

Toepassingsblad QIASymphony® RGQ

QIASymphony RGQ-toepassing artus® BK Virus QS-RGQ-kit (monstertype: urine, 800 µl)

IVD

CE



Controleer voordat u een test gaat uitvoeren of er nieuwe (herziene) elektronische bijsluiters beschikbaar zijn op www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx. De status van de huidige herziening is aangegeven door middel van de uitgiftedatum (in de vorm maand/jaar).

Algemene informatie

Kit	artus BK Virus QS-RGQ-kit, versie 1, REF 4514363
Gevalideerd monstermateriaal	Urine
'Front-end'-zuivering	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (QIASymphony DSP virus/pathogenen-midikit) (cat. nr. 937055)
Monstervolume (inclusief overmaat volume)	1000 µl
Parameterset voor de assay	artus_BKV_urine800_V4
Standaard assaycontroleset	Complex800_V6_DSP_artus_BKV
Elutievolume	60 µl
Vereiste softwareversie	Versie 4.0 of hoger
Volume Mastermix	10 µl
Volume template	15 µl
Aantal reacties	6–24*
Duur van de run op AS-module	Voor 6 reacties: ongeveer 8 minuten Voor 72 reacties: ongeveer 35 minuten

* Voor assay-setup voor BK-virus kunnen tot 216 (9 x 24) assays in één run worden opgezet op de QIASymphony AS.

Mei 2012



Sample & Assay Technologies

Benodigde maar niet meegeleverde materialen

Zuiveringskit	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (QIASymphony DSP virus/pathogenen-midikit) (cat. nr. 937055)
Adapters voor de QIASymphony SP	■	Elution Microtube Rack QS (elutiemicrobuisenrek QS) (koeladapter, EMT, v2, Qsym, cat. nr. 9020730)
	■	Tube Insert 3B (Insert, 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym, cat. no. 9242083) (buisinzet 3B (inzet, 2,0 ml v2, monsterdrager (24), Qsym, cat. nr. 9242083))
Verbruiksartikelen voor de QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges, 8-well (monsterbereidingscartridges, 8 putjes) (cat. nr. 997002)
	■	8-Rod Covers (8-staafhulzen) (cat. nr. 997004)
	■	Filter-Tips, 1 500 μ l (filtertips, 1 500 μ l, cat. nr. 997024)
	■	Filter-Tips, 200 μ l (filtertips, 200 μ l, cat. nr. 990332)
	■	Elution Microtubes CL (elutiemicrobuisjes CL, cat. nr. 19588)
	■	Tip disposal bags (afvalzakken voor tips, cat. nr. 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H (Microbuisjes 2,0 ml type H) of Micro tubes 2.0 ml Type I (Microbuisjes 2,0 ml type I) (Sarstedt, catalogusnrs. 72.693 en 72.694, www.sarstedt.com) voor gebruik met monsters en interne controles
Adapters en reagenshouders voor de QIASymphony AS	■	Reagent holder 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, cat. no. 9018090) (reagenshouder 1 QS (koeladapter, reagenshouder 1, Qsym, cat. nr. 9018090))
	■	Reagent holder 2 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 2, Qsym, cat. no. 9018089) (reagenshouder 2 QS) (koeladapter, reagenshouder 2, Qsym, cat. nr. 9018089))
	■	RG Strip Tubes 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, cat. no. 9018092 (RG buisjesstrips 72 QS (koeladapter, RG buisjesstrips 72, Qsym, cat. nr. 9018092))

