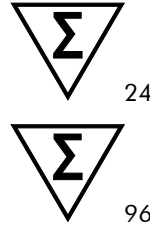


Ekim 2015

# artus<sup>®</sup> M. tuberculosis RG PCR Kiti El Kitabı



Versiyon 1

Kantitatif in vitro diagnostik

Rotor-Gene<sup>®</sup> Q aletleriyle kullanılmak üzere

IVD

CE

REF



R5 MAT

4555263 (24 reaksiyon)  
4555265 (96 reaksiyon)

QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1  
40724 Hilden  
ALMANYA

1046960TR

# İçindekiler

Kullanım Amacı.....	4
Özet ve Açıklama .....	4
İşlemin Prensibi .....	4
Sağlanan Materyal .....	6
Kit içeriği.....	6
Gereken ama Sağlanmayan Materyal .....	7
Uyarılar ve Önlemler .....	8
Uyarılar .....	8
Reaktif Saklama ve Muamele.....	8
İşlem.....	9
Başlamadan önce önemli noktalar.....	9
DNA izolasyonu .....	10
Dahili Kontrol .....	11
Kantitasyon .....	12
Rotor-Gene Q aletlerinde PCR.....	13
Sonuçların Yorumlanması .....	19
Sorun Giderme .....	21
Kalite Kontrol .....	23
Sınırlamalar.....	23
Performans Özellikleri.....	24
Analitik hassasiyet .....	24
Özgüllük .....	25
Kesinlik .....	27
Güçlülük .....	29
Tekrar Üretilirlik .....	29
Referanslar .....	30
Semboller .....	30
Sipariş Bilgisi .....	32



## Kullanım Amacı

*artus M. tuberculosis* RG PCR Kiti *M. tuberculosis* kompleksinin tüm üyelerinin (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. microti*, *M. pinnipedii*) insan balgamı, BAL, bronşiyal sekresyon, BOS, mide sıvısı veya peritoneal ponksiyon örneklerinde saptanması için bir in vitro nükleik asit amplifikasyon testidir. Bu diagnostik kit, polimeraz zincir reaksiyonunu (PCR) kullanır ve Rotor-Gene Q aletleriyle kullanılmak üzere konfigüre edilmiştir.

## Özet ve Açıklama

Tüberküloz (TB) halen dünya çapında en önemli enfeksiyöz hastalıklardandır. Dünya popülasyonunun üçte biri olan iki milyar civarında kişi TB'nin etkeni olan *Mycobacterium tuberculosis* ile enfektedir. Dünya çapında TB insidansı 8 milyon civarındadır ve her yıl yaklaşık 3 milyon kişi bu hastalıktan ölür. TB, gelişmiş ülkelerde tekrar ortaya çıkmakta olan bir hastalıktır ve bunun temel nedeni enfekte kişilerin göçü ve ilaca dirençli TB gelişmesidir. Evsiz kişiler, ilaç kullanıcıları ve immün yetmezliği olan kişiler bu hastalıktan daha çok etkilenir.

TB kronik ve döngüsel bir hastalıktır ve temel olarak akciğeri ve ilgili lenf nodlarını etkiler. Ancak hastanın bağışıklık durumuna bağlı olarak *M. tuberculosis* bakterileri diğer organları da kolonize edebilir. TB kişiden kişiye temel olarak aerosoller yoluyla bulaşır. Sadece aktif hastalığı olan kişiler bulaşıcıdır. Özellikle immün yetmezliği olan kişilerde *M. tuberculosis* bakterisi ilk enfeksiyondan yıllar sonra bile tekrar aktive olabilir.

## İşlemin Prensipleri

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile patojene tanı konması patojen genomunun spesifik bölgelerinin amplifikasyonunu temel alır. Gerçek zamanlı PCR ile amplifiye edilen ürün floresan boyalar yoluyla saptanır. Bunlar genellikle amplifiye edilmiş ürüne spesifik olarak bağlanan oligonükleotid problemleriyle bağlantılıdır. PCR çalışması sırasında (yani, gerçek zamanlı olarak) floresans şiddetlerinin izlenmesi PCR çalışması sonrasında reaksiyon tüplerinin tekrar açılmasına gerek kalmadan biriken ürünün saptanması ve kantitasyonunu mümkün kılar (1).

*artus M. tuberculosis* RG PCR Kiti, Rotor Gene Q aletlerinde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak *M. tuberculosis* kompleksinin tüm üyelerinin (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. microti*, *M. pinnipedii*) saptanması için kullanıma hazır bir sistem oluşturur. *M. tuberculosis* RG Master, mikobakteriyel genomda 159 bp bölgenin spesifik amplifikasyonu için ve Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q veya Rotor-Gene 6000 **Cycling Green** floresans kanalında veya

---

RotorGene 3000 **Cycling A.FAM** floresans kanalında spesifik ampliconun doğrudan saptanması için gerekli reaktifleri ve enzimleri içerir.

Ayrıca, *artus M. tuberculosis* RG PCR Kiti olası PCR inhibisyonunu tanımlamak için ikinci bir heterolog amplifikasyon sistemi içerir. Bu Rotor Gene Q MDx, Rotor-Gene Q veya Rotor-Gene 6000 veya **Cycling Yellow** floresans kanalında veya Rotor-Gene 3000 **Cycling A.JOE** floresans kanalında bir dahili kontrol (IC) olarak saptanır. Bu dahili kontrolün amplifikasyonu ve saptanması analitik *M. tuberculosis* kompleksi PCR'ının saptama limitini azaltmaz (bakınız "Analitik hassasiyet," sayfa 24). Harici pozitif kontroller (*M. tuberculosis* RG/TM QS 1–4) sağlanır ve bunlar patojen yükünün belirlenmesini sağlar. Daha fazla bilgi için bakınız "Kantitasyon," sayfa 12.

# Sağlanan Materyal

## Kit ięerięi

<i>artus M. tuberculosis</i> RG PCR Kit				
Katalog numarası		4555263	4555265	
Reaksiyon sayısı		24	96	
Kapak rengi	Reaktif adı	Sembol	Miktar	Miktar
Mavi	<i>M. tuberculosis</i> RG Master		2 x 12 reaksiyon	8 x 12 reaksiyon
Sarı	<i>M. tuberculosis</i> RG Mg-Sol*	<b>Mg-Sol</b>	1 x 400 µl	1 x 400 µl
Kırmızı	<i>M. tuberculosis</i> RG/TM QS <sup>†</sup> 1 (3 x 10 <sup>4</sup> kopya/µl)	<b>QS</b>	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Kırmızı	<i>M. tuberculosis</i> RG/TM QS 2 (3 x 10 <sup>3</sup> kopya/µl)	<b>QS</b>	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Kırmızı	<i>M. tuberculosis</i> RG/TM QS 3 (3 x 10 <sup>2</sup> kopya/µl)	<b>QS</b>	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Kırmızı	<i>M. tuberculosis</i> RG/TM QS 4 (3 x 10 <sup>1</sup> kopya/µl)	<b>QS</b>	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Yeşil	<i>M. tuberculosis</i> RG IC <sup>‡</sup>	<b>IC</b>	1 x 1000 µl	2 x 1000 µl
Beyaz	Su (PCR sınıfı)		1 x 1000 µl	1 x 1000 µl

\* Mg-Sol: Magnezyum solüsyonu.

† QS: Kantitasyon Standardı

‡ IC: Dahili Kontrol

## Gereken ama Sağlanmayan Materyal

**Önemli:** Bu işlemlerde kullanılan aletlerin üreticinin önerilerine göre kontrol edildiği ve kalibre edildiğinden emin olun.

- Tek kullanımlık pudrasız eldivenler
- QIAamp® DNA Mini Kiti (QIAGEN, kat. no. 51304)
- Lizozim karışımı (bakınız sayfa 10)
- Pipetler (ayarlanabilir)
- Filtreli steril pipet uçları
- Vorteks karıştırıcı
- 37°C'den 95°C'ye ısıtılabilen ısıtma bloğu veya termomikser
- 2 ml reaksiyon tüpleri için rotorlu tezgah santrifüjü
- **Cycling Green** ve **Cycling Yellow** için floresans kanallı veya **Cycling A.FAM** ve **Cycling A.JOE** için floresans kanallı Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q veya Rotor-Gene aleti
- Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q yazılım versiyonu 1.7.94 veya üstü (Rotor-Gene 6000 yazılım versiyonu 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94; Rotor-Gene 3000 yazılım versiyonu 6.0.23)
- Strip Tüpleri ve Kapakları, 0,1 ml, 72 kuyulu rotor ile kullanım için (kat. no. 981103 veya 981106)
- Alternatif olarak: PCR Tüpleri, 0,2 ml, 36 kuyulu rotor ile kullanım için (kat. no. 981005 veya 981008)
- Soğutma bloğu (Yükleme Bloğu 72 x 0,1 ml Tüp, kat. no. 9018901 veya Yükleme Bloğu 96 x 0,2 ml Tüp, kat. no. 9018905)

## Uyarılar ve Önlemler

Kullanıcı şunlara daima dikkat etmelidir:

- Filtreli steril pipet uçları kullanın.
- Pozitif materyali (örnekler, kontroller ve amplikonlar) tüm diğer reaktiflerden ayrı saklayın ve ekstrakte edin ve bunu reaksiyon karışımına konumsal açıdan ayrılmış bir yerde ekleyin.
- Bir tahlile başlamadan önce tüm bileşenleri oda sıcaklığında iyice çözün.
- Çözüldüğünde bileşenleri karıştırın ve kısa süre santrifüje edin.
- Hızlı çalışın ve bileşenleri buz üzerinde veya soğutma bloğunda tutun (72/96 kuyulu yükleme bloğu).

