

Scheda di Applicazione QIASymphony® RGQ

Applicazione QIASymphony RGQ artus® BK Virus QS-RGQ Kit (tipo di campione: urina, 400 µl)

IVD

CE



Prima di eseguire il test verificare la disponibilità di nuove revisioni delle etichette elettroniche nel sito www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx. Lo stato della revisione è indicato dalla data di rilascio (formato: mese/anno).

Informazioni generali

Kit	artus BK Virus QS-RGQ Kit, versione 1, REF 4514363
Campioni convalidati	Urina
Purificazione front-end	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (cat. n. 937055)
Volume del campione (compreso il volume in eccesso)	500 µl
Set di parametri del test	artus_BKV_urine400_V4
Set di controllo del test predefinito	Complex400_V4_DSP_artus_BKV
Volume di eluizione	60 µl
Versione del software necessaria	Versione 4.0 o superiore
Volume miscela master	10 µl
Volume template	15 µl
Numero di reazioni	6–24*
Durata esecuzione su modulo AS	Per 6 reazioni: circa 8 minuti Per 72 reazioni: circa 35 minuti

* Per il setup del test per il virus BK si possono impostare fino a 216 (9 x 24) test in un unico processo sul QIASymphony AS.

Maggio 2012



Sample & Assay Technologies

Materiale necessario ma non in dotazione

Kit di purificazione	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (cat. n. 937055)
Adattatori per QIASymphony SP	■	Rack QS per microprovette di eluizione (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, EMT, v2, Qsym), cat. n. 9020730
	■	Insero provetta 3B (Insert, 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym, cat. n. 9242083)
Materiali di consumo per QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges, 8-well (cartucce per preparazione dei campioni, 8 pozzetti) (cat. n. 997002)
	■	8-Rod Covers (coperchi per 8 barre) (cat. n. 997004)
	■	Filter-Tips (puntali con filtro), 1.500 µl (cat. n. 997024)
	■	Filter-Tips (puntali con filtro), 200 µl (cat. n. 990332)
	■	Elution Microtubes CL (microprovette di eluizione CL) (cat. n. 19588)
	■	Tip disposal bags (sacchetti per smaltimento puntali) (cat. n. 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H o Micro tubes 2.0 ml Type I (microprovette da 2,0 ml tipo H o microprovette da 2,0 ml tipo I) (Sarstedt, cat. n. 72.693 e 72.694, www.sarstedt.com) per l'uso con campioni e controlli interni
Adattatori e portareagenti per QIASymphony AS	■	Portareagenti 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, cat. n. 9018090)
	■	Portareagenti 2 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 2, Qsym), cat. n. 9018089)
	■	Provette per strisce RG 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, cat. n. 9018092)
Materiali di consumo per QIASymphony AS	■	Strip Tubes and Caps (provette per strisce e tappi), 0,1 ml (cat. n. 981103)
	■	Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (provette a fondo conico, 2 ml, Qsym AS) (cat. n. 997102)* o Micro tubes 2.0 ml Type I (microprovette da 2,0 ml tipo I) (Sarstedt, cat. n. 72.694.005)
	■	Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (provetta a fondo conico, 5 ml, Qsym AS) (cat. n. 997104)* o Tubes with flat base from PP (provette a fondo piatto in PP) (Sarstedt, cat. n. 60.558.001)
	■	Reagent Bottles, 30 ml, Qsym AS (flaconi reagenti, 30 ml, Qsym AS) (cat. n. 997108)
	■	Elution Microtubes CL (microprovette di eluizione CL) (cat. n. 19588)
	■	Filter-Tips (puntali con filtro), 1.500 µl (cat. n. 997024)
	■	Filter-Tips (puntali con filtro), 200 µl (cat. n. 990332)
	■	Filter-Tips (puntali con filtro), 50 µl (cat. n. 997120)
	■	Tip disposal bags (sacchetti per smaltimento puntali) (cat. n. 9013395)
Per la preparazione dei campioni (urina)	■	Buffer ATL, GPR (tampone ATL, GPR) (cat. n. 939016)

* Consigliamo di informarsi sulla disponibilità.

Conservazione e manipolazione dei campioni

Raccolta dei campioni	Urina umana
Trasporto dei campioni	Trasporto di materiale fragile Spedizione entro 6 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 termostatati a temperatura ambiente (15–25°C) prima di avviare la procedura.

* International Air Transport Association (IATA) (Associazione Internazionale per il Trasporto Aereo). Dangerous Goods Regulations (Regolamenti relativi alle merci pericolose).

