

december 2014

Håndbog til *artus*[®] HI Virus-1 QS- RGQ-kit



24 (Katalognr. 4513363)



72 (Katalognr. 4513366)

Version 1

IVD

Kvantitativ in vitro-diagnostik

Til brug sammen med QIASymphony[®] SP/AS- og Rotor-Gene[®] Q-instrumenter



REF 4513363, 4513366



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND

R5 **MAT** 1060923DA



Sample & Assay Technologies

QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN er den førende leverandør af innovative prøve- og analyseteknologier, som gør det muligt at isolere og detektere indholdet af enhver biologisk prøve. Vores avancerede højkvalitetsprodukter og -service garanterer succes fra prøve til resultat.

QIAGEN sætter standarder i:

- Oprensning af DNA, RNA og proteiner
- Nukleinsyre- og proteinanalyser
- mikroRNA-undersøgelser og RNAi
- Automatisering af prøve- og analyseteknologier

Det er vores mål sætte Dem i stand til at opnå enestående succes og gennembrud. Der findes flere oplysninger på www.qiagen.com.

Indhold

Tilsigtet anvendelse	4
Oversigt og forklaring	4
Patogeninformation	5
Leverede materialer	6
Kittets indhold	6
Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt	7
Advarsler og forholdsregler	7
Almene forsigtighedsregler	8
Opbevaring og håndtering af reagenser	8
Prøvehåndtering og -opbevaring	9
Procedure	10
Kom godt i gang med QIASymphony SP/AS-instrumenterne	10
Oprensning af viralt RNA	10
Brug af en intern kontrol og bærer-RNA (CARRIER)	10
AnalysekontROLSæt og analyseparametersæt	10
Udbytte af nukleinsyrer	11
Opbevaring af nukleinsyrer	11
Protokol: Opsætning af RNA-isolation og -analyse på QIASymphony SP/AS12	12
Protokol: RT-PCR på Rotor-Gene Q	17
Fortolkning af resultater	18
Fejlfindingsvejledning	18
Kvalitetskontrol	23
Begrænsninger	23
Ydelsesegenskaber	24
Litteraturhenvisninger	24
Symbols	24
Kontaktoplysninger	25
Bestillingsinformation	26


Tilsigtet anvendelse

artus HI Virus-1 QS-RGQ-kit er en in vitro nucleinsyre-amplifikationstest til kvantitering af humant immundefektvirus type 1 (HIV-1) RNA i humane biologiske prøver. Dette diagnostiske testkit benytter revers transkriptions kædereaktion (RT-PCR) og er konfigureret til brug sammen med QIASymphony SP/AS og Rotor-Gene Q-instrumenter. Prøver indeholdende Gruppe M undertyperne A-H er blevet valideret til brug i analysen.

artus HI Virus-1 QS-RGQ-kit er beregnet til brug i forbindelse med klinisk præsentation og andre laboratoriemarkører for sygdomsprognose og til brug som hjælp ved vurdering af viralt respons på antiretroviral behandling målt ved ændringer i EDTA-plasma HIV-1 RNA-niveauer. *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-kittet er ikke beregnet til brug som screeningstest for HIV eller som diagnostisk test til bekræftelse af tilstedeværelse af HIV-infektion.

 Yderligere oplysninger om specifikke humane biologiske prøver, som dette kit er godkendt til, findes i applikationsarkene, som er tilgængelige online på www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.

Da QIAGEN løbende overvåger analysens effektivitet og godkender nye anvendelser, skal brugerne sikre sig, at de benytter den nyeste reviderede udgave af brugsvejledningen.

 Kontroller, hvilke nye reviderede udgaver af elektronisk mærkning, der er tilgængelige på www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx, inden testen udføres.

Alle kit kan bruges sammen med de tilhørende brugsvejledningselementer, når blot håndbogens versionsnummer og andre mærkningsoplysninger stemmer overens med kittets versionsnummer. Versionsnummeret er angivet på kittets kasseetiket. QIAGEN sikrer kompatibilitet mellem alle lot-numre for test-kit med samme versionsnummer.

Oversigt og forklaring

artus HI Virus-1 QS-RGQ-kittet udgør et brugsklart system til detektion af HIV-1 RNA ved hjælp af polymerasekædereaktion (PCR) på Rotor-Gene Q-instrumenter med prøveklargøring og analyseopsætning ved hjælp af QIASymphony SP/AS-instrumenterne. HI Virus-1 RG Master A og B indeholder reagenser og enzymer til revers transkription og specifik amplifikation af en 93 bp region af HIV-1 genomet og til direkte detektion af det specifikke ampikon i fluorescenskanalen Cycling Green af Rotor-Gene Q.

Desuden indeholder *artus* HCV QS-RGQ-kittet et ekstra heterologt amplifikationssystem til identifikation af mulig PCR-hæmning. Denne detekteres som en intern kontrol (IC) i fluorescenskanalen Cycling Orange på Rotor-Gene Q. Detektionsgrænsen for den analytiske HI Virus-1 RT-PCR er ikke reduceret. Der leveres eksterne positive kontroller (HI Virus-1 RG QS 1-4), som tillader bestemmelse af mængden af viralt RNA. Der findes flere informationer i den relevante anvendelsesbeskrivelse på www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.

