

Januar 2019

Håndbok for *artus*[®] HCV QS-RGQ Kit



Versjon 2
Til bruk sammen med
QIAasymphony[®] SP/AS- og
Rotor-Gene[®] Q-instrumenter

IVD

CE₀₁₉₇

REF



R2 **MAT**

4538366
QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden
TYSKLAND
1108261 NO
DHF-14-1000-2-DOU-014-03

Innhold

Tiltenkt bruk	5
Sammendrag og forklaring	5
Patogeninformasjon	6
Bakgrunn	6
Definisjon på klinisk sykdom	6
Gjeldende terapeutiske strategier	7
Materialer som medfølger	9
Settets innhold	9
Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med	10
Prøveklargjøring	10
Adaptore for QIASymphony SP	10
Reagenser og forbruksartikler for QIASymphony SP	10
Adaptore for QIASymphony AS	11
Reagenser og forbruksartikler for QIASymphony AS	11
Utstyr	12
Eksterne fullstendige prosesskontroller	12
Advarsler og forholdsregler	13
Advarsler	13
Generelle forholdsregler	14
Håndtering og oppbevaring av reagenser	15
Prosedyre	15
Prøvetaking	15
Prøvetransport og -lagring	16
Prøveklargjøring	16

Deteksjon av HCV-spesifikt RNA.....	17
Prosedyre	18
Klargjøring av bærer-RNA og tilsetning av internkontroll i prøvene.....	18
Komme i gang på QIA Symphony SP/AS-instrumentene.....	19
Rensing av viralt RNA.....	19
Analysekontrollsett og analyseparametersett	20
Protokoll: RNA-isolering og analyseoppsett på QIA Symphony SP/AS.....	21
Viktige punkter før du starter	21
Dette må du gjøre før du starter.....	22
Oppsett av QIA Symphony SP.....	22
Prosedyre ved bruk av QIA Symphony SP/AS.....	24
Rensing av viralt RNA på QIA Symphony SP.....	24
Oppsett av QIA Symphony AS	26
Forbruksartikler	26
Adaptore og reagensholdere	27
Filterspisser.....	27
Laste QIA Symphony AS-skuffer for analyseoppsett	27
Protokoll: RT-PCR på Rotor-Gene Q-instrumentet.....	30
Viktige punkter før du starter	30
Prosedyre ved bruk av Rotor-Gene Q-instrumentet.....	30
Analyseinnstillinger	33
Kjørings- og prøvegyldighetskriterier	33
Resultater for fullstendige prosesskontroll	34
Kvantifisering	36
Tolkning av resultater	37

Ytelsesegenskaper	38
Blindgrense og spesifisitet.....	38
Deteksjonsgrense (LOD).....	38
Deteksjonsgrense for hepatitt C-virus genotype 2 til 6	40
Lineært område og kvantiteringsgrense	40
Presisjon, repeterbarhet og variabilitet mellom parti.....	42
Reproduserbarhet	45
Kryssreaktivitet og blandede infeksjoner	46
Interfererende stoffer	49
Krysskontaminering.....	52
Klinisk ytelse	54
Begrensninger	57
Kvalitetskontroll	57
Referanser	58
Symboler	60
Feilsøkningsveiledning	63
Bestillingsinformasjon	69

Tiltenkt bruk

artus HCV QS-RGQ-analysen er en in vitro-nukleinsyreamplifikasjonstest basert på teknologi med omvendt transkripsjon-polymerasekjedereaksjon (reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) til bruk sammen med QS-RGQ-instrumenter for kvantitativ deteksjon av hepatitt C-virus (hepatitis C virus, HCV) RNA (genotype 1–6) i EDTA-plasma fra HCV-infiserte personer.

artus HCV QS-RGQ-analysen er beregnet brukt, i forbindelse med klinisk presentasjon og andre laboratoriemarkører, for sykdomsprognose, og som en hjelp til å vurdere viral respons på antiviral behandling som målt ved endringer i HCV RNA-nivåer i humant EDTA-plasma ved baseline, under behandling og ved endt behandling. *artus* HCV QS-RGQ-analysen er ikke beregnet på screening av blod, plasma eller serum for HCV-infeksjon. Analysen skal ikke brukes som en diagnostisk test for å bekrefte nærværet av HCV-infeksjon.

Sammendrag og forklaring

artus HCV QS-RGQ Kit utgjør et bruksklart system for deteksjon av HCV RNA ved hjelp av PCR på Rotor-Gene Q-instrumenter med prøveklargjøring og analyseoppsett ved hjelp av QIASymphony SP/SA-instrumenter. Hepatitis C Virus RG Master A og B inneholder reagenser og enzymer for spesifikk amplifikasjon av en 69 baseparregion i HCV-genomet og for direkte deteksjon av det spesifikke ampliconet i fluorescenskanalen Cycling Green på Rotor-Gene Q-instrumentet.

Dessuten inneholder *artus* HCV QS-RGQ Kit et andre heterologt amplifikasjonssystem for å identifisere mulig PCR-hemming. Dette detekteres som en internkontroll (internal control, IC) i fluorescenskanalen Cycling Green på Rotor-Gene Q-instrumentet. Deteksjonsgrensen for det analytiske HCV PCR er ikke redusert. Eksterne positive kontroller (Hepatitis C Virus RG QS 1–4) følger med og gir mulighet for bestemmelse av mengden viralt RNA.

Patogeninformasjon

Bakgrunn

HCV er et RNA-virus i Flaviviridae-familien. HVC er omgitt av en kappestruktur og koder bare for 10 modne proteiner. HCV er ansvarlig for alvorlige sykdommer som leverinflammasjon (hepatitt) og cirrhose til hepatocellulært karsinom (heptacellulær carcinoma, HCC), som bestandig er dødelig. Det er over 200 millioner bærere av HCV i verden, og fire millioner av disse er i Europa. Infeksjon med HCV er én av hovedårsaken til kronisk leversykdom i verden, og de fleste personene er ikke klar over at de er infisert. HCV er klassifisert i seks hovedgenotyper (1–6) der genotype 1 (undertype a og b) er den vanligste undertypen i Nord-Amerika og Vest-Europa (1). Det er en nukleotid homologi på bare 55 % til 70 % mellom hver genotype, og over 80 undertyper er identifisert. Det anbefales å bestemme genotype for korrekt klinisk administrasjon og for å forutse sannsynligheten for respons på behandling (2).

Definisjon på klinisk sykdom

Akutt HCV-infeksjon forblir for det store flertallet av tilfeller fullstendig asymptomatisk. Inkubasjonsperioden til HCV er mellom 6 til 10 uker, og sykdomsdebuten kan ha ikke-spesifikke symptomer, herunder anoreksi, vagt ubehag i buk, kvalme og oppkast, feber og utmattelse. I sjeldne tilfeller kan disse initielle symptomene inkludere icterus (gulsott). Bare en liten prosentandel (10–30 %) av akutt infiserte personer vil bli kvitt viruset. I de fleste tilfeller etablerer HCV livslang infeksjon, og pasienten blir en kronisk bærer.

Kronisk HCV-infeksjon er definert som videreføringen av sykdom uten bedring for en periode på mer enn 6 måneder og utvikler seg hos rundt to tredjedeler av infiserte personer. Hos ytterligere 10–20 % fører kronisk HCV-infeksjon til cirrhose og deretter leversvikt, med en dødelighetsprosent på opp til 25 %. Bare 1–5 % av HCV-bærere utvikler HCC, og dette er gjerne sjelden i ikke-chirrotiske tilfeller. Det er viktig å huske at HCV-infeksjon kan forbli asymptomatisk i opp til 20 år før utviklingen av alvorlige komplikasjoner.

Selv om mekanismene bak sykdomsprogresjon ikke er helt forstått, er det flere faktorer som er rapportert å påvirke hastigheten til HCV-sykdomsprogresjon. Disse omfatter alder (økt alder knyttet til mer hurtig progresjon), kjønn (menn har en hurtigere sykdomsprogresjon), alkoholforbruk (knyttet til en økt hastighet av sykdomsprogresjon) og nærvær av fett i leverceller. Dessuten er samtidig infeksjon med hepatitt B-virus (HBV) og humant immunsviktvirus-1 (HIV-1) godt dokumentert markant å øke sykdomsprogresjonshastigheten (3).

Gjeldende terapeutiske strategier

Målet med behandlingen er å fjerne HCV hos kronisk infiserte personer, noe som fører til en vedvarende virologisk respons (VVR) og tilnærmet er som en helbredelse. En VVR er definert som udetekterbart HCV RNA 12 uker (SVR12) eller 24 uker (SVR24) etter fullført behandling som målt med en sensitiv RNA-analyse (med en deteksjonsgrense [limit of detection, LOD] på ≤ 15 IE/ml). Hvis dette oppnås, helbredes HCV-infeksjonen hos mer enn 99 % av pasientene. VVR er generelt knyttet til oppløsning av leversykdom hos pasienter uten cirrhose. Pasienter med cirrhose forbli i faresonen for livstruende komplikasjoner, men leverfibrose kan gå tilbake og risikoen for komplikasjoner, f.eks. leversvikt og portal hypertensjon, reduseres.

Frem til 2011 var kombinasjonen av pegylert interferon alfa (PegIFN- α) og ribavirin i 24 eller 48 uker den godkjente behandlingen for kronisk HCV. Med dette regimet hadde pasienter infisert med HCV genotype 1 VVR-hastigheter på ca. 40 % i Nord-Amerika og 50 % i Vest-Europa. Ca. 75 % til 85 % av personer med genotype 2 eller 3 hadde en VVR 6 måneder etter fullføring av et behandlingsforløp, mens for de andre genotypene (4, 5 og 6) var andelen mellom 50 % og 75 % (2).

I 2011 ble proteasehemmerne telaprevir (TEL) og boceprevir (BOC) lisensiert for behandling i HCV genotype 1-infeksjoner. Disse var de første direktevirkende antiviralene (direct-acting antivirals, DAA-ene) som var aktive mot HCV og som målrettet HCV NS3-4A-serinproteasen. Både TEL og BOC ble administrert i kombinasjon med PegIFN- α og ribavirin. Genotype 1-behandlingsnaive pasienter behandlet med trippelterapieregimer oppnådde høyere VVR-hastigheter enn bare PegIFN- α og ribavirindobbelterapi (4).

Siden den gang har mer effektive pangenotypiske DAA-er med færre bivirkninger blitt lisensiert i EU og USA (blant andre regioner) for bruk som del av kombinasjonsbehandlinger for HCV-infeksjon. IFN-frie kombinasjoner er nå tilgjengelige for første gang, mens ribavirin er igjen for visse behandlingskombinasjoner. Bivirkningsprofilene av BOC- og TEL-trippelkombinasjonsbehandlinger og kostnadene per VVR betyr at de ideelt sett ikke lenger bør brukes på pasienter infisert med HCV genotype 1 i høyinntektsland. Det skal bemerkes at mange mellominntektsland bare nylig har mottatt godkjenning for bruk av TEL og BOC, men disse behandlingene er nå i ferd med å fases ut i høyinntektsland til fordel for andre generasjons DAA-er (2).

Materialer som medfølger

Settets innhold

artus HCV QS-RGQ Kit			(72)
Katalognummer			4538366
Antall reaksjoner			72
Blå	Hepatitis C Virus Master A (Master A for hepatitt C-virus)	MASTER	3 x 820 µl
Fiolett	Hepatitis C Virus Master B (Master B for hepatitt C-virus)	MASTER	3 x 200 µl
Rød	Hepatitis C Virus RG QS 1 (RG QS 1 for hepatitt C-virus) (10^4 IU/µl)		200 µl
Rød	Hepatitis C Virus RG QS 2 (RG QS 2 for hepatitt C-virus) (10^3 IU/µl)		200 µl
Rød	Hepatitis C Virus RG QS 3 (RG QS 3 for hepatitt C-virus) (10^2 IU/µl)		200 µl
Rød	Hepatitis C Virus RG QS 4 (RS QS 4 for hepatitt C-virus) (10^1 IU/µl)		200 µl
Grønn	Hepatitis C Virus RG Internal Control (RG- internkontroll for hepatitt C-virus)	IC	2 x 1000 µl
Hvit	Water (PCR grade) (Vann (PCR-kvalitet))		1900 µl
	Handbook (Håndbok)		1

QS: kvantifiseringsstandard.

Reagensvolumene er optimalisert for partier á 24 prøver, herunder kvantifiseringsstandarder (QS 1 til 4) og en nulltemplatkontroll (no template control, NTC).

Færre eller et større antall prøver kan kjøres, men det vil bli suboptimal bruk av masterblandingen på grunn av behovet for å omfatte et dødvolum som er nødvendig for QIA-symphony SP/AS.

Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med

Før bruk må du passe på at instrumentene er kontrollert og kalibrert i henhold til produsentens anbefalinger. Dette settet krever bruk av QIA Symphony SP/AS og Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM-instrument* med egnet programvare (se nedenfor for detaljer).