### Uyarılar

*artus M. tuberculosis* RG PCR Kitinin güvenlik bilgisi için lütfen uygun güvenlik veri sayfalarına (SDS'ler) başvurun. SDS'ler çevrim içi olarak kullanımı kolay ve kompakt PDF formatında [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) adresinde bulunmaktadır.

## Reaktif Saklama ve Muamele

*artus M. tuberculosis* RG PCR Kiti bileşenleri -15 ila -30°C'de saklanmalıdır ve etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir. Tekrarlanan dondurma ve çözmeden (> 2x) kaçınılmalıdır çünkü hassasiyeti azaltabilir. Reaktifler sadece arada kullanılacaksa alikotlar halinde dondurulmaları gerekir. 2-8°C'de saklama 5 saatlik bir dönemi geçmemelidir.



# İşlem

## Başlamadan önce önemli noktalar

- Ekstraksiyon etkinliği ve sonuçta DNA/RNA verimi açısından taşıyıcı RNA kullanılması çok önemlidir. Taşıyıcının (RNA Homopolimer Poli[rA]; QIAamp DNA Mini Kiti'ne dahil edilmemiştir) DNA/RNA içeriği düşük olan materyal ve hücresiz vücut sıvılarından (örn., BOS) nükleik asitlerin ekstraksiyonu için kuvvetle önerilir.
- Liyofilize taşıyıcı RNA'yı (RNA Homopolimer Poli[rA]; QIAamp DNA Mini Kiti'ne dahil edilmemiştir) ekstraksiyon kitinin elüsyon tamponunu (QIAamp DNA Mini Kiti Tampon AE) kullanarak (lizis tamponu kullanmayın) tekrar süspansiyon haline getirin ve 1 µg/µl konsantrasyonlu bir dilüsyon hazırlayın. Bu taşıyıcı RNA'yı gereksinimleriniz için yeterli alikot sayısına bölün ve -15°C - -30°C'de saklayın. Taşıyıcı RNA alikotunun tekrarlanan çözülmesinden (> 2x) kaçınin.
- 100 µl lizis tamponu başına 1 µg taşıyıcı RNA kullanın. Örneğin ekstraksiyon protokolü 200 µl lizis tamponu öneriyorsa, lizis tamponu (QIAamp DNA Mini Kiti Tampon AL) içine doğrudan 2 µl taşıyıcı RNA (1 µg/µl) ekleyin. Her ekstraksiyona başlamadan önce lizis tamponu, taşıyıcı RNA ve dahili kontrolün (bakınız "Dahili Kontrol", sayfa 11) bir karışımı aşağıdaki pipetleme şemasına göre taze olarak hazırlanmalıdır.

Reaktif	Örneklerin sayısı	
	1	12
Tampon AL (lizis tamponu)	örn., 200 µl	örn., 2400 µl
Taşıyıcı RNA (1 µg/µl)	2 µl	24 µl
Dahili kontrol	10 µl	120 µl
<b>Toplam hacim</b>	<b>212 µl</b>	<b>2544 µl</b>
<b>Ekstraksiyon başına hacim</b>	<b>200 µl</b>	<b>her biri 200 µl</b>

- Taze hazırlanmış lizis tamponu, dahili kontrol ve taşıyıcı RNA **karışımını** ekstraksiyon için kullanın. Karışımın saklanması mümkün **değildir**.
- *artus M. tuberculosis* RG PCR Kiti fenol bazlı izolasyon yöntemleriyle kullanılmamalıdır.
- **Önemli:** *artus M. tuberculosis* RG PCR Kiti dahili kontrolü doğrudan izolasyon işleminde kullanılır (bakınız "Dahili Kontrol", sayfa 11).

## DNA izolasyonu

DNA izolasyonu öncesinde büyük örnek hacimleri veya yüksek ölçüde asidik örnekler sırasıyla önce konsantre edilmeli veya nötralize edilmelidir. Balgam analizi için NALC-NaOH dekontaminasyonu öneririz; mide sıvısı fosfat tamponuyla nötralize edilmelidir. Son santrifügasyon sonrasında bakteri peleti aşağıdaki DNA izolasyonu için kullanılabilir.

QIAamp DNA Mini Kiti (kat. no. 51304) insan balgamı, BAL, bronşiyal sekresyon, BOS, mide sıvısı veya peritoneal ponksiyon ile *artus M. tuberculosis* RG PCR Kitiyle kullanılmak üzere mikobakteriyel DNA saflaştırma için doğrulanmıştır.

Mikobakterilerin etkin ve kontaminasyonsuz lizisini sağlamak üzere DNA saflaştırmayı *QIAamp DNA Mini* ve *Kan Mini El Kitabındaki* protokollerden farklı olan aşağıdaki adımlara göre yapın.

**Önemli:** 95°C'de inkübasyon öncesindeki tüm pipetleme adımlarının örnekler enfeksiyöz olabileceğinden bir sınıf II emniyet kabiniinde yapılması gerekir.

1. 250 µl ila 500 µl NALC-NaOH-dekontamine örneği bir 1,5 ml vidalı kapaklı tüpe aktarın.
  - Vidalı kapaklı tüplerin kullanılması kesinlikle şarttır.
  - Vidalı kapaklı tüpler daima sıkıca kilitlemelidir.
2. Bir masaüstü santrifüjünde 10 dakika 17.000 x g (13.000 devir/dk) hızında santrifüje edin.
3. Süpernatanı pipetleme yoluyla dikkatle atın.
  - Tüp kapağının içine dokunmayın. Aksi halde kontamine olmuş olabilecek eldiveni hemen değiştirin.
4. 180 µl lizozim karışımı (20 mg/ml lizozim; 20 mM Tris-HCl (pH 8.0); 2 mM EDTA; %1,2 Triton™) ekleyin ve peleti yukarı ve aşağı pipetleyerek tekrar süspansiyon haline getirin.
5. Bir ısıtma bloğu veya termomikser içinde 37°C'de en az 1 saat inkübe edin.
  - Bir su banyosunun kullanılması önerilmez.
6. Kapak içinden damlaları gidermek üzere kısa süre santrifüje edin.
  - Her inkübasyon adımından sonra tüp kapağının içindeki damlaları gidermek için kısa süre santrifüje edin.
7. 20 µl Proteinaz K ve 200 µl AL tamponunu taşıyıcı RNA ve IC ile ekleyin (bakınız yukarı ve "Dahili Kontrol," sayfa 11).
  - Tüp kapağının içine dokunmayın. Aksi halde kontamine olmuş olabilecek eldiveni hemen değiştirin.
8. Vortekslemeyle iyice karıştırın.

9. Bir ısıtma bloğu veya termomikser içinde 56°C'de en az 30 dakika inkübe edin.

- Bir su banyosunun kullanılması önerilmez.

10. Kapak içinden damlaları gidermek üzere kısa süre santrifüje edin.

- Her inkübasyon adımından sonra tüpü kapağın içindeki damlaları gidermek için kısa süre santrifüje edin.

11. 95°C'de 15 dakika inkübe edin.

**Önemli:** İnkübasyon süresi bunu geçmemelidir yoksa DNA bozulmasına yol açabilir.

12. **Not:** Örnekler ancak 95°C'de inkübasyon tamamlandıktan sonra artık bulaşıcı değildir.

Örneği oda sıcaklığına soğutun.

- Örneklerin 95°C ısıtma adımından sonra oda sıcaklığına soğuduğundan emin olun yoksa tüp açıldıktan sonra aerosol aracılıklı kontaminasyon riski son derece yüksektir.

13. Kapak içinden damlaları gidermek üzere kısa süre santrifüje edin.

“Protokol: Dokulardan DNA Saflaştırma” kısmını *QIAamp DNA Mini ve Kan Mini El Kitabı* (Üçüncü Edisyon, Haziran 2012) içinde adım 6'da etanol eklenmesiyle başlayarak izleyin ve son DNA elüsyonunu 100 µl Tampon AE kullanarak yapın.

- QIAamp döndürme kolonunun kenarını ıslatmadığınızdan emin olun.
- QIAamp döndürme kolonunun kapağına içeriden dokunmayın. Aksi halde kontamine olmuş olabilecek eldiveni hemen değiştirin.
- Aynı pipet ucunu farklı örnekler için, yıkama tamponu AW1 ve AW2'yi veya elüsyon tamponu AE'yi uygulamak için bile kullanmayın. Buna uyulması örnekler arasında çapraz kontaminasyonu ve bir tamponun kontaminasyonunu önler.
- Her 2 ml toplama tüpünü sadece bir kez kullanın. Toplama tüpü biterse 2 ml mikrosantrifüj tüpleri de kullanabilirsiniz ama bunların kapaklarının kullanımdan önce çıkarılması gerekir.
- Herhangi bir kalan etanolü gidermek için protokolda adım 10'da önerilen santrifügasyon adımının yapılmasını kuvvetle öneririz. Bu santrifügasyon süresini 3 dakikaya arttırmayı öneriyoruz.

