

# „QIASymphony® RGQ“ naudojimo lapas

## „QIASymphony RGQ“ naudojimas „artus® BK Virus QS-RGQ Kit“ (mėginio tipas: šlapimas, 400 µl)

IVD



Prieš atlikdami tyrimą,

[www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgqcrkit.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgqcrkit.aspx) patikrinkite,  
ar nėra naujų elektroninio žymėjimo peržiūrų. Dabartinę peržiūros  
būseną nurodo išleidimo data (formatas: mėnuo-metai).

### Bendroji informacija

Komplektas	„artus BK Virus QS-RGQ Kit“, 1 versija, <b>REF</b> 4514363
Patvirtinta mėginio medžiaga	Šlapimas
Pradinis gryninimas	„QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit“ (kat. nr. 937055)
Mėginio tūris (įskaitant perteklinį tūrį)	500 µl
Tyrimo parametrų rinkinys	artus_BKV_urine400_V4
Numatytasis tyrimo kontrolinių medžiagų rinkinys	Complex400_V4_DSP_artus_BKV
Eliuavimo tūris	60 µl
Reikalinga programinės įrangos versija	4.0 arba naujesnė versija
Pagrindinio mišinio tūris	10 µl
Matricos tūris	15 µl
Reakcijų skaičius	6–24*
Procedūros laikas AS modulyje	6 reakcijų: maždaug 8 minutės 72 reakcijų: maždaug 35 minutės

\* Rengiant BK viruso tyrimą, per vieną tyrimų seriją „QIASymphony AS“ instrumentu galima parengti iki 216 (9 x 24) tyrimų.



Gegužė 2012

Sample & Assay Technologies

## Reikalingos, tačiau nepateikiamos medžiagos

Gryninimo rinkinys	■	„QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit“ (kat. nr. 937055)
„QIASymphony SP“ adapteriai	■	„Elution Microtube Rack QS“ (aušinimo adapteris, EMT, v2, Qsym, kat. nr. 9020730)
	■	„Tube Insert 3B“ (įdėklas, 2,0 ml v2, mėginių laik. (24), „Qsym“, kat. nr. 9242083)
„QIASymphony SP“ vartojimo reikmenys	■	„Sample Prep Cartridges, 8-well“ (kat. nr. 997002)
	■	„8-Rod Covers“ (kat. nr. 997004)
	■	„Filter-Tips“, 1500 µl (kat. nr. 997024)
	■	„Filter-Tips“, 200 µl (kat. nr. 990332)
	■	„Elution Microtubes CL“ (kat. nr. 19588)
	■	„Tip disposal bags“ (kat. nr. 9013395)
	■	„Micro tubes 2.0 ml Type H“ arba „Micro tubes 2.0 ml Type I“ („Sarstedt“, kat. nr. 72.693 ir 72.694, <a href="http://www.sarstedt.com">www.sarstedt.com</a> ), skirti naudoti su mėginiais ir vidinėmis kontrolinėmis medžiagomis
„QIASymphony AS“ adapteriai ir reagentų laikikliai	■	„Reagent holder 1 QS“ (aušinimo adapteris, 1 reagentų laikiklis, „Qsym“, kat. nr. 9018090)
	■	„Reagent holder 2 QS“ (aušinimo adapteris, 2 reagentų laikiklis, „Qsym“, kat. nr. 9018089)
	■	„RG Strip Tubes 72 QS“ (aušinimo adapteris, RG mėgintuvėlių juostelės 72, Qsym, kat. nr. 9018092)
„QIASymphony AS“ vartojimo reikmenys	■	„Strip Tubes and Caps“, 0,1 ml (kat. nr. 981103)
	■	„Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS“ (kat. nr. 997102)* arba „Micro tubes 2.0 ml Type I“ („Sarstedt“, kat. nr. 72.694.005)
	■	„Tube, conical, 5 ml, Qsym AS“ (kat. nr. 997104) arba „Tubes with flat base from PP“ („Sarstedt“, kat. nr. 60.558.001)
	■	„Reagent Bottles, 30 ml, Qsym AS“ (kat. nr. 997108)
	■	„Elution Microtubes CL“ (kat. nr. 19588)
	■	„Filter-Tips“, 1500 µl (kat. nr. 997024)
	■	„Filter-Tips“, 200 µl (kat. nr. 990332)
	■	„Filter-Tips“, 50 µl (kat. nr. 997120)
	■	„Tip disposal bags“ (kat. nr. 9013395)
Mėginiams paruošti (šlapimas)	■	„Buffer ATL, GPR“ (kat. nr. 939016)

