlemek için DNA bozunma çözeltisi veya %10 klor içeren ağartıcı çözeltisi kullanın. Reaktif stoklarını yeni malzemelerle değiştirin. Numuneler arasında pipet değiştirin.
	Kitin uygun olmayan koşullarda saklanması.	Kiti -20°C'de saklayın.
	Kit reaktifleri çok fazla dondurma-çözdürme döngüsüne girmiş.	Dondurma-çözdürme döngülerinin sayısını en aza indirin.
	Şablon dışı amplifikasyon.	Tüm reaksiyonlar amplifikasyondan önce hazırlanmalı ve buz üzerinde tutulmalıdır. qcLAMP reaksiyonlarını hazırladıktan sonra işleme sokun.

## Reaktiflerin hazırlanması

Tüm reaksiyonlar ön hazırlık gerekmeden karıştırılmaya ve kullanıma hazırdır.

COV19 qcLAMP kitinin ilk kez kullanımından önce, çoklu dondurma-çözdürme döngüleri nedeniyle kitin bozulma riskini azaltmak için **2X Enzim karışımı ve 5X COV19 Primer karışımı** reaktiflerinin başlangıçtaki hacminin alikotlara ayrılması önerilir.

## Testlerden önce Numune Alma, Kullanma ve Hazırlama

Açılan tüm reaksiyon tüplerinin en kısa zamanda kullanılması önerilir. Kit bileşenlerini üreticinin tavsiyelerine uygun olarak son kullanma tarihinden önce kullanın. Ribonükleaz içermeyen araçlar ve reaktifler kullanılması çok önemlidir. Ayrıca, tüm hazırlık adımlarının nükleaz içermeyen alanlarda, yalnızca filtre uçlu pipetler kullanılarak gerçekleştirilmesi önerilir.

### Ekstrakte edilmiş RNA ile test yaparken dikkat edilmesi gerekenler:

#### Numune alma işlemi:

1. Nazofaringeal ve orofaringeal sürüntü numunelerini bir çözücü çözelti içine alın.
2. Alınan numunenin 200 µL'sini çıkarın ve RNA ekstraksiyonu yapın. Ekstrakte edilen RNA'yı 30 ila 50 µL ribonükleaz içermeyen su içinde ayrıştırın ve hemen buz üzerine koyun veya -20°C'de saklayın.

### İşlenmemiş bir numune ile test yaparken dikkat edilmesi gerekenler:

RNA ekstraksiyonu olmadan bir test gerçekleştirmek için nazofaringeal ve orofaringeal sürüntü numuneleri aşağıdaki çözeltilerden birinde çözüldürülmelidir:

**CITOSWAB®** (Viral Transport besiyeri-VTM-, 3mL).

**Improviral™** (Viral Koruyucu Besiyeri -VPM-, 3mL).

**Liofilchem®** (Viral Transport Besiyeri -VTM-, 3mL).

Aşağıdaki çözeltiler uyumlu **DEĞİLDİR**:

**Biocomma, MWE, LITUO** ve bu nedenle bu kitle birlikte **KESİNLİKLE KULLANILMAMALIDIR**.

#### Numune alma işlemi aşağıdaki gibi yapılmalıdır:

1. Nazofaringeal ve orofaringeal sürüntü numunelerini bir çözücü çözelti içine alın.
2. Alınan numunenin 100 µL'sini çıkarın ve 100 µL 2X BPX numune tampon çözeltisi ile iyice karıştırın. Hemen kullanın.

## Test prosedürü

Test prosedüründen önce numune hazırlığı kurallarına uyulmalıdır. Hazırlanan numuneleri kullanana kadar buz üzerinde tutun.

COV19 qcLAMP kit tüplerini (2X Enzim karışımı, 5X COV19 Primer karışımı, 5X Kontrol Primer karışımı, Nükleaz içermeyen su) ve hazırlama sırasındaki reaksiyonları buz üzerinde veya bir buz kutusunda tutun. Testlerin hazırlanması sırasında mineral yağ oda sıcaklığında tutulabilir.

