

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	10 x 1250 µL	DNA polimeraz, dNTP Mix, reaksiyon tamponu, ters transkriptaz ve ribonükleaz inhibitörü			
SY Strip	120 Adet		A: COVID/Flu Oligo Mix	FAM	SARS-CoV-2 (Nükleokapsid geni)
				HEX	İnternal Kontrol (İnsan RNase P geni)
				ROX	İnfluenza B
				CY5	İnfluenza A
			B: COR Oligo Mix	FAM	İnsan Coronavirüs 229E
				HEX	İnsan Coronavirüs OC43
				ROX	İnsan Coronavirüs NL63
				CY5	İnsan Coronavirüs HKU1
			C: PAR Oligo Mix	FAM	Parainfluenza 1
				HEX	Parainfluenza 2
				ROX	Parainfluenza 3
				CY5	Parainfluenza 4
			D: MEA Oligo Mix	FAM	İnsan Metapneumovirüs
				HEX	İnsan Enterovirüs /İnsan Rhinovirüs Set 1
				ROX	
				CY5	Adenovirüs
			E: BPR Oligo Mix	FAM	İnsan Bocavirüs
				HEX	
				ROX	İnsan Parechovirüs
				CY5	İnsan Enterovirüs/İnsan Rhinovirüs Set 2
			F: LMC Oligo Mix	FAM	Legionella pneumophila
				HEX	
				ROX	Mycoplasma pneumoniae
				CY5	Chlamydomphila pneumoniae
			G: HBS Oligo Mix	FAM	Haemophilus influenzae
				HEX	
				ROX	Bordetella pertussis
				CY5	Streptococcus pneumoniae
			H: RSV Oligo Mix	FAM	
				HEX	
				ROX	Respiratory syncytial virüs A/B
				CY5	

Saklama Sıcaklığı: -20°C, Taşıma Sıcaklığı: +2- 8°C			
NTC	2 x 1000 µL	Negatif Kontrol (Nükleaz İçermeyen Su) ( <b>Kontaminasyon kontrolü amacıyla, her işletimde test ediniz</b> )	
<b>PC-SY Strip</b>	20 Adet	<b>Strip</b>	
		<b>İçerik (Reaktif stabilite kontrolü için, her işletimde test ediniz)</b>	
		<b>PC-SY</b> ●	
		<b>A</b>	A: Pozitif Kontrol + COVID/Flu Oligo Mix
		<b>B</b>	B: Pozitif Kontrol + COR Oligo Mix
		<b>C</b>	C: Pozitif Kontrol + PAR Oligo Mix
		<b>D</b>	D: Pozitif Kontrol + MEA Oligo Mix
		<b>E</b>	E: Pozitif Kontrol + BPR Oligo Mix
		<b>F</b>	F: Pozitif Kontrol + LMC Oligo Mix
<b>G</b>	G: Pozitif Kontrol + HBS Oligo Mix		
<b>H</b>	H: Pozitif Kontrol + RSV Oligo Mix		

Tablo 1c. Kullanıcı tarafından sağlanacak olan cihaz ve ekipmanlar

Kullanıcı tarafından sağlanacak olan cihaz ve ekipmanlar	
<ol style="list-style-type: none"><li>1. Real-Time PCR Cihazı: 4 kanallı, Ramp rate <math>\geq 3</math> °C/sec.</li><li>2. 1-10 µL mikropipet ve uyumlu pipet ucu (DNaz ve RNaz içermeyen)</li><li>3. Spin Santrifüj: min.3000 rpm (8'li strip ve 2 mL mikrosantrifüj tüpü ile uyumlu)</li><li>4. Vorteks</li></ol>	<b>Kullanılması önerilen ekstra ekipmanlar:</b> <ol style="list-style-type: none"><li>5. PCR kurulumu için UV kabini</li><li>6. Soğuk Tüp Standı (mikrosantrifüj tüpleri ve PCR tüp/stripleri için)</li><li>7. Tek kullanımlık, pudrasız, nitril eldiven.</li></ol>

## 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.

## 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. "Bio-Speedy® Solunum Yolu RT-qPCR MX-24S Panel" kiti "Bio-Speedy® vNAT® Viral Nükleik Asit Tamponu (BS-NA-510)", "vNAT® Transfer Tüpü (BS-NA-513s-100)", "Bio-Speedy® vNAT® Transfer Tüpü (BS-NA-513-100)", "Zybio EXM3000 Nükleik Asit İzolasyon Sistemi (ZBI-EXM3000)" ve sarfları "Zybio Nükleik Asit Ekstraksiyon Kiti (ZBI-B200)" ile valide edilmiştir. 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, İnsan Coronavirus 229E için 62 kopya/mL, İnsan Coronavirus OC43 için 68 kopya/mL, İnsan Coronavirus NL63 için 94 kopya/mL, İnsan 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, İnsan Metapneumovirus için 64 kopya/mL, İnsan Enterovirus için 71 kopya/mL, Adenovirus için 62 kopya/mL, İnsan Bocavirus için 83 kopya/mL, İnsan Parechovirus için 59 kopya/mL, İnsan 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 pertussis için 47 kopya/mL, Streptococcus pneumoniae için 43 kopya/mL ve Respiratory syncytial virüs A/B için 97 kopya/mL olarak belirlenmiştir. Kitin saptama sınırı (LoD), %95 olasılıkla saptanabilen en düşük analit konsantrasyonudur.