\* Teiraukitės, ar yra.

---

## Mėginių naudojimas ir laikymas

Mėginio paėmimas	Žmogaus šlapimas
Mėginių gabenimas	Gabenimas užtikrinant atsparumą smūgiams. Išsiuntimas per 6 val. Siuntimas paštu laikantis teisės aktų reikalavimų dėl patogeninių medžiagų gabenimo.*
Mėginio paruošimas	Saugokitės, kad mėginiuose ar ant jų nesusidarytų putų. Prieš apdorojant mėginiai turi nusistovėti kambario temperatūroje (15–25 °C).

\* „International Air Transport Association“ (IATA). „Dangerous Goods Regulations“ (pavojingiems kroviniams taikomi reglamentai).

## Procedūra

### Nešančiosios RNR ruošimas ir vidinės kontrolinės medžiagos perkėlimas į mėginius

„QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit“ naudojant kartu su „artus BK Virus QSR-GQ Kit“, į gryninimo procedūrą reikia įtraukti vidinę kontrolinę medžiagą (BK viruso RG IC), kad būtų stebimas mėginių paruošimo ir tolesnių tyrimų efektyvumas.

Vidinių kontrolinių medžiagų reikia įpilti į nešančiosios RNR (CARRIER) ir buferinio tirpalo AVE (AVE) mišinį, o visas vidinės kontrolinės medžiagos, nešančiosios RNR (CARRIER) ir buferinio tirpalo AVE (AVE) mišinio tūris turi likti 120 µl.

Lentelėje parodytas vidinės kontrolinės medžiagos įdėjimas į atskirtą medžiagą santykiu 0,1 µl kiekvienam 1 µl eliuavimo tūrio. Rekomenduojame prieš pat naudojant kiekvienai tyrimų serijai paruošti šviežius mišinius.

Komponentas	Tūris (µl) („Sarstedt®“ mėgintuvėliai)*	Tūris (µl) (BD™ mėgintuvėliai)†
Skiedžiama nešančioji RNR (CARRIER)	3	3
Vidinė kontrolinė medžiaga‡	9	9
Buferinis tirpalas AVE	108	108
<b>Galutinis mėginio tūris (neįskaitant liekamojo tūrio)</b>	<b>120</b>	<b>120</b>
<b>Bendras n mėginių tūris</b>	<b>(n x 120) + 360§</b>	<b>(n x 120) + 600¶</b>

\* „Micro tubes 2.0 ml Type H“ ir „Micro tubes 2.0 ml Type I“, „Sarstedt“, kat. nr. 72.693 ir 72.694.

† „Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom“ („Becton Dickinson“, kat. nr. 352051).

‡ Vidinės kontrolinės medžiagos kiekio apskaičiavimas grindžiamas pradiniais eliuavimo tūriais (90 µl). Papildomas tuštumos tūris priklauso nuo naudojamo mėginio mėgintuvėlio.

§ Reikalingas vidinės kontrolinės medžiagos mišinys, atitinkantis 3 papildomus mėginius (t. y. 360 µl). Bendras tūris neturi viršyti 1,92 ml (atitinka ne daugiau kaip 13 mėginių). Šie tūriai būdingi „Micro tubes 2.0 ml Type H“ ir „Micro tubes 2.0 ml Type I“, „Sarstedt“, kat. nr. 72.693 ir 72.694).