### A. Ekstrakte edilmiş RNA numuneleriyle ilgili dikkat edilmesi gerekenler:

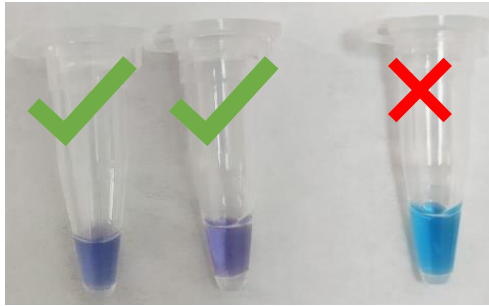
1. Bir karışım hazırlamadan önce, 2X Enzim karışımı çözeltisini ve 5X COV19 Primer karışımı çözeltisini yavaşça pipetleyin.
2. Aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi bir veya daha fazla test hazırlayın ve buz üzerine koyun. 0,2 mL'lik bir tüpte (kite dahil değildir) SARS-CoV-2 RNA tespiti için 25 µL'lik bir preparat, aşağıdaki talimatlara uygun olarak hazırlanmalıdır. Reaktifleri her tüpe aşağıdaki sırayla ekleyin:



Reaktif	Reaksiyon başına hacim ( $\mu\text{L}$ )
2X Enzim karışımı	12.5
5X COV19/Kontrol Primer karışımı	5
Nükleaz içermeyen su	5.5
Ekstrakte edilmiş RNA	2

Bir reaksiyon için toplam hacim 25  $\mu\text{L}$  olmalıdır.

**Not!** 25  $\mu\text{L}$  qCLAMP reaksiyonunun başlangıçtaki rengi mor veya koyu mavi olmalıdır (aşağıdaki şekle bakın – soldaki tüp). Renk gök mavisi ise (aşağıdaki şekle bakın – sağdaki tüp) testi yapmayın. Daha fazla bilgi için uyarılar ve önlemler bölümüne bakın.



3. Dikkatli bir şekilde, her tüpün kenarından 15  $\mu\text{L}$  mineral yağ ekleyin ve qCLAMP reaksiyonu üzerinde bir tabaka oluşturana kadar, yaklaşık 30 saniye, bekleyin. Yağın reaksiyonla karışmadığından emin olun.
4. Reaksiyonları Pebble qCLAMP Platformuna yerleştirin ve Pebble qCLAMP Platformunun kullanım talimatlarına uygun bir şekilde testleri gerçekleştirin. Aynı anda analiz edilebilecek maksimum numune sayısı 6'dır.

RNA ekstraksiyonunun uygun şekilde gerçekleştirildiğinin doğrulanması için, 5X COV19 Primer karışımının yerine 5X Kontrol Primer karışımı kullanılarak, bir insan endojen hedefi olan (dahili kontrol, IC) Ribonükleaz P geninin tespiti için yukarıdaki prosedür tekrarlanabilir. Bu testi yapmak için 5X Kontrol Primer karışım çözeltisini kullanın. Mevcut işlem için, 5X COV19 Primer karışım tüpü yerine 5X Kontrol Primer karışım tüpünü kullanarak 1 ila 4. adımları izleyin.

Bu test isteğe bağlıdır ve her numune için ayrı ayrı yapılabilir.

**Not!** Kit bileşenlerinin kalitesini kontrol etmek için numunenin analizi sırasında veya ayrı olarak pozitif (sentetik RNA şablonu veya plazmid) ve negatif kontroller (Genomik DNA veya Nükleaz içermeyen su) kullanılmalıdır. Pozitif veya negatif kontroller kite dahil değildir.

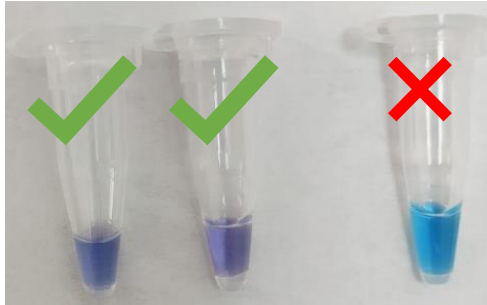
#### **B. Ham numunenin doğrudan tespiti için dikkat edilmesi gerekenler:**

1. Karışımı hazırlamadan önce, 2X Enzim karışımını ve 5X COV19 Primer karışımını yavaşça yukarı ve aşağı doğru pipetleyin.
2. Aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi bir veya daha fazla test hazırlayın ve buz üzerine koyun. 0,2 mL'lik bir tüpte (kite dahil değildir) SARS-CoV-2 RNA tespiti için 25  $\mu\text{L}$ 'lik bir preparat, aşağıdaki talimatlara uygun olarak hazırlanmalıdır. Reaktifleri her tüpe aşağıdaki sırayla ekleyin:

Reaktif	Reaksiyon başına hacim (µL)
2X Enzim karışımı	12.5
5X COV19/Kontrol Primer karışımı	5
Nükleaz içermeyen su	2.5
2X BPX tampon ile karıştırılan ham numune	5

Bir reaksiyon için toplam hacim 25 µL olmalıdır.

