

QIAAsymphony® RGQ Uygulama Sayfası

QIAAsymphony RGQ uygulaması artus® HI Virus-1 QS-RGQ Kiti (örnek tipi: plazma)

IVD

CE
0197



Testi gerçekleştirilmeden önce www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx adresinde yeni elektronik etiket revizyonlarının varlığını kontrol edin. Mevcut revizyon durumu yayım tarihiyle belirtilir (format: ay/yıl).

Genel bilgi

Kit	artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit, Versiyon 1, REF 4513363, 4513366
Onaylanmış örnek materyali	İnsan EDTA plazma
Ön uç saflaştırma	QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat. no. 937055)
Örnek hacmi (fazla hacim dahil)	1.200 µl
Test Parametre Seti	artus_HIV plazma1000_V4
Varsayılan Tahlil Kontrol Seti	Cellfree1000_V6_DSP artus HIV
Elüsyon hacmi	60 µl
Gerekli yazılım versiyonu	Versiyon 4.0 veya üstü
Ana solüsyon karışım hacmi	30 µl
Şablon hacmi	20 µl
Reaksiyon sayısı	6–24 veya 6–72*
AS modülünde çalışma süresi	6 reaksiyon için: yaklaşık 9 dakika 72 reaksiyon için: yaklaşık 35 dakika

* Çok sayıda tahlil çalışması yapılırken 72 reaksiyon ve 1 tahlil askısı adaptörü sınırının aşılmadığına emin olun. Tahlil çalışmasının tamamlanmasıyla Rotor-Gene® Q'ya transfer arasında uzun süreli inkübasyon süresinden (>30 dakika) kaçının.



Mayıs 2012

Sample & Assay Technologies

Gereken ama sağlanmayan materyal

Saflaştırma kiti	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat. no. 937055)
QIASymphony SP için adaptörler	■	Elution Microtube Rack QS (Elüsyon Mikrotüp Askısı QS) (Soğutma Adaptörü, EMT, v2, Qsym, kat. no. 9020730)
	■	Tube Inset 3B (Tüp İneri 3B) (İneri, 2,0 ml v2, örnek taşıyıcı. (24), Qsym, kat. no. 9242083)
QIASymphony SP için sarf malzemesi	■	Sample Prep Cartridges (Örnek Hazırlama Kartuşları), 8 kuyulu (kat. no. 997002)
	■	8-Rod Covers (8 Çubuk Kapağı) (kat. no. 997004)
	■	Filter-Tips (Filtre Uçları), 1.500 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 atma torbaları) (kat. no. 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H (Mikro tüpler 2,0 ml Tip H) veya Micro tubes 2.0 ml Type I (Mikro tüpler 2,0 ml Tip I) (Sarstedt, kat. no. 72.693 ve 72.694, www.sarstedt.com), örnekler ve dahili kontrollerle kullanmak üzere
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 Tüpleri 72, 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 yassı 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), 1.500 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)

* Lütfen mevcudiyet açısından sorun.

Örnek muamelesi ve saklama

Örnek toplanması	Kan örneği 5–10 ml EDTA kan 8x genel karışım — sallama yok! Heparinize insan örnekleri kullanılmamalıdır
Örnek saklama	Ayırma: 20 dakika santrifügasyon, alındıktan sonra 24 saat içinde 800–1.600 x g İzole edilmiş plazmayı steril polipropilen tüpe aktarın Virüs kapsül için RNA şunda stabildir:*) 4°C gün –20°C hafta –70°C ay
Örnek nakli	Kırılmaz nakil 24 saat içinde sevkıyat Sevkıyatı patojenik materyalin nakli için yasal talimata göre postalayın† Kan örnekleri soğuk gönderilmelidir (2–8°C)
Enterferans maddeler	yapıcı Heparin (≥ 10 IU/ml) PCR'yi etkiler. Antikoagülan olarak heparin içeren tüplerde toplanan örnekler veya heparinize hastalardan örnekler kullanılmamalıdır. Artmış albumin (≤ 6 g/dl), bilirubin (≤ 30 mg/dl), lipid (≤ 1 g/dl trigliserit) değerleri ve hemolitik örnekler (≤ 2 g/dl hemoglobin) sistemi etkilemez.