#### 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), "vNAT® Transfer Tüpü (BS-NA-513s-100)" 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 don-çöze maruz bırakılmaması önemlidir.

#### 5. Uyarılar

1. Numune işleme ulusal biyolojik güvenlik tavsiyelerine uygun olarak gerçekleştirilmelidir.
2. Potansiyel enfekte materyalleri hemen %0,5-1 (w/v) sodyum hipoklorit (%10-20 v/v çamaşır suyu) ile temizlenmeli ve temizlik malzemeleri biyolojik olarak tehlikeli atık deposuna atılmalıdır.
3. Test prosedürlerini uygulayan tüm personel PCR ve mikrobiyoloji ile çalışmak üzere eğitilmelidir. Örneklem yeterli bilgi ve deneyime sahip personel tarafından yapılmalıdır.
4. Kit nükleik asit kaynaklarından ve qPCR amplikonlarından uzakta saklanmalıdır.
5. Sıvı transferleri dışında nükleik asit ve pozitif kontrol tüpleri daima kapalı tutulmalıdır.
6. Reaksiyon karışımının önceden amplifiye edilmiş hedef diziler tarafından kontaminasyonunu önlemek için ayrı çalışma alanları ve özel ekipmanlar sağlanmalıdır.
7. PCR öncesi ve sonrası farklı laboratuvar önlükleri giyilmelidir.
8. PCR mikserini ve template nükleik asitleri pipetlemek için kullanılan pipetler ayrı olmalıdır. Filtreli ve nükleaz içermeyen uçlar kullanılmalıdır.
9. Nazofarengeal/orofarengeal swabların toplanması için polyester veya dakron swablar tercih edilmelidir. Pamuklu veya kalsiyum aljinatlı swablar veya tahta çubuklu swablar bazı virüsleri inaktive eden veya PCR'yi inhibe eden maddeler içerebileceğinden kullanılmamalıdır.
10. Örnek alma sırasında kontaminasyonu önlemek için kırılabilir şaftlı swabların kullanılması tavsiye edilmektedir.
11. Kit içindeki bileşenler farklı lot numaraları veya aynı adı taşıyan ancak farklı üreticilerin kimyasalları ile karıştırılmamalıdır.
12. PCR kurulumu esnasında ana stok reaktifleri soğuk blokta tutulmalıdır.
13. Kit bileşenleri kullanımdan önce yavaşça karıştırılmalıdır.
14. Kit ile kullanılan tüm alet ve ekipmanlar için bakım/kalibrasyon aralığı belirlenmelidir.
15. Amplifiye materyalden kaynaklanan yanlış pozitifleri önlemek için PCR'si tamamlanan reaksiyon tüpleri laboratuvarda açılmadan atılmalıdır.
16. Odaların, tezgahların ve cihazların silinebilir yüzeyleri taze seyreltilmiş %10'luk çamaşır suyu (%0,5 NaClO) ile düzenli olarak temizlenmelidir.
17. Yerel, bölgesel ve federal düzenlemelere uygun olarak atıkların imhası gerçekleştirilmelidir.

#### 6. RT-qPCR Uygulama Protokolü

Reaksiyon kurulumunu Tablo 2'de belirtildiği gibi gerçekleştiriniz ve qPCR cihazının Tablo 3'e göre programlayınız. qPCR tüplerini kapatınız, qPCR cihazına yerleştiriniz ve çalışmaya başlatınız.

Tablo 2. Reaksiyon Kurulumu

Reaksiyon Tipi	Kullanılacak Strip	Aşağıda verilen bileşenler, belirtilen miktarlarda bir tüp içerisinde birleştirilir, pipetajla karıştırılır, sağ kolonda verilen miktarda strip kuyularına dağıtılır.		A, B, C, D, E, F, G ve H kuyularına dağıtılacak miktar
		Kullanılacak Bileşen	1 Strip için hazırlanacak miktar (µL/strip)	1 kuyu için pipetlenecek miktar (µL/kuyu)
Hasta Numunesi	SY Her hasta için 1 strip	2X Prime Script Mix	90 µL	15 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	15 µL
		NTC	45 µL	
		Toplam	135 µL	
Pozitif Kontrol (PC)	PC-SY Her işletim için 1 strip	2X Prime Script Mix	-	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 (eşik) *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 değerlendirilmede kullanılabilir. **Sigmoidal olmayan eğriler negatif olarak kaydedilmelidir.** Bir numuneye bir Cq değeri atanmışsa, ancak eğri sigmoidal değilse, **sonuç negatif olarak kaydedilmelidir.**

**Herhangi bir hedef için eşik altında sigmoidal eğriye 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-çöz işleminden 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

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

Nihai sonuç pozitif çıktığında aşağıdaki şekilde raporlandırılır:

- $32 \leq Cq \leq 38$  = Düşük pozitif
- $25 \leq Cq < 32$  = Pozitif
- $18 \leq Cq < 25$  = Yüksek pozitif
- $Cq < 18$  = Çok yüksek pozitif

#### 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 durumlar 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](mailto:support@bioeksen.com.tr),

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

TÜM HAKKI SAKLIDIR