¶ Reikalingas vidinės kontrolinės medžiagos mišinys, atitinkantis 5 papildomus mėginius (t. y. 600 µl). Bendras tūris neturi viršyti 13,92 ml (atitinka ne daugiau kaip 111 mėginių). Šie tūriai būdingi „Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom“ („Becton Dickinson“, kat. nr. 352051).

## „QIASymphony SP“ parengimas

### „Waste“ (atliekų) stalčius

Elementų dėžutės laikiklis, 1–4	Tuščios elementų dėžutės
Atliekų maišelio laikiklis	Atliekų maišelis
Skystųjų atliekų butelio laikiklis	Tuščias ir įdėtas skystųjų atliekų butelis

### „Eluate“ (eliuato) stalčius

Eliuavimo stovelis	Naudokite 1 angą, aušinimo vieta
Eliuavimo tūris*	Numatytas eliuavimo tūris: 60 µl Pradinis eliuavimo tūris: 90 µl

\* Eliuavimo tūris yra numatytas protokole. Tai yra mažiausias pasiekiamas eliuato tūris paskutiniame eliuavimo mėgintuvėlyje. Pradinis eliuavimo tirpalo tūris yra reikalingas tam, kad faktinis eliuato tūris sutaptu su numatytu tūriu.

### „Reagents and Consumables“ (reagentų ir vartojimo reikmenų) stalčius

A1 ir (arba) A2 vieta	Įdėkite 1 reagentų kasetę (reagent cartridge, RC), jei mėginių yra ne daugiau kaip 48, arba 2 naujas reagentų kasetes (RC), jei mėginių yra ne daugiau kaip 96
B1 vieta	„Buffer ATL“ (ATL)
Antgalių stovelio laikiklis, 1–17 vieta	Įdėkite pakankamai stovelių, skirtų vienkartiniams „Filter-Tips“, 200 µl ir 1500 µl (žr. „Reikalingos plastikinės dalys 1-4 mėginių partijoms“, 6 psl.)
Elementų dėžutės laikiklis, 1–4 vieta	Įdėkite elementų dėžutes su „Sample Prep Cartridges“ ir „8-Rod Covers“ (žr. „Reikalingos plastikinės dalys 1-4 mėginių partijoms“, page 6)

## „Sample“ (mėginių) stalčius

<b>Mėginio tipas</b>	Šlapimas
<b>Mėginio tūris (įskaitant perteklinį tūrį)</b>	500 µl
<b>Mėginių mėgintuvėliai</b>	„Micro tubes 2.0 ml Type H“ arba „Micro tubes 2.0 ml Type I“ („Sarstedt“, kat. nr. 72.693 ir 72.694)
<b>Įdėklas</b>	„Tube Insert 3B“ (kat. nr. 9242083)

## Reikalingos plastikinės dalys 1-4 mėginių partijoms

	<b>Viena partija, 24 mėginiai*</b>	<b>Dvi partijos, 48 mėginiai*</b>	<b>Trys partijos, 72 mėginiai*</b>	<b>Ketrios partijos, 96 mėginiai*</b>
Vienkartiniai „Filter-Tips“, 200 µl†‡	34	60	86	112
Vienkartiniai „Filter-Tips“, 1500 µl†‡	123	205	295	385
„Sample Prep Cartridges“§	18	36	54	72
„8-Rod Covers“¶	3	6	9	12

\* Jei vienai partijai naudojamas daugiau nei vienas pradinės kontrolinės medžiagos mėgintuvėlis ir atliekamas daugiau nei vienas reikmenų nuskaitymas, reikia papildomų vienkartinių filtrų antgalių.

† Antgalių stovelyje yra 32 „Filter-Tips“.

