

# Gastroenterit RT-qPCR MX-24S Panel

## 100 Test

Kat. No: BS-GE-MX24S-100

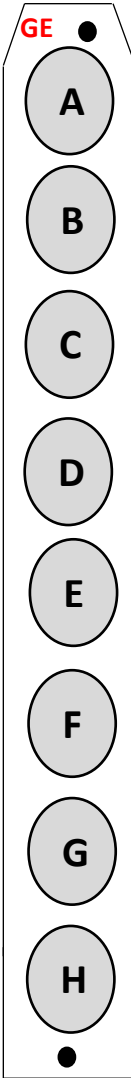
Kılavuz Versiyon: 201220-1

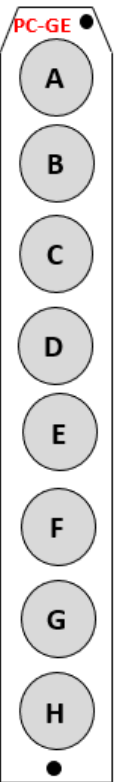
Kullanım Onay Tarihi: 20.12.2020

### Kullanım Kılavuzu

*Sadece in vitro diagnostik kullanım içindir.  
Sadece laboratuvarlarda profesyonel kullanım içindir.*

**Tablo 1.** Kit içeriği

Raf Ömrü: 18 ay <sup>[1]</sup> ; Saklama Sıcaklığı: -20°C, Taşıma Sıcaklığı: +2°C- +8°C					
Bileşen	Miktar (100 Test)	İçerik / Kullanım Amacı			
2X Prime Script Mix	9 x 1250 µL	DNA polimeraz, dNTP miks, reaksiyon tamponu, ters transkriptaz ve ribonükleaz inhibitörü			
NTC	2 x 1000 µL	Negatif Kontrol <b>(Kontaminasyon kontrolü amacıyla, her işletimde test ediniz.)</b>			
<b>GE Strip</b>	120 Adet		<b>A:</b> GE-SAPO Oligo Mix  <b>B:</b> GE-YPEC Oligo Mix  <b>C:</b> GE-GCC Oligo Mix  <b>D:</b> GE-ANRA Oligo Mix  <b>E:</b> GE-CVVS Oligo Mix  <b>F:</b> GE-ET1 Oligo Mix  <b>G:</b> GE-ET2 Oligo Mix  <b>H:</b> GE-CTX Oligo Mix	<b>Kanal</b> <b>FAM</b> <b>HEX</b> <b>ROX</b> <b>CY5</b>	<b>Hedef</b> Sapovirus (GI/ GII/ GIV/ GV) Dahili Kontrol (IC); insan <i>RNase P</i> - - <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> Entamoeba histolytica Cryptosporidium spp. Giardia lamblia <i>Clostridium difficile</i> - Cyclospora cayetanensis Astrovirus Norovirus (GI/ GII) Rotavirus (A) Adenovirus <i>Salmonella</i> spp. <i>Campylobacter</i> spp. <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Shigella</i> / Enteroinvasive <i>E.coli</i> (EIEC) - Enteroaggregative <i>E. coli</i> (EAEC) Shiga toxin producing <i>E.coli</i> (STEC) Enteropathogenic <i>E.coli</i> (EPEC) - - Enterotoxigenic <i>E.coli</i> (ETEC) <i>Clostridium difficile</i> toxin B - - <i>Clostridium difficile</i> toxin A <i>Clostridium difficile</i> Binary toxin A/B

		Kuyu	İçerik ( <b>Reaktif stabilite kontrolü için, her işletimde test ediniz.</b> )
			20 Adet
		B: Pozitif Template Kontrol ve GE-YPEC Oligo Mix	
		C: Pozitif Template Kontrol ve GE-GCC Oligo Mix	
		D: Pozitif Template Kontrol ve GE-ANRA Oligo Mix	
		E: Pozitif Template Kontrol ve GE-CVVS Oligo Mix	
		F: Pozitif Template Kontrol ve GE-ET1 Oligo Mix	
		G: Pozitif Template Kontrol ve GE-ET2 Oligo Mix	
		H: Pozitif Template Kontrol ve GE-CTX Oligo Mix	

#### Kullanıcı Tarafından Sağlanacak Olan Cihaz ve Ekipmanlar

- 1) Real-Time PCR Cihazı: FAM/HEX/ROX/Cy5 (Green/Yellow/Orange/Red) kanallı, Ramp rate  $\geq 3$  °C/sec.
- 2) 1-10  $\mu$ L mikropipet ve uyumlu pipet ucu (DNaz ve RNaz içermeyen)
- 3) Spin Santrifüj: min. 3000 rpm (8'li Strip ve 2 mL mikrotüp ile uyumlu)
- 4) Vorteks

#### Kullanılması önerilen ekstra ekipmanlar:

- 5) PCR kurulumu için UV kabini
- 6) Soğuk Tüp standı (2 mL ve 0,2 mL)
- 7) Tek kullanımlık, pudrasız, nitril eldiven.

