

Nisan 2019

# QIAAsymphony® RGQ Uygulama Sayfası

*artus*® BK Virus QS-RGQ Kit  
(örnek tipi: plazma)

R2

IVD

CE

REF

4514363*artus* BK Virus QS-RGQ Kit, versiyon 1



Testi gerçekleştirmeden önce

[www.qiagen.com/products/artusbkviruspcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusbkviruspcrkitce.aspx) adresinde yeni elektronik etiketleme revizyonlarının bulunup bulunmadığını kontrol edin.

## Genel Bilgiler

Kit	<i>artus</i> BK Virus QS-RGQ Kit, Versiyon 1 (kat.no. 4514363)
Geçerli örnek materyali	İnsan EDTA plazma
Ön uç saflaştırma	QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat. no. 937055)
Örnek hacmi (fazla hacim dahil)	1200 µl
Tahlil Parametre Seti	<i>artus</i> _BKV_plasma1000_V5
Varsayılan Tahlil Kontrol Seti	Cellfree1000_V7_DSP_ <i>artus</i> _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

# Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Malzemeler

## Saflaştırma kiti

- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat. no. 937055)

## QIASymphony SP Adaptörleri

- Elution Microtube Rack QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, kat. no. 9020730)
- Transfer çerçevesi
- Tube Insert 3B (Insert, 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym, kat. no. 9242083)

## QIASymphony SP için Sarf Malzemesi

- Sample Prep Cartridges, 8-well (kat. no. 997002)
- 8-Rod Covers (kat. no. 997004)
- Filter-Tips, 1500 µl (kat. no. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (kat. no. 990332)
- Elution Microtubes CL (kat. no. 19588)
- Tip disposal bags (kat. no. 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Type H veya Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt®, kat. no. 72.693 ve 72.694, [www.sarstedt.com](http://www.sarstedt.com)) örnekler ve dahili kontrollerle kullanım için

## QIASymphony AS için adaptörler ve reaktif tutucular

- Reagent holder 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, kat. no. 9018090)
- RG Strip Tubes 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, kat. no. 9018092)

## QIASymphony AS için Sarf Malzemesi

- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (kat. no. 981103)
- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (kat. no. 997102) veya Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, kat. no. 72.694.005)
- Alternatif olarak: Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (kat. no. 997104) veya Tubes with flat base from PP (Sarstedt, kat. no. 60.558.001)
- Filter-Tips, 1500 µl (kat. no. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (kat. no. 990332)
- Filter-Tips, 50 µl (kat. no. 997120)
- Tip disposal bags (kat. no. 9013395)

## Numune Kullanımı ve Saklama

Örnek toplama	Kan örneği 5–10 ml EDTA'lı kan 8x genel kullanım karışımı — ajitasyon yok! Heparinize insan örnekleri kullanılmamalıdır.
Örnek saklama	Ayırma: 20 dakika santrifügasyon, 800–1600 x g, topladıktan sonraki 24 saat içinde İzole edilmiş plazmayı steril bir polipropilen tüpe aktarın Tahilin hassasiyeti eğer örnekler rutin olarak dondurulursa veya daha uzun bir süre saklanırsa azalabilir.
Örnek taşıma	Kırılmaz nakil kabı 24 saat içinde sevkiyat Sevkiyatı patojenik materyal nakli için yasal talimatla birlikte gönderin* Kan örnekleri soğuk (2 - 8°C) olarak gönderilmelidir
Olumsuz etkileyen maddeler	Heparin (≥10 IU/ml) PCR'ı etkiler. Antikoagülan olarak heparin içeren tüplerde toplanan örnekler veya heparinize hastalardan örnekler kullanılmamalıdır.
Örnek hazırlama	Örnekler içinde veya üzerinde köpük oluşmasını engelleyin Çalışmaya başlamadan önce örnekler oda sıcaklığına (15–25°C) dengelenmelidir.

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

# Prosedür

## Taşıyıcı RNA'nın hazırlanması ve örneklere dahili kontrolün eklenmesi

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit'in *artus* QS-RGQ Kit ile kombinasyon halinde kullanılması örnek hazırlama etkinliği ve aşağı doğru tahlili izlemek için saflaştırma işlemine inaktive edilmiş sağlam dahili kontrol (BK Virus RG IC) eklenmesini gerektirir.

Dahili kontroller taşıyıcı RNA (CARRIER)–Buffer AVE (AVE) karışımıyla eklenmelidir ve dahili kontrol–taşıyıcı RNA (CARRIER)–Buffer 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.

Alternatif olarak QIASymphony Management Console'daki "IC Calculator" (IC Hesap Makinesi) Aracı da kullanılabilir.