Patogeninformation

Det humane immundefektvirus (HIV) er et retrovirus, der forårsager erhvervet immundefektsyndrom (AIDS). Der er to typer HIV, der er ansvarlige for humane infektioner, HIV-1 og HIV-2, som adskiller sig i deres virulens og prævalens. De fleste rapporterede tilfælde af AIDS verden over er tilskrevet HIV-1. Infektion med HIV forekommer ved overførsel af inficeret blod, vaginalvæske, modermælk og andre kropsvæsker. Inden for disse kropsvæsker er HIV til stede både som frie viruspartikler og virus i inficerede immunceller. De tre vigtigste overførselsveje er ubeskyttet samleje, kontaminerede kanyler og overførsel fra en inficeret moder til hendes barn eller via modermælk.

HIV inficerer primært celler i det humane immunsystem, så som hjælpe-T-celler (specifikt CD4⁺). HIV-infektion medfører lave niveauer af CD4⁺ T-celler. Når antallet af CD4⁺T-celler falder til under et kritisk niveau, går den celle-formidlede immunitet tabt, og kroppen bliver stadig mere følsom over for opportunistiske infektioner.

AIDS-symptomer forekommer i et fremskredet stadium af HIV-infektion, når det kompromitterede immunsystem ikke kan bekæmpe opportunistiske infektioner. På dette stadium udvikler den inficerede person i stigende grad symptomer udløst af sådanne infektioner. De mest almindelige infektioner omfatter kronisk cryptosporidium diarré, cytomegalovirus-induceret øjeninfektion, pneumocystis-pneumoni, toxoplasmose og tuberkulose samt infektioner med medlemmer af *Mycobacterium avium*-komplekset. Der ses desuden hyppigt udvikling af forskellige typer cancer, så som invasiv cervikal cancer, Kaposi sarkom eller lymfom. For øjeblikket findes der ingen helbredelse af AIDS, og det menes, at de fleste personer med HIV-infektion med tiden vil dø af en AIDS-relateret sygdom. Men fremskridt inden for HIV/AIDS-behandlinger, inklusive dem, der bekæmper selve viruset og dem, der forebygger eller behandler opportunistiske infektioner, har drastisk forbedret den forventede levetid og livskvaliteten for mange HIV/AIDS-patienter. (1-4)

Leverede materialer

Kittets indhold

artus HI Virus-1 QS-RGQ-kit		(24)	(72)
Katalognr.		4513363	4513366
Antal reaktioner		24	72
Blåt	HI Virus-1 RG Master A	4 x 144 µl	8 x 144 µl
Violet	HI Virus-1 RG Master B	4 x 216 µl	8 x 216 µl
Rødt	HI Virus-1 RG QS 1* (1x 10 ⁴ IU/µl)	QS 200 µl	200 µl
Rødt	HI Virus-1 RG QS 2* (1x 10 ³ IU/µl)	QS 200 µl	200 µl
Rødt	HI Virus-1 RG QS 3* (1x 10 ² IU/µl)	QS 200 µl	200 µl
Rødt	HI Virus-1 RG QS 4* (1x 10 ¹ IU/µl)	QS 200 µl	200 µl
Grønt	HI Virus-1 RG IC [†]	IC 1000 µl	2 x 1000 µl
Hvidt	Vand (PCR kvalitet)	1000 µl	1000 µl
	<i>artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit Handbook (Håndbog til artus HI Virus-1 QS-RGQ-kit) (engelsk)</i>	1	1

* Kvantiteringsstandard.

† Intern kontrol.

Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, éngangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der findes mere information i de tilhørende sikkerhedsdatablade (material safety data sheets, SDSs), som kan fås hos den pågældende leverandør.

- Pipetter (justerbare)* og sterile pipettespidser med filtre.
- Vortex-mixer*
- Bordcentrifuge* med rotor til 2 ml reagensglas, centrifugeringshastighed 6800 x g

Til prøveklargøring

- QIASymphony SP instrument (QIASymphony SP-instrument) (katalognr. 9001297)*
- QIASymphony AS instrument (QIASymphony AS-instrument) (katalognr. 9001301)*

Til PCR

- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM*†
- Rotor-Gene Q-software version 2,1 eller nyere
- Valgfrit: Rotor-Gene AssayManager-version 1.0 eller nyere

Note: Oplysninger om materialer til bestemte anvendelser findes på det relevante applikationsark på www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.

Advarsler og forholdsregler

Til in vitro-diagnostisk brug

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, éngangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der henvises til de relevante sikkerhedsdatablade (SDS) for yderligere information. De findes online i bekvemt og kompakt pdf-format på www.qiagen.com/safety, hvor

* Sørg for, at instrumenterne regelmæssigt kontrolleres og kalibreres efter producentens angivelser.

† Hvis det er relevant, et Rotor-Gene Q 5plex HRM-instrument med en fremstillingsdato fra januar 2010 eller senere. Fremstillingsdatoen kan indhentes fra serienummer bag på instrumentet. Serienummeret er angivet i formatet "mmyyynn", hvor "mm" angiver fremstillingsmåned med cifre, "yy" angiver de to sidste cifre i fremstillingsåret, og "ynn" angiver det entydige instrument-id.

sikkerhedsdatabladene til hvert QIAGEN-kit og hver kitkomponent kan læses og udskrives.

