

VIASURE

Real Time PCR Detection Kits

by CerTest
BIOTEC

SARS-CoV-2 (N1 + N2)

Handbook for the following references/

Aşağıdaki referanslar için el kitabı:

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System

BD REF 444215

to be used with the BD MAX™ System

BD MAX™ Sistemi ile kullanmak için



ENGLISH

1. Intended use

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System is an automated real-time RT-PCR test designed for the qualitative detection of RNA from the SARS-CoV-2 in respiratory samples from individuals suspected of COVID-19 by their healthcare provider. This test is intended to be used as an aid in the identification of the presence of the SARS-CoV-2 viral RNA. The assay uses the BD MAX™ System for automated extraction of RNA and subsequent real-time RT-PCR employing the reagents provided combined with universal reagents and disposables for the BD MAX™ System. RNA is extracted from respiratory specimens, amplified using RT-PCR and detected using fluorescent reporter dye probes specific for SARS-CoV-2.

2. Summary and Explanation

Coronavirus are enveloped non-segmented positive-sense RNA viruses and belong to *Coronaviridae* family [1,2]. There are six coronavirus species known to cause human diseases [2]. Four viruses (229E, OC43, NL63 and HKU1) cause common cold symptoms and the other two (severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) and Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV)) are zoonotic and producing more severe complications [2]. SARS-CoV and MERS-CoV have caused more than 10,000 cumulative cases in the past two decades, with mortality rates of 34% MERS-CoV and 10% SARS-CoV [1,3].

In December 2019, some people that worked at or lived around the Huanan seafood market in Wuhan, Hubei Province, China, have presented pneumonia of unknown cause [2,4]. Deep sequencing analysis of the respiratory samples indicated a novel coronavirus, which was named firstly 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) and lately SARS-CoV-2 [5].

Human-to-human transmission of the SARS-CoV-2 has been confirmed, even in the incubation period without symptoms, and the virus causes severe respiratory illness like those SARS-CoV produced [1,6,7,8]. Although the pneumonia is the principal illness associated, a few patients have developed severe pneumonia, pulmonary edema, acute respiratory distress syndrome, or multiple organ failure and death [1,4]. Centers of Disease Control and Prevention (CDC) believes that symptoms of SARS-CoV-2 may appear in as few as 2 days or as long as 14 days after exposure, being the most common fever or chills, cough, fatigue, anorexia, myalgia and dyspnea [1,4,6,9]. Less common symptoms are sore throat, nasal congestion, headache, diarrhea, nausea and vomiting [1,4]. Loss of smell (anosmia) or loss of taste (ageusia) preceding the onset of respiratory symptoms has also been reported [9]. Older adults and people who have severe underlying medical conditions like heart or lung disease or diabetes seem to be at higher risk for developing more serious complications from COVID-19 illness [10].

Diagnosis of SARS-CoV-2 is performed detecting conventional causes of pneumonia early and detected by next-generation sequencing or real-time RT-PCR methods [1,11]. Several assays that detect the SARS-CoV-2 have been are currently available, such as China CDC (gene targets, *ORF1ab* and *N*), Charité – Germany (gene targets, *RdRP* and *E*) or US CDC (two targets in *N* gene) [12].

CDC recommends upper respiratory tract specimens (nasopharyngeal (NP) and oropharyngeal (OP) swabs, nasal mid-turbinate swab, nasal swab, nasopharyngeal wash/aspirate or nasal wash/aspirate (NW) specimens collected



mainly by a healthcare provider) and/or lower respiratory specimens (sputum, endotracheal aspirate, or bronchoalveolar lavage in patients with more severe respiratory disease) for the identification of SARS-CoV-2 [11]. In addition, other clinical specimens as blood, urine and stool may be collected to monitor the presence of the virus [11,12].

3. Principle of the procedure

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System is designed for the identification of SARS-CoV-2 in respiratory samples. The detection is done in one step real-time RT-PCR format where the reverse transcription and the subsequent amplification of specific target sequence occur in the same reaction tube. The isolated RNA target is transcribed generating complementary DNA by reverse transcriptase which is followed by the amplification of two conserved regions of N gene (N1 and N2) using specific primers and fluorescent-labeled probes.

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System is based on 5' exonuclease activity of DNA polymerase. During DNA amplification, this enzyme cleaves the probe bound to the complementary DNA sequence, separating the quencher dye from the reporter. This reaction generates an increase in the fluorescent signal which is proportional to the quantity of the target template. This fluorescence is measured on the BD MAX™ System.

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System contains in each tube all the components necessary for real-time PCR assay (specific primers/probes, dNTPS, buffer, polymerase, reverse-transcriptase) in a stabilized format, as well as an endogenous internal control to monitor the extraction process and/or inhibition of the polymerase activity. The assay uses a human housekeeping gene as an endogenous Internal Control (IC) (human *RNase P* gene). Human housekeeping genes are involved in basic cell maintenance and, therefore, are expected to be present in all nucleated human cells and maintain relatively constant expression levels. N2 target is amplified and detected in channel 475/520, N1 target in channel 630/665 and the endogenous internal control (IC) in channel 530/565.

4. Reagents provided

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System includes the following materials and reagents detailed in Table 1:

Reference	Reagent/Material	Description	Color/Barcode	Amount
VS-NCO312	SARS-CoV-2 (N1 + N2) reaction tube	A mix of enzymes, primers probes, buffer, dNTPs, stabilizers and endogenous internal control in stabilized format	Transparent Green or 1G foil	2 pouches of 12 tubes
VS-RB09	Rehydration Buffer tube	Solution to reconstitute the stabilized product	Transparent Orange or 1I foil	1 pouch of 24 tubes

Table 1. Reagents and materials provided in VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System with Cat. N°. VS-NCO324 (444215).



5. Reagents and equipment to be supplied by the user

The following list includes the materials and equipment that are required for use but not included in the VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

- Real-time PCR instrument: BD MAX™ System.
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442827 or 442828)
- BD MAX™ PCR Cartridges (Ref: 437519)
- Vortex.
- Micropipettes (accurate between 2 and 1000 µL).
- Filter tips.
- Powder-free disposable gloves

6. Transport and storage conditions

- The kits can be shipped and stored at 2-40°C until the expiration date which is stated on the label.
- After opening the aluminum pouches which contain the reaction tubes can be used up to 28 days.

7. Precautions for users

- The product is intended for use by professional users only, such as laboratory or health professionals and technicians, trained in molecular biological techniques.
- For *in vitro* diagnostic use.
- Do not use expired reagents and/or materials.
- Do not use the kit if the label that seals the outer box is broken.
- Do not use reagents if the protective box is open or broken upon arrival.
- Do not use reagents if the protective pouches are open or broken upon arrival.
- Do not use reagents if desiccant is not present or broken inside reagent pouches.
- Do not remove desiccant from reagent pouches.
- Close protective pouches of reagents promptly with the zip seal after each use. Remove any excess air in the pouches prior to sealing.
- Do not use reagents if the foil has been broken or damaged.
- Do not mix reagents from different pouches and/or kits and/or lots.
- Protect reagents from humidity. Prolonged exposure to humidity may affect product performance.
- Keep components away from light.
- In cases where other PCR tests are conducted in the same general area of the laboratory, care must be taken to ensure that the VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, BD MAX™ ExK™ TNA-3 extraction kit, any additional reagents required for testing, and the BD MAX™ System are not contaminated. Avoid microbial and ribonuclease (RNase)/deoxyribonuclease (DNase) contamination of reagents at all times. The use of sterile RNase/DNase-free disposable aerosol resistant or positive displacement pipette tips is recommended. Use a new tip for each specimen. Gloves must be changed before manipulating reagents and cartridges.



- To avoid contamination of the environment by amplicons, do not break apart the BD MAX™ PCR Cartridge after use. The seals of the BD MAX™ PCR Cartridge are designed to prevent contamination.
- Design a unidirectional workflow. It should begin in the Extraction Area and then move to the Amplification and Detection Area. Do not return samples, equipment and reagents to the area in which the previous step was performed.
- Follow Good Laboratory Practices. Wear protective clothing, use disposable gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area. Wash your hands after finishing the test.
- Samples must be treated as potentially infectious as well as all the reagents and materials that have been exposed to the samples and they must be handled according to the national safety regulations. Take necessary precautions during the collection, storage, treatment and disposal of samples.
- Regular decontamination of commonly used equipment is recommended, especially micropipettes and work surfaces.
- Consult the BD MAX™ System User's Manual for additional warnings, precautions and procedures.

8. Procedure

8.1. SAMPLE COLLECTION, STORAGE AND TRANSPORT

The VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System has been validated on nasopharyngeal/ oropharyngeal swab collected in viral transport media (VTM) Vircell S.L., Spain).

Other types of samples from nasopharyngeal/oropharyngeal swabs in VTM must be validated by the user.

Collection, storage and transport specimens should be maintained per the conditions validated by the user. Overall, respiratory samples should be collected and labelled appropriately in clean containers with or without transport media (depending on sample type) and processed as soon as possible to guarantee the quality of the test. The specimens should be transported at 2 to 8°C for up to 48 hours, following the local and national regulations for the transport of pathogen material. For long term transport (more than 48 hours), we recommend shipping at ≤ -20°C. It is recommended to use fresh specimens for the test. The samples can be stored at 2 to 8°C for up to 48 hours or frozen at -20°C or ideally at -70°C for conservation. Repeated freeze-thaw cycles should be avoided in order to prevent degradation of the sample and nucleic acids.

8.2. SAMPLE PREPARATION AND RNA EXTRACTION

Perform the sample preparation according to the recommendations in the instructions for use of extraction kit used, BD MAX™ ExK™ TNA-3. Note that some other samples may require pre-processing. Application-specific extraction preparation procedures should be developed and validated by the user.

- 1) Pipette between 400 and 750 µL of nasopharyngeal/ oropharyngeal swab collected in viral transport media (VTM) or in BD™ Universal Viral Transport (UVT) System media into a BD MAX™ TNA-3 Sample Buffer Tube and close the tube with a septum cap. Ensure complete mixing by vortexing the sample at high speed for 1 minute. Proceed to BD MAX™ System Operation.