‡ Reikalingų „Filter-Tips“ skaičius apima filtrų antgalius, reikalingus vienai reagentų kasetei atliekant 1 reikmenų nuskaitymą.

§ Elementų dėžutėje yra 28 „Sample Prep cartridges“.

¶ Elementų dėžutėje yra dvylika „8-Rod Covers“.

## „QIASymphony AS“ parengimas

### Vartojimo reikmenys

Parengimo metu atitinkamos kiekvieno vartojimo reikmens vietos „QIASymphony AS“ modulyje yra rodomos instrumento jutikliniame ekrane.

Vartojimo reikmenys	Jutiklinio ekrano pavadinimas	Skirta naudoti su adapteriu / reagentų laikikliu
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	„RG Strip Tubes 72 QS“
Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt‡	„Reagent holder 1 QS“ „Reagent holder 2 QS“
Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt‡	„Reagent holder 1 QS“ „Reagent holder 2 QS“
Reagent Bottles, 30ml, Qsym AS (50)*	QIA#997108 *Bottle 30ml‡	„Reagent holder 2 QS“
Elution Microtubes CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	„Elution Microtube Rack QS“

\* Pagrindinio mišinio komponentams, sistemos paruoštam pagrindiniam mišiniui, tyrimo standartams ir tyrimo kontrolinėms medžiagoms.

† Arba galima naudoti „Sarstedt“ mėgintuvėlius, aprašytus „Reikalingos, tačiau nepateikiamos medžiagos“, 2 psl.

‡ Sufiksas „(m)“ jutikliniame ekrane rodo, kad atitinkamo mėgintuvėlio skysčio lygio skaičiavimai buvo optimizuoti, atsižvelgiant į reagentus, suformuojančius įgautą meniską.

### Adapteriai ir reagentų laikikliai

Stovelių / reagentų laikiklis	Pavadinimas	Reikalingas kiekis <sup>§</sup>
Mėginių stovelis	„Elution Microtube Rack QS“	1
Reagentų laikikliai	„Reagent holder 1 QS“	1
Tyrimų stoveliai	„RG Strip Tubes 72 QS“	1

<sup>§</sup> Apskaičiuota tyrimo serijoms, naudojant 72 reakcijas.

---

## Filtrų antgaliai

Įkelkite antgalių stovelius į 1, 2 ir 3 antgalių vietas „Eluate and Reagents“ (eliuato ir reagentų) stalčiuje, o tada įdėkite antgalių stovelius į 7, 8 ir 9 antgalių vietas „Assays“ (tyrimų) stalčiuje.

Vartojimo reikmuo	Jutiklinio ekrano pavadinimas	Mažiausias kiekis 24 reakcijoms	Mažiausias kiekis 72 reakcijoms
„Filter-Tips“, 1500 µl (1024)	1500 µl	3	4
„Filter-Tips“, 200 µl (1024)	200 µl	5	5
„Filter-Tips“, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
„Tip Disposal Bags“	–	1	1



---

## RT-PGR „Rotor-Gene Q“ instrumente

Žr. konkrečios programinės įrangos protokolo lapą „Nustatymai, skirti tyrimams atlikti naudojant „artus QS-RGQ Kits“, pateiktą [www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx).

### Konkretūs „artus BK Virus QS-RGQ Kit“ nustatymai

„Rotor-Gene AssayManager“ automatiškai nustato „artus BK Virus QS-RGQ Kit“ parametrus.

Naudojant „Rotor-Gene Q“ 2.1 programinę įrangą, konkretūs nustatymai nurodyti toliau.

