

TECHNOGEN

Realtime PCR Tanı Kiti



Basım Tarihi: 01.09.2020

TEKNO-KİM
TIBBİ MALZEMELER İTH. İHR. SAN. ve TİC. LTD. ŞTİ.

CE IVD

TECHNOGEN

Giriş

Genetik materyali tek iplikçik RNA olan ve corona ailesinin üyesi olan SARS-CoV-2, Kasım 2019 yılında tanımlanmış, pandemik etkisi kuvvetli bir patojendir. Genom dizisi çıkarılmış olan 2019 nCoV (Genbank acc. MN908947) SARS virüsüne yüksek benzerlik gösterir.

Tanı

SARS-CoV-2 virüsünün tanımlanmasında, Real-Time PCR yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemde Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Çin Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (China - CDC), Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (USA - CDC) ve Almanya - Charite Enstitüsü tarafından tanımlanan gen bölgelerinin taranması önerilmektedir.

“TechnoGen Real Time PCR Tanı Kiti”

TechnoGen Real Time PCR Tanı Kiti, WHO ve USA-CDC tarafından belirlenmiş N geni üzerinde N1, N2 gen bölgelerinin taramasını yapar. TechnoGen Realtime PCR Tanı Kiti solunum yolu örneklerinden (nazofarengeal, orofarengeal, balgam ve bronkoalveolar lavaj örnekleri) SARS-CoV-2 (2019 nCOV) tespitini yapar. Tanı kitinde internal kontrol olarak insanda mRNA düzeyinde bulunan RNase P(RP) mRNA'sı seçilmiştir. FAM ve HEX dalga boylarından ışımaya alan kit tek tüp ile multipleks çalışır. Kit içerisinde ayrıca, pozitif kontrol* ve negatif kontrol bulunmaktadır. Realtime PCR çalışma süresi yaklaşık 90 dakika olan kitin, çalışmasından önce RNA izolasyon aşaması zorunludur.

**Pozitif Kontrol N1 ve N2 gen bölgelerini içermektedir. RP gen bölgesini içermez.*

Teknik Özellikler

Tanılama Yöntemi	
Analiz Yöntemi	Quantification
Bakılan Gen Bölgeleri ve Işıma Boyaları	N1 (FAM), N2 (FAM), RP (HEX)
Test Tüp Sayısı ve İçeriği	N1, N2, RP
Reaksiyon Hacmi	20 µl
Test Sayısı	100 örnek
Reaksiyon Süresi	Yaklaşık 90 dakika

Kit İceriği:

- #1 – “PCR Master Mix” (1500 µl)
- #2 – “Pozitif Kontrol” (150 µl)
- #3 – “Negatif Kontrol” (150 µl)

Kit Dışı Gerekli Cihaz ve Malzemeler:

- Real Time PCR Cihazı
 - Uyumlu olduğu cihazlar *
 - Roche LightCycler 480
 - Roche LightCycler 96
 - Roche LightCycler Nano
 - Qiagen Rotor Gene Series
 - Corbett Realtime PCR
 - BMS Mic
 - Biorad CFX Connect
 - Biorad CFX96
 - Applied Biosystem ABI 7500
 - Applied Biosystem ABI 7500 Fast
 - Applied Biosystem ABI StepOne
 - Applied Biosystem ABI StepOne Plus
 - Thermo Scientific Quant Studio 3-5-7
 - Agilent Aris Mix
 - Slan Realtime PCR
 - Tianlog Genesy
 - Stratagene Mx3500p
 - LongGene Q2000
 - Himedia Insta Q96

**Lütfen uyumlu cihazlar için irtibata geçiniz.*

- Viral RNA izolasyonu (kit ile veya manual olarak uygulanmalıdır.)
- Vorteks
- Santrifüj
- Steril pipet ucu
- Pipet (0.5-10 ul pipet; 10-100 ul pipet)
- Soğuk Rack
- PCR tüpleri, PCR plate'leri veya Stripler
- Derin Dondurucu
- Tek kullanımlık eldiven

Saklama Koşulları:

- Kit içeriği -20°C'de ve ışık almayacak şekilde son kullanma tarihine kadar muhafaza edilebilir.
- Kitin hassasiyetini azaltabileceği için bileşenleri sık sık dondurup çözündürmekten (3 kereden fazla) kaçınılmalıdır.

Deneyin Hazırlanması**Malzemelerin Çözünmesi:**

- -20°C'de bulunan malzemeler buz üzerinde bekletilerek çözünmesi sağlanmalıdır.
- Sıvı hale gelen malzemeler, pipetaj yapılarak karıştırılır.

Reaksiyonların Hazırlanması:

- Her bir örnek için tek bir reaksiyon hazırlanacaktır. Negatif kontrol ve pozitif kontrol için ayrı bir reaksiyon hazırlanmalıdır.

