

QIA Symphony[®] RGQ-applikasjonsark

QIA Symphony RGQ-applikasjon artus[®] BK Virus QS-RGQ Kit (prøvetype: urin, 400 µl)

IVD

CE



Se etter nye elektroniske etikettoppdateringer på www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgqcrkit.aspx før testen utføres. Gjeldende revisjonsstatus er angitt av utstedelsesdatoen (format: måned/år).

Generell informasjon

Sett	artus BK Virus QS-RGQ Kit, versjon 1, REF 4514363
Validert prøvemateriale	Urin
Rensing foran	QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat.nr. 937055)
Prøvevolum (inkludert for stort volum)	500 µl
Analyseparametersett	artus_BKV_urine400_V4
Standard analysekontrollsett	Complex400_V4_DSP_artus_BKV
Elueringsvolum	60 µl
Nødvendig programvareversjon	Versjon 4.0 eller høyere
Hovedblande­volum	10 µl
Malvolum	15 µl
Antall reaksjoner	6–24*
Kjøretid på AS-modul	For 6 reaksjoner: ca. 8 minutter For 72 reaksjoner: ca. 35 minutter

* For analyseoppsett for BK-virus kan inntil 216 (9 x 24) analyser settes opp i én kjøring på QIA Symphony AS.

Mai 2012



Sample & Assay Technologies

Nødvendige materialer som ikke følger med

Rensingssett	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat.nr. 937055)	
Adaptore for QIASymphony SP	■	Elueringsmikrorørstativ QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, kat.nr. 9020730)	
	■	Rørløst 3B (Insert, 2,0 ml v2, samplecarr. (24), Qsym, kat.nr. 9242083)	
Forbruksvarer for QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges, 8-well (Prøveklargjøringspatroner, 8-brønns) (kat.nr. 997002)	
	■	8-Rod Covers (8-stangsdeksler) (kat.nr. 997004)	
	■	Filter-Tips (Filterspisser), 1500 µl (kat.nr. 997024)	
	■	Filter-Tips (Filterspisser), 200 µl (kat.nr. 990332)	
	■	Elution Microtubes CL (Elueringsmikrorør CL) (kat.nr. 19588)	
	■	Tip disposal bags (Spissavfallsposer) (kat.nr. 9013395)	
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H (Mikrorør 2,0 ml type H) eller Micro tubes 2.0 ml Type I (Mikrorør 2,0 ml type I) (Sarstedt, kat.nr. 72.693 og 72.694, www.sarstedt.com) for bruk med prøver og interne kontroller	
Adaptore og reagensholdere for QIASymphony AS	■	Reagensholder 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, kat.nr. 9018090)	
	■	Reagensholder 2 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 2, Qsym, kat.nr. 9018089)	
	■	RG-strimmelrør 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, kat.nr. 9018092)	
Forbruksvarer for QIASymphony AS	■	Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (Strimmelrør og lokk, 0,1 ml) (kat.nr. 981103)	
	■	Tubes, conical. 2 ml, Qsym AS (Rør, koniske, 2 ml, Qsym AS) (kat.nr. 997102)* eller Micro tubes 2.0 ml Type I (Mikrorør 2,0 ml type I) (Sarstedt, kat.nr. 72.694.005)	
	■	Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (Rør, konisk, 5 ml, Qsym AS) (kat.nr. 997104)* eller Tubes with flat base from PP (Rør med flat base fra PP) (Sarstedt, kat.nr. 60.558.001)	
	■	Reagent Bottles (Reagensflasker), 30 ml, Qsym AS (kat.nr. 997108)	
	■	Elution Microtubes CL (Elueringsmikrorør CL) (kat.nr. 19588)	
	■	Filter-Tips (Filterspisser), 1500 µl (kat.nr. 997024)	
	■	Filter-Tips (Filterspisser), 200 µl (kat.nr. 990332)	
	■	Filter-Tips (Filterspisser), 50 µl (kat.nr. 997120)	
	■	Tip disposal bags (Spissavfallsposer) (kat.nr. 9013395)	
	For prøveklargjøring (urin)	■	Buffer ATL, GPR (kat.nr. 939016)

* Vennligst spør om tilgjengelighet.

Håndtering og oppbevaring av prøver

Prøvetaking	Human urin
Transport av prøver	Knusesikker transport Forsendelse innen 6 timer Forsendelse med post ifølge de lovfestede instruksjonene for transport av patogen materiale*
Prøveklargjøring	Forhindre dannelse av skum i eller på prøvene. Prøver skal romtempereres (15–25 °C) før kjøringen startes.