## Dahili Kontrol

Bir dahili kontrol (*M. tuberculosis* RG IC) sağlanmıştır. Bu durum kullanıcının hem DNA izolasyon prosedürünü kontrol etmesine hem de olası PCR inhibisyonunu kontrol etmesine izin verir. Bu uygulama için dahili kontrolü 1 µl elüsyon hacmi başına 0,1 µl oranında izolasyona ekleyin. Örneğin QIAamp DNA Mini Kiti kullanıldığında, DNA elüsyonu 100 µl Tampon AE içinde yapılır. Bu nedenle başlangıçta 10 µl dahili kontrol eklenmelidir. Dahili kontrol hacmi elüsyon hacmine

bağılıdır. 10 µl kullanılması **sadece** 100 µl elüsyon hacmi için geçerlidir (1 µl elüsyon hacmi başına 0,1 µl).

**Not:** Dahili kontrol ve taşıyıcı RNA (bakınız “DNA izolasyonu”, sayfa 10) sadece lizis tamponu ile örnek materyali karışımına veya doğrudan lizis tamponuna eklenmelidir.

Dahili kontrol örnek materyaline doğrudan eklenmemelidir. Lizis tamponuna eklenirse dahili kontrol ve lizis tamponu–taşıyıcı RNA karışımının taze olarak hazırlanıp hemen kullanılması gerektiğine dikkat edin. Karışımın oda sıcaklığı veya 4°C sıcaklıkta sadece birkaç saatliğine bile saklanması dahili kontrol başarısızlığı ve azalmış ekstraksiyon etkinliğine yol açabilir.

**Not:** Dahili kontrol ve taşıyıcı RNA'yı doğrudan örnek materyaline eklemeyin.

## Kantitasyon

Rotor-Gene Q aletleri üzerinde standart bir eğri oluşturmak için 4 kantitasyon standardının hepsi kullanılmalı ve belirtilen konsantrasyonlarla standartlar olarak **Edit Samples** (Örnekleri Düzenle) diyalog kutusunda tanımlanmalıdır (bakınız geçerli alet kullanım kılavuzu).

Yukarıda tanımlandığı şekilde oluşan standart eğri daha sonraki çalışmalar için de mevcut çalışmada verilen **bir** konsantrasyonlu en az bir standart kullanılması şartıyla kullanılabilir. Bu amaç için önceden oluşturulmuş standart eğrinin içe aktarılması gerekir (geçerli alet kullanım kılavuzuna başvurun). Ancak bu kantitasyon yöntemi farklı PCR çalışmaları arasında değişkenlik nedeniyle sonuçlarda sapmalara neden olabilir.

Doğru kantitasyon sağlamak için dahili kontrolü kantitasyon standartları için kullanılan M. tuberculosis RG Master ve M. tuberculosis RG Mg-Sol ürünlerine eklemeniz kuvvetle önerilir. Bu uygulama için dahili kontrolü bu protokolde adım 2 içinde (sayfa 13) tanımlandığı şekilde doğrudan M. tuberculosis RG Master ve M. tuberculosis RG Mg-Sol ürünlerine ekleyin ve bunu Master karışımını her kantitasyon standardı (M. tuberculosis RG/TM QS 1–4) için kullanın.

Kantitasyon standartları kopya/µl olarak tanımlanır. Aşağıdaki denklemin standart eğri kullanılarak belirlenen değerlerin kopya/ml örnek materyal olarak dönüştürülmesi için uygulanması gerekir.

$$\text{Sonuç (kopya/ml)} = \frac{\text{Sonuç (kopya/}\mu\text{l)} \times \text{Elüsyon hacmi (}\mu\text{l)}}{\text{Örnek hacmi (ml)}}$$

Prensip olarak başlangıç örnek hacmi yukarıdaki denkleme girilmelidir. Örnek hacmi nükleik asit ekstraksiyonu öncesinde değiştirildiğinde bunun dikkate alınması gerekir (örn. hacmin

santrifügasyonla azaltılması veya izolasyon için gerekli hacme ekleme yapılarak hacmin artırılması).

## Rotor-Gene Q aletlerinde PCR

- Protokole başlamadan önce Rotor-Gene Q aletine aşına hale gelmek için zaman ayırın. Alet kullanım kılavuzuna başvurun.
- Her PCR çalışmasında en az bir kantitasyon standardı ve ayrıca bir negatif kontrol (Su, PCR sınıfı) dahil edildiğinden emin olun. Standart bir eğri oluşturmak için her PCR çalışması için sağlanan 4 kantitasyon standardının (*M. tuberculosis* RG/TM QS 1–4) hepsini kullanın.
- Soğutma bloğunun (Rotor-Gene Q aletinin aksesuarı) 2–8°C'ye önceden soğutulduğundan emin olun.
- Her kullanımdan önce tüm reaktiflerin tamamen çözülmesi, karıştırılması (tekrarlanan yukarı - aşağı pipetleme veya hızlı vorteksleme ile) ve kısa süre santrifüje edilmesi gerekir.

1. İstenen sayıda PCR tüpünü soğutma bloğunun adaptörlerine yerleştirin.

2. Master karışımını aşağıdaki tablo uyarınca hazırlayın:

	Örneklerin sayısı	
	1	12
<i>M. tuberculosis</i> RG Master	13 µl	156 µl
<i>M. tuberculosis</i> RG Mg-Sol	2 µl	24 µl
<b>Toplam hacim</b>	<b>15 µl</b>	<b>180 µl</b>

3. Her PCR tüpüne master karışımdan 15 µl pipetleyin. Sonra elüsyon yapılmış örnek DNA'sından 10 µl ekleyin (aşağıdaki tabloya bakınız).

Buna karşılık olarak kantitasyon standartlarının (*M. tuberculosis* RG QS 1–4) en az birinden 10 µl pozitif kontrol olarak ve 10 µl su (Su, PCR sınıfı) negatif kontrol olarak kullanılmalıdır.

	Örneklerin sayısı	
	1	12
Master karışım	15 µl	her birinden 15 µl
Örnek	10 µl	her birinden 10 µl
<b>Toplam hacim</b>	<b>25 µl</b>	<b>her birinden 25 µl</b>

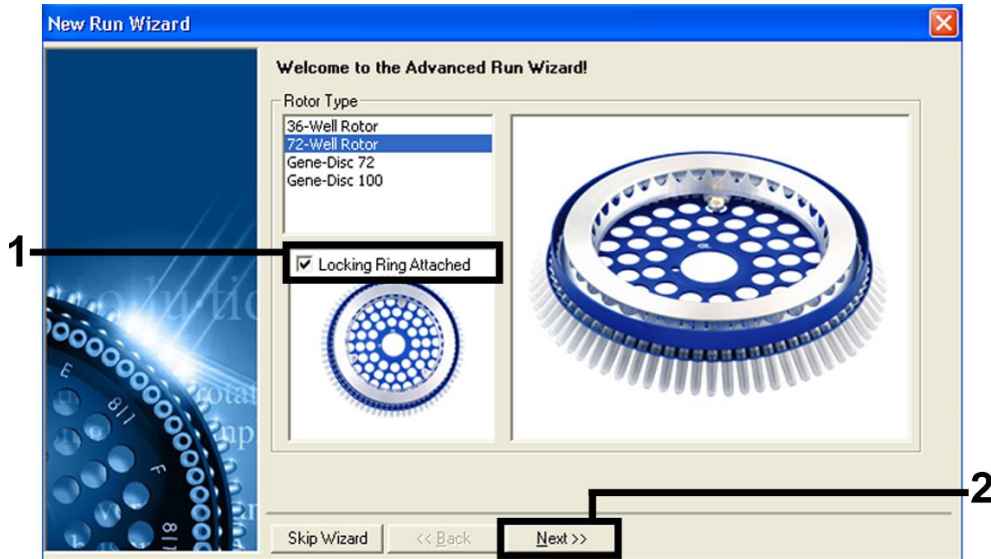
4. PCR tüplerini kapatın.
5. Kilitleme halkasının (Rotor-Gene aletinin aksesuarı) tüplerin çalışma sırasında yanlışlıkla açılmasını önlemek üzere rotorun üstüne yerleştirildiğinden emin olun.
6. *M. tuberculosis* kompleksinin tüm üyelerinin saptanması için aşağıdaki adımlara göre bir sıcaklık profili oluşturun.

Genel tahlil parametrelerini kurma	Şekil 1, 2 ve 3
Hot-start enziminin başlangıç aktivasyonu	Şekil 4
DNA amplifikasyonu	Şekil 5
Floresans kanalı hassasiyetini ayarlama	Şekil 6
Çalışmayı başlatma	Şekil 7

Tüm spesifikasyonlar Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q yazılım versiyonu 1.7.94, Rotor Gene 6000 yazılım versiyonları 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94 ve Rotor-Gene 3000 yazılım versiyonu 6.0.23 ile ilişkilidir. Rotor-Gene aletlerini programlamak ile ilgili ek bilgiyi ilgili kullanım kılavuzunda bulabilirsiniz.