**Not!** 25 µL qCLAMP reaksiyonunun başlangıçtaki rengi mor veya koyu mavi olmalıdır (aşağıdaki şekle bakın – soldaki tüp). Renk gök mavisi ise (aşağıdaki şekle bakın – sağdaki tüp) testi yapmayın. Daha fazla bilgi için uyarılar ve önlemler bölümünü okuyun.



3. Dikkatli bir şekilde, her tüpün kenarından 15 µL mineral yağ ekleyin ve qCLAMP reaksiyonu üzerinde bir tabaka oluşturana kadar, yaklaşık 30 saniye, bekleyin. Yağın reaksiyon karışımıyla karışmadığından emin olun.
4. Reaksiyonları Pebble qCLAMP Platformuna yerleştirin ve Pebble qCLAMP Platformunun kullanım talimatlarına uygun bir şekilde testleri gerçekleştirin. Aynı anda analiz edilebilecek maksimum numune sayısı 6'dır.

## Sonuçların Yorumlanması

Pebble qCLAMP Platformunda, kolorimetrik LAMP amplifikasyonu sırasında çeşitli renk tonları arasındaki geçişi gerçek zamanlı olarak izlemek için bir mini dijital kamera kullanılır. Kamera, kalibre edilmemiş görüntüleri önceden tanımlanmış zaman aralıklarında (10 saniye aralıklarla) toplar ve kırmızı, yeşil ve mavi (RGB) kanal değerlerini otomatik olarak ekstrakte eder.

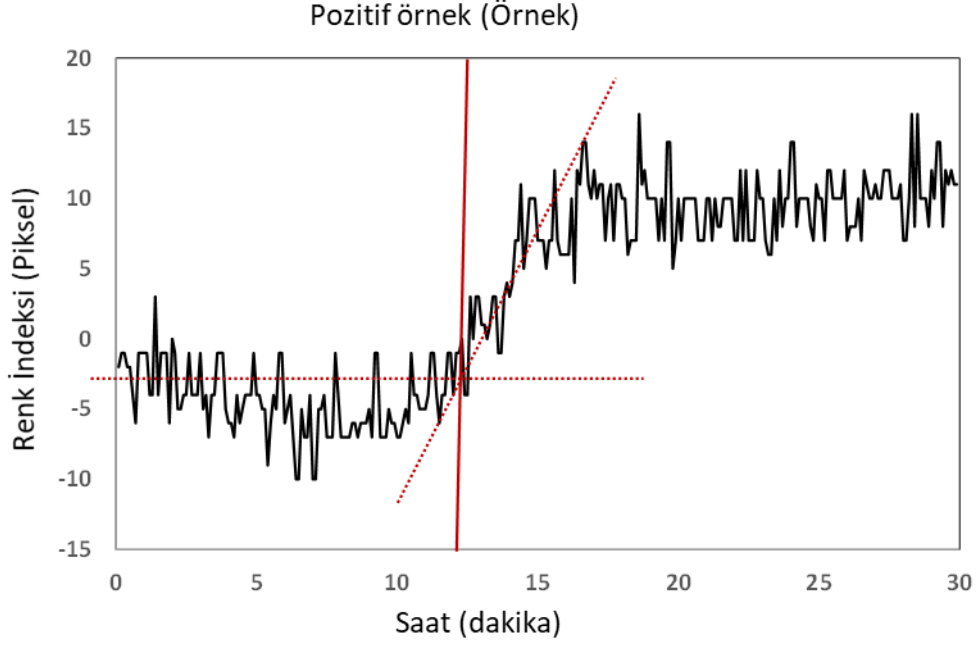
Renk değişimi, bir akıllı cihazın ekranında görüntülenen gerçek zamanlı bir eğrinin Y eksenindeki renk indeksi birimleri (piksel) halinde ifade edilir. Aynı anda 6'ya (altı) kadar eğri görüntülenebilir.

