

Fiche d'application du QIA Symphony® RGQ

Application QIA Symphony RGQ artus® BK Virus QS-RGQ Kit (type d'échantillon : urine, 400 µl)



Vérifier la disponibilité de nouvelles révisions des notices électroniques à l'adresse www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx avant de procéder à la réalisation des tests. L'état de la révision actuelle est indiqué par la date de parution (format : mois/année).

Informations générales

| | |
|---|--|
| Kit | artus BK Virus QS-RGQ Kit, Version 1, REF 4514363 |
| Type d'échantillon validé | Urine |
| Purification en amont | QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (référence 937055) |
| Volume d'échantillon (dont volume excédentaire) | 500 µl |
| Jeu de paramètres d'analyse | artus_BKV_urine400_V4 |
| Jeu de contrôles d'analyse par défaut | Complex400_V4_DSP_artus_BKV |
| Volume d'éluat | 60 µl |
| Version logicielle requise | Version 4.0 ou supérieure |
| Volume du mélange principal | 10 µl |
| Volume de matrice | 15 µl |
| Nombre de réactions | 6–24* |
| Durée d'exécution sur le module AS | Pour 6 réactions: environ 8 minutes Pour 72 réactions: environ 35 minutes |

* Pour la configuration de test du virus BK, jusqu'à 216 (9 x 24) tests sont configurables en un cycle sur le QIA Symphony AS.



Matériel nécessaire mais non fourni

| | | |
|--|--|--|
| Kit de purification | ■ | QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (référence 937055) |
| Adaptateurs pour QIASymphony SP | ■ | Portoir pour microtubes d'éluion QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, référence 9020730) |
| | ■ | Tube Insert 3B (Insert, 2,0 ml v2, samplecarr. (24), Qsym, référence 9242083) |
| Consommables pour QIASymphony SP | ■ | Sample Prep Cartridges, 8-well (cartouches de préparation des échantillons à 8 puits) (référence 997002) |
| | ■ | 8-Rod Covers (manchons pour 8 barreaux) (référence 997004) |
| | ■ | Filter-Tips (cônes munis de filtres), 1 500 µl (référence 997024) |
| | ■ | Filter-Tips (cônes munis de filtres), 200 µl (référence 990332) |
| | ■ | Elution Microtubes CL (microtubes d'éluion CL) (référence 19588) |
| | ■ | Tip disposal bags (sachets de récupération des cônes usagés) (référence 9013395) |
| Adaptateurs et supports pour réactif pour QIASymphony AS | ■ | Support pour réactifs 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, référence 9018090) |
| | ■ | Support Reagent holder 2 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 2, Qsym, référence 9018089) |
| | ■ | Rangées de tubes RG 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, référence 9018092) |
| Consommables pour QIASymphony AS | ■ | Strip Tubes and Caps (rangées de tubes et de bouchons), 0,1 ml (référence 981103) |
| | ■ | Tubes, conical (tubes coniques), 2 ml, Qsym AS (référence 997102)* ou Micro tubes 2,0 ml Type I (Sarstedt, référence 72.694.005) |
| | ■ | Tubes, conical (tubes coniques), 5 ml, Qsym AS (référence 997104)* ou tubes à base plate de PP (Sarstedt, référence 60.558.001) |
| | ■ | Reagent Bottles (flacons de réactif), 30 ml, QSym AS (référence 997108) |
| | ■ | Microtubes Elution CL (microtubes d'éluion CL) (référence 19588) |
| | ■ | Filter-Tips (cônes munis de filtres), 1 500 µl (référence 997024) |
| | ■ | Filter-Tips (cônes munis de filtres), 200 µl (référence 990332) |
| | ■ | Filter-Tips (cônes munis de filtres), 50 µl (référence 997120) |
| ■ | Tip disposal bags (sachets de récupération des cônes usagés) (référence 9013395) | |
| Pour la préparation des échantillons (urine) | ■ | Buffer ATL, GPR (tampon ATL, GPR) (référence 939016) |

* Veuillez vous renseigner pour connaître la disponibilité.