Der findes sikkerhedsinformationer for oprensningsskittet i den relevante kit-håndbog. Der findes sikkerhedsinformationer om instrumenterne i brugervejledningen til de pågældende instrumenter.

Prøvepræparat- og analyseaffald bortskaffes ifølge de lokale sikkerhedsregler.

Almene forsigtighedsregler

Du skal altid være opmærksom på følgende:

- Brug sterile pipettespidser med filtre.
- Hold så vidt muligt rørene lukket under de manuelle trin, og undgå kontaminering.
- Optø alle komponenter grundigt ved stuetemperatur (15–25 °C), før en analyse påbegyndes.
- Når komponenterne er optøet, blandes de (ved at pipettere op og ned flere gange eller med en pulsvortexblanding) og centrifugeres kort. Sørg for, at der ikke er skum eller bobler til stede i reagensglassene.
- Bland ikke komponenter fra kit med forskellige lot-numre.
- Sørg for, at de nødvendige adaptere for-køles til 2–8 °C.
- Arbejd hurtigt, og hold PCR-reagenserne på is eller i køleblokken før isætning.
- Gå forsigtigt fra en del af arbejdsgangen til den næste. Overskrid ikke de 30 minutters overførselstid mellem hvert modul (QIASymphony SP til QIASymphony AS til Rotor-Gene Q).

Opbevaring og håndtering af reagenser

Komponenterne i *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-kittet skal opbevares ved -15 til -30 °C og er stabile indtil den udløbsdato, der er angivet på etiketten.

Gentagne optøninger og nedfrysninger (>2 x) bør undgås, da det kan reducere analysens ydeevne.

Prøvehåndtering og -opbevaring

Oplysninger om prøvehåndtering og -opbevaring til bestemte anvendelser findes på det relevante applikationsark på www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.

Procedure

Kom godt i gang med QIASymphony SP/AS-instrumenterne

Luk alle skuffer og stinkskebe.

Tænd QIASymphony SP/AS-instrumenterne, og vent, indtil skærmen "Sample Preparation" (Prøveklargøring) vises, og initialiseringsproceduren er afsluttet.

Log på instrumentet (skufferne låses op).

Oprensning af viralt RNA

artus HI Virus-1 QS-RGQ-kittet er godkendt med et viralt RNA-oprensningstrin, der blev udført på QIASymphony SP vha. QIASymphony DSP Virus/Pathogen-kittet. Alle informationer om, hvordan reagensbeholderen klargøres til prøveoprensningstrinnet på QIASymphony SP, findes i *QIASymphony DSP Virus/Pathogen-håndbog*.

Brug af en intern kontrol og bærer-RNA (CARRIER)

Brug af QIASymphony DSP Virus/Pathogen-kit i kombination med *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-kittet kræver indsætning af den interne kontrol (HI Virus-1 RG IC) i oprensningsproceduren for at overvåge effektiviteten af prøveklargøringen og efterfølgende analyse. Desuden kræver QIASymphony DSP/Pathogen-kittene sommetider klargøring af bærer-RNA (CARRIER). Der findes specifikke informationer om den interne kontrol og brugen af bærer-RNA (CARRIER) i den relevante anvendelsesbeskrivelse på www.qiagen.com/products/artushivirusr-pcrkitce.aspx.

AnalysekontROLSæt og analyseparametersæt

AnalysekontROLSæt er en kombination af en protokol plus yderligere parametre, f.eks. intern kontrol, til prøveoprensning på QIASymphony SP. Et standardanalysekontROLSæt er på forhånd installeret til hver protokol.

Analyseparametersæt er en kombination af en analysedefinition og yderligere definerede parametre, f.eks. et replikatal og antal analysestandarder, til analyseopsætning på QIASymphony AS.

Ved integrerede kørsler på QIASymphony SP/AS er analyseparametersættet direkte knyttet til et foruddefineret analysekontROLSæt, som angiver den tilknyttede prøveoprensningsproces.

Udbytte af nukleinsyrer

Eluater, der er klargjort med bærer-RNA (CARRIER), kan indeholde meget mere bærer-RNA (CARRIER) end target-nukleinsyrer. Vi anbefaler, at der anvendes kvantitative amplifikationsmetoder til at bestemme udbyttet.

Opbevaring af nukleinsyrer

Til kortvarig opbevaring på op til 24 timer anbefaler vi at opbevare oprensede nukleinsyrer ved 2–8 °C. Til langvarig opbevaring på over 24 timer anbefaler vi opbevaring ved –20 °C.

Protokol: Opsætning af RNA-isolation og -analyse på QIASymphony SP/AS

Følgende beskrivelse er en generel protokol for brug af QIASymphony DSP Virus/Pathogen-kit. Detaljerede oplysninger om en bestemt anvendelse, herunder volumener og rør, er oplyst på det relevante applikationsark på www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.