„Reaction Volume (µl)“ (reakcijos tūris (µl))	50
„Hold“ (laikymas)	Laikymo temperatūra: 95 laipsn. Laikymo laikas: 10 min.
„Cycling“ (Ciklai)	45 kart.  95 laipsn. 15 sek. 65 laipsn. 30 sek. 72 laipsn. 20 sek.  Prisijungimo veiksmė būtina aktyvinkite 10 ciklų nuleidimo funkciją.
„Auto-Gain Optimisation Setup“ (automatinio gavimo optimizavimo nustatymas)	65 laipsn.  (Mėginiai: „Green“ (žaliame); IC: „Orange“ (oranžiniame))

## Rezultatų aiškinimas

Šiame skyriuje aprašytas „Rotor-Gene Q. Review“ rezultatų aiškinimas, taip pat mėginių būsenos informacija iš „QIASymphony SP/AS“ rezultatų failo, skirta visos darbų sekos nuo mėginio iki rezultato analizei. Galima naudoti tik mėginius, kurių būseną tinkama.

„Rotor-Gene AssayManager“ automatiškai aiškina PGR rezultatus ir pateikia išvadą bei kiekybinį rezultatą.

Šiuose skyriuose aprašytas rezultatų aiškinimas naudojant „RotorGene“ 2.1 arba aukštesnės versijos programinę įrangą.

## Signalų aptikimas ir išvados – 400 µl šlapimo

Signalas kanale „Cycling Green“	Signalas kanale „Cycling Orange“	Kiekybinis rezultatas (kopijų/ml)	Aiškkinimas
Taip	Taip	< 81,8	Tinkamas rezultatas: BK viruso DNR aptikta, < 250 kopijų/ml. Kiekybinis nustatymas neįmanomas, nes kiekybinis rezultatas yra mažesnis už aptikimo ribą. Teigiamo rezultato atkuriamumas neužtikrintas.
Taip	Taip	≥ 81,8 ir < 250	Tinkamas rezultatas: BK viruso DNR aptikta, < 250 kopijų/ml, kiekybinis nustatymas neįmanomas, nes kiekybinis rezultatas mažesnis už tyrimo tiesinio intervalo apatinę ribą.
Taip	Taip	≥ 250 ir ≤ 1 x 10 <sup>9</sup>	Tinkamas rezultatas: BK viruso DNR aptikta apskaičiuotos koncentracijos. Kiekybinis rezultatas patenka į tyrimo tiesinį intervalą.
Taip	Taip	> 1 x 10 <sup>9</sup>	Tinkamas rezultatas: BK viruso DNR aptikta, > 1 x 10 <sup>9</sup> kopijų/ml. Kiekybinis nustatymas neįmanomas, nes kiekybinis rezultatas didesnis už tyrimo tiesinio intervalo viršutinę ribą.*
Ne	Taip	–	Tinkamas rezultatas: BK viruso DNR neaptinkama.†
Ne	Ne	–	Netinkamas rezultatas: nepavyko gauti rezultatų.‡

\* Jei pageidaujate atlikti kiekybinį nustatymą, atskieskite mėginį šlapimu be viruso ir ištirkite iš naujo. Iš naujo ištirto mėginio kiekybinį rezultatą padauginkite iš skiedimo koeficiento.

† Jei tyrimo serijos neigiamo mėginio vidinės kontrolinės medžiagos C<sub>T</sub> reikšmė yra daugiau nei 3 ciklais didesnė nei kontrolinės medžiagos be matricos vidinės kontrolinės medžiagos C<sub>T</sub> reikšmė (C<sub>T</sub> IC mėginio – C<sub>T</sub> IC NTC >3), tuomet mėginys turi būti laikomas netinkamu. Nepavyko gauti rezultatų.

‡ Informacijos apie klaidų šaltinius ir klaidų šalinimą rasite „artus BK Virus QS-RGQ Kit“ vadovo (BK Virus QS-RGQ Kit Handbook) dalyje „Trikčių šalinimo vadovas“.