8.3. PCR PROTOCOL

Note: Please, refer to the BD MAX™ System User's Manual for detailed instructions.

8.3.1. Creating PCR test program for VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System

Note: If you have already created the VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection test, you can skip step 8.3.1 and go directly to 8.3.2.

- On the "Run" screen of the BD MAX™ System, select the "Test Editor" tab.
- Click the "Create" button.
- In the Basic Information tab, within the "Test Name" window, name your test: i.e. VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2).
- In the "Extraction Type" drop down menu, select "ExK TNA-3".
 - In the "Master Mix Format" drop down menu, choose "Type 5"
- Note: Product may be used in combination with an additional VIASURE for BD MAX™ test, then select "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)".
- In the "Sample extraction parameters" select "User defined" and adjust sample volume to 950 µL.
- In the "Ct Calculation" select "Call Ct at Threshold Crossing".
 - In "PCR settings" tab enter the following parameters: "Channel Settings", "Gains" and "Threshold" (Table 2).
 - Note: Product may be used in combination with an additional VIASURE for BD MAX™ test, PCR Settings and Test Steps should be completed for snap 2 (green) and snap 4 (blue) positions.

Channel	Alias	Gain	Threshold	Ct Min	Ct Max
475/520 (FAM)	SARS-CoV-2 N2 target	80	150	0	40
530/565 (HEX)	Endogenous IC	80	150	0	35
585/630 (ROX)	-	0	0	0	0
630/665 (Cy5)	SARS-CoV-2 N1 target	80	150	0	40
680/715 (Cy5.5)	-	0	0	0	0

Table 2. PCR settings.

Note: It is recommended to set the minimum threshold values listed above for each channel as a starting point, but the final settings must be determined by the end-user during the result interpretation in order to ensure that thresholds fall within the exponential phase of the fluorescence curves and above any background signal. The threshold value for different instruments may vary due to different signal intensities.

- In "PCR settings" tab enter the following parameters "Spectral Cross Talk" (Table 3), as well.



		False Receiving Channel				
	Channel	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel	475/520	-	3.0	0.0	0.0	0.0
	530/565	1.0	-	0.0	0.0	0.0
	585/630	0.0	0.0	-	0.0	0.0
	630/665	0.0	0.0	0.0	-	0.0
	680/715	0.0	0.0	0.0	0.0	-

Table 3. Spectral cross-talk parameters.

- In "Test Steps" tab, enter the PCR protocol (Table 4).

Step Name	Profile Type	Cycles	Time (s)	Temperature	Detect
Reverse transcription	Hold	1	900	45°C	-
Initial denaturation	Hold	1	120	98°C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection)	2-Temperature	45	10	95°C	-
			61.1	63°C	✓

Table 4. PCR protocol.

- Click the "Save Test" button.

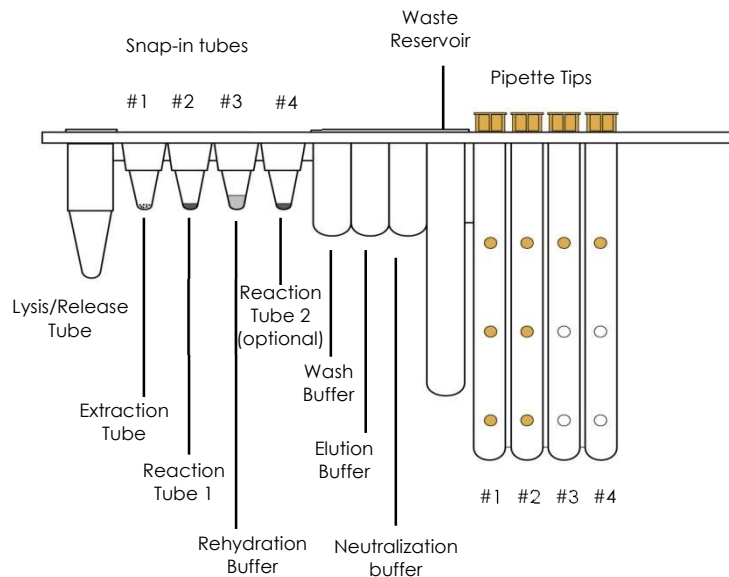
8.3.2. BD MAX™ Rack set up

- For each sample to be tested, remove one Unitized Reagent Strips from the BD MAX™ ExK TNA-3 kit. Gently tap each strip onto a hard surface to ensure that all the liquids are at the bottom of the tubes and load on the BD MAX™ System sample racks.
- Remove the required number of BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (B4) (white foil) from their protective pouch. Snap the Extraction Tube(s) (white foil) into its corresponding positions in the TNA strip (Snap position 1, white color coding on the rack. See Figure 1). Remove excess air, and close pouch with the zip seal.
- Determine and separate the appropriate number of VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) reaction tubes (green or 1G foil) and snap into their corresponding positions in the strip (Snap position 2, green color coding on the rack. See Figure 1).
 - Remove excess air, and close aluminum pouches with the zip seal.
 - In order to carry out a correct rehydration, please make sure that the lyophilized product is in the bottom of the tube and is not adhered to the top area of the tube or to the foil seal. Gently tap each tube on a hard surface to make sure all the product is at the bottom of the tube.
 - Note: If you choose the format "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Section 8.3.1), determine and separate the appropriate number of additional VIASURE reaction tubes (different foil) and snap into their corresponding positions in the strip (Snap position 4, blue color coding on the rack. See Figure 1). Remove excess air, and close aluminum pouches with the zip seal.



- 4) Remove the required number of Rehydration Buffer tubes (orange or 11 foil) and snap into their corresponding positions in the strip (Snap position 3, non-color coding on the rack. See Figure 1). Remove excess air, and close the pouch with the zip seal.
 - a. In order to ensure a correct transfer, please make sure that the liquid is in the bottom of the tube and is not adhered to the top area of the tube or to the foil seal. Gently tap each tube on a hard surface to make sure all the buffer is at the bottom of the tube.

Figure 1. BD MAX™ TNA Reagent Strip (TNA) from the BD MAX™ ExK TNA-3 kit.



8.3.3. BD MAX™ Instrument set up

9. Select the "Work List" tab on the "Run" screen of the BD MAX™ System software v4.50A or higher.
10. In the "Test" drop down menu, select VIASURE SARS-CoV-2 ($N1 + N2$) (if not already created see Section 8.3.1).
11. Select the appropriate kit lot number (found on the outer box of extraction kit used) from the pull down menu (optional).
12. Enter the Sample Buffer Tube identification number into the Sample tube window of the Worklist, either by scanning the barcode with the scanner or by manual entry.
13. Fill the Specimen/Patient ID and/or Accession window of the Worklist and click the "Save" button. Continue until all Sample Buffer Tubes are entered. Ensure that the specimen/patient ID and the Sample Buffer Tubes are accurately matched.
14. Place the prepared Sample Buffer Tube into the BD MAX™ Rack(s).
15. Load the rack(s) into the BD MAX™ System (Rack A is positioned on the left side of the BD MAX™ System and Rack B on the right side).
16. Place the required number of BD MAX™ PCR Cartridge(s) into the BD MAX™ System.
17. Close the BD MAX™ System door.
18. Click "Start Run" to begin the procedure.



8.3.4. BD MAX™ report

- In main menu, click the "Results" button.
- Either double click on your run in the list or press the "view button".
- Click on "Print", select: "Run Details, Test Details and Plot..."
- Click on "Print or Export button" on the "Run Reports" screen

9. Result interpretation

For a detailed description on how to analyze data, refer to the BD MAX™ System User's manual.

The analysis of the data is done by the BD MAX™ software according to the manufacturer's instructions. The BD MAX™ software reports Ct values and amplification curves for each detector channel of each sample tested in the following way:

- Ct value of 0 indicates that there was no Ct value calculated by the software with the specified Threshold (see Table 2). Amplification curve of the sample showing a "0" Ct value must be checked manually.
- Ct value of -1 indicates that no amplification process has occurred.
- Any other Ct value should be interpreted in correlation with the amplification curve and according to the sample interpretation guidelines outlined in Table 5.

Check Internal Control signal to verify the correct functioning of the amplification mix. In addition, check that there is no report of BD MAX™ System failure.

Results should be read and analyzed using the following table:



SARS-CoV-2 (N2 target) (475/520)	Endogenous Internal Control (530/565)	SARS-CoV-2 (N1 target) (630/665)	Interpretation
+	+/- ¹	+	SARS-CoV-2 N gene RNA Detected ¹
+ ²	+/- ¹	-	SARS-CoV-2 N gene RNA Detected ^{1,2}
-	+/- ¹	+ ²	SARS-CoV-2 N gene RNA Detected ^{1,2}
-	+ ³	-	SARS-CoV-2 N gene RNA Not Detected ³
-	- ³	-	Unresolved (UNR) Result obtained in the presence of inhibitors in the PCR reaction or when a general problem (not reported by an error code) with the sample processing and/or amplification steps occurs. ³
IND	IND	IND	Indeterminate assay result (IND). Due to BD MAX™ System failure. Assay result displayed in case of an instrument failure linked to an error code.
INC	INC	INC	Incomplete assay result (INC). Due to BD MAX™ System failure. Assay result displayed in case of failure to complete run.

Table 5. Sample interpretation

+: Amplification occurred

-: No amplification occurred

1 A sample is considered positive if the Ct value obtained is less than 40. The endogenous Internal Control (IC) may or may not show an amplification signal. Sometimes, the IC detection is not necessary because a high copy number of the target can cause preferential amplification of target-specific nucleic acids.

2 If only one target site of the N gene amplifies, verify the sigmoid shape of the curve and the intensity of fluorescence. In case of a doubtful interpretation, depending on the available material, it is also recommended to:

- a) re-extract and re-test another aliquot of the same specimen (if possible, increase sample volume to 750 µl) or,
- b) obtain a new specimen and re-test.

