

# Scheda di Applicazione QIA Symphony® RGQ

## Applicazione QIA Symphony RGQ Kit *artus*® BK Virus QS-RGQ (tipo di campione: urina, 800 µl)



Prima di eseguire il test verificare la disponibilità di nuove revisioni delle etichette elettroniche nel sito [www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx). Lo stato della revisione è indicato dalla data di rilascio (formato: mese/anno).

### Informazioni generali

Kit	<i>artus</i> BK Virus QS-RGQ Kit, versione 1, <b>REF</b> 4514363
Campioni convalidati	Urina
Purificazione front-end	QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi) (n. cat. 937055)
Volume del campione (compreso il volume in eccesso)	1.000 µl
Set di Parametri del Test	artus_BKV_urine800_V4
Set di controllo del test predefinito	Complex800_V6_DSP_artus_BKV
Volume di eluizione	60 µl
Versione del software necessaria	Versione 4.0 o superiore
Volume miscela master	10 µl
Volume del template	15 µl
Numero di reazioni	6–24*
Durata esecuzione su modulo AS	Per 6 reazioni: circa 8 minuti Per 72 reazioni: circa 35 minuti

\* Per il setup del test per il virus BK si possono impostare fino a 216 (9 x 24) test in un unico processo sul QIA Symphony AS.



Maggio 2012

Sample & Assay Technologies

## Materiale necessario ma non fornito

Kit di purificazione	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi) (n. cat. 937055)
Adattatori per QIASymphony SP	■	Elution Microtube Rack QS (rack QS per microprovette di eluizione) (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym (adattatore di raffreddamento, EMT, v2, Qsym), n. cat. 9020730)
	■	Tube Insert 3B (Insert, 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym (inserto provetta 3B (inserto, 2,0 ml v2, portaprov. (24), Qsym), n. cat. 9242083)
Materiali di consumo per QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges, 8-well (cartucce di preparazione dei campioni, 8 pozzetti, n. cat. 997002)
	■	8-Rod Covers (coperchi per 8 barre, n. cat. 997004)
	■	Filter-Tips (puntali con filtro), 1.500 µl (n. cat. 997024)
	■	Filter-Tips (puntali con filtro), 200 µl (n. cat. 990332)
	■	Elution Microtubes CL (microprovette di eluizione CL, n. cat. 19588)
	■	Tip disposal bags (sacchetti di smaltimento dei puntali, n. cat. 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H or Micro tubes 2.0 ml Type I (Microprovette da 2,0 ml tipo H o microprovette da 2,0 ml tipo I) (Sarstedt, n. cat. 72.693 e 72.694, <a href="http://www.sarstedt.com">www.sarstedt.com</a> ) per l'uso con campioni e controlli interni
Adattatori e portareagenti per QIASymphony AS	■	Reagent holder 1 QS (portareagenti 1 QS) (Cooling Adapter, Reagent Holder 1 (adattatore di raffreddamento, portareagenti 1, Qsym), n. cat. 9018090)
	■	Reagent holder 2 QS (portareagenti 2 QS) (Cooling Adapter, Reagent Holder 2 (adattatore di raffreddamento, portareagenti 2, Qsym), n. cat. 9018089)
	■	RG Strip Tubes 72 QS (provette per strisce RG 72 QS) (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym (adattatore di raffreddamento, provette per strisce RG 72, Qsym), n. cat. 9018092)