Bir testin süresi 30 dakikadır. Sonuçların değerlendirilmesi son kullanıcı tarafından yapılmalıdır (Bunun yalnızca profesyonel kullanıma yönelik bir test olduğu unutulmamalıdır).

### **Pozitif test sonuçları**

Gerçek zamanlı eğrinin eğiminde bir değişikliğin meydana geldiği (renk indeksi birimlerinin arttığı) spesifik zaman noktası, "pozitif sonuca kadar geçen süre"ye (kırmızı düz çizgi) karşılık gelir. Bu, iki noktalı kırmızı çizginin birbiriyle kesiştiği noktadır, (aşağıdaki resme bakın).

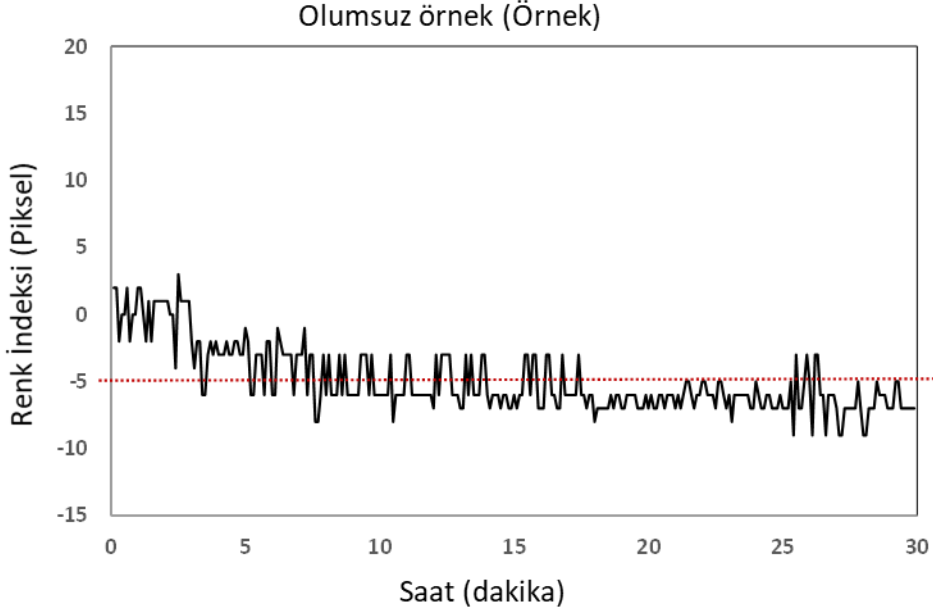
Herhangi bir hedef için numune pozitif olduğunda, eğrinin eğimi aşağıdaki şekilde gösterildiği gibi değişir.



#### **Negatif test sonuçları**

Negatif bir sonuç, izleme süresi boyunca devam eden düz bir eğri (renk indeksi birimleri artmaz) ile gösterilir.

Herhangi bir hedef için numune negatif olduğunda, eğrinin eğimi **DEĞİŞMEZ** (aşağıdaki şekle bakın).



#### **Geçersiz test sonuçları**

Ekstre edilmiş RNA ve 5X Control Primer karışımı ile elde edilen negatif test sonuçları geçersiz kabul edilmelidir. RNA izolasyonu ve reaksiyonların hazırlama işlemleri tekrarlanmalıdır. Daha fazla bilgi için uyarılar ve önlemler bölümünü okuyun.