Prøveklargjøring

- QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi-sett) (kat.nr. 937055)

Adaptere for QIA Symphony SP

- Elution Microtube Rack QS (Elueringsmikrorør QS) (kjøleadapter, EMT, v2, Qsym, kat.nr. 9020730)
- Tube Insert 3B (Rørrinnlegg 3B) (innlegg, 2,0 ml v2, prøvevogn (24), Qsym, kat.nr. 9242083)

Reagenser og forbruksartikler for QIA Symphony SP

- Sample Prep Cartridges (Prøveklargjøringskassetter), 8-brønns (kat.nr. 997002)
- 8-Rod Covers (8-stangdeksler) (kat.nr. 997004)
- Filter-Tips (Filterspisser), 1500 µl (kat.nr. 997024)
- Filter-Tips (Filterspisser), 200 µl (kat.nr. 990332)

* Eventuelt kan Rotor-Gene Q 5plex HRM-instrumenter med en produksjonsdato fra januar 2010 eller nyere brukes som et alternativ til Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM-instrumenter. Serienummeret på baksiden av instrumentet inneholder produksjonsdatoen. Serienummeret er i formatet «mmåånn» der «mm» angir produksjonsmåneden i tall, «åå» angir de siste to tallene i produksjonsåret, og «nnn» angir den unike instrument-ID-en.

- Elution Microtubes (Elueringsmikrorør CL) (kat.nr. 19588)
- Tip disposal bags (Poser for engangsspisser) (kat.nr. 9013395)
- Microtubes 2.0 ml Type H (Mikrorør 2,0 ml type H) eller microtubes 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 internkontroller
- BD tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (BD-rør 14 ml, 17 x 100 mm polystyren rundbunnet) (Becton Dickinson, kat.nr. 352051) for klargjøring av internkontroll

Adaptere for QIASymphony AS

- Reagent holder 1 QS (Reagensholder 1 QS) (kjøleadapter, reagensholder 1, Qsym, kat.nr. 9018090)
- RG Strip Tubes 72 QS (RG-remserør 72 QS) (kjøleadapter, RG-remserør 72, Qsym, kat.nr. 9018092)

Reagenser og forbruksartikler for QIASymphony AS

- Strip Tubes and Caps (Remserør og hetter), 0,1 ml (kat.nr. 981103)
- Tubes, conical (Rør, koniske), 2 ml, Qsym AS (kat.nr. 997102) eller Microtubes 2.0 ml Type I (Mikrorør 2,0 ml type I) (Sarstedt, kat.nr. 72.694.005)
- Tube, conical (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 (Elueringsmikrorør CL) (kat.nr. 19588)
- Filter-Tips (Filterspisser), 1500 µl (kat.nr. 997024)
- Filter-Tips (Filterspisser), 200 µl (kat.nr. 990332)
- Filter-Tips (Filterspisser), 50 µl (kat.nr. 997120)

- Tip disposal bags (Poser for engangsspisser) (kat.nr. 9013395)

Utstyr

- Pipetter (justerbare)* og sterile pipettespisser med filtre
- Vorteksmikser*
- Bordsentrifuge* med rotor for 2 ml reaksjonsrør, kan sentrifugere ved 6800 x g
- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM*[†] (kat.nr. 9002032) og Rotor-Gene Q programvareversjon 2.3 eller nyere
- QIA Symphony SP instrument (QIA Symphony SP-instrument) (kat.nr. 9001297)* og QIA Symphony AS instrument (QIA Symphony AS-instrument) (kat.nr. 9001301)* og QIA Symphony programvareversjon 4.0.3 eller nyere]

Eksterne fullstendige prosesskontroller

Eksterne fullstendige prosesskontroller (full process controls, FPC) er ikke påkrevd for å utføre *artus* HCV QS-RGQ-analysen, men positive og negative kontroller må rutinemessig testes i hvert laboratorium ifølge retningslinjer eller krav i lokale, regionale og/eller nasjonale bestemmelser eller akkrediteringsorganisasjoner.

En høy positiv fullstendig prosesskontroll (high positive full process control, H-FPC) og en lav positiv fullstendig prosesskontroll (low positive full process control, L-FPC) skal overvåke hele prosessen. En negativ fullstendig prosesskontroll (N-FPC) detekterer reagens- eller miljøkontaminering av HCV.

* Se til at instrumentene er kontrollert og kalibrert i henhold til produsentens anbefalinger.

[†] Hvis det er aktuelt, Rotor-Gene Q 5plex HRM-instrumenter som er produsert i januar 2010 eller senere. Serienummeret på baksiden av instrumentet inneholder produksjonsdatoen. Serienummeret er i formatet «mmåånn» der «mm» angir produksjonsmåneden i tall, «åå» angir de siste to tallene i produksjonsåret, og «nnn» angir den unike instrument-ID-en. † International Air Transport Association. Bestemmelser om farlig gods.

Det anbefales å teste negative og positive prosesskontroller for HCV i hver PCR-kjøring. Prosesskontrollene må behandles som prøver og utsettes for samme RNA-isoleringsprosedyre. Tidligere karakteriserte prøver kan brukes for dette formålet.

Advarsler og forholdsregler

Til bruk i in vitro-diagnostikk.

Les alle instruksjoner nøye før du bruker testen.

Se gjeldende sikkerhetsdatablader (safety data sheets, SDS) hvis du ønsker mer informasjon. Disse er tilgjengelige i praktisk og kompakt PDF-format på www.qiagen.com/safety, der du kan søke etter, vise og skrive ut sikkerhetsdatabladet for hvert QIAGEN-sett og hver settkomponent.

Hvis du ønsker sikkerhetsinformasjon for rensingssettet som brukes, kan du se relevant setthåndbok. Hvis du ønsker sikkerhetsinformasjon om instrumenter, kan du se brukerhåndboken for det aktuelle instrumentet.

Advarsler

- Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier.
- Bruk av dette produktet er begrenset til personale som har fått særlig instruksjon og opplæring i teknikkene for RT-PCR og in vitro-diagnostiske prosedyrer.
- Prøver skal alltid behandles som smittefarlige og/eller biologisk farlige i samsvar med sikre laboratorieprosedyrer.

- Bruk pudderfrie engangsvernehansker, laboratoriefrakk og øyevern ved håndtering av prøver eller settkomponenter.
- Det anbefales at det brukes separerte og segregerte arbeidsområder for prøveklargjøring, reaksjonsoppsett og amplifikasjons-/deteksjonsaktiviteter etter et 2-romskonsept som separerer prøveklargjøring og analyseoppsett fra amplifikasjon. Arbeidsflyten i laboratoriet skal fortsette på en ensrettet måte. Bruk alltid engangshansker i alle områder, og bytt dem før du går inn i et nytt område.
- Dediker forbruksvarer og utstyr til de separate arbeidsområdene, og flytt dem ikke fra område til område.
- Unngå kontaminasjon med mikrober og nuklease (DNase/RNase) av prøven og komponentene i settet.
- Bruk alltid DNase/RNase-frie engangspipettespisser med aerosolbarrierer.
- Lagre positivt og/eller potensielt positivt materiale separat fra alle andre komponenter i settet.
- Ikke åpne reaksjonsrørene etter amplifikasjon for å unngå kontaminering med amplikoner.
- Ikke bland komponentene fra sett med ulike partinumre.
- Bruk ikke komponenter i settet som har gått ut på dato.
- Kast prøve- og analyseavfall i henhold til lokale sikkerhetsprosedyrer.

Generelle forholdsregler

Vær alltid oppmerksom på følgende punkter:

- I løpet av manuelle trinn skal rørene holdes lukket der det er mulig for å unngå kontaminering.
- Alle komponenter tines grundig opp ved romtemperatur (15–25 °C) før analyse.
- Når komponentene er tint, kan de pipetteres gjentatte ganger opp og ned, eller blandes på pulsvorteksmisker og deretter sentrifugeres en kort stund.

Merk: Påse at det ikke finnes skum eller bobler i reagensrørene.

- Forsikre deg om at de nødvendige adapterne er forhåndskjølt til 2–8 °C.
- Arbeid hurtig og hold PCR-reagensene på is eller i kjøleblokken før lastning.
- Fortsett kontinuerlig fra én del av arbeidsflyten til den neste. Ikke overstig 30 minutters overføringstid mellom hver modul (QIAAsymphony SP/AS til Rotor-Gene Q-instrument).

Håndtering og oppbevaring av reagenser

Komponentene i *artus* HCV QS-RGQ Kit må lagres ved -15 til -30 °C. Master A og Master B kan gjenbrukes, men må ikke overstige høyst to fryse-tine-sykluser. Rørvolumene er optimalisert for partier à 24 reaksjoner.

QS 1-4 og IC er kontrollert for å forbli stabile i opp til seks fryse/tine-sykluser.

Reagensene er kontrollert for å være stabile på QIAAsymphony SP/AS for hele varigheten av prøveklargjøringen ved testing av største antall prøver i én kjøring (3-holders kjøring).

Prosedyre

Prøvetaking

1. Blod må tappes i standard prøvetakingsrør som inneholder EDTA.
2. Røret må blandes ved å vende 8 ganger uten å riste prøven før sentrifugering for å separere plasmaet.

Viktig: Hepariniserte humane prøver bør ikke brukes ettersom heparin kan være et forstyrrende stoff i denne analysen. Dette omfatter prøver som er tatt i rør som inneholder heparin så vel som prøver fra pasienter som har blitt behandlet med heparin.

Prøvetransport og -lagring

Prøver må sendes innen 24 timer fra prøvetaking i en splintsikker transportbeholder ved en temperatur på 2–8 °C ifølge juridiske anvisninger for transport av patogen materiale.*

Stabiliteten til fullblodsprøver (før sentrifugering) er kontrollert for følgende oppbevaringsvilkår:

- Romtemperatur (15–25 °C) i opp til 24 timer

Stabiliteten til EDTA-plasmaprøver (etter sentrifugering) er kontrollert for følgende oppbevaringsvilkår (herunder tiden nødvendig for transport):

- Romtemperatur (15–25 °C) i opp til 24 timer
- 2–8 °C i opp til 3 dager
- -15 til -30 °C (eller kaldere) i opp til 6 uker, herunder opp til 3 fryse/tine-sykluser

Prøveklargjøring

1. Plasser 1200 µl EDTA-plasma i et Sarstedt-mikrorør type H, 2,0 ml uten skjørt (kat.nr. 72.693) eller Sarstedt mikrorør type I, 2,0 ml med skjørt (kat.nr. 72.694)
2. Last inn på QIA Symphony SP/AS, og unngå å generere skum.

* International Air Transport Association. Bestemmelser om farlig gods.

Deteksjon av HCV-spesifikt RNA

Tabell 1. Generell informasjon om *artus* HCV QS-RGQ Kit

Sett	<i>artus</i> HCV QS-RGQ Kit (kat.nr. 4538366)
Prøvemateriale	EDTA-plasma
"Front-end"-rensing	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi-sett) (kat.nr. 937055)
Prøvevolum (inkludert overskytende volum)	1200 µl
Analyseparametersett	170221_APS_HCV_v2_plasma1000_V2
Standard analysekontrollsett	ACS_Cellfree1000_V7_DSP_artus_HCV_v2
Elueringsvolum	90 µl
Volum av internkontroll (IC) per prøve	9 µl
QIASymphony-programvareversjon	Versjon 4.0.3 eller nyere
Master mix-volum	25 µl
Templatvolum	25 µl
Antall reaksjoner	24–72* (herunder alle kontroller som skal lastes på QIASymphony SP og QIASymphony AS, dette tilsvarer 19–67 kliniske prøver)
Kjøretid på QIASymphony SP/AS	For 48 reaksjoner: ca. 205 minutter
Kjøretid på Rotor-Gene Q-instrument	Ca. 105 minutter

* Kontroller at grensen på 72 reaksjoner og 1 analysestativadapter ikke er oversteget. Unngå utvidet inkubasjonstid (> 30 minutter) mellom fullføring av analyseoppsettet og overføring til Rotor-Gene Q-instrumentet.

Prosedyre

Klargjøring av bærer-RNA og tilsetning av internkontroll i prøvene

Bruk av QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit i kombinasjon med *artus* HCV QS-RGQ Kit krever introduksjon av den interne kontrollen (Hep. C-virus RG IC) i renseprosedyren for å overvåke effektiviteten på prøveklargjøringen og downstream-analysen.

Internkontroll (Hep. C Virus RG IC), som følger med *artus* HCV QS-RGQ Kit, må tilsettes blandingen med bærer-RNA (CARRIER) / buffer-AVE (AVE). Det totale volumet av blandingen med internkontroll / bærer-RNA (CARRIER) / buffer-AVE (AVE) forblir 120 µl per prøve.

Tabell 2 gir reaksjonsblandingen for internkontrollen for prøven i et forhold på 0,1 µl per 1 µl elueringsvolum. Vi anbefaler å klargjøre ferske blandinger for hver kjøring rett før bruk.

Tabell 2. Klargjøring av bærer-RNA og internkontroll (Hep. C Virus RG-internkontroll)

Komponent	Reaksjoner	
	Volum (µl) for n≤13 i Sarstedt-rør*	Volum (µl) for n>13 i Corning®-rør†
Stamløsningsbærer-RNA (CARRIER)	5	5
Internkontroll (Hep. C Virus RG-internkontroll)	9	9
Buffer-AVE	106	106
Sluttvolum per prøve (unntatt dødsvolum)	120	120
Totalt volum for n prøver	(n × 120) + 360	(n × 120) + 600

* Mikrorør 2,0 ml type H og mikrorør 2,0 ml type I (Sarstedt, kat.nr. 72.693 og 72.694). Internkontrollblanding tilsvarende 3 ytterligere prøver (dvs. 360 µl) er nødvendig. Ikke fyll mer enn 1,92 ml totalt volum (tilsvarende høyst 13 prøver). Valgfritt hvis du bruker mer enn 13 reaksjoner, sett opp internkontrollblandingen i et større rør og last inn flere i 2,0 ml mikrorør. Kontroller at det for hvert rør tilsettes det påkrevde overskytende volumet av 3 ytterligere reaksjoner.

