

Febbraio 2018

Scheda di Applicazione QIASymphony[®] RGQ

artus[®] HSV-1/2 QS-RGQ Kit (tipo di campione:
plasma)

R2

IVD

CE

REF

4500363

artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit, versione 1



Prima di eseguire il test verificare la disponibilità di nuove revisioni delle etichette elettroniche nel sito www.qiagen.com/products/artushsv-12pckitce.aspx.

Informazioni generali

| | |
|-----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Kit | <i>artus</i> HSV-1/2 QS-RGQ Kit, versione 1 (n. cat. 4500363) |
| Campioni convalidati | Plasma umano in EDTA |
| Purificazione anteriore | QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (n. cat. 937055) |
| Volume del campione (compreso il volume in eccesso) | 1200 µl |
| Set di parametri del test | <i>artus</i> _HSV_plasma1000QL_V5 |
| Set di controllo del test predefinito | Cellfree1000_V7_DSP_artus_HSV |
| Volume di eluizione | 60 µl |
| Versione del software necessaria | Versione 4.0 o superiore |
| Volume miscela master | 30 µl |
| Volume del template | 20 µl |
| Numero di reazioni | 4-24 |
| Durata esecuzione su modulo AS | Per 4 reazioni: circa 9 minuti Per 72 reazioni: circa 35 minuti |

Materiali necessari ma non in dotazione

Kit di purificazione

- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (n. cat. 937055)

Adattatori per QIASymphony SP

- Elution Microtube Rack QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, n. cat. 9020730)
- Telaio di trasferimento
- Tube Insert 3B (Insert, 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym, n. cat. 9242083)

Materiali di consumo per QIASymphony SP

- Sample Prep Cartridges, 8-well (n. cat. 997002)
- 8-Rod Covers (n. cat. 997004)
- Filter-Tips, 1500 µl (n. cat. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (n. cat. 990332)
- Elution Microtubes CL (n. cat. 19588)
- Tip disposal bags (n. cat. 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Tipo H o Micro tubes 2.0 ml Tipo I (Sarstedt®, n. cat. 72.693 e 72.694, www.sarstedt.com) per l'uso con campioni e controlli interni

Adattatori e portareagenti per QIASymphony AS

- Reagent holder 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, n. cat. 9018090)
- RG Strip Tubes 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, n. cat. 9018092)

Materiali di consumo per QIASymphony AS

- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (n. cat. 981103)
- Tubes, a fondo conico, 2 ml, Qsym AS (n. cat. 997102) o Micro tubes 2.0 ml Tipo I (Sarstedt, n. cat. 72.694.005)
- In alternativa: Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (n. cat. 997104) or Tubes with flat base from PP (Sarstedt, n. cat. 60.558.001)
- Filter-Tips, 1500 µl (n. cat. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (n. cat. 990332)
- Filter-Tips, 50 µl (n. cat. 997120)
- Tip disposal bags (n. cat. 9013395)

Conservazione e manipolazione dei campioni

| | |
|----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Raccolta dei campioni | Campione di sangue 5–10 ml di sangue in EDTA Miscela capovolta per 8 volte — senza agitare! Non utilizzare campioni di sangue umano eparinizzato. |
| Conservazione dei campioni | Separazione: centrifugazione per 20 minuti, 800–1.600 x g entro 24 ore dal prelievo Trasferimento del plasma isolato in una provetta in polipropilene sterile La sensibilità del test può risultare ridotta se si congelano i campioni di routine o li si conserva per un lungo periodo. |
| Trasporto dei campioni | Trasporto di materiale fragile Spedizione entro 24 ore Spedizione per posta in conformità alle istruzioni legali per il trasporto di materiali patogeni* I campioni di sangue devono essere spediti refrigerati (2-8 °C) |
| Sostanze interferenti | L'eparina (≥ 10 UI/ml) influisce sulla reazione a catena della polimerasi (Polymerase Chain Reaction, PCR). Non utilizzare campioni raccolti in provette contenenti eparina come anticoagulante o campioni di sangue eparinizzato. |
| Preparazione dei campioni | Evitare la formazione di schiuma all'interno o sui campioni I campioni devono essere portati a temperatura ambiente (15-25 °C) prima di avviare il test. |

* International Air Transport Association (IATA, Associazione del trasporto aereo internazionale). Dangerous Goods Regulations (Regolamenti relativi alle merci pericolose).