3 In the case of SARS-CoV-2 target sites negative, IC must show an amplification signal with Ct less than 35. The Ct value could be very variable due to the Endogenous Internal Control is a human housekeeping gene that should be present in all human nucleated cells in the original sample. If there is an absence of signal or Ct value ≥ 35 of the endogenous Internal Control, the result is considered as 'Unresolved', and retesting is required.

In case of a continued ambiguous result, it is recommended to review the instructions for use, the extraction process used by the user; to verify the correct performance of each RT-qPCR steps and review the parameters; and to check the sigmoid shape of the curve and the intensity of fluorescence.

The results of the test should be evaluated by a health care professional in the context of medical history, clinical symptoms and other diagnostic tests.



10. Limitations of the test

- The results of the test should be evaluated by a health care professional in the context of medical history, clinical symptoms and other diagnostic tests.
- Although this assay can be used with other types of samples it has been validated with nasopharyngeal/oropharyngeal swab collected in VTM.
- For good test performance, the lyophilized product should be at the bottom of the tube and not adhered to the top area of the tube or the foil seal. Gently tap each tube on a hard surface to make sure all the product is at the bottom of the tube.
- An appearance of the reaction mixture in stabilized format, normally found at the bottom of the tube, different from the usual one (without conical shape, inhomogeneous, smaller/larger in size and/or color different from whitish) does not alter the functionality of the test.
 - a) The quality of the test depends on the quality of the sample; proper extracted nucleic acid from respiratory samples must be extracted.
 - b) This test is a qualitative test and does not provide quantitative values or indicate the number of organisms present.
- Extremely low levels of target below the limit of detection might be detected, but results may not be reproducible.
- There is a possibility of false positive results due to cross-contamination by SARS-CoV-2, either samples containing high concentrations of target RNA or contamination due to PCR products from previous reactions.
- The specific primer and probe combinations for detection of conserved regions of *N* gene used in VIASURE SARS-CoV-2 (*N1* + *N2*) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System have been designed based on the US CDC assay for specific detection of SARS-CoV-2 by amplifying two unique regions of the *N* gene. They do not show significant combined homologies with the human genome, human microflora, SARS-CoV or other coronaviruses, which might result in predictable false positive.
- False Negative results may arise from several factors and their combinations, including:
 - Improper specimens' collection, transport, storage, and/or handling methods.
 - Improper processing procedures (including RNA extraction).
 - Degradation of the viral RNA during sample shipping/storage and/or processing.
 - Mutations or polymorphisms in primer or probe binding regions may affect detection of new or unknown SARS-CoV-2 variants.
 - A viral load in the specimen below the limit of detection for the assay.
 - The presence of RT-qPCR inhibitors or other types of interfering substances. The impacts of vaccines, antiviral therapeutics, antibiotics, chemotherapeutics or immunosuppressant drugs used to prevent COVID-19 or used during the treatment of the infection have not been evaluated.
 - Failure to follow instructions for use and the assay procedure.
- A single-target site amplification or even random positive results is suggestive of slightly different amplification yield of the target site of the *N* gene. Samples with low viral load might result in *N* single target amplification. In case of a doubt, it is recommended referring to a reference laboratory for further testing.



- Some samples may fail to exhibit *RNase P* amplification curves due to low human cell numbers in the original clinical sample. A negative IC signal does not preclude the presence of SARS-CoV-2 RNA in a clinical specimen.
- A positive test result does not necessarily indicate the presence of viable viruses and does not imply that these viruses are infectious or are the causative agents for clinical symptoms. However, a positive result is indicative of the presence of targets viral sequences (*N* genes).
- Negative results do not preclude SARS-CoV-2 infection and should not be used as the sole basis for treatment or other patient management decisions. Optimum specimen types and timing for peak viral levels during infections caused by SARS-CoV-2 have not been determined. The collection of multiple specimens (types and time points) from the same patient may be necessary to detect the virus.
- If diagnostic tests for other respiratory illnesses are negative and the patient's clinical presentation and epidemiological information suggest that SARS-CoV-2 infection is possible, then a false negative result should be considered, and a re-testing of the patient should be discussed.
- In the case of obtaining Unresolved, Indeterminate or Incomplete results using VIASURE SARS-CoV-2 (*N1* + *N2*) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System retesting will be required. Unresolved results may be due to the presence of inhibitors in the sample or an incorrect rehydration of lyophilized reaction mix tube. If there is an instrument failure, Indeterminate or Incomplete results will be obtained.

11. Quality control

VIASURE SARS-CoV-2 (*N1* + *N2*) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System contains an endogenous internal control (IC) in each reaction tube which confirms the correct performance of the technique.

12. Performance characteristics

12.1. Clinical sensitivity and specificity

The clinical performance of VIASURE SARS-CoV-2 (*N1* + *N2*) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System was tested using 254 respiratory samples (nasopharyngeal swabs in Vircell Transport medium) from patients with clinical suspicion of COVID-19 disease or other similar respiratory diseases. The retrospective-comparative analysis was performed with VIASURE SARS-CoV-2 (*N1* + *N2*) Real time PCR Kit for BD MAX™ System and these results were compared with those obtained with the clinical diagnosis performed with Simplexa™ COVID-19 Direct assay with discrepant analysis performed with the Charité protocol.

VIASURE SARS-CoV-2 (<i>N1</i> + <i>N2</i>) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	Alternative RT-PCR assays		
		+	-
	+	63	2*
	-	0	189
	Total	63	191

Table 6. Comparative results for SARS-CoV-2.

*Initial diagnose of one of the two samples was invalid and reported to the patient as positive for prevention and quarantine period.



VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real time PCR Kit for BD MAX™ System detected two positive samples that were not detected using Simplexa™ COVID-19 Direct assay and the Charité protocol.

The Positive Percent Agreement (PPA) and the Negative Percent Agreement (NPA) for VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR detection Kit for BD MAX™ System are >99% and 98%, respectively.

Results show high agreement to detect SARS-CoV-2 using VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

12.2. Analytical sensitivity

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System has a detection limit of ≥ 5 genome copies per reaction with a positive rate of $\geq 95\%$.

Figure 2. Dilution series of SARS-CoV-2 (N1 + N2) (9.9×10^4 - 9.9×10^0 and 5.0×10^0 genome copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (475/520 (FAM) channel).

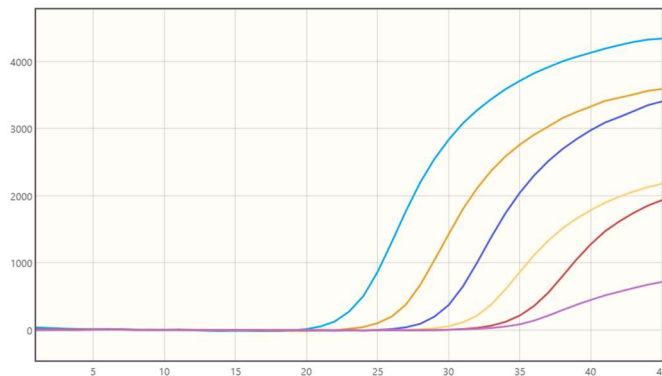
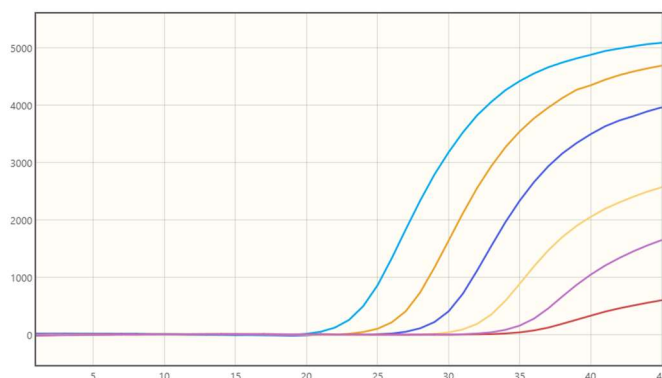


Figure 3. Dilution series of SARS-CoV-2 (N1 + N2) (9.9×10^4 - 9.9×10^0 and 5.0×10^0 genome copies per reaction) template run on the BD MAX™ System (630/665 (Cy5) channel).



12.3. Analytical specificity

The specificity of the SARS-CoV-2 (N1 + N2) assay was confirmed by testing a panel consisting of different microorganisms representing the most common respiratory pathogens. No cross-reactivity was detected between any of the following microorganisms tested:



Cross-reactivity testing					
Human Adenovirus types 1-5, 8, 15, 31, 40 and 41	-	Influenza A/New Caledonia/20/99(H1N1) virus	-	<i>Legionella longbeachae</i>	-
Human Bocavirus	-	Influenza A/California/7/2009(H1N1)pdm09 virus	-	<i>Legionella micdadei</i>	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	-	Influenza A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09 virus	-	<i>Legionella pneumophila</i>	-
<i>Bordetella holmesii</i>	-	Influenza A/Singapore/GP1908/2015, IVR-180 (H1N1)pdm09 virus	-	Human metapneumovirus A and B	-
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	Influenza A/Victoria/210/2009 (H3N2) virus	-	<i>Moraxella catarrhalis</i>	-
<i>Bordetella pertussis</i>	-	Influenza A/Thüringen/5/2017 (H3N2) virus	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
<i>Chlamydia caviae</i>	-	Influenza A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2) virus	-	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> not rifampin resistant	-
<i>Chlamydia psittaci</i> genotype A and C	-	Influenza A/Hong Kong/4801/2014, NYMC X-263B (H3N2) virus	-	Human parainfluenza 1, 2, 3 and 4 viruses	-
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> CM-1	-	Influenza A/ South Australia/55/2014, IVR-175 (H3N2) virus	-	<i>Pneumocystis jirovecii</i> Type A1 and g885652	-
Human coronavirus 229E, OC43, NL63 and HKU1	-	Influenza A/DE-SH/Reihenente/AR8444/ 2016 (H5N8) virus	-	Human rhinovirus type C	-
MERS Coronavirus	-	Influenza A/Anhui/1/2013 (H7N9) virus	-	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	-
SARS Coronavirus Strain Frankfurt 1	-	Influenza B/Brisbane/60/2008 virus	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Enterovirus 68 and 71	-	Influenza B/Florida/04/06 virus	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i> Z022	-
Enterovirus Echovirus 11 and 30	-	Influenza B/Phuket/3073/2013 virus	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Enterovirus Coxsackievirus A24, A9 and B3	-	<i>Legionella bozemanii</i>	-	<i>Streptococcus salivarius</i>	-
<i>Haemophilus influenzae</i> MinnA	-	<i>Legionella dumoffii</i>	-	Respiratory syncytial virus (RSV) A and B	-

Table 7. Reference pathogenic microorganisms used in this study.

