

Febbraio 2018

Scheda di Applicazione QIASymphony[®] RGQ

artus[®] HSV-1/2 QS-RGQ Kit (tipo di campione:
Liquido spinale cerebrale (CSF))

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	Liquido spinale cerebrale (Cerebral Spinal Fluid, CSF)
Purificazione anteriore	QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit (n. cat. 937036)
Volume del campione (compreso il volume in eccesso)	350 µl
Set di parametri del test	<i>artus</i> _HSV_CSF200_V5
Set di controllo del test predefinito	Cellfree200_V7_DSP_ <i>artus</i> _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 Mini Kit (n. cat. 937036)

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, conical, 2 ml, 2 ml, Qsym AS (n. cat. 997102) or Micro tubes 2.0 ml Type 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	Liquido spinale cerebrale (Cerebral Spinal Fluid, CSF)
Conservazione dei campioni	I campioni devono essere conservati a 2-8 °C o a -20 °C
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*
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 Mini 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)	2,5	2,5
Controllo interno‡	9	9
Tampone AVE	108,5	108,5
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 un massimo di 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	Liquido spinale cerebrale (Cerebral Spinal Fluid, CSF)
Volume del campione (compreso il volume in eccesso)	350 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® 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.

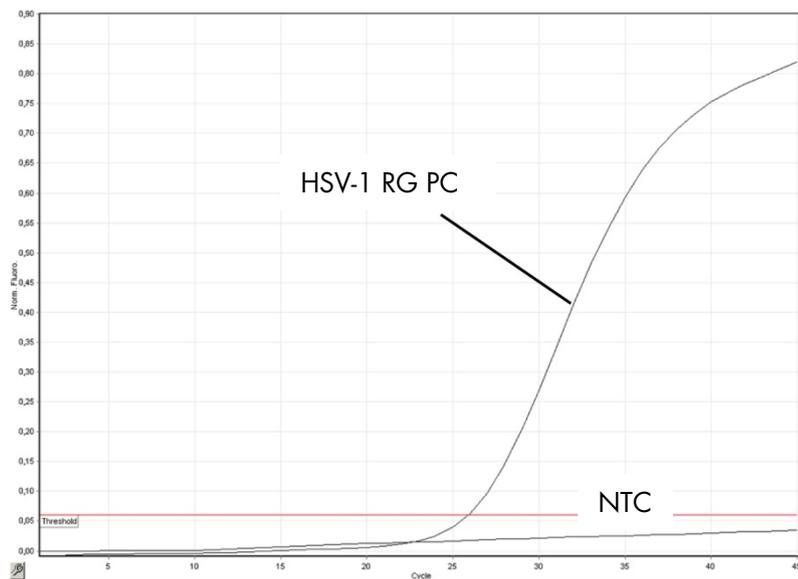
‡ Si possono trovare informazioni sulle cause d'errore e relative soluzioni nella "Guida alla risoluzione dei problemi" del manuale dell'artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit (artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit Handbook).

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

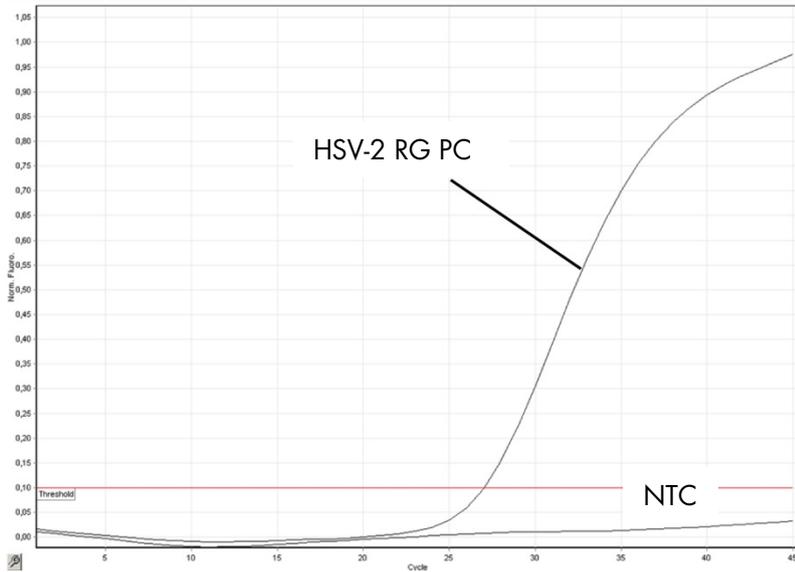
Le impostazioni ottimali di soglia per una data combinazione dello strumento Rotor-Gene Q e dell'artus QS-RGQ Kit devono essere stabilite empiricamente provando ciascuna singola combinazione, dato che si tratta di un valore relativo che dipende dal flusso di lavoro diagnostico generale. Si può fissare 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.

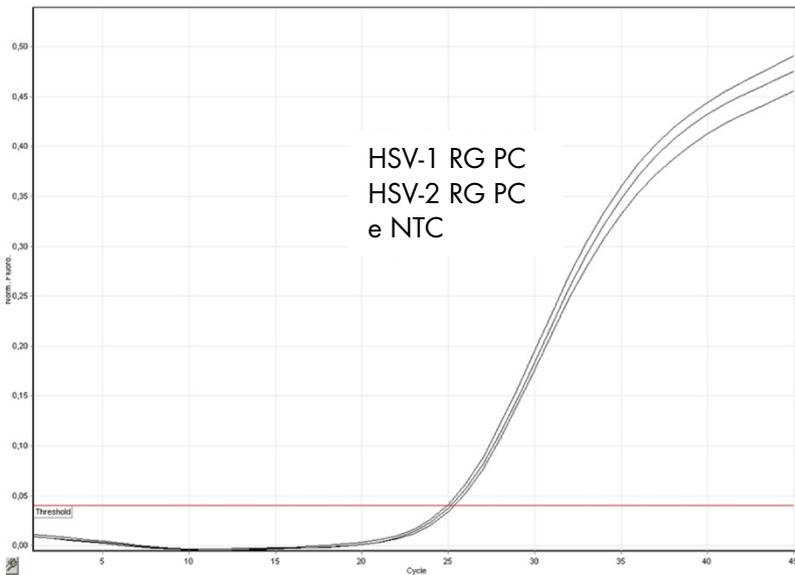
Esempi di reazioni PCR positive e negative



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-S01-002 © 2012–2018 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