Procedura

Preparazione del carrier RNA e aggiunta del controllo interno ai campioni

L'utilizzo del QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit in combinazione con l'*artus* HSV-1/2 QS-RGQ Kit richiede l'inserimento del controllo interno (HSV-1/2 RG IC) nella procedura di purificazione per monitorare l'efficienza della preparazione dei campioni e del test a valle.

I controlli interni vanno aggiunti alla miscela di carrier RNA (CARRIER)–tampone AVE (AVE); il volume totale della miscela controllo interno–carrier RNA (CARRIER)–tampone AVE (AVE) deve rimanere di 120 µl.

La tabella descrive l'aggiunta del controllo interno all'isolamento nel rapporto di 0,1 µl per 1 µl di volume di eluizione. Si consiglia di preparare miscele fresche per ogni processo di analisi subito prima dell'uso.

In alternativa si può usare lo strumento "IC Calculator" (calcolatore controllo interno) nella Console QIASymphony.

| Componente | Volume (µl) (provette Sarstedt)* | Volume (µl) (provette Corning)† |
|---------------------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| Soluzione madre con carrier RNA (CARRIER) | 5 | 5 |
| Controllo interno‡ | 9 | 9 |
| Tampone AVE | 106 | 106 |
| Volume finale per campione (volume morto escluso) | 120 | 120 |
| Volume totale per n campioni | $(n \times 120) + 360^{\S}$ | $(n \times 120) + 600^{\P}$ |

* Micro tubes 2.0 ml Tipo H e Micro tubes 2.0 ml Tipo I, Sarstedt n. cat. 72.693 e 72.694.

† Tubes 14 ml, 17 x 100 mm, in polistirene a fondo tondo (Corning® Inc., n. cat. 352051; Becton Dickinson era il precedente fornitore di queste provette e Corning Inc. è l'attuale fornitore).

‡ Il calcolo della quantità di controllo interno è basato sui volumi di eluizione iniziali (90 µl). Il volume supplementare a vuoto dipende dal tipo di provetta per campione utilizzata.

§ È necessaria una miscela di controllo interno corrispondente a 3 campioni supplementari (ossia 360 µl). Non riempire per un volume totale superiore a 1,92 ml (corrispondente ad un massimo di 13 campioni). Questi volumi sono specifici delle microprovette Micro tubes 2.0 ml Tipo H e Micro tubes 2.0 ml Tipo I, Sarstedt n. cat. 72.693 e 72.694).

¶ È necessaria una miscela di controllo interno corrispondente a 5 campioni supplementari (ossia 600 µl). Non riempire per un volume totale superiore a 13,92 ml (corrispondente ad un massimo di 111 campioni). Questi volumi sono specifici per provette Tubes 14 ml, 17 x 100 mm, in polistirene a fondo tondo, Corning Inc., n. cat. 352051; Becton Dickinson era il precedente fornitore di queste provette e Corning Inc. è l'attuale fornitore.

Configurazione di QIASymphony SP

Cassetto "Waste" (Materiali di scarto)

| | |
|------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Supporto per box unitari 1-4 | Box unitari vuoti |
| Supporto per sacchetto dei materiali di scarto | Sacchetto dei materiali di scarto |
| Supporto per contenitore dei residui liquidi | Svuotare e installare il contenitore dei materiali di scarto liquidi |

Cassetto "Eluate" (Eluito)

| | |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Rack per eluizione | Elution Microtubes CL in Elution Microtube Rack QS e telaio di trasferimento Utilizzare l'apertura 1, posizione di raffreddamento |
| Volume di eluizione* | Volume di eluizione preselezionato: 60 µl Volume di eluizione iniziale: 90 µl |

* Il volume di eluizione è preselezionato per il protocollo. Si tratta del volume accessibile minimo di eluito nella provetta di eluizione finale. Il volume iniziale della soluzione di eluizione è necessario per garantire che il volume effettivo di eluito sia identico al volume preselezionato.