Procedura

Preparazione del carrier RNA e aggiunta del controllo interno ai campioni

L'utilizzo dei kit QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi in combinazione il kit *artus* BK Virus QS-RGQ richiede l'inserimento del controllo interno (BK Virus 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 μ l.

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

Componente	Volume (μ l) (provette Sarstedt®)*	Volume (μ l) (provette BD™)†
Soluzione madre con carrier RNA (CARRIER)	3	3
Controllo interno‡	9	9
Tampone AVE	108	108
Volume finale per campione (volume morto escluso)	120	120
Volume totale per n campioni	(n x 120) + 360§	(n x 120) + 600¶

* Microprovette da 2,0 ml tipo H e microprovette da 2,0 ml tipo I (Sarstedt, cat. n. 72.693 e 72.694).

† Provette da 14 ml, 17 x 100 mm, in polistirene a fondo tondo (Becton Dickinson, cat. n. 352051).

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

§ È necessaria una miscela di controllo interno corrispondente a 3 campioni supplementari (ossia 360 μ l). Non riempire per un volume totale superiore a 1,92 ml (corrispondente ad un massimo di 13 campioni). Questi volumi sono specifici delle Microprovette da 2,0 ml tipo H e microprovette da 2,0 ml tipo I (Sarstedt, cat. n. 72.693 e 72.694).

¶ È necessaria una miscela di controllo interno corrispondente a 5 campioni supplementari (ossia 600 μ l). Non riempire per un volume totale superiore a 13,92 ml (corrispondente ad un massimo di 111 campioni). Questi volumi sono specifici delle provette da 14 ml, 17 x 100 mm, in polistirene a fondo tondo (Becton Dickinson, cat. n. 352051).

Setup di QIA Symphony 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 residui liquidi

Cassetto "Eluate" (Eluito)

Rack per eluizione	Utilizzare l'apertura 1, posizione di raffreddamento
Volume di eluizione*	Volume di eluizione preselezionato: 60 μ l Volume di eluizione iniziale: 90 μ l

* 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)

Posizione A1 e/o A2	Caricare 1 cartuccia reagente (RC) per max. 48 campioni o 2 cartucce reagenti nuove (RC) per max. 96 campioni
Posizione B1	Tampone ATL (ATL)
Supporto per rack per puntali posizioni 1-17	Caricare un sufficiente numero di rack per puntali con filtro monouso, 200 μ l e 1.500 μ l (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 coperchi per 8 barre (vedere "Plastica da laboratorio necessaria per lotti da 1-4 campioni", pag. 7)

Cassetto "Sample" (Campione)

Tipo di campione	Urina
Volume del campione (compreso il volume in eccesso)	500 μ l
Provette per campioni	Microprovette da 2,0 ml tipo H o microprovette da 2,0 ml tipo I (Sarstedt, cat. n. 72.693 e 72.694)
Inserto	Inserto provetta 3B (cat. n. 9242083)

Plastica da laboratorio necessaria per lotti da 1–4 campioni

	Un lotto, 24 campioni*	Due lotti, 48 campioni*	Tre lotti, 72 campioni*	Quattro lotti, 96 campioni*
Puntali con filtro monouso, 200 μl^{†‡}	34	60	86	112
Puntali con filtro monouso, 1.500 μl^{†‡}	123	205	295	385
Cartucce per la preparazione dei campioni[§]	18	36	54	72
Coperchi per 8 barre[¶]	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.

Setup di QIASymphony AS

Materiali di consumo

Durante il setup, 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
Provette per strisce e tappi, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	Provette per strisce RG 72 QS
Provette a fondo conico da 2 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt‡	Portareagenti 1 QS Portareagenti 2 QS
Provetta a fondo conico da 5 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt‡	Portareagenti 1 QS Portareagenti 2 QS
Flaconi reagente, 30 ml, QSym AS (50)*	QIA#997108 *Bottle 30ml‡	Portareagenti 2 QS
Microprovette di eluizione CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Rack QS per microprovette di eluizione

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

† In alternativa, si possono usare le provette Sarstedt descritte in "Materiale necessario ma non in dotazione", pag. 2.

‡ Il suffisso "(m)" nel 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 [§]
Rack per campioni	Rack QS per microprovette di eluizione	1
Portareagenti	Portareagenti 1 QS	1
Rack per test	Provette per strisce RG 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 nelle aperture 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
Puntali con filtro, 1.500 μ l (1024)	1.500 μ l	3	4
Puntali con filtro, 200 μ l (1024)	200 μ l	5	5
Puntali con filtro, 50 μ l (1024)	50 μ l	25	73
Sacchetti per smaltimento puntali	–	1	1

PCR in tempo reale sul Rotor-Gene Q

Consultare la Scheda di Protocollo "Settings to run artus QS-RGQ Kits" (Impostazioni per eseguire i kit *artus* QS-RGQ) disponibile all'indirizzo www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgqpcrkit.aspx.

