

# QIASymphony® RGQ-applikationsblad

## QIASymphony RGQ-applikation artus® BK Virus QS-RGQ Kit (provtyp: urin, 400 µl)

IVD

CE



Kontrollera om det finns några nya elektroniska märkningsrevisioner på [www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx) innan testet utförs. Nuvarande revisionsstatus anges av utgivningsdatumet (format: månad/år).

### Allmän information

Kit	artus BK Virus QS-RGQ Kit, version 1, <b>REF</b> 4514363
Validerat provmaterial	Urin
Inledande rening	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat.nr 937055)
Provolym (inklusive överskottsvolym)	500 µl
Analysparameteruppsättning	artus_BKV_urine400_V4
Förvald analyskontrolluppsättning	Complex400_V4_DSP_artus_BKV
Elueringsvolym	60 µl
Nödvändig programversion	Version 4.0 eller högre
Masterblandningsvolym	10 µl
Mallvolym	15 µl
Antal reaktioner	6–24*
Körtid på AS-modul	För 6 reaktioner: cirka 8 minuter För 72 reaktioner: cirka 35 minuter

\* För analysinställningar för BK-virus kan maximalt 216 (9 x 24) analyser ställas in i en körning på QIASymphony AS.

Maj 2012



Sample & Assay Technologies

## Material som behövs men inte medföljer

Reningskit	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat.nr 937055)
Adaptrar för QIASymphony SP	■	Elueringsmikrorörställ (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, kat.nr 9020730)
	■	Rörföring 3B (Insert, 2,0ml v2, samplecarr. (24), Qsym, kat.nr. 9242083)
Förbrukningsprodukter för QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges, 8-well (provberedn.patroner, 8-brunnars), (kat.nr 997002)
	■	8-Rod Covers (8-stavsskydd) (kat.nr 997004)
	■	Filter-Tips (filterspetsar), 1500 µl (kat.nr 997024)
	■	Filter-Tips (filterspetsar), 200 µl (kat.nr 990332)
	■	Elution Microtubes CL (elueringsmikrorör CL) (kat.nr 19588)
	■	Tip disposal bags (spetsavfallspåsar) (kat.nr 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H (mikrorör 2,0 ml Typ H) eller Micro tubes 2.0 ml Type I (mikrorör 2,0 ml Typ I) (Sarstedt, kat.nr 72.693 och 72.694, <a href="http://www.sarstedt.com">www.sarstedt.com</a> ) för användning med prover och interna kontroller
Adaptrar och reagenshållare för QIASymphony AS	■	Reagenshållare 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, kat.nr 9018090)
	■	Reagenshållare 2 QS) (Cooling Adapter, Reagent Holder 2, Qsym, kat.nr 9018089)
	■	RG-stripör 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, kat.nr 9018092)
Förbrukningsprodukter för QIASymphony AS	■	Strip Tubes and Caps (strip-rör med lock), 0,1 ml (kat. nr 981103)
	■	Tubes, conical (rör, koniska), 2 ml, Qsym AS (kat.nr 997102)* eller Micro tubes 2.0 mL Type I (mikrorör 2,0 ml, typ I) (Sarstedt, kat.nr 72.694.005)
	■	Tube, conical (rör, koniskt), 5 ml, Qsym AS (kat.nr 997104)* eller Tubes with flat base from PP (rör med platt bas från PP) (Sarstedt, kat.nr 60.558.001)
	■	Reagent Bottles (reagensflaskor), 30 ml, Qsym AS (kat.nr 997108)
	■	Elution Microtubes CL (elueringsmikrorör CL) (kat.nr 19588)
	■	Filter-Tips (filterspetsar), 1500 µl (kat.nr 997024)
	■	Filter-Tips (filterspetsar), 200 µl (kat.nr 990332)
	■	Filter-Tips (filterspetsar), 50 µl (kat.nr 997120)
	■	Tip disposal bags (spetsavfallspåsar) (kat.nr 9013395)
För provberedning (urin)	■	ATL-buffert, GPR (kat. nr 939016)

\* Kontrollera om produkten är tillgänglig.

---

## Hantering och förvaring av prover

Provtagning	Human urin
Provtransport	Splitterfri transport Sändning inom 6 timmar Posta sändningen enligt rättsliga instruktioner för transport av patogenmaterial*
Provberedning	Undvik skumbildning i eller på proven. Prover ska få rumstemperatur (15–25 °C) innan du startar körningen.