† Hvis du setter opp mer enn 13 reaksjoner, må du klargjøre IC-blandingen i et større rør (14 ml, 17 x 100 mm polystyren rundbunnet, Corning, kat.nr. 352051). IC-blanding tilsvarende 5 ytterligere prøver (dvs. 600 µl) er nødvendig. Ikke fyll mer enn 13,92 ml totalt volum (tilsvarende høyst 111 prøver).

Komme i gang på QIASymphony SP/AS-instrumentene

1. Lukk alle skuffer og hetter.
2. Slå på QIASymphony SP/AS-instrumentene, og vent til skjermbildet Sample Preparation (prøveklargjøring) vises og oppstartsprosedyren er fullført.
3. Logg inn på instrumentet (skuffer låses opp).

Rensing av viralt RNA

artus HCV QS-RGQ Kit er validert med et rensetrinn for viralt RNA utført på QIASymphony SP ved hjelp av et QIASymphony DSP Virus/Pathogen-sett. Du finner mer informasjon i *håndboken for QIASymphony DSP Virus/Pathogen (QIASymphony DSP Virus/Pathogen Handbook)* om hvordan du klargjør reagenskassetten for prøverensettrinnet på QIASymphony SP.

Analysekontrollsett og analyseparametersett

Analysekontrollsett er kombinasjonen av en protokoll pluss ytterligere parametere, f.eks. IC, for prøverensing på QIA Symphony SP. Et standard analysekontrollsett er forhåndsinstallert for hver protokoll.

Analyseparametersett er kombinasjonen av en analysedefinisjon med ytterligere parametere definert, f.eks. replikattelling og antall analysestandarder, for analyseoppsett på QIA Symphony AS.

For integrerte kjøringar på QIA Symphony SP/AS er analyseparametersettet direkte bundet til et foregående analysekontrollsett som angir den tilknyttede prøverensingsprosessen.

Protokoll: RNA-isolering og analyseoppsett på QIA Symphony SP/AS

Viktige punkter før du starter

- Forsikre deg om at du er kjent med betjeningen av QIA Symphony SP/AS-instrumentene. Se brukerhåndbøkene som leveres med instrumentet og forsikre deg om at versjonene er som angitt i studieprotokollen.
- Før en reagenskasset (RC) tas i bruk for første gang, må du kontrollere at bufferne QSL2 og QSB1 i RC ikke har bunnfall. Fjern om nødvendig karene med bufferne QSL2 og QSB1 fra RC og inkuber i 30 minutter ved 37 °C og rist innimellom for å løse opp bunnfallet. Sørg for å sette karene tilbake i riktig posisjon. Hvis RC allerede er stukket hull på, må du sørge for at karene forsegles med gjenbrukbare tetningsremser, inkubere hele RC i 30 minutter ved 37 °C og riste innimellom i et vannbad.*
- Unngå kraftig risting av RC-en fordi det kan dannes skum som gir problemer med deteksjon som følge av væsknivået.
- Arbeid hurtig og hold PCR-reagensene på is eller i kjøleblokken før lastning.
- Reagensvolumene er optimalisert for 3 x 24 reaksjoner per sett. Færre eller flere prøver kan kjøres, men suboptimal bruk av tilgjengelig master mix-volum vil forekomme på grunn av det beregnede dødvolum påkrevd for QIA Symphony.
- Før hver bruk må alle reagensene være tint fullstendig, blandet (ved gjentatt opp- og nedpipettering, vending eller hurtig vorteksmiksing) og sentrifugert i minst 3 sekunder ved 6800 x g. Unngå skumming av reagensene.
- Eluater fra prøveklargjøringen og alle komponenter i *artus* HCV QS-RGQ Kit har vist seg å være stabile på instrumentet i minst den normale tiden påkrevd for prøverensing for 67 prøver og analyseoppsett av 72 reaksjoner, herunder opp til 30 minutter overføringstid fra QIA Symphony SP/AS til Rotor-Gene Q-instrumentet.

* Påse at instrumentene er kontrollert, vedlikeholdt og kalibrert regelmessig i henhold til produsentens anvisninger.

Dette må du gjøre før du starter

- Klargjør alle nødvendige blandinger. Klargjør ved behov blandinger som inneholder bærer-RNA (CARRIER) og internkontroller rett før start.
- Før prosedyren påbegynnes, må du sikre at de magnetiske partiklene er helt resuspendert. Roter karet som inneholder magnetpartiklene, kraftig i minst 3 minutter før første gangs bruk.
- Før du laster inn RC-en, må du fjerne dekslet fra karet inneholde de magnetiske partiklene og åpne enzymrørene. Kontroller at enzymstativet er balansert til romtemperatur 15–25 °C).
- Kontroller at det perforerte lokket (piercing lid, PL) plasseres på RC-en, og at lokket på karet med de magnetiske partiklene er fjernet eller, hvis du benytter en delvis brukt RC, sørg for at de gjenbrukbare tetningsremsene er fjernet.
- Hvis prøvene er strekkodet, må du rette inn prøvene i rørholderen slik at strekkodene vender mot strekkodeleseren i skuffen «Sample» (prøve) på venstre side av QIASymphony SP.

Oppsett av QIASymphony SP

Skuffen «Waste» (avfall)

Enhetsbokholder 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 µl Innledende elueringsvolum: 90 µl

* 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 forbruksartikler)

Reagenskassett (RC) posisjon 1 og 2	Last inn 1 reagenskassett (RC) i opp til 48 prøver eller 2 nye reagenskassetter (RC) i opp til 67 prøver
Spisstativholder posisjon 1–4	Last inn tilstrekkelig stativer med engangsfilterspisser, 200 µl (se påkrevde plastartikler i tabellen på neste side)
Spisstativholder posisjon 5-18	Last inn tilstrekkelig stativer med engangsfilterspisser, 1500 µl (se påkrevde plastartikler i tabellen på neste side)
Enhetsbokholderposisjon 1–3	Last 3 enhetsbokser som inneholder prøveklargjøringspatroner
Enhetsbokholder posisjon 4	Last 1 enhetsboks som inneholder 8-stangdeksler

Skuffen «Sample» (prøve)

Prøvetype	EDTA-plasma
Prøvevolum (inkludert overskytende volum)	1200 µl
Prøverør	Mikrorør 2,0 ml type H eller mikrorør 2,0 ml type I (Sarstedt, kat.nr. 72.693 og 72.694).
Innlegg	Rørinlegg 3B (kat.nr. 9242083)

Påkrevede plastartikler for 1–3 prøvepartier

	Ett parti, 24 prøver*	To partier, 48 prøver*	Tre partier, 67 prøver*
Filterspisser til engangsbruk, 200 µl††	28	52	76
Filterspisser til engangsbruk, 1500 µl††	113	206	309
Prøveklargjøringskassetter§	21	42	54
8-stangdeksler¶	3	6	9

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

† Det er 32 filterspisser/spisstativ.

‡ Antall påkrevede filterspisser omfatter filterspisser for 1 beholdningsskanning per reagenskasset.

§ Det er 28 prøveklargjøringskassetter/enhetseske.

¶ Det er tolv 8-stangdeksler/enhetseske.

Prosedyre ved bruk av QIASymphony SP/AS

Rensing av viralt RNA på QIASymphony SP

1. Lukk alle skuffer og hetter på QIASymphony SP/AS-instrumentet.
2. Slå på instrumentet, og vent til skjermbildet Sample Preparation vises og oppstartsprosedyren er fullført.
Strømbryteren befinner seg nederst i venstre hjørne på QIASymphony SP.
3. Logg på instrumentet.
4. Klargjør følgende skuffer ifølge avsnittet om «Oppsett av QIASymphony SP» på side 22.
 - Skuffen «Waste» (avfall), og når denne er klargjort, utfører du en inventarskanning.
 - Skuffen «Eluate» (eluat), og når denne er klargjort, utfører du en inventarskanning.
 - Skuffen «Reagents and Consumables» (reagenser og forbruksvarer), og når denne er klargjort, utfører du en inventarskanning.
 - Skuffen «Sample» (prøve)

5. Bruk oppsettet «Integrated run» (integreert kjøring) på QIA Symphony-berørings skjermen, og legg inn opplysningene som kreves for hvert parti med prøver som skal behandles. Velg et analyseparametersett for kjøringen, og tilordne det til det tilsvarende partiet analyseoppsett (AS) i prøvene.
6. Informasjon om analyseparametersettet og forhåndsvalgt elueringsvolum gis i **Tabell 2**. Du finner mer informasjon om utføring av integrerte kjøring ved bruk av QIA Symphony SP i instrumentets brukerhåndbok.
7. Når du konfigurerer en integrert kjøring, må du kontrollere for riktig tilordning av prøvelaboratorieutstyr, prøvetype og volumer.
Informasjon om forbruksartikler og komponenter som må lastes i hver skuff, gis i avsnittet ovenfor.
8. Etter at informasjon om alle partier av den integrerte kjøringen er angitt, klikker du på knappen «Ok» (ok) for å avslutte oppsettet «Integrated run» (integreert kjøring). Status for alle partier i oversikten over integrert kjøring vil endre seg fra «LOADED» (lastet) til «QUEUED» (i kø). Så snart ett parti er satt i kø, vises knappen Run (kjør). Trykk på knappen for å starte prosedyren.
Alle behandlingstrinn er helautomatiserte.

Oppsett av QIASymphony AS

Forbruksartikler

Under oppsettet angis egnede posisjoner for hver forbruksartikkel på QIASymphony AS-modulen på berørings skjermen på instrumentet.

Forbruksvarer	Navn på berørings skjermen	For bruk med adapter/reagensholder
Remserør og hetter, 0,1 ml (250)	QIA#981103 Strip Tubes 0.1*	RG-remserør 72 QS
Slanger, koniske, 2 ml, Qsym AS (500) ^{††}	QIA#997102 T2.0 Screw Skirt* [§]	Reagensholder 1 QS
Slange, konisk, 5 ml, Qsym AS (500) ^{††}	QIA#997104 T5.0 Screw Skirt* [§]	Reagensholder 1 QS
Elueringsmikrorør CL (24 × 96)	QIA#19588 EMTR*	Stativ for elueringsmikrorør QS

* Angir laboratoriestyr som kan kjøles ved hjelp av en kjøleadapter med strekkode.

† For master mix-komponenter, systemklargjort master mix, analysestandarder og analysekontroller.

‡ Alternativt kan Sarstedt-rør beskrevet i «Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med», side 10, brukes.

§ Suffikset «(m)» på berørings skjermen angir at væsknivåberegninger for respektive rør er optimalisert for reagenser som danner en konkav menisk.

Adaptore og reagensholdere

Stativ-/reagensholder	Navn	Nødvendig antall
Prøvestativ	Stativ for elueringsmikrorør QS	1
Reagensholdere	Reagensholder 1 QS	1
Analysestativer	RG-remserør 72 QS	1

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

Filterspisser

Last inn spisstativer fra spisspor 1, 2 og 3 i skuffen «Eluate and Reagents» (eluat og reagenser), og last deretter inn spisstativer i spisspor 7, 8, og 9 i skuffen «Assays» (analyser).

Forbruksvare	Navn på berørings skjermen	Minimumsantall for 24 reaksjoner	Minimumsantall for 72 reaksjoner
Filterspisser, 1500 µl (1024)	1500 µl	5	6
Filterspisser, 200 µl (1024)	200 µl	10	10
Filterspisser, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Spissavfallspiser	–	1	1

Laste QIASymphony AS-skuffer for analyseoppsett

1. Når en integrert kjøring er satt i kø, åpner du QIASymphony AS-skuffene. Komponentene som må lastes, vises på berørings skjermen.
2. Gjør alltid følgende før en integrert kjøring:
 - Sett inn spissrennen.
 - Kast spissavfallspisen.

- Sett inn en tom spissavfallspose.
3. Definer og sett inn analysestativ(er). Analysestativ(er), i forhåndskjølt(e) adapter(e), er lastet inn på spor(ene) «Assay» (analyse). Informasjon om analysestativer gis i forrige avsnitt.
 4. Kontroller temperaturen på kjøleposisjonene.
Når målkjøletemperaturene er nådd, vil den lille stjernen ved siden av hver åpning vises i grønt.
 5. Fyll hvert reagensrør med det nødvendige volumet av riktig reagens ifølge lasteinformasjonen som gis av instrumentets programvare.

Merk: Før hver bruk må alle reagensene, unntatt Master Mix B, være tint fullstendig, blandet (ved gjentatt opp- og nedpipettering, vending eller hurtig blanding på vorteksmikser) og sentrifugert i minst 3 sekunder ved 6800 x g. Unngå bobler eller skumming ettersom dette kan forårsake deteksjonsfeil. Arbeid hurtig og hold PCR-komponenter på is eller i kjøleblokken før lasting.

Merk: Viskøse reagenser kan være vanskelige å håndtere med manuelle pipetter. Påse å overføre tiltenkt volum av hovedblandingen i røret.