Vigtige anvisninger før start

- Brugeren skal være bekendt med betjeningen af QIASymphony SP/AS-instrumenter. Se betjeningsvejledningerne i de brugervejledninger, der leveres sammen med instrumenterne og deres seneste versioner, online på www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx.
- Før en reagensbeholder (RC) bruges første gang skal det kontrolleres, at bufferne QSL2 og QSB1 i beholderen (RC) ikke indeholder et præcipitat. Fjern om nødvendigt de brønde, der indeholder bufferne QSL2 og QSB1, fra reagensbeholderen (RC), og inkubér i 30 minutter ved 37 °C med jævnlig omrystning for at opløse præcipitatet. Sørg for at sætte brøndene ind på de rigtige pladser igen. Hvis reagensbeholderen (RC) allerede er gennembrudt, skal man sikre sig, at brøndene er forsegleet med genbrugsforseglingstrips, derefter inkuberes hele reagensbeholderen (RC) i 30 minutter ved 37 °C med jævnlig omrystning i vandbad.*
- Undgå for voldsom omrystning af reagensbeholderen (RC), ellers kan der dannes skum, hvilket kan medføre problemer med detektion af væskestanden.
- Arbejd hurtigt, og hold PCR-reagenserne på is eller i køleblokken før isætning.
- Reagensvolumenerne er optimeret til 24 eller 72 reaktioner pr. kit pr. kørsel (hhv. kat.nr. 4513363 og 4513366).
- Før hver brug skal alle reagenser tøs helt op, blandes (ved gentagen op- og nedpipettering eller hurtig vortex-blanding) og centrifugeres i mindst 3 sekunder ved 6800 x g. Undgå, at reagenserne danner skum.
- Eluater fra prøveklargøringen og alle komponenter af *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-kittet har vist sig at være stabile på instrumentet i mindst den tid, der normalt kræves til prøveoprensning for 96 prøver og analyseopsætning af 72 analyser, inklusive op til 30 minutters overførselstid fra QIASymphony

* Sørg for, at instrumenterne regelmæssigt kontrolleres, vedligeholdes og kalibreres efter producentens anvisninger.

SP til QIASymphony AS og op til 30 minutters overførselstid fra QIASymphony AS til Rotor-Gene Q.

Ting, der skal gøres før start

- Klargør alle nødvendige blandinger. Klargør om nødvendigt alle blandinger, der indeholder bærer-RNA (CARRIER) og interne kontroller, lige før start. For yderligere oplysninger henvises der til det relevante applikationsark på www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.
- Før proceduren startes, skal det kontrolleres, at de magnetiske partikler er fuldt resuspenderet. Vortex brønden med de magnetiske partikler kraftigt i mindst 3 minutter før første anvendelse.
- Før reagensbeholderen (RC) isættes, fjernes dækslet fra brønden, der indeholder magnetpartiklerne, og enzymglassene åbnes. Sørg for, at enzymracket er afbalanceret til stuetemperatur (15–25 °C).
- Sørg for, at gennembrydningslåget (PL) placeres på reagensbeholderen (RC), og at låget til magnetpartikelbrønden er fjernet, eller, hvis der benyttes en delvist brugt reagensbeholder (RC), sørg for, at genbrugsforseglingsstrips er fjernet.
- Hvis prøverne er forsynet med stregkoder, vendes prøverne i rørholderen sådan, at stregkoderne vender mod stregkodelæseren i skuffen "Sample" (Prøve) i venstre side af QIASymphony SP.

Procedure

Oprensning af viralt RNA på QIASymphony SP

1. Luk alle skuffer og stinkskabe på QIASymphony SP/AS-instrumenterne.
2. Tænd instrumenterne, og vent, indtil skærmen "Sample Preparation" vises, og initialiseringsproceduren er afsluttet.
Afbryderkontakten sidder i nederste venstre hjørne af QIASymphony SP.
3. Log på instrumenterne.
4. Klargør følgende skuffer iht. det relevante applikationsark på www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.
 - Skuffen "Waste" (Affald). Udfør en indholdsscanning, når skuffen er klargjort.
 - Skuffen "Eluate" (Eluat). Udfør en indholdsscanning, når skuffen er klargjort.

- Skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbrugsartikler). Udfør en indholdsscanning, når skuffen er klargjort.
 - Skuffen "Sample"
5. **Brug opsætningen "Integrated run" (Integreret kørsel) på QIASymphony-berøringskærmen til at indlæse de nødvendige oplysninger for hvert batch af prøver, der skal behandles. Vælg et analyseparametersæt for kørslen, og knyt den samt den modsvarende AS-batch til prøverne.**
- Der findes informationer om analyseparametersættet og den forvalgte elutionsmængde i den relevante anvendelsesbeskrivelse.
- Der findes flere informationer om integrerede kørsler på QIASymphony SP/AS i instrumentbrugervejledningerne.
6. **Når en integreret kørsel opsættes, skal man kontrollere, at den korrekte prøvelabware og prøvetype (prøve, EC+ og EC-) og volumener er tilknyttet.**
- Der findes informationer om de forbrugsartikler og komponenter, der skal fyldes i hver enkelt skuffe, i den relevante anvendelsesbeskrivelse.
7. **Klik på knappen "Ok", når der er angivet informationer om alle batches, for at afslutte opsætningen "Integrated run". På oversigten for den integrerede kørsel ændres status for alle batches fra "LOADED" (PÅFYLDT) til "QUEUED" (I KØ). Så snart en batch er i kø, vises knappen "Run" (Kørsel). Tryk på knappen "Run" for at starte proceduren.**
- Alle behandlingstrin er fuldautomatiske.