Manipulation et conservation des échantillons

| | | |
|------------------------------|-----|--|
| Prélèvement l'échantillon | de | Urine humaine |
| Transport échantillons | des | Système de transport incassable Expédition dans les 6 heures Envoi postal conforme à la législation en vigueur en matière de transport d'agents pathogènes* |
| Préparation échantillons | des | Éviter la formation de mousse dans ou sur les échantillons. Amener tous les échantillons à température ambiante (15 à 25 °C) avant de lancer le cycle. |

* International Air Transport Association (IATA) (Association internationale du transport aérien (AITA)).
Dangerous Goods Regulations (Règlement pour le transport des marchandises dangereuses).

Procédure

Préparation d'ARN entraîneur et addition du contrôle interne aux échantillons

L'emploi du kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi associé au kit *artus* BK Virus QS-RGQ nécessite l'introduction du contrôle interne (BK Virus RG IC) dans la procédure de purification afin de surveiller l'efficacité de la préparation des échantillons et de l'analyse en aval.

Le contrôle interne doit être ajouté au mélange ARN entraîneur (CARRIER)-tampon AVE (AVE) de manière à ce que le volume total reste de 120 μ l.

Le tableau représente l'addition du contrôle interne à la solution d'isolement dans le rapport de 0,1 μ l pour 1 μ l de volume d'élution. Il est recommandé de préparer les mélanges nécessaires juste avant chaque cycle.

| Composant | Volume (μ l) (tubes | |
|--|--------------------------|--------------------------------|
| | Sarstedt®)* | Volume (μ l) (tubes BD™)† |
| ARN entraîneur (CARRIER) | 3 | 3 |
| Contrôle interne‡ | 9 | 9 |
| Tampon AVE | 108 | 108 |
| Volume final par échantillon (hors volume mort) | 120 | 120 |
| Volume total pour n échantillons | (n x 120) + 360§ | (n x 120) + 600¶ |

* Micro tubes 2,0 ml Type H et Micro tubes 2,0 ml Type I (microtubes Sarstedt, référence 72.693 et 72.694)

† Tubes de 14 ml, 17 x 100 mm, en polystyrène à fond rond, Becton Dickinson, référence 352051.

‡ On calcule la quantité de contrôle interne à partir des premiers volumes d'élution (90 μ l). Le volume mort supplémentaire dépend du type de tube utilisé pour l'échantillon.

§ Un mélange de contrôle interne correspondant à 3 échantillons supplémentaires (c'est-à-dire 360 μ l) est requis. Ne pas remplir plus de 1,92 ml de volume total (ce qui correspond à 13 échantillons maximum). Ces volumes sont spécifiques aux Micro tubes 2,0 ml Type H et aux Micro tubes 2,0 ml Type I (microtubes Sarstedt, références 72.693 et 72.694).

¶ Un mélange de contrôle interne correspondant à 5 échantillons supplémentaires (c'est-à-dire 600 μ l) est requis. Ne pas remplir plus de 13,92 ml de volume total (ce qui correspond à 111 échantillons maximum). Ces volumes sont spécifiques aux tubes de 14 ml, 17 x 100 mm, en polystyrène à fond rond, Becton Dickinson, référence 352051.

Configuration du QIASymphony SP

Tiroir « Waste » (Déchets)

| | |
|---|--|
| Support de boîte d'unités 1 à 4 | Boîtes d'unités vides |
| Support pour sac poubelle | Sac poubelle |
| Support pour flacon à déchets liquides | Vider et installer la bouteille à déchets liquides |

Tiroir « Eluate » (Éluat)

| | |
|------------------------|---|
| Portoir d'éluat | Utiliser l'emplacement d'éluat réfrigéré 1 |
| Volume d'éluat* | Volume d'éluat présélectionné : 60 µl Volume d'éluat initial : 90 µl |

* Le volume d'éluat est présélectionné pour le protocole. Il correspond au volume minimum accessible d'éluat dans le tube d'éluat final. Le volume initial de solution d'éluat est nécessaire pour que le volume d'éluat réel soit le même que le volume présélectionné.

Tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables)

| | |
|--|---|
| Position A1 et/ou A2 | Charger 1 cartouche de réactif (RC) pour 48 échantillons maximum ou 2 nouvelles cartouches de réactifs (RC) pour 96 échantillons maximum |
| Position B1 | Tampon ATL (ATL) |
| Support de portoir de cônes, positions 1 à 17 | Charger suffisamment de portoirs de cônes à filtre jetables de 200 µl et 1 500 µl (voir « Matériel en plastique requis pour les lots d'échantillons 1 à 4 », page 6) |
| Support de boîtes d'unités, positions 1 à 4 | Charger les boîtes d'unités contenant les cartouches de préparation d'échantillons et les manchons pour 8 barreaux (voir « Matériel en plastique requis pour les lots d'échantillons 1 à 4 », page 6) |

Tiroir « Sample » (Échantillon)

| | |
|--|---|
| Type d'échantillon | Urine |
| Volume d'échantillon (dont volume excédentaire) | 500 μ l |
| Tubes d'échantillon | Micro tubes 2,0 ml Type H ou Micro tubes 2,0 ml Type I (microtubes Sarstedt, références 72.693 et 72.694) |
| Élément d'insertion | Tube Insert 3B (élément d'insertion de tube 3B, référence 9242083) |

Matériel en plastique requis pour les lots d'échantillons 1 à 4

| | Un lot, 24 échantillons* | Deux lots, 48 échantillons* | Trois lots, 72 échantillons* | Quatre lots, 96 échantillons* |
|--|-------------------------------------|--|---|--|
| Cônes munis de filtres jetables, 200 μl^{†‡} | 34 | 60 | 86 | 112 |
| Cônes munis de filtres jetables, 1 500 μl^{†‡} | 123 | 205 | 295 | 385 |
| Cartouches de préparation d'échantillons[§] | 18 | 36 | 54 | 72 |
| Manchons pour 8 barreaux[¶] | 3 | 6 | 9 | 12 |

* L'utilisation de plusieurs tubes de contrôle interne par lot et la réalisation de plusieurs inventaires nécessite davantage de cônes munis de filtres jetables.

† Il y a 32 cônes munis de filtres/portoir de cônes.

‡ Le nombre requis de cônes munis de filtres correspond à 1 inventaire par cartouche de réactifs.

§ Il y a 28 cartouches de préparation d'échantillons/boîte d'unités.

¶ Il y a douze manchons pour 8 barreaux/boîte d'unités.

Configuration du QIASymphony AS

Consommables

Lors de la configuration, les positions appropriées pour chaque consommable sur le module QIASymphony AS sont indiquées sur l'écran tactile de l'appareil.

| Consommables | Nom sur l'écran tactile | À utiliser avec un adaptateur/support pour réactif |
|--|--|--|
| Rangées de tubes et de bouchons, 0.1 ml (250) | QIA#981103 *StripTubes 0.1 | Rangées de tubes RG 72 QS |
| Tubes coniques, 2 ml, Qsym AS (500) [†] | QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt [‡] | Support pour réactifs 1 QS Support pour réactifs 2 QS |
| Tube conique, 5 ml, Qsym AS (500) ^{*†} | QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt [‡] | Support pour réactifs 1 QS Support pour réactifs 2 QS |
| Bouteilles de réactifs, 30 ml, QSym AS (50) [*] | QIA#997108 *Bottle 30ml [‡] | Support pour réactifs 2 QS |
| Microtubes d'éluion CL (24 x 96) | QIA#19588 * EMTR | Portoir pour microtubes d'éluion QS |

* Pour les composants du mélange principal, le mélange principal préparé par le système ainsi que les règles et contrôles d'analyse.