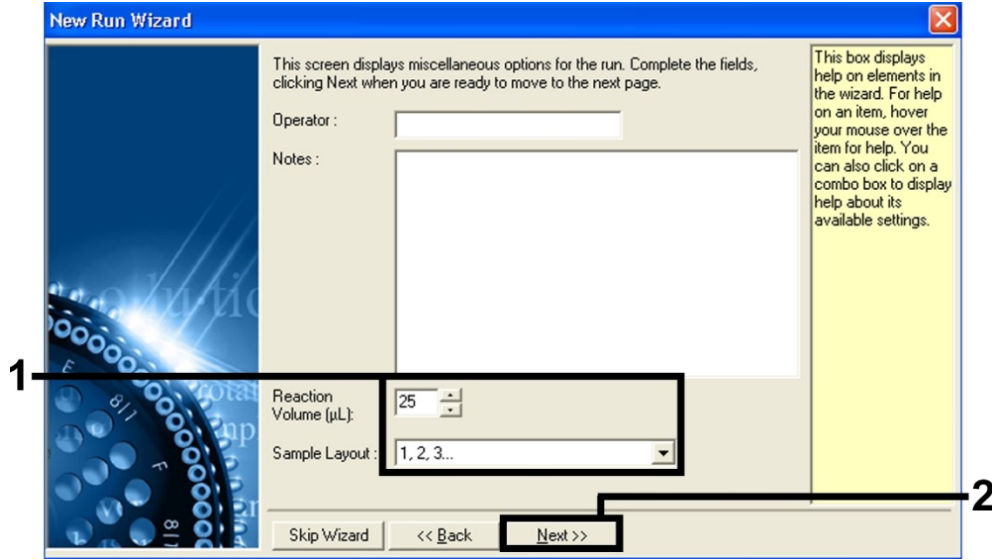
Şekillerde bu ayarlar kalın siyah çerçeveyle gösterilmiştir. Rotor-Gene Q aletleri için şekiller dahil edilmiştir. Rotor-Gene 3000 için farklı değer gerektiğinde bu farklar metinde tanımlanmıştır.

7. Önce **New Run Wizard** (Yeni Çalışma Sihirbazı) diyalog kutusunu açın (Şekil 1). **Locking Ring Attached** (Kilitleme Halkası Tutturulmuş) kutusunu seçin ve **Next** (Sonraki) kısmına tıklayın.



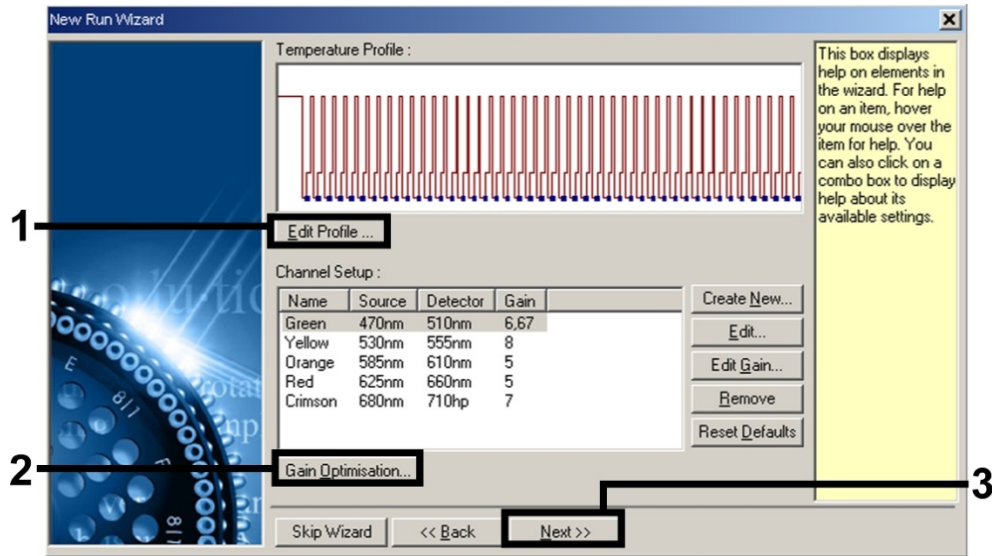
Şekil 1. New Run Wizard diyalog kutusu.

8. PCR reaksiyon hacmi için **25** seçin ve **Next** kısmına tıklayın (Şekil 2).

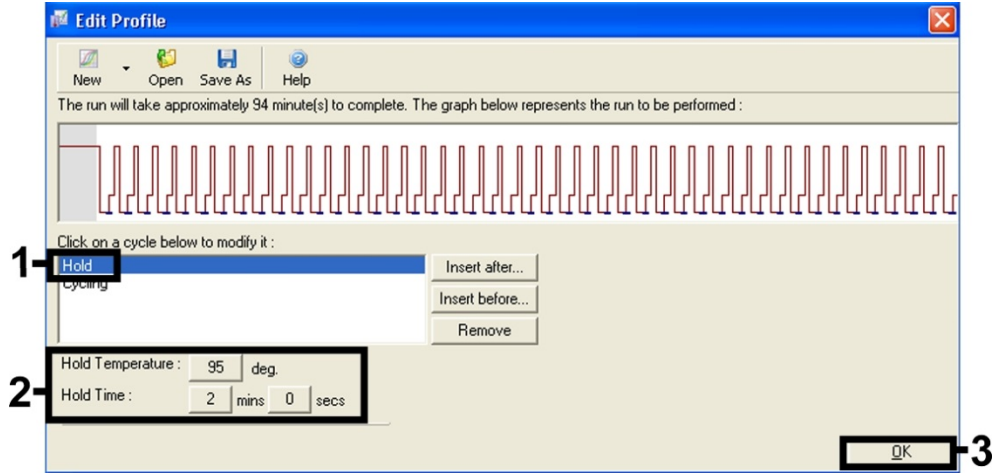


Şekil 2. Genel tahlil parametrelerini kurma.

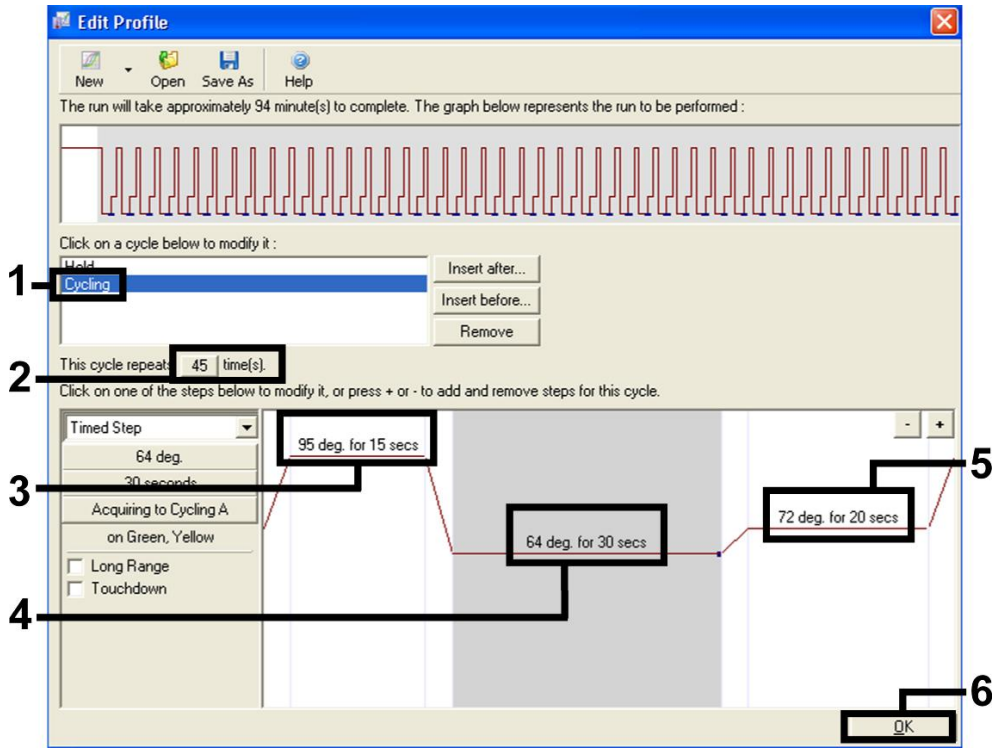
9. Sonraki **New Run Wizard** diyalog kutusunda **Edit Profile** (Profil Düzenle) düğmesine tıklayın (Şekil 3) ve sıcaklık profilini Şekil 4 ve 5'te gösterildiği gibi programlayın.



Şekil 3. Profili düzenleme.



Şekil 4. Hot-start enziminin başlangıç aktivasyonu.



Şekil 5. DNA amplifikasyonu.

