

Kat No: BS-GE-MX24S-100

Gastroenterit RT-qPCR MX-24S Panel



Kullanım Talimatı

100 Test

1. Kit İçeriği

Raf ömrü: 12 ay; kutunun üzerindeki son kullanma tarihine bakınız. Depolama sıcaklığında saklanan her bir reaktif, üzerinde belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir. Kitin son kullanma tarihi reaktiflerin son kullanma tarihine göre belirlenmektedir.

Tablo 1a. Kit içeriği

Saklama Sıcaklığı: -20°C, Taşıma Sıcaklığı: 2-8°C					
Bileşen	Miktar (100 Test)	İçerik/Kullanım Amacı			
2X Prime Script Mix	140 Tüp x 90 µL	DNA polimeraz, dNTP Mix, reaksiyon tamponu, ters transkriptaz ve ribonükleaz inhibitörü (Her örnek/strip için 1 tüp)			
GE Strip	120 Adet		A: SAPO Oligo Mix	FAM	Sapovirus (GI/ GII/ GIV/ GV)
				HEX	Dahili Kontrol (IC); insan <i>RnaseP</i>
				ROX	-
				CY5	-
			B: GCE Oligo Mix	FAM	<i>Giardia lamblia</i>
				HEX	-
				ROX	<i>Entamoeba histolytica</i>
				CY5	<i>Cryptosporidium spp.</i>
			C: YPC Oligo Mix	FAM	<i>Yersinia enterocolitica</i>
				HEX	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
				ROX	-
				CY5	<i>Cyclospora cayetanensis</i>
			D: ANRA Oligo Mix	FAM	Astrovirus
				HEX	Norovirus (GI/ GII)
				ROX	Rotavirus (A)
				CY5	Adenovirus
			E: CVVS Oligo Mix	FAM	<i>Salmonella spp.</i>
				HEX	<i>Campylobacter spp.</i>
				ROX	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
				CY5	<i>Vibrio cholerae</i>
			F: ET1 Oligo Mix	FAM	<i>Shigella</i> / Enteroinvasive <i>E. coli</i> (EIEC)
				HEX	-
				ROX	Enteraggregative <i>E. coli</i> (EAEC)
				CY5	Shiga toxin producing <i>E. coli</i> (STEC)
			G: ET2 Oligo Mix	FAM	Enteropathogenic <i>E. coli</i> (EPEC)
				HEX	-
				ROX	-
				CY5	Enterotoxigenic <i>E. coli</i> (ETEC)
			H: CTX Oligo Mix	FAM	<i>Clostridium difficile</i> toxin B
				HEX	-
				ROX	<i>Clostridium difficile</i> toxin A
				CY5	<i>Clostridium difficile</i> Binary toxin A/B

Saklama Sıcaklığı: -20°C, Taşıma Sıcaklığı: 2-8°C			
NTC	2 x 1000 µL	Negatif Kontrol (Nükleaz İçermeyen Su) (Kontaminasyon kontrolü amacıyla, her işletimde test ediniz.)	
PC-GE Strip	20 Adet	Strip	İçerik (Reaktif stabilite kontrolü için, her işletimde test ediniz.)
		PC-GE ●	
		A	A: Pozitif Kontrol + SAPO Oligo Mix
		B	B: Pozitif Kontrol + GCE Oligo Mix
		C	C: Pozitif Kontrol + YPC Oligo Mix
		D	D: Pozitif Kontrol + ANRA Oligo Mix
		E	E: Pozitif Kontrol + CVVS Oligo Mix
		F	F: Pozitif Kontrol + ET1 Oligo Mix
		G	G: Pozitif Kontrol + ET2 Oligo Mix
H	H: Pozitif Kontrol + CTX Oligo Mix		

Tablo 1c. Kullanıcı tarafından sağlanacak olan cihaz ve ekipmanlar

Kullanıcı tarafından sağlanacak olan cihaz ve ekipmanlar	
1. Real-Time PCR Cihazı: 4 kanallı, Ramp rate ≥ 3 °C/sec. 2. 1-10 µL mikropipet ve uyumlu pipet ucu (DNaz ve Rnaz içermeyen) 3. Spin Santrifüj: min.3000 rpm (8'li strip ve 2 mL mikrosantrifüj tüpü ile uyumlu) 4. Vorteks	Kullanılması önerilen ekstra ekipmanlar: 5. PCR kurulumu için UV kabini 6. Soğuk Tüp standı (mikrosantrifüj tüpleri ve PCR tüp/stripleri için) 7. Tek kullanımlık, pudrasız, nitril eldiven.