Verbruiksartikelen voor de QIASymphony AS	<ul style="list-style-type: none"> ■ Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (buisjesstrips met doppen, 0,1 ml) (cat. nr. 981103) ■ Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (conische buisjes, 2,0 ml, Qsym AS) (cat. nr. 997102)* of Micro tubes 2.0 ml Type I (microbuisjes 2,0 ml Type I) (Sarstedt, cat. nr. 72.694.005) ■ Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (conisch buisje, 5 ml, Qsym AS) (cat. nr. 997104)* of Tubes with flat base from PP (PP buisjes met vlakke basis) (Sarstedt, cat. nr. 60.558.001) ■ Reagent Bottles, 30 ml, Qsym AS (reagensflessen, 30 ml, Qsym AS) (cat. nr. 997108) ■ Elution Microtubes CL (elutiemicrobuisjes CL, cat. nr. 19588) ■ Filter-Tips, 1500 μl (filtertips, 1500 μl, cat. nr. 997024) ■ Filter-Tips, 200 μl (filtertips, 200 μl, cat. nr. 990332) ■ Filter-Tips, 50 μl (filtertips, 50 μl, cat. nr. 997120) ■ Tip disposal bags (afvalzakken voor tips, cat. nr. 9013395)
Voor monsterbereiding (urine)	■ Buffer ATL, GPR (cat. nr. 939016)

* Vraag naar beschikbaarheid.

Opslag en verwerking van monsters

Monsterafname	Humane urine
Monstertransport	<p>Spatvrij transport</p> <p>Verzending binnen 6 uur</p> <p>Postverzending volgens wettelijke instructies voor transport van pathogeen materiaal*</p>
Monsterbereiding	<p>Zorg dat er geen schuim wordt gevormd in of op de monsters.</p> <p>Monsters moeten vóór het starten van de run op kamertemperatuur (15–25 °C) worden gebracht.</p>

* International Air Transport Association (IATA). Dangerous Goods Regulations (Regelgeving voor het vervoer van gevaarlijke stoffen door de lucht).

Procedure

Bereiding van carrier-RNA en toevoeging van de interne controle aan de monsters

Bij het gebruik van QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi-kit in combinatie met de *artus* BK Virus QS-RGQ-kit is het nodig om de interne controle (BK Virus RG IC) op te nemen in de zuiveringsprocedure om de efficiëntie van de monsterbereiding en de downstream assay te bewaken.

Interne controles moeten worden toegevoegd met mengsel van carrier-RNA (CARRIER) en Buffer AVE (AVE). Het totale volume van het mengsel van de interne controle, carrier-RNA (CARRIER) en Buffer AVE (AVE) blijft 120 μ l.

In de tabel wordt de toevoeging van interne controle aan de isolatie weergegeven, in een verhouding van 0,1 μ l per 1 μ l elutievolume. Wij raden aan om voor elke run vlak voor gebruik nieuwe mengsels te bereiden.

Component	Volume (μ l) (Sarstedt®-buisjes)*	Volume (μ l) (BD™-buisjes)†
Stockoplossing carrier-RNA (CARRIER)	3	3
Interne controle‡	9	9
Buffer AVE	108	108
Eindvolume per monster (exclusief dood volume)	120	120
Totaal volume voor n monsters	(n x 120) + 360§	(n x 120) + 600¶

* Micro tubes 2.0 ml Type H (Microbuisjes 2,0 ml type H) en Micro tubes 2.0 ml Type I (Microbuisjes 2,0 ml type I) Sarstedt, catalogusnr. 72.693 en 72.694.

† Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Polystyreen rondbodembuizen 14 ml, 17 x 100 mm) (Becton Dickinson, cat. nr. 352051).

‡ De berekening van de hoeveelheid interne controle is gebaseerd op de aanvankelijke elutievolumes (90 μ l). Extra dood volume is afhankelijk van het gebruikte type monsterbuisje.

§ Er is een volume interne-controlemengsel nodig dat overeenkomt met 3 extra monsters (d.w.z. 360 μ l). Gebruik geen totaal volume groter dan 1,92 ml (overeenkomend met een maximum van 13 monsters). Deze volumes zijn specifiek voor Micro tubes 2.0 ml Type H (Microbuisjes 2,0 ml type H) en Micro tubes 2.0 ml Type I (Microbuisjes 2,0 ml type I), Sarstedt, catalogusnr. 72.693 en 72.694).