Bileşen	Hacim (µl) (Sarstedt tüpleri)*	Hacim (µl) (Corning tüpleri)†
Stok taşıyıcı RNA (CARRIER)	5	5
Dahili kontrol‡	9	9
Buffer AVE	106	106
Örnek başına son hacim (ölü hacim hariç)	120	120
n örnek için toplam hacim	$(n \times 120) + 360^{\S}$	$(n \times 120) + 600^{\parallel}$

\* 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 (Corning® Inc., kat. no. 352051; bu tüpün eski tedarikçisi Becton Dickinson, şimdiki tedarikçisi ise Corning Inc.'dir).

‡ 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. 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 (Corning Inc., kat. no. 352051; bu tüpün eski tedarikçisi Becton Dickinson, şimdiki tedarikçisi ise Corning Inc.'dir) 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" (Elüat) çekmecesi

Elüsyon askısı	Elution Microtube Rack QS ve Transfer çerçevesinde Elution Microtubes CL 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 elüat hacmidir. Elüsyon solüsyonunun başlangıç hacmi gerçek elüat hacminin önceden seçili hacimle aynı olmasını sağlamak için gereklidir.

### "Reagents and Consumables" (Reaktifler ve Sarf Malzemeleri) çekmecesi

RC Pozisyonu 1 ve 2	48 örneğe kadar 1 reaktif kartuşu (Reagent Cartridge, RC) veya 96 örneğe kadar 2 yeni reaktif kartuşu (RC) yükleyin
Uç askı tutucu konumları 1-18	Yeterli sayıda tek kullanımlık filtre ucu 200 µl ve 1500 µl askısı yükleyin (bkz. "1-4 örnek grubu için gereken plastik malzeme", sayfa 7)
Ünite kutusu tutucu pozisyonları 1–4	Örnek hazırlama kartuşları ve 8-Rod Covers içeren ünite kutularını yükleyin (bkz. "1-4 örnek grubu için gereken plastik malzeme", sayfa 7)

## "Sample" (Örnek) çekmecesi

Örnek tipi	İnsan EDTA Plazma
Örnek hacmi (fazla hacim dahil)	1200 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

Bileşen	Bir grup, 24 örnek*	İki grup, 48 örnek*	Üç grup, 72 örnek*	Dört grup, 96 örnek*
Disposable filter-tips, 200 µl†‡	28	52	76	100
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	113	206	309	402
Sample prep cartridges§	21	42	54	72
8-Rod Covers¶	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 mevcuttur.

‡ 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 Covers vardır.

## QIAsymphony AS kurulumu

### Sarf Malzemeleri

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

Sarf Malzemesi	Dokunmatik ekranda isim	Adaptör/reaktif tutucuyla kullanılmak içindir
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) <sup>†‡</sup>	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt <sup>§</sup>	Reagent holder 1 QS
Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (500) <sup>†‡</sup>	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt <sup>§</sup>	Reagent holder 1 QS

\* Barkodlu bir soğutma adaptörü kullanılarak soğutulabilecek laboratuvar gereçlerine işaret eder.

† Master karışım bileşenleri, sistem tarafından hazırlanan master karışım, tahlil standartları ve tahlil kontrolleri için.

‡ Alternatif olarak "Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Malzemeler", sayfa 3 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 <sup>¶</sup>
Reaktif tutucular	Reagent holder 1 QS	1
Örnek askıları	RG Strip Tubes 72 QS	1

¶ 72 reaksiyonlu bir tahlil çalışması için hesaplanmıştır.

### Filtre uçları

Uç lotları 1, 2 ve 3 ile başlayarak "Eluate and Reagents" (Elüat ve Reaktifler) çekmecesine uç askılarını yükleyin ve sonra uç askılarını "Assays" (Tahliller) çekmecesinde uç yuvaları 7, 8 ve 9'a yükleyin.

Sarf Malzemesi	Dokunmatik ekranda isim	24 reaksiyon için minimum sayı	72 reaksiyon için minimum sayı
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



## Rotor-Gene Q üzerinde PCR\*

Lütfen protokol ayrıntıları için yazılıma spesifik protokol sayfası *Settings to run artus QS-RGQ Kits* belgesine [www.qiagen.com/products/artusbkviruspcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusbkviruspcrkitce.aspx) adresinden başvurun.

*artus* BK Virus QS-RGQ Kit için spesifik ayarlar

Rotor-Gene® Q yazılımı 2.1 veya üstü ile spesifik ayarlar aşağıda gösterilmiştir.