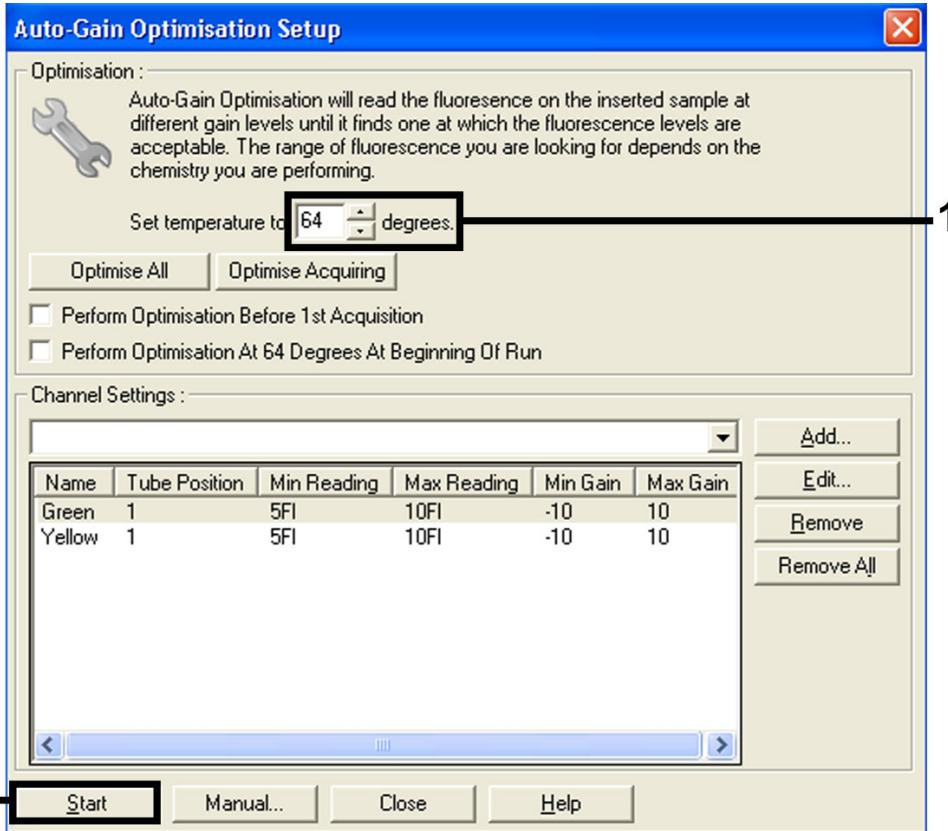
**Not:** Rotor-Gene 3000 üzerinde yazılım, floresans boya larını **FAM/Sybr®**, **JOE** olarak tanımlar.

10. Floresans kanalları için saptama aralığının PCR tüplerindeki floresans şiddetlerine göre belirlenmesi gerekir. **Auto-Gain Optimisation Setup** (Otomatik Kazanç Optimizasyon



Kurulumu) diyalog kutusunu açmak için **New Run Wizard** diyalog kutusunda **Gain Optimisation** (Kazanç Optimizasyonu) kısmına tıklayın (bakınız Şekil 3).

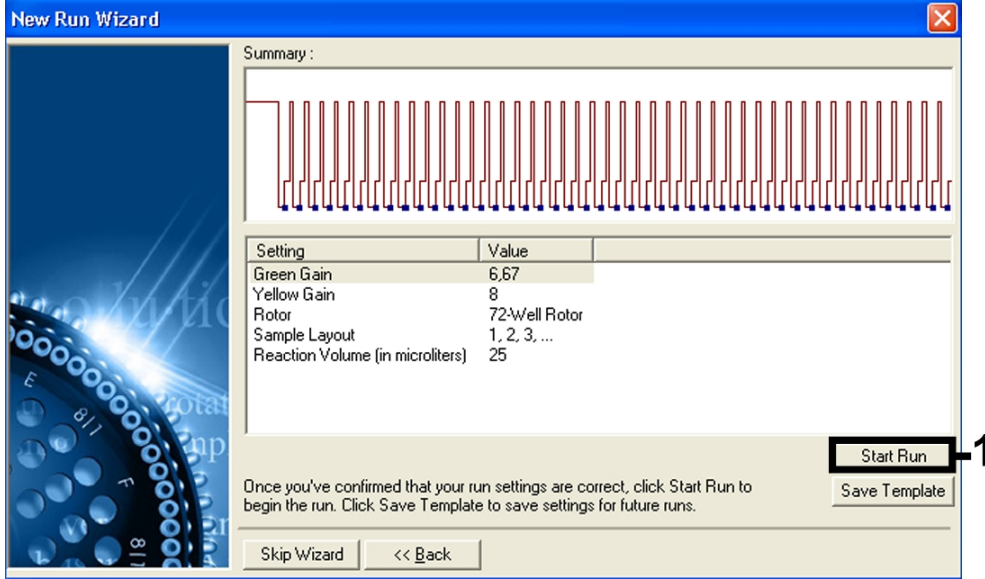
11. Kalibrasyon sıcaklığını, amplifikasyon programının birleştirme sıcaklığıyla eşleşmesi için **64** olarak ayarlayın (Şekil 6).



Şekil 6. Floresans kanalı hassasiyetini ayarlama.

**Not:** Rotor-Gene 3000 üzerinde yazılım, floresans boyalarını **FAM/Sybr** ve **JOE** olarak tanımlar.

12. Kanal kalibrasyonu tarafından belirlenen kazanç değerleri otomatik olarak kaydedilir ve programlama işleminin son menü penceresinde liste halinde verilir (Şekil 7). **Start Run** (Çalışmayı Başlat) kısmına tıklayın.



#### Şekil 7. Çalışmayı başlatma.

**Not:** Rotor-Gene 3000 üzerinde yazılım, floresans boyaalarını **FAM/Sybr** ve **JOE** olarak tanımlar.

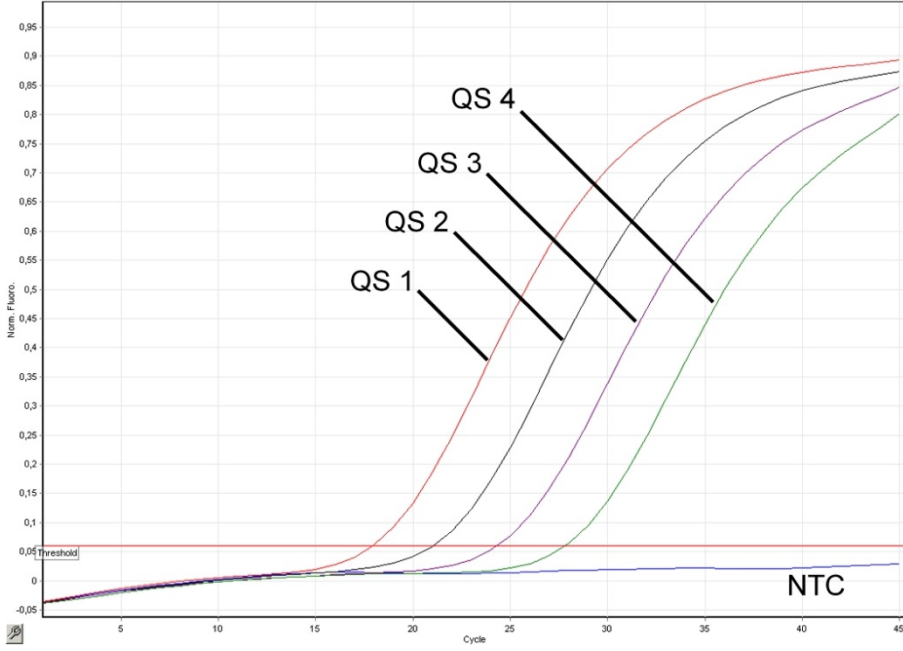
13. Çalışma bittiğinde verileri "Sonuçların Yorumlanması", sayfa 19 uyarınca analiz edin.

## Sonuçların Yorumlanması

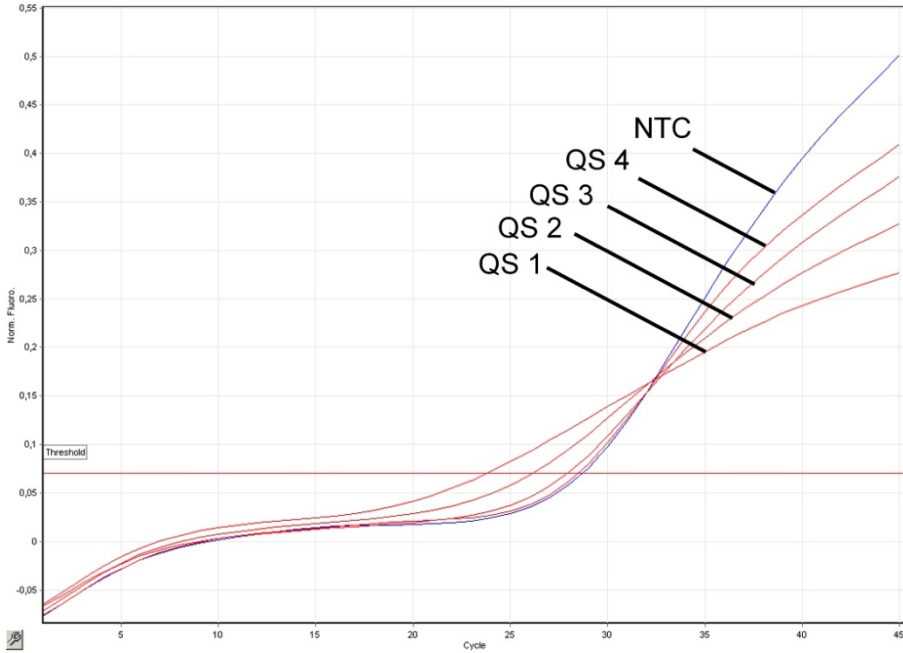
Pozitif ve negatif PCR reaksiyonları örnekleri Şekil 8 ve Şekil 9 içinde verilmiştir.