12.4. Analytical reactivity

The reactivity of VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System was evaluated against RNA from Human 2019-nCoV strain BetaCoV/Germany/BavPat1/2020 p.1, Human 2019-nCoV strain 2019-nCoV/Italy-INMI1, SARS-CoV-2 strain 2019nCoV/USA-WA1/2020, synthetic RNA controls for two variants of the SARS-CoV-2 virus: MT007544.1 (SARS-CoV2 isolate Australia/VIC01/2020) and MN908947.3 (SARS-CoV-2 isolate Wuhan-Hu-1), showing positive result.



TÜRKÇE

1. Kullanım amacı

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, sağlık kuruluşu tarafından COVID-19 şüphesi olan kişilerden alınan solunum örneklerinde SARS-CoV-2'den RNA'nın kalitatif tespiti için tasarlanmış otomatik bir gerçek zamanlı RT-PCR testidir. Bu testin, SARS-CoV-2 viral RNA'nın varlığının tanımlanmasına yardımcı olarak kullanılması amaçlanmıştır. Analiz, BD MAX™ Sistemini, otomatik olarak RNA'nın ekstraksiyonu için kullanır ve ardından BD MAX™ Sistemi için evrensel reaktifler ve atılabilir maddeler ile birlikte sağlanan reaktiflerin kullanıldığı gerçek zamanlı RT-PCR'yi kullanır. RNA solunum örneklerinden ekstrakte edilir, RT-PCR kullanılarak amplifikasyon uygulanır ve SARS-CoV-2'ye özel floresan raportör boya problemleri kullanılarak tespit edilir.

2. Özet ve Açıklama

Koronavirüs, segmentlere ayrılmamış pozitif-duyarlı RNA virüsüdür ve *Coronaviridae* familyasına aittir [1,2]. İnsan hastalıklarına neden olduğu bilinen altı koronavirüs türü vardır [2]. Dört virüs (229E, OC43, NL63 ve HKU1) soğuk algınlığı semptomlarına neden olurken, diğer ikisi (ciddi akut solunum sendromu koronavirüs (SARS-CoV) ve Orta Doğu solunum sendromu koronavirüs (MERS-CoV) zoonotiktir ve daha ciddi komplikasyonlara neden olurlar [2]. SARS-CoV ve MERS-CoV, son yirmi yılda 10.000'den fazla kümülatif vakaya neden olmuştur ve mortalite oranları MERS-CoV için %34 ve SARS-CoV için %10'dur [1,3].

Aralık 2019'da, Çin'in Hubei Eyaleti, Wuhan kentindeki Huanan deniz ürünleri pazarında çalışan veya yakınlarında yaşayan bazı insanlarda, nedeni bilinmeyen pnömoni görüldü [2,4]. Solunum numunelerinin derin sekans analizi, ilk olarak 2019 yeni koronavirüs (2019-nCoV) ve son zamanlarda SARS-CoV-2 olarak adlandırılan yeni bir koronavirüsü ortaya koydu [5].

SARS-CoV-2'nin semptomların görülmediği kuluçka döneminde bile insandan insana bulaştığı doğrulanmıştır ve virüs, SARS-CoV virüsünün yol açtığına benzer ciddi bir solunum yolu hastalığına neden olmaktadır [1,6,7,8]. Pnömoni virüsü bağlantılı başlıca hastalık olmasına rağmen, az sayıda hastada ciddi pnömoni, pulmoner ödem, akut solunum yetersizliği sendromu veya çoklu organ yetmezliği ve ölüm meydana gelmiştir [1,4]. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (Centers of Disease Control and Prevention, CDC), SARS-CoV-2 semptomlarının ortaya çıkma süresinin virüse maruz kalımdan sonra 2 gün kadar kısa veya 14 gün kadar uzun olabileceğine ve en yaygın semptomların ateş veya üşüme, öksürük, yorgunluk, anoreksi kas ağrısı ve nefes darlığı olduğuna inanmaktadır [1,4,6,9]. Daha az görülen semptomlar boğaz ağrısı, burun tıkanması, baş ağrısı, ishal, bulantı ve kusmadır [1,4]. Solunum semptomlarının başlangıcından önce koku kaybı (anosmi) veya tat kaybı (agüzi) da bildirilmiştir [9]. İleri yaştaki yetişkinler ve kalp veya akciğer hastalığı ya da diyabet gibi altta yatan ciddi tıbbi rahatsızlıkları olan kişiler, COVID-19 hastalığı nedeniyle daha ciddi komplikasyonlar geliştirme açısından daha yüksek risk altındadır [10].

SARS-CoV-2 tanısı pnömoninin geleneksel nedenlerini erkenden saptamak için yapılar ve yeni nesil sekanslama veya gerçek zamanlı RT-PCR yöntemleri ile belirlenir [1,11]. Çin CDC (gen hedefleri, *ORF1ab* ve *N*), *Charité* - Almanya (gen hedefleri, *RdRP* ve *E*) veya ABD CDC (*N* geninde iki hedef) gibi SARS-CoV-2'yi saptayan çeşitli deneyler şu anda mevcuttur. [12].



CDC, SARS-CoV-2'nin tanımlanması için üst solunum yolu örneklerinin (çoğunlukla bir sağlık kuruluğu tarafından toplanan nazofarengeal (NP) ve orofarengeal (OP) swablar, nazal orta türbinat swab, nazal swab, nazofarengeal yıkama/aspirat veya nazal yıkama/aspirat (NW) örnekleri) ve/veya alt solunum yolu örneklerinin (balgam, endotrakeal aspirat veya daha şiddetli solunum hastalığı olan hastalarda bronkoalveolar lavaj) kullanılmasını önerir [11]. Ayrıca, virüsün varlığını izlemek için kan, idrar ve dışkı gibi diğer klinik numuneler de alınabilir [11,12].

3. Prosedür ilkesi

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, solunum numunelerinde SARS-CoV-2'nin tespiti için tasarlanmıştır. Tespit, ters transkripsiyonun ve onu izleyen spesifik hedef sekans amplifikasyonunun aynı reaksiyon tüpünde meydana geldiği tek adımlı gerçek zamanlı RT-PCR formatında gerçekleştirilir. İzole edilen RNA hedefi, ters transkriptaz ile tamamlayıcı DNA üreterek kopyalanır; bunu, korunmuş iki N geni bölgesinin (N1 ve N2) spesifik primerler ve flüoresan etiketli probalar kullanılarak amplifikasyonu izler.

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, DNA polimerazının 5' eksonükleaz aktivitesine dayanır. DNA amplifikasyonu sırasında, bu enzim tamamlayıcı DNA sekansına bağlı probu ayırarak; söndürücü boyanın raportörden ayırt edilmesini sağlar. Bu reaksiyon, hedef şablonun miktarıyla orantılı olan floresan sinyalinde bir artış meydana getirir. Bu floresans BD MAX™ Sisteminde ölçülür.

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System her tüpte, stabilize edilmiş bir formatta gerçek zamanlı PCR testi için gerekli tüm bileşenleri (spesifik primer/problar, dNTPS, tampon, polimeraz, ters transkriptaz) ve ayrıca PCR inhibisyonunu izlemek için bir , endojen dahili kontrol içerir . Testte, endojen Dahili Kontrol (IC) olarak bir insan housekeeping geni kullanılır (insan *RNase P* geni). İnsan housekeeping genleri temel hücre bakımında rol oynar ve bu nedenle tüm çekirdekli insan hücrelerinde bulunması ve nispeten sabit ekspresyon seviyelerini muhafaza etmesi beklenir . *N2 hedefi* 475/520 kanalında, *N1 hedefi* 630/665 kanalında ve endojen dahili kontrol (IC) 530/565 kanalında çoğaltılır ve tespit edilir.

4. Verilen reaktifler

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, Tablo 1'de ayrıntılı olarak verilen aşağıdaki maddeleri ve reaktifleri içerir:

Referans	Reaktif/Materyal	Açıklama	Renk/Barkod	Miktar
VS-NCO312	SARS-CoV-2 (N1 + N2) reaction tube	Enzimler, primer probları, tampon, dNTP'ler, stabilizatörler ve stabilize edilmiş formatta endojen dahili kontrol içeren bir karışım	Şeffaf Yeşil veya 1G folyo	12 tüp içeren 2 poşet
VS-RB09	Rehydration Buffer tube	Stabilize edilmiş ürünü sulandırmak için solüsyon	Şeffaf Turuncu veya 11 folyo	24 tüp içeren 1 kese

Tablo 1. VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System with Cat içinde sağlanan reaktif ve materyaller. N°. VS-NCO324 (444215).



5. Kullanıcı tarafından tedarik edilecek olan reaktifler ve ekipman

Aşağıdaki liste, kullanım için gerekli olan ancak VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System içinde bulunmayan materyalleri ve ekipmanları içerir.

- Gerçek Zamanlı PCR cihazı: BD MAX™ System.
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442827 veya 442828)
- BD MAX™ PCR Cartridges (Ref: 437519)
- Vorteks.
- Mikropipetler (2 ile 1000 µL arasında hatasız).
- Filtre uçları.
- Pudrasız tek kullanımlık eldivenler

6. Taşıma ve depolama koşulları

- Kitler, etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar 2-40 °C'de sevk edilip saklanabilir.
- Reaksiyon tüplerini içeren alüminyum poşetler, açıldıktan sonra 28 güne kadar kullanılabilir.