İçindekiler	Miktar (µl)
PCR Master Mix	15
RNA İzolatı	5
Toplam	20

ÖRNEK YÜKLEME TABLOSU											
NTC	Ö-1	Ö-2	Ö-3	Ö-4	Ö-5	Ö-6	Ö-7	Ö-8	Ö-9	Ö-10	Ö-11
Ö-12	Ö-13	Ö-14	Ö-15	Ö-16	Ö-17	Ö-18	Ö-19	Ö-20	Ö-21	Ö-22	Ö-23
Ö-24	Ö-25	Ö-26	Ö-27	Ö-28	Ö-29	Ö-30	Ö-31	Ö-32	Ö-33	Ö-34	Ö-35
Ö-36	Ö-37	Ö-38	Ö-39	Ö-40	Ö-41	Ö-42	Ö-43	Ö-44	Ö-45	Ö-46	Ö-47
Ö-48	Ö-49	Ö-50	Ö-51	Ö-52	Ö-53	Ö-54	Ö-55	Ö-56	Ö-57	Ö-58	Ö-59
Ö-60	Ö-61	Ö-62	Ö-63	Ö-64	Ö-65	Ö-66	Ö-67	Ö-68	Ö-69	Ö-70	Ö-71
Ö-72	Ö-73	Ö-74	Ö-75	Ö-76	Ö-77	Ö-78	Ö-79	Ö-80	Ö-81	Ö-82	Ö-83
Ö-84	Ö-85	Ö-86	Ö-87	Ö-88	Ö-89	Ö-90	Ö-91	Ö-92	Ö-93	Ö-94	PC

* 'Örnek Yükleme Tablosu' temsili olarak 94 örneğin aynı anda yüklenmesini betimlemektedir.

* Örnek yükleme kullanılan Realtime PCR cihazı ve örnek sayısına göre farklılık gösterebilir.

Kit Mix İceriği:

PCR Master Mix		
N1 Gen Bölgesi (FAM)	N2 Gen Bölgesi (FAM)	RP (İnternal Kontrol) (HEX)

Deney Protokolü

- Realtime PCR Protokolü

Siklus	Sıcaklık (°C)	Süre (Saniye)	Floresan Işıma
1	45	600	
1	95	120	
45	95	10	
	55	30	FAM, HEX

Sonuçların Yorumlanması

Sonuçlar yorumlanırken aşağıdaki tablodan yararlanılmalıdır. Her bir parametrenin pozitif olarak yorumlanması için $C_t < 40$ olması gerekmektedir. C_t değerinin "0" çıkması durumunda parametre negatif olarak kabul edilmelidir. $C_t > 40$ olması durumunda "Sorunlar ve Çözümleri" kısmına bakınız.

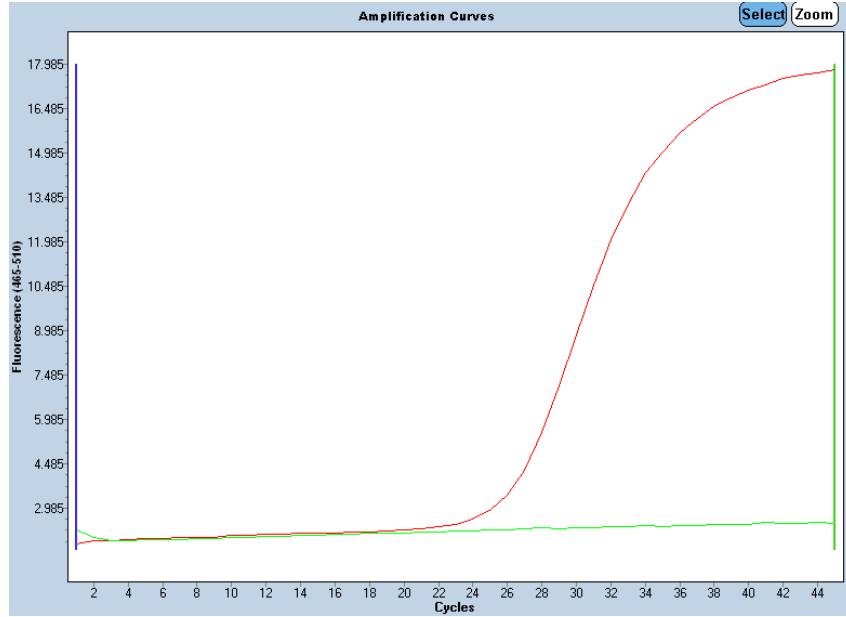
Her çalışmanın, kit içerisinde bulunan pozitif ve negatif kontrol ile yapılması tavsiye edilmektedir. Çalışmada kullanılan pozitif kontrol için FAM ışımalarının $28 < C_t < 32$ arasında çıkması beklenmektedir.

N1-N2 Gen Bölgesi (FAM)	RP (HEX)	SONUÇ
+	-	SARS-COV-2 (2019 nCOV) POZİTİF ÖRNEK
+	+	SARS-COV-2 (2019 nCOV) POZİTİF ÖRNEK
-	+	SARS-COV-2 (2019 nCOV) NEGATİF ÖRNEK
-	-	Geçersiz Sonuç. Örnek izolasyondan itibaren tekrarlanmalı

Pozitif ve negatif kontrollerin yorumlanmasında aşağıdaki tablodan yararlanılmalıdır.

