

Kat No: BS-SY-MX24S-100

Solunum Yolu 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 için 1 tüp) | | | |
| SY Strip | 120 Adet | | A: COVID/Flu Oligo Mix | FAM | SARS-CoV-2 (Nükleokapsid geni) |
| | | | | HEX | İnternal Kontrol (İnsan <i>Rnase P</i> geni) |
| | | | | ROX | İnfluenza B |
| | | | | CY5 | İnfluenza A |
| | | | B: COR Oligo Mix | FAM | İnsan Corona 229E |
| | | | | HEX | İnsan Corona OC43 |
| | | | | ROX | İnsan Corona NL63 |
| | | | | CY5 | İnsan Corona HKU1 |
| | | | C: PAR Oligo Mix | FAM | Parainfluenza 1 |
| | | | | HEX | Parainfluenza 2 |
| | | | | ROX | Parainfluenza 3 |
| | | | | CY5 | Parainfluenza 4 |
| | | | D: MEA Oligo Mix | FAM | İnsan Metapneumovirüs (MPV) |
| | | | | HEX | Enterovirüs (HEV) |
| | | | | ROX | |
| | | | E: BPR Oligo Mix | CY5 | Adenovirüs (AV) |
| | | | | FAM | İnsan Bocavirüs (BoV) |
| | | | | HEX | |
| | | | F: LMC Oligo Mix | ROX | İnsan Parechovirüs (HPeV) |
| | | | | CY5 | Rhinovirüs (HRV) |
| | | | | FAM | <i>Legionella pneumophila</i> |
| | | | G: HBS Oligo Mix | HEX | |
| | | | | ROX | <i>Mycoplasma pneumoniae</i> |
| | | | | CY5 | <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> |
| | | | H: RSV Oligo Mix | FAM | <i>Haemophilus influenzae</i> |
| | | | | HEX | |
| | | | | ROX | <i>Bordetella pertussis</i> |
| | | | | CY5 | <i>Streptococcus pneumoniae</i> |
| FAM | | | | | |
| | HEX | | | | |
| | ROX | Respiratory syncytial virüs (RSV) A/B | | | |
| | | CY5 | | | |

| 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-SY Strip | 20 Adet | Strip | |
| | | İçerik (Reaktif stabilite kontrolü için, her işletimde test ediniz) | |
| | | PC-SY ● | |
| | | A | A: Pozitif Kontrol + COVID/Flu Oligo Mix |
| | | B | B: Pozitif Kontrol + COR Oligo Mix |
| | | C | C: Pozitif Kontrol + PAR Oligo Mix |
| | | D | D: Pozitif Kontrol + MEA Oligo Mix |
| | | E | E: Pozitif Kontrol + BPR Oligo Mix |
| | | F | F: Pozitif Kontrol + LMC Oligo Mix |
| G | G: Pozitif Kontrol + HBS Oligo Mix | | |
| H | H: Pozitif Kontrol + RSV 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. | Kullanılması önerilen ekstra ekipmanlar: |
| 2. 1-10 µL mikropipet ve uyumlu pipet ucu (DNaz ve Rnaz içermeyen) | 5. PCR kurulumu için UV kabini |
| 3. Spin Santrifüj: min.3000 rpm (8'li strip ve 2 mL mikrosantrifüj tüpü ile uyumlu) | 6. Soğuk Tüp standı (mikrosantrifüj tüpleri ve PCR tüp/stripleri için) |
| 4. Vorteks | 7. Tek kullanımlık, pudrasız, nitril eldiven. |

2. Kitin Kullanım Amacı ve Test Prensipli

Kit, Tablo 1a'da verilen viral ve bakteriyel etkenlerin klinik örneklerde hızlı ve doğru tanısı amacıyla kullanılmaktadır. Kit, nazofaringeal sürüntü, orofaringeal sürüntü, bronkoalveolar lavaj, nazofaringeal aspirat ve balgam 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.

"Bio-Speedy® Solunum Yolu RT-qPCR MX-24S Panel" kiti "Bio-Speedy® vNAT® Viral Nükleik Asit Tamponu (BS-NA-510)", "Bio-Speedy® vNAT® Transfer Tüpü (BS-NA-513-100)" ve "RINA™ M14 Nükleik Asit Ekstraksiyon Robotu (RINA-M14-01)" ile valide edilmiştir. Kit, sağlık hizmeti sunucuları tarafından hastalık şüphesi olan bireylerden alınan nazofaringeal sürüntü, orofaringeal sürüntü, bronkoalveolar lavaj, nazofaringeal aspirat ve balgam örneklerine uygulanır.