7. Kullanıcılara uyarılar

- Ürün yalnızca moleküler biyolojik teknikler konusunda eğitilmiş laboratuvar veya sağlık uzmanları ve teknisyenler gibi profesyonel kullanıcılar tarafından kullanılmak üzere tasarlanmıştır.
- *In vitro* tanısal kullanım içindir.
- Son kullanma tarihi geçmiş reaktifleri ve/veya materyalleri kullanmayın.
- Dış kutuyu mühürleyen etiket açılmışsa kiti kullanmayın.
- Koruyucu kutu ulaştığında açılmış veya kırılmışsa reaktifleri kullanmayın.
- Koruyucu poşetler ulaştığında açık veya kırılmışsa reaktifleri kullanmayın.
- Reaktif poşetler içinde kurutucu mevcut değilse veya parçalanmışsa reaktifleri kullanmayın.
- Kurutucu maddeyi reaktif poşetlerinden çıkarmayın.
- Her kullanımdan sonra hemen reaktif koruyucu poşetlerin fermuarını kapatın. Kapatmadan önce poşetlerdeki fazla havayı giderin.
- Folyo kırılmış veya hasar görmüşse reaktifleri kullanmayın.
- Farklı poşetlerden ve/veya kitlerden ve/veya partilerden reaktifleri karıştırmayın.
- Reaktifleri nemden koruyun. Neme uzun süre maruz kalmak ürün performansını etkileyebilir.
- Bileşenleri ışıktan koruyun.
- Laboratuvarın genel alanında başka PCR testlerinin yapıldığı durumlarda, VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, BD MAX™ ExK™ TNA-3 ekstraksiyon kiti, bunun için gerekli herhangi bir reaktif ile Test ve BD MAX™ Sisteminin kontamine olmamasına dikkat edilmelidir. Reaktiflerin mikrobiyal ve ribonükleaz (RNaz)/deoksiribonükleaz (DNaz) kontaminasyonundan daima kaçının. Steril RNaz/DNaz içermeyen, tek kullanımlık, aerosole dirençli veya pozitif deplasmanlı pipet uçlarının kullanılması önerilir. Her numune için yeni uç kullanın. Reaktifler ve kartuşlar kullanılmadan önce eldivenler değiştirilmelidir.



- Ortamın amplikonlarla kontaminasyonunu önlemek için, BD MAX™ PCR Cartridge kullandıktan sonra parçalamayın. BD MAX™ PCR Cartridge contaları kontaminasyonu önleyecek şekilde tasarlanmıştır.
- Tek yönlü bir iş akışı tasarlayın. Ekstraksiyon Alanında başlanmalı ve Amplifikasyon ve Tespit Alanında devam edilmelidir. Numuneleri, ekipmanı ve reaktifleri önceki adımın gerçekleştirildiği alana geri götürmeyin.
- İyi Laboratuvar Uygulamalarına Uyun. Koruyucu kıyafet giyin, tek kullanımlık eldivenler, gözlükler ve maske kullanın. Çalışma alanında bir şey yemeyin, içmeyin veya sigara kullanmayın. Testi bitirdikten sonra ellerinizi yıkayın.
- Numuneler ile numunelere maruz kalan tüm reaktifler ve materyaller potansiyel olarak bulaşıcı muamelesi görmeli ve ulusal güvenlik düzenlemelerine uygun olarak ele alınmalıdır. Numunelerin toplanması, saklanması, işlenmesi ve bertarafı sırasında gerekli önlemleri alın.
- Yaygın olarak kullanılan ekipmanın, özellikle mikropipetler ve çalışma yüzeylerinin düzenli olarak dekontamine edilmesi önerilir.
- Ek uyarılar, önlemler ve prosedürler için BD MAX™ Sistemi Kullanıcı El Kitabına bakın.

8. Prosedür

8.1. NUMUNELERİN TOPLANMASI, SAKLANMASI VE TAŞINMASI

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, viral taşıma ortamında (VTM) Vircell SL, İspanya) toplanan nazofaringeal/ orofaringeal swab üzerinde doğrulanmıştır.

VTM'de toplanan nazofaringeal/orofaringeal swablardan farklı tipteki numuneler kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Toplanan, saklanan ve taşınan numuneler, kullanıcı tarafından doğrulanan şartlarda muhafaza edilmelidir. Genel olarak, solunum numuneleri taşıma ortamı içeren veya içermeyen (numune türüne göre) temiz kaplarda uygun şekilde toplanmalı ve etiketlenmeli ve testin kalitesini garanti etmek için en kısa sürede işleme konmalıdır. Numuneler patojen materyalin taşınması ile ilgili yerel ve ulusal düzenlemelere uyularak, 48 saate kadar 2 - 8°C sıcaklıkta taşınmalıdır. Uzun süreli taşımalar için (48 saatten fazla), sevkiyatın 0-20°C'de yapılması önerilir. Test için taze örneklerin kullanılması tavsiye edilir. Numuneler 2 ila 8°C'de 48 saate kadar saklanabilir veya muhafaza edilmek üzere -20°C'de veya ideal olarak -70°C'de dondurulabilir. Numune ve nükleik asitlerin bozulmasını önlemek için tekrarlanan donma-çözülme döngülerinden kaçınılmalıdır.

8.2. NUMUNELERİN HAZIRLANMASI VE RNA EKSTRAKSİYONU

Numune hazırlama işlemini kullanılan ekstraksiyon kiti olan BD MAX™ ExK™ TNA-3'nin kullanım talimatlarındaki önerilere uyararak gerçekleştirin. Bazı numunelerin ön işlem gerektirebileceğini unutmayın. Uygulamaya özel ekstraksiyon hazırlama prosedürleri kullanıcı tarafından geliştirilmeli ve doğrulanmalıdır.

1. Bir BD MAX™ TNA-3 Sample Buffer Tube içine viral taşıma ortamında (VTM) veya BD™ Universal Viral Transport (UVT) Sisteminde 400 ve 750 µL nazofaringeal/orofaringeal sürüntü numunesini pipetleyin ve tüpü bir septum başlığıyla kapatın. Numuneyi 1 dakika boyunca yüksek hızda vorteksleyerek tamamen karıştırın. BD MAX™ Sistemini Kullanmaya geçin.



8.3. PCR PROTOKOLÜ

Not: Lütfen ayrıntılı talimatlar için BD MAX™ Sistemi Kullanıcı El Kitabına bakın.

8.3.1. VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System için PCR test programı oluşturma.

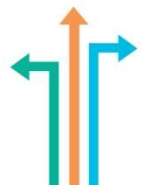
Not: Halihazırda VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection testi oluşturduysanız, 8.3.1 adımı atlayıp doğrudan 8.3.2'ye geçebilirsiniz.

- 1) BD MAX™ Sisteminin "Run" (Çalıştır) ekranında, "Test Editor" (Test Düzenleyici) sekmesini seçin.
- 2) "Create" (Oluştur) düğmesine tıklayın.
- 3) "Test Name" (Test Adı) penceresindeki Temel Bilgi sekmesinde, testinize bir ad verin: örneğin VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2).
- 4) "Extraction Type" (Ekstraksiyon Tipi) açılır menüsünde, "ExK TNA-3"yi seçin.
- 5) "Master Mix Format" (Master Karışım Formatı) açılır menüsünde, "Type 5"i (Tip 5) seçin.
 - a) Not: Ürün BD MAX™ testi için ek bir VIASURE ile birlikte kullanılabilir, ardından "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Rehidrasyon Tamponlu (Tip 5) Çift Master Karışım Konsantre Liyofilize MM) ögesini seçin.
- 6) "Sample extraction parameters" (Numune ekstraksiyon parametreleri) içinde "User defined" (Kullanıcı tanımlı) seçeneğini seçin ve numune hacmini 950 µL olarak ayarlayın.
- 7) "Ct Calculation" (Ct Hesaplaması)'nda "Call Ct at Threshold Crossing" (Eşiğin Geçilmesi Halinde Ct'yi Ara)'yı seçin.
- 8) "PCR settings" (PCR ayarları) sekmesinde aşağıdaki parametreleri girin: "Channel Settings" (Kanal Ayarları), "Gains" (Kazanımlar) ve "Threshold" (Eşik) (Tablo 2).
 - a. Not: Ürün BD MAX™ testi için ek bir VIASURE ile birlikte kullanılabilir, snap 2 (yeşil) ve snap 4 (mavi) konumları için PCR Ayarları ve Test Adımları tamamlanmalıdır.

Channel (Kanal)	Alias (Takma İsim)	Gain (Kazanım)	Threshold (Eşik)	Ct Min (Ct Asgari)	Ct Max (Ct Azami)
475/520 (FAM)	SARS-CoV-2 N2 hedef	80	150	0	40
530/565 (HEX)	Endojen IC	80	150	0	35
585/630 (ROX)	-	0	0	0	0
630/665 (Cy5)	SARS-CoV-2 N1 hedef	80	150	0	40
680/715 (Cy5.5)	-	0	0	0	0

Tablo 2. PCR ayarları.

Not: Her kanal için başlangıç noktası olarak yukarıda listelenen minimum eşik değerlerinin ayarlanması önerilir, ancak eşiklerin floresan eğrilerinin üstel fazı dahilinde ancak arka plan sinyallerinin üzerinde kalmasını sağlamak için nihai ayarların sonuç interpolasyonu sırasında son kullanıcı tarafından belirlenmesi gerekir. Farklı cihazlar için eşik değeri, farklı sinyal yoğunlukları nedeniyle değişebilir.



- 9) "PCR settings" (PCR ayarları) sekmesinde aşağıdaki parametreleri de girin: "Spectral Cross Talk" (Spektral Tartışma) (Tablo 3).

	Channel (Kanal)	False Receiving Channel (Yanlış Alıcı Kanal)				
		475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Eksitasyon Kanalı)	475/520	-	3,0	0,0	0,0	0,0
	530/565	1,0	-	0,0	0,0	0,0
	585/630	0,0	0,0	-	0,0	0,0
	630/665	0,0	0,0	0,0	-	0,0
	680/715	0,0	0,0	0,0	0,0	-

Tablo 3. Spektral tartışma parametreleri.