* International Air Transport Association (IATA) (Internasjonalt lufttransportforbund). Dangerous Goods Regulations (Bestemmelser for farlig gods).

Prosedyre

Klargjøring av bærer-RNA og tilsetning av intern kontroll i prøvene

Bruk av QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi-settet i kombinasjon med *artus* BK Virus QS-RGQ-settet krever introduksjon av den interne kontrollen (BK Virus RG IC) i renseprosedyren for å overvåke effektiviteten på prøveklargjøringen og downstream-analysen.

Interne kontroller må tilsettes med bærer-RNA (CARRIER)–Buffer AVE (AVE)-blanding, og den totale mengden av den interne kontroll–bærer-RNA (CARRIER)–Buffer AVE (AVE)-blandingen forblir 120 μ l.

Denne tabellen representerer tilsetning av intern kontroll i isolasjonen i et forhold på 0,1 μ l per 1 μ l elueringsvolum. Vi anbefaler å klargjøre ferske blandinger for hver kjøring rett før bruk.

Komponent	Volum (μ l) (Sarstedt® rør)*	Volum (μ l) (BD™ rør)†
Lager bærer-RNA (CARRIER)	3	3
Intern kontroll‡	9	9
Buffer AVE	108	108
Endelig volum per prøve (ekskludert dødvolum)	120	120
Totalt volum for n prøver	(n x 120) + 360§	(n x 120) + 600¶

* Mikrorør 2,0 ml type H og mikrorør 2,0 ml type I (Sarstedt, kat.nr. 72.693 og 72.694).

† Rør 14 ml, 17 x 100 mm polystyren, rund bunn (Becton Dickinson, kat.nr. 352051).

‡ Beregningen av mengden intern kontroll er basert på de innledende elueringsvolumene (90 μ l). Ekstra tomt volum avhenger av typen prøverør som brukes.

§ Intern kontrollblanding som tilsvarer 3 ekstra prøver (dvs. 360 μ l) kreves. Ikke fyll mer enn 1,92 ml totalt volum (tilsvarende maksimalt 13 prøver). Disse volumene er spesifikke for mikrorør 2,0 ml type H og mikrorør 2,0 ml type I (Sarstedt, kat.nr. 72.693 og 72.694).

¶ Intern kontrollblanding som tilsvarer 5 ekstra prøver (dvs. 600 μ l) kreves. Ikke fyll mer enn 13,92 ml totalt volum (tilsvarende maksimalt 111 prøver). Disse volumene er spesifikke for rør 14 ml, 17 x 100 mm polystyren, rund bunn, (Becton Dickinson, kat.nr. 352051).

Oppsett av QIASymphony SP

Skuffen "Waste" (Avfall)

Enhetsboksholder 1-4	Tomme enhetsbokser
Avfallsposeholder	Avfallspose
Holder for væskeavfallsflaske	Tøm og installer væskeavfallsflasken

Skuffen "Eluate" (Eluat)

Elueringsstativ	Bruk åpning 1, nedkjølingsposisjon
Elueringsvolum*	Forhåndsvalgt elueringsvolum: 60 μ l Innledende elueringsvolum: 90 μ l

* Elueringsvolumet er forhåndsvalgt for protokollen. Dette er minimumsvolumet av tilgjengelig eluat i det endelige elueringsrøret. Det innledende volumet av elueringsløsning er nødvendig for å sikre at det faktiske eluatvolumet er det samme som det forhåndsvalgte volumet.

Skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbruksvarer)

Posisjon A1 og/eller A2	Last 1 reagenspatron (RC) for opptil 48 prøver eller 2 nye reagenspatroner (RC) for inntil 96 prøver
Posisjon B1	Buffer ATL (ATL)
Spisstativholder posisjon 1-17	Last tilstrekkelige stativer med engangsfiltertupper, 200 μ l og 1500 μ l (se "Nødvendig plastvare for 1-4 prøvekjøringer", side 6)
Enhetsboksholderposisjon 1-4	Last enhetsbokser som inneholder prøveklargjøringskassetter and 8-stangdeksler (se "Nødvendig plastvare for 1-4 prøvekjøringer", side 6)

Skuffen "Sample" (Prøve)

Prøvetype	Urin
Prøvevolum (inkludert for stort volum)	500 μ l
Prøverør	Mikrorør 2,0 ml type H eller mikrorør 2,0 ml type I (Sarstedt, kat.nr. 72.693 og 72.694.)
Innlegg	Rørinlegg 3B (kat.nr. 9242083)

Nødvendig plastvare for 1–4 prøvekjøringer

	En omgang, 24 prøver*	To partier, 48 prøver*	Tre omganger, 72 prøver*	Fire partier, 96 prøver*
Filterspisser til engangsbruk, 200 μl^{†‡}	34	60	86	112
Engangsfilterspisser, 1500 μl^{†‡}	123	205	295	385
Prøveklargjøringspatroner[§]	18	36	54	72
8-stangdeksler[¶]	3	6	9	12

* Bruk av mer enn ett internt kontrollrør per omgang og utføring av mer enn én inventarskanning krever ekstra engangsfilterspisser.