\* International Air Transport Association (Internationellt samarbetsorgan för flygbolag) (IATA).  
Dangerous Goods Regulations (Föreskrifter om farligt gods).

---

## Procedur

### Beredning av bärar-RNA och tillsats av den interna kontrollen till proverna

Användningen av QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi-kit i kombination med *artus* BK Virus QS-RGQ-kitet kräver att den interna kontrollen (BK Virus RG IC) förs in i reningsproceduren för att övervaka effektiviteten av provberedning och nedströmsanalys.

Interna kontroller måste tillsättas med bärar-RNA (CARRIER)-buffert AVE (AVE)-blandning, och den totala volymen av den interna kontrollbärar-RNA (CARRIER)-buffert AVE (AVE)-blandningen förblir 120  $\mu$ l.

I tabellen anges tillsatsen av den interna kontrollen till isolatet i förhållandet 0,1  $\mu$ l per 1  $\mu$ l elueringsvolym. Vi rekommenderar att du preparerar färskas blandningar för varje körning precis innan användning.

Komponent	Volym ( $\mu$ l) (Sarstedt®-rör)*	Volym ( $\mu$ l) (BD™-rör)†
Stammar från bärare av RNA (CARRIER)	3	3
Intern kontroll‡	9	9
AVE-buffert	108	108
<b>Slutlig volym per prov (exklusive dödvolum)</b>	<b>120</b>	<b>120</b>
<b>Total volym för n prover</b>	<b>(n x 120) + 360§</b>	<b>(n x 120) + 600¶</b>

\* Mikrorör 2,0 ml typ H eller mikrorör 2,0 ml typ I (Sarstedt, kat.nr 72.693 och 72.694).

† Rör 14 ml, 17 x 100 mm av polystyren med rund botten (Becton Dickinson, kat.nr 352051).

‡ Beräkningen av andelen intern kontroll bygger på de inledande elueringsvolymerna (90  $\mu$ l). Ytterligare tomvolym beror på vilken typ av provrör som används.

§ Intern kontrollblandning motsvarande ytterligare 3 prover (dvs 360  $\mu$ l) krävs. Fyll inte provröret med mer än 1,92 ml (dvs. högst 13 prover. Dessa volymer är specifika för mikrorör 2,0 ml typ H och mikrorör 2,0 ml typ I, Sarstedt kat.nr 72.693 och 72.694).

¶ Intern kontrollblandning motsvarande ytterligare 5 prover (dvs 600  $\mu$ l) krävs. Fyll inte provröret med mer än 13,92 ml (dvs. högst 111 prover. Dessa volymer är specifika för provrör av polystyren, 14 ml, 17 x 100 mm, med rund botten, Becton Dickinson, kat.nr 352051).

---

## QIASymphony SP-uppsättning

### Lådan "Waste" (Avfall)

Hållare för enhetslådor 1–4	Tomma enhetsaskar
Avfallspåshållare	Avfallspåse
Hållare för flaska för flytande avfall	Töm och installera flaska för flytande avfall

### Lådan "Eluate" (Eluat)

Elueringsställ	Använd uttag 1, kylpositionen
Elueringsvolym*	Förvald elueringsvolym: 60 $\mu$ l Initial elueringsvolym: 90 $\mu$ l

\* Elueringsvolymen är förvald för protokollet. Detta är den minsta volym som är tillgänglig av den eluerade substansen i det slutliga elueringsröret. Den första volymen av elueringslösning krävs för att förvissa sig om att den verkliga volymen av eluerad substans är densamma som den förvalda volymen.

### Lådan "Reagents and Consumables" (Reagens och förbrukningsmaterial)

Position A1 och/eller A2	Ladda 1 reagenspatron (RC) för maximalt 48 prover eller 2 nya reagenspatroner (RC) med maximalt 96 prover.
Position B1	ATL-buffert (ATL)
Spetsställhållare position 1–17	Ladda tillräckligt många ställ med engångsfilterspetsar, 200 $\mu$ l och 1 500 $\mu$ l (se "Nödvändiga plastartiklar för 1–4 provbatcher", sida 6)
Enhetsaskhållare, position 1–4	Ladda enhetslådor som innehåller provberedningskassetter och 8-stavsskydd (se "Nödvändiga plastartiklar för 1–4 provbatcher", sida 6)

## Lådan "Sample" (Prov)

<b>Provtyp</b>	Urin
<b>Provvoly (inklusive överskottsvoly)</b>	500 µl
<b>Provrör</b>	Mikrorör 2,0 ml typ H eller mikrorör 2,0 ml typ I (Sarstedt, kat.nr 72.693 och 72.694)
<b>Insats</b>	Rörföring 3B (kat.nr 9242083)