[†] Les tubes Sarstedt décrits dans la section « Matériel nécessaire mais non fourni », page 2, peuvent également être utilisés.

[‡] Le suffixe « (m) » de l'écran tactile indique que les calculs du niveau de liquide pour le tube respectif ont été optimisés pour les réactifs formant un ménisque concave.

Adaptateurs et supports pour réactif

| Portoir/support pour réactif | Nom | Nombre requis [§] |
|------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| Portoir à échantillons | Portoir pour microtubes d'éluion QS | 1 |
| Supports pour réactif | Support pour réactifs 1 QS | 1 |
| Portoir à essais | Rangées de tubes RG 72 QS | 1 |

[§] Calculé pour un cycle d'analyse comprenant 72 réactions.

Cônes munis de filtres

Charger les portoirs de cônes en commençant par les emplacements 1, 2 et 3 du tiroir « Eluate and Reagents » (Éluats et réactifs) puis charger les portoirs de cônes dans les emplacements 7, 8 et 9 du tiroir « Assays » (Tests).

| Consommable | Nom sur l'écran tactile | Nombre minimal pour 24 réactions | Nombre minimal pour 72 réactions |
|--|--------------------------------|---|---|
| Cônes munis de filtres, 1 500 μ l (1024) | 1 500 μ l | 3 | 4 |
| Cônes munis de filtres, 200 μ l (1024) | 200 μ l | 5 | 5 |
| Cônes munis de filtres, 50 μ l (1024) | 50 μ l | 25 | 73 |
| Sachets de récupération des cônes usagés | – | 1 | 1 |

RT-PCR sur le Rotor-Gene Q

Veillez vous référer à la fiche de protocole spécifique au logiciel « Settings to run *artus* QS-RGQ Kits » (Paramètres pour l'exécution des kits *artus* QS-RGQ) à l'adresse www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx.

Réglages spécifiques pour le kit *artus* BK Virus QS-RGQ

L'application Rotor-Gene AssayManager configure automatiquement les paramètres du kit *artus* BK Virus QS-RGQ.

Les réglages spécifiques avec le logiciel Rotor-Gene de version 2.1 sont présentés ci-dessous.

| | |
|--|--|
| Volume réactionnel (μl) | 50 |
| Plateau | Plateau de température : 95 deg. Durée du plateau : 10 min |
| Cycles | 45 cycles 95 deg. pendant 15 s 65 deg. pendant 30 s 72 deg. pendant 20 s S'assurer d'activer la fonction touchdown (touché) pendant 10 cycles au cours de l'étape d'hybridation. |
| Configuration de l'optimisation automatique du gain | 65 degrés (Échantillons : Green; IC: Orange) |

Interprétation des résultats

Cette section décrit l'interprétation des résultats obtenus sur le Rotor-Gene Q. Étudier également les informations sur l'état de l'échantillon dans les fichiers de résultats du QIASymphony SP/AS pour une analyse de l'ensemble du flux de travail, de l'échantillon au résultat. Seuls des échantillons présentant un état valide doivent être utilisés.

L'application Rotor-Gene AssayManager interprète automatiquement les résultats de PCR et fournit une conclusion et un résultat quantitatif.

Les sections suivantes décrivent l'interprétation des résultats en utilisant la version logicielle Rotor-Gene software 2.1 ou supérieure.