Aşağıdaki sonuçlar mümkündür:

- Floresans kanalı **Cycling Green** içinde bir sinyal saptanır.  
Analizin sonucu pozitifdir. Örnek *M. tuberculosis* kompleksinin bir veya birkaç üyesinin DNA'sını içerir.  
Bu durumda **Cycling Yellow** kanalında bir sinyalin saptanması kullanılmayabilir çünkü yüksek başlangıç *M. tuberculosis* kompleksi DNA konsantrasyonları (**Cycling Green** kanalında pozitif sinyal) **Cycling Yellow** kanalında dahili kontrol floresans sinyalinin azalmış olması veya olmamasına neden olabilir (rekabet).  
**Not:** Rotor-Gene 3000 üzerinde ilgili kanallar pozitif sinyal için **Cycling A.FAM** ve dahili kontrol için **Cycling A.JOE** şeklindedir.
  - Floresans kanalı **Cycling Green** içinde sinyal saptanmaz. Aynı zamanda **Cycling Yellow** kanalında dahili kontrolden bir sinyal belirir.  
Örnekte *M. tuberculosis* kompleksinin üyelerinin DNA'sı saptanmamıştır. Negatif kabul edilebilir.  
Negatif *M. tuberculosis* kompleksi PCR durumunda dahili kontrolün saptanan sinyali PCR inhibisyonu olasılığını ortadan kaldırır.  
**Not:** Rotor-Gene 3000 üzerinde ilgili kanallar dahili kontrol için **Cycling A.JOE** ve ayrıca **Cycling A.FAM** üzerinde sinyal olmamasıdır.
  - **Cycling Green** veya **Cycling Yellow** kanallarında sinyal saptanmaz.  
Bir sonuca varılamaz.  
**Not:** Rotor-Gene 3000 üzerinde ilgili kanallar **Cycling A.FAM** ve **Cycling A.JOE** şeklindedir.
- Hata kaynakları ve çözümleriyle ilgili bilgi "Sorun Giderme", sayfa 21 içinde bulunabilir.



Şekil 8. Kantitasyon standartlarının (*M. tuberculosis* RG/TM QS 1–4) floresans kanalı Cycling Green içinde saptanması. NTC: şablon dışı kontrol (negatif kontrol).



Şekil 9. Kantitasyon standartlarının (*M. tuberculosis* RG/TM QS 1–4) eş zamanlı amplifikasyonu ile dahili kontrolün floresans kanalı Cycling Yellow içinde saptanması. NTC: şablon dışı kontrol (negatif kontrol).

## Sorun Giderme

Bu sorun giderme kılavuzu oluşabilecek herhangi bir problemi çözmekte faydalı olabilir.

### Açıklama ve öneriler

#### Floresans kanalı Cycling Green veya Cycling A.FAM içinde pozitif kontrollerle sinyal yok (*M. tuberculosis* RG/TM QS 1–4)

- |  |   |
|--|---|
| a) PCR veri analizi için seçilen floresans kanalı protokole uymamaktadır       | Veri analizi açısından analitik <i>M. tuberculosis</i> kompleksi PCR için floresans kanalı <b>Cycling Green</b> veya <b>Cycling A.FAM</b> , dahili kontrol PCR için floresans kanalı <b>Cycling Yellow</b> veya <b>Cycling A.JOE</b> seçin. |
| b) RotorGene aletinin sıcaklık profilinin yanlış programlanması                | Sıcaklık profilini protokolle karşılaştırın (bakınız "RotorGene Q aletlerinde PCR," sayfa 13).  |
| c) Hatalı PCR reaksiyonu konfigürasyonu  | Çalışma adımlarınızı pipetleme şeması (bakınız "RotorGene Q aletlerinde PCR," sayfa 13) yoluyla kontrol edin ve gerekirse PCR'ı tekrarlayın.  |
| d) Bir veya birkaç kit bileşeninin saklama koşulları talimatla uyumlu değildir | Reaktiflerin saklama koşulları (bakınız "Reaktif Saklama ve Muamele," sayfa 8) ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakınız) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın.  |
| e) <i>artus M. tuberculosis</i> RG PCR Kitinin son kullanma süresi geçmiştir   | Reaktiflerin saklama koşulları (bakınız "Reaktif Saklama ve Muamele," sayfa 8) ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakınız) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın.  |

#### Cycling Yellow veya Cycling A.JOE floresans kanalı içinde dahili kontrol sinyali zayıf veya yok ve aynı zamanda Cycling Green veya Cycling A.FAM kanalında spesifik *M. tuberculosis* kompleksi PCR için sinyal bulunmaması

- |   |   |
|---|---|
| a) PCR koşulları protokole uymamaktadır | PCR koşullarını kontrol edin (bakınız yukarıda "floresans kanalı Cycling Green veya Cycling A.FAM içinde pozitif kontrollerle Floresans kanalı Cycling Green veya Cycling A.FAM içinde pozitif kontrollerle sinyal yok [ <i>M. tuberculosis</i> |
|---|---|

## Açıklama ve öneriler

- 
- RG QS 1–4]) ve PCR'ı gerekirse düzeltilmiş ayarlarla tekrarlayın.
- b) PCR inhibe olmuştur
- Önerilen izolasyon yöntemini (bakınız "DNA izolasyonu", sayfa 10) kullandığınızdan emin olun ve üreticinin talimatını yakından izleyin.
- DNA izolasyonu sırasında herhangi bir rezidüel etanolü gidermek üzere önerilen ek santrifügasyon adımının elüsyondan önce yapıldığından emin olun (bakınız "DNA izolasyonu", sayfa 10).
- c) Ekstraksiyon sırasında DNA kaybolmuştur
- Dahili kontrol ekstraksiyona eklenmişse, dahili kontrol sinyalinin olmaması ekstraksiyon sırasında DNA kaybına işaret edebilir. Önerilen izolasyon yöntemini (bakınız "DNA izolasyonu", sayfa 10) kullandığınızdan emin olun ve üreticinin talimatını yakından izleyin.
- d) Bir veya birkaç kit bileşeninin saklama koşulları talimatla uyumlu değildir
- Reaktiflerin saklama koşulları (bakınız "Reaktif Saklama ve Muamele," sayfa 8) ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakınız) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın.
- e) *artus M. tuberculosis* RG PCR Kitinin son kullanma süresi geçmiştir
- Reaktiflerin saklama koşulları (bakınız "Reaktif Saklama ve Muamele," sayfa 8) ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakınız) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın.

## Analitik PCR'da floresans kanalı Cycling Green veya Cycling A.FAM içinde negatif kontrollü sinyaller

- a) PCR hazırlama sırasında kontaminasyon oluşmuştur
- PCR'ı replikatlarda yeni reaktiflerle tekrarlayın.
- Mümkünse PCR tüplerini test edilecek örneğin eklenmesinden hemen sonra kapatın.
- Pozitif kontrolleri en son pipetlediğinizden emin olun.

### Açıklama ve öneriler

	Çalışma alanı ve aletlerin düzenli aralıklarla dekontamine edildiğinden emin olun.
b) Ekstraksiyon sırasında kontaminasyon oluşmuştur	Test edilecek örneğin ekstraksiyonu ve PCR'ını yeni reaktifler kullanarak tekrarlayın.
	Çalışma alanı ve aletlerin düzenli aralıklarla dekontamine edildiğinden emin olun.

Başka bir sorunuz varsa veya sorun yaşarsanız QIAGEN Technical Services ile irtibat kurun.

## Kalite Kontrol

QIAGEN'in ISO sertifikalı Kalite Yönetim Sistemi uyarınca her *artus M. tuberculosis RG PCR Kiti* tutarlı ürün kalitesini sağlamak üzere önceden belirlenmiş spesifikasyonlara göre test edilir.

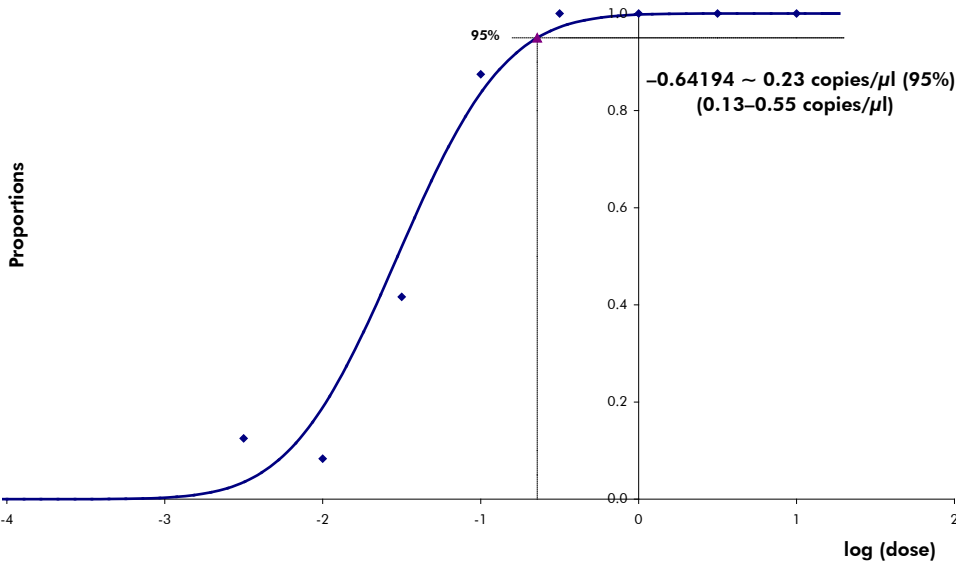
## Sınırlamalar

- Tüm reaktifler sadece in vitro diagnostik için kullanılabilir.
- Ürün sadece in vitro diagnostik işlemler konusunda özel talimat almış ve eğitilmiş personel tarafından kullanılmalıdır.
- Optimum PCR sonuçları için kullanım kılavuzuna katı olarak uymak gerekir.
- Tüm bileşenlerin etiketleri ve kutusunda basılı son kullanma tarihlerine dikkat edilmelidir. Son kullanma tarihi geçmiş bileşenleri kullanmayın.
- Nadir olsa da kitin primerleri ve/veya probun kapsadığı bakteriyel genomun yüksek ölçüde korunmuş bölgelerinde mutasyonlar olması bu vakalarda bakteri varlığının saptanmaması veya miktarının eksik gösterilmesiyle sonuçlanabilir. Tahlil tasarımının geçerliliği ve performansı düzenli aralıklarla değerlendirilmektedir.