---

## PGR analizės slenksčio nustatymas

Optimalūs konkretaus „Rotor-Gene Q“ instrumento ir „artus QS-RGQ Kit“ derinio slenksčio nustatymai turi būti nustatyti empiriškai, išbandant kiekvieną derinį, nes tai santykinė, nuo visos diagnostinės darbų sekos priklausanti, reikšmė. Atliekant pirmą PGR tyrimų seriją gali būti nustatyta preliminari slenksčio reikšmė 0,04, bet šią reikšmę reikia patikslinti atliekant palyginamąją kitų darbų sekos tyrimų serijų analizę. Slenkstį reikia nustatyti rankiniu būdu, kad jis būtų šiek tiek didesnis nei foninis neigiamų kontrolinių medžiagų ir neigiamų mėginių signalas. Labai tikėtina, kad vidutinė slenksčio reikšmė, apskaičiuota pagal šiuos eksperimentus, tiks daugumai būsimų tyrimų serijų, bet naudotojas vis tiek reguliariais intervalais turi peržiūrėti sugeneruotą slenksčio reikšmę. Paprastai slenksčio reikšmė pateks į 0,03–0,05 intervalą ir turės būti suapvalinta, kad būtų ne daugiau kaip trys dešimtainės skiltys.

## Kiekio nustatymas

„artus BK Virus QS-RGQ Kit“ kiekio nustatymo etaloniniai tirpalai („BK Virus RG-QS“ 1–4) traktuojami kaip anksčiau išgryninti mėginiai ir naudojamas tas pats tūris (15 µl). Standarto kreivei „Rotor-Gene Q“ instrumentuose sukurti reikia naudoti visus 4 kiekio nustatymo etaloninius tirpalus ir „Rotor-Gene Q“ instrumento dialogo lange „Edit Samples“ (mėginių redagavimas) juos nurodyti kaip tam tikros koncentracijos standartus (žr. instrumento naudotojo vadovą).

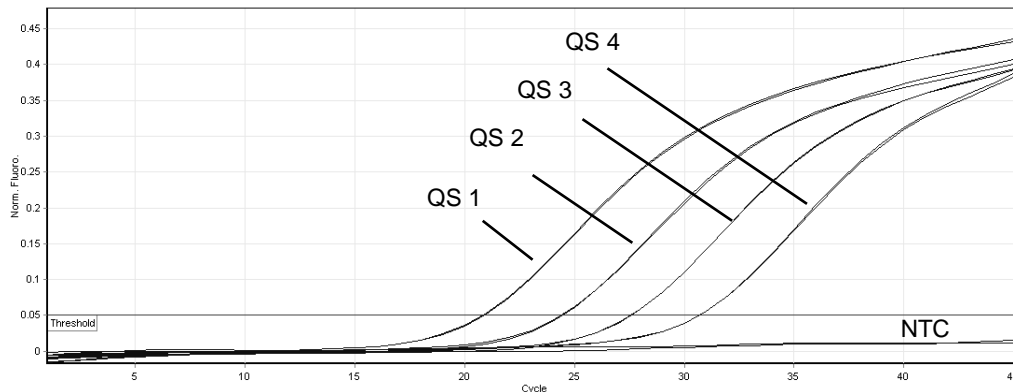
**Pastaba.** Kiekybinės analizės etaloniniai tirpalai apibrėžiami kaip kopijos/µl. Norint konvertuoti standarto kreive nustatytus dydžius į mėginio medžiagos kopijas/ml reikia taikyti šią formulę:

$$\begin{array}{l} \text{Rezultatas} \\ \text{(kopijos/ml)} \end{array} = \frac{\text{Rezultatas (kopijų/µl)} \times \text{pradinis eliuavimo tūris (90 µl)*}}{\text{Mėginio tūris (ml)}}$$