6. Det anbefales å skanne inn analysesettinformasjonen for å gi mulighet for optimal reagenssporbarhet. Slik gjør du dette:
 - Trykk på knappen «Scan Kit Barcode» (skann settstrekkode) på berøringsskjermen, og trykk på den lyseblå settstrekodelinjen.
 - Trykk på tekstfeltet og bruk den håndholdte strekkodeleseren til å skanne settstrekoden på øvre side av *artus* HCV QS-RGQ Kit.
7. Last reagensholderen og plasser reagensrør, uten lokk, i egnede posisjoner i den forhåndskjølte adapteren for reagenser.
8. Last filterspisser til engangsbruk i skuffene «Eluate and Reagents» (eluat og reagenser) og «Assays» (analyser) ifølge påkrevd antall av hver spisstype.
9. Lukk skuffene «Eluate and Reagents» (eluat og reagenser) og «Assays» (analyser).

10. Når du lukker hver skuff, må du trykke på «Scan» (skann) for å starte inventarskanningen for hver skuff.

Inventarskanningen kontrollerer åpningene, adapterne, filterspissene og spissrennen samt riktig lasting av spesifikke reagensvolumer. Korrigjer feil ved behov.

Analyseoppsettet starter automatisk når rensetrinnet på QIASymphony SP er fullført og eluatstativene er overført til QIASymphony AS.

11. Når kjøringen er ferdig, trykker du på «Remove» (fjern) på skjermbildet for analyseoppsett «Overview» (oversikt). Åpne skuffen «Assays» (analyser) og last ut analysestativ(ene).

Fjern de resterende *artus* HCV QS-RGQ-reagensene fra QIASymphony AS og kasser i samsvar med lokale krav.

12. Last ned resultatet og syklerfiler (valgfritt).

13. Overfør kjøringssyklusfilen til Rotor-Gene Q-instrumentet ved å bruke QIASymphony-administrasjonskonsollen (QIASymphony Administration Console, QMC) eller ved å laste ned til en USB-pinne.

- På brukergrensesnittet for prøveklargjøringen velger du fanen «In-/Output Files» (inn-/utgangsfiler).
- Sett inn USB-pinnen og velg «Cycler files» (syklerfiler) og overfør.
- Skjermmeldingen må bekrefte overføringen, velg ok og fjern USB-pinnen som nå inneholder de nedlastede filene.

14. Gå videre til «Protokoll: RT-PCR på Rotor-Gene Q-instrumentet» på neste side.

15. Utfør det regelmessige vedlikeholdet av QIASymphony AS under PCR-kjøringen på Rotor Gene Q-instrumentet eller senere.

Siden arbeidsflyten er en integrert prosedyre, må du rengjøre alle instrumenter på slutten av den fullførte arbeidsflyten.

Følg vedlikeholdsinstruksjonene i «*brukerhåndboken for QIASymphony SP/AS – Generell beskrivelse*». Påse at vedlikehold utføres regelmessig for å begrense risikoen for krysskontaminering.

Protokoll: RT-PCR på Rotor-Gene Q-instrumentet

Viktige punkter før du starter

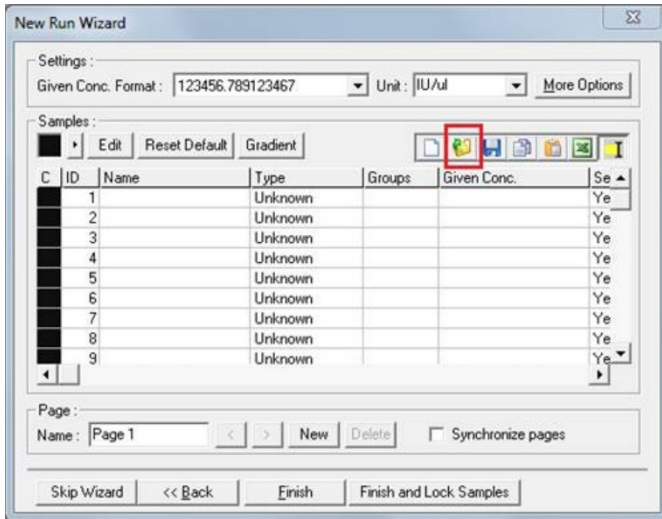
- Ta deg tid til å gjøre deg kjent med Rotor-Gene Q-instrumentet før du starter protokollen. Se instrumentets bruksanvisning.
- Analyseoppsettet krever at alle fire kvantiteringsstandarder i tillegg til minst én negativ kontroll (vann av PCR-kvalitet) er inkludert i hver PCR-kjøring.

Prosedyre ved bruk av Rotor-Gene Q-instrumentet

1. Velg 72-brønners rotoren i vinduet «New Run Wizard» (veiviser for ny kjøring).
2. Klikk i boksen «Locking ring attached» (låsering festet) på oppsettsiden.
3. Klikk på knappen «Next» (neste) og bekreft kjøringssparametrene.
4. Kontroller at forsterkningsoptimaliseringen er stilt inn på QS1
5. Angi operatør-ID-detalljer og reaksjonsvolum (50 µl)
6. Klikk på knappen «Start» for å begynne PCR-kjøringen.
7. Navngi prøvene

Merk: Det anbefales at prøve-ID-listen overføres elektronisk fra QIA-symphony SP/AS til Rotor-Gene Q-instrumentet for å hindre dataoppføringsfeil.

8. Overfør relevant syklerfil til et lokalt område på datamaskinen
9. Velg ikonet «Open file» (åpne fil) (se skjermbilde på neste side) på prøvenavngivingsmeldingen, og lokaliser og åpne deretter den relevante syklerfilen.



10. Når prøvene er navngitt, klikker du på «Finish» (fullfør).

11. Lukk PCR-rørene, og plasser rørene i den 72-brønners rotoren på Rotor-Gene Q.

Påse at Rotor-Gene Q 4-remserørene overføres med riktig orientering slik at posisjonen til kjøleadapteren og rotoren samsvarer.

Merk: Påse at låseringen, som er tilbehør til Rotor-Gene Q-instrumentet, er plassert øverst på rotoren for å forhindre utilsiktet åpning av rørene under analysen.

12. For deteksjon av HCV RNA oppretter du en temperaturprofil som beskrevet i Tabell 3.

13. Sikre at innstillingene for forsterkningsoptimalisering er forenlig med dem som er gitt i Tabell 4 og anvendes på rørposisjonen som inneholder QS1 (dette er røret etter den siste testprøven fra QIA Symphony SP).

14. Start kjøringen.

Tabell 3. Kjøringsparametere for Rotor-Gene Q-instrument

Trinn	Temperatur (°C)	Varighet	Innsamlingskanaler	Antall sykluser
Trinn for omvendt transkripsjon (RT)	50	10 min	ikke relevant	1
Initiell denaturering/ enzymaktivert	95	2 min	ikke relevant	1
Denaturering	95	10 s	ikke relevant	
Hybridisering	55	20 s	ikke relevant	45
Elongering	72	20 s	Mål: Grønn Internkontroll: Oransje	

Tabell 4. Innstillinger for forsterkningsoptimalisering

Sett temperatur til: 72°C					
Utfør optimalisering før første registrering (påse at det er merket)					
Kanalinnstillinger for automatisk forsterkningsoptimalisering					
Kanal	Rørposisjon	Minste avlesning	Største avlesning	Minste forsterkning	Største forsterkning
Grønn	QS1	5 FI	10 FI	-10	10
Oransje	QS1	5 FI	10 FI	-10	10

Analyseinnstillinger

Denne delen beskriver analyseinnstillinger i Rotor-Gene Q-programvaren (2.3. eller nyere) etter at kjøringen er ferdig. Bruk av samme analyseinnstillinger sikrer konsekvent analyseytelse og gir mulighet for sammenligning av resultater mellom forskjellige kjøringer.

Tabell 5. Kjøringsanalyseparametere for *artus* HCV QS-RGQ Kit

Kanal	Lineær skala	Dynamisk rør	Terskel	Ignorer første	Riktig helling	Avviksfjerning (reaksjoneffektivitetterskel)
Grønn (FAM)	Valgt	Valgt	0,02	10	av	I/R
Oransje (Texas rød)	Valgt	Valgt	0,02	15	av	I/R

I/R: ikke relevant

Kjørings- og prøvegyldighetskriterier

Resultattolkning vil bli utført for alle PCR-kjøringer ved bruk av Rotor-Gene Q-programvaren. Kjørings- og prøvegyldigheten vil bli vurdert som beskrevet i Tabell 6, Tabell 7 og Tabell 8 ved å undersøke utdataene fra Rotor-Gene Q-instrumentet. Bare gyldige prøveresultater fra gyldige kjøringer må brukes i den etterfølgende analysen.

Tabell 6. Kjøringsgyldighetskriterier

Kontrollparameter	Grønne (FAM) kanalkriterier	Oransje (Texas-rød) kanalkriterier
Ingen templatkontroll (NTC)	Ingen amplifikasjon	C, 26.30–33.60
QS1	Amplifikasjon	Amplifikasjon*
QS2	Amplifikasjon	Amplifikasjon
QS3	Amplifikasjon	Amplifikasjon
QS4	Amplifikasjon	Amplifikasjon

* I sjeldne tilfeller kan en svært høy HCV-virusmengde forårsake at internkontrollen (internal control, IC) svikter. Hvis IC for QS1 ikke amplifiseres, men andre gyldighetskriterier i analysen er oppfylt, skal kjøringen behandles som gyldig.

Tabell 7. Kjøringsgyldighetskriterier for standardkurven

Kontrollparameter	Kriterier
R^2	≥ 0.990
Skjæringspunkt («B») C_i	30.75–34.43

Gyldigheten for de individuelle prøvene er vist i Tabell 8 og gjelder etter at kjøringen har blitt bestemt som gyldig i samsvar med kriteriene i Tabell 6 og Tabell 7.

Tabell 8. Prøvegyldighetskriterier

Prøve	Grønne (FAM) kanalkriterier	Oransje (Texas-rød) kanalkriterier
HCV ikke detektert	Ingen amplifikasjon	$\geq 25,00 C_i^*$
HCV detektert ≤ 2000 IE/ml	Amplifikasjon	$\geq 25,00 C_i^*$
HCV detektert > 2000 IE/ml	Amplifikasjon	$\geq 25,00 C_i^{\dagger}$

* Deltaet mellom internkontrollen (IC) for nulltemplatkontrollen (NTC) og internkontrollen (IC) for prøven må være $< 3,50 C_i$ ($\Delta C_i IC = C_i IC_{\text{Prøve}} - C_i IC_{\text{ICNTC}}$).

† I sjeldne tilfeller kan en svært høy HCV-virusmengde forårsake at IC svikter, men hvis den bestemte HCV-konsentrasjonen er innenfor det lineære området ($\leq 1 \times 10^8$ IU/ml) for analysen, skal prøven deretter behandles som gyldig.

Resultater for fullstendige prosesskontroll

Ekstern fullstendig prosesskontroll (FPC) er valgfritt, men anbefalt. *artus* HCV QS-RGQ-analysen gir ikke faste regler for analysen av FPC ettersom FPC-ene er klassifisert som prøver og skal leveres og inkluderes etter lokale, regionale og nasjonale bestemmelser.

Hvis de er inkludert, må du sikre:

- at den høye FPC (H-FPC) rapporterer et HCV-positivt prøveresultat innen forhåndsdefinerte spesifikasjoner
- at den lave FPC (L-FPC) rapporterer et HCV-positivt prøveresultat innen forhåndsdefinerte spesifikasjoner
- at den negative FPC (N-FPC) rapporterer et HCV-negativt prøveresultat

Hvis resultater for H-FPC, L-FPC eller N-FPC faller utenfor spesifikasjonene forhåndsdefinert av laboratoriet, må du følge etablerte standardprosedyrer for en analyse av hovedårsaken og den egnede evalueringen av prøve- og kjøringsgyldighetsstatusen.

Kvantifisering

Kvantifiseringsstandardene (Hep. C Virus RG QS 1–4) i *artus* HCV QS-RGQ Kit behandles som tidligere rensede prøver, og det brukes et prøvevolum på 25 µl. Hvis du vil generere en standardkurve på Rotor-Gene Q-instrumenter, må alle fire kvantifiseringsstandarder brukes og defineres i dialogboksen «Edit Samples» (rediger prøver) på Rotor-Gene Q-instrumentet som standarder med de angitte konsentrasjonene (du finner mer informasjon i instrumentets brukerhåndbok).

Merk: Kvantifiseringsstandarder er kalibrert mot den internasjonale standarden for HCV som bestemt av Verdens helseorganisasjon (World Health Organization, WHO). De angitte verdiene angis i IE/µl, og følgende ligning må brukes til å konvertere verdiene oppnådd fra standardkurven i IE/µl til IE/ml for å rapportere HCV-konsentrasjonen i prøven.

$$\text{Resultat (IE/ml)} = \frac{\text{Resultat (IE/}\mu\text{l)} \times \text{Initielt elueringsvolum (90 }\mu\text{l)}}{\text{Prøvevolum (1 ml)}}$$

Tolkning av resultater

artus HCV QS-RGQ Kit-analysen er beregnet brukt i forbindelse med pasientens kliniske presentasjon og bestemmelse av andre laboratoriemarkører. Dette settet kan brukes for å være sikker på sykdomsprognose og også som en hjelp i vurderingen av virusrespons på antiviral behandling som målt ved endringer i HCV RNA-nivåer i humant EDTA-plasma ved baseline, under behandling og ved endt behandling.

