

QIASymphony® RGQ Uygulama Sayfası

QIASymphony RGQ uygulaması artus® BK Virus QS-RGQ Kiti (örnek tipi: idrar, 800 µl)

IVD



Testi gerçekleştirmeden önce

www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx

adresinde yeni elektronik etiketleme revizyonlarının bulunup

bulunmadığını kontrol edin. Mevcut revizyon tarihi çıkış

tarihiyle (format: ay/yıl) belirtilir.

Genel bilgiler

Kit	artus BK Virus QS-RGQ Kiti, Versiyon 1, REF 4514363
Geçerli örnek materyali	İdrar
Ön uç saflaştırma	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat. no. 937055)
Örnek hacmi (fazla hacim dahil)	1000 µl
Analiz Parametre Seti	artus_BKV_urine800_V4
Varsayılan Analiz Kontrol Seti	Complex800_V6_DSP_artus_BKV
Elüsyon hacmi	60 µl
Gereken yazılım versiyonu	Versiyon 4.0 veya üstü
Master karışım hacmi	10 µl
Şablon hacmi	15 µl
Reaksiyon sayısı	6-24*
AS modülünde çalışma süresi	6 reaksiyon için: yaklaşık 8 dakika 72 reaksiyon için: yaklaşık 35 dakika

* BK virüsü için test kurulumu için, QIASymphony AS üzerinde bir çalışmada 216 (9 x 24) adede kadar test kurulabilir.

Mayıs 2012



Sample & Assay Technologies

Gereken ama sağlanmayan malzemeler

Saflaştırma kiti	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat. no. 937055)
QIASymphony SP Adaptörleri	■	Elution Microtube Rack QS(Elüsyon Mikrotüp Askısı QS) (Soğutma Adaptörü, EMT, v2, Qsym, kat. no. 9020730)
	■	Tube Insert 3B (Insert, 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym, kat. no. 9242083)
QIASymphony SP için Sarf Malzemesi	■	Sample Prep Cartridges, 8-well (Örnek Hazırlama Kartuşları, 8 kuyucuklu kartuşlar) (kat. no. 997002)
	■	8-Rod Covers (8 Rod Kılıfları) (kat. no. 997004)
	■	Filter-Tips (Filtre Uçları), 1500 µl (kat. no. 997024)
	■	Filter-Tips (Filtre Uçları), 200 µl (kat. no. 990332)
	■	Elution Microtubes CL (Elüsyon Mikrotüpleri CL) (kat. no. 19588)
	■	Tip disposal bags (Uç Atık Torbaları) (kat. no. 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H veya Micro tubes 2.0 ml Type I (Mikro tüpler 2,0 ml Tip H ve Mikro tüpler 2,0 ml Tip I) (Sarstedt, kat. no. 72.693 ve 72.694, www.sarstedt.com) örnekler ve dahili kontrollerle kullanım için
QIASymphony AS için adaptörler ve reaktif tutucular	■	Reagent holder 1 QS (Reaktif tutucu 1 QS) (Soğutma Adaptörü, Reaktif tutucu 1, Qsym, kat. no. 9018090)
	■	Reagent holder 2 QS (Reaktif tutucu 2 QS) Soğutma Adaptörü, Reaktif tutucu 2, Qsym, kat. no. 9018089)
	■	RG Strip Tubes 72 QS (RG Strip Tüpleri 72 QS) (Soğutma Adaptörü, RG Strip Tubes 72, Qsym, kat. no. 9018092)
QIASymphony AS için Sarf Malzemesi	■	Strip Tubes and Caps (Şerit Tüpleri ve Kapakları), 0.1 ml (kat. no. 981103)
	■	Tubes, conical, (Tüpler, konik) 2 ml, Qsym AS (kat. no. 997102)* veya Mikro tüpler 2,0 ml Tip I (Sarstedt, kat. no. 72.694.005)
	■	Tube, conical (Tüpler, konik), 5 ml, Qsym AS (kat. no. 997104)* veya Tubes with flat base from PP (PP'den düz tabanlı tüpler) (Sarstedt, kat. no. 60.558.001)
	■	Reagent Bottles (Reaktif Şişeleri), 30 ml, Qsym AS (kat. no. 997108)
	■	Elution Microtubes CL (Elüsyon Mikrotüpleri CL) (kat. no. 19588)
	■	Filter-Tips (Filtre Uçları), 1500 µl (kat. no. 997024)
	■	Filter-Tips (Filtre Uçları), 200 µl (kat. no. 990332)
	■	Filter-Tips (Filtre Uçları), 50 µl (kat. no. 997120)
	■	Tip disposal bags (Uç Atık Torbaları) (kat. no. 9013395)
Örnek hazırlama için (idrar)	■	Buffer ATL (Tampon ATL), GPR (kat. no. 939016)

