

QIASymphony® RGQ-applikationsark

QIASymphony RGQ-applikation artus® BK Virus QS-RGQ-kit (prøvetype: urin, 800 µl)



Kontroller, hvilke nye reviderede udgaver af elektronisk mærkning der er tilgængelige på www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgqcrkit.aspx, inden testen udføres. Den aktuelle revisionsstatus er angivet med udstedelsesdato (format: måned/år).

Generelle oplysninger

Kit	artus BK Virus QS-RGQ-kit, version 1 REF 4514363
Valideret prøvemateriale	Urin
Automatiseret oprensning	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (katalognr. 937055)
Prøvevolumen (inkl. overskydende volumen)	1000 µl
Analyseparametersæt	artus_BKV_urine800_V4
StandardanalysekontROLSæt	Complex800_V6_DSP_artus_BKV
Elueringsvolumen	60 µl
Påkrævet softwareversion	Version 4.0 eller højere
Masterblandingsvolumen	10 µl
Skabelonvolumen	15 µl
Antal reaktioner	6-24*
Kørselstid på AS-modul	6 reaktioner: ca. 8 minutter 72 reaktioner: ca. 35 minutter

* For analyseopsætning for BK-virus kan der opsættes op til 216 (9 x 24) analyser i en kørsel på QIASymphony AS.

Maj 2012



Sample & Assay Technologies

Nødvendige materialer, som ikke medfølger

Oprensingskit	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (katalognr. 937055)
Adaptore til QIASymphony SP	■	Elution Microtube Rack QS (Eluerings-mikrorørs-rack QS) (køleadapter, EMT, v2, Qsym, katalognr. 9020730)
	■	Tube Insert 3B (rørindsats 3B) (indsats, 2,0ml v2, prøveholder (24), Qsym katalognr. 9242083)
Forbrugsartikler til QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges (prøveklarg. beholdere), 8-brønds (katalognr. 997002)
	■	8-Rod Covers (8-stavs dæksler) (katalognr. 997004)
	■	Filter-Tips (filterspidser), 1500 µl (katalognr. 997024)
	■	Filter-Tips (filterspidser), 200 µl (katalognr. 990332)
	■	Elution Microtubes CL (Eluerings-mikrorør CL) (katalognr. 19588)
	■	Tip disposal bags (spidsaffaldssække) (katalognr. 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H or Micro tubes 2.0 ml Type I (Mikrorør 2,0 ml type H eller mikrorør 2,0 ml type I) (Sarstedt, katalognr. 72.693 og 72.694, www.sarstedt.com) til brug sammen med prøver og interne kontroller
Adaptore og reagensholdere til QIASymphony AS	■	Reagent holder (reagensholder) 1 QS (køleadapter, reagensholder 1, Qsym, katalognr. 9018090)
	■	Reagent holder (reagensholder) 2 QS (køleadapter, reagensholder 2, Qsym, katalognr. 9018089)
	■	RG Strip Tubes 72 QS (RG-striprør 72 QS) (køleadapter, RG-striprør 72, Qsym, katalognr. 9018092)
Forbrugsartikler til QIASymphony AS	■	Strip Tubes and Caps (striprør og hætter), 0,1 ml (katalognr. 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, koniske, 5 ml, Qsym AS) (kat. nr. 997104)* eller Tubes with flat base from PP (rør med flad basis fra PP) (Sarstedt, katalognr. 60.558.001)
	■	Reagent Bottles (reagensflasker), 30 ml, Qsym AS (katalognr. 997108)
	■	Elution Microtubes CL (Eluerings-mikrorør CL) (katalognr. 19588)
	■	Filter-Tips (filterspidser), 1500 µl (katalognr. 997024)
	■	Filter-Tips (filterspidser), 200 µl (katalognr. 990332)
	■	Filter-Tips (filterspidser), 50 µl (katalognr. 997120)
	■	Tip disposal bags (spidsaffaldssække) (katalognr. 9013395)
Til prøveklargøring (urin)	■	Buffer ATL, GPR (katalognr. 939016)

* Spørg efter tilgængelighed.

Prøvehåndtering og -opbevaring

Prøveopsamling	Human urin
Transport af prøver	Sikker transport af glas Forsendelse inden for 6 timer Forsendelse med posten i henhold til de lovbestemte vejledninger i transport af patogen materiale*
Klargøring af prøver	Sørg for, at der ikke dannes skum i eller på prøverne. Prøverne skal ekvilibreres til stuetemperatur (15-25 °C), før kørslen startes.