Tabell 9. Tolkning av analyseresultater med *artus* HCV QS-RGQ-settet

Signal detektert i grønn kanal	Signal detektert i oransje kanal	Kvantitativt resultat (IE/ml)	Tolkning
Ja	$\geq 25,00^*$	< 15	Gyldig resultat: HCV RNA detektert, < 15 IE/ml, kvantitering er ikke mulig siden det kvantitative resultatet er under det lineære området av analysen.
Ja	$\geq 25,00^*$	≥ 15 og ≤ 2000	Gyldig resultat: HCV RNA detektert ved den beregnede konsentrasjonen. Kvantitativt resultat er innenfor det lineære området av analysen.
Ja	$\geq 25,00^\dagger$	> 2000 og $\leq 1 \times 10^8$	Gyldig resultat: HCV RNA detektert ved den beregnede konsentrasjonen. Kvantitativt resultat er innenfor det lineære området av analysen.
Ja	Ja/Nei [†]	> 1×10^8	Gyldig resultat: HCV RNA detektert. Kvantitering er ikke mulig siden kvantiteringen er over det lineære området av analysen.
Nei	$\geq 25,00^*$	0	Gyldig resultat: Ingen HCV RNA detektert.
Nei	Nei	-	Ugyldig resultat: Ingen resultater kan fastslås.

* Deltaet mellom internkontrollen (IC) for nulltemplatkontrollen (NTC) og IC for prøven må være < 3,50 C_t ($\Delta C_{TIC} = C_t IC_{Prøve} - C_t IC_{NTC}$).

† I sjeldne tilfeller kan en svært høy HCV-virusmengde forårsake at IC svikter. Hvis den bestemte HCV-konsentrasjonen er innenfor det lineære området av analysen, skal prøven behandles som gyldig.

Ytelsesegenskaper

Blindgrense og spesifisitet

Blindgrensen (limit of blank, LOB) er definert som det høyeste målingsresultatet som sannsynligvis vil bli observert for en blindprøve. For *artus* HCV QS-RGQ Kit er en egnet parameter å analysere for LOB endepunkt-fluorescensintensiteten i testkanalen. Fluorescensnivåene for negative prøver må forbli under en gitt terskelverdi (f.eks. 0.02) for å generere funnet «HCV RNA Not Detected» (HCV RNA ikke detektert).

Testytelsen ved bruk av negative prøver bestemmer sannsynligheten for potensielt falske positive resultater.

I alt 120 HCV-seronegative EDTA-plasmaprøver fra individuelle donorer ble analysert ved bruk av *artus* HCV QS-RGQ-arbeidsflyten. Ingen av de 120 prøvene genererte en C_t -verdi før syklus 45, og alle ble bestemt som «HCV RNA Not Detected» (HCV RNA ikke detektert). Spesifisiteten til *artus* HCV QS-RGQ Kit for HCV-seronegative prøver var derfor 100 % med en LOB ved syklus 45 ved bruk av en terskel satt til 0,02.

Deteksjonsgrense (LOD)

LOD for *artus* HCV QS-RGQ Kit ble bestemt ved bruk av den 5. internasjonale standarden fra WHO for HCV (NIBSC-kode 14/150) og fulgte veiledning EP17-A2 (5) fra CLSI. LOD ble definert som den laveste mengden analytt i en prøve som detekteres med en 95 % sannsynlighet. WHO's 5. internasjonale standard for HCV ble brukt til å klargjøre et sett med seks seriefortynninger fra 69,5 IE/ml i EDTA-plasma. LOB ble bekreftet å være 0 IE/ml som bestemt av en analyse av HCV-seronegative prøver.

I alt 102 replikater per konsentrasjonsnivå (101 replikater hver for 9 IE/ml og 15 IE/ml) ble testet på sju QIA Symphony- og sju Rotor-Gene Q-instrumenter over tre studiedager. Alle

replikater av hver fortyning ble testet i en enkelt PCR-kjøring. Testen ble utført ved bruk av tre forskjellige partier av *artus* HCV QS-RGQ Kit, der hvert parti ble brukt på de tre forskjellige dagene av tre forskjellige operatører.

En probit-regresjon med SAS®-programvare ble utført, og den 95 % LOD-verdien ble bestemt i tillegg til treffraten ved 15 IE/ml. Resultatene er vist i Tabell 10 og Tabell 11.

Tabell 10. Deteksjonsgrenseanslag ved probit-analyse med tosidig 95 % konfidensgrense

Deteksjonsgrense (LOD) -anslag	Nedre tosidig 95 % konfidensgrense	Øvre tosidig 95 % konfidensgrense
10,66	8,90	14,21

Tabell 11. Sammendrag av treffrate med øvre ensidig 95 % konfidensgrense

Nominell IE/ml	Frekv. treff / totalt ant. repl.	Treffrate (%)	Treffrate øvre ensidig 95 % konf. grense (%)	Gjenno msnittlig bereg. IE/ml	Gjenno msnittli gbereg n.log ₁₀ IE/ml	SD beregn. log ₁₀ IE/ml	Avvik	FDD	TAE
5,40	84/102	82,35	88,27	7,87	0,90	0,243	0,16	4,86	0,65
9,00	91/101	90,10	94,53	12,30	1,09	0,312	0,14	7,64	0,76
15,00	99/101	98,02	99,65	19,31	1,29	0,295	0,11	6,85	0,70
25,00	102/102	100,00	100,00	36,67	1,56	0,191	0,17	3,48	0,55
41,70	102/102	100,00	100,00	56,55	1,75	0,187	0,13	3,39	0,51
69,50	102/102	100,00	100,00	103,64	2,02	0,178	0,17	3,18	0,53

Bereg.: beregnet, konf.: konfidens, FFD (fold detectable difference, FFD): foldet detekterbar forskjell, Frekv.: frekvens, Ant.: antall, repl.: replikater, SD (standard deviation, SD): standardavvik, TAE (total analytical error, TAE): totale analytiske feil.

Deteksjonsgrense for hepatitt C-virus genotype 2 til 6

Verifiseringsstrategien var basert på veiledningen gitt i CLSI-veiledning EP17-A2 (5). For å kontrollere LOD og den nedre kvantifiseringsgrensen (lower level of quantification, LLOQ) ved 15 IE/ml ble hver HCV-genotype fra 2 til 6 testet med 60 replikater ved en konsentrasjon på 15 IE/ml. Kliniske prøver som representerer hver genotype, ble fortynnet for å gi den tiltenkte konsentrasjonen før testing med *artus* HCV QS-RGQ Kit. Denne testen ble utført med tre forskjellige partier av *artus* HCV QS-RGQ Kit ved bruk av tre forskjellige QIA Symphony- og Rotor-Gene Q-instrumentssystemer. Treffraten og den øvre ensidige 95 % konfidensgrensen for HCV-genotyper 2 til 6 ved en nominell konsentrasjon på 15 IE/ml er vist i Tabell 12.

Tabell 12. Sammendrag av treffrate for hepatitt C genotype 2 til 6 ved 15 IE/ml, herunder den øvre ensidige 95 % konfidensgrensen.

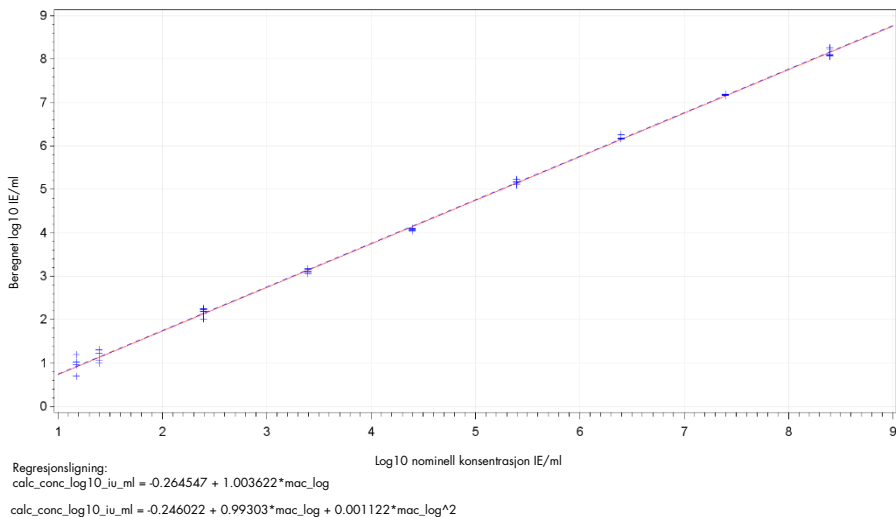
Hepatitt C-virusgenotype	Nominell IE/ml	Frekvenstreff/ totalt ant. repl.	Andel treff (%)	Øvre ensidig 95 % konfidensgrense
2	15	58/60	96,67	99,40
3	15	60/60	100,00	100,00
4	15	58/60	96,67	99,40
5	15	55/59	93,22	97,65
6	15	56/58	96,55	99,38

HCV: hepatitt C-virus.

Lineært område og kvantiteringsgrense

Det lineære området i *artus* HCV QS-RGQ Kit ble bestemt etter anbefalinger i CLSI-veiledning EP06-A (6). Dette involverte klargjøring av 10 seriefortynninger av belagte in vitro-transkripsjon (IVT) RNA-konstruksjoner som var representative for HCV genotype 1 til 6. Hver konstruksjon ble seriefortynnet i negativt EDTA-plasma for å teste det lineære arbeidsområdet av analysen. Testede konsentrasjoner var fra 15 IE/ml til 1×10^8 IE/ml. Prøver ble analysert ved bruk av *artus* HCV QS-RGQ Kit, og hvert fortynningsnivå ble testet i seks replikater. Figur 1

viser det grafiske utgangs- og regresjonsdiagrammet for HCV genotype 1 som et eksempel ettersom dette er den mest prevalente genotypen i den europeiske populasjonen.



Figur 1. Beregnet log₁₀ IE/ml vs log₁₀ IE/ml nominell konsentrasjon for HCV genotype 1. Den heltrukne røde linjen representerer den lineære regresjonslinjen, og den stiplede blå linjen representerer den kvadratiske regresjonslinjen.

Det lineære området i *artus* HCV QS-RGQ V2 Kit ble bestemt å dekke konsentrasjoner fra 15 IE/ml til 1×10^8 IE/ml HCV i EDTA-plasma for genotype 1–6. LLOQ ble definert som den laveste konsentrasjonen i det lineære området som har en total analytisk feil (TAE: $2 \times \text{standardavvik [SD]} + [\text{Skjevhet}]$) på $\leq 1,0 \log_{10}$ IE/ml. Dataene generert for verifiseringen av LOD i analysen ble brukt til å beregne foldet detekterbar forskjell [(FDD): $10^{((\text{Total SD}) * \sqrt{2} * 2))}$] samt TAE ved 15 IE/ml. Slik det fremgår av Tabell 13, viste HCV genotype 1 til 6 en TAE på $\leq 1,0 \log_{10}$ IE/ml ved 15 IE/ml.

Tabell 13. Treffrate, beregnet hepatitt C-viruskonsentrasjon (IE/ml), foldet detekterbar forskjell (FDD) og total analytisk feil (TAE) ved 15 IE/ml

HCV-genotype	Nominell IE/ml	Frekv. treff / totalt ant. repl.	Gjennomsnitt lig beregn. IE/ml (geometrisk gjennomsnitt)	Gjennomsnittlig beregn. log ₁₀ IE/ml	SD beregn. log ₁₀ IE/ml	Avvik	FDD	TAE
1 (WHO*)	15,00	99/101	19,31	1,29	0,295	0,11	6,85	0,70
2	15,00	58/60	21,00	1,32	0,258	0,15	5,37	0,66
3	15,00	60/60	10,77	1,03	0,403	-0,14	13,77	0,95
4	15,00	58/60	15,94	1,20	0,250	0,03	5,09	0,53
5	15,00	55/59	9,59	0,98	0,290	-0,19	6,61	0,77
6	15,00	56/58	17,10	1,23	0,273	0,06	5,94	0,60

* WHO's 5 internasjonale standard for HCV (NIBSC-kode 14/150).

FDD: foldet detekterbar forskjell, Frekv.: frekvens, HCV: hepatitt C-virus, SD: standardavvik, Ant.: antall, Repl.: replikater, TAE: totale analytiske feil.

Presisjon, repeterbarhet og variabilitet mellom parti

Presisjonen til *artus* HCV QS-RGQ Kit ble vurdert etter anbefalinger i CLSI-veiledning EP05-A3 (7). Dette involverte testing av et panel med fem medlemmer som inkluderte én negativ prøve, én prøve med en konsentrasjon på 3 x LOD, én klinisk prøve fortennet 1:100 i EDTA-plasma og to konstruerte prøver i det lineære området for analysen. De konstruerte prøvene inneholdt en belagt IVT RNA-konstruksjon representativ for HCV genotype 3. Alle prøver var i EDTA-plasma. Én integrert QS-RGQ-kjøring ble utført av hver operatør over åtte (ikke-)sammenhengende dager med fire replikater per panelmedlem per kjøring. Dette betydde at i alt 24 kjøring (8 dager x 3 operatører x 1 kjøring per operatør per dag) ble utført for denne studien, noe som genererer 96 datapunkter per testpanelmedlem over tre forskjellige partier av *artus* HCV QS-RGQ Kit. Dessuten ble det brukt tre forskjellige QS-RGQ-plattformer for testingen, siden det var tre forskjellige partier av DSP Virus/Pathogen Midi Kit, og tre forskjellige operatører utførte testen.