Cassetto "Reagents and Consumables" (Reagenti e materiali di consumo)

| | |
|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| RC posizioni 1 e 2 | Caricare 1 cartuccia reagenti (Reagent cartridge, RC) per max. 48 campioni o 2 cartucce reagenti (RC) nuove per max. 96 campioni |
| Supporto per rack per puntali posizioni 1-18 | Caricare un sufficiente numero di rack per puntali con filtro monouso, 200 µl e 1500 µl (vedere "Plastica da laboratorio necessaria per lotti da 1-4 campioni", pag. 7) |
| Supporto per box unitari posizioni 1-4 | Caricare box unitari contenenti cartucce per la preparazione dei campioni e 8-Rod Cover (vedere "Plastica da laboratorio necessaria per lotti da 1-4 campioni", pag. 7) |

Cassetto "Sample" (Campione)

| | |
|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tipo di campione | Plasma umano in EDTA |
| Volume del campione (compreso il volume in eccesso) | 1200 µl |
| Provette per campioni | Micro tubes 2.0 ml Tipo H o Micro tubes 2.0 ml Tipo I (Sarstedt, n. cat. 72.693 e 72.694) |
| Inserto | Tube Insert 3B (n. cat. 9242083) |

Plastica da laboratorio necessaria per lotti da 1-4 campioni

| Componente | Un lotto, 24 campioni* | Due lotti, 48 campioni* | Tre lotti, 72 campioni* | Quattro lotti, 96 campioni* |
|---------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| Puntali con filtro monouso, 200 µl ^{†‡} | 30 | 54 | 78 | 102 |
| Puntali con filtro monouso, 1500 µl ^{†‡} | 101 | 182 | 271 | 354 |
| Sample prep cartridges [§] | 21 | 42 | 63 | 84 |
| 8-Rod Covers [¶] | 3 | 6 | 9 | 12 |

* L'impiego di più di una provetta di controllo interno per lotto e l'esecuzione di più di una scansione di inventario richiedono ulteriori puntali con filtro monouso.

[†] Ci sono 32 puntali con filtro su ogni rack per puntali.

[‡] La quantità di puntali con filtro necessari include i puntali con filtro per 1 scansione di inventario per ogni cartuccia reagenti.

[§] Ci sono 28 cartucce per la preparazione dei campioni in ogni box unitario.

[¶] Ci sono dodici coperchi per 8 barre in ogni box unitario.

Configurazione di QIASymphony AS

Materiali di consumo

Durante la configurazione, le rispettive posizioni di ogni materiale di consumo sul modulo QIASymphony AS sono indicate sul touch screen dello strumento.

| Materiali di consumo | Nome sul touch screen | Da utilizzare con adattatore/ portareagenti |
|------------------------------------------------------|---------------------------------------------|------------------------------------------------|
| 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 |
| Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (500) ^{†‡} | QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt [§] | Reagent holder 1 QS |

* Indica il materiale da laboratorio che può essere raffreddato utilizzando un adattatore di raffreddamento con codice a barre.

† Per componenti della miscela master, miscela master preparata dal sistema, standard del test e controlli del test.

‡ In alternativa, si possono usare le provette Sarstedt descritte in "Materiali necessari ma non in dotazione", pag. 3.

§ Il suffisso "(m)" sul touch screen indica che i calcoli del livello di liquido per la rispettiva provetta sono stati ottimizzati per i reagenti che formano un menisco concavo.

Adattatori e portareagenti

| Rack/portareagenti | Nome | Numero necessario [¶] |
|--------------------|----------------------|--------------------------------|
| Portareagenti | Reagent holder 1 QS | 1 |
| Rack per campioni | RG Strip Tubes 72 QS | 1 |

¶ Calcolato per un processo di analisi con 72 reazioni.