Reaction Volume (Reaksiyon Hacmi) (µl)	50 Fiziksel reaksiyon hacmi 25 µl olsa bile Rotor-Gene Q yazılımı içinde reaksiyon hacmi olarak 50 seçtiğinizden emin olun.
Hold (Tutma)	Tutma Sıcaklığı: 95 derece Tutma Süresi: 10 dakika
Cycling (Döngü)	45 kez 15 saniye için 95 derece 30 saniye için 65 derece (Green, Orange Tarama ve 10 döngü için iniş işlevini etkinleştirme)" 20 saniye için 72 derece
Auto-Gain Optimisation Setup (Otomatik Kazanç Optimizasyonu Kurulumu)	65 derece (Örnekler: Green; IC: Orange)

## 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.

*artus* BK Virus QS-RGQ Kit, Rotor-Gene Q yazılımı 2.1 veya üstü ile manuel analiz kullanılarak Rotor-Gene Q üzerinde çalıştırılabilir. Aşağıdaki bölümler Rotor-Gene Q yazılımı 2.1 veya üstü kullanılarak sonuçların yorumlanmasını tanımlar.

\* Varsa, Ocak 2010 veya daha sonra üretilmiş Rotor-Gene Q 5plex HRM cihazı. Üretim tarihi bilgisi, cihazın arkasındaki seri numarasından edinilebilir. Seri numarası, "aa" ibaresinin basamak olarak üretim ayını, "yy" ibaresinin üretim yılının son iki basamağını ve "nnn" ibaresinin benzersiz cihaz tanımlayıcıyı gösterdiği "aayynn" biçimindedir.

## Sinyal saptama ve sonuçlar

Cycling Green kanalında sinyal	Cycling Orange kanalında sinyal	Kantitatif sonuç (kopya/ml)	Yorum
Evet	Evet	<26,7	Geçerli sonuç: BK virüsü DNA'sı saptandı, <50 kopya/ml. Kantitasyon mümkün değil çünkü kantitatif sonuç saptama limitinin altında. Pozitif sonucun tekrar üretilebilirliği garanti edilmez.
Evet	Evet	≥26,7 ve <50	Geçerli sonuç: BK virüsü DNA'sı saptandı, <50 kopya/ml. Kantitasyon mümkün değil çünkü kantitatif sonuç tahlilin lineer aralığının altında.
Evet	Evet/Hayır*	≥50 ve ≤9,3 x 10 <sup>7</sup>	Geçerli sonuç: Hesaplanan konsantrasyonda BK virüsü DNA'sı saptandı. Kantitatif sonuç tahlilin lineer aralığı dahilinde.
Evet	Evet/Hayır*	>9,3 x 10 <sup>7</sup>	Geçerli sonuç: BK virüsü DNA'sı saptandı, >9,3 x 10 <sup>7</sup> kopya/ml. Kantitasyon mümkün değil çünkü kantitatif sonuç tahlilin lineer aralığının üzerinde.†
Hayır	Evet	–	Geçerli sonuç: BK virüsü DNA'sı saptanamaz.‡
Hayır	Hayır	–	Geçersiz sonuç: Bir sonuca varılamaz.§

\* Bu durumda Cycling Orange kanalında bir sinyalin saptanması kullanılmayabilir çünkü yüksek başlangıç BK virüsü DNA konsantrasyonları (Cycling Green kanalında pozitif sinyal) Cycling Orange kanalında dahili kontrol floresan sinyalinin azalmış olması veya olmamasına neden olabilir (rekabet).

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

‡ Negatif bir örneğin dahili kontrolü için C<sub>T</sub> değeri çalışmada şablonsuz kontrolün dahili kontrolü için C<sub>T</sub> değerinden 3 döngüden daha yüksekse (C<sub>T</sub> IC Örnek – C<sub>T</sub> IC NTC >3), örnek geçersiz olarak muamele görmelidir. Bir sonuca varılamaz.

§ Hata kaynakları ve çözümleriyle ilgili bilgi artus *BK Virus QS-RGQ Kit Handbook* içinde "Sorun Giderme Kılavuzu" kısmında bulunabilir.

## PCR analizi için eşik kurulumu

Verilen bir Rotor-Gene Q aleti ve *artus* QS-RGQ Kit 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 Kit'teki kantitasyon standartları (BK Virus 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).