* International Air Transport Association (IATA). Dangerous Goods Regulations (Regler vedrørende transport af farligt gods).

Procedure

Klargøring af bærer-RNA og tilsætning af intern kontrol til prøverne

Brug af QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi-kittet i kombination med *artus* BK Virus QS-RGQ-kittet kræver indsætning af den interne kontrol (BK Virus RG IC) i oprensingsproceduren for at overvåge effektiviteten af prøveklargøringen og efterfølgende analyse.

Interne kontroller skal tilsættes blanding af carrier RNA (CARRIER) og Buffer AVE (AVE), og den samlede mængde af blandingen af intern kontrol, carrier RNA (CARRIER) og Buffer AVE (AVE) forbliver 120 µl.

Tabellen viser tilsætning af intern kontrol til isolationen i et forhold på 0,1 µl pr. 1 µl elueringsvolumen. Vi anbefaler at klarlægge friske blandinger til hver kørsel umiddelbart før brug.

Komponent	Volumen (µl) (Sarstedt®-rør)*	Volumen (µl) (BD™- rør)†
Stambærer-RNA (CARRIER)	3	3
Intern kontrol‡	9	9
Buffer AVE	108	108
Endeligt volumen pr. prøve (ekskl. dødvolumen)	120	120
Samlet volumen 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, katalognr. 72.693 og 72.694).

† Rør, 14 ml, 17 x 100 mm af polystyren med rund bund (Becton Dickinson, katalognr. 352051).

‡ Beregningen af mængden af intern kontrol er baseret på de initiale elueringsvolumener (90 µl). Yderligere porevolumen afhænger af den anvendte prøverørstype.

§ Intern kontrolblanding, der svarer til 3 yderligere prøver (dvs. 360 µl), er påkrævet. Fyld ikke røret med mere end 1,92 ml (svarende til maksimalt 13 prøver). Disse volumener er specifikke for mikrorør 2,0 ml Type H og mikrorør 2,0 ml Type I (Sarstedt, katalognr. 72.693 og 72.694).

¶ Intern kontrolblanding, der svarer til 5 yderligere prøver (dvs. 600 µl), er påkrævet. Fyld ikke røret med mere end 13,92 ml (svarende til maksimalt 111 prøver). Disse volumener er specifikke for rør, 14 ml, 17 x 100 mm af polystyren med rund bund, Becton Dickinson, katalognr. 352051).

Opsætning af QIASymphony SP

Skuffen "Waste" (affald)

Enhedsboksholder 1-4	Tomme enhedsbokse
Affaldsposeholder	Affaldspose
Væskeaffaldsflaskeholder	Tøm og indsæt flaske til flydende affald

Skuffen "Eluate" (eluat)

Elueringsrack	Brug åbning 1, afkølingsposition
Elueringsvolumen*	Forvalgt elueringsvolumen: 60 μ l Initialt elueringsvolumen 90 μ l

* Det elueringsvolumen, der er forvalgt for protokollen. Dette er det minimalt tilgængelige eluatvolumen i det sidste elueringsrør. Det initiale volumen af elueringsopløsning, der skal til for at sikre, at det aktuelle eluatvolumen er det samme som det forvalgte volumen.

Skuffen "Reagents and Consumables" (reagenser og forbrugsartikler)

Position A1 og/eller A2	Indsæt 1 reagensbeholder (RC) til op til 48 prøver eller 2 nye reagensbeholdere (RC) til op til 96 prøver
Position B1	Buffer ATL (ATL)
Spidsrackholderposition 1-17	Indsæt tilstrækkelige racks med engangsfilterspidser, 200 μ l og 1500 μ l (se Nødvendige plastartikler til 1-4 prøvebatches på side 6)
Enhedsboksbeholderposition 1-4	Indsæt enhedsbokse med prøveklargøringsbeholdere og 8-stavs dæksler (se Nødvendige plastartikler til 1-4 prøvebatches på side 6)

Skuffen "Sample" (prøve)

Prøvetype	Urin
Prøvevolumen (inkl. overskydende volumen)	1000 μ l
Prøverør	Mikrorør 2,0 ml type H eller mikrorør 2,0 ml type I (Sarstedt, katalognr. 72.693 og 72.694)
Indsats	Rørindsats 3B (katalognr. 9242083)

Nødvendige plastartikler til 1-4 prøvebatches

	En batch, 24 prøver*	To batches, 48 prøver*	Tre batches, 72 prøver*	Fire batches, 96 prøver*
Engangsfilterspidser, 200 μl[†]	34	60	86	112
Engangsfilterspidser, 1500 μl[†]	123	205	295	385
Prøveklargøringsbeholdere[§]	18	36	54	72
8-stavs dæksler[¶]	3	6	9	12

* Brug af mere end et rør med intern kontrol pr. batch og gennemførelse af mere end en indholdsscanning kræver ekstra engangsfilterspidser.