Materiali di consumo per  
QIASymphony AS

- Strip Tubes and Caps (provette per strisce e tappi), 0,1 ml (n. cat. 981103)
- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (provette a fondo conico, 2 ml, Qsym AS) (cat. n. 997102)\* o Micro tubes 2.0 ml Type I (microprovette da 2,0 ml tipo I) (Sarstedt, cat. n. 72.694.005)
- Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (provetta a fondo conico, 5 ml, Qsym AS) (cat. n. 997104)\* o Tubes with flat base from PP (provette a fondo piatto in PP) (Sarstedt, cat. n. 60.558.001)
- Reagent Bottles, 30 ml, Qsym AS (flaconi reagenti, 30 ml, Qsym AS) (n. cat. 997108)
- Elution Microtubes CL (microprovette di eluizione CL, n. cat. 19588)
- Filter-Tips (puntali con filtro), 1500  $\mu$ l (n. cat. 997024)
- Filter-Tips (puntali con filtro), 200  $\mu$ l (n. cat. 990332)
- Filter-Tips (puntali con filtro), 50  $\mu$ l (n. cat. 997120)
- Tip disposal bags (sacchetti di smaltimento dei puntali, n. cat. 9013395)

Per la preparazione dei  
campioni (urina)

- Buffer ATL, GPR (Tampone ATL, GPR) (n. cat. 939016)

\* Consigliamo di informarsi sulla disponibilità.

## Conservazione e manipolazione dei campioni

Raccolta dei campioni	Urina umana
Trasporto dei campioni	Trasporto di materiale fragile Spedizione entro 6 ore Spedizione per posta in conformità alle istruzioni legali per il trasporto di materiali patogeni*
Preparazione dei campioni	Evitare la formazione di schiuma all'interno o sui campioni. I campioni devono essere termostatati a temperatura ambiente (15–25°C) prima di avviare la procedura.

\* International Air Transport Association (IATA) (Associazione Internazionale per il Trasporto Aereo).  
Dangerous Goods Regulations (Regolamenti relativi alle merci pericolose).

## Procedura

### Preparazione del carrier RNA e aggiunta del controllo interno ai campioni

L'utilizzo dei kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi in combinazione il kit *artus* BK Virus QS-RGQ richiede l'inserimento del controllo interno (BK Virus RG IC) nella procedura di purificazione per monitorare l'efficienza della preparazione dei campioni e del test a valle.

I controlli interni vanno aggiunti alla miscela di carrier RNA (CARRIER)–tampone AVE (AVE); il volume totale della miscela controllo interno–carrier RNA (CARRIER)–tampone AVE (AVE) deve rimanere di 120  $\mu$ l.

La tabella descrive l'aggiunta del controllo interno all'isolamento nel rapporto di 0,1  $\mu$ l per 1  $\mu$ l di volume di eluizione. Si consiglia di preparare miscele fresche per ogni processo di analisi subito prima dell'uso.

Componente	Volume ( $\mu$ l) (provette Sarstedt®)*	Volume ( $\mu$ l) (provette BD™)†
Soluzione madre con carrier RNA (CARRIER)	3	3
Controllo interno‡	9	9
Tampone AVE	108	108
<b>Volume finale per campione (volume morto escluso)</b>	<b>120</b>	<b>120</b>
<b>Volume totale per n campioni</b>	<b>(n x 120) + 360§</b>	<b>(n x 120) + 600¶</b>

\* Microprovette da 2,0 ml tipo H e microprovette da 2,0 ml tipo I (Sarstedt, n. cat. 72.693 e 72.694).

† Provette da 14 ml, 17 x 100 mm, in polistirene a fondo tondo (Becton Dickinson, n. cat. 352051).

‡ Il calcolo della quantità di controllo interno è basato sui volumi di eluizione iniziali (90  $\mu$ l). Il volume addizionale a vuoto dipende dal tipo di provetta per campione utilizzata.

§ È necessaria una miscela di controllo interno corrispondente a 3 campioni supplementari (ossia 360  $\mu$ l). Non riempire per un volume totale superiore a 1,92 ml (corrispondente ad un massimo di 13 campioni). Questi volumi sono specifici delle microprovette da 2,0 ml tipo H e microprovette da 2,0 ml tipo I (Sarstedt, n. cat. 72.693 e 72.694).

¶ È necessaria una miscela di controllo interno corrispondente a 5 campioni supplementari (ossia 600  $\mu$ l). Non riempire per un volume totale superiore a 13,92 ml (corrispondente ad un massimo di 111 campioni). Questi volumi sono specifici delle provette da 14 ml, 17 x 100 mm, in polistirene a fondo tondo (Becton Dickinson, n. cat. 352051).