* Lütfen bulunup bulunmadığını sorun.

Örnek kullanımı ve saklama

Örnek toplama	İnsan idrarı
Örnek taşıma	Kırılmaz nakil kabı 6 saat içinde sevkiyat Sevkiyatı patojenik materyal nakli için yasal talimatla birlikte gönderin*
Örnek hazırlama	Örnekler içinde veya üzerinde köpük oluşmasını engelleyin. Çalışmaya başlamadan önce örnekler oda sıcaklığına (15–25°C) dengelenmelidir.

* International Air Transport Association (Uluslararası Hava Taşımacılığı Derneği) (IATA). Dangerous Goods Regulations (Tehlikeli Mallar Düzenlemesi).

Prosedür

Taşıyıcı RNA'nın hazırlanması ve örneklerle dahili kontrolün eklenmesi

QIASymphony DSP Virüs/Patojen Midi Kitinin *artus* BK Virus QS-RGQ Kitiyle kombinasyon halinde kullanılması örnek hazırlama etkinliği ve aşağı doğru testi izlemek için saflaştırma işlemine inaktive edilmiş sağlam dahili kontrol (BK Virus RG IC) eklenmesini gerektirir.

Dahili kontroller taşıyıcı RNA (CARRIER)–Tampon AVE (AVE) karışımıyla eklenmelidir ve dahili kontrol–taşıyıcı RNA (CARRIER)–Tampon AVE (AVE) karışımının toplam hacmi 120 µl olarak kalır.

Tablo 1 µl elüsyon hacmi başına 0,1 µl oranıyla izolasyona dahili kontrol eklenmesini temsil etmektedir. Her çalışma için kullanımdan hemen önce taze karışımların hazırlanmasını öneriyoruz.

Bileşen	Hacim (µl) (Sarstedt® tüpleri)*	Hacim (µl) (BD™ tüpleri)†
Stok taşıyıcı RNA (CARRIER)	3	3
Dahili kontrol‡	9	9
Tampon AVE	108	108
Örnek başına son hacim (ölü hacim hariç)	120	120
n örnek için toplam hacim	(n x 120) + 360§	(n x 120) + 600¶

* Micro tubes 2.0 ml Type H ve Micro tubes 2.0 ml Type I, Sarstedt kat. no. 72.693 ve 72.694.

† Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Becton Dickinson, kat. no. 352051).

‡ Dahili kontrol miktarı hesaplaması başlangıç elüsyon hacimlerini (90 µl) temel alır. Ek boşluk hacmi kullanılan örnek tüpü tipine bağlıdır.

§ 3 ek örneğe (yani 360 µl) karşılık gelen dahili kontrol karışımı gereklidir. 1,92 ml toplam hacimden daha fazla doldurmayın (maksimum 13 örneğe karşılık gelir). Bu hacimler Micro tubes 2.0 ml Type H ve Micro tubes 2.0 ml Type I için spesifiktir (Sarstedt kat. no.'ları 72.693 ve 72.694).

¶ 5 ek örneğe (yani 600 µl) karşılık gelen dahili kontrol karışımı gereklidir. 13,92 ml toplam hacimden daha fazla doldurmayın (maksimum 111 örneğe karşılık gelir). Bu hacimler Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Becton Dickinson, kat. no. 352051) için spesifiktir.