**27 dakika** sonra görünen pozitif sonuçlar **GEÇERLİ DEĞİLDİR** ve tekrarlanmalıdır.

## Yöntemin sınırlılıkları

1. Güvenilir sonuçlar için COV19 qcLAMP kitinin kullanım talimatlarına uyulması önemlidir. Reaksiyon düzeneğindeki veya hazırlama işlemindeki değişiklikler testlerin başarısız olmasına neden olabilir.
2. Sonuçlar, numune için toplanan diğer tüm veriler dikkate alınarak yorumlanmalıdır. Yorumlama, bu tür kitler konusunda eğitilmiş ve deneyimli personel tarafından yapılmalıdır.
3. Hedef dizideki mutasyonlar, virüs varlığının tespit edilememesiyle sonuçlanabilir.
4. İnhibitörler veya diğer türden etkileşimler hatalı negatif sonuçlara neden olabilir. Böyle bir durumda başka bir numune türü veya izolasyon yöntemi faydalı olabilir. Yaygın kullanılan soğuk algınlığı ilaçlarının reaksiyonlar üzerindeki etkilerine ilişkin girişim çalışmaları yapılmamıştır.
5. Bu test, diğer viral veya bakteriyel patojenlerin neden olduğu hastalıkları olasılık dışı bırakmaz.
6. Pozitif ve negatif öngörücü değerler yüksek oranda prevalansa bağlıdır. Hastalığın insidansı yüksek olduğunda hatalı negatif test sonuçları alınması daha olasıdır. Hastalığın prevalansı orta ila düşük olduğunda hatalı negatif test sonuçları alınması daha olasıdır.
7. COV19 qcLAMP kiti ile yapılan testler, sadece bir kişinin şu anda bu spesifik koronavirüs ile enfekte olup olmadığını gösterebilir. Diğer hastalıklar veya semptomlar hakkında bilgi veremez ve bir hastanın daha önce virüsle enfekte olup olmadığını veya hastanın virüse karşı bağışıklığının olup olmadığını gösteremez.
8. Bir numunedeki viral yük düzeyi testin tespit sınırının altındaysa veya numune uygun olmayan bir şekilde alındıysa, işlendiyse veya taşındıysa hatalı negatif bir test sonucu oluşabilir.
9. Kit insan numuneleri kullanılarak valide edilmiştir.

## Performans Özellikleri

### Tespit sınırı

Kitin tespit kabiliyetini değerlendirmek için, H<sub>2</sub>O içinde çözündürülmüş Bio-Rad SARS-CoV-2 Standart referans materyaline ait (kat.no.#COV19) sırasıyla 50 kopya/μl ve 25 kopya/μl içeren 5 μL pozitif kontrol ile, altışar tekrar içeren üç bağımsız ölçüm yapılmıştır. Değerlendirme, bir reaktif lotu ve bir cihaz kullanılarak yapılmıştır.

### Analitik Hassasiyet, Özgünlük ve Doğruluk Değerlendirmesi

COV19 qcLAMP kitinin Pebble qcLAMP Bakım Noktası Platformu ile teknik bir validasyonu EN 13612:2002'ye uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Kitin analitik hassasiyeti, özellikle tespit kabiliyeti, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CSLI) tarafından yayınlanan tavsiyelere göre belirlenmiştir.

Matris değişkenliğini hesaplamak için DNase ve RNase içermeyen su ve insan tükürüğünden izole edilmiş insan RNA'sı olmak üzere iki matris tipi seçilmiştir. İnsan tükürüğünden izole edilmiş RNA, doğal hasta numuneleri matrisinin karmaşıklığını taklit etmek üzere kullanılmıştır. Çalışmada CLSI EP17-A2 standartlarına göre dört ayrı, özgün ve doğal hasta numunesi kullanılmıştır. Dört sağlıklı gönüllüden insan tükürüğü toplanmış ve RNA, Qiagen RNeasy kiti (kat.no.#74192) ile izole edilmiştir. İzole edilmiş insan RNA'sı, temsili matrisi oluşturmak üzere bir araya toplanmıştır.

Ölçülen büyüklük/μl'nin (LOD) 50 kopyasına ait nihai konsantrasyonu elde etmek üzere her matris tipine Bio-Rad SARS-CoV-2 Standart referans materyal (kat. no. #COV19) eklenerek düşük seviyeli numuneler hazırlanmıştır.

Deney tasarımı, iki farklı operatör tarafından tek cihazda birden fazla günde yürütülen deneylerde iki farklı reaktif lotu kullanılarak boş (NC) ve düşük seviyeli (PC) numuneler üzerinde yapılan tekrarlı

ölçümlerden oluşmuştur. İşleme planı, CLSI EP17-A2 standartlarına göre yapılmış ve gerekli tüm tasarım faktörlerini ve gerekli tekrar sayısını içermiştir.

Pebble qcLAMP Platformunda COV19 qcLAMP kiti tarafından doğru bir şekilde tanımlanan gerçek pozitif ve gerçek pozitif numunelerin oranı > %95 olmalıdır. Doğruluk, değerlendirilen tüm vakalarda gerçek pozitif ve gerçek negatif numunelerin oranı olarak ifade edilmiştir.