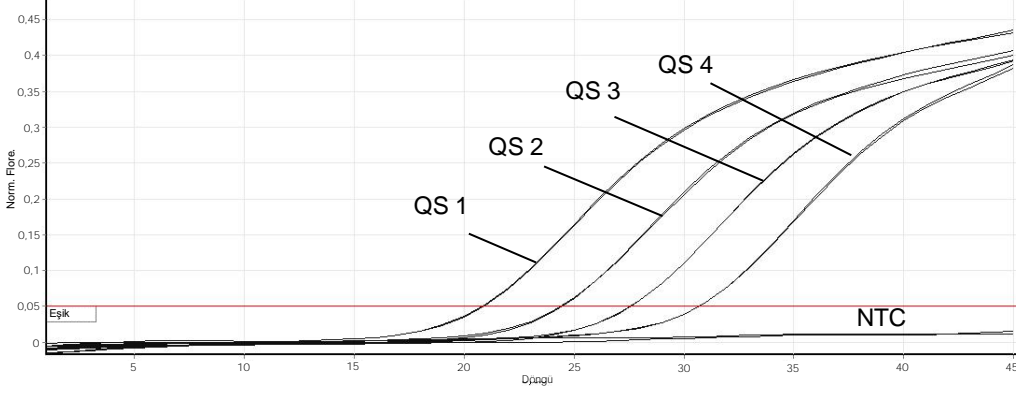
**Not:** Kantitasyon standartları elüattaki kopya/µl olarak tanımlanır. Aşağıdaki denklemin standart eğri kullanılarak belirlenen değerlerin kopya/ml örnek materyal olarak dönüştürülmesi için uygulanması gerekir.

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

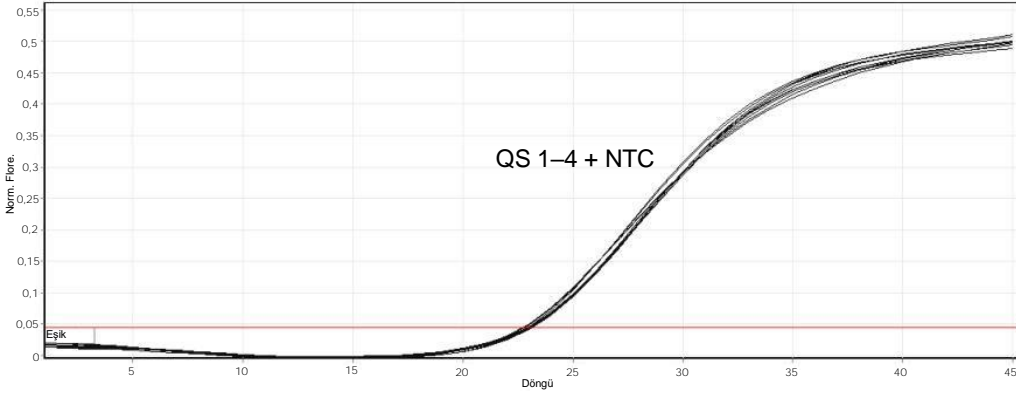
Prensip olarak başlangıç örnek hacmi yukarıdaki denkleme girilmelidir. Örnek hacmi nükleik asit ekstraksiyonu öncesinde değiştirildiğinde bunun dikkate alınması gerekir (örn. hacmin santrifügasyonla azaltılması veya izolasyon için gerekli hacme ekleme yapılarak hacmin artırılması).

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

## Pozitif ve negatif PCR reaksiyonları örnekleri



**Cycling Green floresan kanalında miktar tayini standartlarının (BK Virus QS 1–4) tespiti.**  
NTC: Şablon kontrolü yok (negatif kontrol).



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

### Belge revizyon geçmişi

R2, Nisan 2019 216 tahlil kurulumuna ilişkin dipnot kaldırıldı. QIASymphony protokolleri yeni versiyonlarıyla değiştirildi. Maksimum 72 reaksiyon kurulumu için gereken malzemeler güncellendi. QMC "IC Calculator" (IC Hesap Makinesi) aracının kullanımına dair bilgi eklendi. Corning laboratuvar malzemesinin ismi değiştirildi (daha önce Becton Dickinson'dı). Spesifik Rotor-Gene Q çalışma ayarları eklendi (hacim, iniş işlevini kullanma, edinimler). Sonuçların yorumlanmasına "patojen pozitif ve IC negatif" vakası da dahil olacak şekilde bilgi eklendi. Rotor-Gene AssayManager® kullanımına ilişkin talimatlar kaldırıldı; RT-PCR ifadesi açıklık açısından PCR olarak değiştirildi; Kantitasyon hesaplamasında elüat ve örnek konsantrasyonu arasındaki farkın açıklanması

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

Ticari markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN Group); Corning® (Corning Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Bu belgede geçen kayıtlı isimler, ticari markalar, vb. açıkça bu şekilde belirtilmemiş olsa bile yasalar tarafından korunmaktadır.  
04/2019 HB-0399-S01-002 © 2012–2019 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