Isætning af QIASymphony AS-skufferne til analyseopsætning

8. **Efter at den integrerede kørsel er sat i kø, skal man åbne skufferne på QIASymphony AS. De påkrævede komponenter, som kan indsættes, vises på berøringskærmen.**
9. **Sørg altid for at gøre følgende inden den integrerede kørsel.**
- Indsæt spidsskakten.
 - Kassér spidsaffaldsposen
 - Indsæt en tom spidsaffaldspose
10. **Definér og isæt analyse-rack(s). Analyse-rack(s), i for-kølet adapter(e), isættes på pladsen eller pladserne "Assay" (Analyse). Oplysninger om analyserackene findes på relevante applikationsark www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.**
11. **Kontrollér kølepositionernes temperatur.**
- Når de tilsigtede køletemperaturer er nået, vil den lille stjerne ved siden af hver enkelt plads være grøn.

- 12. Kombinér alle rør i HI Virus-1 RG Master A i et enkelt kit i ét rør før brug. Kombinér alle rør i HI Virus-1 RG Master B i et enkelt kit i ét rør før brug.**
Note: Viskøse reagenser kan være vanskelige at håndtere med manuelle pipetter. Sørg for at overføre hele volumen af Master i røret.
- 13. Fyld hvert reagensglas med den nødvendige mængde passende reagens i henhold til den fyldningsinformation, der er angivet i instrumentets software.**
Note: Før hver brug skal alle reagenser tøs helt op, blandes (ved gentagen op- og nedpipettering eller hurtig vortex-blanding) og centrifugeres i mindst 3 sekunder ved 6800 x g. Undgå bobler eller skum, som kan medføre detektionsfejl. Arbejd hurtigt, og hold PCR-komponenterne på is eller i køleblokken før isætning.
- 14. Isæt reagens-racket, og placér reagensglassene uden låg i de korrekte positioner af for-kølede adaptore til reagenser i overensstemmelse med den relevante anvendelsesbeskrivelse.**
- 15. Læg engangsfilterspidser i skufferne "Eluate and Reagents" (Eluat og Analyser) og "Assays" (Analyser) efter det nødvendige antal af hver spidstype, der er angivet i den relevante anvendelsesbeskrivelse.**
- 16. Luk skufferne "Eluate and Reagents" og "Assays".**
- 17. Når hver enkelt skuffe er lukket, trykkes på "Scan" (Scanning) for at starte indholdsscanningen for hver af skufferne.**
Indholdsscanningen kontrollerer pladser, adaptore, filterspidser og spidsskakt, samt at de specifikke reagensvolumener er indsat korrekt. Ret eventuelle fejl.

Analyseopsætningen starter automatisk, når oprensningstrinnet på QIASymphony SP er fuldført, og eluat-rackene er overført til QIASymphony AS.
- 18. Når kørslen er færdig, trykkes der på "Remove" (Fjern) på skærmen "Overview" (Oversigt). Åbn skuffen "Assays", og tag analyserackene ud.**
- 19. Download resultat- og cyclus-filer.**
- 20. Hvis der er konfigureret flere batches i en integreret kørsel på QIASymphony AS, skal QIASymphony AS-påfyldes igen startende ved trin 8.**
- 21. Gå videre til "Protokol: RT-PCR på Rotor-Gene Q" på side 17.**

22. Gennemfør den regelmæssige vedligeholdelse af QIASymphony AS under PCR-kørslen på Rotor-Gene Q eller senere.

Da arbejdsgangen er integreret, rengøres alle instrumenter, når arbejdsgangen er afsluttet.

Følg vedligeholdelsesvejledningen i Brugervejledningen til *QIASymphony SP/AS – Generel beskrivelse*. Sørg for at udføre vedligeholdelse jævnligt for at minimere risikoen for krydskontamination.

Protokol: RT-PCR på Rotor-Gene Q

Vigtige anvisninger før start

- Tag dig tid til at lære Rotor-Gene Q at kende, før du starter protokollen. Se brugervejledningen til instrumentet.
- Til fortolkning af PCR-resultaterne kan Rotor-Gene AssayManager bruges i stedet for Rotor-Gene Q-softwaren.
- Sørg for, at alle 4 kvantiteringsstandarder samt mindst en negativ kontrol (vand, PCR-kvalitet) er med i hver PCR-kørsel. For at generere en standardkurve bruges alle 4 kvantiteringsstandarder, der medfølger (HI Virus-1 QS 1-4), for hver PCR-kørsel.

Procedure

1. Luk PCR-rørene, og anbring dem i den 72 brøndes rotor på Rotor-Gene Q. Sørg for at overføre Rotor-Gene Q 4-strip-rør i den rigtige retning, så positionen viser køleadapter og rotor-match. Sørg for, at låseringen (tilbehør til Rotor-Gene-instrumentet) er placeret oven på rotoren for at forebygge utilsigtet åbning af rørene under kørslen.
2. Overfør cyklusfilen fra QIA Symphony AS til Rotor-Gene Q-computeren.
3. Opret en temperaturprofil til detektion af HCV RNA, og start kørslen i overensstemmelse med den relevante anvendelsesbeskrivelse på www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx. Der findes softwarespecifikke informationer om programmering af Rotor-Gene Q i den relevante protokolbeskrivelse "Settings to run *artus* QS-RGQ Kits" på www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.