¶ Er is een volume interne-controlemengsel nodig dat overeenkomt met 5 extra monsters (d.w.z. 600 μ l). Gebruik geen totaal volume groter dan 13,92 ml (overeenkomend met een maximum van 111 monsters). Deze volumes zijn specifiek voor polystyreen rondbodembuizen 14 ml, 17 x 100 mm Becton Dickinson, cat. nr. 352051).

Instellen QIASymphony SP

De lade 'Waste' (Afvallade)

Verpakkingsdooshouder 1-4	Lege verpakkingsdozen
Afvalzakhouder	Afvalzak
Houder afvalvloeistoffenfles	Leeg en installeer afvalvloeistoffenfles

De lade 'Eluate' (Eluaatlade)

Elutierek	Gebruik sleuf 1, de koelpositie
Elutievolumen*	Voorgeselecteerd elutievolumen 60 µl Aanvankelijk elutievolumen: 90 µl

* Het elutievolumen is voorgeselecteerd voor het protocol. Dit is het minimaal toegankelijke eluaatvolumen in de laatste elutiebus. Het aanvankelijke volumen elutie-oplossing is nodig om er zeker van te zijn dat het daadwerkelijke eluaatvolumen gelijk is aan het voorgeselecteerde volumen.

De lade 'Reagents and Consumables' (Reagentia- en verbruiksartikelenlade)

Positie A1 en/of A2	Laad 1 reagenscartridge (RC) voor maximaal 48 monsters of 2 nieuwe reagenscartridges (RC) voor maximaal 96 monsters
Positie B1	Buffer ATL (ATL)
Tiprekhouder posities 1-17	Laad voldoende rekken met disposable filtertips, 200 µl en 1500 µl (zie 'Benodigde plastic artikelen voor 1-4 monsterbatches', pagina 6)
Verpakkingsdooshouder positie 1-4	Laad verpakkingsdozen met monsterbereidingscartridges en 8-staafhulzen (zie 'Benodigde plastic artikelen voor 1-4 monsterbatches', pagina 6)

De lade 'Sample' (Monsterlade)

Monstertype	Urine
Monstervolume (inclusief overmaat volume)	1000 μ l
Monsterbuizen	Micro tubes 2.0 ml Type H (Microbuisjes 2,0 ml type H) of Micro tubes 2.0 ml Type I (Microbuisjes 2,0 ml type I) (Sarstedt, catalogusnrs. 72.693 en 72.694)
Inzet	Tube Insert 3B (buisinzet 3B) (cat. nr. 9242083)

Benodigde plastic artikelen voor 1–4 monsterbatches

	Eén batch, 24 monsters*	Twee batches, 48 monsters*	Drie batches, 72 monsters*	Vier batches, 96 monsters*
Disposable filtertips, 200 μl^{†‡}	34	60	86	112
Disposable filtertips, 1500 μl^{†‡}	123	205	295	385
Monsterbereidingscartridges[§]	18	36	54	72
8-staafhulzen[¶]	3	6	9	12

* Voor het gebruik van meer dan één interne-controlebuis per batch en het uitvoeren van meer dan één voorraadscan zijn extra disposable filtertips nodig.

† Er zitten 32 filtertips in een filtertiprek.

‡ Het aantal benodigde filtertips is inclusief tips voor 1 voorraadscan per reagenscartridge.

§ Er zitten 28 monsterbereidingscartridges in een verpakkingsdoos.

¶ Er zitten twaalf 8-staafhulzen in een verpakkingsdoos.

Instellen QIASymphony AS

Verbruiksartikelen

Tijdens het instellen worden de juiste posities voor alle verbruiksartikelen aangegeven op het aanraakscherm van de QIASymphony AS-module.

Verbruiksartikelen	Naam op aanraakscherm	Voor gebruik met adapter/reagenshouder
Stripbuisjes en doppen, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG stripbuisjes 72 QS
Buisjes, conisch, 2 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt‡	Reagenshouder 1 QS Reagenshouder 2 QS
Buisje, conisch, 5 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt‡	Reagenshouder 1 QS Reagenshouder 2 QS
Reagensflessen, 30 ml, Qsym AS (50)*	QIA#997108 *Bottle 30ml‡	Reagenshouder 2 QS
Elutiemicrobuisjes CL (24 × 96)	QIA#19588 * EMTR	Elutiemicrobuizenrek QS

* Voor mastermix-componenten, door het systeem bereide mastermix, assaystandaarden en assaycontroles.