QIASymphony SP kurulumu

“Waste” (Atık) çekmecesi

Ünite kutusu tutucu 1–4	Boş ünite kutuları
Atık torbası tutucu	Atık torbası
Sıvı atık şişesi tutucu	Sıvı atık şişesini boşaltın ve kurun

“Eluate” (Elüt) çekmecesi

Elüsyon askısı	Yuva 1, soğutma pozisyonunu kullanın
Elüsyon hacmi*	Önceden seçili elüsyon hacmi: 60 µl Başlangıç elüsyon hacmi: 90 µl

* Protokol için elüsyon hacmi önceden seçilir. Bu son elüsyon tüpünde minimum erişilebilir elüt hacmidir. Elüsyon solüsyonunun başlangıç hacmi gerçek elüt hacminin önceden seçili hacimle aynı olmasını sağlamak için gereklidir.

“Reagents and Consumables” (Reaktifler ve Sarf Malzemeleri) çekmecesi

Pozisyon A1 ve/veya A2	48 örneğe kadar 1 reaktif kartuşu (RC) veya 96 örneğe kadar 2 yeni reaktif kartuşu (RC) yükleyin
Pozisyon B1	Buffer (Tampon) ATL (ATL)
Uç askı tutucu konumları 1–17	Yeterli sayıda tek kullanımlık filtre ucu 200 µl ve 1500 µ askı yükleyin (bkz. “1-4 örnek grubu için gereken plastik malzeme”, sayfa 6)
Ünite kutusu tutucu pozisyonu 1–4	Örnek hazırlama kartuşları ve 8 Rod Kılıflarını içeren ünite kutularını yükleyin (bkz. “1-4 örnek grubu için gereken plastik malzeme”, sayfa 6)

“Sample” (Örnek) çekmecesi

Örnek tipi	İdrar
Örnek hacmi (fazla hacim dahil)	1000 µl
Örnek tüpleri	Micro tubes 2.0 ml Type H veya Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, kat. no. 72.693 ve 72.694)
İnsert	Tube Insert 3B (kat. no. 9242083)

1-4 örnek grubu için gereken plastik malzeme

	Bir grup, 24 örnek*	İki grup, 48 örnek*	Üç grup, 72 örnek*	Dört grup, 96 örnek*
Tek kullanımlık filtre uçları, 200 µl ^{†‡}	34	60	86	112
Tek kullanımlık filtre uçları, 1500 µl ^{†‡}	123	205	295	385
Örnek hazırlama kartuşları [§]	18	36	54	72
8-Rod Kılıfları [¶]	3	6	9	12

* Grup başına birden fazla dahili kontrol tüpü kullanılması ve birden fazla envanter taraması yapılması ek tek kullanımlık filtre uçları gerektirir.

† Uç askısı başına 32 filtre ucu vardır.

‡ Gereken filtre ucu sayısına reaktif kartuşu başına 1 envanter taraması için filtre uçları dahildir.

§ Ünite kutusu başına 28 örnek hazırlama kartuşu vardır.

¶ Ünite kutusu başına on iki 8 Rod Kılıfı vardır.

QIASymphony AS kurulumu

Sarf Malzemeleri

Kurulum sırasında her sarf malzemesi için QIASymphony AS modülü üzerinde uygun pozisyonlar aletin dokunmatik ekranı üzerinde belirtilir.

Sarf Malzemeleri	Dokunmatik ekranda isim	Adaptör/reaktif tutucuyla kullanılmak içindir
Şerit Tüpleri ve Kapakları, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *Şerit Tüpleri 0,1	RG Şerit Tüpleri 72 QS
Tüpler, konik, 2 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt‡	Reaktif tutucu 1 QS Reaktif tutucu 2 QS
Tüp, konik, 5 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt‡	Reaktif tutucu 1 QS Reaktif tutucu 2 QS
Reaktif Şişeleri, 30 ml, Qsym AS (50)*	QIA#997108 *Şişe 30 ml‡	Reaktif tutucu 2 QS
Elüsyon Mikrotüpleri CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Elüsyon Mikrotüp Askısı QS

* Master karışım bileşenleri, sistem tarafından hazırlanan master karışım, test standartları ve test kontrolleri için.

† Alternatif olarak "Gereken ama sağlanmayan malzemeler", sayfa 2 içinde tanımlanan Sarstedt tüpleri kullanılabilir.