# Performans Özellikleri

## Analitik hassasiyet

*artus M. tuberculosis* RG PCR Kitinin analitik hassasiyetini belirlemek için 10 ila nominal 0,003 ve 10 ila nominal 0,05 *M. tuberculosis* genomu eşdeğeri/ $\mu$ l şeklinde bir standart dilüsyon seyreltisi oluşturulmuş ve *artus M. tuberculosis* RG PCR Kitiyle kombinasyon halinde sırasıyla Rotor-Gene 6000 ve Rotor-Gene 3000 üzerinde analiz edilmiştir. Testler 8 replikatta 3 farklı günde yapılmıştır. Sonuçlar probit analiziyle belirlenmiştir. Rotor-Gene 6000 üzerinde probit analizinin grafik bir temsili Şekil 10'da verilmiştir. Rotor-Gene Q MDx/Q/6000 ve Rotor-Gene 3000 ile kombinasyon halinde *artus M. tuberculosis* RG PCR Kitinin analitik saptama limiti sırasıyla 0,23 kopya/ $\mu$ l ( $p = 0,05$ ) ve 0,9 kopya/ $\mu$ l ( $p = 0,05$ ) şeklindedir. Bu 0,23 kopya/ $\mu$ l veya 0,9 kopya/ $\mu$ l saptanması olasılığının %95 olduğu anlamına gelir.



Şekil 10. Probit analizi: *M. tuberculosis* (Rotor-Gene 6000). Rotor-Gene 6000 üzerinde *artus M. tuberculosis* RG PCR Kitinin analitik hassasiyeti.



## Özgüllük

artus *M. tuberculosis* RG PCR Kiti özgüllüğü öncelikle primer ve probaların seçilmesi ve ayrıca katı reaksiyon koşullarının seçilmesiyle sağlanır. Primerler ve probalar gen bankalarında yayımlanmış tüm dizilere olası homolojiler açısından sekans karşılaştırma analiziyle kontrol edilmiştir. *M. tuberculosis* kompleksinin tüm üyelerinin saptanabilirliği böylece sağlanmıştır.

Ayrıca özgüllük 90 farklı *M. tuberculosis* kompleksi negatif örnekle (30 balgam, 30 BAL ve 30 bronşiyal sekresyon örneği) doğrulanmıştır. Bunlar *M. tuberculosis* RG Master'a dahil edilen *M. tuberculosis*'ye spesifik primerler ve probalarla herhangi bir sinyal oluşturmamıştır.

artus *M. tuberculosis* RG PCR Kitinin özgüllüğünü belirlemek için Tablo 1'de liste halinde verilen kontrol grubu çapraz reaktivite için test edilmiştir. Test edilen patojenlerin hiçbiri reaktif bulunmamıştır.

**Table 1. Kiti özgüllüğünün potansiyel çapraz reaktif patojenlerle test edilmesi**

Kontrol grubu	<i>M. tuberculosis</i> (Cycling Green veya Cycling A.FAM)	Dahili kontrol (Cycling Yellow veya Cycling A.JOE)
<i>Actinomyces israelii</i>	-	+
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	+
<i>Bordetella pertussis</i>	-	+
<i>Candida albicans</i>	-	+
<i>Chlamydia trachomatis</i>	-	+
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	-	+
<i>Citrobacter freundii</i>	-	+
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	-	+
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	-	+
<i>Cryptococcus neoformans</i>	-	+
<i>Eikenella corrodens</i>	-	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	+

Kontrol grubu	<i>M. tuberculosis</i> (Cycling Green veya Cycling A.FAM)	Dahili kontrol (Cycling Yellow veya Cycling A.JOE)
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	+
<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
<i>Escherichia coli</i>	-	+
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ssp. <i>polymorphum</i>	-	+
<i>Haemophilus influenzae</i>	-	+
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	+
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-	+
<i>Mycobacterium avium</i> ssp. <i>avium</i>	-	+
<i>Mycobacterium celatum</i>	-	+
<i>Mycobacterium chelonae</i>	-	+
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	-	+
<i>Mycobacterium gordonae</i>	-	+
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	-	+
<i>Mycobacterium kansasii</i>	-	+
<i>Mycobacterium lentiflavum</i>	-	+
<i>Mycobacterium malmoense</i>	-	+
<i>Mycobacterium marinum</i>	-	+
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	-	+
<i>Mycobacterium szulgai</i>	-	+
<i>Mycobacterium ulcerans</i>	-	+
<i>Mycobacterium xenopi</i>	-	+
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-	+
<i>Neisseria meningitidis</i>	-	+
<i>Nocardia asteroides</i>	-	+

Kontrol grubu	<i>M. tuberculosis</i> (Cycling Green veya Cycling A.FAM)	Dahili kontrol (Cycling Yellow veya Cycling A.JOE)
<i>Nocardia brasiliensis</i>	-	+
<i>Nocardia farcinia</i>	-	+
<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	-	+
<i>Peptostreptococcus productus</i>	-	+
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	-	+
<i>Prevotella denticola</i>	-	+
<i>Propionibacterium acnes</i>	-	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	+
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	+
<i>Salmonella typhi</i>	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	-	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	-	+
<i>Streptococcus mutans</i>	-	+
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-	+
<i>Streptomyces venezuelae</i>	-	+
<i>Veillonella parvula</i>	-	+
<i>Xanthomonas maltophilia</i>	-	+

## Kesinlik

Rotor-Gene aletleri yoluyla *artus M. tuberculosis* RG PCR Kitinin kesinlik verileri toplanmıştır ve analizin total varyansının belirlenmesini mümkün kılar. Toplam varyans tahlil içi değişkenlik (bir deneyde aynı konsantrasyondan örneklerin birden fazla sonucunun değişkenliği), tahliller arası değişkenlik (bir laboratuvarında farklı kullanıcılar tarafından aynı tipte farklı aletlerle oluşan birden

fazla tahlil sonucunun değişkenliği) ve partiler arası değişkenlikten (çeşitli partiler kullanılarak tahlilin birden fazla sonucunun değişkenliği) oluşur. Elde edilen veriler patojene spesifik ve dahili kontrol PCR için varyasyon katsayısını, varyansı ve standart sapmayı belirlemek için kullanılmıştır.

*artus M. tuberculosis* RG PCR Kitinin kesinlik verileri en düşük konsantrasyonun (QS 4; 30 kopya/ $\mu$ l) kantitasyon standardı kullanılarak toplanmıştır. Testler 8 replikatla yapılmıştır. Kesinlik verileri amplifikasyon eğrilerinin  $C_T$  değerleri temelinde hesaplanmıştır ( $C_T$ : eşik döngüsü, bakınız Tablo 2). Ayrıca karşılık gelen  $C_T$  değerleri kullanılarak kopya/ $\mu$ l cinsinden kantitatif sonuçlar için kesinlik verileri belirlenmiştir (bakınız Tablo 3). Bu sonuçlar temelinde belirtilen konsantrasyonun bulunduğu herhangi bir örnekte genel istatistiksel dağılım %1,26 ( $C_T$ ) veya %14,64 (kopya/ $\mu$ l) ve dahili kontrolün saptanması için %1,57 ( $C_T$ ) şeklindedir. Bu değerler belirlenmiş değişkenliklerin tüm tek değerlerinin toplamı temelindedir.

**Tablo 2.  $C_T$  değerleri temelinde kesinlik verileri**

	Standart sapma	Varyans	Varyasyon katsayısı (%)
Tahliller içi değişkenlik: <i>M. tuberculosis</i> RG/TM QS 4	0,10	0,01	0,32
Tahliller içi değişkenlik: Dahili Kontrol	0,13	0,02	0,45
Tahliller arası değişkenlik: <i>M. tuberculosis</i> RG/TM QS 4	0,24	0,06	0,78
Tahliller arası değişkenlik: Dahili Kontrol	0,29	0,08	0,95
Gruplar arası değişkenlik: <i>M. tuberculosis</i> RG/TM QS 4	0,39	0,15	1,28
Gruplar arası değişkenlik: Dahili Kontrol	0,66	0,43	2,16
Toplam varyans: <i>M. tuberculosis</i> RG/TM QS 4	0,38	0,15	1,26
Toplam varyans: Dahili Kontrol	0,48	0,23	1,57

**Tablo 3. Kantitatif sonuçlar (kopya/ $\mu$ l olarak) temelinde kesinlik verileri**

	Standart sapma	Varyans	Varyasyon katsayısı (%)
Tahliller içi değişkenlik: M. tuberculosis RG/TM QS 4	1,97	3,90	6,56
Tahliller arası değişkenlik: M. tuberculosis RG/TM QS 4	3,93	15,43	13,00
Gruplar arası değişkenlik: M. tuberculosis RG/TM QS 4	5,51	30,41	18,09
Toplam varyans: M. tuberculosis RG/TM QS 4	4,44	19,69	14,64

## Güçlülük

Güçlülüğün doğrulanması *artus M. tuberculosis RG* PCR Kitinin toplam başarısızlık oranının belirlenmesini mümkün kılar. Her balgam, BAL ve bronşiyal sekresyondan toplam 30 *M. tuberculosis* kompleksi negatif örneğine 3 kopya/ $\mu$ l elüsyon hacminde *M. tuberculosis* kontrol DNA eklenmiştir (analitik hassasiyet limitinin yaklaşık 3 katı konsantrasyon). QIAamp DNA Mini Kiti ekstraksiyonundan sonra (bakınız "DNA izolasyonu", sayfa 10) bu örnekler *artus M. tuberculosis RG* PCR Kiti ile analiz edilmiştir. Tüm *M. tuberculosis* örnekleri için başarısızlık oranı %0'dır. Ayrıca dahili kontrolün güçlülüğü *M. tuberculosis* kompleksi negatif balgam, BAL ve bronşiyal sekresyon örneklerinin (her biri 30) saflaştırılması ve analizi ile değerlendirilmiştir. Toplam başarısızlık oranı %0'dır. İnhibisyonlar gözlenmemiştir. Böylece *artus M. tuberculosis RG* PCR Kitinin güçlülüğü  $\geq$  %99'dur.









