

QIASymphony® RGQ Uygulama Sayfası

QIASymphony RGQ uygulaması artus® BK Virus QS-RGQ Kit (örnek tipi: idrar, 400 µl)



Testi gerçekleştirmeden önce www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx adresinde yeni elektronik etiketleme revizyonlarının varlığını kontrol edin. Mevcut revizyon tarihi çıkış tarihiyle (format: ay/yıl) belirtilir.

Genel bilgi

Kit	artus BK Virus QS-RGQ Kit, 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)	500 µl
Analiz Parametre Seti	artus_BKV_urine400_V4
Varsayılan Analiz Kontrol Seti	Complex400_V4_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	■	Elüsyon Mikrotüp Askısı QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, kat. no. 9020730)
	■	Tüp İnserti 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 (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)
	■	Elüsyon Mikrotüpleri CL (kat. no. 19588)
	■	Tip disposal bags (Uç atma torbaları) (kat. no. 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H or 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.'ları 72,693 ve 72,694, www.sarstedt.com) örnekler ve dahili kontrollerle kullanım için
QIAsymphony AS için adaptörler ve reaktif tutucular	■	Reaktif tutucu 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, kat. no. 9018090)
	■	Reaktif tutucu 2 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 2, Qsym, kat. no. 9018089)
	■	RG Strip Tüpleri 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72 QS, Qsym, kat. no. 9018092)
QIAsymphony AS için Sarf Malzemesi	■	Strip Tubes and Caps (Strip Tüpleri ve Kapakları) 0,1 ml (kat. no. 981103)
	■	Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (Tüpler, konik, 2 ml, Qsym AS) (kat. no. 997102)* veya Micro tubes 2.0 ml Type I (Mikro tüpler 2,0 ml Tip I) (Sarstedt, kat. no. 72.694.005)
	■	Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (Tüp, 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 atma torbaları) (kat. no. 9013395)
Örnek hazırlama için (idrar)	■	Tampon ATL, GPR (kat. no. 939016)

* Lütfen bulunup bulunmadığını sorun.

Örnek kullanımı ve saklama

Örnek toplama	İnsan idrar
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 engeller. Çalışmaya başlamadan önce örnekler oda sıcaklığında (15–25°C) dengelenmelidir.

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

İşlem

Taşıyıcı RNA'nın hazırlanması ve örneklere dahili kontrolün eklenmesi

QIAasymphony DSP Virus/Pathogen 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 eklenmeli ve dahili kontrol–taşıyıcı RNA (CARRIER)–Tampon AVE (AVE) karışımının toplam hacmi 120 μ l olarak kalır.

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

Bileşen	Hacim (μ l) (Sarstedt® tüpleri)*	Hacim (μ l) (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¶

* Mikro tüpler 2,0 ml Tip H ve Mikro tüpler 2,0 ml Tip I Sarstedt kat. no.'ları 72,693 ve 72,694.

† Tüpler 14 ml, 17 x 100 mm polistiren yuvarlak altlı (Becton Dickinson, kat. no. 352051).

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

§ 3 ek örneğe (yani, 360 μ l) karşılık gelen dahili kontrol karışımı gereklidir. 1,92 ml toplam hacimden daha fazla doldurmayın (maksimum 13 örneğe karşılık gelir). Bu hacimler Mikro tüpler 2,0 ml Tip H ve Mikro tüpler 2,0 ml Tip I için spesifiktir (Sarstedt kat. no.'ları 72.693 ve 72.694).

¶ 5 ek örneğe (yani, 600 μ l) karşılık gelen dahili kontrol karışımı gereklidir. 13,92 ml toplam hacimden daha fazla doldurmayın (maksimum 111 örneğe karşılık gelir). Bu hacimler Tüpler 14 ml, 17 x 100 mm polistiren yuvarlak altlı (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 pozisyonu kullanın
Elüsyon hacmi*	Önceden seçili elüsyon hacmi: 60 μ l Başlangıç elüsyon hacmi: 90 μ l

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

“Reagents and Consumables” (Reaktifler ve Sarflar) çekmecesi

Pozisyon A1 ve/veya A2	48 örneğe kadar için 1 reaktif kartuşu (RC) veya 96 örneğe kadar için 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 μ l ve 1500 μ askı yükleyin (bakınız 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 (bakınız 1-4 örnek grubu için gereken plastik malzeme”, sayfa 6)

“Sample” (Örnek) çekmecesi

Örnek tipi	İdrar
Örnek hacmi (fazla hacim dahil)	500 µl
Örnek tüpleri	Mikro tüpler 2,0 ml Tip H ve Mikro tüpler 2,0 ml Tip I (Sarstedt kat. no.'ları 72,693 ve 72,694)
Ekle	Tüp İnserti 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	Dokunmalı ekranda isim	Adaptör/reaktif tutucuyla kullanılmak üzere
Strip Tüpleri ve Kapakları 0,1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG Strip 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 * Bottle 30ml‡	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	İsim	Gereken sayı [§]
Örnek askısı	Elüsyon Mikrotüp Askısı QS	1
Reaktif tutucular	Reaktif tutucu 1 QS	1
Test askıları	RG Strip 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) çekmecesine uç askılarını yükleyin ve sonra uç askılarını "Assays" (Testler) çekмесinde uç yuvaları 7, 8 ve 9'a yükleyin.