[†] Der er 32 filterspidser/spidsrack.

[‡] Antal nødvendige filterspidser indeholder filterspidser til 1 indholdsscanning pr. reagensbeholder.

[§] Der er 28 prøveklargøringsbeholdere/enhedsboks.

[¶] Der er 12 8-stavs dæksler/enhedsboks.

Opsætning af QIASymphony AS

Forbrugsartikler

Under opsætningen er de rette positioner for hver forbrugsartikel på QIASymphony AS-modulet angivet på instrumentets berøringsskærm.

Forbrugsartikler	Navn på berøringsskærm	Til brug sammen med adapter/reagensholder
Striprør og hætter, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG-striprør 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
Elution Microtubes CL (Eluerings-mikrorør CL) (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Eluerings-mikrorørsrack QS

* Til master-blandingskomponenter, systemklargjort master-blanding, analysestandarder og analysekontroller.

† Alternativt kan der bruges Sarstedt-rør, som er beskrevet i "Nødvendige materialer, som ikke medfølger" på side 2.

‡ Suffikset "(m)" på berøringsskærmen angiver, at væskestandsberegningerne for det respektive rør er blevet optimeret til reagenser, der danner en konkav menisk.

Adaptore og reagensholdere

Rack/reagensholder	Navn	Nødvendigt antal [§]
Prøverack	Eluerings-mikrorørsrack QS	1
Reagensholdere	Reagensholder 1 QS	1
Analysereacks	RG-striprør 72 QS	1

[§] Beregnet for en analysekørsel med 72 reaktioner.

Filterspidser

Indsæt spids-racks startende med spidspladserne 1, 2 og 3 i skuffen "Eluate and Reagents" (eluat og reagenser), og indsæt dernæst spids-racks på spidsplads 7, 8 og 9 i skuffen "Assays" (analyser).

Forbrugsartikel	Navn på berøringskærm	Minimumsantal til 24 reaktioner	Minimumsantal til 72 reaktioner
Filterspidser, 1500 μ l (1024)	1500 μ l	3	4
Filterspidser, 200 μ l (1024)	200 μ l	5	5
Filterspidser, 50 μ l (1024)	50 μ l	25	73
Spidsaffaldsposer	–	1	1

RT-PCR på Rotor-Gene Q

Der henvises til det softwarespecifikke protokolark "Settings to run artus QS-RGQ Kits" (Indstillinger til kørsel af artus QS-RGQ-kit) på www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgqcrkit.aspx.

Specifikke indstillinger for *artus* BK Virus QS-RGQ-kittet

Rotor-Gene AssayManager indstiller automatisk parametrene for *artus* BK Virus QS-RGQ-kittet.

Med Rotor-Gene software 2.1 vises de specifikke indstillinger nedenfor.

Reaktionsvolumen (μl)	50
Stop	Stoptemperatur: 95 grader Stoptid: 10 min.
Cyklus	45 gange 95 grader i 15 sek. 65 grader i 30 sek. 72 grader i 20 sek. Sørg for at aktivere touchdown-funktionen for 10 cyklusser i hærkningstrinnet.
Auto-Gain Optimization Setup (Opsætning af automatisk gain- optimering)	65 grader (Prøver: Green, IC: Orange)

Tolkning af resultater

Dette afsnit beskriver tolkning af resultater på Rotor-Gene Q. Evaluer også prøvestatusoplysninger fra QIASymphony SP/AS-resultatfilerne med henblik på analyse af den komplette arbejdsgang fra prøve til resultat. Kun prøver med en gyldig status bør anvendes.

Rotor-Gene AssayManager tolker automatisk PCR-resultaterne og giver en konklusion og et kvantitativt resultat.

De følgende afsnit beskriver tolkning af resultater vha. Rotor-Gene Q-software 2.1 eller højere.