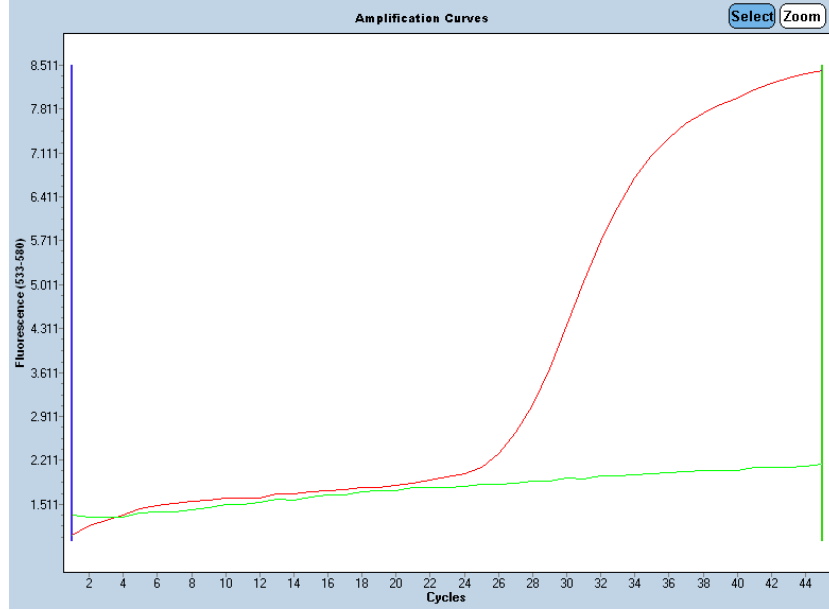
N1-N2 Gen Bölgesi (FAM)	RP (HEX)	SONUÇ
+	-	SARS-COV-2 (2019 nCOV) POZİTİF KONTROL
-	-	SARS-COV-2 (2019 nCOV) NEGATİF KONTROL

Örnek Sonuç Görüntüsü



FAM görüntüsü (N geni)

Kırmızı: Pozitif Örnek/Pozitif Kontrol **Yeşil:** Negatif Örnek/Negatif Kontrol



HEX görüntüsü (RP geni)

Kırmızı: Pozitif Örnek/Negatif Kontrol **Yeşil:** Pozitif Kontrol/Negatif Kontrol

Sorun ve Çözümleri

Problem	Problemi Olası Sebebi	Çözüm Önerisi
Negatif İnternal Kontrol	PCR Master Mix'de homojen karışım sağlanmamış olabilir. RNA izolasyonu istenen şekilde gerçekleştirilmemiş olabilir	PCR Master Mix için pipetaj işlemi gerçekleştirilmeli. Çalışma izolasyondan itibaren tekrarlanmalıdır.
NTC örneklerin Pozitif artışlar gözlemlendi	Kontaminasyon gerçekleşmiş olabilir.	Çalışma alanından, çalışılan sarf malzemelere kadar kontaminasyon gerçekleşmiş olabilir. Sarf malzemeler atılıp yenilerinin açılması ve ortamın ilk olarak %10'luk NaClO'luk çözelti ile ardından 30 dakika sonra %70 Alkol ile temizlenmesi önerilmektedir.
Düşük C_t'lerde Sonuçların Çıkması	C _t >40 olan pozitif sonuçlar için	Çalışma tekrar edilmelidir. Aynı sonucun alındığı durumlarda örnek negatif olarak kabul edilir.

Uyarılar ve Önlemler

Bu test kalifiye bir personel tarafından uygulanmalıdır. Klinik örnekler potansiyel bulaşıcı malzemeler olarak kabul edilmelidir ve laminar akım ünitesi içerisinde hazırlanmalıdır.

- Son kullanma tarihi geçmiş olan kitleri kullanmayınız.
- Reaktifleri tekrar tekrar dondurmaktan ve çözdürmekten kaçınınız, bu testin duyarlılığı azaltabilir.
- Kullanmadan önce reaktiflerin çözülmesini sağlayınız, ardından tüpleri yavaşça karıştırınız ve kısa bir müddet santrifüjleyiniz.
- Reaksiyon karışımını buz üstünde ya da soğuk bloğu içinde hızlıca hazırlayınız.
- İki ayrı çalışma alanı kurunuz.
- Pipetleri, tüpleri ve diğer çalışma materyallerini çalışma alanları arasında dolaştırmayınız.
- Her zaman filtreli steril pipet uçlarını kullanınız.
- Her çalışma alanında ayrı önlük ve eldiven kullanınız.

Tekno-Kim Tıbbi Malzemeler İth. İhr. San. ve Tic. Ltd. Şti.

Girne Mh. Irmaklar Sk. Küçükyalı İş Merkezi No:72-11A Maltepe, İstanbul - Türkiye

Tel:

+90 216 489 14 94

Email:

info@tekno-kim.com.tr

Web:

www.tekno-kim.com.tr



: Reaksiyon Sayısı



: Son Kullanma Tarihi



: Lot Numarası



: Referans Numarası



: Sıcaklık Sınırlaması



: Kullanma kılavuzuna bakınız



: Üretici



: Directive 98/79/EC, Annex III



: Direk Güneş Işığından Uzak Tutunuz