Puntali con filtro

Caricare i rack per puntali iniziando con le aperture 1, 2 e 3 nel cassetto "Eluate and Reagents" (Eluito e reagenti), poi caricare i rack per puntali negli slot 7, 8 e 9 del cassetto "Assays" (Test).

| Materiale di consumo | Nome sul touch screen | Numero minimo per 24 reazioni | Numero minimo per 72 reazioni |
|-----------------------------|------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Filter-Tips, 1500 µl (1024) | 1500 µl | 4 | 6 |
| Filter-Tips, 200 µl (1024) | 200 µl | 9 | 8 |
| Filter-Tips, 50 µl (1024) | 50 µl | 25 | 73 |
| Tip Disposal Bags | – | 1 | 1 |

PCR sul Rotor-Gene Q*

Consultare la scheda di protocollo specifica del software *Settings to run artus QS-RGQ Kits* (Impostazioni per eseguire gli artus QS-RGQ Kit) disponibile all'indirizzo www.qiagen.com/products/artushsv-12pcrkite.aspx per i dettagli del protocollo.

Impostazioni specifiche per l'artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit

Con il software Rotor-Gene® Q 2.1 o versioni superiori, le impostazioni specifiche sono descritte qui di seguito.

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Reaction Volume (Volume di reazione) (µl) | 50 |
| Hold (Mantenimento) | Temperatura di mantenimento: 95 gradi Durata di mantenimento: 10 minuti |
| Cycling (Ciclizzazione) | 45 volte 95 gradi per 15 secondi 65 gradi per 30 secondi (acquisire su Green (verde), Orange (arancione), Yellow (giallo) e attivare la funzione di touchdown per 10 cicli) 72 gradi per 20 secondi |
| Auto-Gain Optimisation Setup (Configurazione ottimizzazione guadagno automatico) | 65 gradi (Campioni: canale Green (verde), Orange (arancione); IC: Yellow (giallo)) |

Interpretazione dei risultati

Questa sezione descrive l'interpretazione dei risultati sul Rotor-Gene Q. Esaminare anche le informazioni sullo stato dei campioni ricavate dai file dei risultati del QIASymphony SP/AS per l'analisi del flusso di lavoro completo dal campione al risultato. Utilizzare unicamente campioni con stato valido.

* Utilizzare possibilmente uno strumento Rotor-Gene Q 5plex HRM con data di produzione gennaio 2010 o successiva. La data di produzione può essere ricavata dal numero di serie sul retro dello strumento. Il numero di serie è nel formato "mmaann", dove "mm" indica il mese di produzione in cifre, "aa" indica le ultime due cifre dell'anno di produzione e "nnn" indica l'ID univoco dello strumento.

L'artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit può essere eseguito sul Rotor-Gene Q utilizzando l'analisi manuale con il software Rotor-Gene Q 2.1 o versione superiore. Le sezioni che seguono descrivono l'interpretazione dei risultati utilizzando il software Rotor-Gene Q 2.1 o versione superiore.

Rilevamento dei segnali e conclusioni

| Segnale nel canale Cycling Green (ciclo verde) | Segnale nel canale Cycling Orange (ciclo arancione) | Segnale nel canale Cycling Yellow (ciclo giallo) | Risultato | Interpretazione |
|------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| Sì | No | Sì* | Positivo | Il campione contiene DNA di HSV-1. Non è rilevabile DNA di HSV-2. [†] |
| No | Sì | Sì* | Positivo | Il campione contiene DNA di HSV-2. Non è rilevabile DNA di HSV-1. [†] |
| Sì | Sì | Sì* | Positivo | Il campione contiene DNA di HSV-1 e HSV-2. |
| No | No | Sì | Negativo | Non è rilevabile DNA di HSV-1/2. [†] |
| No | No | No | Inconcludente | Non si può trarre alcun risultato. [‡] |

* Il segnale è superfluo, poiché elevate concentrazioni iniziali di DNA di HSV-1 e/o HSV-2 possono dare origine a un segnale di fluorescenza ridotto o assente nel canale Cycling Yellow (ciclo giallo) (fenomeno di competizione).