‡ Dokunmatik ekranda "(m)" ön eki ilgili tüp için sıvı seviyesi hesaplamalarını konkav bir menisküs oluşturan reaktifler için optimize edildiğine işaret eder.

Adaptörler ve reaktif tutucular

Askı/reaktif tutucu	Ad	Gereken sayı§
Örnek askısı	Elüsyon Mikrotüp Askısı QS	1
Reaktif tutucular	Reaktif tutucu 1 QS	1
Test askıları	RG Şerit Tüpleri 72 QS	1

§ 72 reaksiyonlu bir test çalışması için hesaplanmıştır.

Filtre uçları

Uç lotları 1, 2 ve 3 ile başlayarak "Eluate and Reagents" (Elüt ve Reaktifler) çekmesine uç askılarını yükleyin ve sonra uç askılarını "Assays" (Testler) çekmesinde uç yuvaları 7, 8 ve 9'a yükleyin.

Sarf Malzemesi	Dokunmatik ekranda isim	24 reaksiyon için minimum sayı	72 reaksiyon için minimum sayı
Filtre Uçları, 1500 µl (1024)	1500 µl	3	4
Filtre Uçları, 200 µl (1024)	200 µl	5	5
Filtre Uçları, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Uç Atık Torbaları	–	1	1

Rotor-Gene Q üzerinde RT-PCR

Lütfen yazılıma spesifik protokol sayfası "Settings to run *artus* QS-RGQ Kits" belgesine www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx adresinde başvurun.

artus BK Virus QS-RGQ Kiti için spesifik ayarlar

Rotor-Gene AssayManager *artus* BK Virus QS-RGQ Kiti için parametreleri otomatik olarak ayarlar.

Rotor-Gene yazılımı 2.1 ile spesifik ayarlar aşağıda gösterilmiştir.

Reaksiyon Hacmi (µl)	50
Tutma	Tutma Sıcaklığı: 95 derece Tutma Süresi: 10 dk
Döngü	45 kez 95 derece, 15 sn için 65 derece, 30 sn için 72 derece, 20 sn için Birleştirme adımında touchdown işlevini 10 döngü için etkinleştirdiğinizden emin olun.
Otomatik Kazanç Optimizasyonu Kurulumu	65 derece (Örnekler: Yeşil; IC: Turuncu)

Sonuçların yorumlanması

Bu bölüm Rotor-Gene Q sonuçlarının yorumlanmasını tanımlar. Ayrıca tam bir örnekten sonuca iş akışı analizi için QIASymphony SP/AS sonuç dosyalarındaki örnek durumu bilgisini gözden geçirin. Sadece geçerli durumu olan örnekler kullanılacaktır.

Rotor-Gene AssayManager PCR sonuçlarını otomatik olarak yorumlar ve bir sonuç ve kantitatif sonuç verir.

Aşağıdaki bölümler Rotor-Gene yazılımı 2.1 veya üstü kullanılarak sonuçların yorumlanmasını tanımlar.

Sinyal saptama ve sonuçlar — idrar 800 µl

Cycling Green kanalında sinyal	Cycling Orange kanalında sinyal	Kantitasyon sonuç (kopya/ml)	Yorumlama
Evet	Evet	< 78,5	Geçerli sonuç: <100 kopya/ml BK virüsü DNA'sı saptandı Kantitasyon mümkün değil çünkü kantitatif sonuç saptama limitinin altında. Pozitif sonucun tekrar üretilebilirliği garanti edilmez.
Evet	Evet	≥78,5 ve <100	Geçerli sonuç: <100 kopya/ml BK virüsü DNA'sı saptandı Kantitasyon mümkün değil çünkü kantitatif sonuç testin lineer aralığının altında.
Evet	Evet	≥100 ve ≤1 x 10 ⁹	Geçerli sonuç: Hesaplanan konsantrasyonda BK virüsü DNA'sı saptandı Kantitatif sonuç testin lineer aralığı dahilinde.
Evet	Evet	>1 x 10 ⁹	Geçerli sonuç: >1 x 10 ⁹ kopya/ml BK virüsü DNA'sı saptandı Kantitasyon mümkün değil çünkü kantitatif sonuç testin lineer aralığının altında.*
Hayır	Evet	–	Geçerli sonuç: BK virüsü DNA'sı saptanamaz.†
Hayır	Hayır	–	Geçersiz sonuç: Bir sonuca varılamaz.‡

* Kantitasyon isteniyorsa örneği BK virüsü içermeyen idrarla seyreltin ve tekrar işleyin. Tekrar işlenmiş örnekten kantitatif sonucu dilüsyon faktörüyle çarpın.