* Arbeitskreis Blut, V17 (09.1997), Bundesgesundheitsblatt 11/1997, p. 452–456.

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

Prosedür

Taşıyıcı RNA hazırlanması ve örneklere dahili kontrol eklenmesi

artus HI Virus-1 QS-RGQ Kitiyle kombinasyon halinde QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kitinin kullanılması örnek hazırlama ve akış yönü tahlilinin etkinliğini izlemek üzere saflaştırma işlemine dahili kontrol (HI Virus-1 RG IC) sokulmasını 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 oranında izolasyona dahili kontrol eklenmesini temsil eder. Her çalışma için kullanımdan hemen önce yeni karışımların hazırlanmasını öneririz.

Bileşen	Hacim (µl) (Sarstedt® tüpleri)*	Hacim (µl) (BD™ tüpleri)†
Stok taşıyıcı RNA (CARRIER)	5	5
Dahili kontrol‡	9	9
Tampon AVE	106	106
Örnek başına son hacim (ölü hacim dahil)	120	120
n örnek için toplam hacim	(n x 120) + 360§	(n x 120) + 600¶

* Mikro tüpler 2,0 ml Tip H veya Mikro tüpler 2,0 ml Tip I Sarstedt kat. no. 72.693 ve 72.694.

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

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

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

¶ 5 ek örneğe karşılık gelen dahili kontrol karışımı (yani 600 µl) gereklidir. 13,92 ml toplam hacimden 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	Slot 1, soğutma pozisyonu kullanılmasını öneririz
Elüsyon hacmi*	Önceden seçilen elüsyon hacmi: 60 μ l Başlangıç elüsyon hacmi: 90 μ l

* Protokol için önceden seçilmiş elüsyon hacmi. Bu, son elüsyon tüpünde minimum erişilebilir elüat hacmidir. Fiili elüat hacminin önceden seçili hacimle aynı olduğunu sağlamak üzere gerekli başlangıç elüsyon solüsyonu hacmi.

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

RC Pozisyonu 1 ve 2	48 adede kadar örnek için 1 reaktif kartuşu (RC) ve 96 adede kadar örnek için 2 yeni reaktif kartuşu (RC) yükleyin
Uç rak tutucu pozisyonu 1–4	Yeterli sayıda tek kullanımlık 200 μ l ucu yükleyin (bakınız “1–4 örnek lotu için gerekli plastik malzeme”, sayfa 6)
Uç rak tutucu pozisyonu 5–18	Yeterli sayıda tek kullanımlık 1.500 μ l ucu yükleyin (bakınız “1–4 örnek lotu için gerekli plastik malzeme”, sayfa 6)
Ünite kutusu tutucu pozisyonu 1–3	Örnek hazırlama kartuşları içeren 3 ünite kutusu yükleyin
Ünite kutusu tutucu pozisyon 4	8 Çubuk Kapağı içeren 1 ünite kutusu yükleyin

“Sample” (Örnek) çekmecesi

Örnek tipi	Plazma
Örnek hacmi (fazla hacim dahil)	1.200 µl
Örnek tüpleri	Mikro tüpler 2,0 ml Tip H veya Mikro tüpler 2,0 ml Tip I (Sarstedt, kat. no. 72.693 ve 72.694)
İnsert	Tüp İnserti 3B (kat. no. 9242083)

1–4 örnek lotu için gerekli plastik malzeme

	Bir lot, 24 örnek [†]	İki lot, 48 örnek [†]	Üç lot, 72 örnek [†]	Dört lot, 96 örnek [†]
Tek kullanımlık filtre uçları, 200 µl ^{‡§}	28	52	76	100
Tek kullanımlık filtre uçları, 1.500 µl ^{‡§}	113	206	309	402
Örnek hazırlama kartuşları [¶]	21	42	54	72
8-Rod Kılıfları ^{**}	3	6	9	12

[†] Lot başına birden fazla dahili kontrol tüpü kullanmak ve birden fazla stok taraması yapmak ek tek kullanımlık filtre ucu gerektirir.