2. Kitin Kullanım Amacı ve Test Prensipli

Akut gastroenterit, patojenik mikroorganizmaların veya bunların toksinleri ile kontamine yiyecek veya suların tüketilmesi ile ortaya çıkan ve işhal, bulantı, kusma, ateş ve karın ağrısı gibi semptomlarla karakterize bir hastalık durumudur. Gastroenterit, çocuklarda ve yaşlılarda yüksek morbidite ve mortalite oranları ile en sık görülen sağlık sorunlarından bir tanesidir. Bundan dolayı da uygun tedavinin hızlı bir şekilde uygulanabilmesi için etkenin hızlı ve doğru bir şekilde teşhis edilmesi gerekmektedir. "Bio-Speedy® Gastroenterit RT-qPCR MX-24S Panel" Tablo 1a'da verilen viral, bakteriyel ve parazitik etkenlerin klinik örneklerde hızlı ve doğru tanısı amacıyla kullanılmaktadır. Kit, dışkı ve rektal sürüntü numunelerinden elde edilen nükleik asit izolatlarına uygulanmaktadır. Kit ile hızlı tanı, hedef etkene özgü genomik RNA ve DNA bölgelerini hedefleyen tek adımda ters transkripsiyon (RT) ve gerçek zamanlı PCR (qPCR) (RT-qPCR) ile gerçekleştirilmektedir. Kit ile tanı 45 dakikadan kısa bir sürede gerçekleştirilebilmektedir. İnsan RNase P oligo seti, mRNA'daki ekzon-ekzon birleşimini hedefleyip insan genomunu hedeflememektedir. Bu nedenle örneklem, RNA stabilitesi, nükleik asit ekstraksiyonu ve hem qPCR hem de ters transkripsiyonun inhibisyonunu kontrol etmek için kullanılır.

"Bio-Speedy® Gastroenterit RT-qPCR MX-24S Panel" kiti "RINA™ M14 Nükleik Asit Ekstraksiyon Robotu (RINA-M14-01)" ve "RINA™ Robotik Nükleik Asit Ekstraksiyon Kiti (Kat #: RN-NA-101)" ile valide edilmiştir.

3. Kitin Analitik Özellikleri

"Bio-Speedy® Gastroenterit RT-qPCR MX-24S Panel", Bio-Rad CFX96 Touch™ Real Time PCR Sistemi ile 20 µL qPCR hacim için valide edilmiştir. Tablo 1a'da verilen etkenlerin referans suşları ve saha izolatları üzerinde yapılan analitik spesifikite çalışmalarında herhangi bir çapraz reaksiyon gözlenmemiştir. Kitin içerdiği oligonükleotid setlerinin tespit limiti (LoD), dahil edicilik ve dışlayıcılık çalışmaları T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanlığı (HSGM) tarafından gerçekleştirilmiştir. 1144 adet farklı klinik örnek ile testin analitik duyarlılığı %98,93 ve özgüllüğü %99,13 olarak belirlenmiştir. Kitin HSGM tarafından belirlenen LoD değerleri Sapovirus için 98 kopya/mL, Giardia lamblia için 92 kopya/mL, Entamoeba histolytica için 58 kopya/mL, Cryptosporidium spp için 67 kopya/mL, Astrovirus için 46 kopya/mL, Norovirus için 31 kopya/mL, Rotavirus için 24 kopya/mL, Adenovirus için 62 kopya/mL, Yersinia enterocolitica için 74 kopya/mL, Plesiomonas shigelloides için 62 kopya/mL for, Cyclospora cayetanensis için 67 kopya/mL, Salmonella spp. için 24 kopya/mL, Campylobacter spp. için 31 kopya/mL, Vibrio parahaemolyticus için 28 kopya/mL, Vibrio cholera için 63 kopya/mL, Shigella/Enteroinvasive E. coli için 66 kopya/mL, Enteroaggregative E. coli için 54 kopya/mL, Shiga toxin producing E. coli için 54 kopya/mL, Enteropathogenic E.

Sadece in vitro diagnostik kullanım içindir.

Sadece laboratuvarlarda profesyonel kullanım içindir.

coli için 74 kopya/mL, Enterotoxigenic E. coli için 83 kopya/mL, Clostridium difficile toxin A için 52 kopya/mL for, Clostridium difficile toxin B için 68 kopya/mL, Clostridium difficile Binary toxin A/B için 38 kopya/mL olarak belirlenmiştir. Kit, gerçek zamanlı (RT-qPCR) PCR cihazına özgü reaksiyon tüpleriyle doğrulanmıştır. Örneğin, Bio-Rad CFX 96 cihazında şeffaf striplerin, beyaz striplere kıyasla en az 10 kat daha düşük floresans sinyali verdiği tespit edilmiştir.

