



# Bio-Speedy® Meningenjit/Ensefalit RT-qPCR MX-17S Panel



Kat. No: BS-ME-MX17S-100  
Kılavuz Versiyon: 201220-2  
Kullanım Onay Tarihi: 20.12.2020

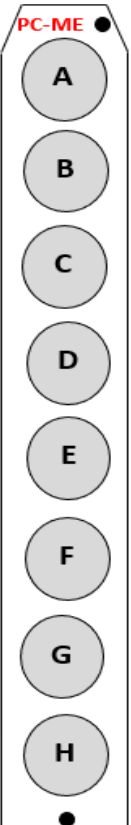
## 100 Test Kullanım Kılavuzu

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	7 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> )							
ME Strip	120 Adet		Strip	Kuyu İçerik	Kanal	Hedef			
							A: ME-MIC Oligo Mix	FAM	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
								HEX	Dahili Kontrol (IC); insan <i>RNAse P</i>
								ROX	-
							B: ME-LNS Oligo Mix	CY5	<i>Cryptococcus gattii/ neoformans</i>
								FAM	<i>Listeria monocytogenes</i>
								HEX	-
							C: ME-HSE Oligo Mix	ROX	<i>Neisseria meningitidis</i>
								CY5	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
								FAM	<i>Haemophilus influenza</i>
							D: ME-CEPV Oligo Mix	HEX	<i>Escherichia coli</i>
								ROX	<i>Streptococcus agalactiae</i>
								CY5	-
							E: ME-HERP Oligo Mix	FAM	Cytomegalovirus
								HEX	Enterovirus
								ROX	Parechovirus
							F: ME-HSV Oligo Mix	CY5	Varicella Zoster Virus
								FAM	Human Herpesvirus 6
								HEX	-
							G: Boş	ROX	Human Herpesvirus 7
								CY5	Human Herpesvirus 8
								FAM	Herpes simplex virüs 1
							H: Boş	HEX	-
								ROX	-
								CY5	Herpes simplex virüs 2
							G: Boş	FAM	-
								HEX	-
								ROX	-
H: Boş	CY5	-							
	FAM	-							
	HEX	-							
G: Boş	ROX	-							
	CY5	-							
	FAM	-							
H: Boş	HEX	-							
	ROX	-							
	CY5	-							

PC-ME Strip	20 Adet	Strip	İçerik (Reaktif stabilite kontrolü için, her işletimde test ediniz)
			A: Pozitif Kontrol Template ve ME-MIC Oligo Mix
	B: Pozitif Kontrol Template ve ME-LNS Oligo Mix		
	C: Pozitif Kontrol Template ve ME-HSE Oligo Mix		
	D: Pozitif Kontrol Template ve ME-CEPV Oligo Mix		
	E: Pozitif Kontrol Template ve ME-HERP Oligo Mix		
	F: Pozitif Kontrol Template ve ME-HSV Oligo Mix		
	G: Boş		
	H: Boş		
Kullanıcı Tarafından Sağlanacak Olan Cihaz ve Ekipmanlar			
<b>1)</b> Real-Time PCR Cihazı: FAM/HEX/ROX/Cy5 (Green/Yellow/Orange/Red) kanallı, Ramp rate $\geq 3$ °C/sec. <b>2)</b> 1-10 $\mu$ L mikropipet ve uyumlu pipet ucu (DNaz ve RNaz içermeyen) <b>3)</b> Spin Santrifüj: min. 3000 rpm (8'li Strip ve 2 mL mikrotüp ile uyumlu) <b>4)</b> Vorteks		<b>Kullanılması önerilen ekstra ekipmanlar:</b> <b>5)</b> PCR kurulumu için UV kabini <b>6)</b> Soğuk Tüp standı (2 mL ve 0,2 mL) <b>7)</b> 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

Enfeksiyöz nörolojik bozukluk (menenjit, ensefalit, myelit, radikülit, ventrikülit, serebrit, serebral ya da spinal apse, kist, ekstradural apse, diskrit, granulom, postenfeksiyöz ensefalit /serebellit/ myelit ya da radikülönöropati) belirtileri belli bir etkeni işaret etmeyebilir ve etkenin konvansiyonel yöntemlerle izolasyonu zordur. Bu gibi durumlarda etkenin hızlı ve doğru tanısı uygun tedavi için gereklidir. Kit, Tablo 1'de verilen bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyöz nörolojik bozukluk etkenlerinin klinik örneklerde hızlı ve doğru tanısı amacıyla kullanılmaktadır. Kit beyin omurilik sıvısı (BOS) 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 90 dk'dan kısa bir sürede gerçekleştirilebilmektedir.

### Kitin Analitik Özellikleri

Kit Roche LightCycler® 96, ABI 7500 / 7.500 Fast (Thermo), Bio-Rad CFX96 Touch™, Qiagen Rotor-Gene® 5 Plex Real Time PCR Sistemi ile valide edilmiştir ve tam uyumludur. Tablo 1'de verilen etkenlerin referans suşları ve saha izolatları üzerinde yapılan analitik özgüllük çalışmalarında çapraz reaksiyon gözlenmemiştir. Kitin tespit limiti (LoD), %95 ihtimalle tespit edilebilen en düşük analitik konsantrasyonudur. Kitin tüm hedefler için tespit limiti (LoD) 1 kopya genom/reaksiyon'dur. Kit; RINA™ M14 Viral Nükleik Asit İzolasyon Sistemi ve Kiti (Kat No: RN-NA-14-109-192) ve Bio-Speedy® Viral Nükleik Asit İzolasyon Kiti (Kat No: BS-NA-109-100) ile kullanıldığında, klinik BOS 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 özgülüğü, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC) protokollerine uygun şekilde, 500 klinik örnek üzerinde test edilmiştir. Kitin rölatif duyarlılığı %100, rölatif özgülüğü ise %97'dir.

## Uyarılar

- 1) Kit, nükleik asit kaynaklarından ve qPCR ampliconlarından 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 mikserlerinin 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'luk 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.

**Table 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 ve F kuyularına dağıtılacak miktar
Hasta Numunesi	ME 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)	ME Her işletim için 1 strip	2X Prime Script Mix	90 µL	15 µL
		NTC	45 µL	
		Toplam	135 µL	
Pozitif Kontrol (PC)	PC- ME 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 izolatı 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.