[†] Det finnes 32 filterspisser/spisstativ.

[‡] Antall nødvendige filterspisser inkluderer filterspisser for 1 inventarskanning pr. reagenspatron.

[§] Det finnes 28 prøveklargjøringspatroner/enhetsboks.

[¶] Det finnes tolv 8-stangdeksler/enhetsboks.

Oppsett av QIASymphony AS

Forbruksvarer

Under oppsettet er de riktige posisjonene for hver forbruksvare på QIASymphony AS-modulen angitt på instrumentets berørings skjerm.

Forbruksvarer	Navn på berørings skjermen	Før bruk med adapter/reagensholder
Strimmelrør og lokk, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG-strimmelrør 72 QS
Rør, koniske, 2 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt‡	Reagensholder 1 QS Reagensholder 2 QS
Rør, konisk, 5 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt‡	Reagensholder 1 QS Reagensholder 2 QS
Reagensflasker, 30 ml, Qsym AS (50)*	QIA#997108 *Bottle 30ml‡	Reagensholder 2 QS
Elueringsmikrorør CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Elueringsmikrorørstativ QS

* For hovedblandingskomponenter, systemklargjort hovedblander, analysestandarder og analysekontroller.

† Alternativt kan Sarstedt-rørene som beskrives i "Nødvendige materialer som ikke følger med", side 2 brukes.

‡ Suffikset "(m)" på berørings skjermen indikerer at væskenivåkalkulasjoner for det respektive røret har blitt optimalisert for reagenser som danner en konkav menisk.

Adaptore og reagensholdere

Stativ-/reagensholder	Navn	Påkrevd antall [§]
Prøvestativ	Elueringsmikrorørstativ QS	1
Reagensholdere	Reagensholder 1 QS	1
Analysestativer	RG-strimmelrør 72 QS	1

[§] Kalkulert for en analysekjøring med 72 reaksjoner.

Filterspisser

Last spisstativene ved å starte med spissåpningene 1, 2 og 3 i skuffen "Eluate and Reagents" (Eluat og reagenser) og last deretter spisstativene inn i spissåpningene 7, 8 og 9 i skuffen "Assays" (Analyser).

Forbruksvare	Navn på berørings skjermen	Minimumsantall for 24 reaksjoner	Minimumsantall for 72 reaksjoner
Filterspisser, 1500 μ l (1024)	1500 μ l	3	4
Filterspisser, 200 μ l (1024)	200 μ l	5	5
Filterspisser, 50 μ l (1024)	50 μ l	25	73
Spissavfallsposer	–	1	1

RT-PCR på Rotor-Gene Q

Se det programvarespesifikke protokollarket "Settings to run *artus* QS-RGQ Kits" (Innstillinger for å kjøre *artus* QS-RGQ-sett) på www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx.

Spesifikke innstillinger for *artus* BK Virus QS-RGQ-settet

Rotor-Gene AssayManager stiller inn parametrene for *artus* BK Virus QS-RGQ-settet automatisk.

Med Rotor-Gene-programvare 2.1 vises de spesifikke innstillingene nedenfor.

Reaksjonsvolum (μl)	50
Hold	Holdetemperatur: 95 grader Holdetid: 10 min.
Syklering	45 ganger 95 grader i 15 sek 65 grader i 30 sek 72 grader i 20 sek Se til å aktivere touchdown-funksjonen i 10 sykluser i glødingstrinnet.
Oppsett av automatisk økning-optimalisering	65 grader (Prøver: Green; IC: Orange)

Tolkning av resultater

Dette avsnittet beskriver tolkning av resultater på Rotor-Gene Q. Gjennomgå også prøvestatusinformasjonen fra QIASymphony SP/AS-resultatfilene for en analyse av den fullstendige arbeidsflyten fra prøve til resultat. Man bør kun bruke prøver med gyldig status.

Rotor-Gene AssayManager tolker automatisk PCR-resultater og gir en konklusjon og et kvantitativt resultat.

Følgende avsnitt beskriver tolkning av resultater ved bruk av Rotor-Gene programvare 2.1 eller høyere.

