

PCRUN FELINE MYCOPLASMA MOLEKÜLER TEŞHİS KİTİ

MEDICARE SAĞLIK HİZMETLERİ

A series of horizontal lines and dashed lines, likely representing a form or a table structure, occupying the lower half of the page.

PCRUN FELINE MYCOPLASMA MOLEKÜLER TEŞHİS KİTİ

ÜRÜN KODU: 30FMH108

I. KULLANIM AMACI

PCRRun™ Feline Mycoplasma Moleküler Tayin Kiti, kedi kanından izole edilen DNA'da Mycoplasma hemofelisinin saptanması için tasarlanmıştır. Kit, akut enfeksiyonların saptanması için kullanılabilir. Ani ve doğru test yapmak için gereken tek kullanımlık bileşenleri içerir.

II. ÇALIŞMA PRENSİBİ

PCRRun, 16s rDNA geninin bir kısmının izotermal çoğaltılmasına dayanan moleküler bir testtir. Mycoplasma hemofelisinin nitel olarak saptanması için tasarlanmıştır. Bu kit, uyumlu bir ısı bloğu ile kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

III. DEPOLAMA VE KULLANIM

- Depolama 2-25C (oda sıcaklığı veya soğutucuda)
- Doğrudan güneşışığından koruyun.
- Ambalaj etiketinde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayınız.
- Dondurmayın!

Önlemler:

- PCRRun testi numune üzerinde doğrudan kullanıma uygun değildir. Kiti kullanmadan önce uygun bir nükleik asitekstraksiyon(çıkartım) metodu kullanılmalıdır.
- Reaksiyona giren DNA'nın kontamine olmasından kaçınmak için test yürütülürken laboratuvar muayene eldivenlerinin giyilmesi gerekir.
- PCRRun Reaksiyon tüplerini mühürlenmiş paketlerinden yalnızca kullanmadan önce açın ve paketinden çıkarın.
- **Kullanılmamış PCRRun reaksiyon tüplerini desikatörler (nem alıcı) birlikte orijinal alüminyum ambalajına geri koyun. Bant ile hava almayacak şekilde kapatın.**

- Ambalaj veya bileşenler zarar görmüşse kiti kullanmayın.
- Bu kitteki her bir bileşen yalnızca spesifik bir parti numarasıyla kullanıma uygundur. Bileşenlerin kalite kontrolü yapılmış ve standart parti numaraları olarak onaylanmıştır. Farklı parti numaralarına sahip bileşenleri karıştırmayın.
- Reaksiyon tüplerinin taşınması ve imhasında biyolojik ve moleküler atıklar için belirtilen kabul edilmiş arıtma prosedürlerini kullanın.

IV. ARKA PLAN

Hemotropik mikoplazmalar, hücre duvarları bulunmayan ve eritrositlerin dış zarlarına yakınlık gösteren Gram negatif parazit bakterilerdir. Kedilerde üç tür tespit edilmiştir: M. haemofelis, Candidatus M. haemominutum ve Candidatus M.turicensis¹. Hemolitik Feline Enfeksiyöz Anemi (FIA) 'nın etken ajanı, Mycoplasma hemofelisedir (eskiden Haemobartonella felis olarak sınıflandırılırdı). Organizma kan smearlarında küçük (0.3-0.8 µm) kokoit cisimler olarak, bazen 3-6 organizmanın kısa zincirlerini oluşturmuş olarak görülebilir. M. hemomfelis'in neden olduğu hemolitik anemi, Feline Lösemi Virüsü enfeksiyonu gibi alta yatan bir hastalık tarafından bastırılmadıkça, genellikle rejeneratif özelliktedir.

Parazitemi, epizodiktir ve parazit yükün artışı durumlarda hematokrit seviyelerinin düşmesi arasında doğrudan bağlantı vardır. Değişken parazitemiden ötürü organizmalar incelenen bir kan örneğinde çok fazla, nadir veya saptanamayabilir.