[‡] Uç askısı başına 32 filtre ucu mevcuttur.

[§] Gerekli filtre ucu sayısına reaktif kartuşu başına 1 stok taraması için gerekli filtre uçları dahildir.

[¶] Ünite kutusu başına 28 örnek hazırlama kartuşu mevcuttur.

^{**} Ünite kutusu başına on iki 8 Çubuk Kapağı mevcuttur.

QIASymphony AS kurulumu

Sarf Malzemesi

Kurulum sırasında her sarf malzemesinin QIASymphony AS modülü üzerindeki uygun konumları ekranın dokunmatik ekranında belirtilir.

Sarf Malzemesi	Dokunmatik ekranda isim	Adaptör/reaktif tutucuyla kullanmak 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, 30ml, Qsym AS (50)*	QIA#997108 *Bottle 30ml‡	Reaktif tutucu 2 QS
Elüsyon Mikrotüpleri CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Elüsyon Mikrotüp Askısı QS

* Ana solüsyon karışım bileşenleri, sistem tarafından hazırlanan ana karışım, tahlil standartları ve tahlil kontrolleri için.

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

‡ Dokunmatik ekranda "(m)" eki ilgili tüp için sıvı düzeyi hesaplamalarının konkav menisküs oluşturan ayraçlar için optimize edilmiş olduğuna işaret eder.

Adaptörler ve reaktif tutucular

Rak/reaktif tutucu	İsim	Gerekli sayı [§]
Örnek askısı	Elüsyon Mikrotüp Askısı QS	1
Reaktif tutucular	Reaktif tutucu 1 QS	1
Tahlil askıları	RG Strip Tüpleri 72 QS	1

[§] 72 reaksiyonlu bir tahlil çalışması için hesaplanmıştır.

Filtre uçları

“Eluate and Reagents” (Elüat ve Reaktifler) çekmesinde uç yuvaları 1, 2 ve 3’le başlayarak uç yuvalarını yükleyin ve sonra uç askılarını “Assays” (Tahliller) çekmesinde uç yuvaları 7, 8 ve 9 içine yükleyin.

Sarf malzemesi	Dokunmatik ekranda isim	24 reaksiyon için minimum sayı	72 reaksiyon için minimum sayı
Filtre Uçları, 1.500 μ l (1024)	1.500 μ l	5	6
Filtre Uçları, 200 μ l (1024)	200 μ l	10	10
Filtre Uçları, 50 μ l (1024)	50 μ l	25	73
Uç Atma Torbaları	–	1	1

Rotor-Gene Q üzerinde RT-PCR

Lütfen “Settings to run *artus* QS-RGQ” (*artus* QS-RGQ Kitlerini çalıştırmak için ayarlar) adlı yazılıma spesifik protokol sayfasına www.qiagen.com/products/artushivirusrf-pcrkitce.aspx adresinde başvurun.

***artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kiti için spesifik ayarlar**

Rotor-Gene AssayManager *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kiti için parametreleri otomatik olarak ayarlar.

Rotor-Gene yazılımı 2.1 için spesifik ayarlar aşağıda gösterilmiştir.

