

QIASymphony[®] RGQ-applikasjonsark:

QIASymphony RGQ-applikasjon artus[®] BK Virus QS-RGQ-sett (prøvetype: urin, 800 µl)



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-sett, versjon 1, REF 4514363
Validert prøvemateriale	Urin
Rensing foran	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi-sett (kat.nr. 937055)
Prøvevolum (inkludert overflødig volum)	1000 µl
Analyseparametersett	artus_BKV_urine800_V4
Standard analysekontrollsett	Complex800_V6_DSP_artus_BKV
Elueringsvolum	60 µl
Nødvendig programvareversjon	Versjon 4.0 eller høyere
Hovedblandingsvolum	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 QIASymphony AS.



Mai 2012

Sample & Assay Technologies

Materialer som er nødvendige, men som ikke medfølger

Rensesett	■ QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi-sett) (kat.nr. 937055)
Adaptore for QIASymphony SP	■ Elution Microtube Rack QS (Elueringsmikrorørstativ QS) (kjøleadapter, EMT, v2, Qsym, kat.nr. 9020730) ■ Tube Insert 3B (Rørinlegg 3B) (innlegg, 2,0 ml v2, prøvevogn (24), Qsym, kat.nr. 9242083)
Forbruksvarer for QIASymphony SP	■ Sample Prep Cartridges, 8-well (prøveklargjøringskassetter, 8-brønns) (kat.nr. 997002) ■ 8-Rod Covers (8-stangsdeksler) (kat.nr. 997004) ■ Filter-Tips, 1500 μ l (filterspisser, 1500 μ l) (kat.nr. 997024) ■ Filter-Tips, 200 μ l (filterspisser, 200 μ l) (kat.nr. 990332) ■ Elution Microtubes CL (elueringsmikrorør CL) (kat.nr. 19588) ■ Tip disposal bags (poser for engangsspisser) (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	■ Reagent holder 1 QS (Reagensholder 1 QS) (kjøleadapter, reagensholder 1, Qsym, kat.nr. 9018090) ■ Reagent holder 2 QS (Reagensholder 2 QS) (kjøleadapter, reagensholder 2, Qsym, kat.nr. 9018089) ■ RG Strip Tubes 72 QS (RG-strimmelrør 72 QS) (kjøleadapter, RG-strimmelrør 72, Qsym, kat.nr. 9018092)

Forbruksvarer for QIASymphony AS	<ul style="list-style-type: none"> ■ 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, 1500 μl (Filterspisser, 1500 μl) (kat.nr. 997024) ■ Filter-Tips, 200 μl (Filterspisser, 200 μl) (kat.nr. 990332) ■ Filter-Tips, 50 μl (Filterspisser, 50 μl) (kat.nr. 997120) ■ Tip disposal bags (Poser for engangsspisser) (kat.nr. 9013395)
For prøveklargjøring (urin)	<ul style="list-style-type: none"> ■ Buffer ATL, GPR (kat.nr. 939016)

* Vennligst spør om tilgjengelighet.

Håndtering og oppbevaring av prøver

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

* 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)†
Basis-bærer-RNA (CARRIER)	3	3
Intern kontroll‡	9	9
Buffer AVE	108	108
Endelig volum per prøve (unntatt 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 reagenskasset (RC) for opptil 48 prøver eller 2 nye reagenskassetter (RC) for inntil 96 prøver
Posisjon B1	Buffer ATL (ATL)
Spisstativholderposisjoner 1–17	Last tilstrekkelige stativer med engangsfilttertupper, 200 μ l og 1500 μ l (se "Nødvendig plastvare for 1–4 prøvekjøringer" side 6)
Enhetsboksholderposisjon 1-4	Last enhetsbokser som inneholder prøveklargjøringskassetter og 8-stangdeksler (se "Nødvendig plastvare for 1–4 prøvekjøringer" side 6)

Skuffen "Sample" (Prøve)

Prøvetype	Urin
Prøvevolum (inkludert overflødig volum)	1000 μ l
Prøverør	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)
Innlegg	Tube Insert 3B (Rørinlegg 3B) (kat.nr. 9242083)

Nødvendig plastvare for 1–4 prøvekjøringer

	Ett parti, 24 prøver*	To partier, 48 prøver*	Tre partier, 72 prøver*	Fire partier, 96 prøver*
Filterspisser til engangsbruk, 200 μl[†]	34	60	86	112
Filterspisser til engangsbruk, 1500 μl[†]	123	205	295	385
Prøveklargjøringskassetter[§]	18	36	54	72
8-stangdeksler[¶]	3	6	9	12

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

† Det finnes 32 filterspisser/spisstativ.

‡ Antall nødvendige filterspisser inkluderer filterspisser for 1 inventarskanning per reagenskasset.

§ Det finnes 28 prøveklargjøringskassetter/enhetsboks.

¶ Det finnes tolv 8-stangdeksler/enhetsboks.

Oppsett av QIASymphony AS

Forbruksartikler

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

Forbruksartikler	Navn på berøringsskjermen	Før bruk med adapter/reagensholder
Strimmelrør og lokk, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *strimmelrør 0,1	RG-strimmelrør 72 QS
Rør, koniske, 2 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkir‡	Reagensholder 1 QS Reagensholder 2 QS
Rør, konisk, 5 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkir‡	Reagensholder 1 QS Reagensholder 2 QS
Reagensflasker, 30 ml, Qsym AS (50)*	QIA#997108 *flaske 30 ml‡	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 "Materialer som er nødvendige, men som ikke medfølger", på side 2, brukes.