4. Nükleik Asit Ekstraktlarının Toplanması, Saklanması ve Transferi

Klinik dışı örnekleri, 1-5 ml'lik steril ve sızdırmaz vida kapaklı bir kaba aktarılır. Kabin içinde koruyucu sıvı olması gerekli değildir. Klinik rektal sürüntü örnekleri ise eğer sürüntü 2 saat içinde işlenecekse, vida kapaklı steril boş bir tüpe aktarılır. Örneklerin 2 saatten daha uzun süreli saklanması gerekiyor ise örnekler taşıma besiyerine alınmalıdır. Nükleik asitler, üreticinin talimatlarına göre robotik sistemler (**RINA™ M14 Nükleik Asit Ekstraksiyon Sistemi, Robot Kat No: RINA-M14-01, Sarf Malzemeleri Kat No: RN-NA-101**) kullanılarak ekstrakte edilirler. Numuneler laboratuvara en geç 2 gün içerisinde ve 2-8 °C'de saklanarak taşınmalıdır. Numunelerden ekstrakte edilen nükleik asitler -70°C'de dondurulmalı ve kuru buz ile nakledilmelidirler.

5. Uyarılar

1. Kiti nükleik asit kaynaklarından ve qPCR ampikonlarından uzakta saklayınız.
2. Kit bileşenlerini farklı lot numaralarıyla veya aynı adı taşıyan ancak farklı üreticilere ait kimyasallarla karıştırmayınız.
3. Ana stok reaktiflerini PCR kurulumu sırasında soğuk blokta tutunuz.
4. Mümkünse, PCR'yi soğuk blokta kurunuz.
5. Kullanmadan önce kit bileşenlerini yavaşça karıştırınız.
6. qPCR karışımlarını ve template nükleik asitleri pipetlemek için ayrı mikropipetler kullanınız.
7. Sıvı transferleri dışında template nükleik asit ve pozitif kontrol tüplerini her zaman kapalı tutunuz.
8. Testin yapıldığı oda, tezgâh ve cihazların silinebilir yüzeylerini %10 NaClO ile düzenli olarak temizleyiniz.
9. qPCR'ı tamamlanmış reaksiyon tüplerini laboratuvarda açmadan uzaklaştırınız.

6. RT-qPCR Uygulama Protokolü

Reaksiyon kurulumunu Tablo 2'de belirttiği gibi gerçekleştiriniz ve qPCR aletini Tablo 3'e göre programlayınız. qPCR tüplerini kapatınız, qPCR cihazına yerleştiriniz ve çalışmayı başlatınız.

Tablo 2. Reaksiyon Kurulumu

Reaksiyon Tipi	Kullanılacak Strip	1 adet 2X Prime Script Mix tüpünün içerisine aşağıda verilen miktarlarda örnek eklenir, pipetajla karıştırılır, sağ kolonda verilen miktarda strip kuyularına dağıtılır		8 strip kuyusuna dağıtılacak miktar
Hasta Numunesi	GE Her hasta için 1 strip	2X Prime Script Mix	90 µL	15 µL
		Hasta örneği nükleik asit ekstraktı	45 µL	
		Toplam	135 µL	
Negatif Kontrol (NTC)	GE Her işletim için 1 strip	2X Prime Script Mix	90 µL	15 µL
		NTC	45 µL	
		Toplam	135 µL	
Pozitif Kontrol (PC)	PC-GE Her işletim için 1 strip	2X Prime Script Mix	90 µL	10 µL

Tablo 3. Real-Time PCR Programı; Reaksiyon hacmini 20 µL olarak ayarlayınız

Ters Transkripsiyon 1 Döngü	Ön inkübasyon- 1 döngü	Çoğalma-40 döngü		
		Denatürasyon	Bağlanma ve Uzama	Floresan Okuma
52°C-5 dk	95°C-10 sn	95°C-1 sn	55°C-10 sn	FAM/HEX/ROX/CYS

7. Test Sonuçlarının Yorumlanması

Threshold döngü sayısını (Cq) hesaplamak için önerilen threshold seviyesi CFX96 Touch™ cihazı için 200 RFU'dur.

Amplifikasyon eğrilerinin şekli incelenmelidir. Cihazın yazılımı tarafından bir numuneye bir Cq değeri atanmışsa ve eğri sigmoidal ise, Cq değeri son değerlendirmede kullanılabilir. **Sigmoidal olmayan eğriler negatif olarak kaydedilmelidir.** Bir numuneye bir Cq değeri atanmışsa, ancak eğri sigmoidal değilse, **sonuç negatif olarak kaydedilmelidir.**

Hedeflerin kanalında eşğin altında şüpheli bir sigmoidal eğri paternine sahip numuneler için IC'nin Cq değeri incelenmelidir. IC Cq≤34 ise, numune negatif olarak rapor edilmelidir. Cq>34 ise, numune dondurulup çözüldükten sonra test tekrarlanmalıdır. Dondur- çözdür sonra problem devam ederse yeni bir numune istenmelidir.



