

Kat No: BS-SE-MX30S-100

Sepsis qPCR MX-30S 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 qPCR Mix	140 Tüp x 90 µL	DNA polimeraz, dNTP Mix ve reaksiyon tamponu (Her örnek için 1 adet)			
SE Strip	120 Adet		A: SPVC Oligo Mix	FAM	<i>Staphylococcus aureus</i>
				HEX	<i>Pseudomonas</i> spp.
				ROX	VanA- Vankomisin direnci
				CY5	<i>Candida krusei</i>
			B: CRVS Oligo Mix	FAM	<i>Candida glabrata</i>
				HEX	Dahili Kontrol (IC); insan <i>RNase P</i>
				ROX	VanB- Vankomisin direnci
				CY5	<i>Staphylococcus</i> spp.
			C: KPAC Oligo Mix	FAM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
				HEX	<i>Candida albicans</i>
				ROX	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
				CY5	<i>Acinetobacter baumannii</i>
			D: HKOC Oligo Mix	FAM	<i>Haemophilus influenzae</i>
				HEX	<i>Klebsiella oxytoca</i>
				ROX	<i>Candida parapsilosis</i>
				CY5	OXA-48-Karbapenem direnci
			E: CRE Oligo Mix	FAM	KPC-Karbapenem direnci
				HEX	NDM-Karbapenem direnci
				ROX	VIM-Karbapenem direnci
				CY5	IMP-Karbapenem direnci
			F: LMT Oligo Mix	FAM	<i>Listeria monocytogenes</i>
				HEX	-
				ROX	MecA+C-Metisilin direnci
				CY5	<i>Candida tropicalis</i>
			G: ESE Oligo Mix	FAM	<i>Enterococcus</i> spp.
				HEX	-
				ROX	<i>Enterobacteriaceae</i>
				CY5	<i>Streptococcus</i> spp.
H: SNES Oligo Mix	FAM	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>			
	HEX	<i>Escherichia coli</i>			
	ROX	<i>Neisseria meningitidis</i>			
	CY5	<i>Streptococcus pneumoniae</i>			

Saklama Sıcaklığı: -20°C, Taşıma Sıcaklığı: 2- 8°C			
NTC	2 x 1000 µL	Negatif Kontrol (Nükleaz içermeyen su) (Kontaminasyon kontrolü amacıyla, her işletimde test ediniz.)	
PC-SE Strip	20 Adet	Strip	
		İçerik (Reaktif stabilite kontrolü için, her işletimde test ediniz)	
		PC-SE ●	
		A	A: Pozitif Kontrol + SPVC Oligo Mix
		B	B: Pozitif Kontrol + CRVS Oligo Mix
		C	C: Pozitif Kontrol + KPAC Oligo Mix
		D	D: Pozitif Kontrol + HKOC Oligo Mix
		E	E: Pozitif Kontrol + CRE Oligo Mix
		F	F: Pozitif Kontrol + LMT Oligo Mix
G	G: Pozitif Kontrol + ESE Oligo Mix		
H	H: Pozitif Kontrol + SNES 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 Prensipleri

Sepsis hastanede uzun yatış süreleri ve ölümlere neden olmaktadır. Uygun tedavi ve hızlı iyileşme süreci, sepsis etkeninin erken teşhisiyle mümkün olabilmektedir. Sepsiste yaşama şansı tedavi başlangıcı geciktikçe ani şekilde düşmektedir. Bir hasta teşhisin ilk saatinde doğru antimikrobiyal tedavi görürse, yaşama şansı %80'e yakındır; bu oran her geciken saat için %7,6 oranında düşmektedir. "**Bio-Speedy® Sepsis qPCR MX-30S Panel**", Tablo 1a'da verilen bakteriyel ve fungal solunum sepsis etkenlerinin ve antimikrobiyal direnç genlerinin tam kan veya pozitif kan kültürlerinde hızlı ve doğru tanısı amacıyla kullanılmaktadır. Kit tam kan ve pozitif kan kültürü örneklerden elde edilen nükleik asit izolatlarına uygulanmaktadır. Kit ile hızlı tanı, hedef etkene özgü DNA bölgelerini hedefleyen gerçek zamanlı PCR (qPCR) ile gerçekleştirilmektedir. **Kit ile tanı 1 saatten kısa bir sürede gerçekleştirilebilmektedir.**

"**Bio-Speedy® Sepsis qPCR MX-30S Panel**" kiti "**RINATM 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® Sepsis qPCR MX-30S 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 oligonükleotit 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. 585 adet farklı klinik örnek ile pozitif kan kültürü için testin analitik duyarlılığı %97,1 ve özgüllüğü %99,3; tam kan için testin analitik duyarlılığı %82,0 ve özgüllüğü %98,3 olarak belirlenmiştir. Kitin pozitif kan kültürü için HSGM tarafından LoD değerleri *Staphylococcus aureus* için 7 kopya/mL, *Pseudomonas spp.* için 6 kopya/mL, VanA için 6 kopya/mL, *Candida krusei* için 7 kopya/mL, *Candida glabrata* için 5 kopya/mL, VanB için 6

Sadece in vitro diagnostik kullanım içindir.