İletim, bit, pireler, keneler ve sivrisinek gibi eklemcikli vektörler yoluyla veya enfekte kan transferi (kan transfüzyonları veya kontamine iğneler veya cerrahi aletlerin kullanımı) yoluyla gerçekleşebilir. Kediler arasındaki agresif davranışla ilişkili dikey enfeksiyon ve doğrudan bulaşma bildirilmiştir. M. haemofelis ile enfekte olan kedilerin çoğu asemptomatik taşıyıcı olur ve stres altındayken hastalığın hafif versiyonlarını yeniden oluştururlar.²

V. TANI

Akut hasta kedilerde makrositer ve normokromik rejeneratif anemi en yaygın belirtidir. Hastalık semptomları soluk mukus membranlar,, splenomegali, uyuşukluk, anoreksiya, depresyon, kilo verme ve güçsüzlüğü içerir. Klinik bulguların ortaya çıktığı kedilerde hematokrit değerler genellikle normalin% 50'si kadardır. Ateş, bazı akut enfeksiyonu olan kedilerde ortaya çıkarken kronik olarak enfekte olan kedilerde dönemseldir. Bu etkenle enfekte olan kedilerde başka hastalıklar ve hastalık bulgularıda mevcut olabilir. Taşıyıcı dönemde kediler yıllarca klinik olarak normal görünebilir ve organizma kan dolaşımında nadiren saptanabilir. Erken teşhis ve uygun tedavi, iyi bir prognozun anahtarıdır.

Laboratuvar onayı geleneksel olarak kırmızı kan hücrelerinin sitolojik değerlendirilmesi ile sağlanır. Yanlış negatif sonuçlar meydana gelebilir, çünkü enfekte hücrelerin sayısı kanda hızlı bir şekilde dalgalanır ve enfeksiyon kolayca gözden kaçabilir. Ayrıca Mycoplasma spp.nin iyi boyanmamış preparatlarda boya kalıntılarında düzgün bir şekilde ayırt edilmesi için de deneyimli bir göz gereklidir; Bu nedenle yanlış pozitif sonuçlar yaygın olarak görülür. PCRun gibi polimeraz zincir reaksiyonları (PCR), Subjektif mikroskopik kan yayma tanımlama yönteminden daha fazla özgüllük ve duyarlılıkla geliştirilmiştir. PCR reaksiyonları, hücrede organizmanın bulunmadığı örnekte patojenleri tespit edebilirken düşük parazitemili kedilerin belirlenmesinde de yararlı bir teşhis aracıdır.

VI. KİT İÇERİĞİ

Bileşenler	İçerik	Miktar
Alüminyumpaket No. 03FMH100	8 adet tekli PCRunlyofilize Mycoplasma reaksiyon tüpü	1
Tespit cihazı No. 03100010	Alüminyum pakette tek kullanımlık nükleik asit tespit kiti	10
Kapiller Tüpler No. 03200020	Tek kullanımlık plastik kapiller tüpler 20 µl*	1

* Aerosol bariyer uçları olan yüksek doğrulukta laboratuvar pipetleri plastik pipetlerin yerine kullanılabilir.

VII. KULLANICI TARAFINDAN SAĞLANACAK CİHAZLAR

- BiogalPCRun Numune Preparatı
- 0,2 PCR tüpleri ile uyumlu 60° C ısıyı sürdüren ısı bloğu (Isı bloğu Biogal tarafından tedarik edilebilir)
- Savaş
- Küçük makas
- İnce uçlu kalıcı kalem
- Koruyucu laboratuvar eldivenleri

VIII. NUMUNE ALIMI, DEPOLAMA VE TAŞIMA

Kit, PCRun Numune Preparat Kiti (Cat. No: 30PRE108) kullanılarak, 50 µl tam kandan ya da kemik iliğinden elde edilen nükleik asitin tespit edilmesi için uygundur. Kan örnekleri EDTA, heparin veya sodyum nitrat içine toplanabilir. Kan antikoagülanlarının PCR reaksiyonlarında önemli bir etkisi vardır, bu nedenle tüp üzerinde belirtildiği seviyedeoptimal hacimdeki kanın toplanması önemlidir.