---

## Setup di QIA Symphony SP

### Cassetto "Waste" (Materiali di scarto)

<b>Supporto per box unitari 1-4</b>	Box unitari vuoti
<b>Supporto per sacchetto dei materiali di scarto</b>	Sacchetto dei materiali di scarto
<b>Supporto per contenitore dei residui liquidi</b>	Svuotare e installare il contenitore dei materiali di scarto liquidi

### Cassetto "Eluate" (Eluito)

<b>Rack per eluizione</b>	Utilizzare l'apertura 1, posizione di raffreddamento
<b>Volume di eluizione*</b>	Volume di eluizione preselezionato: 60 $\mu$ l Volume di eluizione iniziale: 90 $\mu$ l

\* Il volume di eluizione è preselezionato per il protocollo. Si tratta del volume accessibile minimo di eluito nella provetta di eluizione finale. Il volume iniziale della soluzione di eluizione è necessario per garantire che il volume effettivo di eluito sia identico al volume preselezionato.

### Cassetto "Reagents and Consumables" (Reagenti e materiali di consumo)

<b>Posizione A1 e/o A2</b>	Caricare 1 cartuccia reagenti (RC) per max. 48 campioni o 2 cartucce reagenti nuove (RC) per max. 96 campioni
<b>Posizione B1</b>	Tampone ATL (ATL)
<b>Supporto per rack per puntali posizioni 1-17</b>	Caricare un sufficiente numero di rack per puntali con filtro monouso, 200 $\mu$ l e 1500 $\mu$ l (vedere "Plastica da laboratorio necessaria per lotti da 1-4 campioni", pag. 6)
<b>Supporto per box unitari posizioni 1-4</b>	Caricare box unitari contenenti cartucce per la preparazione dei campioni e coperchi per 8 barre (vedere "Plastica da laboratorio necessaria per lotti da 1-4 campioni", pag. 6)

## Cassetto "Sample" (Campione)

<b>Tipo di campione</b>	Urina
<b>Volume del campione (compreso il volume in eccesso)</b>	1.000 $\mu$ l
<b>Provette per campioni</b>	Microprovette da 2,0 ml tipo H o microprovette da 2,0 ml tipo I (Sarstedt, n. cat. 72.693 e 72.694)
<b>Insero</b>	Insero provetta 3B (n. cat. 9242083)

## Plastica da laboratorio necessaria per lotti da 1-4 campioni

	<b>Un lotto, 24 campioni*</b>	<b>Due lotti, 48 campioni*</b>	<b>Tre lotti, 72 campioni*</b>	<b>Quattro lotti, 96 campioni*</b>
<b>Puntali con filtro monouso, 200 <math>\mu</math>l<sup>†‡</sup></b>	34	60	86	112
<b>Puntali con filtro monouso, 1500 <math>\mu</math>l<sup>†‡</sup></b>	123	205	295	385
<b>Cartucce per la preparazione dei campioni<sup>§</sup></b>	18	36	54	72
<b>Coperchi per 8 barre<sup>¶</sup></b>	3	6	9	12

\* L'impiego di più di una provetta di controllo interno per lotto e l'esecuzione di più di una scansione di inventario richiedono ulteriori puntali con filtro monouso.

† Ci sono 32 puntali con filtro su ogni rack per puntali.

‡ La quantità di puntali con filtro necessari include i puntali con filtro per 1 scansione di inventario per ogni cartuccia reagenti.

§ Ci sono 28 cartucce per la preparazione dei campioni in ogni box unitario.

¶ Ci sono dodici coperchi per 8 barre in ogni box unitario.

# Setup di QIA Symphony AS

## Materiali di consumo

Durante il setup, le rispettive posizioni di ogni materiale di consumo sul modulo QIA Symphony AS sono indicate sul touch screen dello strumento.