### Kalifikasyon ölçümlerinin sonuçları

Gerçekleştirilen ölçümler ve verilerin yorumlaması aşağıdaki tablolarda özetlenmiştir:

Numune Tipi	Reaktif Lotu	Operatör	Ölçüm	Toplanan veri noktaları			
				Positive Control (PC)_H2O_50		Positive Control (PC)_H2O_25	
				Doğru	Hatalı	Doğru	Hatalı
Pozitif Kontrol	Lot 1	Operatör 1	1	6	0	5	1
			2	6	0	4	2
			3	6	0	4	2

Yukarıdaki verilere dayalı olarak, Tespit Sınırının (LOD) 50 kopya/µL'ye eşit olduğu belirlenmiştir.

				correct		false		% correct		% correct		% correct		% correct
				Matrix human RNA	Matrix H2O	Matrix human RNA	Matrix H2O	Matrix human RNA	Matrix H2O	Matrix human RNA	Matrix H2O	Matrix human RNA	Matrix H2O	
Positive	Lot 1	Operator 1	Day 1	6	6	0	0	100	100					
			Day 2	6	6	0	0	100.0	100.0					
		Operator 2	Day 1	4	6	2	0	66.7	100.0					
			Day 2	12	11	0	1	100.0	91.7	93.33	96.67		95	
	Lot 2	Operator 1	Day 1	6	6	0	0	100.0	100.0					
			Day 2	6	6	0	0	100.0	100.0					
			Day 3	6	4	0	2	100.0	66.7					
		Operator 2	Day 1	6	6	0	0	100.0	100.0					
			Day 2	6	6	0	0	100.0	100.0	100.00	93.33		96.7	
														95.8
Negative	Lot 1	Operator 1	Day 1	4	6	2	0	66.7	100.0					
			Day 2	6	6	0	0	100.0	100.0					
		Operator 2	Day 1	6	6	0	0	100.0	100.0					
			Day 2	12	12	0	0	100.0	100.0	93.33	100.00		96.7	
	Lot 2	Operator 1	Day 1	4	6	2	0	66.7	100.0					
			Day 2	6	6	0	0	100.0	100.0					
			Day 3	6	6	0	0	100.0	100.0					
		Operator 2	Day 1	6	6	0	0	100.0	100.0					
			Day 2	6	6	0	0	100.0	100.0	93.33	100.00		96.7	
														96.7

Gerçek pozitif sayısı 115, hatalı pozitif sayısı 5, gerçek negatif sayısı 116 ve hatalı negatif oranı 4'tür. Bu sayılara dayalı olarak, hassasiyet (gerçek pozitif oranı), özgünlük (gerçek negatif oranı) ve doğruluk aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

**Analitik Hassasiyet 0,958 (95,8%)**

**Analitik Özgünlük: 0,967 (96,7%)**

**Doğruluk: 0,9625 (96,3%)**

## Klinik Hassasiyet ve Özgünlük Değerlendirmesi

Klinik testler, COVID-19 için test edilen toplam 645 nazofaringeal veya orofaringeal numuneyle (RNA ekstraksiyonu olan ve olmayan 347 negatif ve 298 pozitif), tüm cinsiyet ve yaşlardaki semptomatik veya asemptomatik hastalardan alınan numuneler ile yürütülmüştür. Klinik validasyon çalışmaları dondurulmuş numunelerle (dondurulmuş ekstrakte edilmiş RNA ve dondurulmuş ham numuneler) gerçekleştirilirken, düşük, orta ve yüksek viral yüklerin dengeli bir şekilde dahil edilmesine çalışılmıştır. Tanısal özgünlük ve hassasiyet, referans yöntem olarak RT-PCR numune testine, test yöntemi olarak qcLAMP'e dayalı olarak belirlenmiştir.

### A. Ekstrakte edilmiş RNA numuneleriyle yapılan klinik testler

318 numunedan (150 pozitif ve 168 negatif) ekstrakte edilmiş RNA (dondurulmuş), Pebble qcLAMP Bakım Noktası Platformu ile COV19 qcLAMP kiti kullanılarak analiz edilmiştir. Pozitif numunelerin RT-qPCR Ct değerlerinin 12 ila 35 arasında değiştiği bildirilmiştir. qcLAMP ile gözlemlenen, pozitif sonuç elde edilene kadar geçen en kısa süre, Ct değeri 16 olan bir numune için 10,7 dakika iken, Ct değeri 30 olan bir numune için maksimum 26,8 dakika olmuştur.