## Nödvändiga plastartiklar för 1–4 provbatcher

	<b>En batch, 24 prover*</b>	<b>Två batcher, 48 prover*</b>	<b>Tre batcher, 72 prover*</b>	<b>Fyra batcher, 96 prover*</b>
<b>Engångsfilterspetsar, 200 µl<sup>†‡</sup></b>	34	60	86	112
<b>Engångsfilterspetsar, 1 500 µl<sup>†‡</sup></b>	123	205	295	385
<b>Provberedningskassetter<sup>§</sup></b>	18	36	54	72
<b>8-stavsskydd<sup>¶</sup></b>	3	6	9	12

\* Om du använder fler än ett internt kontrollrör per batch och utför fler än en inventarieskanning krävs det fler engångsfilterspetsar.

† Det finns 32 filterspetsar/spetsställ.

‡ Antalet filterspetsar som krävs inbegriper filterspetsar för 1 inventarieskanning per reagenskasset.

§ Det finns 28 provberedningskassetter/enhetslåda.

¶ Det finns tolv 8-stavsskydd/enhetslåda.

# QIASymphony AS-inställning

## Förbrukningsprodukter

Under inställningen anges lämpliga positioner för varje förbrukningsprodukt på QIASymphony AS-modulen på instrumentets pekskärm.

Förbrukningsprodukter	Namn på pekskärm	För användning med adapter/reagenshållare
Strip-rör och lock, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG strip-rör 72 QS
Rör, koniska, 2 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt‡	Reagenshållare 1 QS Reagenshållare 2 QS
Rör, koniska, 5 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt‡	Reagenshållare 1 QS Reagenshållare 2 QS
Reagensflaskor, 30 ml, Qsym AS (50)*	QIA#997108 *Bottle 30ml‡	Reagenshållare 2 QS
Elueringsmikrorör CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Elueringsmikrorörställ QS

\* För masterblandade komponenter, systempreparerad masterblandning, analysstandarder och analyskontroller.

† Alternativt går det att använda Sarstedt-rören som beskrivs i "Material som behövs men inte medföljer", sida 2.

‡ Suffixet "(m)" på pekskärmen betyder att beräknad vätskenivå för respektive provrör har optimerats för reagens som bildar en konkav menisk.

## Adaptrar och reagenshållare

Ställ/reagenshållare	Namn	Antal som krävs <sup>§</sup>
Provställ	Elueringsmikrorörställ QS	1
Reagenshållare	Reagenshållare 1 QS	1
Analysställ	RG strip-rör 72 QS	1

<sup>§</sup> Beräknad för en analyskörning med 72 reaktioner.

---

## Filterspetsar

Ladda spetsställ med start med spetskårorna 1, 2 och 3 i lådan "Eluate and Reagents" (Eluat och reagenser) och ladda därefter spetsställ i spetskårorna 7, 8 och 9 i lådan "Assays" (Analyser).

<b>Förbrukningsprodukt</b>	<b>Namn på pepskärm</b>	<b>Minsta antal för 24 reaktioner</b>	<b>Minsta antal för 72 reaktioner</b>
Filterspetsar, 1 500 $\mu$ l (1024)	1 500 $\mu$ l	3	4
Filterspetsar, 200 $\mu$ l (1024)	200 $\mu$ l	5	5
Filterspetsar, 50 $\mu$ l (1024)	50 $\mu$ l	25	73
Spetsavfallspåsar	–	1	1



---

## RT-PCR på Rotor-Gene Q

Se det programspecifika protokollbladet "Settings to run *artus* QS-RGQ Kits" (Inställningar för körning av *artus* QS-RGQ-kit) på [www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgqcrkit.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgqcrkit.aspx).

### Specifika inställningar för *artus* BK Virus QS-RGQ-kitet

Rotor-Gene AssayManager ställer automatiskt in parametrarna för *artus* BK Virus QS-RGQ-kitet.

Med Rotor-Gene-program 2.1 visas de specifika inställningarna nedan.