En iyi sonucun elde edilmesi için, PCRun ile kullanılan numune ve hazırlanmış DNA ekstratlarınıneni alınmış/hazırlanmış olması tavsiye edilir.

Aksi belirtilmediği sürece, örnekler ve DNA ekstratları 24 saate kadar 2-8 C'de veya daha uzun süreler için -20 C'de tutulabilir.

IX. PROTOKOL - PCRun™ REAKSİYONU

- I. Analiz için çalışma alanını temizleyin. Çalışma alanı, 1:10 oranında su ile seyreltilmiş (%3,5) çamaşır suyu ile temizlenmelidir.
- II. Analizle alakalı tüm kısımları hazırlayın:
 - Elde edilen DNA örneği
 - Reaksiyon tüplerini içeren paket
 - 20 µl hacminde kapiller tüpler
 - İnce uçlu kalıcı kalem
- III. Isı bloğunu açın ve 60C'ye ayarlayın. Blok istenen sıcaklığa ulaştığında reaksiyonu başlatın.
- IV. PCRunşeridini koruyucu ambalajdan çıkarın. Ortamın kuru kalmasını sağlamak için

kullanılmamış tüpleri alüminyum zarfa koymayı veya bantla sıkıca kapatmaya dikkat edin. Sekiz tekli reaksiyon tüpü boşluk sağlayan ince bir plastik parça ile tutturulmuştur. Küçük ve temiz bir makas kullanmak, kapakları zedelemekten istenen sayıda tüpü ayırmanızı sağlar. Tüpleri nazikçe zemine vurun ve küçük beyaz taneciklerin tüpün dibinde olup olmadığına bakın.

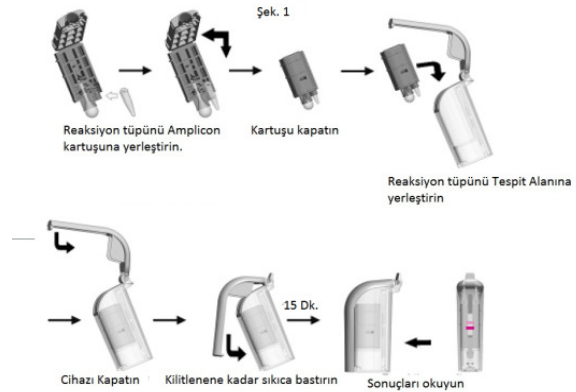
- V. Tüp kapaklarını numuneleri tanımlamak için anlaşılır şekilde etiketleyin.
- VI. Reaksiyon tüplerinin kapaklarını tek tek dikkatlice açın. 20 µl tek kullanımlık kapiler tüp kullanarak, reaksiyon tüpüne PCRun™ Numune Preparat kiti ile ekstre edilmiş 20 µl ölçüğünde DNA uygulayın. Kapiler tüpteki içeriğin tamamının PCRun™ reaksiyon tüpüne boşalttıktan sonra emin olun. Tüpü, içindeki sıvının dibine çökmesi için zemine hafifçe vurun. Taneciklerin çözülmesini sağlamak için karışımı 1 dakikalığına oda sıcaklığında inkübe edin.
- VII. Reaksiyon tüpünü, önceden ısıtılmış bloktaki (60° C) uygun deliğe yerleştirin ve tam olarak 1 saatliğine inkübe edin. Tüpün kapağını inkübasyon sırasında veya sonra açmayın.
- VIII. Inkübasyon süresinin sonunda (1 saat) tüpü ısıtma bloğundan çıkarın ve tek kullanımlık nükleik asit tespit cihazı ile hemen analiz edin.

X. PCRUN™ REAKSİYONUNUN TEK KULLANIMLIK NÜKLEİK ASİT TESPİTİ CİHAZI İLE ANALİZİ

Her test için bir adet tek kullanımlık nükleik asit tespit cihazı gerekir. Tespit cihazını açın tüm bileşenleri çıkarın. Cihaz iki plastik parçadan oluşur; plastik tampon ampulü içeren Amplicon Kartuşu ve yanal akış şeridi içeren Tespit Boşluğu (Şek. 1).