Sarf Malzemesi	Dokunmalı ekranda isim	24 reaksiyon için minimum sayı	72 reaksiyon için minimum sayı
Filtre Uçları, 1500 μ l (1024)	1500 μ l	3	4
Filtre Uçları, 200 μ l (1024)	200 μ l	5	5
Filtre Uçları, 50 μ l (1024)	50 μ l	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" (*artus* QS-RGQ Kitlerini çalıştırmak için ayarlar) 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
Tut	Tutma Sıcaklığı: 95 derece Tutma Süresi: 10 dk
Döngüleme	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 400 µl

Cycling Green kanalında sinyal	Cycling Orange kanalında sinyal	Kantitasyon sonuç (kopya/ml)	Yorumlama
Evet	Evet	<81,8	Geçerli sonuç: <250 kopya/ml BK virüsü DNA'sı saptandı Kantitasyon mümkün değil çünkü kantitatif sonuç saptama limitinin altında. Pozitif sonucun tekrar üretilebilirliği garanti edilmez.
Evet	Evet	≥81,8 ve <250	Geçerli sonuç: <250 kopya/ml BK virüsü DNA'sı saptandı Kantitasyon mümkün değil çünkü kantitatif sonuç testin lineer aralığının altında.
Evet	Evet	≥250 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_{T IC Örnekleme} – C_{T IC NTC} >3), örnek geçersiz olarak muamele görmelidir. Bir sonuca varılamaz.

‡ Hata kaynakları ve çözümleriyle ilgili bilgi *artus BK Virus QS-RGQ Kiti El Kitabı (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 (bakınız alet kullanım kılavuzu).

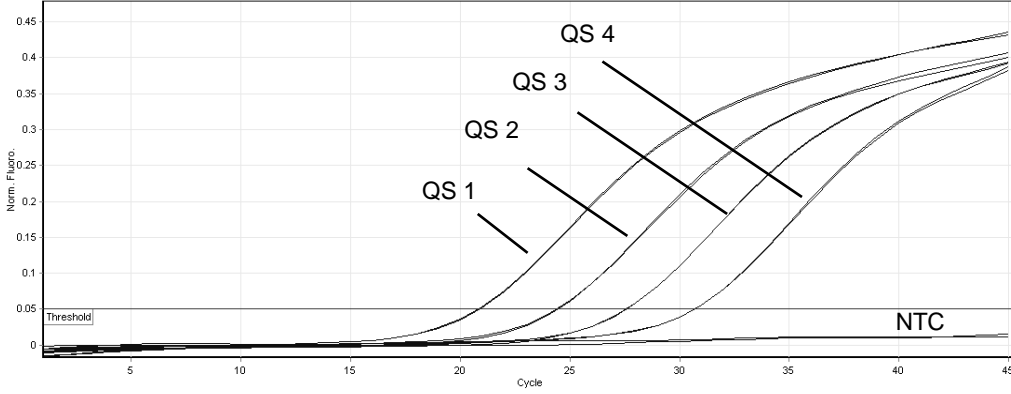
Not: Kantitasyon standartları kopya/µl olarak tanımlanır. Aşağıdaki denklemin standart eğri kullanılarak belirlenen değerlerin kopya/ml örnek materyal olarak dönüştürülmesi için uygulanması gerekir.

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

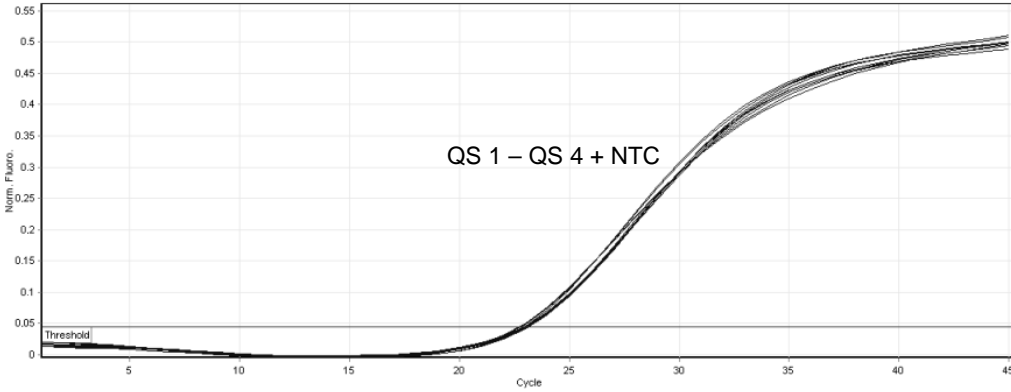
Prensip başlangıç örnek hacmi yukarıdaki denkleme girilmelidir. Örnek hacmi nükleik asit ekstraksiyonu öncesinde değiştirildiğinde bunun dikkate alınması gerekir (örn. hacmin santrifügasyonla azaltılması veya izolasyon için gerekli hacme ekleme yapılarak hacmin arttırılması).

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

Pozitif ve negatif PCR reaksiyonları örnekleri



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



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

Güncel lisanslama bilgisi ve ürüne spesifik red beyanları için ilgili QIAGEN kiti el kitabı veya kullanıcı el kitabına bakınız. QIAGEN kit el kitapları ve kullanıcı el kitapları www.qiagen.com adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Servisinden yada 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