Impostazioni specifiche per il kit *artus* BK Virus QS-RGQ

Rotor-Gene AssayManager imposta automaticamente i parametri per il kit *artus* BK Virus QS-RGQ.

Con il software Rotor-Gene 2.1, le impostazioni specifiche sono descritte qui di seguito.

Volume di reazione (µL)	50
Mantenimento	Temperatura di mantenimento: 95° Durata di mantenimento: 10 minuti
Ciclizzazione	45 volte 95° per 15 s 65° per 30 s 72° per 20 s Accertarsi di attivare la funzione Touchdown per 10 cicli nella fase di annealing.
Setup di ottimizzazione dell'auto-gain	65° (Campioni: canale Green; IC: canale Orange)

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.

Rotor-Gene AssayManager interpreta automaticamente i risultati della PCR, fornendo una conclusione e un risultato quantitativo.

Le sezioni che seguono descrivono l'interpretazione dei risultati utilizzando il software Rotor-Gene 2.1 o superiore.

Rilevamento dei segnali e conclusioni — urina 400 µl

Segnale nel canale Cycling Green (ciclo verde)	Segnale nel canale Cycling Orange (ciclo arancione)	Risultato quantitativo (copie/ml)	Interpretazione
Sì	Sì	<81,8	Risultato valido: DNA di virus BK rilevato, <250 copie/ml È impossibile eseguire una quantificazione poiché il risultato quantitativo è inferiore al limite di rilevabilità. La riproducibilità del risultato positivo non è garantita.
Sì	Sì	≥81,8 e <250	Risultato valido: DNA del virus BK rilevato, <250 copie/ml È impossibile eseguire una quantificazione poiché il risultato quantitativo è inferiore al range lineare del test.
Sì	Sì	≥250 e ≤1 x 10 ⁹	Risultato valido: DNA del virus BK rilevato alla concentrazione calcolata Il risultato quantitativo è entro il range lineare del test.
Sì	Sì	>1 x 10 ⁹	Risultato valido: DNA del virus BK rilevato, >1 x 10 ⁹ copie/ml È impossibile eseguire una quantificazione poiché il risultato quantitativo è superiore al range lineare del test.*
No	Sì	–	Risultato valido: Non è rilevabile DNA del virus BK.†
No	No	–	Risultato non valido: Non si può trarre alcun risultato.‡

* Se si desidera effettuare una quantificazione, diluire il campione con urina priva del virus BK e ripetere l'analisi. Moltiplicare il risultato quantitativo del campione rianalizzato per il fattore di diluizione.

† Se il valore C_T per il controllo interno di un campione negativo è superiore di 3 cicli al valore C_T per il controllo interno del controllo no template nel processo (C_{T IC Campione} – C_{T IC NTC} >3), 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 "Troubleshooting guide" (Guida alla risoluzione dei problemi) del manuale del kit *artus BK Virus QS-RGQ* (*artus BK Virus QS-RGQ Kit Handbook*)

Impostazione della soglia per l'analisi PCR

Le impostazioni ottimali di soglia per una data combinazione dello strumento Rotor-Gene Q e del kit *artus* QS-RGQ 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'utilizzatore 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.

Quantificazione

Gli standard di quantificazione (BK Virus RG QS 1–4) nel kit *artus* BK Virus QS-RGQ sono trattati come campioni precedentemente purificati e si usa lo stesso volume (15 µl). Per generare una curva standard sugli strumenti Rotor-Gene Q, tutti i 4 standard di quantificazione devono essere utilizzati e definiti nella finestra di dialogo "Edit Samples" (Modifica campioni) dello strumento Rotor-Gene Q come standard con le concentrazioni specificate (vedere manuale utente dello strumento).