3. Kitin Analitik Özellikleri

Kit, Bio-Rad CFX96 Touch™ Real Time PCR Sisteminde 20 µL qPCR hacmi için valide edilmiştir ve bu sistem ile tam uyumludur. Tablo 1a'de 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. 573'ü pozitif solunum yolu enfeksiyon örneği olan 1152 farklı klinik örnek ile testin analitik duyarlılığı %98,95 ve özgüllüğü %99,13 olarak belirlenmiştir. Kitin HSGM tarafından belirlenen LoD değerleri Influenza A için 66 kopya/mL, Influenza B için 88 kopya/mL, SARS-CoV-2 için 67 kopya/mL, Coronavirus 229E için 62 kopya/mL, Coronavirus OC43 için 68 kopya/mL, Coronavirus NL63 için 94 kopya/mL, Coronavirus HKU1 için 86 kopya/mL, Parainfluenza 1 için 75 kopya/mL, Parainfluenza 2 için 91 kopya/mL, Parainfluenza 3 için 53 kopya/mL, Parainfluenza 4 için 88 kopya/mL, Metapneumovirus için 64 kopya/mL, Enterovirus için 71 kopya/mL, Adenovirus için 62 kopya/mL, Bocavirus için 83 kopya/mL, Parechovirus için 59 kopya/mL,

Sadece *in vitro* diagnostik kullanım içindir.

Sadece laboratuvarlarda profesyonel kullanım içindir.

Rhinovirus için 97 kopya/mL, *Legionella pneumophila* için 54 kopya/mL, *Mycoplasma pneumoniae* için 62 kopya/mL, *Chlamydomphila pneumoniae* için 58 kopya/mL, *Haemophilus influenzae* için 48 kopya/mL, *Bordetella pertusis* için 47 kopya/mL, *Streptococcus pneumoniae* için 43 kopya/mL ve Respiratory syncytial virüs A/B için 97 kopya/mL olarak belirlenmiştir. Kiti saptama sınırı (LoD), %95 olasılıkla saptanabilen en düşük analit konsantrasyonudur.

Bio-Rad CFX 96 cihazında şeffaf reaksiyon tüplerinin, beyaz tüplere kıyasla 5-10 kat daha düşük floresans sinyali ile sonuç verdiği tespit edilmiştir. Kiti belirtilen analitik performansı yalnızca valide beyaz tüpler kullanılarak elde edilebilir.

4. Nükleik Asit Ekstraktlarının Toplanması, Saklanması ve Transferi

Swab örnekleri Dacron veya Polyester swablar kullanılarak toplanmalıdır. Diğer örnek türleri steril kaplarda aktarılmalıdır. Taşıma aşamasında, Viral Taşıma Ortamı (VTM) (Viral taşıma ortamının hazırlanması, Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi, SOP #: DSR-052-01) veya "Bio-Speedy® vNAT® Transfer Tüpü (BS-NA-513-100)" kullanılmalıdır. Örnekler laboratuvara gelene kadar 2-8°C'de saklanmalı ve taşınmalıdır. Swab örnekleri 5 gün içinde, diğer örnek türleri 2 gün içinde aktarılmalıdır. Sevkiyatta bir gecikme bekleniyorsa, numuneler -70°C'de dondurulmalı ve kuru buz ile gönderilmelidir. Örneklerin tekrarlanan dondurma-çözdürmeye maruz bırakılmaması önemlidir.

5. Uyarılar

1. Kiti nükleik asit kaynaklarından ve qPCR amplikonlarından 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'i tamamlanmış reaksiyon tüplerini laboratuvarında açmadan uzaklaştırınız.

6. RT-qPCR Uygulama Protokolü

Reaksiyon kurulumunu Tablo 2'de belirtildiği 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 | A, B, C, D, E, F, G ve H kuyularına dağıtılacak miktar |
|-----------------------|-----------------------------------|---|--|
| Hasta Numunesi | SY Her hasta için 1 strip | 2X Prime Script Mix | 90 µL |
| | | Hasta örneğinden elde edilen nükleik asit ekstraktı | 45 µL |
| | | Toplam | 135 µL |
| Negatif Kontrol (NTC) | SY Her işletim için 1 strip | 2X Prime Script Mix | 90 µL |
| | | NTC | 45 µL |
| | | Toplam | 135 µL |
| Pozitif Kontrol (PC) | PC-SY 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 İnkübasyon/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-çözden 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® Solunum Yolu RT-qPCR MX-24S Panel** performansı nazofaringeal sürüntü, orofaringeal sürüntü, bronkoalveolar lavaj, nazofaringeal aspirat ve balgam örneklerinde belirlenmiştir.
- Kitin hedef bölgelerindeki mutasyonlar, primer ve/veya prob bağlanmasını etkileyerek virüs ve bakterilerin 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. Numunede 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