Sadece laboratuvarlarda profesyonel kullanım içindir.

kopya/mL, *Staphylococcus* spp. için 6 kopya/mL, *Pseudomonas aeruginosa* için 4 kopya/mL, *Candida albicans* için 6 kopya/mL, *Klebsiella pneumoniae* için 8 kopya/mL, *Acinetobacter baumannii* için 8 kopya/mL, *Haemophilus influenzae* için 4 kopya/mL, *Klebsiella oxytoca* için 8 kopya/mL, *Candida parapsilosis* için 9 kopya/mL, OXA-48 için 6 kopya/mL, KPC için 6 kopya/mL, NDM için 5 kopya/mL, VIM için 6 kopya/mL, IMP için 7 kopya/mL, *Listeria monocytogenes* için 6 kopya/mL, MecA+C için 6/8 kopya/mL, *Candida tropicalis* için 7 kopya/mL, *Enterococcus* spp. için 9 kopya/mL, *Enterobacteriaceae* için 5 kopya/mL, *Streptococcus* spp. için 5 kopya/mL, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Escherichia coli* için 7 kopya/mL, *Neisseria meningitidis* için 6 kopya/mL, *Streptococcus pneumoniae* için 6 kopya/mL olarak belirlenmiştir.

Kitin tam kan için HSGM tarafından LoD değerleri *Staphylococcus aureus* için 94 kopya/mL, *Pseudomonas* spp. için 84 kopya/mL, VanA için 52 kopya/mL, *Candida krusei* için 68 kopya/mL, *Candida glabrata* için 86 kopya/mL, VanB için 68 kopya/mL, *Staphylococcus* spp. için 92 kopya/mL, *Pseudomonas aeruginosa* için 42 kopya/mL, *Candida albicans* için 98 kopya/mL, *Klebsiella pneumoniae* için 82 kopya/mL, *Acinetobacter baumannii* için 96 kopya/mL, *Haemophilus influenzae* için 64 kopya/mL, *Klebsiella oxytoca* için 94 kopya/mL, *Candida parapsilosis* için 68 kopya/mL, OXA-48 için 74 kopya/mL, KPC için 78 kopya/mL, NDM için 82 kopya/mL, VIM için 78 kopya/mL, IMP için 92 kopya/mL, *Listeria monocytogenes* için 88 kopya/mL, MecA+C için 92/97 kopya/mL, *Candida tropicalis* için 76 kopya/mL, *Enterococcus* spp. için 78 kopya/mL, *Enterobacteriaceae* için 88 kopya/mL, *Streptococcus* spp. için 92 kopya/mL, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Escherichia coli* için 68 kopya/mL, *Neisseria meningitidis* için 86 kopya/mL, *Streptococcus pneumoniae* için 76 kopya/mL olarak belirlenmiştir.

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

4. Nükleik Asit Ekstraktlarının Toplanması, Saklanması ve Transferi

Tam kan örnekleri steril EDTA'lı kan tüpleri içerisine alınır. EDTA 'lı tüpler içerisindeki tam kan örnekleri tercihen 2-8°C'de saklanır ve en geç 24 saat içerisinde laboratuvara transfer edilir. Uzun süreli saklama için numuneler -20 °C'de depolanmalıdır. Kan kültürü örnekleri uygun kan kültürü şişeleri içerisine alınarak uygun koşullarda inkübe edilerek alınır ve saklanır.

5. Uyarılar

1. Kiti nükleik asit kaynaklarından ve qPCR ampliconlarından 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 laboratuvarında açmadan uzaklaştırınız.

6. 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	8 strip kuyusuna dağıtılacak miktar
Hasta Numunesi	SE Her hasta için 1 strip	2X qPCR Mix	90 µL
		Hasta örneği nükleik asit ekstraktı	45 µL
		Toplam	135 µL
Negatif Kontrol (NTC)	SE Her işletim için 1 strip	2X qPCR Mix	90 µL
		NTC	45 µL
		Toplam	135 µL
Pozitif Kontrol (PC)	PC-SE Her işletim için 1 strip	2X qPCR Mix	90 µL

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

Ön inkübasyon/1 döngü	Çoğalma/40 döngü		
	Denatürasyon	Bağlanma ve Uzama	Floresan Okuma
95°C-3 dk	95°C-1 sn	55°C-30 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- çözen 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	Örnekleme, 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® Sepsis qPCR MX-30S Panel'in performansı sadece tam kan ve pozitif kan kültürü örnekleri için belirlenmiştir.
- Bio-Speedy® Sepsis RT-qPCR MX-30S Panel'in hedeflediği bölge içindeki mutasyonlar, primer ve/veya prob bağlanmasını etkileyerek hedef varlığının saptanamamasına 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		Isı ve radyoaktif kaynaklardan koruyun
	Son Kullanım Tarihi YYYY-AA		Katalog Numarası		Paket hasarlıysa kullanmayınız ve kullanım talimatlarına bakınız.
	Negatif Kontrol		Steril Değil		Su/ Nem uzak tutun
	Pozitif Kontrol		Kullanım Talimatlarına bakın veya elektronik kullanım talimatlarına bakın		Kırılabilir dikkatli taşıyınız
	Sıcaklık sınırı (Saklama sıcaklığı)		Dikkat		Dik tutun

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