† Als alternatief kunnen de Sarstedt-buisjes beschreven in 'Benodigde maar niet meegeleverde materialen', pagina 2 worden gebruikt.

‡ Het achtervoegsel '(m)' op het aanraakscherm geeft aan dat de berekeningen van het vloeistofniveau voor het desbetreffende buisje geoptimaliseerd zijn voor reagentia die een holle meniscus vormen.

Adapters en reagenshouders

Rek/reagenshouder	Naam	Benodigd aantal [§]
Monsterrek	Elutiemicrobuizenrek QS	1
Reagenshouders	Reagenshouder 1 QS	1
Assayrekken	RG stripbuisjes 72 QS	1

[§] Berekend voor een assayrun met 72 reacties.

Filtertips

Laad de tiprekken beginnend met tipsleuven 1, 2 en 3 in de lade 'Eluate and Reagents' (Eluaat en reagentia) en vervolgens 7, 8 en 9 in de lade 'Assays'.

Verbruiksartikel	Naam op aanraakscherm	Minimumaantal voor 24 reacties	Minimumaantal voor 72 reacties
Filtertips, 1500 μ l (1024)	1500 μ l	3	4
Filtertips, 200 μ l (1024)	200 μ l	5	5
Filtertips, 50 μ l (1024)	50 μ l	25	73
Afvalzakken voor tips	–	1	1

RT-PCR op de Rotor-Gene Q

Raadpleeg het softwarespecifieke protocolblad 'Settings to run *artus* QS-RGQ Kits' (Instellingen voor het uitvoeren van *artus* QS-RGQ-kits) op www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgqcrkit.aspx.

Specifieke instellingen voor de *artus* BK Virus QS-RGQ-kit

De Rotor-Gene AssayManager stelt de parameters voor de *artus* BK Virus QS-RGQ-kit automatisch in.

De specifieke instellingen voor Rotor-Gene-software 2.1 worden hieronder vermeld.

Reactievolume (μl)	50
Vasthouden	Vasthoudtemperatuur: 95 graden Vasthoudtijd: 10 min.
Cyclus	45 keer 95 graden gedurende 15 s 65 graden gedurende 30 s 72 graden gedurende 20 s Vergeet niet in de hybridisatiestap de touchdown-functie te activeren voor 10 cycli.
Instelling optimalisatie automatische versterking	65 graden (Monsters: Green; IC: Orange)

Interpretatie van de resultaten

In dit gedeelte wordt beschreven hoe de resultaten van de Rotor-Gene Q moeten worden geïnterpreteerd. Bekijk ook de informatie over de monsterstatus in de resultatenbestanden van de QIASymphony SP/AS voor analyse van de gehele workflow van monster tot resultaat. Alleen monsters met een status 'Valid' (geldig) mogen worden gebruikt.

De Rotor-Gene AssayManager interpreteert de PCR-resultaten automatisch en geeft een conclusie en een kwantitatief resultaat.

In de volgende gedeeltes wordt beschreven hoe de resultaten moeten worden geïnterpreteerd met de Rotor-Gene-software 2.1 of hoger.