Materiali di consumo	Nome sul touch screen	Da utilizzare con adattatore/portareagenti
Provette per strisce e tappi, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	Provette per strisce RG 72 QS
Provette a fondo conico da 2 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt‡	Portareagenti 1 QS Portareagenti 2 QS
Provetta a fondo conico da 5 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt‡	Portareagenti 1 QS Portareagenti 2 QS
Flaconi reagente, 30 ml, QSym AS (50)*	QIA#997108 *Bottle 30ml‡	Portareagenti 2 QS
Microprovette di eluizione CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Rack QS per microprovette di eluizione

\* Per componenti della miscela master, miscela master preparata dal sistema, standard del test e controlli del test.

† In alternativa, si possono usare le provette Sarstedt descritte in "Materiale necessario ma non fornito", pag. 2.

‡ Il suffisso "(m)" nel touch screen indica che i calcoli del livello di liquido per la rispettiva provetta sono stati ottimizzati per i reagenti che formano un menisco concavo.

## Adattatori e portareagenti

Rack/portareagenti	Nome	Numero necessario <sup>§</sup>
Rack per campioni	Rack QS per microprovette di eluizione	1
Portareagenti	Portareagenti 1 QS	1
Rack per test	Provette per strisce RG 72 QS	1

<sup>§</sup> Calcolato per un processo di analisi con 72 reazioni.

---

## Puntali con filtro

Caricare i rack per puntali iniziando con le aperture 1, 2 e 3 nel cassetto "Eluate and Reagents" (Eluito e reagenti), poi caricare i rack per puntali nelle aperture 7, 8 e 9 del cassetto "Assays" (Test).

<b>Materiale di consumo</b>	<b>Nome sul touch screen</b>	<b>Numero minimo per 24 reazioni</b>	<b>Numero minimo per 72 reazioni</b>
Puntali con filtro, 1500 $\mu$ l (1024)	1500 $\mu$ l	3	4
Puntali con filtro, 200 $\mu$ l (1024)	200 $\mu$ l	5	5
Puntali con filtro, 50 $\mu$ l (1024)	50 $\mu$ l	25	73
Sacchetti per smaltimento puntali	–	1	1



---

## PCR in tempo reale sul Rotor-Gene Q

Consultare la scheda di protocollo specifica del software "Settings to run *artus* QS-RGQ Kits" (Impostazioni per eseguire i kit *artus* QS-RGQ) disponibile all'indirizzo [www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx).

### Impostazioni specifiche per il kit *artus* BK Virus QS-RGQ

Rotor-Gene AssayManager imposta automaticamente i parametri per il kit *artus* BK Virus QS-RGQ.

Con il software Rotor-Gene 2.1, le impostazioni specifiche sono descritte qui di seguito.

<b>Volume di reazione (<math>\mu</math>l)</b>	50
<b>Mantenimento</b>	Temperatura di mantenimento: 95° Durata di mantenimento: 10 minuti
<b>Ciclo</b>	45 volte  95° per 15 s 65° per 30 s 72° per 20 s  Accertarsi di attivare la funzione Touchdown per 10 cicli nella fase di Annealing.
<b>Setup di ottimizzazione dell'auto-gain</b>	65°  (Campioni: canale Green; IC: canale Orange)

## Interpretazione dei risultati

Questa sezione descrive l'interpretazione dei risultati sul Rotor-Gene Q. Esaminare anche le informazioni sullo stato dei campioni ricavate dai file dei risultati del QIASymphony SP/AS per l'analisi del flusso di lavoro completo dal campione al risultato. Utilizzare unicamente campioni con stato valido.

Rotor-Gene AssayManager interpreta automaticamente i risultati della PCR, fornendo una conclusione e un risultato quantitativo.

Le sezioni che seguono descrivono l'interpretazione dei risultati utilizzando il software Rotor-Gene 2.1 o superiore.