İlgili veriler aşağıdaki tabloda özetlenmiştir:

Ct değeri	RT-PCR pozitif	Oran	qcLAMP	PPA
<25	69	%46	69	%100
25-29	48	%32	43	%91,7
30-34	33	%22	24	%75,8

qcLAMP yöntemi	RT-PCR yöntemi		Toplam	
	Pozitif	Negatif		
Pozitif	138	2	140	
Negatif	12	166	178	
Toplam	150	168	318	

**Toplam Hassasiyet: %92** (%95 GA: %87,7-%96,3)

**Toplam Özgünlük: %98,8** (%95 GA: %97,2-%100)

**Doğruluk: %95,6**

### B. Ham numunelerle (DNA ekstraksiyonu olmadan) yapılan klinik testler

326 dondurulmuş ham numune, Pebble qcLAMP Bakım Noktası Platformu ile COV19 qcLAMP kiti kullanılarak analiz edilmiştir. Pozitif numunelerin RT-qPCR Ct değerlerinin 12 ila 31 arasında değiştiği bildirilmiştir. qcLAMP ile gözlemlenen, pozitif sonuç elde edilene kadar geçen en kısa süre, Ct değeri 14 olan bir numune için 11,5 dakika iken, Ct değeri 26 olan bir numune için maksimum 23,8 dakika olmuştur.

İlgili veriler aşağıdaki tabloda özetlenmiştir:

Ct değeri	RT-PCR pozitif	Oran	qcLAMP	PPA
<25	104	%70,7	101	%97,1
25-29	36	%24,5	13	%36,1
30-34	7	%4,8	2	%28,6

qcLAMP yöntemi	RT-PCR yöntemi
----------------	----------------

	Pozitif	Negatif	Toplam	
Pozitif	125	1	126	
Negatif	22	178	200	
Toplam	147	179	326	






**Toplam Hassasiyet: %85,0** (%95 GA: %79,2-%90,8)

**Toplam Özgünlük: %99,4** (%95 GA: %98,3-%100)

**Doğruluk: %93**

## Kullanılan semboller ve açıklamaları

Semboller	Açıklama
	Web Sitesi
	E-posta
	Telefon Numarası
	<i>In vitro</i> tanılama amaçlı kullanım
	Seri kodu
	Katalog numarası
	Elektronik kullanım talimatlarına bakın
	Üretici:
	Avrupa uygunluğu
	Ambalaj hasarlı ise kullanmayın
	Kuru tutun
	Hasta yanında IVD
	Kendi kendine test için kullanılamaz
	Sıcaklık limiti (taşıma için)

 100 test	100 test için yeterli miktar içerir
	Seri numarası
	Son kullanma tarihi
	Benzersiz cihaz kimliği
	Geri dönüştürülebilir

## Teknik destek

Teknik destek için aşağıdaki bilgileri kullanarak BIOPIX-T ile iletişime geçin:

**Adres:** BIOPIX DNA TECHNOLOGY P.C., Science and Technology Park of Crete, N. Plastira 100, Vasilika Vouton, GR-700 13, Heraklion, Yunanistan.

**Telefon:** (+30) 281 0391986

**E-posta:** [support@biopix-t.com](mailto:support@biopix-t.com) / [info@biopix-t.com](mailto:info@biopix-t.com)

## Literatür referansları

Papadakis et al., "Real-time colorimetric LAMP methodology for quantitative nucleic acids detection at the Point-of-Care," no. 89, pp. 1–20, 2020, doi: 10.1101/2020.07.22.215251.

World Health Organization (WHO), "Coronavirus disease 2019 (2019-nCoV) Situation Report – 11," WHO Bull., no. January 31, pp. 1–7, 2020.

## Kısaltmalar

Kat. no: Katalog numarası

LAMP: Loop-mediated isothermal amplification (Döngü aracılı izotermal amplifikasyon)

qcLAMP: Quantitative colorimetric loop-mediated isothermal amplification (Kantitatif kolorimetrik döngü aracılı izotermal amplifikasyon)

PCR: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

RNA: Ribonükleik Asit

DNA: Deoksiribonükleik Asit

mL: millilitre

µL: mikrolitre

F