Fortolkning af resultater

Der findes detaljerede informationer om fortolkning af resultater i den relevante anvendelsesbeskrivelse på

www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.

Fejlfindingsvejledning

I denne fejlfindingsvejledning kan der findes brugbare henvisninger, som kan hjælpe ved løsningen af eventuelle problemer. Derudover svarer personalet fra QIAGENs tekniske service gerne på spørgsmål vedrørende informationen og protokollerne i denne håndbog eller prøve- og analyseteknologier (kontaktinformation: se bagsiden, eller besøg www.qiagen.com).

Kommentarer og forslag

Generel håndtering

Fejlmeddelelse vist på berøringsskærmen

Hvis der vises en fejlmeddelelse under en protokolkørsel, henvises til de brugervejledninger, der leveres sammen med instrumenterne.

Præcipitat i reagensbeholderen med åbnet beholder i QIASymphony DSP Virus/Pathogen-kit

a) Bufferfordampning

Stor fordampning kan føre til øget saltkoncentration eller nedsat alkoholkoncentration i bufferne. Kassér reagensbeholder (RC). Sørg for at forsegle bufferbrøndene i en delvist brugt reagensbeholder (RC) med genbrugsforseglingstrips, når de ikke anvendes til oprensning.

Kommentarer og forslag

- b) Opbevaring af reagensbeholder (RC)
- Opbevaring af reagensbeholder (RC) under 15 °C kan medføre dannelse af præcipitat. Fjern om nødvendigt de brønde, der indeholder bufferne QSL2 og QSB1, fra reagensbeholderen (RC), og inkuber dem i et vandbad* i 30 minutter ved 37 °C med jævnlig omrystning for at opløse præcipitatet. Sørg for at sætte brøndene ind på de rigtige pladser igen. Hvis reagensbeholderen (RC) allerede er gennembrudt, skal man sikre sig, at brøndene er genlukket med genbrugsforseglingstrips, derefter inkuberes hele reagensbeholderen (RC) i vandbad i 30 minutter ved 37 °C med jævnlig omrystning.

Lav ydelse af nukleinsyrer

- a) Magnetiske partikler blev ikke fuldstændigt resuspenderet
- Før proceduren startes, skal det kontrolleres, at de magnetiske partikler er fuldt resuspenderet. Vortex i mindst 3 minutter før anvendelse.
- b) Nedfrosne prøver blev ikke opblandet korrekt efter optøning
- Optø nedfrosne prøver under forsigtig omrøring for at sikre grundig opblanding.
- c) Bærer-RNA (CARRIER) ikke tilsat
- Opbland bærer-RNA (CARRIER) i Buffer AVE (AVE) som beskrevet i "Klargøring af bærer-RNA (CARRIER)-Buffer AVE (AVE)-blandinger" som beskrevet i det relevante applikationsark på www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx. Gentag oprensningsproceduren med nye prøver.
- d) Nedbrudte nukleinsyrer
- Prøverne har været opbevaret forkert eller udsat for mange nedfrysninger/optøninger. Gentag oprensningsproceduren med nye prøver.

* Sørg for, at instrumenterne regelmæssigt kontrolleres, vedligeholdes og kalibreres efter producentens anvisninger.

Kommentarer og forslag

- e) Ufuldstændig prøvelyse Kontroller før brug, at bufferne QSL2 og QSB1 ikke indeholder præcipitater. Fjern om nødvendigt de brønde, der indeholder bufferne QSL1 og QSB1, fra reagensbeholderen (RC), og inkubér i 30 minutter ved 37 °C med jævnlig omrystning for at opløse præcipitatet. Hvis reagensbeholderen (RC) allerede er gennembrudt, skal man sikre sig, at brøndene er genlukket med genbrugsforseglingstrips, derefter inkuberes hele reagensbeholderen (RC) i 30 minutter ved 37 °C med jævnlig omrystning i vandbad.*
- f) Tilstopning af pipettespids på grund af uopløseligt materiale Uopløseligt materiale blev ikke fjernet fra prøven før starten på QIASymphony-oprensningssproceduren. For at fjerne uopløseligt materiale ved virale applikationer centrifugeres prøven ved 3000 x g for 1 min., og supernatanten overføres til et nyt prøveglas.

* Sørg for, at instrumenterne regelmæssigt kontrolleres, vedligeholdes og kalibreres efter producentens anvisninger.

QIA Symphony AS detekterer utilstrækkelig Master

Ikke al Master overført til rør

Kombinér alle rør i HI Virus-1 RG Master A i et enkelt kit i ét rør før brug. Kombinér alle rør i HI Virus-1 RG Master B i et enkelt kit i ét rør før brug. Viskøse reagenser kan være vanskelige at håndtere med manuelle pipetter. Sørg for at overføre hele volumen af Master i røret.

For viskøse reagenser anbefaler vi at aspirere en ekstra volumen på 5 %, når der anvendes manuelle pipetter (justér f.eks. pipetten til 840 µl til en 800 µl volumen).