† Se il valore C_T per il controllo interno di un campione negativo è superiore di più di 3 cicli al valore C_T per il controllo interno del controllo no template nel processo ($C_{T IC Sample} - C_{T IC NTC} > 3$), allora il campione va considerato come non valido. Non si può trarre alcun risultato.

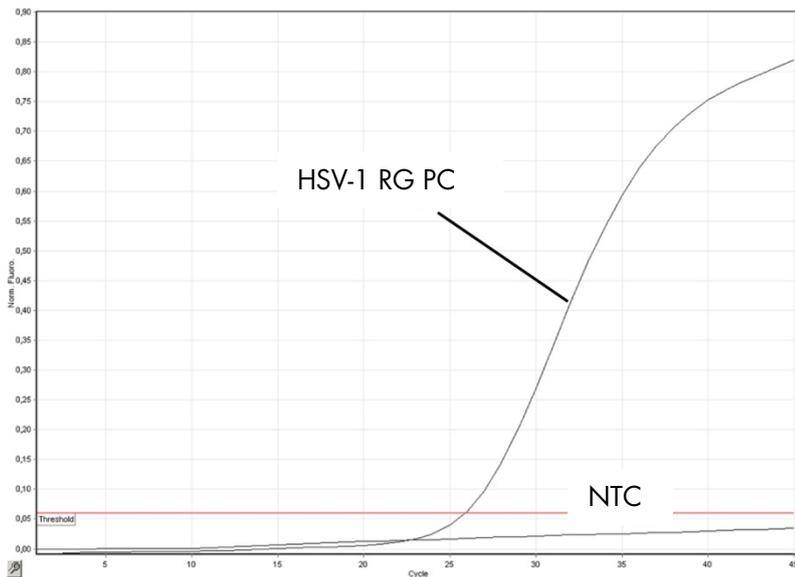
‡ Si possono trovare informazioni sulle cause d'errore e relative soluzioni nella "Guida alla risoluzione dei problemi" del manuale dell'artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit (artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit Handbook).

Impostazione della soglia per l'analisi della reazione a catena della polimerasi (Polymerase Chain Reaction, PCR)

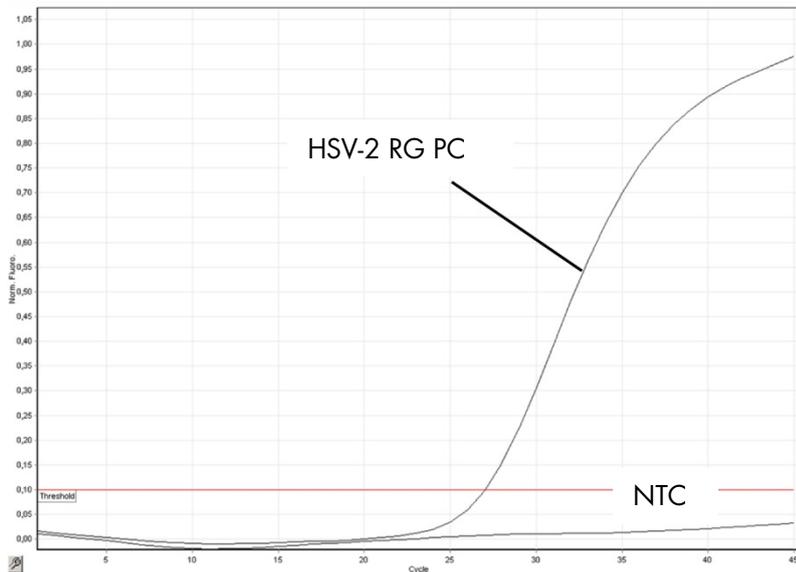
Le impostazioni ottimali di soglia per una data combinazione dello strumento Rotor-Gene Q e dell'artus QS-RGQ Kit devono essere stabilite empiricamente provando ciascuna singola combinazione, dato che si tratta di un valore relativo che dipende dal flusso di lavoro diagnostico generale. Si può fissare la soglia ad un valore preliminare di 0,04 per l'analisi della prima PCR, ma questo valore deve essere affinato in un'analisi comparativa dei successivi processi del flusso di lavoro.