## Rilevamento dei segnali e conclusioni — urina 800 µl

Segnale nel canale Cycling Green (ciclo verde)	Segnale nel canale Cycling Orange (ciclo arancione)	Risultato quantitativo (copie/ml)	Interpretazione
Sì	Sì	< 78,5	Risultato valido: DNA di virus BK rilevato, < 100 copie/ml È impossibile eseguire una quantificazione poiché il risultato quantitativo è inferiore al limite di rilevabilità. La riproducibilità del risultato positivo non è garantita.
Sì	Sì	≥ 78,5 e < 100	Risultato valido: DNA del virus BK rilevato, < 100 copie/ml È impossibile eseguire una quantificazione poiché il risultato quantitativo è inferiore al range lineare del test.
Sì	Sì	≥ 100 e ≤ 1 x 10 <sup>9</sup>	Risultato valido: DNA del virus BK rilevato alla concentrazione calcolata Il risultato quantitativo è entro il range lineare del test.
Sì	Sì	> 1 x 10 <sup>9</sup>	Risultato valido: DNA del virus BK rilevato, > 1 x 10 <sup>9</sup> copie/ml È impossibile eseguire una quantificazione poiché il risultato quantitativo è superiore al range lineare del test.*
No	Sì	–	Risultato valido: Non è rilevabile DNA del virus BK.†
No	No	–	Risultato non valido: Non si può trarre alcun risultato.‡

\* Se si desidera effettuare una quantificazione, diluire il campione con urina priva del virus BK e ripetere l'analisi. Moltiplicare il risultato quantitativo del campione rianalizzato per il fattore di diluizione.

---

† Se il valore  $C_T$  per il controllo interno di un campione negativo è superiore di più di 3 cicli al valore  $C_T$  per il controllo interno del controllo no template nel processo ( $C_{TIC\ Campione} - C_{TIC\ NTC} > 3$ ), allora il campione va considerato come non valido. Non si può trarre alcun risultato.

‡ Si possono trovare informazioni sulle cause d'errore e relative soluzioni nella "Troubleshooting guide" (Guida alla risoluzione dei problemi) del *Manuale del kit artus BK Virus QS-RGQ (artus BK Virus QS-RGQ Kit Handbook)*.

## Impostazione della soglia per l'analisi PCR

Le impostazioni ottimali di soglia per una data combinazione dello strumento Rotor-Gene Q e del kit *artus QS-RGQ* devono essere stabilite empiricamente provando ciascuna singola combinazione, dato che si tratta di un valore relativo che dipende dal flusso di lavoro diagnostico generale. Si può fissare la soglia ad un valore preliminare di 0,04 per l'analisi della prima PCR, ma questo valore deve essere affinato in un'analisi comparativa dei successivi processi del flusso di lavoro. La soglia deve essere impostata manualmente appena sopra il segnale di background dei controlli negativi e dei campioni negativi. Il valore medio di soglia calcolato da questi esperimenti funzionerà molto probabilmente per la maggioranza dei processi futuri, ma l'utilizzatore dovrà ugualmente rivedere il valore di soglia prodotto ad intervalli regolari. Il valore di soglia sarà normalmente compreso nel range 0,03–0,05 e dovrà essere arrotondato a non più di tre cifre decimali.

## Quantificazione

Gli standard di quantificazione (BK Virus RG QS 1–4) nel kit *artus BK Virus QS-RGQ* sono trattati come campioni precedentemente purificati e si usa lo stesso volume (15  $\mu$ l). Per generare una curva standard sugli strumenti Rotor-Gene Q, tutti e 4 gli standard di quantificazione devono essere utilizzati e definiti nella finestra di dialogo "Edit Samples" (Modifica campioni) dello strumento Rotor-Gene Q come standard con le concentrazioni specificate (vedere manuale utente dello strumento).