Reaksiyon Hacmi (μL)	50
Tut	Tutma Sıcaklığı: 50 derece Tutma Süresi: 30 dakika
Tutma 2	Tutma Sıcaklığı: 95 derece Tutma Süresi: 15 dakika
Döngüleme	50 kez 30 saniye için 95 derece 60 saniye için 50 derece 30 saniye için 72 derece
Otomatik Kazanç Optimizasyonu	50 derece (Örnekler: Yeşil; IC: Turuncu)

Sonuçların yorumlanması

Bu bölüm Rotor-Gene Q üzerinde sonuçların yorumlanmasını tanımlar. Ayrıca tam örnekten sonuca iş akışının analizi için QIASymphony SP/AS sonuç dosyalarından örnek durumu bilgisini gözden geçirin. Sadece geçerli durumu olan örnekler kullanılmalıdır.

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

Aşağıdaki bölümler Rotor-Gene yazılımı 2.1 ve üstünü kullanarak sonuçların yorumlanmasını tanımlar.

Sinyal saptama ve sonuçlar

Cycling Green kanalında sinyal	Cycling Orange kanalında sinyal	Kantitatif sonuç (IU/ml)	Yorum
Evet	Evet	<76,4	Geçerli sonuç: HIV-1 RNA saptandı, <100 IU/ml Kantifikasyon mümkün değil çünkü kantitatif sonuç saptama limitinin altında. Pozitif sonucun tekrar üretilebilirliği garanti edilmez.
Evet	Evet	≥76,4 ve <100	Geçerli sonuç: HIV-1 RNA saptandı, <100 IU/ml Kantifikasyon mümkün değil çünkü kantitatif sonuç testin lineer aralığının altında.
Evet	Evet	≥100 ve ≤1,00 x 10 ⁸	Geçerli sonuç: HIV-1 RNA hesaplanan konsantrasyonda saptandı Kantitatif sonuç testin lineer aralığı dahilinde.
Evet	Evet	>1,00 x 10 ⁸	Geçerli sonuç: HIV-1 RNA saptandı, >1,00 x 10 ⁸ Kantifikasyon mümkün değil çünkü kantitatif sonuç testin lineer aralığı üzerinde.*
Hayır	Evet	–	Geçerli sonuç: HIV-1 RNA saptanmadı.†
Hayır	Hayır	–	Geçersiz sonuç: Herhangi bir sonuca varılamaz.‡

* Kantifikasyon istenirse örneği HIV'siz plazmayla seyreltin ve tekrar işleyin. Tekrar işlenmiş örnekler kantitatif sonucu seyreltme faktörüyle çarpın.

† Negatif bir örneğin dahili kontrolü için C_T değeri çalışmada şablonsuz kontrolün dahili kontrolünün C_T değerinden 3 döngü daha fazla yüksekse (C_{T IC Örneği} – C_{T IC NTC} >3) örnek geçersiz olarak kabul edilmelidir. Herhangi bir sonuca varılamaz.

‡ Hata kaynakları ve çözümleri hakkında bilgi artus HI Virus-1 QS-RGQ Kiti El Kitabı "Sorun Giderme kılavuzu" içinde bulunabilir.

PCR analizi için eşik kurulumu

Belirli bir Rotor-Gene Q cihazı ve artus QS-RGQ Kiti için optimum eşik ayarları ampirik olarak her ayrı kombinasyonun test edilmesiyle ayarlanmalıdır çünkü genel diagnostik iş akışına bağlı relatif bir değerdir. Eşik ilk PCR çalışmasının analizi için 0,04 şeklinde bir ön değere ayarlanabilir ama bu değer sonraki iş akışı çalışmaları sırasında karşılaştırmalı bir analizle ince ayara tabi tutulmalıdır. Eşik manuel olarak negatif kontroller ve negatif örneklerin arka alan sinyalinin hemen üzerine ayarlanmalıdır. Bu deneylerden hesaplanan ortalama eşik değeri muhtemelen gelecekteki çalışmaların çoğunda çalışır ama kullanıcı yine de oluşan eşik değerini düzenli aralıklarla gözden

geçirmelidir. Eşik değeri genellikle 0,03–0,05 aralığında olacaktır ve virgülden sonra en fazla üç rakam şeklinde yuvarlanmalıdır.