‡ Suffikset "(m)" på berøringsskjermen 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 programspesifikke protokollarket "Settings to run *artus* QS-RGQ Kits" (Innstillinger for å kjøre *artus* QS-RGQ-sett) på www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgqcrkit.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
Holdning	Holdetemperatur: 95 grader Holdetid: 10 min
Sykling	45 ganger 95 grader i 15 sek 65 grader i 30 sek 72 grader i 20 sek Sørg for 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 800 µl

Signal i kanalen Cycling Green (Syklisk grønn)	Signal i kanalen Cycling Orange (Syklisk oransje)	Kvantitativt resultat (kopier/ml)	Tolkning
Ja	Ja	<78,5	Gyldig resultat: BK-virus DNA påvist, <100 kopier/ml Kvantitering er ikke mulig siden det kvantitative resultatet er under deteksjonsgrensen. Reproduserbarhet av det positive resultatet er ikke garantert.
Ja	Ja	≥78,5 og <100	Gyldig resultat: BK-virus DNA påvist, <100 kopier/ml Kvantitering er ikke mulig siden det kvantitative resultatet er under analysens lineære område.
Ja	Ja	≥100 og ≤1 x 10 ⁹	Gyldig resultat: BK-virus DNA påvist ved den kalkuleerte 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, må prøven fortynnes med urin uten BK-virus og behandles 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 ugyldig. 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 kjøringene, 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).

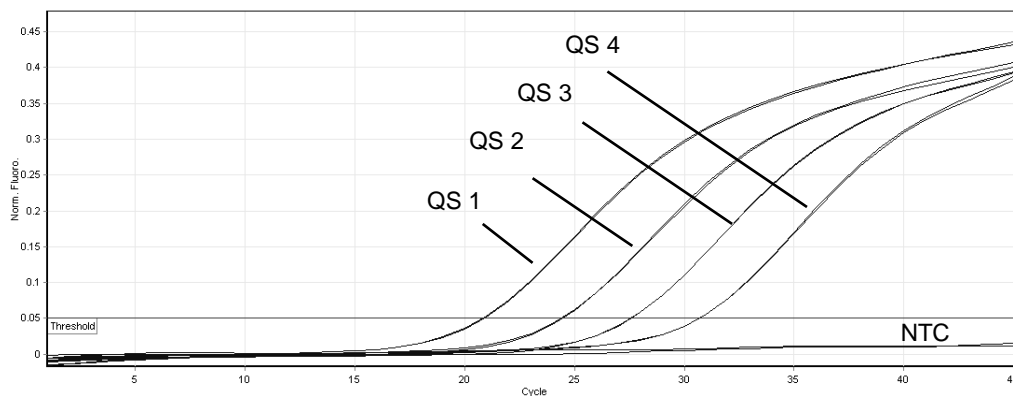
Merk: Kvantiteringsstandardene defineres som kopier/µl. Den følgende ligningen må brukes for å konvertere de verdiene som fastsettes ved bruk av standardkurven til kopier/ml av prøvemateriale.

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

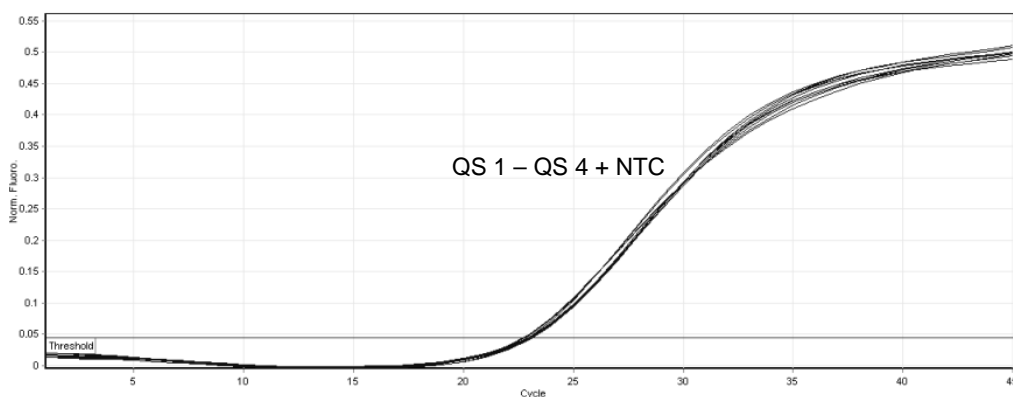
Som en prinsipp sak skal det innledende prøvevolumet oppgis i ligningen ovenfor. Dette må betraktes når prøvevolumet har blitt endret forut for nukleinsyreekstraheringen (f.eks. redusere volumet gjennom sentrifugering eller øking av volumet ved å legge til volumet som kreves for isolasjonen).

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

Eksempler på positive og negative PCR-reaksjoner



Påvisning av kvantiteringsstandardene (BK-virus RG QS 1–4) i fluorescenskanalen Cycling Green (Syklisk grønn). NTC: Ingen malkontroll (negativ kontroll).



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

Hvis du ønsker oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, kan du se i den aktuelle håndboken for QIAGEN-settet eller i bruksanvisningen. Håndbøker og bruksanvisninger for QIAGEN-sett er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan leveres fra QIAGENs tekniske tjenester eller den lokale distributøren.

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

© 2012 QIAGEN, med enerett.

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