## Tekrar Üretilirlik


Tekrar üretilebilirlik verileri *artus M. tuberculosis RG* PCR Kitinin düzenli performans değerlendirmesine ve ayrıca başka ürünlerle etkinlik karşılaştırmasına izin verir. Bu veriler belirlenmiş verimlilik programlarına katılımı elde edilir.

## Referanslar

1. Mackay I.M. (2004) Real-time PCR in the microbiology laboratory. Clin. Microbiol. Infect. **10**, 190.

## Semboller

Sembol	Sembol tanımı
	Son Kullanma Tarihi
	Parti kodu
	Üretici
	Katalog numarası
	Materyal sayısı
	Avrupa uygunluğu için CE işareti
	İn vitro diagnostik tıbbi cihaz
	<N> test için yeterli reaktif içermektedir

Sembol	Sembol tanımı
<b>COMP</b>	Bileşenler
<b>CONT</b>	İçindekiler
<b>NUM</b>	Numara
<b>GTIN</b>	Global Ticaret Madde Numarası
	Sıcaklık sınırlaması
<b>QS</b>	Kantitasyon Standardı
<b>IC</b>	Dahili Kontrol
<b>Mg-Sol</b>	Magnezyum solüsyonu

## Sipariş Bilgisi

Ürün	İçindekiler	Kat. no.
artus M. tuberculosis RG PCR Kit (24)	24 reaksiyon için: Master, Mg Solüsyonu, 4 Kantitasyon Standardı, Dahili Kontrol, Su (PCR sınıfı)	4555263
artus M. tuberculosis RG PCR Kit (96)	96 reaksiyon için: Master, Mg Solüsyonu, 4 Kantitasyon Standardı, Dahili Kontrol, Su (PCR sınıfı)	4555265
<b>QIAamp DNA Mini Kiti — genomik, mitokondriyel, bakteriyel, parazit veya viral DNA izolasyonu için</b>		
QIAamp DNA Mini Kit (50)	50 DNA işlemi için: 50 QIAamp Mini Döndürme Kolonu, QIAGEN Proteinaz K, Reaktifler, Tamponlar, Toplama Tüpleri (2 ml)	51304
<b>Rotor-Gene Q MDx ve aksesuarları</b>		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	5 kanallı (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kırmızı) gerçek zamanlı PCR döngüleyici, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti; kurulum ve eğitim dahil değildir	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	5 kanallı (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kırmızı) gerçek zamanlı PCR döngüleyici, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti; kurulum ve eğitim dahildir	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	5 kanal artı HRM kanallı (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kırmızı) gerçek zamanlı PCR döngüleyici ve yüksek çözünürlüklü eritme analizörü dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti dahildir; kurulum ve eğitim dahil değildir	9002032
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	5 kanal artı HRM kanallı (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kırmızı) gerçek zamanlı PCR döngüleyici ve yüksek çözünürlüklü eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti dahildir; kurulum ve eğitim dahildir	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	6 kanallı (mavi, yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kırmızı) gerçek zamanlı PCR aleti, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti dahildir; kurulum ve eğitim dahil değildir	9002042



Rotor-Gene Q MDx 6plex System	6 kanallı (mavi, yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) gerçek zamanlı PCR aleti, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti dahildir; kurulum ve eğitim dahildir	9002043
Rotor-Gene Q MDx 2plex Platform	2 kanallı (yeşil, sarı) gerçek zamanlı PCR döngüleyici, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti dahildir; kurulum ve eğitim dahil değildir	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex System	2 kanallı (yeşil, sarı) gerçek zamanlı PCR döngüleyici, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti dahildir; kurulum ve eğitim dahildir	9002003
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM Platform	2 kanallı (yeşil, sarı) artı HRM kanallı gerçek zamanlı PCR döngüleyici ve yüksek çözünürlüklü eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti dahildir; kurulum ve eğitim dahil değildir	9002012
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM System	2 kanallı (yeşil, sarı) artı HRM kanallı gerçek zamanlı PCR döngüleyici ve yüksek çözünürlüklü eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti dahildir; kurulum ve eğitim dahildir	9002013
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	72 x 0,1 ml tüplerde tek kanallı pipetle manuel reaksiyon kurulumu için alüminyum blok	9018901
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	96 x 0,2 ml tüplerde standart 8 x 12 dizide manuel reaksiyon kurulumu için alüminyum blok	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	1000 reaksiyon için 4 tüp ve kapaklı 250 strip	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10.000 reaksiyon için 4 tüp ve kapaklı 10 x 250 strip	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 reaksiyon için 1000 ince duvarlı tüp	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 reaksiyon için 1000 ince duvarlı tüp	981008

Güncel lisanslama bilgisi ve ürüne spesifik red beyanları için ilgili QIAGEN kiti el kitabı veya kullanım kılavuzuna bakınız. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresinde bulunabilir veya QIAGEN Technical Services veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Ticari markalar: QIAGEN®, QIAamp®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); FAM™, JOE™, SYBR® (Life Technologies); Triton™ (The Dow Chemical Company).

Bu belgede kullanılan tescilli isimler, ticari markalar vs. bu şekilde işaretlenmemiş olsalar bile kanunen koruma altında olmadıkları düşünülmemelidir.

artus M. tuberculosis RG PCR Kiti Avrupa İn Vitro Diagnostik Direktifi 98/79/EC uyarınca bir CE işaretli diagnostik kitir. Tüm ülkelerde sağlanmamaktadır.

Güncel lisanslama bilgisi ve ürüne spesifik red beyanları için ilgili QIAGEN kiti el kitabı veya kullanım kılavuzuna bakınız. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresinde bulunabilir veya QIAGEN Technical Services veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Bu ürünün satın alınması, satın alanın insan in vitro diagnostığı için diagnostik hizmetler yapılmasında kullanmasına izin verir. Burada satın alma ile bu spesifik kullanım hakkı dışında herhangi bir türde herhangi bir genel patent veya başka lisans verilmemektedir.

#### **artus M. tuberculosis RG PCR Kiti için Sınırlı Lisans Sözleşmesi**

Bu ürünün kullanılması ürünün herhangi bir satın alanı veya kullanıcısının şu şartları kabul ettiğini belirtir:

1. Ürün sadece ürünle birlikte ve bu el kitabında sağlanan protokollerle uyumlu olarak ve kit içindeki bileşenlerle kullanım için kullanılabilir. QIAGEN ürünle sağlanan protokoller, bu el kitabı ve [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresinde bulunan ek protokollerde tanımlananlar dışında bu kite dahil edilmemiş herhangi bir bileşen ile kitin içindeki bileşenleri kullanma veya birleştirme açısından herhangi bir fikri mülkiyet altında bir lisans vermez. Bu ek protokollerden bazıları QIAGEN kullanıcıları tarafından QIAGEN kullanıcıları için sağlanmıştır. Bu protokoller QIAGEN tarafından iyice test edilmiş veya optimize edilmiş olmayabilir. QIAGEN üçüncü tarafların haklarını ihlal etmediğini garanti etmez ve beyan etmez.
2. Açık olarak belirtilen lisanslar dışında QIAGEN bu kitin ve/veya kullanımının/kullanımlarının üçüncü tarafların haklarını ihlal etmediği konusunda garanti vermez.
3. Bu kit ve bileşenleri tek kullanım için lisanslanmıştır ve tekrar kullanılamaz, yenilenemez veya tekrar satılamaz.
4. QIAGEN açık olarak belirtilenler dışında açık veya zımni herhangi bir başka lisansı özellikle reddeder.
5. Kitin satın alıcısı ve kullanıcı yukarıda yasaklanan herhangi bir eyleme neden olabilecek veya bunları kolaylaştırabilecek herhangi bir adım atmamayı veya başkasının atmasına izin vermemeyi kabul eder. QIAGEN bu Sınırlı Lisans Sözleşmesinin yasaklarını herhangi bir mahkemede yürürlüğe koyabilir ve kit ve/veya bileşenleriyle ilişkili herhangi bir fikri mülkiyet hakkı veya bu Sınırlı Lisans Sözleşmesini yürürlüğe koymak için tüm araştırma ve mahkeme masraflarını avukat masrafları dahil olmak üzere geri alacaktır.

Güncellenmiş lisans şartları için bakınız [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

HB-0058-007 151031225 © 2007–2015 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