Varianskomponentene fra denne studien er vist i Tabell 14. Det totale SD ble rapportert for $\log_{10}(\text{IE/ml})$, og dette anslaget representerer intern variabilitet (dvs. intermediær presisjon). Tabell 14 viser at SD var fra 0,131 ved den høyeste testkonsentrasjonen (5×10^6 IE/ml) til 0,222 ved den laveste testkonsentrasjonen (45 IE/ml).

Tabell 14. \log_{10} -beregnet standardavvik (SD) for varianskomponenter i IE/ml og log-normal prosentvis varianskoeffisient (%CV)

Nominell kons. IE/ml	Antall observasjoner	Mellom kjøring SD (%CV)	Mellom dag SD (%CV)	Mellom operatør SD (%CV)	Mellom settparti SD (%CV)	Mellom ekstraksjonsparti SD (%CV)	Intern SD (%CV)	Total SD (total %CV)
5×10^6	96	0,112 (26,30)	0,017 (3,82)	0,014 (3,34)	0,051 (11,86)	0,000 (0,00)	0,054 (12,38)	0,131 (30,96)
100	96	0,136 (32,04)	0,044 (10,21)	0,000 (0,00)	0,022 (5,05)	0,000 (0,00)	0,145 (34,22)	0,202 (49,14)
45	96	0,115 (26,86)	0,072 (16,60)	0,000 (0,00)	0,016 (3,68)	0,000 (0,00)	0,178 (42,86)	0,222 (54,62)
$18,9 \times 10^3$ (klinisk utvalg)	96	0,094 (21,97)	0,049 (11,24)	0,045 (10,46)	0,035 (7,96)	0,000 (0,00)	0,063 (14,69)	0,131 (30,74)

Kons.: konsentrasjon, CV: varianskoeffisient, SD: standardavvik.

En modell ble tilpasset etter dataene med \log_{10} IE/ml som responsvariabel og settparti som en kategorisk fast effekt. Forskjellen i gjennomsnittlig \log_{10} IE/ml mellom hvert par med kitpartier (dvs. tre forskjeller totalt) ble rapportert sammen med tilsvarende standardfeil (standard error, SE) og 95 % konfidensintervall (confidence interval, CI). Resultatene er vist i Tabell 15.

Tabell 15. Forskjell i gjennomsnittlig beregnet \log_{10} IE/ml mellom kitpartier for hver prøvekjøring

Nominell kons. IE/ml	Totalt ant. observasjoner	Forskj. mellom kitpartier	Forskj. gjennomsnittlig \log_{10} IE/ml	Standardfeil (SE)	Nedre 95 % konf.grense	Øvre 95 % konf.grense	p-verdi
5×10^6	96	1-2	-0,046	0,030	-0,106	0,014	0,134
		1-3	-0,130	0,030	-0,190	-0,070	< 0,001
		2-3	-0,085	0,030	-0,145	-0,025	0,006
100	96	1-2	-0,048	0,050	-0,146	0,050	0,336
		1-3	-0,117	0,050	-0,215	-0,018	0,021
		2-3	-0,069	0,050	-0,167	0,030	0,169
45	96	1-2	0,049	0,055	-0,060	0,159	0,371
		1-3	-0,058	0,055	-0,167	0,051	0,294
		2-3	-0,107	0,055	-0,217	0,002	0,054
$18,9 \times 10^3$ (klinisk utvalg)	96	1-2	-0,070	0,031	-0,132	-0,008	0,026
		1-3	-0,104	0,031	-0,166	-0,042	0,001
		2-3	-0,034	0,031	-0,096	0,028	0,278

Kons.: konsentrasjon, konf.: konfidens, forskj.: forskjell.

Den største absolute forskjellen mellom de forskjellige benyttede settpartiene var 0,130 i gjennomsnittlig \log_{10} IE/ml.

Reproduserbarhet

Utformingen av denne studien er basert på CLSI-veiledning EP05-A3 (7). Presisjon er definert som «graden av samsvar mellom målte verdier oppnådd av replikatmålinger på samme eller lignende objekter under spesifiserte betingelser». Reproduserbarhet, ifølge EP05-A3, er presisjonen fra flere steder. I denne studien ble laboratoriebetingelsene variert etter dager, kjøring («dag» og «kjøring» er konfundert) og bruk av tre forskjellige teststeder (ett internt og to eksterne teststeder).

Ved hvert eksternt teststed ble én integrert *artus* HCV QS-RGQ Kit-kjøring utført per dag i en periode på åtte (ikke-)sammenhengende dager med fire replikater per prøve per kjøring. Ved hvert av de to eksterne teststedene ble ett enkelt instrument brukt for i alt 16 kjøring (8 dager x 1 kjøring per dag x 2 teststeder) i denne studien, i tillegg til de internt genererte dataene. Delsettet av dataene generert for presisjons- og repeterbarhetsstudien (se side 42) der settpartiene matcher dem som er i bruk i denne studien, representerte det tredje teststedet i denne reproduserbarhetsstudien.

Tabell 16. Sammenholdsstatistikk for beregnet \log_{10} IE/ml etter nominell konsentrasjon av prøven for alle tre teststeder

Nominell kons. IE/ml	Nominell \log_{10} IE/ml	Antall replikater	Gjennomsnitt	Median	Standardavvik (SD)	Minimum	Maksimum
5×10^6	6,699	96	6,93	6,93	0,083	6,68	7,17
100	2,000	96	2,15	2,15	0,138	1,73	2,42
45	1,653	96	1,82	1,85	0,214	1,27	2,70
$18,9 \times 10^3$ (klinisk utvalg)	4,276	96	4,33	4,33	0,063	4,17	4,53

Kons.: konsentrasjon, Ant.: antall.

Slik det fremgår av Tabell 16, var største SD over alle tre teststeder 0,214 \log_{10} IE/ml med den laveste testkonsentrasjonen i denne studien, dvs. ved 45 IE/ml (3 x LOD).

Kryssreaktivitet og blandede infeksjoner

Denne studien ble utarbeidet for å teste for eventuell interferens i HCV-deteksjon på grunn av kryssreaktivitet med patogener som er relatert eller tilsvarende HCV ved bruk av *artus* HCV QS-RGQ Kit. For positive HCV-prøver ble fraværet av interferens definert som ingen vesentlig forskjell i \log_{10} IE/ml mellom resultatene oppnådd fra kontrollene og prøvene tilsatt patogen. Hvis det ble observert noen vesentlig forskjell mellom prøver, skulle dette være mindre enn to ganger den intermediære presisjonen av analysen. Dessuten skulle prøver som var negative for HCV teste negativt for HCV når de ble testet i nærvær av patogener.

HCV-positive prøver ble produsert ved en konsentrasjon på 45 IE/ml ved bruk av belagt IVT-materiale som var representativt for HCV genotype 1a. I alt 34 forskjellige patogener ble tilsatt individuelt i de produserte positive HCV-prøvene så vel som i prøver som er negative for HCV. RNA ble deretter ekstrahert og testet i seks replikater ved bruk av QIASymphony SP/AS-instrumentet og Rotor-Gene Q 5Plex HRM-instrumenter. Kontroller brukt for denne studien var patogenfri HCV-negativ plasma (kontrollnegativ) og patogenfri HCV-positiv plasma ved en konsentrasjon på 45 IE/ml (kontroll-HCV 45).

Patogenene ble tilsatt i prøvene for å gi en sluttkonsentrasjon på 1×10^5 i deres respektive enhet som angitt på analysesertifikatet (f.eks. IE, kopier, partikler, vevskulturinfeksiøs dose som vil infisere 50 % (TCID₅₀), kolonidannende enheter [colony forming units, CFU], viruspartikler [virus particles, VP]). Patogener som ikke var tilstrekkelig konsentrert til å skape denne sluttkonsentrasjonen i prøven, ble klargjort ved den høyeste mulige konsentrasjonen.

Tabell 17. Patogener testet for kryssreaktivitet mot kontrollprøver negative for hepatitt C virus og prøver positive for hepatitt C virus ved 45 IE/ml

Slutttestkons.	Art	HCV-negativ		HCV 45 IE/ml			p-verdi
		Frekv. av negative funn / totalt ant. negative prøver	Forskjell i gjennomsnittlig log ₁₀ IE/ml	Standardfeil (SE)	Nedre 95 % konf. grense	Øvre 95 % konf. grense	
1 x 10 ⁵ (IU/ml)	Adenovirus type 5	6/6	0,251	0,182	-0,123	0,626	0,179
Bar (ingen stamløsningskons. angitt)	BK humant polyomvirus	6/6	0,022	0,182	-0,353	0,397	0,905
1 x 10 ⁵ CFU/ml	<i>Candida albicans</i>	6/6	0,148	0,182	-0,227	0,522	0,425
1 x 10 ⁵ IFU/ml	<i>Chlamydia trachomatis</i>	6/6	0,348	0,182	-0,026	0,723	0,067
1 x 10 ⁵ kopier/ml	Cytomegalovirus	6/6	-0,079	0,161	-0,410	0,253	0,630
1 x 10 ⁵ kopier/ml	Denguevirus 1	6/6	-0,170	0,160	-0,499	0,159	0,297
1 x 10 ⁵ kopier/ml	Denguevirus 2	6/6	0,149	0,160	-0,180	0,478	0,361
1 x 10 ⁵ kopier/ml	Denguevirus 3	6/6	-0,044	0,160	-0,373	0,285	0,786
1 x 10 ⁵ kopier/ml	Denguevirus 4	6/6	0,126	0,160	-0,203	0,455	0,438
5 x 10 ³ TCID ₅₀ /ml	Epstein-Barr-virus	6/6	-0,209	0,161	-0,540	0,122	0,205
1 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	Hepatitt A-virus	6/6	-0,275	0,161	-0,606	0,057	0,100
1 x 10 ⁵ U/ml	Herpes simplex-virus type 1	6/6	0,036	0,161	-0,295	0,367	0,823
1 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	Herpes simplex-virus type 2	6/6	0,332	0,146	0,027	0,637	0,034
5 x 10 ³ TCID ₅₀ /ml	Humant herpesvirus type 8	6/6	0,265	0,146	-0,040	0,570	0,085
1 x 10 ⁵ PFU/ml -	Influenza A	6/6	0,152	0,139	-0,136	0,440	0,286
1 x 10 ⁵ CFU/flaske (/ml)	<i>Mycobacterium gordonae</i>	6/6	-0,143	0,139	-0,431	0,145	0,315

		HCV-negativ		HCV 45 IE/ml			
1 x 10 ⁴ CFU/flaske (/ml)	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	6/6	0,150	0,119	-0,095	0,395	0,220
1 x 10 ⁴ CFU/flaske (/ml)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	6/6	-0,173	0,119	-0,418	0,072	0,158
1 x 10 ⁵ CFU/flaske (/ml)	<i>Propionibacterium acnes</i>	6/6	0,042	0,119	-0,203	0,287	0,728
1 x 10 ⁵ CFU/flaske (/ml)	<i>Staphylococcus aureus</i>	6/6	0,133	0,119	-0,112	0,378	0,275
1 x 10 ⁵ CFU/flaske (/ml)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6/6	-0,156	0,186	-0,539	0,227	0,409
5 x 10 ³ TCID ₅₀ /ml	Varicella-zoster-virus (VZV)	6/6	-0,188	0,186	-0,571	0,195	0,321
1 x 10 ⁵ IE/ml	Hepatiitt B-virus	6/6	-0,138	0,186	-0,521	0,245	0,464
1 x 10 ⁵ IE/ml	HIV-1 IIB	6/6	0,042	0,186	-0,341	0,424	0,825
1 x 10 ⁵ U/ml	HIV-2 NIH-Z	6/6	0,097	0,158	-0,241	0,434	0,551
1 x 10 ⁵ celler/ml	HPV16 CaSki	6/6	0,270	0,146	-0,035	0,575	0,080
1 x 10 ⁵ celler/ml	HPV18 HeLa	6/6	0,385	0,230	-0,093	0,864	0,109
1 x 10 ⁵ cp/ml	Humant herpesvirus type 6A GS	6/6	-0,436	0,170	-0,787	-0,085	0,017
1 x 10 ⁵ vp/ml	Humant T-cellelymfotrop virus type 1	6/6	-0,154	0,170	-0,504	0,197	0,376
1 x 10 ⁵ vp/ml	Humant T-cellelymfotrop virus type 2	6/6	0,209	0,230	-0,269	0,688	0,373
1 x 10 ⁵ U/ml-	St. Louis-encefalittivirus	6/6	0,148	0,164	-0,190	0,486	0,376
1 x 10 ⁵ U/ml	Vest Nilen-virus NY 2001-6263	6/6	-0,018	0,164	-0,356	0,320	0,913
1 x 10 ⁵ U/ml	Gulfebervirus 17-D	6/6	0,208	0,230	-0,270	0,687	0,375

		HCV-negativ		HCV 45 IE/ml			
8,13 x 1 ⁰⁴ U/ml	Zikavirus MR 766	6/6	0,164	0,164	-0,174	0,501	0,328

Slik det fremgår av Tabell 17, viste ingen av de testede patogenene kryssreaktivitet med *artus* HCV QS-RGQ Kit. Dette ble definert som ingen vesentlig forskjell i log₁₀ IE/ml mellom resultatene oppnådd fra kontrollene og HCV 45-prøvene tilsatt patogen. I tilfeller der det ble observert vesentlige forskjeller, var de mindre enn 2 x total SD av analysen (< 0,444 log₁₀ IE/ml, Tabell 17). Dessuten genererte 100 % av de HCV-negative prøvene som ble testet i nærvær av patogener, negative resultater.