<b>Reaktionsvolym (µl)</b>	50
<b>Håll</b>	Hålltemperatur: 95 grader Hålltid: 10 min.
<b>Cycling</b>	45 gånger 95 grader för 15 sek. 65 grader för 30 sek. 72 grader för 20 sek. Kontrollera att du har aktiverat den slutliga funktionen för 10 cykler i hybridiseringssteget.
<b>Inställning av automatisk optimering av förstärkning</b>	65 grader (Prover: Grön; IC: Orange)

## Tolkning av resultat

I detta avsnitt beskrivs tolkningen av resultat på Rotor-Gene Q. Granska även provstatusinformation från QIASymphony SP/AS-resultatfiler för analys av det kompletta arbetsflödet prov-till-resultat. Använd endast prover med ett giltigt status.

Rotor-Gene AssayManager tolkar automatiskt PCR-resultaten och ger en slutsats och ett kvantitativt resultat.

I nedanstående avsnitt beskrivs tolkning av resultat med användning av Rotor-Gene-program 2.1 eller senare.

## Signaldetektion och slutsatser – urin 400 $\mu$ l

Signal i kanalen Cycling Green	Signal i kanalen Cycling Orange	Kvantitativt resultat (kopior/ml)	Tolkning
Ja	Ja	<81,8	Giltigt resultat: BK-virus-DNA detekterat, <250 kopior/ml Kvantifiering är ej möjlig eftersom det kvantitativa resultatet är under detektionsgränsen. Det positiva resultatets reproducerbarhet är inte säkerställt.
Ja	Ja	$\geq 81,8$ och <250	Giltigt resultat: BK-virus-DNA detekterat, <250 kopior/ml Kvantifiering är ej möjlig eftersom det kvantitativa resultatet är under analysens linjära område.
Ja	Ja	$\geq 250$ och $\leq 1 \times 10^9$	Giltigt resultat: BK-virus-DNA detekterat vid den beräknade koncentrationen Kvantitativt resultat är inom analysens linjära område.
Ja	Ja	$> 1 \times 10^9$	Giltigt resultat: BK-virus-DNA detekterat, $> 1 \times 10^9$ kopior/ml Kvantifiering är ej möjlig eftersom det kvantitativa resultatet är över analysens linjära område.*
Nej	Ja	–	Giltigt resultat: Inget BK-virus-DNA kan detekteras. <sup>†</sup>
Nej	Nej	–	Ogiltigt resultat: Det går inte att komma fram till något resultat. <sup>‡</sup>

\* Om kvantifiering önskas ska provet spädas med BK-virusfri urin och ombearbetas. Multiplicera det kvantitativa resultatet från det ombearbetade provet med spädningsfaktorn.

<sup>†</sup> Om  $C_T$ -värdet för den interna kontrollen för ett negativt prov är mer än 3 cykler högre än  $C_T$ -värdet för den interna kontrollen av kontrollen utan mall i körningen ( $C_{T \text{ IC-prov}} - C_{T \text{ IC NTC}} > 3$ ), ska provet betraktas som ogiltigt. Det går inte att komma fram till några resultat.

<sup>‡</sup> Information om felkällor och deras lösning kan du hitta i "Troubleshooting guide" (Felsökningshandboken) i *artus* Handboken till BK Virus QS-RGQ-kitet (*artus BK Virus QS-RGQ Kit Handbook*).

---

## Tröskelinställning för PCR-analysen

De optimala tröskelinställningarna för en viss kombination av Rotor-Gene Q-instrument och *artus* QS-RGQ-kitet ska fastställas empiriskt genom testning av varje enskild kombination, då detta är ett relativt värde som beror på det övergripande diagnostiska arbetsflödet. Tröskeln kan ställas in på ett preliminärt värde av 0,04 för analysen av den första PCR-körningen, men detta värde ska finjusteras genom komparativ analys av följande körningar i arbetsflödet. Tröskeln ska ställas in manuellt strax över bakgrundssignalen från de negativa kontrollerna och negativa proverna. Det genomsnittliga tröskelvärdet som beräknas genom dessa experiment kommer sannolikt att fungera för de flesta av de kommande körningarna, men användaren måste inte desto mindre granska det genererade tröskelvärdet regelbundet. Tröskelvärdet ligger oftast inom området 0,03–0,05 och ska rundas av till högst tre decimaler.

## Kvantifiering

Kvantifieringsstandarderna (BK Virus RG QS 1–4) i *artus* BK Virus QS-RGQ-kitet behandlas som tidigare renade prover och samma volym används (15 µl). Om du vill framställa en standardkurva på Rotor-Gene Q-instrument, måste du använda alla 4 kvantifieringsstandarderna och definiera dessa i dialogrutan "Edit Samples" (Redigera prover) på Rotor-Gene Q-instrumentet som standarder med de specificerade koncentrationerna (se användarhandboken till instrumentet).