UYARI: QR kod ile bağlantısı verilen web sayfasında, farklı cihaz tipleri için, sigmoidal ve sigmoidal olmayan eğri örnekleri verilmiştir. Bu örnekler incelenmeden, bu kit ile elde edilen sonuçlar **KESİNLİKLE** yorumlanmamalıdır.

Tablo 4. Kit kontrollerinin beklenen performansı

Kontrol Türü	İsmi	Kontrol Amacı	Beklenen Sonuç	
NTC eklenmesi	NTC	Kontaminasyon kontrol	Cq Yok = Geçerli	
Template ekleme yok	NRC	Reaktif kontaminasyon kontrol	Cq Yok = Geçerli	
PC eklenmesi	PC	Pozitif reaktif kontrol	Cq≤38.0 = Geçerli	
İnsan mRNA*	IC	Örneklem, RNA bütünlüğü, nükleik asit ekstraksiyonu, ve ters transkripsiyon ve qPCR inhibisyonu kontrolü	Cq≤34.0 = Geçerli	IC Cq >34.0, ise fakat hedef Cq≤38.0 ise, IC geçerli

* **İnternal kontrolün bulunduğu multipleks reaksiyonda herhangi bir etken pozitif çıktığında internal kontrol (IC) negatif çıksa dahi hedef pozitif olarak yorumlanır. İnternal kontrolün bulunduğu multipleks reaksiyonda herhangi bir etken pozitif değil ise internal control (IC) pozitif sonuç vermemelidir.**

Herhangi bir kontrol yukarıda açıklandığı gibi çalışmazsa, çalışma geçersiz sayılır ve test tekrarlanır.

- Geçersiz PC: Üretici ile iletişime geçiniz, reaktifleri yenileyiniz ve reaksiyonu tekrarlayınız.
- Geçersiz NRC: Üretici ile iletişime geçiniz, reaktifleri yenileyiniz ve reaksiyonu tekrarlayınız.
- Geçersiz NTC: "Uyarılar" bölümüne dikkat ederek analizi tekrarlayınız.
- Geçersiz IC: Analizi tekrarlayınız. Sorun devam ederse, PCR template'i geçersiz olarak kabul ediniz.

Tüm kontroller geçerliyse, sonuçların yorumlanmasına geçiniz.

- Gen hedeflerinin Cq değeri ≤38 ise, **pozitif** olarak sonuçlandırınız.
- Gen hedeflerinin Cq değeri >38 ise, **negatif** olarak sonuçlandırınız.

8. Sınırlamalar

- Bio-Speedy® Gastroenterit RT-qPCR MX-24S Panel performansı dışı ve rektal sürüntü örneklerinde belirlenmiştir.
- Kitin hedef bölgelerindeki mutasyonlar, primer ve/veya prob bağlanmasını etkileyebilir ve virüsün, bakterinin ve parazitin varlığının tespit edilememesine neden olabilir.
- Numune toplanması, taşınması veya işlenmesi sırasında yapılan hatalar, yanlış negatif sonuçlara yol açabilir.
- İnhibitörler veya diğer enterferans etkenler yanlış negatif sonuç alınmasına neden olabilir. Numunedeki yetersiz sayıda hedef organizma bulunduğu durumlarda da yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilir.

9. Sembollerin Açıklaması

Sembol	Anlam	Sembol	Anlam	Sembol	Anlam
	Avrupa Uygunluğu CE işareti		In Vitro Teşhis Kullanımı için		Güneş ışığından uzak tutun
	Üretici		Lot numarası		Su/ Nem uzak tutun
	Son Kullanım Tarihi YYYY-AA		Katalog Numarası		Kırılabilir dikkatli taşıyınız
	Sıcaklık sınırı (Saklama sıcaklığı)		Steril değil		Dik tutun
	Negatif Kontrol		Dikkat		Sıcaktan ve Radyoaktivite kaynaklarından uzak tutun
	Pozitif Kontrol		Kullanım Talimatlarına bakın veya elektronik kullanım talimatlarına bakın		Paket zarar gördüyse kullanmayın ve üretici ile iletişime geçin

10. Üretici ve Teknik Destek



Bioeksen AR-GE Teknolojileri Anonim Şirketi
Adres: Reşitpaşa Mh., Katar Cd., 4/B-105, 34469, Sarıyer, İstanbul, TÜRKİYE
Tel: +90 (212) 285 10 17, Faks: +90 (212) 285 10 18
Web: www.bioeksen.com.tr, E-posta: info@bioeksen.com.tr

Teknik destek: support@bioeksen.com.tr

Kullanıcıya Bildirim: Ürün ile ilişkili olumsuz olayları 24 saat içerisinde "vigilance@bioeksen.com.tr" adresinden tarafımıza iletiniz.

TÜM HAKKI SAKLIDIR

*Sadece in vitro diagnostik kullanım içindir.
Sadece laboratuvarlarda profesyonel kullanım içindir.*

bioeksen