Signalpåvisning og konklusjoner – urin 400 µl

Signal i kanalen Cycling Green	Signal i kanalen Cycling Orange	Kvantitativt resultat (kopier/ml)	Tolkning
Ja	Ja	<81,8	Gyldig resultat: BK-virus DNA påvist, <250 kopier/ml Kvantitering er ikke mulig siden det kvantitative resultatet er under deteksjonsgrensen. Reproduserbarhet av det positive resultatet er ikke garantert.
Ja	Ja	≥81,8 og <250	Gyldig resultat: BK-virus DNA påvist, <250 kopier/ml Kvantitering er ikke mulig siden det kvantitative resultatet er under analysens lineære område.
Ja	Ja	≥250 og ≤1 x 10 ⁹	Gyldig resultat: BK-virus DNA påvist ved den kalkulerede konsentrasjonen Kvantitativt resultat er innenfor analysens lineære område.
Ja	Ja	>1 x 10 ⁹	Gyldig resultat: BK virus DNA påvist, >1 x 10 ⁹ kopier/ml Kvantitering er ikke mulig siden det kvantitative resultatet er over analysens lineære område.*
Nei	Ja	–	Gyldig resultat: Ingen BK-virus DNA kan påvises.†
Nei	Nei	–	Ugyldig resultat: Det kan ikke konkluderes med noe resultat.‡

* Hvis kvantitering er ønsket, fortynn prøven med urin uten BK-virus, og prosesser på nytt. Multipliser det kvantitative resultatet fra den represserte prøven med fortynningsfaktor.

† Hvis C_T-verdien for den interne kontrollen til en negativ prøve er mer enn 3 sykluser høyere enn C_T-verdien for den interne kontrollen av ingen mal-kontroll i kjøringen (C_{T IC prøve} – C_{T IC NTC} > 3), skal imidlertid prøven behandles som gyldig. Det kan ikke konkluderes med noe resultat.

‡ Informasjon om feilkilder og løsningen for disse kan du finne i "Troubleshooting guide" (Feilsøkningsveiledning) i håndboken for *artus BK Virus QS-RGQ*-settet (*artus BK Virus QS-RGQ Kit Handbook*)

Terskeloppsett for PCR-analysen

De optimale terskelinnstillingene for en gitt kombinasjon av Rotor-Gene Q-instrumentet og *artus* QS-RGQ-settet skal stilles inn empirisk ved å teste hver enkelt kombinasjon, siden det er en relativ verdi avhengig av den helhetlige diagnostiske arbeidsflyten. Terskelen kan stilles inn ved en foreløpig verdi på 0,04 for analysen av den første PCR-kjøringen, men denne verdien skal fininnstilles i en sammenlignbar analyse av de neste kjøringene i arbeidsflyten. Terskelen skal stilles inn manuelt rett over bakgrunnssignalet for de negative kontrollene og de negative prøvene. Middelterskelverdien som kalkuleres fra disse eksperimentene vil mest sannsynlig fungere for flertallet av fremtidige kjøring, men brukeren skal likevel gjennomgå den genererte terskelverdien ved regelmessige intervaller. Terskelverdien vil vanligvis ligge i området 0,03–0,05 og skal rundes av til maksimalt tre desimalplasser.

Kvantitering

Kvantiteringsstandardene (BK Virus RG QS 1–4) i *artus* BK Virus QS-RGQ-settet behandles som tidligere rensede prøver, og det samme volumet brukes (15 µl). For å opprette en standardkurve på Rotor-Gene Q-instrumenter skal alle 4 kvantiteringsstandardene brukes og defineres i dialogboksen "Edit Samples" (Rediger prøver) på Rotor-Gene Q-instrumentet som standarder med de spesifiserte konsentrasjonene (se instrumentets brukerhåndbok).

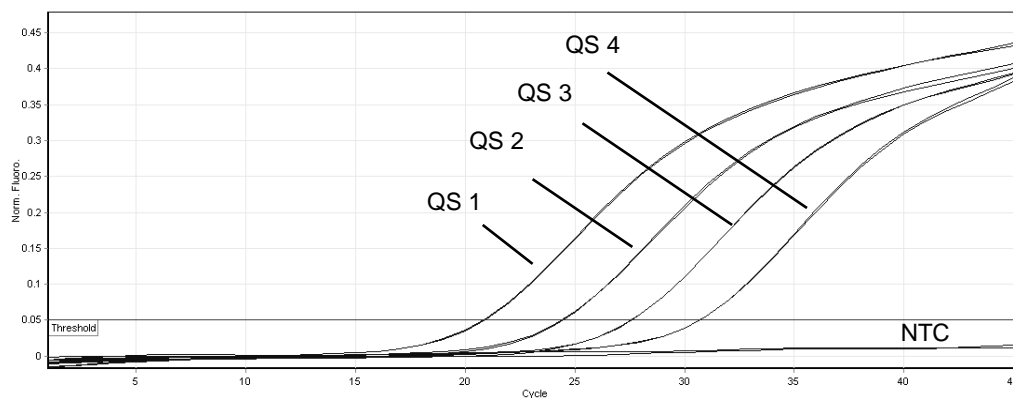
Merk: Kvantiteringsstandardene defineres som kopier/µl. Den følgende ligningen må brukes for å konvertere de verdiene som fastsettes ved bruk av standardkurven til kopier/ml av prøvemateriale.