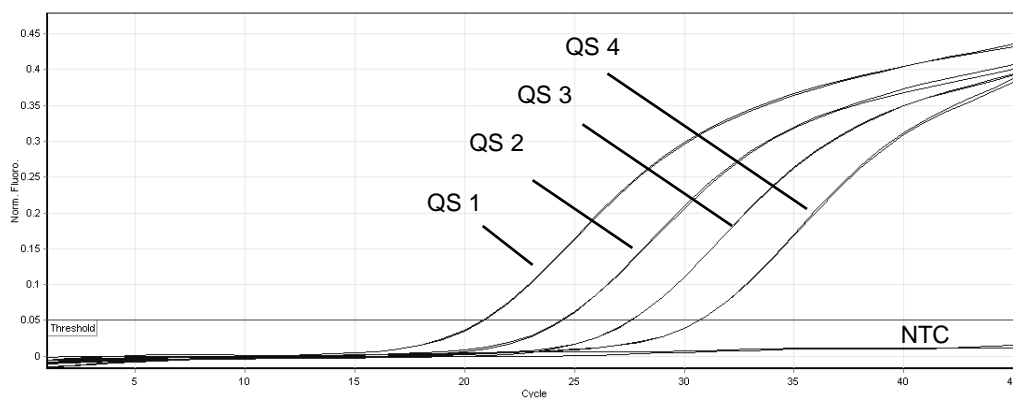
**Nota:** gli standard di quantificazione sono definiti come copie/ $\mu$ l. Si deve applicare la seguente equazione per convertire i valori, determinati mediante la curva standard, in copie/ml di campione.

$$\text{Risultato (copie/ml)} = \frac{\text{Risultato (copie/\mu l)} \times \text{volume di eluizione iniziale (90 \mu l)*}}{\text{Volume campione (ml)}}$$

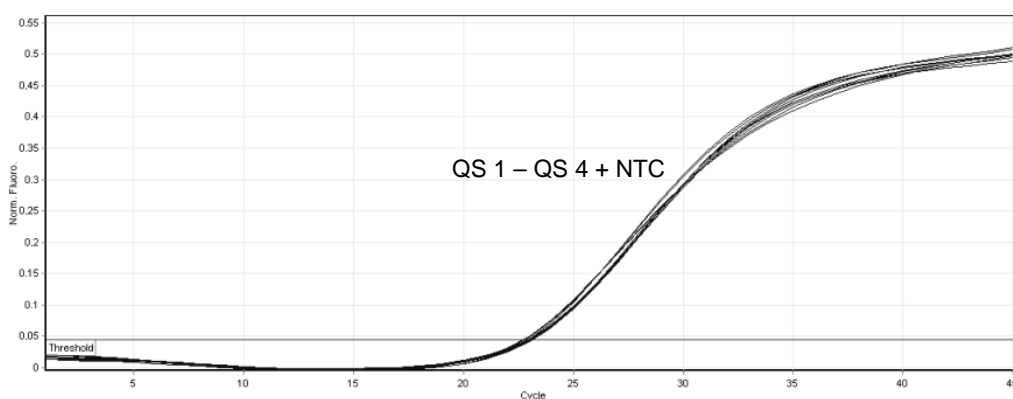
In linea di principio, si deve immettere nell'equazione di cui sopra il volume iniziale del campione. Occorre tenere conto di ciò quando il volume del campione è stato cambiato prima dell'estrazione dell'acido nucleico (per es. riducendo il volume mediante centrifugazione o aumentandolo con l'aggiunta al volume richiesto per l'isolamento).

\* Il calcolo è basato sui volumi di eluizione iniziali (90  $\mu$ l).

## Esempi di reazioni PCR positive e negative



**Rilevazione degli standard di quantificazione (BK Virus RG QS 1–4) nel canale di fluorescenza Cycling Green. NTC: No Template Control (controllo no template) (controllo negativo).**



**Rilevazione del controllo interno (internal control, IC) nel canale di fluorescenza Cycling Orange con amplificazione contemporanea degli standard di quantificazione (BK Virus RG QS 1–4). NTC: No Template Control (controllo no template) (controllo negativo).**

---

Per informazioni aggiornate sulla licenza e sulle clausole di esclusione della responsabilità per i singoli prodotti, consultare il manuale del kit QIAGEN specifico o il manuale utente. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili sul sito [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) oppure possono essere richiesti al servizio di assistenza QIAGEN o al distributore locale.

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

© 2012 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

[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