† Negatif bir örneğin dahili kontrolü için C_T değeri çalışmada şablonsuz kontrolün dahili kontrolü için C_T değerinden 3 döngüden daha yüksekse ($C_{TIC\ Ömek} - C_{TIC\ NTC} > 3$), örnek geçersiz olarak muamele görmelidir. Bir sonuca varılamaz.

‡ Hata kaynakları ve çözümleriyle ilgili bilgi *artus BK Virus QS-RGQ Kit Handbook* içinde "Troubleshooting guide" (Sorun giderme kılavuzu) kısmında bulunabilir.

PCR analizi için eşik kurulumu

Verilen bir Rotor-Gene Q aleti ve *artus QS-RGQ* Kiti kombinasyonu için optimum eşik ayarları her ayrı kombinasyon test edilerek deneme yoluyla ayarlanmalıdır çünkü genel diagnostik iş akışına bağlı relatif bir değerdir. İlk PCR çalışmasının analizi için eşik 0,04 ön değeriyle ayarlanabilir ancak bu değer iş akışında sonraki çalışmaların karşılaştırmalı bir analiziyle daha ileri ayarlanmalıdır. Eşik manuel olarak negatif kontrollerin ve negatif örneklerin arka plan sinyalinin hemen üzerinde ayarlanmalıdır. Bu deneylerden hesaplanan ortalama eşik değeri muhtemelen gelecekteki çalışmaların çoğunluğuyla çalışacaktır ama kullanıcı yine de oluşturulan eşik değerini düzenli aralıklarla gözden geçirmelidir. Eşik değeri genellikle 0,03–0,05 aralığında olacaktır ve virgülden sonra en fazla üç rakam olacak şekilde yuvarlanmalıdır.

Kantitasyon

artus BK Virus QS-RGQ Kitindeki kantitasyon standartları (BK Virus RG QS 1–4) daha önce saflaştırılmış örneklerle aynı şekilde muamele edilir ve aynı hacim kullanılır (15 µl). Rotor-Gene Q aletleri üzerinde standart bir eğri oluşturmak için 4 kantitasyon standardının hepsi kullanılmalı ve Rotor-Gene Q aleti üzerinde belirtilen konsantrasyonlarla standartlar olarak "Edit Samples" (Örnekleri Düzenle) diyalog kutusunda tanımlanmalıdır (bkz. alet kullanım kılavuzu).

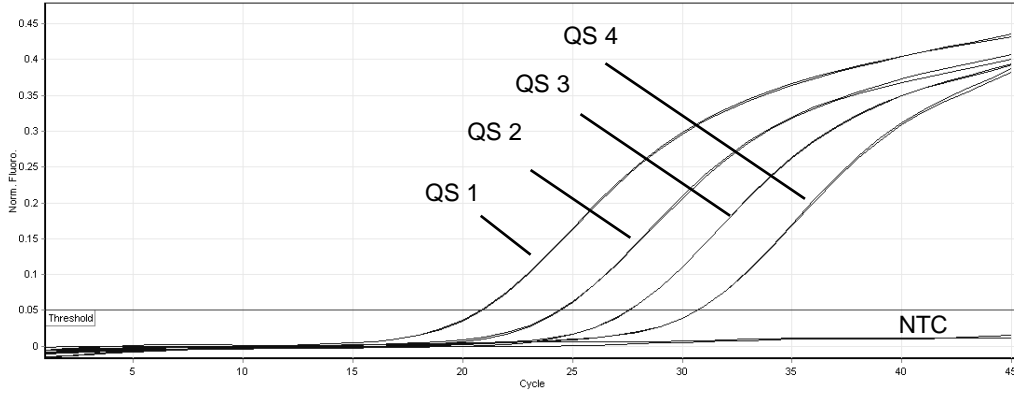
Not: Kantitasyon standartları kopya/µl olarak tanımlanır. Aşağıdaki denklemin standart eğri kullanılarak belirlenen değerlerin kopya/ml örnek materyal olarak dönüştürülmesi için uygulanması gerekir.