Interfererende stoffer

Interferenstesting viste innvirkningen av potensielt interfererende stoffer som kan være til stede i humant EDTA-plasma på analyseytelsen for *artus* HCV QS-RGQ Kit. CLSI-veiledning EP7-A2 (8) ble brukt da denne interferensteststudien ble konstruert. I denne studien var potensielt interfererende stoffer legemidler brukt til behandling av HCV-infeksjoner (f.eks. eksogene stoffer, Tabell 18 og Tabell 19) samt blodkomponenter og hormoner (f.eks. endogene stoffer, Tabell 20). Eksogene stoffer ble tilsatt i prøven ved tre ganger høyeste plasmanivå (C_{maks.}) for dette legemiddelet. Endogene stoffer ble tilsatt ved konsentrasjoner angitt i CLSI-veiledning EP7-A2 (8). Stoffinterferens ble testet i humant EDTA-plasma negativt for HCV og i en negativ prøvematrix tilsatt HCV ved 45 IE/ml (3 x LOD) ved bruk av belagt IVT RNA representativ for HCV genotype 1a.

Ti forskjellige eksogene stoff-pooler ble tilsatt i de to forskjellige eksperimentelle konsentrasjonene (HCV-negativ og HCV tilsatt ved 45 IE/ml). Grupperingene av eksogene stoffer var basert på typen løsemiddel brukt til resuspensjon (Tabell 18).

Tabell 18. Eksogene stoffer og deres grupperinger generert for testing

Eksogen stoffpool / løsemiddel brukt for resuspensjon		Testede eksogene stoffer
DMSO	1	Boceprevir, efavirenz, emtricitabin, raltegravir, zidovudin
	2	Asyklovir, atazanavir, darunavir, fosamprenavir, indinavir
	3	Azitromycin, elbasvir, paritaprevir, saquinavir, tenofovir
	4	Klaritromycin, ganciklovir, lopinavir, telaprevir
Nukleasefritt vann	5	Abacavir, ciprofloksacin, enfurvitid, telbivudin, valganciklovir
	6	Adefovir, fluoksetin, interferon alfa 2a, interferon alfa 2b, stavudin
	7	Daklatasvir, didanosin, lamivudin, ribavirin, sofosbuvir
Etanol	8	Entecavir, grazoprevir, ombitasvir, paroksetin, zalcitibin (DMSO)
	9	Amprenavir, nelfinavir, simeprevir, tipranavir
	10	Ledipasvir, ritonavir, sertralin, valacyklovir
DMSO	ikke relevant	Nevirapin

DMSO: dimetylsulfoksid, I/R: ikke relevant.

Tabell 19. Sammenligningsstatistikk for testede eksogene stoffer

Forskjell mellom kontroll og interfererende stoff	Forskjell i gjennomsnittlig beregnet \log_{10} IE/ml	Standardfeil (SE)	Nedre 95 % konf.grense	Øvre 95 % konf.grense	p-verdi
Gruppe 1 – KONTROLL	0,148	0,203	-0,272	0,567	0,474
Gruppe 2 – KONTROLL	0,286	0,213	-0,154	0,726	0,193
Gruppe 3 – KONTROLL	0,068	0,213	-0,372	0,509	0,751
Gruppe 4 – KONTROLL	0,302	0,203	-0,118	0,722	0,150
Gruppe 5 – KONTROLL	0,029	0,195	-0,375	0,432	0,884
Gruppe 6 – KONTROLL	0,250	0,195	-0,153	0,654	0,212
Gruppe 7 – KONTROLL	0,170	0,195	-0,234	0,573	0,393
Gruppe 8 – KONTROLL	0,307	0,204	-0,114	0,728	0,145
Gruppe 9 – KONTROLL	0,006	0,183	-0,380	0,391	0,976
Gruppe 10 – KONTROLL	0,174	0,192	-0,228	0,577	0,375
Nevirapin – KONTROLL	0,014	0,183	-0,371	0,399	0,940

Konf.: konfidens, SE: standardfeil.

Slik det fremgår av Tabell 19, viste ingen av de eksogene stoffene testet i denne studien en vesentlig forskjell i \log_{10} IE/ml ved sammenligning med kontrollprøvene (p-verdi > 0,05). Dessuten var det ingen amplifikasjon i prøver negative for HCV når disse negative prøvene ble tilsatt et eksogent stoff eller stoffgruppe (data ikke vist).

Tabell 20. Sammenndragsstatistikk for endogene stoffer

Forskjell mellom kontroll og interfererende stoff	Forskjell i gjennomsnittlig beregnet \log_{10} IE/ml	Standardfeil (SE)	Nedre 95 % konf.grense	Øvre 95 % konf.grense	p-verdi
Triglyserider – KONTROLL	0,373	0,125	0,115	0,631	0,006
Konjugert bilirubin – KONTROLL	0,277	0,119	0,033	0,521	0,028
Hemoglobin – KONTROLL	0,297	0,119	0,053	0,541	0,019
Ikke-konjugert bilirubin – KONTROLL	0,300	0,061	0,163	0,4370	< 0,001
EDTA – KONTROLL	0,005	0,144	-0,321	0,331	0,973
Globulin – KONTROLL	0,256	0,058	0,124	0,387	0,002
hDNA – KONTROLL	0,066	0,079	-0,112	0,244	0,425
hRNA – KONTROLL	0,019	0,171	-0,368	0,405	0,915
Albumin – KONTROLL	-0,080	0,162	-0,442	0,281	0,631

Tabell 20 viser at konjugert og ikke-konjugert bilirubin, hemoglobin og globulin var statistisk vesentlig forskjellig fra kontrollprøvene (henholdsvis $p=0,028$, $p<0,001$ $p=0,019$ og $p=0,002$), men forskjellen i gjennomsnittlig beregnet \log_{10} IE/ml var henholdsvis 0,277, 0,300, 0,297 og 0,256. Dette betydde at disse stoffene oppfylte studieakseptkriteriene på $< 0,5 \log_{10}$ IU/ml. Dessuten var det ingen amplifikasjon i prøver negative for HCV når disse negative prøvene ble tilsatt de endogene stoffene (data ikke vist).

Krysskontaminering

Krysskontamineringsstudien ble utviklet for å teste for krysskontaminering mellom integrerte QIASymphony SP/AS-kjøringene ved bruk av *artus* HCV QS-RGQ-arbeidsflyten. Krysskontaminering ble definert som mengden analytt medrevet mellom tilgrensende brønner

under automatiserte kjøring. Instrumentkontaminering, uttrykt som en prosentandel, ble beregnet som:

$$\left(\frac{\text{Antall negative prøver der mål er detektert}}{\text{Totalt antall negative prøver}} \right) \times 100$$

Denne studien ble utført ved bruk av prøver positive for HCV ved klinisk relevante konsentrasjoner (1×10^5 , 1×10^6 og 1×10^7 IE/ml). I separate fortyninger ble en belagt IVT RNA som representerer HCV genotype 1a fortynt i EDTA-plasma for å gi de forskjellige konsentrasjonene. Hver av disse prøvekonsentrasjonene ble testet med prøver negative for HCV i en vekslende rekkefølge for fem sammenhengende kjøring («sjakkbrettkjøring»). For hver konsentrasjon ble en endelig (og sjette) kjøring utført for å bestemme kontaminering mellom kjøring. Andelen av krysskontaminering (instrumentkontaminering som definert ovenfor) ble beregnet, og resultatet for hver konsentrasjon vises i Tabell 21 (nedenfor).

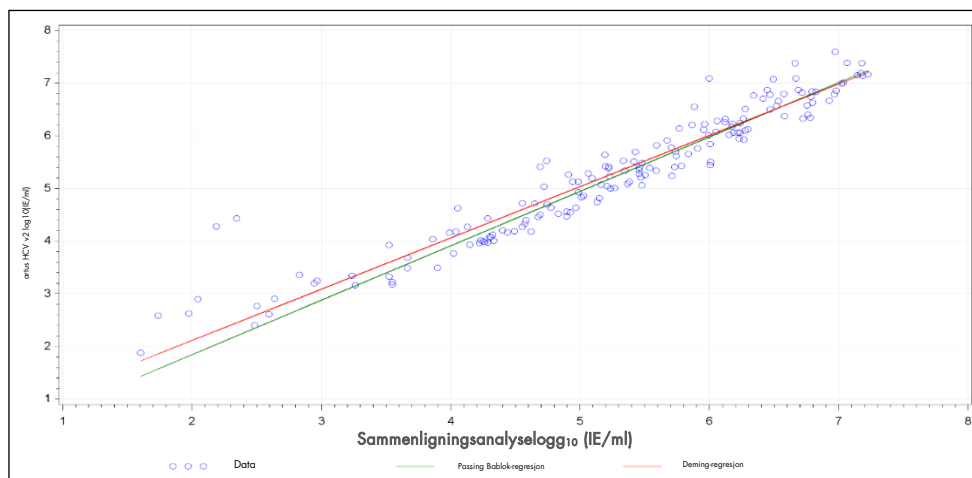
Tabell 21. Krysskontamineringsrate ved klinisk relevante konsentrasjoner

Prøvekonsentrasjon i sjakkbrettformat	Frekvens av krysskontaminering	Andel av krysskontaminering (%)
1×10^7 IE/ml	4/170	2,35
1×10^6 IE/ml	3/170	1,76
1×10^5 IE/ml	0/170	0,00

Klinisk ytelse

Den kliniske ytelsen til *artus* HCV QS-RGQ Kit ble evaluert under en sammenligningsstudie ved to kliniske laboratorier i Storbritannia som testet 452 individuelle pasientprøver, som var enten positive eller negative for HCV. Prøvene ble testet ved bruk av *artus* HCV QS-RGQ Kit i en rutinemessig klinisk laboratoriesituasjon, og prøvene gjenspeilte de aktuelle HCV-epidemiologiske trendene i europeisk testpopulasjon. Kliniske prøver av visse genotyper (4, 5 og 6) ble oppnådd kommersielt for å nå den fulle dekningen av aktuelle HCV genotyper 1–6.

I denne studien ble pasientprøvene testet med *artus* HCV QS-RGQ Kit og sammenlignet med enten tidligere eller parallelt genererte resultater av en CE-merket sammenligningsanalyse. Det ble utført en Deming- og Passing-Bablok-regresjonsanalyse med testresultatene fra *artus* HCV QS-RGQ Kit på y-aksen og testresultatet av sammenligningsanalysen på x-aksen. Parameteranslagene, sammen med deres SE-er og tilsvarende 95 % CI-er ble rapportert. Regresjonsanalysen ble utført medregnet alle prøver mellom LLOQ og øvre kvantifiseringsgrense (upper limit of quantification, ULOQ) for begge analyser (n=165, figur 2).



Figur 2: Regresjonsdiagram med Passing-Bablok- og Deming-linjer (n=165).

Tabell 22. Regresjonsanalyse for *artus* HCV QS-RGQ Kit og en sammenligningsanalyse

Test	Responsvariabel \log_{10} (IE/ml)	Forkl. variabel \log_{10} (IE/ml)	Antall observasjoner	Skjæringspunkt	Skjæringspunkt nedre tosidig 95 % konf. grense	Skjæringspunkt øvre tosidig 95 % konf. grense	Helling	Helling nedre tosidig 95 % konf. grense	Helling øvre tosidig 95 % konf. grense
Deming	<i>artus</i> HCV QS-RGQ Kit	Sammenligningsanalyse	165	0,164	-0,190	0,519	0,974	0,912	1,036
Passing-Bablok	<i>artus</i> HCV QS-RGQ Kit	Sammenligningsanalyse	165	-0,222	-0,448	0,028	1,033	0,990	1,072

Konfi.: konfidens, Forkl.: forklaring, Ant.: antall.

Tabell 22 viser at for både Deming og Passing-Bablok er skjæringspunktet nær null (henholdsvis 0,164 og -0,222), og hellingen er nær 1 (henholdsvis 0,974 og 1,033). Dette viser en tett samlet korrelasjon mellom *artus* HCV QS-RGQ Kit og sammenligningsanalysen.

Begrensninger

- Håndboken må følges nøye for å sikre optimale PCR-resultater.
- Vær spesielt oppmerksom på utløpsdatoene som er angitt på esken og etikettene på alle komponentene. Bruk ikke komponenter som er gått ut på dato.
- Fibrinøse prøver eller prøver som viser andre tegn på koagelakkumulering kan tilstoppe pipettespissene og føre til falske resultater på grunn av utilstrekkelig volumoverføring under prøveklargjøringsprosessen.
- Selv om det er sjelden, kan mutasjoner i de svært konserverte regionene av HCV-genomet dekket av settets primere og/eller sonde resultere i underkvantifisering av virusmengden eller manglende deteksjon av nærværet av HCV i berørte prøver.
- Dette produktet skal brukes av fagpersoner, for eksempel teknikere og fysikere som har fått opplæring i in vitro-diagnostiske prosedyrer.

Kvalitetskontroll







I henhold til QIAGENs ISO-sertifiserte kvalitetsstyringssystem testes hvert parti med *artus* HCV QS-RGQ Kit mot forhåndsbestemte spesifikasjoner for å sikre konsekvent produktkvalitet.