La soglia deve essere impostata manualmente appena sopra il segnale di background dei controlli negativi e dei campioni negativi. Il valore medio di soglia calcolato da questi esperimenti funzionerà molto probabilmente per la maggioranza dei processi futuri, ma l'utente dovrà ugualmente rivedere il valore di soglia prodotto ad intervalli regolari. Il valore di soglia sarà normalmente compreso nel range 0,03–0,05 e dovrà essere arrotondato a non più di tre cifre decimali.

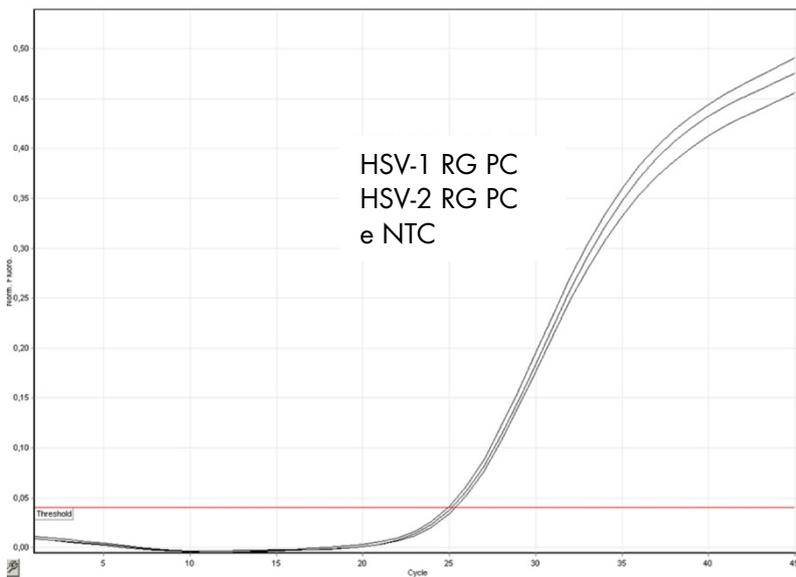
Esempi di reazioni PCR positive e negative



Rilevazione del controllo positivo di HSV-1 (HSV-1 RG PC) nel canale di fluorescenza Cycling Green (ciclo verde). NTC: No Template Control (controllo no template) (controllo negativo).



Rilevazione del controllo positivo di HSV-2 (HSV-2 RG PC) nel canale di fluorescenza Cycling Orange (ciclo arancione). NTC: No Template Control (controllo no template) (controllo negativo).



Rilevamento del controllo interno (Internal control, IC) nel canale di fluorescenza Cycling Yellow (ciclo giallo) con amplificazione simultanea dei controlli positivi (HSV-1 RG PC e HSV-2 RG PC). NTC: No template control (controllo no template).

Cronologia delle revisioni del documento

R2, Febbraio 2018 Rimossa la nota a piè di pagina relativa alla configurazione di 216 test. Cambiato con le nuove versioni dei protocolli QIASymphony. Aggiornati i materiali richiesti per la configurazione di 72 reazioni al massimo. Aggiunte informazioni sull'utilizzo dello strumento "IC Calculator" (calcolatore controllo interno) della QIASymphony Management Console (QMC). Aggiornata la denominazione di Corning Labware (prima Becton Dickinson). Aggiunte le impostazioni specifiche per l'esecuzione di Rotor-Gene Q (uso della funzione di touchdown, acquisizioni). Rimosso il riferimento a Rotor-Gene AssayManager®.

Per le informazioni aggiornate sulla licenza e sulle clausole di esclusione della responsabilità per i singoli prodotti, consultare il manuale del kit o il manuale utente QIAGEN specifico. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili sul sito www.qiagen.com oppure possono essere richiesti al servizio di assistenza QIAGEN o al distributore locale.

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (Gruppo QIAGEN); Corning® (Corning Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). I marchi registrati, i marchi di fabbrica ecc. utilizzati in questo documento, anche se non indicati in modo specifico come tali, non devono essere considerati come non protetti dalla legge.
02/2018 HB-0403-S02-002 © 2012–2018 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