$$\text{Sonuç (kopya/ml)} = \frac{\text{Sonuç (kopya/µl)} \times \text{Başlangıç Elüsyon Hacmi (90 µl)*}}{\text{Örnek Hacmi (ml)}}$$

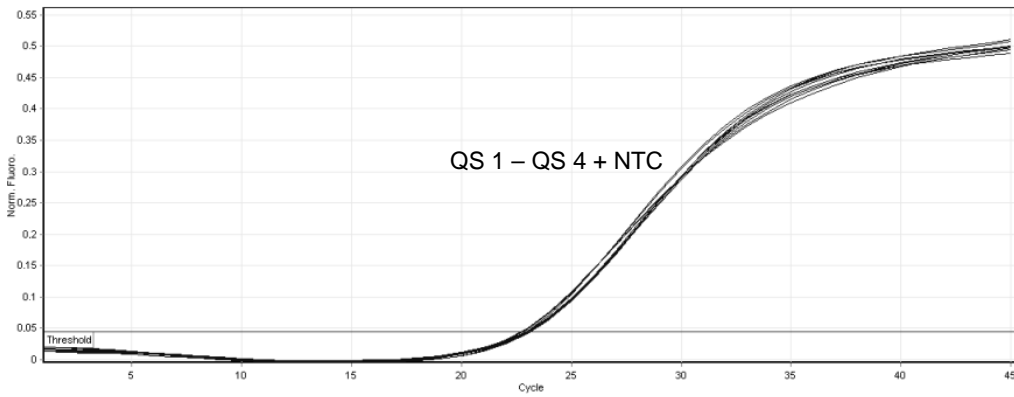
Prensip olarak başlangıç örnek hacmi yukarıdaki denkleme girilmelidir. Örnek hacmi nükleik asit ekstraksiyonu öncesinde değiştirildiğinde bunun dikkate alınması gerekir (örn. hacmin santrifügasyonla azaltılması veya izolasyon için gerekli hacme ekleme yapılarak hacmin artırılması).

* Hesaplama başlangıç elüsyon hacimlerini (90 µl) temel alır.

Pozitif ve negatif PCR reaksiyonları örnekleri



Kantitasyon standartlarının (BK Virüsü RG QS 1–4) floresans kanalı Cycling Green içinde saptanması. NTC: Şablon kontrolü yok (negatif kontrol).



Kantitasyon standartlarının (BK Virüsü RG QS 1–4) eş zamanlı amplifikasyonu ile dahili kontrolün (IC) floresans kanalı Cycling Orange içinde saptanması. NTC: Şablon kontrolü yok (negatif kontrol).

Güncel lisans bilgileri ve ürüne özgü yasal uyarılar için ilgili QIAGEN kiti el kitabına veya kullanıcı kılavuzuna bakın. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları www.qiagen.com adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Servisi veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Ticari markalar: QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); BD™ (Becton, Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.).

© 2012 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

www.qiagen.com

Canada = 800-572-9613

China = 021-3865-3865

Denmark = 80-885945

Finland = 0800-914416

France = 01-60-920-930

Germany = 02103-29-12000

Hong Kong = 800 933 965

Ireland = 1800 555 049

Italy = 800-787980

Japan = 03-6890-7300

Korea (South) = 1544 7145

Luxembourg = 8002 2076

Mexico = 01-800-7742-639

The Netherlands = 0800 0229592

Norway = 800-18859

Singapore = 65-67775366

Spain = 91-630-7050

Sweden = 020-790282

Switzerland = 055-254-22-11

UK = 01293-422-911

USA = 800-426-8157

Australia = 1-800-243-800

Austria = 0800/281010

Belgium = 0800-79612

Brazil = 0800-557779



Sample & Assay Technologies