- 10) "Test Steps" (Test Adımları) sekmesine PCR protokolünü girin (Tablo 4).

Step Name (Adım İsmi)	Profile Type (Profil Tipi)	Cycles (Döngüler)	Time (s) (Süreler)	Temperature (Sıcaklık)	Detect (Tespit)
Reverse transcription (Revers transkripsiyon)	Hold (Tutma)	1	900	45°C	-
Initial denaturation (Başlangıç denatürasyonu)	Hold (Tutma)	1	120	98°C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) Denatürasyon ve Yeniden Birleştirme/Genişletme (Veri toplama))	2- Temperature (Sıcaklık)	45	10	95°C	-
			61,1	63°C	✓

Tablo 4. PCR protokolü.

- 11) "Save Test (Testi Kaydet)" düğmesine tıklayın.

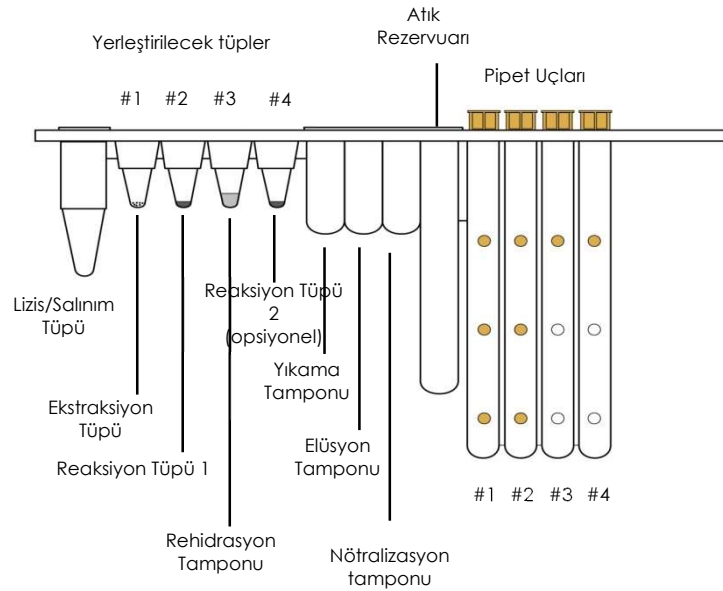
8.3.2. BD MAX™ Raf kurulumu.

- Test edilecek her bir numune için, BD MAX™ ExK TNA-3 kitinden bir adet Birimlere Ayrılmış Reaktif Şerit çıkarın. Tüm sıvıların tüplerin alt kısmında olduğundan ve BD MAX™ Sistemi numune raflarına yüklendiğinden emin olmak için her bir şeridi hafifçe sert bir yüzeye vurun.
- Gerekli sayıda BD MAX™ ExK™ TNA Ekstraksiyon Tüpü'nü (B4) (beyaz folyo) koruyucu poşetlerinden çıkarın. Ekstraksiyon Tüpünü/Tüplerini (beyaz folyo) TNA şeridindeki ilgili pozisyonlara yerleştirin (1. Yerleştirme pozisyonu, raftaki beyaz renkli kodlama. Şekil 1'e bakın). Fazla havayı çıkartın ve poşeti fermuar ile kapatın.
- Uygun sayıda VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) reaction tubes (yeşil veya 1G folyo) belirleyin ve ayırın ve şeritte karşılık gelen konumlarına yerleştirin (2. Yerleştirme pozisyonu, raftaki yeşil renkli kodlama. Şekil 1'e bakın).
 - Fazla havayı çıkartın ve alüminyum poşetleri fermuar ile kapatın.
 - Rehidrasyonu doğru şekilde gerçekleştirebilmek için, lütfen liyofilize ürünün tüpün dibinde olduğundan ve tüpün üst kısmına veya folyo kapamasına yapışmadığından emin olun. Tüm ürünün tüpün altında olduğundan emin olmak için her bir tüpü sert bir yüzeye hafifçe vurun.



- i. Not: "Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)" (Rehidrasyon Tamponlu Çift Master Karışımli Konsantre Liyofilize MM (Tip 5)) (Bölüm 8.3.1) formatını seçtiyseniz, uygun sayıda ilave VIASURE reaksiyon tüpünü (farklı folyo) belirleyin ve ayırın ve şeritteki konumlarına yerleştirin (4. Yerleştirme pozisyonu, raftaki mavi renkli kodlama. Şekil 1'e bakın). Fazla havayı çıkartın ve alüminyum poşetleri fermuar ile kapatın.
- 4) Gerekli sayıda Rehydration Buffer tubes (turuncu veya 11 folyo) çıkarın ve şeritteki konumlarına yerleştirin (3. Yerleştirme pozisyonu, raftaki renksiz kodlama. Şekil 1'e bakın). Fazla havayı çıkartın ve poşeti fermuar ile kapatın.
 - a. Aktarımı doğru şekilde gerçekleştirebilmek için, sıvının tüpün dibinde olduğundan ve tüpün üst kısmına veya folyo kapamasına yapışmadığından emin olun. Tüm tamponun tüpün altında olduğundan emin olmak için her tüpü sert bir yüzeye hafifçe vurun.

Şekil 1. BD MAX™ ExK TNA-3 kitindeki BD MAX™ TNA Reaktif Şerit (TNA).



8.3.3. BD MAX™ Cihaz kurulumu.

- 1) BD MAX™ Sistem yazılımı v4.50A veya daha üstü sürümünde "Run" (Çalıştır) ekranında "Work List" (İş Listesi) sekmesini seçin.
- 2) "Test" aşağı açılır menüsünde VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) ögesini seçin (daha önce oluşturulmadıysa, Bölüm 8.3.1'e bakın).
- 3) Aşağı açılır menüden uygun kit parti numarasını (kullanılan ekstraksiyon kitinin dış kutusunda bulunur) seçin (isteğe bağlı).
- 4) Barkod tarayıcı ile tarayarak veya elle girerek İş Listesinin (Worklist) Numune tüpü (Sample tube) penceresine Numune Tampon Tüpü kimlik numarasını girin.
- 5) İş Listesinin (Worklist) Numune/Hasta Kimliği ve/veya Erişim (Specimen/Patient ID and/or Accession) penceresini doldurun ve "Save" (Kaydet) düğmesine tıklayın. Tüm Örnek Tampon Tüpleri girilene kadar devam edin. Numune/hasta kimliğinin ve Numune Tampon Tüplerinin doğru şekilde eşleştiğinden emin olun.



- 6) Hazırlanan Numune Tampon Tüpünü BD MAX™ Raflarına yerleştirin.
- 7) Rafları BD MAX™ Sistemine yükleyin (A Rafı, BD MAX™ Sisteminin sol tarafında ve B Rafı sağ tarafta yer alır).
- 8) BD MAX™ Sistemine gerekli sayıda BD MAX™ PCR Cartridge(s) yerleştirin.
- 9) BD MAX™ Sisteminin kapağını kapatın.
- 10) Prosedüre başlamak için "Start Run" (Çalıştırmaya Başla) düğmesine tıklayın.

8.3.4 BD MAX™ raporu

- 1) Ana menüde "Results" (Sonuçlar) düğmesine tıklayın.
- 2) Ya listenizdeki çalıştır tuşuna çift tıklayın ya da "view button"a (görüntüle düğmesi) basın.
- 3) "Print" (Yazdır) ögesine tıklayın ve: "Run Details, Test Details and Plot..." (Çalıştırma Detayları, Test Detayları ve Çizit....) ögesini seçin.
- 4) "Run Reports" (Raporları Çalıştır) ekranında "Print or Export" (Yazdır veya Dışa Aktar) düğmesine tıklayın

9. Sonuçların yorumlanması

Verilerin nasıl analiz edileceğine dair ayrıntılı açıklama için, BD MAX™ Sistemi Kullanım Kılavuzuna bakın.

Verilerin analizi, üreticinin talimatlarına göre BD MAX™ yazılımı tarafından yapılır. BD MAX™ yazılımı, aşağıdaki şekilde test edilen her bir numunenin her bir tespit kanalı için Ct değerlerini ve amplifikasyon eğrilerini raporlar:

- 0'ın Ct değeri, belirtilen Eşik değerine sahip yazılım tarafından hesaplanan hiçbir Ct değerinin olmadığını gösterir (bkz. Tablo 2). "0" Ct değeri gösteren numunenin amplifikasyon eğrisi manuel olarak kontrol edilmelidir.

- -1'lik Ct değeri, amplifikasyon işleminin gerçekleşmediğini gösterir.

- Diğer herhangi bir Ct değeri, amplifikasyon eğrisi ile ilintili olarak ve Tablo 5'te verilen numune yorumlama kılavuzlarına göre yorumlanmalıdır.

Amplifikasyon karışımının doğru çalıştığını doğrulamak için Dahili Kontrol sinyalini kontrol edin. Ek olarak, herhangi bir BD MAX™ Sistem hatası raporu olup olmadığını kontrol edin.

Sonuçlar aşağıdaki tabloyu kullanarak okunmalı ve analiz edilmelidir:



SARS-CoV-2 (N2 hedef) (475/520)	Endojen Dahili kontrol (530/565)	SARS-CoV-2 (N1 hedef) (630/665)	Yorumlama
+	+/- ¹	+	SARS-CoV-2 N gene RNA Tespit ¹
+ ²	+/- ¹	-	SARS-CoV-2 N gene RNA Tespit ^{1,2}
-	+/- ¹	+ ²	SARS-CoV-2 N gene RNA Tespit ^{1,2}
-	+ ³	-	SARS-CoV-2 N gene RNA Tespit edilmedi ³
-	- ³	-	PCR reaksiyonunda inhibitörlerin olması ya da numune işleme ve/veya amplifikasyon adımlarında genel bir sorun (hata kodu ile rapor edilmemiş) meydana gelmesi durumunda Çözümlememiş (UNR) Sonuç elde edilir. ³
IND	IND	IND	Belirsiz tahlil sonucu (IND). BD MAX™ Sistem arızası nedeniyle. Bir hata koduna bağlı cihaz arızası durumunda gösterilen tahlil sonucu.
INC	INC	INC	Eksik tahlil sonucu (INC). BD MAX™ Sistem arızası nedeniyle. Çalışmanın tamamlanamaması durumunda gösterilen tahlil sonucu.