Fjern alternativt spidsen fra væsken efter langsom dispensering af væsken og en udblæsning ved målrørets væg, udløs pipettestemplet, og vent i yderligere 10 sekunder. Resterende væske løber ned ad spidsen og kan blæses ud ved at trykke på pipettestemplet en gang mere. Anvendelsen af filterspidser af PCR-kvalitet mærket som "lav tilbageholdelse" kan forbedre udbyttet af væske.

Intet signal ved positive kontroller (HI Virus-1 RG QS 1-4) i fluorescenskanalen Cycling Green

- a) Den valgte fluorescenskanal for PCR-dataanalyse stemmer ikke overens med protokollen
- Ved dataanalyse vælges fluorescenskanalen Cycling Green for analytisk HI Virus-1 PCR og fluorescenskanalen Cycling Orange for intern kontrol-PCR.
- b) Ukorrekt programmering af temperaturprofilen for Rotor-Gene-instrument
- Sammenlign temperaturprofilen med protokollen. Se det relevante applikationsark og protokolark på www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.

Kommentarer og forslag

- c) Ukorrekt konfiguration af PCR
Kontroller, at analyseopsætningen er udført korrekt, og at det korrekte analyseparametersæt er anvendt. Gentag om nødvendigt PCR. Se det relevante applikationsark på www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.
- d) Opbevaringsbetingelserne for en eller flere kitkomponenter var ikke i overensstemmelse med de instruktioner, der er angivet i "Opbevaring og håndtering af reagenser", (side 8)
Kontroller opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit.
- e) *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-kittet er udløbet
Kontroller opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit.

Svagt eller intet signal fra den interne kontrol af en negativ plasmaprøve underkastet oprensning med QIASymphony DSP Virus/Pathogen-kittet i fluorescenskanalen Cycling Orange og samtidigt fravær af signal i kanalen Cycling Green

- a) PCR-betingelserne stemmer ikke overens med protokollen
Kontroller PCR-betingelserne (se ovenfor), og gentag om nødvendigt PCR med korrigerede indstillinger.
- b) PCR blev hæmmet
Sørg for, at du bruger den godkendte isoleringsmetode (se "Protokol: Opsætning af RNA-isolation og -analyse på QIASymphony SP/AS", side 12), og følg vejledningen nøje.
- c) Der foreligger tab af RNA forårsaget af oprensningen
Et manglende signal fra den interne kontrol kan være tegn på tab af RNA under oprensningen. Sørg for, at du bruger den godkendte isoleringsmetode (se "Protokol: Opsætning af RNA-isolation og -analyse på QIASymphony SP/AS", side 12), og følg vejledningen nøje. Se også "Lav ydelse af nukleinsyrer" ovenfor.

Kommentarer og forslag

- d) Opbevaringsbetingelserne for en eller flere kitkomponenter var ikke i overensstemmelse med de instruktioner, der er angivet i "Opbevaring og håndtering af reagenser", (side 8) Kontroller opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit.
- e) *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-kittet er udløbet Kontroller opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit.

Signaler med de negative kontroller i fluorescenskanal Cycling Green af det analytiske PCR

- a) Kontamination under klargøring af PCR Gentag PCR med de nye reagenser i replika.
Luk om muligt PCR-rørene umiddelbart efter tilsætning af den prøve, der skal testes.
Sørg for, at arbejdspladsen og instrumenterne dekontamineres jævnlige.
- b) Der forekom kontamination under ekstraktion Gentag ekstraktion og PCR for den prøve, der skal testes, med nye reagenser.
Sørg for, at arbejdspladsen og instrumenterne dekontamineres jævnlige.

Kvalitetskontrol

I overensstemmelse med QIAGENs ISO-certificerede kvalitetsstyringsystem testes hvert lot af *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-kit efter fastlagte specifikationer for at sikre en ensartet produktkvalitet.

Begrænsninger

Alle reagenser kan kun anvendes til in vitro-diagnostik.

Produktet må kun anvendes af personale, som er specielt instrueret og uddannet i in vitro-diagnostiske procedurer.

Det er nødvendigt nøje at følge brugervejledningen for at opnå optimale PCR-resultater.

Bemærk nøje udløbsdatoerne, der er trykt på æsken og etiketterne til alle komponenter. Brug aldrig for gamle komponenter.

Selv om det er sjældent, kan mutationer i de stærkt konserverede områder af det virale genom, der dækkes af kittets primere og/eller probe, resultere i underkvantitering eller manglende evne til at detektere tilstedeværelsen af virusset i disse tilfælde. Analysedesignets gyldighed og ydeevne revideres med jævne mellemrum.

Ydelsesegenskaber

Se www.qiagen.com/products/artushivirsrt-pcrkitce.aspx for at se ydelseskarakteristikken for *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-kittet.

Litteraturhenvisninger

1. McCutchan, F.E. (2006) Global epidemiology of HIV. *J. Med. Virol.* **78** Suppl 1, S7.
2. Nikolopoulos, G., Tsiodras, S., Bonovas, S., and Hatzakis, A. (2012) Antiretrovirals for HIV exposure prophylaxis. *Curr. Med. Chem.* **19**, 5924.
3. Perrin, L., Kaiser, L., and Yerly, S. (2003) Travel and the spread of HIV-1 genetic variants. *Lancet Infect. Dis.* **3**, 22.
4. Roques, P. et al. (2004) Phylogenetic characteristics of three new HIV-1 N strains and implications for the origin of group N. *AIDS* **18**, 1371.

