

ÖZET

Yeni koronavirüs/şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs-2'nin neden olduğu Coronavirus hastalığı-2019 veya COVID-19 (SARS-CoV-2 veya 2019-nCoV), küresel etkileri ile ortaya çıkan, hızlı ve güvenilir tanı testleri gerektiren ve günümüzde devam eden bir pandemidir. Kantitatif ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu (q-RT-PCR), SARS-CoV-2 tespitleri için altın standart yöntemdir. Öte yandan, yeni yaklaşımalar tanı güçlüklerini yavaş yavaş gidermektedir. Bu yeni yaklaşılardan biri olarak ters transkripsiyon döngüsü aracılı izotermal amplifikasyon (RT-LAMP) tekniği ile daha hızlı ve ucuz testlere katkıda bulunabilir. Bu çalışma, 30-45 dakikada sonuç verebilen hızlı tarama tanı testini değerlendirmek ve RT-LAMP'nin etkinliğini q-RT-PCR ile karşılaştırmak için tasarlanmıştır. Rastgele seçilen 30 pozitif hasta numunesi, SARS-CoV-2 nükleik dizisinin bir kısmı ile nazofaringeal sürüntülerle oluşturulmuştur. Kantifikasiyon döngüsü (Ct) değerleri örneği, RT-LAMP ve ayrıca geleneksel q-RT-PCR kullanılarak test edildi. Hasta numuneleri dört farklı kit (SENSObiz COVID-19 [SARS-CoV-2] RT-LAMP Assay kiti, QIAprep & Viral RNA UM kiti, Biospeedy SARS-CoV-2 Variant Plus kiti ve CoVirion-CV19-2 SARS-CoV-2 OneStep RT-PCR kiti) ve iki farklı PCR cihazı (GDS Rotor-Gene Q Thermocycler PCR cihazı ve İnovia Technologies GenX series PCR cihazı) ile test edildi. Pozitif/Negatif (P/N) oranı rastgele seçilen 30 pozitif hasta numunesine dayalı olarak ilk gün yapılan deneylerde; İnovia cihazında çalışılan numuneler için Biospeedy kiti ve Covirion kiti %100 (30/0) pozitifliği yakalarken, Qiagen Kiti ile %93,3 (28/2) pozitiflik yakalamıştır. Rotor-Gene cihazında ise Biospeedy kiti ve Covirion kiti %100 (30/0) pozitifliği yakalarken, Qiagen Kiti ile %96,7 (29/1) pozitiflik yakalamıştır. Aynı örnekler üzerinde beşinci günde yapılan deneylerde ise İnovia cihazında Biospeedy kiti %90 (27/3), Covirion kiti %93,3 (28/2), Qiagen kiti %53,3 (16/14) oranında pozitiflik yakalamıştır. Bu örnekler beşinci günde Rotor-Gene cihazında incelendiğinde ise Biospeedy kiti ve Covirion kiti %96,7 (29/1), Qiagen kiti %63,3 (19/11) oranında pozitiflik yakalamıştır. Aynı örnekler RT-LAMP yöntemi ile karşılaştırıldığında ilk gün %63,3 (19/11) pozitiflik elde edilirken beşinci günde ise %60 (18/12) pozitiflik bulundu. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ile SARS-CoV-2 test çalışmaları RT-LAMP teknigi ile hızlı teşhis sistemlerinin geliştirilmesine yönelik proaktif bir yaklaşımı katkı sağlayacaktır.

ABSTRACT

The novel coronavirus called severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2 or 2019-nCoV) causes the Coronavirus disease 2019 or COVID-19 an ongoing pandemic that has risen globally. For the reliable and rapid diagnosis, quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (q-RT-PCR) has been chosen as a gold standard method. However, new approaches remedy the diagnosis difficulties step by step. The reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-RT-LAMP) is one of them and contributes to faster, effective, and cheaper field-based testing. In the presented thesis, the RT-LAMP technique, which is effective and can give the results in 30–45 min, is compared with q-RT-PCR. The nasopharyngeal swabs of 30 randomly chosen patients' were analyzed and quantification cycle (C_t) values were evaluated using RT-RT-LAMP as well as by conventional q-RT-PCR. The four different kits were utilized to test the patients' samples as; (SENSObiz COVID-19 [SARS-CoV-2] RT-LAMP Assay, the QIAprep & Viral RNA UM kit, Biospeedy SARS-CoV-2 Variant Plus kit, and CoVirion-CV19-2 SARS-CoV-2 OneStep RT-PCR kit) and two different PCR devices (GDS Rotor-Gene Q Thermocycler and Inovia Technologies GenX series). Based on 30 patient samples, the Positif/Negatif ratio (P/N) was 30/0 as Biospeedy and Covirion (positivity 100%), 28/2 as Qiagen kit (positivity 93.3%) for the samples studied on the Inovia device while the same samples on the Rotor-Gene device were 30/0 as Biospeedy and Covirion (positivity 100%), 29/1 as Qiagen kit at the first day (96.7%). On the fifth day, the samples were analyzed in the Inovia device and the respective results were obtained as; 27/3 as Biospeedy (positivity 90%), 16/14 as Qiagen (positivity 53.3%), 28/2 as Covirion kit (positivity 93.3%). When these samples were studied in the Rotor-Gene device, it was 29/1 in Biospeedy and Covirion (positivity 96.7%), 19/11 in the Qiagen kit (positivity 63.3%). When these samples were compared with the RT-LAMP method it was found to be 19/11 (positivity 63.3%) on the first day and 18/12 (positivity 60%) on the fifth day. With this thesis data, new proactive approaches will be generated to develop rapid diagnosis systems. Furthermore, RT-LAMP will be one of the novel methods that will present promising results to monitor exposed individuals and contributes to screening efforts in potential ports of entry.