Tablo 5. Numunelerin yorumlanması

+: Amplifikasyon meydana geldi

-: Amplifikasyon meydana gelmedi

1 Elde edilen Ct değeri 40'tan küçükse, numune pozitif olarak kabul edilir. Endojen Dahili Kontrol (IC) bir amplifikasyon sinyali gösterebilir veya göstermeyebilir. Bazen, hedefin yüksek kopya sayısı, hedefe özel nükleik asitlerin tercihi amplifikasyonuna neden olabileceğinden, IC tespiti gerekli değildir.

2 N geninin yalnızca bir hedef bölgesi çoğalırsa, eğrinin sigmoid şeklini ve floresans yoğunluğunu doğrulayın. Şüpheli bir yorum durumunda, mevcut materyale bağlı olarak aşağıdakilerin yapılması da önerilir:

- aynı numuneden başka bir bölüntüyü yeniden ekstrakte edin ve tekrar test edin (mümkünse numune hacmini 750 µl'ye yükseltin) veya,
- yeni bir numune alın ve tekrar test edin.

3 SARS-CoV-2 hedef bölgelerinin negatif olması durumunda, IC, Ct'si 35'ten az olan bir amplifikasyon sinyali göstermelidir. Endojen Dahili Kontrol, orijinal numunedeki tüm çekirdekli insan hücrelerinde bulunması gereken bir insan housekeeping geni olduğundan Ct değeri çok değişken olabilir. Endojen Dahili Kontrolde sinyal yokluğu veya ≥ 35 Ct değeri varsa, sonuç 'Çözümlememiş' olarak kabul edilir ve yeniden test edilmesi gerekir.

Belirsiz sonucun devam etmesi durumunda, kullanma talimatlarının, kullanıcı tarafından kullanılan ekstraksiyon işleminin gözden geçirilmesi; her bir RT-qPCR adımının doğru performansının teyidi ve parametrelerin gözden geçirilmesi; ayrıca eğrinin sigmoid şeklinin ve flüoresans yoğunluğunun kontrol edilmesi önerilir.

Test sonuçları tıbbi geçmiş, klinik semptomlar ve diğer tanı testleri baz alınarak, bir sağlık uzmanı tarafından değerlendirilmelidir.



10. Testin kısıtlamaları

- Test sonuçları tıbbi geçmiş, klinik semptomlar ve diğer tanı testleri baz alınarak, bir sağlık uzmanı tarafından değerlendirilmelidir.
- Her ne kadar bu analiz diğer numune tipleriyle birlikte kullanılabilse de, VTM içinde toplanan nazofaringeal ve/veya orofaringeal swablar ile doğrulanmıştır.
- İyi bir test performansı için liyofilize ürün, tüpün altında olmalı ve tüpün üst alanına veya folyo kapamaya yapışmamalıdır. Tüm ürünün tüpün altında olduğundan emin olmak için her bir tüpü sert bir yüzeye hafifçe vurun.
- Reaksiyon karışımının, normalde tüpün altında, normalden farklı (konik şekil olmayan, homojen olmayan, boyut olarak daha küçük/daha büyük ve/veya beyazımsı renkten farklı) stabilize formatta görünümü, testin işlevini değiştirmez.
- Testin kalitesi numunenin kalitesine bağlıdır; solunum numunelerinden uygun şekilde ekstrakte edilmiş nükleik asitlerin varlığı önemlidir.
- Bu test kalitatif bir testtir ve kantitatif değerler sağlamaz veya mevcut organizma sayısını göstermez.
- Bu gibi durumlarda, tespit sınırının altında son derece düşük hedef seviyeleri tespit edilebilir, ancak sonuçlar tekrarlanamayabilir.
- Yüksek konsantrasyonlarda hedef RNA içeren SARS CoV-2 olan numunelerin çapraz kontaminasyon nedeniyle veya önceki reaksiyonlardan kalan PCR ürünleriyle kontaminasyon gibi sebepler yüzünden hatalı pozitif sonuçların ortaya çıkma olasılığı bulunmaktadır.
- VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System içinde kullanılan *N* geninin korunmuş bölgelerinin saptanmasına yönelik spesifik primer ve prob kombinasyonları, *N* geninin iki benzersiz bölgesini güçlendirerek SARS - CoV-2 spesifik tespiti için US CDC testi temel alınarak tasarlanmıştır. Öngörülebilir yalancı pozitif sonuç verebilecek insan genomu, insan mikroflorası, SARS-CoV veya diğer koronavirüslerle önemli birleşik homolojiler göstermezler.
- Yalancı Negatif sonuçlar, aşağıdakiler dahil çeşitli faktörlerden ve bunların kombinasyonlarından kaynaklanabilir:
 - Uygun olmayan örneklerin toplanması, taşınması, depolanması ve/veya muamele yöntemleri.
 - Uygun olmayan işleme prosedürleri (RNA ekstraksiyonu dahil).
 - Numunelerin taşınması/depolanması ve/veya işlenmesi sırasında viral RNA'nın bozulması.
 - Primer veya prob bağlama bölgelerindeki mutasyonlar veya polimorfizmler, yeni veya bilinmeyen SARS-CoV-2 varyantlarının tespitini etkileyebilir.
 - Numunede test için saptama sınırının altında viral yük.
 - RT-qPCR inhibitörlerinin veya diğer türden müdahale edici maddelerin varlığı. COVID-19'u önlemek için kullanılan veya enfeksiyonun tedavisi sırasında kullanılan aşıların, antiviral terapötik ajanların, antibiyotiklerin, kemoterapötik ajanların veya immünosüpresan ilaçların etkileri değerlendirilmemiştir.
 - Kullanım talimatlarına ve test prosedürüne uyulmaması.
- Tek hedefli bölge amplifikasyonu ve hatta rastgele pozitif sonuçlar, *N* geninin hedef bölgesinin biraz farklı amplifikasyon verimini düşündürür. Düşük viral yüke sahip örnekler, *N* tek hedef amplifikasyon ile sonuçlanabilir. Şüpheli durumda, daha ileri testler için bir referans laboratuvara başvurulması önerilir.



- Orijinal klinik numunedeki düşük insan hücre sayısı nedeniyle bazı numuneler *RNase P* amplifikasyon eğrilerini gösteremeyebilir. Negatif IC sinyali, klinik bir numunede SARS-CoV-2 RNA'sının varlığını dışlamaz.
- Pozitif test sonucu, mutlaka canlı virüslerin varlığını göstermez ve bu virüslerin bulaşıcı olduğu veya klinik semptomlara neden olan ajanlar olduğu anlamına gelmez. Ancak pozitif sonuç, hedef viral dizilerin (*N* gen) varlığının göstergesidir.
- Negatif sonuçlar SARS-CoV-2 enfeksiyonunu dışlamaz ve tedavi veya diğer hasta yönetimi kararları için yegane dayanak olarak kullanılmamalıdır. SARS-CoV-2'nin neden olduğu enfeksiyonlar sırasında tepe viral seviyeleri için optimum numune tipleri ve zamanlaması belirlenmemiştir. Virüsü tespit etmek için aynı hastadan birden fazla numune (tip ve zaman noktası) alınması gerekebilir.
- Diğer solunum yolu hastalıkları için tanısal testler negatifse ve hastanın klinik sunumu ve epidemiyolojik bilgileri SARS-CoV-2 enfeksiyonunun mümkün olduğunu gösteriyorsa, sonucun yalancı negatif olabileceği düşünülmeli ve hastanın yeniden test edilmesi tartışılmalıdır.
- VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System kullanılarak Çözümlememiş, Belirsiz veya Eksik sonuçların alınması durumunda, yeniden test yapılması gerekecektir. Çözümlememiş sonuçlar, numunede inhibitörlerin varlığından veya liyofilize edilmiş reaksiyon karışımı tüpünün yanlış rehidrasyonundan kaynaklanabilir. Bir cihaz arızası varsa, Belirsiz veya Eksik sonuçlar elde edilecektir.

11. Kalite kontrol

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, her reaksiyon tüpünde tekniğin doğru biçimde uygulandığını onaylayan endojen dahili bir kontrol (IC) içerir.

12. Performans özellikleri

12.1. Klinik duyarlılık ve özgüllük

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System'in klinik performansı, COVID-19 hastalığı veya diğer benzer solunum yolu hastalıkları şüphesi bulunan hastalardan alınan 254 solunum numunesi ile (Vircell Transport ortamındaki nazofaringeal swablar) test edilmiştir. VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System ile retrospektif karşılaştırmalı analiz gerçekleştirildi ve bu sonuçlar, Simplexa™ COVID-19 Direct testi ile alınan sonuçlarla karşılaştırıldı; tutarsızlık analizi ise Charité protokolü ile yapıldı.

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	Alternatif RT-PCR testleri		
		+	-
	+	63	2*
	-	0	189
	Toplam	63	191

Tablo 6. SARS-CoV-2 için karşılaştırmalı sonuçlar.

* İki örnekten birinin ilk teşhisi geçersizdi ve hastaya önleme ve karantina süresi için pozitif olarak bildirildi.



VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, Simplexa™ COVID-19 Direct testi ve Charité protokolü kullanılarak belirlenmeyen iki pozitif örnek saptadı.