Signaaldetectie en conclusies — urine 800 µl

Signaal in kanaal Cycling Green	Signaal in kanaal Cycling Orange	Kwantitatief resultaat (kopieën/ml)	Interpretatie
Ja	Ja	< 78,5	Geldig resultaat: BK-virus-DNA gedetecteerd, < 100 kopieën/ml Kwantificatie niet mogelijk omdat het kwantificatieresultaat lager is dan de detectielimiet. Reproduceerbaarheid van het positieve resultaat is niet gegarandeerd.
Ja	Ja	≥ 78,5 en < 100	Geldig resultaat: BK-virus-DNA gedetecteerd, < 100 kopieën/ml Kwantificatie niet mogelijk omdat het kwantificatieresultaat lager is dan het lineaire bereik van de assay.
Ja	Ja	≥ 100 en ≤ 1 x 10 ⁹	Geldig resultaat: BK-virus-DNA gedetecteerd in de berekende concentratie Kwantitatief resultaat valt binnen het lineaire bereik van de assay.
Ja	Ja	> 1 x 10 ⁹	Geldig resultaat: BK-virus-DNA gedetecteerd, > 1 x 10 ⁹ kopieën/ml Kwantificatie niet mogelijk omdat het kwantitatieve resultaat hoger is dan het lineaire bereik van de assay.*
Nee	Ja	–	Geldig resultaat: Geen detecteerbaar BK-virus-DNA.†
Nee	Nee	–	Ongeldig resultaat: Er kan geen resultaat worden vastgesteld.‡

* Verdun het monster met urine zonder BK-virus en verwerk opnieuw indien kwantificatie gewenst is. Vermenigvuldig het kwantitatieve resultaat van het herverwerkte monster met de verdunningsfactor.

† Indien de C_T-waarde voor de interne controle van een negatief monster meer dan 3 cycli hoger is dan de C_T-waarde voor de interne controle van de NTC in de run (C_T IC Sample – C_T IC NTC > 3), moet het monster als ongeldig worden beschouwd. Er kan geen resultaat worden vastgesteld.

‡ Raadpleeg de Handleiding voor de artus BK Virus QS-RGQ-kit (*artus BK Virus QS-RGQ Kit Handbook*) voor informatie over de oorzaken van fouten en hun oplossing.

Drempelinstelling voor de PCR-analyse

De optimale drempelinstellingen voor een gegeven combinatie van een Rotor-Gene Q-apparaat en een *artus* QS-RGQ-kit moeten op empirische wijze worden ingesteld door elke afzonderlijke combinatie te testen, omdat het om relatieve waarden gaat die afhankelijk zijn van de gehele diagnostische workflow. De drempel kan voor de analyse van de eerste PCR-run worden ingesteld op een voorlopige waarde van 0,04, maar deze moet worden fijngesteld in een vergelijkende analyse van de volgende runs van de workflow. De drempel moet handmatig net boven het achtergrondsignaal van de negatieve controles en negatieve monsters worden ingesteld. De gemiddelde drempelwaarde die op basis van deze experimenten wordt berekend, is waarschijnlijk geschikt voor de meeste toekomstige runs; de gebruiker moet de gegenereerde drempelwaarde echter regelmatig opnieuw beoordelen. De drempelwaarde valt gewoonlijk binnen het bereik van 0,03–0,05 en moet worden afgerond op niet meer dan drie decimalen.

Kwantificatie

De kwantificatiestandaarden (BK Virus RG QS 1–4) in de *artus* BK Virus QS-RGQ-kit worden op dezelfde wijze behandeld als vooraf gezuiverde monsters en hetzelfde volume wordt gebruikt (15 µl). Om een standaardcurve te genereren op Rotor-Gene Q-apparaten dienen alle 4 de kwantificatiestandaarden te worden gebruikt en in het dialoogvenster 'Edit Samples' (Monsters bewerken) van het Rotor-Gene Q-apparaat te worden gedefinieerd als standaarden met de gespecificeerde concentraties (zie de gebruikershandleiding van het apparaat).