<sup>[1]</sup> **Raf ömrü:** 18 ay; kutunun üzerindeki son kullanma tarihine bakınız. Depolama sıcaklığında saklanan her bir reaktif, tüp üzerinde belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir. Kitin son kullanma tarihi reaktiflerin son kullanma tarihine göre belirlenmektedir.

#### Kullanım Amacı ve Test Prensipleri

Akut gastroenterit; ishal, bulantı, kusma, ateş, karın ağrısı, tenesmus, özellikle çocuklarda ve yaşlılarda dehidratasyon bulguları ile seyreden klinik tablodur. Çocuklarda ve yaşlılarda morbidite ve mortalite oranları yüksektir ve uygun tedavi için etkenin hızlı ve doğru tanısı gereklidir. Kit, Tablo 1'de verilen bakteriyel, viral ve parazitik etkenlerin klinik örneklerde hızlı ve doğru tanısı amacıyla kullanılmaktadır. Kit, dışkı örneklerinden 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 60 dakikadan kısa bir sürede gerçekleştirilebilmektedir.

#### Kitin Analitik Özellikleri

Kit, Roche LightCycler® 96, ABI 7500 / 7500 Fast (Thermo), Bio-Rad CFX96 Touch™, Qiagen Rotor-Gene® 5 Plex Real Time PCR Sistemleri ile valide edilmiştir ve bu sistemler ile tam uyumludur. Tablo 1'de verilen etkenlerin referans suşları ve saha izolatları üzerinde yapılan analitik spesifikite çalışmalarında herhangi bir çapraz reaksiyon gözlenmemiştir. Kitin tespit limiti (LoD), %95 ihtimalle tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonudur. Kitin tüm hedefler için tespit limiti (LoD) 1 kopya genom/reaksiyon'dur. Kit, RINA™ M14 Dışkı Nükleik Asit İzolasyon Sistemi ve Kiti (Kat No: RN-NA-14-104-192) ve Bio-Speedy® Dışkıdan Nükleik Asit İzolasyon Kiti (Kat No: BS-NA-104-100) ile kullanıldığında, klinik dışkı örneklerinde yer alan DNA hedefleri için LoD değeri 10 kopya etken/mL; RNA hedefleri için LoD değeri 100 kopya etken/mL'dir. Kitin rölatif duyarlılığı ve özgüllüğü Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC) protokollerine uygun şekilde, 500 klinik örnek üzerinde test edilmiştir. Kitin rölatif duyarlılığı %97, rölatif özgüllüğü ise %95' dir.

## Uyarılar

- 1) Kit, nükleik asit kaynaklarından ve qPCR ampikonlarından uzak bir yerde muhafaza edilmelidir.
- 2) Kit içeriğindeki bileşenler farklı lot numaralı bileşenler ile ya da aynı isimli fakat farklı üreticilere ait kimyasal maddeler ile karıştırılmamalıdır.
- 3) PCR kurulumu mümkünse soğuk blok üzerinde gerçekleştirilmelidir.
- 4) qPCR mikslerinin tüplere dağıtıldığı alan ile, kalıp nükleik asitlerin tüplere eklendiği alanın ayrı odalarda ya da farklı tezgahlarda olması sağlanmalıdır.
- 5) Stripler, kalıp nükleik asit dağıtıldıktan sonra spin santrifüj ile çeperde kalan sıvıların dipte toplanması sağlandıktan sonra PCR cihazına yüklenmelidir.
- 6) Kalıp nükleik asit ve pozitif kontrol tüpleri, sıvı transferleri dışında sürekli kapalı tutulmalıdır.
- 7) Analizin gerçekleştirildiği odalar, tezgahlar ve cihazların silinebilir yüzeyleri düzenli olarak %10 NaClO ile temizlenmelidir.
- 8) qPCR'ı tamamlanmış reaksiyon tüpleri laboratuvarında açılmadan bertaraf edilmelidir.