Signaldetektering og konklusioner – urin 800 µl

Signal i Cycling Green	Signal i Cycling Orange	Kvantitativt resultat (kopier/ml)	Tolkning
Ja	Ja	< 78,5	Gyldigt resultat: BK-virus-DNA detekteret, <100 kopier/ml Kvantitering ikke mulig, da det kvantitative resultat ligger under detektionsgrænsen. Reproducerbarheden for det positive resultat er ikke sikret.
Ja	Ja	≥78,5 og <100	Gyldigt resultat: BK-virus-DNA detekteret, <100 kopier/ml Kvantitering ikke mulig, da det kvantitative resultat ligger under analysens lineære område.
Ja	Ja	≥100 og ≤1 x 10 ⁹	Gyldigt resultat: BK-virus-DNA detekteret ved den beregnede koncentration Det kvantitative resultat ligger inden for analysens lineære område.
Ja	Ja	>1 x 10 ⁹	Gyldigt resultat: BK-virus-DNA detekteret, >1 x 10 ⁹ kopier/ml Kvantitering ikke mulig, da det kvantitative resultat ligger over analysens lineære område.*
Nej	Ja	–	Gyldigt resultat: BK-virus-DNA kan ikke detekteres.†
Nej	Nej	–	Ugyldigt resultat: Der kan ikke udledes noget resultat.‡

* Hvis kvantitering ønskes, fortyndes prøven med BK-virusfri urin og behandles igen. Multipliser det kvantitative resultat fra den genbehandlede prøve med fortyndingsfaktoren.

† Hvis C_T-værdien for den interne kontrol af en negativ prøve er mere end 3 cyklusser højere end C_T-værdien for den interne kontrol af kontrollen uden skabelon i kørslen (C_TIC-prøve – C_TIC-NTC >3), da skal prøven behandles som ugyldig. Der kan ikke udledes noget resultat.

‡ Information vedrørende fejlkilder og deres løsning kan findes i "Troubleshooting guide" (Fejlfindingsvejledning) i HÝndbog til artus BK Virus QS-RGQ-kit (artus BK Virus QS-RGQ Kit Handbook).

Indstilling af tærsklen for PCR-analysen

De optimale tærskelindstillinger for en given kombination af Rotor-Gene Q-instrumentet og *artus* QS-RGQ-kittet skal sættes empirisk ved at teste hver individuel kombination, eftersom det er en relativ værdi, afhængig af den generelle diagnostiske arbejdsgang. Tærsklen kan indstilles på en præliminær værdi på 0,04 til analysen af den første PCR-kørsel, men denne værdi skal finindstilles i en komparativ analyse af de næste kørsler af arbejdsgangen. Tærsklen skal indstilles manuelt lige over baggrundssignalet for de negative kontroller og negative prøver. Tærskelmiddelværdien, som beregnes ud fra disse eksperimenter, vil sandsynligvis fungere for de fleste kørsler, men brugeren skal alligevel gennemgå den genererede tærskelværdi med jævne mellemrum. Tærskelværdien vil sædvanligvis ligge i intervallet 0,03-0,05 og skal afrundes til højst tre decimaler.

Kvantificering

Kvantiteringsstandarderne (BK Virus RG QS 1–4) i *artus* BK Virus QS-RGQ-kittet behandles som tidligere oprensede prøver, og der anvendes samme volumen (15 µl). For at generere en standardkurve på Rotor-Gene Q-instrumenter bør alle 4 kvantiteringsstandarder bruges og defineres i dialogboksen "Edit Samples" (rediger prøver) på Rotor-Gene Q-instrumentet som standarder med de specificerede koncentrationer (se instrumentets brugervejledning).

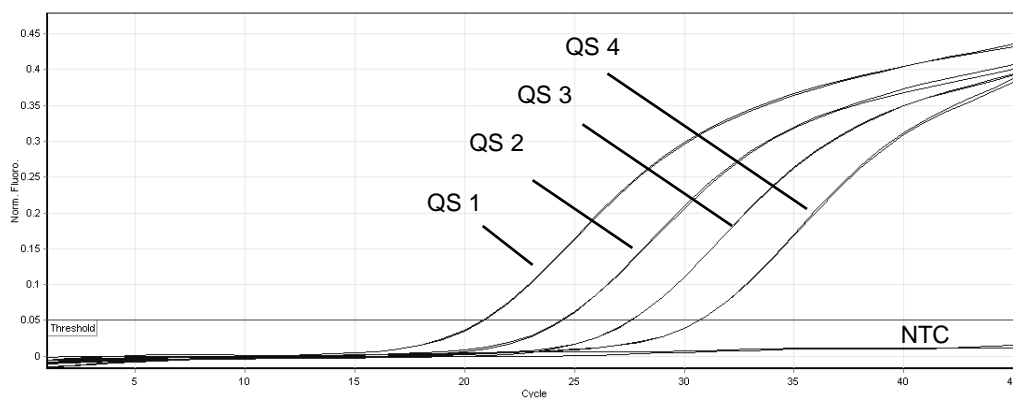
Bemærk: Kvantiteringsstandarderne defineres som kopier/µl. Følgende formel skal anvendes til at omregne de værdier, som er bestemt ved hjælp af standardkurven, til kopier/ml prøvemateriale.