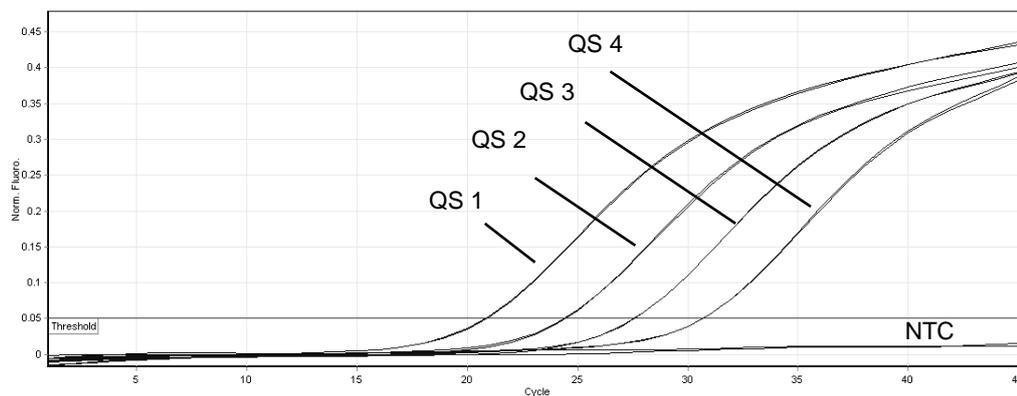
Nota: Gli standard di quantificazione sono definiti come copie/µl. Si deve applicare la seguente equazione per convertire i valori, determinati mediante la curva standard, in copie/ml di campione.

$$\text{Risultato (copie/ml)} = \frac{\text{Risultato (copie/}\mu\text{l)} \times \text{volume di eluizione iniziale (90 }\mu\text{l)}^*}{\text{Volume campione (ml)}}$$

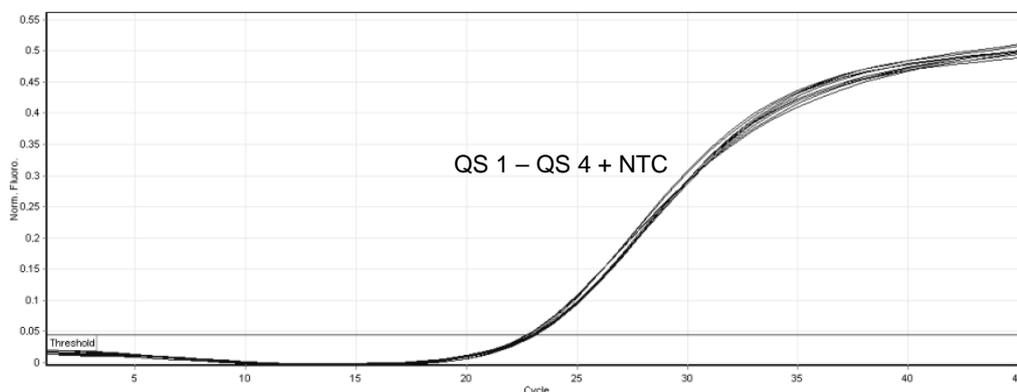
In linea di principio, si deve immettere nell'equazione di cui sopra il volume iniziale del campione. Occorre tenere conto di ciò quando il volume del campione è stato cambiato prima dell'estrazione dell'acido nucleico (per es. riducendo il volume mediante centrifugazione o aumentandolo con l'aggiunta al volume richiesto per l'isolamento).

* Il calcolo è basato sui volumi di eluizione iniziali (90 µl).

Esempi di reazioni PCR positive e negative



Rilevamento degli standard di quantificazione (BK Virus RG QS 1-4) nel canale di fluorescenza Cycling Green. NTC: Controllo no template (controllo negativo).



Rilevamento del controllo interno (IC) nel canale di fluorescenza Cycling Orange con amplificazione contemporanea degli standard di quantificazione (BK Virus RG QS 1-4). NTC: Controllo no template (controllo negativo).

Per informazioni aggiornate sulla licenza e per i disclaimer specifici dei prodotti, consultare il manuale del kit o il manuale utente QIAGEN. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili nel sito www.qiagen.com oppure possono essere richiesti al servizio di assistenza tecnica QIAGEN o al proprio distributore locale.

Marchi commerciali: QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (Gruppo QIAGEN); BD™ (Becton, Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.).

© 2012 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

www.qiagen.com

Canada = 800-572-9613

Ireland = 1800 555 049

Norway = 800-18859

China = 021-3865-3865

Italy = 800-787980

Singapore = 65-67775366

Denmark = 80-885945

Japan = 03-6890-7300

Spain = 91-630-7050

Australia = 1-800-243-800

Finland = 0800-914416

Korea (South) = 1544 7145

Sweden = 020-790282

Austria = 0800/281010

France = 01-60-920-930

Luxembourg = 8002 2076

Switzerland = 055-254-22-11

Belgium = 0800-79612

Germany = 02103-29-12000

Mexico = 01-800-7742-639

UK = 01293-422-911

Brazil = 0800-557779

Hong Kong = 800 933 965

The Netherlands = 0800 0229592

USA = 800-426-8157



Sample & Assay Technologies