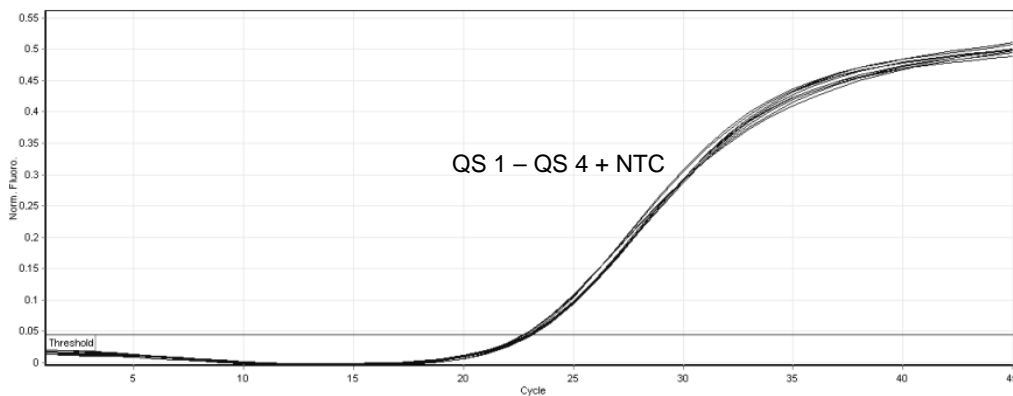
Teoriškai aukščiau pateiktoje lygtyje reikia nurodyti pradinį mėginio tūrį. Į tai reikia atsižvelgti, jei prieš nukleino rūgščių ekstrahavimą pakito mėginio tūris (pvz., tūris sumažėjo centrifuguojant arba padidėjo pridėjus išskyrimui reikalingą tūrį).

\* Apskaičiavimas grindžiamas pradiniais eliuavimo tūriais (90 µl).

## Teigiamų ir neigiamų PGR reakcijų pavyzdžiai



Kiekybinės analizės etaloninių tirpalų aptikimas („BK Virus RG QS“ 1–4) fluorescenciniame kanale „Cycling Green“. NTC: kontrolinė medžiaga be matricos (no template control, NTC) (neigiama kontrolinė medžiaga).



Vidinės kontrolinės medžiagos (internal control, IC) aptikimas „Cycling Yellow“ fluorescenciniame kanale, taikant kiekybinės analizės etaloninių tirpalų vienaikę amplifikaciją („BK Virus RG QS“ 1–4). NTC: kontrolinė medžiaga be matricos (neigiama kontrolinė medžiaga).

---

Norėdami gauti naujausios informacijos apie licencijavimą ir atsakomybės už produktus apribojimus, žr. atitinkamą QIAGEN komplekto vadovą arba naudotojo vadovą. QIAGEN komplekto vadovai arba naudotojo vadovai pateikti svetainėje [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) arba galite jų paprašyti QIAGEN techninių tarnybų ar vietinio platintojo.

Prekių ženklai: „QIAGEN“<sup>®</sup>, „QIASymphony“<sup>®</sup>, „artus“<sup>®</sup>, „Rotor-Gene“<sup>®</sup> („QIAGEN Group“); BD™ („Becton, Dickinson and Company“); „Sarstedt“<sup>®</sup> („Sarstedt AG and Co.“).

© QIAGEN, 2012. Visos teisės saugomos.

[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

Canada = 800-572-9613

Ireland = 1800 555 049

Norway = 800-18859

China = 021-3865-3865

Italy = 800-787980

Singapore = 65-67775366

Denmark = 80-885945

Japan = 03-6890-7300

Spain = 91-630-7050

Australia = 1-800-243-800

Finland = 0800-914416

Korea (South) = 1544 7145

Sweden = 020-790282

Austria = 0800/281010

France = 01-60-920-930

Luxembourg = 8002 2076

Switzerland = 055-254-22-11

Belgium = 0800-79612

Germany = 02103-29-12000

Mexico = 01-800-7742-639

UK = 01293-422-911

Brazil = 0800-557779

Hong Kong = 800 933 965

The Netherlands = 0800 0229592

USA = 800-426-8157



---

Sample & Assay Technologies