$$\text{Resultat (kopier/ml)} = \frac{\text{Resultat (kopier/}\mu\text{l)} \times \text{innledende elueringsvolum (90 }\mu\text{l)}^*}{\text{Prøvevolum (ml)}}$$

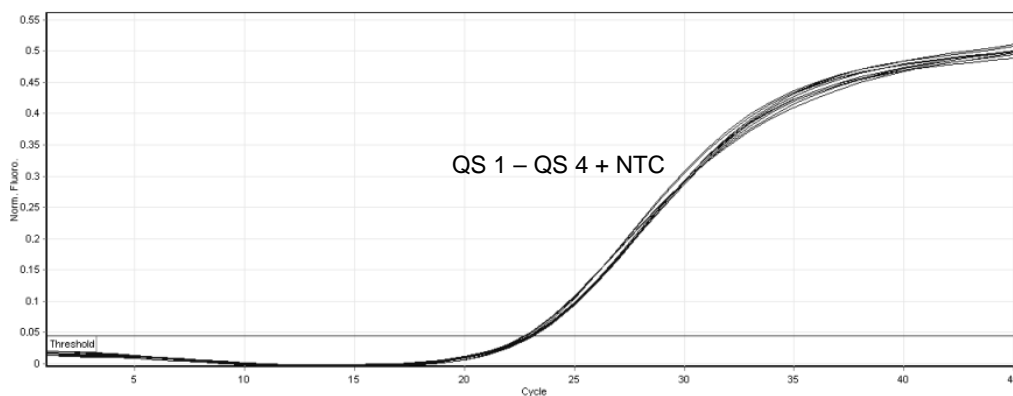
Som en prinsipp sak skal det innledende prøvevolumet oppgis i ligningen ovenfor. Dette må betraktes når prøvevolumet har blitt endret forut for nukleinsyreekstraheringen (f.eks. redusere volumet gjennom sentrifugering eller øking av volumet ved å legge til volumet som kreves for isolasjonen).

* Kalkuleringen er basert på de innledende elueringsvolumene (90 µl).

Eksempler på positive og negative PCR-reaksjoner



Påvisning av kvantiteringsstandardene (BK Virus RG QS 1–4) i fluorescenskanalen Cycling Green. NTC: Ingen mal-kontroll (negativ kontroll).



Påvisning av den interne kontrollen (IC) i fluorescenskanalen Cycling Orange med samtidig forsterkning av kvantiteringsstandardene (BK Virus RG QS 1–4). NTC: Ingen malkontroll (negativ kontroll).

For oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfrasingelser, se den respektive håndboken eller brukerhåndboken for QIAGEN-settet. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN-sett er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan anmodes fra QIAGENS tekniske tjenester eller din lokale distributør.

Varemerker: QIAGEN[®], QIASymphony[®], artus[®], Rotor-Gene[®] (QIAGEN Group); BD[™] (Becton, Dickinson and Company); Sarstedt[®] (Sarstedt AG and Co.).

© 2012 QIAGEN, alle rettigheter forbeholdt.

www.qiagen.com

Australia = 1-800-243-800	Canada = 800-572-9613	Ireland = 1800 555 049	Norway = 800-18859
Austria = 0800/281010	China = 021-3865-3865	Italy = 800-787980	Singapore = 65-67775366
Belgium = 0800-79612	Denmark = 80-885945	Japan = 03-6890-7300	Spain = 91-630-7050
Brazil = 0800-557779	Finland = 0800-914416	Korea (South) = 1544 7145	Sweden = 020-790282
	France = 01-60-920-930	Luxembourg = 8002 2076	Switzerland = 055-254-22-11
	Germany = 02103-29-12000	Mexico = 01-800-7742-639	UK = 01293-422-911
	Hong Kong = 800 933 965	The Netherlands = 0800 0229592	USA = 800-426-8157



Sample & Assay Technologies