Détection du signal et conclusions — urine 400 µl

| Signal dans le canal Cycling Green | Signal dans le canal Cycling Orange | Résultat quantitatif (copies/ml) | Interprétation |
|------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|---|
| Oui | Oui | < 81,8 | Résultat valide : ADN de virus BK détecté, < 250 copies/ml Quantification impossible car le résultat quantitatif est inférieur à la limite de détection. La reproductibilité du résultat positif n'est pas garantie. |
| Oui | Oui | ≥ 81,8 et < 250 | Résultat valide : ADN de virus BK détecté, < 250 copies/ml Quantification impossible car le résultat quantitatif est inférieur à la plage linéaire du test. |
| Oui | Oui | ≥ 250 et ≤ 1 x 10 ⁹ | Résultat valide : ADN de virus BK détecté à la concentration calculée Résultat quantitatif dans la plage linéaire du test. |
| Oui | Oui | > 1 x 10 ⁹ | Résultat valide : ADN de virus BK détecté, > 1 x 10 ⁹ copies/ml Quantification impossible car le résultat quantitatif est supérieur à la plage linéaire du test.* |
| Non | Oui | – | Résultat valide : Aucun ADN de virus BK n'est détectable.† |
| Non | Non | – | Résultat non valide : Aucun résultat ne peut être établi.‡ |

* Si une quantification est requise, diluer l'échantillon avec de l'urine exempte de virus BK et renouveler l'analyse. Multiplier le résultat quantitatif de l'échantillon ré-analysé par le facteur de dilution.

† Si la valeur C_T pour le contrôle interne d'un échantillon négatif dépasse de plus de 3 cycles la valeur C_T pour le contrôle interne du contrôle sans matrice dans le cycle ($C_{T \text{ IC Échantillon}} - C_{T \text{ IC NTC}} > 3$), l'échantillon doit être considéré comme non valide. Aucun résultat ne peut être établi.

‡ Des informations sur les sources d'erreur et leur solution sont disponibles dans la section « Troubleshooting guide » (Résolution des principaux problèmes rencontrés) du manuel du kit *artus BK Virus QS-RGQ* (*artus BK Virus QS-RGQ Kit Handbook*).

Configuration du seuil pour l'analyse PCR

Il convient de définir empiriquement les paramètres du seuil optimal pour une combinaison appareil Rotor-Gene Q/kit artus QS-RGQ donnée en testant chaque combinaison différente, étant donné qu'il s'agit là d'une valeur relative dépendant du flux de travail diagnostic global. On peut fixer le seuil à une valeur préliminaire de 0,04 pour l'analyse du premier cycle de PCR, mais il faut réajuster cette valeur par une analyse comparative des cycles suivants du flux de travail. Le seuil doit être réglé manuellement juste au-dessus du signal de fond des contrôles négatifs et des échantillons négatifs. La valeur moyenne du seuil calculée à partir de ces expériences doit fonctionner pour la majorité des cycles suivants, mais l'utilisateur doit néanmoins revoir la valeur de seuil établie à intervalles réguliers. La valeur de seuil se situe généralement dans une plage de 0,03 à 0,05 et doit être arrondie à trois chiffres après la virgule au maximum.

Quantification

Les normes de quantification (BK Virus RG QS 1–4) du kit *artus* BK Virus QS-RGQ sont traitées comme les échantillons précédemment purifiés et le même volume est utilisé (15 µl). Pour générer une courbe standard avec les appareils Rotor-Gene Q, il faut utiliser et définir les 4 normes de quantification de la boîte de dialogue « Edit Samples » (Modifier échantillons) de l'appareil Rotor-Gene Q comme les normes aux concentrations spécifiées (cf. manuel d'utilisation de l'appareil).