- I. Ampulün içinde sıvı olduğundan emin olun.
- II. Her boşluğu numune ID' si ile işaretleyin.
- III. PCRun™ reaksiyon tüpünün kapak bölümünü, tampon ampulünün yanındaki geniş alan ile hizalayın. Reaksiyon tüpünü Amplicon Kartuşa tutturmak için hafifçe baskı uygulayın (Şek. 1).
- IV. Amplicon Kartuşu ikiye katlayın ve kapatın. Kartuşu Tespit Boşluğuna yerleştirin. Yerleştirirken ampulün aşağı doğru baktığından ve boşluğun kolundan uzak bir şekilde yerleştiğinden emin olun.

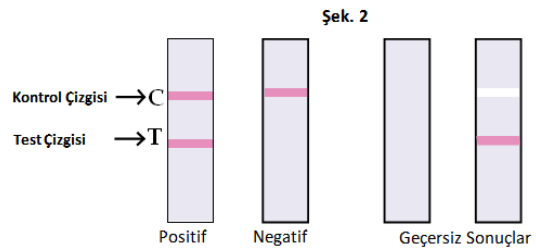
- V. Cihazı kilitlemek için kolu aşağı doğru itin.
- VI. Sonuçları görmek için 15-30 dk. bekleyin. 30 dakikayı geçirdikten sonra alınan sonuçlar geçersizdir.



XI. SONUÇLARIN OKUNMASI VE YORUMLANMASI

Geçerli test durumunda kırmızı kontrol şeridi ortaya çıkmalıdır. Hem negatif hem de pozitif sonuçlarda kontrol çizgisi görünmelidir. (Şek. 2):

- I. **Pozitif Sonuç** - Üstteki kontrol çizgisi ve alttaki test çizgisi olmak üzere iki çizgi belirir. Kontrol çizgisi ve test çizgisinin görünmesi köpek veya kedi Parvovirüsünün var olduğunu belirtir.
- II. **Negatif Sonuç** - Tek kontrol çizgisi görünür. Yalnızca kontrol çizgisinin görünmesi, DNA' da köpek veya kedi Parvovirüsünün bulunmadığını veya kopya sayısının tespit limitinin altında olduğunu gösterir.



XII. KISITLAMALAR

Herhangi bir teşhis testinde olduğu gibi, PCRun™ Moleküler Tayin Seti ile elde edilen sonuçlar, tüm klinik ve laboratuvar bulguları dikkate alınarak yorumlanmalıdır. Antibiyotik tedavisi

gören hayvanlar muhtemelen olumsuz bir PCR sonucu gösterecektir

XIII. ANALİTİK HASSASİYET

PCRun, saf DNA' daki hedef genin 10² kopyasını tespit edebilir.

XIV. REFERANSLAR

1. Messick JB. Hemotrophic mycoplasmas (hemoplasmas): A review and new insights into pathogenic potential. Vet Clin Pathol. 2004;33:2-13.
2. Haemotropic mycoplasmas:What's their real significance in cats? Journal of Feline Medicine and Surgery. 2010;12(5): 369-381.
3. Jensen WA, Lappin MR, Reagan W, et al. Use of a polymerase chain reaction assay to detect and differentiate two strains of Haemobartonella felis in naturally infected cats. Am J Vet Res 2001;62:604-608.

Daha fazla bilgi ve yardım almak için lütfenTürkiye distribütörü (MediCare) veya BiogalGaledLabs ile iletişime geçiniz.

BIOGALGaledLabs

E-posta: info@biogal.co.il

Telefon: + 972-4-9898605

Faks: + 972-4-9898690

MediCare Sağlık Hizmetleri

E-posta: info@medicareint.com

Telefon: + 90 (533) 433 8214

Telefon: + 90 (216) 330 8489