Symbols



<N>

Indeholder tilstrækkeligt med reagenser til <N> reaktioner













Anvendes inden



In vitro-diagnostisk medicinsk produkt



Katalognummer

	Lot-nummer
	Materialenummer
	Komponenter
	Indeholder
	Nummer
	Globalt varenummer
	Temperaturbegrænsning
	Producent
	Læs brugsvejledningen
	Forsigtig

Kontaktoplysninger

For teknisk bistand og flere informationer kan du besøge vores tekniske supportcenter på www.qiagen.com/Support, ringe på 00800-22-44-6000, eller du kan kontakte en af QIAGENs tekniske serviceafdelinger eller lokale forhandlere (se bagsiden, eller besøg www.qiagen.com).

Bestillingsinformation

Produkt	Indhold	Kat. nr.
<i>artus</i> HI Virus-1 QS-RGQ Kit (24)	Til 24 reaktioner: 2 Masters, 4 kvantiteringsstandarder, intern kontrol, vand (PCR-kvalitet)	4513363
<i>artus</i> HI Virus-1 QS-RGQ Kit (72)	Til 72 reaktioner: 2 Masters, 4 kvantiteringsstandarder, intern kontrol, vand (PCR-kvalitet)	4513366
QIASymphony RGQ-system		
QIASymphony RGQ, System	QIASymphony SP, QIASymphony AS, Rotor-Gene Q 5plex HRM, nødvendigt tilbehør og forbrugsartikler, installation og uddannelse	9001850

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

Denne side skal være tom

Denne side skal være tom

Denne side skal være tom

Ved køb af dette produkt må køber anvende det til at udføre diagnostiske tjenester til human in vitro-diagnostik. Der gives ikke hermed noget generelt patent eller anden form for licens end denne specifikke brugsret via købet.

Varemærker: QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

artus HI Virus-1 QS-RGQ-kit er et CE-mærket diagnostisk kit i overensstemmelse med EU's direktiv 98/79/EF om medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik. Ikke tilgængeligt i alle lande.

Begrænset licens for *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-kittet

Brug af dette produkt betyder, at enhver køber eller bruger af produktet accepterer følgende vilkår:

1. Produktet må kun anvendes i henhold til de protokoller, der blev leveret sammen med produktet og denne håndbog, og kun sammen med komponenterne i dette kit. QIAGEN giver ingen licens, under nogen intellektuel ejendomsret, til at bruge eller inkorporere de leverede komponenter i dette kit med komponenter, der ikke er inkluderet i dette kit, undtagen som beskrevet i de protokoller, der leveres med produktet, denne håndbog og yderligere protokoller, der kan ses på www.qiagen.com. Nogle af disse ekstra protokoller er leveret af QIAGEN-brugere til QIAGEN-brugere. Disse protokoller er ikke blevet testet eller optimeret grundigt af QIAGEN. QIAGEN giver hverken garanti for dem eller garanterer, at de ikke overtræder tredjeparters rettigheder.
2. Ud over de udtrykkeligt givne licenser giver QIAGEN ingen garanti for, at dette kit og/eller brugen af det, ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
3. Dette kit og dens komponenter er under licens til engangsbrug og må ikke genbruges, gendannes eller videresælges.
4. QIAGEN afviser specifikt alle andre licenser, udtrykte eller underforståede, end dem, der udtrykkeligt er angivet.
5. Køberen og brugeren af kittet indvilliger i ikke at tage, eller lade andre tage, skridt der kunne føre til, eller fremme, handlinger der forbydes ovenfor. QIAGEN kan håndhæve forbuddene i denne begrænsede licensaftale i enhver ret og vil inddrive alle undersøgelses- og retsomkostninger, herunder advokatsalærer, i ethvert søgsmål for at håndhæve denne begrænsede licensaftale samt alle deres intellektuelle ejendomsrettigheder i forbindelse med produktet og/eller komponenterne deri.

For opdaterede licensbetingelser henvises der til www.qiagen.com.

© 2010–2014 QIAGEN. Alle rettigheder forbeholdes.

www.qiagen.com

Australia ■ techservice-au@qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Belgium ■ techservice-bnl@qiagen.com

Brazil ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

Canada ■ techservice-ca@qiagen.com

China ■ techservice-cn@qiagen.com

Denmark ■ techservice-nordic@qiagen.com

Finland ■ techservice-nordic@qiagen.com

France ■ techservice-fr@qiagen.com

Germany ■ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ■ techservice-hk@qiagen.com

India ■ techservice-india@qiagen.com

Ireland ■ techservice-uk@qiagen.com

Italien ■ techservice-it@qiagen.com

Japan ■ techservice-jp@qiagen.com

Korea (South) ■ techservice-kr@qiagen.com

Luxembourg ■ techservice-bnl@qiagen.com

Mexico ■ techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands ■ techservice-bnl@qiagen.com

Norway ■ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ■ techservice-sg@qiagen.com

Sweden ■ techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland ■ techservice-ch@qiagen.com

UK ■ techservice-uk@qiagen.com

USA ■ techservice-us@qiagen.com