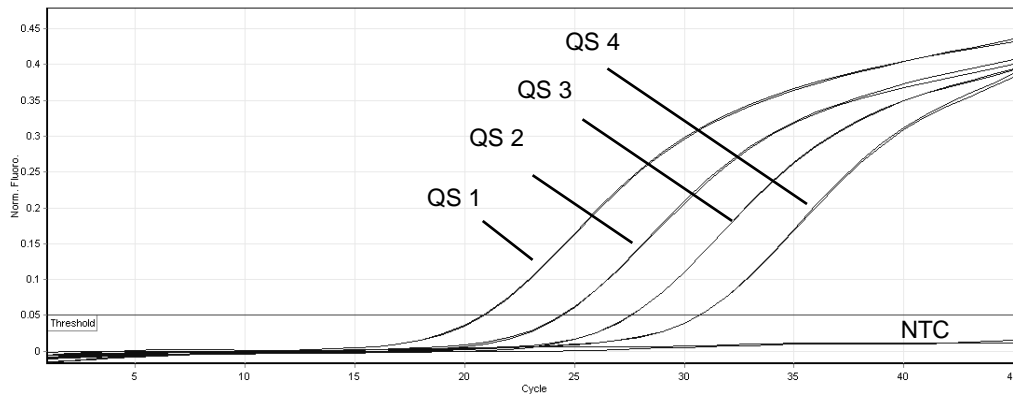
Opmerking: De kwantificatiestandaarden worden gedefinieerd als kopieën/µl. Onderstaande vergelijking moet worden gebruikt om de aan de hand van de standaardcurve bepaalde waarden om te zetten in kopieën/ml van het monstermateriaal.

$$\text{Resultaat (kopieën/ml)} = \frac{\text{Resultaat (kopieën/µl)} \times \text{aanvankelijk elutievolume (90 µl)*}}{\text{Monstervolume (ml)}}$$

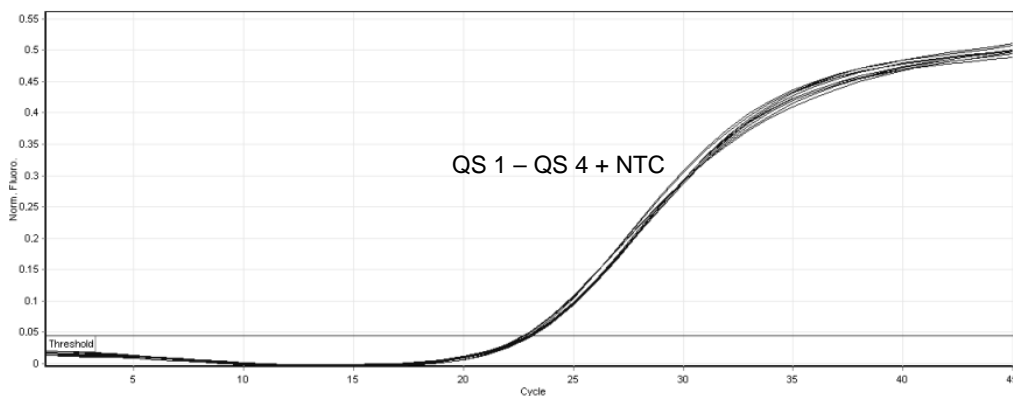
Als uitgangspunt dient het aanvankelijke monstervolume in bovengenoemde vergelijking te worden ingevoerd. Hiermee moet rekening worden gehouden wanneer het monstervolume voorafgaand aan de nucleïnezuurextractie is veranderd (bijv. verkleining van het volume door middel van centrifugeren of vergroting van het volume door aanvulling tot het voor de isolatie vereiste volume).

* De berekening is gebaseerd op de aanvankelijke elutievolumes (90 µl).

Voorbeelden van positieve en negatieve PCR-reacties



Detectie van de kwantificatiestandaarden (BK Virus RG QS 1-4) in fluorescentiekanaal Cycling Green. NTC: Controle zonder template (negatieve controle).



Detectie van de interne controle (IC) in fluorescentiekanaal Cycling Orange met gelijktijdige amplificatie van de kwantificatiestandaarden (BK Virus RG QS 1-4). NTC: Controle zonder template (negatieve controle).

Zie voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules de handleiding of gebruikershandleiding van de betreffende QIAGEN-kit. Handleidingen en gebruikershandleidingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via www.qiagen.com of kunnen worden aangevraagd bij de technische diensten van QIAGEN of bij uw plaatselijke leverancier.

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

© 2012 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

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

US = 800-426-8157



Sample & Assay Technologies