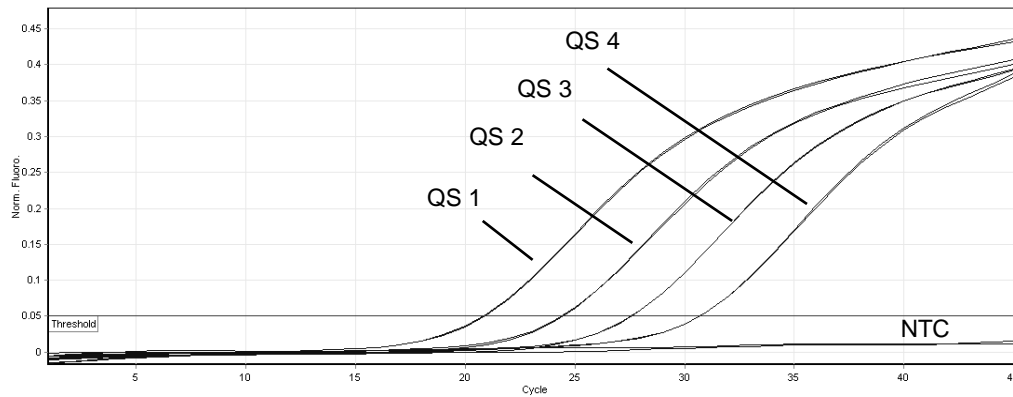
Remarque : Les normes de quantification sont exprimées en copies/µl. L'équation suivante doit être appliquée pour convertir les valeurs déterminées par le biais de la courbe standard en copies/ml de matériel de prélèvement.

$$\begin{array}{l} \text{Résultat} \\ \text{(copies/ml)} \end{array} = \frac{\text{Résultat (copies/}\mu\text{l)} \times \text{volume initial d'élution (90 }\mu\text{l)*}}{\text{Volume d'échantillon (ml)}}$$

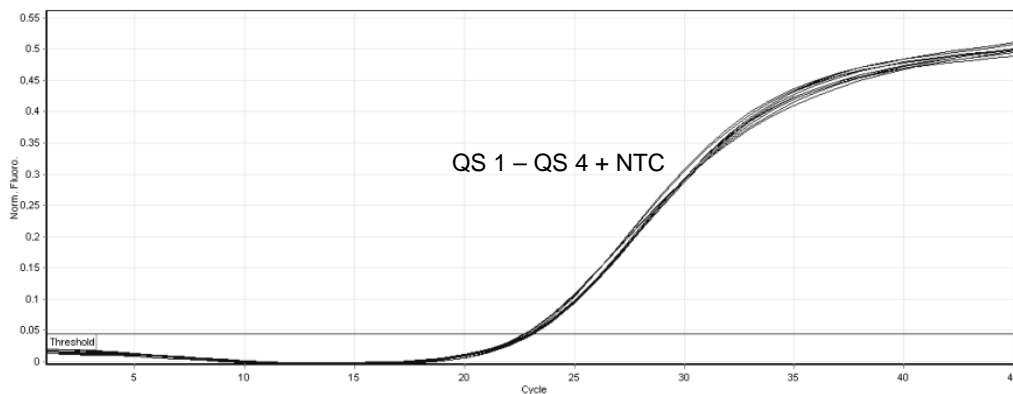
Par principe, le volume initial d'échantillon doit être saisi dans l'équation ci-dessus. Il faut le prendre en compte quand le volume d'échantillon a été modifié avant extraction de l'acide nucléique (p. ex. en réduisant le volume par centrifugation ou en l'augmentant par ajout au volume nécessaire à l'isolation).

* Le calcul repose sur les volumes initiaux d'élution (90 µl).

Exemples de réactions de PCR positives et négatives



Détection des normes de quantification (BK Virus RG QS 1–4) dans le canal de fluorescence Cycling Green. NTC : Contrôle sans matrice (contrôle négatif).



Détection du contrôle interne (IC) dans le canal de fluorescence Cycling Orange avec amplification simultanée des normes de quantification (BK Virus RG QS 1–4). NTC : Contrôle sans matrice (contrôle négatif).

Pour obtenir les dernières informations sur la licence et les clauses de responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN respectif. Les manuels des kits et manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être demandés auprès des Services techniques QIAGEN ou du distributeur local.

Marques de commerce : QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (Groupe QIAGEN) ; BD™ (Becton, Dickinson and Company) ; Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.).

© 2012 QIAGEN, tous droits réservés.

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