$$\text{Resultat (kopier/ml)} = \frac{\text{Resultat (kopier/}\mu\text{l)} \times \text{Initialt elueringsvolumen (90 }\mu\text{l)}^*}{\text{Prøvevolumen (ml)}}$$

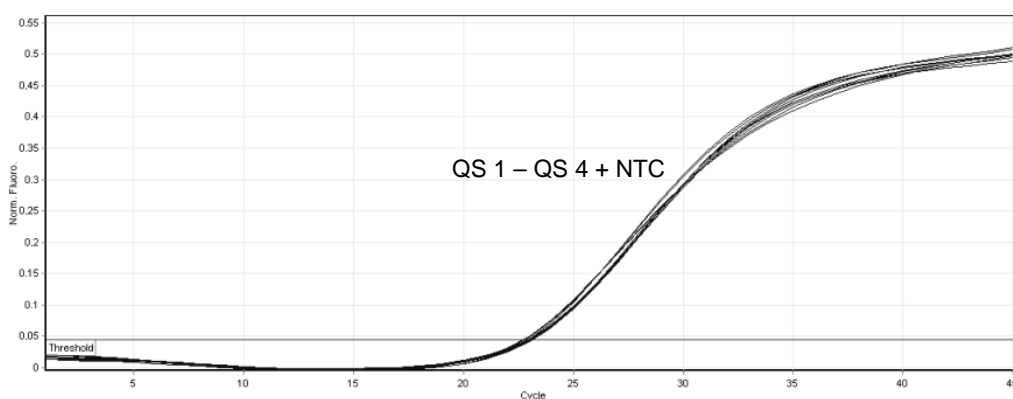
Det initiale prøvevolumen skal altid indsættes i ovenstående formel. Det skal tages i betragtning, når prøvevolumen ændres før nukleinsyreekstraktionen (f.eks. reduktion af volumen ved centrifugering eller øgning af volumen ved at tilsætte det nødvendige volumen til isolationen).

* Beregningen er baseret på de initiale elueringsvolumener (90 µl).

Eksempler på positive og negative PCR-reaktioner



Detektion af kvantiteringsstandarderne (BK Virus RG QS 1-4) i fluorescenskanalen Cycling Green. NTC: Ingen skabelonkontrol (negativ kontrol).



Detektion af den interne kontrol (IC) i fluorescenskanalen Cycling Orange med samtidig amplifikation af kvantiteringsstandarderne (BK Virus RG QS 1-4). NTC: Ingen skabelonkontrol (negativ kontrol).

For opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises til den aktuelle håndbog eller brugervejledning til QIAGEN-kittet. QIAGEN kit-håndbøger og brugervejledninger kan findes på www.qiagen.com eller kan rekvireres fra QIAGENS tekniske serviceafdeling eller den lokale leverandør.

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

© 2012 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.

www.qiagen.com

Canada = 800-572-9613

Ireland = 1800 555 049

Norge = 800-18859

China = 021-3865-3865

Italy = 800-787980

Singapore = 65-67775366

Denmark = 80-885945

Japan = 03-6890-7300

Spanien = 91-630-7050

Australia = 1-800-243-800

Finland = 0800-914416

Korea (South) = 1544 7145

Sverige = 020-790282

Austria = 0800/281010

France = 01-60-920-930

Luxembourg = 8002 2076

Schweiz = 055-254-22-11

Belgium = 0800-79612

Germany = 02103-29-12000

Mexico = 01-800-7742-639

Storbritannien = 01293-422-911

Brazil = 0800-557779

Hong Kong = 800 933 965

The Netherlands = 0800 0229592

USA = 800-426-8157



Sample & Assay Technologies