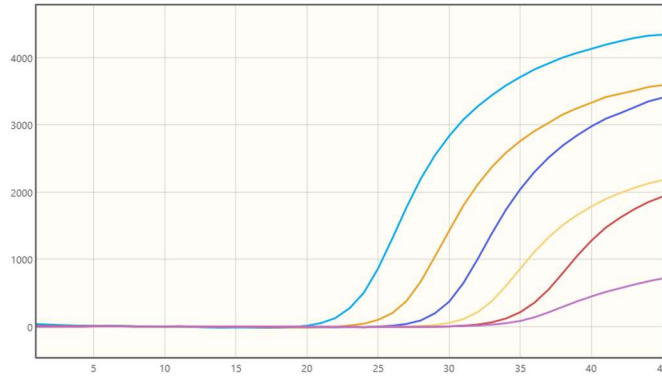
VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System için Pozitif Yüzde Anlaşma (PPA) ve Negatif Yüzde Anlaşma (NPA) sırasıyla > %99 ve %98'dir.

Sonuçlar, VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System kullanılarak SARS-CoV-2'yi tespit etmede yüksek anlaşmayı göstermektedir.

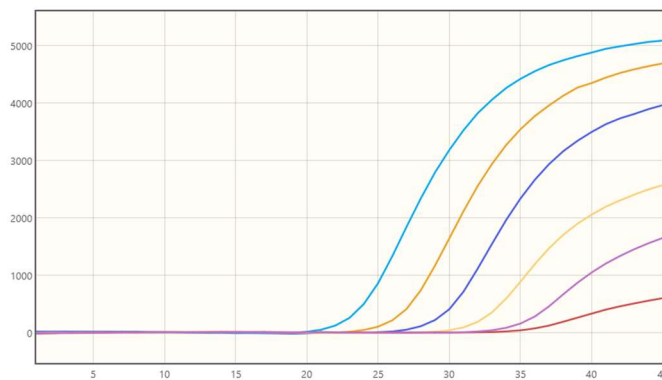
12.2. Analitik hassasiyet

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, $\geq$ %95 pozitif oranla reaksiyon başına ≥ 5 genom kopya tespit limitine sahiptir.

Şekil 2. SARS-CoV-2 (N1 + N2) dilüsyon serisi (reaksiyon başına 9.9×10^4 - 9.9×10^0 ve 5.0×10^0 genom kopyası) şablonu BD MAX™ Sistemi(475/520 (FAM) kanalı) üzerinde çalışır.



Şekil 3. SARS-CoV-2 (N1 + N2) dilüsyon serisi (reaksiyon başına 9.9×10^4 - 9.9×10^0 ve 5.0×10^0 genom kopyası) şablonu BD MAX™ Sistemi (630/665 (Cy5) kanalı) üzerinde çalışır.



12.3. Analitik özgüllük

SARS-CoV-2 (N1 + N2) testinin özgüllüğü, en yaygın solunum patojenlerini temsil eden farklı mikroorganizmalardan oluşan bir panel test edilerek doğrulanmıştır. Test edilen aşağıdaki mikroorganizmaların hiçbirinde çapraz reaktivite tespit edilmemiştir:



Çapraz reaktivite testi					
İnsan Adenovirus tipleri 1-5, 8, 15, 31, 40 ve 41	-	Influenza A/New Caledonia/20/99(H1N1) virüsü	-	<i>Legionella longbeachae</i>	-
İnsan Bocavirus	-	Influenza A/California/7/2009(H1N1)pdm09 virüsü	-	<i>Legionella micdadei</i>	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	-	Influenza A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09 virüsü	-	<i>Legionella pneumophila</i>	-
<i>Bordetella holmesii</i>	-	Influenza A/Singapore/GP1908/2015, IVR-180 (H1N1)pdm09 virüsü	-	İnsan metapnömonovirüs A ve B	-
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	Influenza A/Victoria/210/2009 (H3N2) virüsü	-	<i>Moraxella catarrhalis</i>	-
<i>Bordetella pertussis</i>	-	Influenza A/Thüringen/5/2017 (H3N2) virüsü	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
<i>Chlamydia caviae</i>	-	Influenza A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2) virüsü	-	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> rifampine dirençli değil	-
<i>Chlamydia psittaci</i> genotip A ve C	-	Influenza A/Hong Kong/4801/2014, NYMC X-263B (H3N2) virüsü	-	İnsan parainfluenza 1, 2, 3 ve 4 virüsleri	-
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> CM-1	-	Influenza A/ South Australia/55/2014, IVR-175 (H3N2) virüsü	-	<i>Pneumocytis jirovecii</i> Tip A1 ve g885652	-
İnsan koronavirüs 229E, OC43, NL63 ve HKU1	-	Influenza A/DE-SH/Reihenente/AR8444/ 2016 (H5N8) virüsü	-	İnsan rinovirus tip C	-
MERS Koronavirüs	-	Influenza A/Anhui/1/2013 (H7N9) virüsü	-	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	-
SARS Koronavirüs Suş Frankfurt 1	-	Influenza B/Brisbane/60/2008 virüs	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Enterovirüs 68 ve 71	-	Influenza B/Florida/04/06 virüs	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i> Z022	-
Enterovirüs Echovirüs 11 ve 30	-	Influenza B/Phuket/3073/2013 virüs	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Enterovirüs Coxsackievirus A24, A9 ve B3	-	<i>Legionella bozemanii</i>	-	<i>Streptococcus salivarius</i>	-
<i>Haemophilus influenzae</i> MinnA	-	<i>Legionella dumoffii</i>	-	Respiratuvar sinsityal virüs (RSV) A ve B	-

Tablo 7. Bu çalışmada kullanılan referans patojenik mikroorganizmalar.

12.4. Analitik reaktivite

VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System'in reaktivitesi, İnsan 2019-nCoV suşu BetaCoV/Germany/BavPat1/2020 p.1, İnsan 2019-nCoV suşu 2019-nCoV/Italy-INMI1, SARS-CoV-2 suşu 2019nCoV/USA-WA1/2020 virüsünün iki varyantı için sentetik RNA kontrollerine karşı değerlendirildi: MT007544.1 (SARS-CoV2 izolat Australia/VIC01/2020) ve MN908947.3 (SARS-CoV-2 izolat Wuhan-Hu-1), olumlu sonuç gösteriyor.



13. Bibliography/ Bibliyografya

- Huang, C. *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 2020. DOI : 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
- Zhu N. *et al.* A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine.*, 2020. DOI : 10.1056/NEJMoa2001017.
- World Health Organization. MERS situation update. January 2020. Available from <https://applications.emro.who.int/docs/EMCSR254E.pdf?ua=1> Accessed September 2020.
- Chen N. *et al.* Epidemiological and Clinical Characteristics of 99 Cases of 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Pneumonia in Wuhan, China. *The Lancet*, 2020. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
- Lv D.F. *et al.* Dynamic change process of target genes by RT-PCR testing of SARS-Cov-2 during the course of a Coronavirus Disease 2019 patient. *Clinica Chimica Acta* 2020; 506: 172-175.
- World Health Organization. Clinical management of COVID-19 disease" Interim guidance 27 May 2020. Available from <https://www.who.int/publications/i/item/clinical-management-of-covid-19> Accessed September 2020.
- Lu R. *et al.* Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*, 2020. DOI : 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
- Rothe C. *et al.* Transmission of 2019-nCoV Infection from an Asymptomatic Contact in Germany. *New England Journal of Medicine*, 2020. DOI : 10.1056/NEJMc2001468.
- Centers of Disease Control and Prevention (CDC). Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), Symptoms of Coronavirus. Available from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/about/symptoms.html> Accessed September 2020.
- Centers of Disease Control and Prevention (CDC). Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), Older Adults. Available from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/need-extra-precautions/older-adults.html> Accessed September 2020.
- World Health Organization. Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases. Interim guidance. 19 March 2020. Available from <https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117> Accessed September 2020.
- Yan Y *et al.* Laboratory testing of SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2 (2019-nCoV): Current status, challenges, and countermeasures. *Reviews in Medical Virology* 2020; 30(3):e2106.
- Centers of Disease Control and Prevention (CDC). 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-time rRT-PCR Panel Primers and Probes. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/downloads/rt-pcr-panel-primer-probes.pdf> Accessed September 2020.
- Chu D.K.W. *et al.* Molecular Diagnosis of a Novel Coronavirus (2019-nCoV) Causing an Outbreak of Pneumonia. *Clinical Chemistry* 2020;66(4): 549-555.
- Corman V.M. *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *European communicable disease bulletin* 2020;25(3).
- European Centre for Disease Prevention and Control. Novel coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: increased transmission in the EU/EEA and the UK – sixth update – 12 March 2020. Stockholm: ECDC; 2020. Available from <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/RRA-sixth-update-Outbreak-of-novel-coronavirus-disease-2019-COVID-19.pdf> Accessed September 2020.



- Lim, Y. X., Ng, Y. L., Tam, J. P., & Liu, D. X. (2016). Human coronaviruses: a review of virus–host interactions. *Diseases*, 4(3), 26.
- McBride R. *et al.* The coronavirus nucleocapsid is a multifunctional protein. *Viruses* 2014; 6(8):2991-3018.
- Sheikh A. *et al.* Analysis of preferred codon usage in the coronavirus N genes and their implications for genome evolution and vaccine design. *Journal of Virological Methods* 2020; 277:113806.
- World Health Organization. Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19: interim guidance Interim guidance. 21 March 2020. Available from <https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-testing-strategy-recommendations-for-covid-19-interim-guidance> Accessed September 2020.

14. Symbols for IVD components and reagents/ IVD bileşenlerinin ve reaktiflerin sembolleri

	In vitro diagnostic device In vitro tanı cihazı		Keep dry Kuru halde tutun		Use by Son kullanma tarihi		Manufacturer Üretici		Batch code (Lot) Parti kodu (Lot)
	Consult Instructions for Use Kullanım Talimatlarına Bakın		Temperature limitation Sıcaklık sınırlaması		Contains sufficient for <n> test <n> testi için yeterli içerik	DIL	Sample diluent Numune dilüsyonu		Catalognumber Katalog numarası

BD MAX™ is a registered trademark of Becton, Dickinson and Company.









CerTest Biotec, S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II · Calle J, Nº1
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spain)
www.cerTEST.es



VIASURE online

F-362 rev01

VIASURE



CE

IVD



Real Time PCR Detection Kits

CerTest
BIOTEC