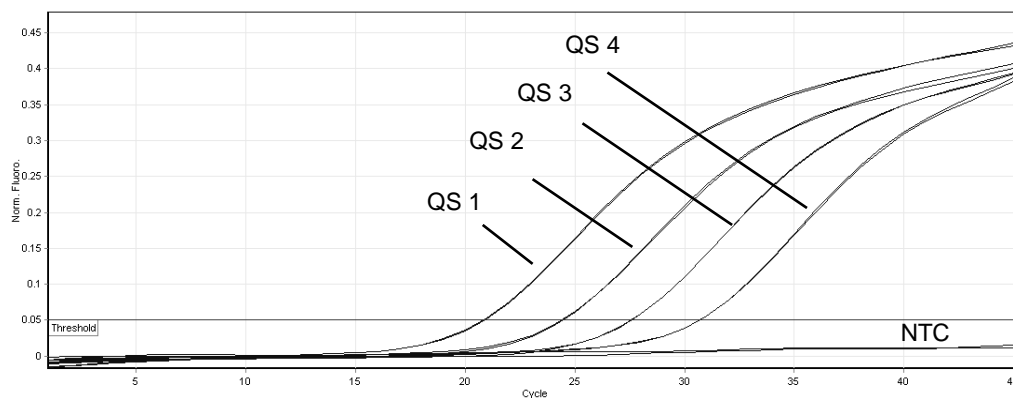
**Obs!** Kvantifieringsstandarderna definieras som kopior/µl. Följande ekvation måste användas för att omvandla de fastställda värdena med hjälp av standardkurvan till kopior/ml av provmaterial:

$$\text{Resultat (kopior/ml)} = \frac{\text{Resultat (kopior/}\mu\text{l)} \times \text{inledande elueringsvolym (90 }\mu\text{l)}^*}{\text{Provolym (ml)}}$$

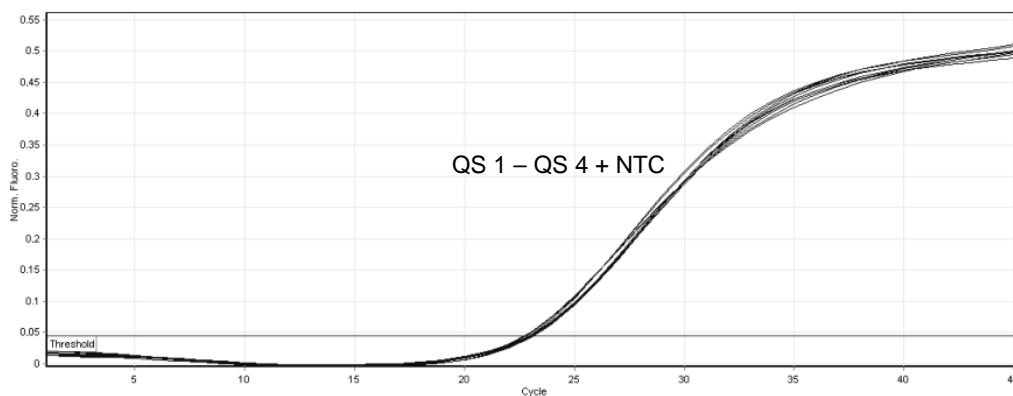
Principiellt ska den inledande provvolymen ifyllas i ekvationen ovan. Tag hänsyn till denna när provvolymen har förändrats före extraheringen av nukleinsyra (till exempel reduktion av volymen genom centrifugering eller ökning av volymen genom att tillsätta den volym som krävs för isoleringen).

\* Beräkningen baseras på de inledande elueringsvolymerna (90 µl).

## Exempel på positiva och negativa PCR-reaktioner



Detektion av kvantifieringsstandarderna (BK Virus RG QS 1-4) i fluorescenskanalen Cycling Green. NTC: Kontroll utan mall (negativ kontroll).



Detektion av den interna kontrollen (IC) i fluorescenskanalen Cycling Orange med samtidig amplifiering av kvantifieringsstandarderna (BK Virus RG QS 1-4). NTC: Kontroll utan mall (negativ kontroll).

---

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler: se respektive QIAGEN-kithandbok eller användarhandbok. QIAGEN-kithandböcker och användarhandböcker finns att tillgå på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan beställas från QIAGEN teknisk support eller från lokal återförsäljare.

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

© 2012 QIAGEN, med ensamrätt.

[www.qiagen.com](http://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