Reaksiyon kurulumunu Tablo 2’de belirtildiği şekilde gerçekleştiriniz ve qPCR cihazını Tablo 3’e göre programlayınız. qPCR tüplerini kapatınız, qPCR cihazına yerleştiriniz ve işletimi 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	GE Her hasta için 1 strip	2X Prime Script Mix	90 µL	15 µL
		Hasta örneği nükleik asit ekstraktı	45 µL	
		Toplam	135 µL	
Negatif Kontrol (NTC)	GE Her işletim için 1 strip	2X Prime Script Mix	90 µL	15 µL
		NTC	45 µL	
		Toplam	135 µL	
Pozitif Kontrol (PC)	PC-GE 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- 180 sn	95 °C- 10 sn	55 °C- 40 sn	FAM / HEX / ROX / Cy5 (Green/Yellow/Orange/Red)

## Test Sonuçlarının Yorumlanması

FAM/HEX/ROX/Cy5(Green/Yellow/Orange/Red) kanallarında elde edilen çoğalma eğrilerinin şekli incelenir ve sigmoidal olmayan eğriler “Negatif” olarak kaydedilir. Bir örneğe cihaz tarafından eşik döngü sayısı (Cq) atanmış ancak eğri sigmoidal değilse, sonuç “Negatif” olarak kaydedilmelidir. Cq<38 ise sonuç “Pozitif” olarak kaydedilir. Cq≥38 ise aynı nükleik asit örneği kullanılarak test tekrarlanır, eğer yine Cq≥38 ise hastadan alınan yeni bir örnek ile tüm analiz tekrarlanır.

**Tablo 4. Sonuçların Yorumlanması**

Template:	NA İzolatı		Pozitif Kontrol		Negatif Kontrol		Yorum
	Hedef	IC	Hedef	IC	Hedef	IC	
Durum 1	Poz	Poz	Poz	Poz	Neg	Neg	Hedef Pozitif
Durum 2	Poz	Poz	Neg	Neg	Neg	Neg	Hedef Pozitif: Örnek pozitif sonuç verdiği için kitin çalıştığı sonucuna varılır, hasta sonucu rapor edilir. Pozitif kontrolde sorunun devam etmesi durumunda, üretici ile irtibata geçip, yeni bir pozitif kontrol talep edilir.
Durum 3	Poz	Neg	Poz	Poz	Neg	Neg	Hedef Pozitif
Durum 4	Neg	Poz	Poz	Poz	Neg	Neg	Hedef Negatif
Durum 5	Poz	Poz	Poz	Poz	Poz	Neg	Kontaminasyon Problemi: Uyarılar bölümündeki hususlara dikkat edilerek deney tekrarlanır.
Durum 6	Neg	Poz	Poz	Poz	Poz	Neg	Hedef Negatif: Hedef negatif çıktığı için kontaminasyon problemi yoktur. Kit içeriği ile birlikte sağlanan ve negatif kontrol örneğine eklenen NTC kontamine olmuş olabilir. Sorunun devam etmesi durumunda, üretici ile irtibata geçip, yeni bir negatif kontrol talep edilir.
Durum 7	Neg	Neg	Poz	Poz	Neg	Neg	Örneklem/Ekstraksiyon/İnhibisyon Problemi: Nükleik asit izolatu 1/10 seyreltilip, deney tekrarlanır. Seyreltilen örnek HEX kanalında pozitif sonuç vermezse yeni örnek istenir.
Durum 8	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Reaktif Problemi: Üretici ile irtibata geçilerek, reaktifler yenilenir ve reaksiyon tekrarlanır.
Durum 9	Neg	Poz	Poz	Poz	Neg	Poz	Eğer negatif kontrol reaksiyonundaki IC Cq değeri, NA izolatından elde edilen IC Cq değerinden 3 döngü veya daha yüksekse, sonuç değerlendirilir, negatif olarak rapor edilir. Aksi takdirde, örneklem/ekstraksiyon/inhibisyon problemi sonucuna varılır.
Durum 10	Poz	Poz	Poz	Poz	Neg	Poz	Hedef Pozitif: Negatif kontrolde hedef negatif, NA izolatında hedef pozitif olduğu için, IC'deki kontaminasyon göz önüne alınmadan, örnek pozitif olarak rapor edilir.



**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.