Kantitasyon

artus HI Virus-1 QS-RGQ Kitinde kantitasyon standartları (HI Virus-1 RG QS 1–4) önceden saflaştırılmış örnekler gibi muamele görür ve aynı hacim kullanılır (20 µl). Rotor-Gene Q Aletlerinde standart bir eğri oluşturmak üzere 4 kantitasyon standardının tümü Rotor-Gene Q aletinde kullanılıp “Edit Samples” (Örnekleri Düzenle) diyalog kutusunda belirtilen konsantrasyonlara sahip standartlar olarak tanımlanmalıdır (bakınız alet kullanıcı el kitabı).

Not: Kantitasyon standartları IU/µl olarak tanımlanır.* Standart eğri kullanılarak hesaplanan değerlerin IU/ml örnek materyaline dönüştürülmesi için şu denklemin uygulanması gerekir

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

Prensip olarak yukarıdaki denkleme başlangıç örnek hacmi girilmelidir. Bunun eğer örnek hacmi nükleik asit ekstraksiyonu öncesinde değiştirilmişse dikkate alınması gerekir (örn. santrifügasyon ile hacmin azaltılması veya izolasyon için gerekli hacmin eklenmesiyle hacmin artırılması).

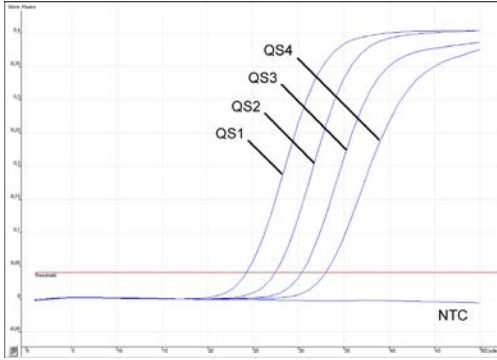
Dönüştürme faktörü

1 IU/ml Rotor-Gene Q üzerinde HIV-1 RNA saptanması için 0,45 kopya/ml değerine karşılık gelir. Dönüştürme faktörü kopya/ml olarak bildiren bir referans yöntemiyle karşılaştıran çoklu dilüsyon serilerinin bir regresyonu analiziyle belirlenmiştir.

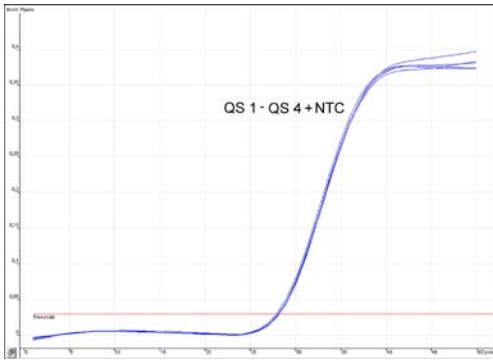
* Standart Uluslararası HIV standardı (DSÖ) kullanılarak kalibre edilmiştir.

† Hesap başlangıç elüsyon hacimlerini (90 µl) temel alır.

Pozitif ve negatif PCR reaksiyonu örnekleri



Floresans kanalı Cycling Green içinde kantitasyon standartlarının (HI Virus-1 RG QS 1–4) saptanması. NTC: Şablonsuz kontrol (negatif kontrol).



Floresans kanalının Cycling Orange içinde dahili kontrol (IC) saptanması ve kantitasyon standartlarının (HI Virus-1 RG QS 1–4) simültane amplifikasyonu. NTC: Şablonsuz kontrol (negatif kontrol).

Güncel lisanslama bilgisi ve ürüne spesifik red beyanları için ilgili QIAGEN kiti el kitabı veya kullanıcı el kitabına bakınız. QIAGEN kiti el kitapları ve kullanıcı el kitapları 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