Referanser

1. Polaris Observatory HCV Collaborators (2017) Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study; *Lancet Gastroenterol. Hepatol.*, **2**, 161.
2. European Association for Study of the Liver (2018). EASL recommendations on treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatol.*, [Epub ahead of print].
3. European Association for Study of the Liver and Asociacion Latinoamericana para el Estudio del Higado (2015). EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J. Hepatol.*, **63**, 237.
4. Harrington, P.R., Zeng, W., and Naeger, L.K. (2012) Clinical relevance of detectable but not quantifiable hepatitis C virus RNA during boceprevir or telaprevir treatment. *Hepatology* **55**, 1048.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Guideline EP17-A2, Vol. 32 No. 8, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures, Approved Guideline – Second Edition 2012.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Guideline EP06-A, Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline 2003.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Guideline EP05-A3, Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition 2014.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Guideline EP7-A2, Vol. 25 No. 27, Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Edition – Second Edition 2005.

Symboler

Symbolene i følgende tabell er benyttet i denne bruksanvisningen.

Symbol	Symboldefinisjon
 72	Inneholder tilstrekkelig for 72 tester
	In vitro-diagnostikk
	CE-merke
	Katalognummer
	Partinummer
	Materialnummer

Symbol	Symboldefinisjon
	Komponenter
	Innhold
	Intern kontroll
	Globalt artikkelnummer
Rn	R står for revisjonen av håndboken, og n er revisjonsnummeret
	Temperaturbegrensninger
	Produsent

Symbol

Symboldefinisjon



Siste forbruksdato



Se bruksanvisningen

Feilsøkingeveiledning

Denne delen inneholder informasjon om feilsøking og feilretting av eventuelle problemer som kan følge med *artus* HCV QS-RGQ Kit. Hvis de anbefalte tiltakene ikke løser problemet, tar du kontakt med QIAGENs tekniske tjenester for å få hjelp, enten via vårt tekniske supportsentersenter på www.qiagen.com/support, ved å ringe 00800-22-44-6000 eller ved å kontakte én av QIAGENs tekniske serviceavdelinger eller din lokale distributør.

Mulig problem eller årsak	Korrigerende tiltak
Generell håndtering	
Feilmelding vises på berøringsskjermen	Hvis det vises en feilmelding under en protokollkjøring, kan du se brukerhåndbøkene som medfølger instrumentene.
Utfelling i reagenskaret på åpnet patron av QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit	
a) Bufferfordamping	For stor fordampning kan føre til økt saltkonsentrasjon eller reduserte alkoholkonsentrasjoner i bufferne. Kasser reagenskasset (RC). Påse å forsegle bufferkarene til delvis brukte reagenspatroner (RC) med tetningsstrimler til gjenbruk når de ikke brukes til rensing.

Mulig problem eller årsak	Korrigerende tiltak
b) Lagring av reagenskasset (RC)	Lagring av reagenskasset (RC) under 15 °C kan føre til dannelse av bunnfall. Fjern om nødvendig karene med bufferne QSL2 og QSB1 fra reagenskassetten (RC) og inkuber i et vannbad * ved 37 °C i 30 minutter og rist innimellom for å løse opp bunnfallet. Sørg for å sette karene tilbake i riktig posisjon. Hvis reagenskassetten (RC) allerede er stukket hull på, må du sørge for at karene lukkes igjen med gjenbrukbare tetningsremser, inkubere hele reagenskassetten (RC) i et vannbad * ved 37 °C i 30 minutter og riste innimellom.

Lave resultater for nukleinsyrer

a) Magnetiske partikler ble ikke fullstendig resuspendert	Før prosedyren påbegynnes, må du sikre at de magnetiske partiklene er helt resuspendert. Roter i minst 3 minutter før bruk.
b) Fryste prøver ble ikke blandet korrekt etter tining	Tin fryste prøver med lette bevegelser for å sikre grundig blanding
c) Bærer-RNA (CARRIER) ikke lagt til	Rekonstituer bærer-RNA (CARRIER) i buffer AVE (AVE) og bland med egnet volum av buffer-AVE (AVE) som beskrevet i det relevante avsnittet ovenfor. Gjenta rensingsprosedyren med nye prøver.
d) Nedbrutte nukleinsyrer	Prøvene ble oppbevart på feil måte eller utsatt for for mange fryse-tine-sykluser. Gjenta rensingsprosedyren med nye prøver.

*Påse at instrumentene er kontrollert, vedlikeholdt og kalibrert regelmessig i henhold til produsentens anvisninger.

Mulig problem eller årsak	Korrigerende tiltak
e) Ufullstendig prøvelysering	Kontroller at buffer QSL2 og QSB1 ikke inneholder utfellinger før bruk. Fjern om nødvendig karene med bufferne QSL1 og QSB1 fra reagenskassetten (RC) og inkuber i 30 minutter ved 37 °C og rist innimellom for å løse opp bunnfallet. Hvis reagenskassetten (RC) allerede er stukket hull på, må du sørge for at karene lukkes igjen med gjenbrukbare tetningsremser, inkubere hele reagenskassetten (RC) i 30 minutter ved 37 °C og riste innimellom i et vannbad.*
f) Tilstopping av pipettespiss på grunn av uløselig materiale	Uløselig materiale ble ikke fjernet fra prøven før start av QIASymphony-rensesprosedyren. For å fjerne uopløselig materiale for virusapplikasjoner, må du sentrifugere prøven ved 3000 x g i 1 minutt og overføre supernatanten til et nytt prøverør.

Mulig problem eller årsak

Korrigerende tiltak

QIASymphony AS detekterer utilstrekkelig Master

Ikke påkrevd Master-volum overført til rør

Kombiner det påkrevde reagensvolumet i hvert av rørene i ett rør som plasseres på Qiasymphony. Viskøse reagenser kan være vanskelige å håndtere med manuelle pipetter. Sørg for å overføre hele Master-volumet til røret.

For viskøse reagenser anbefaler vi å aspirere et ekstra volum på 5 % ved bruk av manuelle pipetter (f.eks. juster pipetten til 840 µl for et 800 µl volum). Alternativt, etter langsom dispensering av væsken og en utblåsning ved målrørets vegg, fjerner du spissen fra væsken, løsner pipettestempelet og venter i ytterligere 10 sekunder. Resterende væske vil renne ned i spissen og kan blåses ut ved å trykke på pipettestempelet en gang til. Bruken av filterspisser av PCR-kvalitet merket som «lav retensjon» kan forbedre gjenvinningen av væske.

Intet signal med positive kontroller (Hep. C Virus RG QS 1–4) i fluorescenskanal Cycling Green

a) Den valgte fluorescenskanalen for PCR-dataanalyse stemmer ikke overens med protokollen

Ved dataanalyse må du velge fluorescenskanalen Cycling Green for analytisk HCV PCR og fluorescenskanalen Cycling Orange for internkontroll-PCR.

b) Feil programmering av temperaturprofil for Rotor-Gene Q-instrumentet

Sammenlign temperaturprofilen med protokollen. Se det relevante avsnittet i denne håndboken vedrørende Rotor-Gene Q-syklusparametere (se Tabell 3 og avsnittet om «Analyseinnstillinger» på side 33)

c) Feil konfigurering av PCR

Påse at analyseoppsett ble utført riktig, og at riktig analyseparametere ble brukt (se Tabell 2). Gjenta PCR-en om nødvendig

Mulig problem eller årsak	Korrigerende tiltak
d) Oppbevaringsbetingelsene for en eller flere settkomponenter stemte ikke overens med instruksjonene angitt i «Håndtering og oppbevaring av reagenser» på side 15)	Kontroller oppbevaringsbetingelsene og utløpsdatoen (se merking av settet) til reagensene, og bruk et nytt sett om nødvendig.
e) <i>artus</i> HCV QS-RGQ Kit er utløpt	Kontroller oppbevaringsbetingelsene og utløpsdatoen (se merking av settet) til reagensene, og bruk et nytt sett om nødvendig.

Svakt eller intet signal for internkontrollen til en negativ eller HCV-lav positiv plasmaprøve utsatt for rensing ved bruk av QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit i fluorescenskanalen Cycling Orange

a) PCR-forholdet overholder ikke protokollen	Kontroller PCR-forholdene (se ovenfor) og gjenta PCR med korrigerede innstillinger om nødvendig.
b) PCR-en ble hemmet	Påse at du bruker den godkjente isoleringsmetoden (se «Protokoll: RNA-isolering og analyseoppsett på QIASymphony SP/AS» på side 21) og følg anvisningene nøye.
c) RNA gikk tapt under ekstraksjon	Et fraværende signal i internkontrollen kan angi tapet av RNA under ekstraksjonen. Påse at du bruker den godkjente isoleringsmetoden (se «Protokoll: RNA-isolering og analyseoppsett på QIASymphony SP/AS» på side 21) og følg anvisningene nøye. Se også «Lavt utbytte av nukleinsyrer» ovenfor.
d) Oppbevaringsbetingelsene for en eller flere settkomponenter stemte ikke overens med instruksjonene angitt i «Håndtering og oppbevaring av reagenser» på side 15)	Kontroller oppbevaringsbetingelsene (se merking av settet) til reagensene, og bruk et nytt sett om nødvendig.

Mulig problem eller årsak	Korrigerende tiltak
e) <i>artus</i> HCV QS-RGQ Kit er utløpt	Kontroller oppbevaringsbetingelsene og utløpsdatoen (se merking av settet) til reagensene, og bruk et nytt sett om nødvendig.

Signaler med de negative kontrollene i fluorescenskanalen **Cycling Green** for analytisk PCR

a) Kontaminering oppsto under klargjøring av PCR	For stor fordampning kan føre til økt saltkonsentrasjon eller reduserte alkoholkonsentrasjoner i bufferne. Kasser reagenskasset (RC). Påse å forsegle bufferkarene til delvis brukte reagenspatroner (RC) med tetningsstrimler til gjenbruk når de ikke brukes til rensing.
b) Kontaminering oppsto under ekstraksjon	Gjenta ekstraksjonen og PCR for prøven som skal testes, ved hjelp av nye reagenser. Sørg for at arbeidsområde og instrumenter dekontamineres regelmessig.

Bestillingsinformasjon

Produkt	Innhold	Katalognr.
<i>artus</i> HCV QS-RGQ Kit	Til 72 reaksjoner: Master A og B, internkontroll, hepatitt C-viruskvantifiseringsstandard 1–4, (Hepatitis C Virus RG QS 1–4) og vann av PCR-kvalitet	4538366
Tilknyttede produkter		
QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi-sett (96)	Inkluderer 2 reagenskassetter og enzymstativer og tilbehør	937055
QIAasymphony SP	QIAasymphony-prøveklargjøringsmodul, 1 års garanti på deler og arbeid	9001297
QIAasymphony AS	QIAasymphony-analyseoppsettmodul, 1 års garanti på deler og arbeid	9001301
Rotor-Gene Q Software versions 2.3 or higher	Programvare for rutinemessig testing sammen med Rotor-Gene Q- og QIAasymphony RGQ-instrumentene	9023241
Rotor-Gene Q MDx Cycler	PCR-sentrifuge i sanntid og apparat for (high resolution melt, HRM)-analyser med 5 kanaler (grønn, gul, oransje, rød, karmosinrød) pluss HRM-kanal, bærbar PC, programvare og tilbehør: inkluderer ett års garanti på deler og arbeid, installasjon og opplæring ikke inkludert	9002032

T Varemerker: QIAGEN[®], Sample to Insight[®], QIASymphony[®], artus[®], Rotor-Gene[®], Rotor-Gene AssayManager[®] (QIAGEN Group); Corning[®] (Corning Inc.); Sarstedt[®] (Sarstedt AG and Co.); SAS[®] (SAS Institute Inc.).

Endringshistorikk for dokument	
R2 01/2019	Oppdatert R ² -verdi i tabell 7 fra $\geq 0,980$ til $\geq 0,990$. Lagt til manglende ytelsesdata i tabell 15 Oppdatert figur 2 og tabell 22 med nye data

Begrenset lisensavtale for artus HCV QS-RGQ Kit

Bruk av dette produktet innebærer at enhver kjøper eller bruker av produktet samtykker i følgende vilkår:

1. Produktet kan bare brukes i samsvar med protokollene som leveres med produktet og denne håndboken, og skal bare brukes med komponenter som er inkludert i settet. QIAGEN gir ingen lisens i forhold til noen av sine åndsprodukter til å bruke eller innlemme komponenter i dette settet med andre komponenter som ikke er inkludert i dette settet, med unntak av det som er beskrevet i protokollene som leveres med produktet, denne håndboken og andre protokoller som er tilgjengelige på www.qiagen.com. Noen av disse andre kontrollene er utarbeidet av QIAGEN-brukere for QIAGEN-brukere. Disse protokollene er ikke blitt grundig testet eller optimalisert av QIAGEN. QIAGEN garanterer ikke for dem og gir heller ingen garanti for at de ikke krenker rettighetene til tredjeparter.
2. QIAGEN gir ingen garanti for at dette settet og/eller bruk av det ikke krenker rettighetene til tredjeparter, bortsett fra uttrykkelig oppgitte lisenser.
3. Dette settet og komponentene i det er lisensiert for engangsbruk og kan ikke brukes flere ganger, modifiseres eller selges på nytt.
4. QIAGEN frasier seg spesifikt andre lisenser, uttrykt eller antydning, bortsett fra de som er uttrykkelig oppgitt.
5. Kjøperen og brukeren av settet samtykker i at de ikke skal gjøre eller la noen andre gjøre noe som kan resultere i eller fremme handlinger som er forbudt ovenfor. QIAGEN kan håndheve forbud i denne begrensede lisensavtalen i en hvilken som helst domstol, og skal få tilbake alle sine etterforsknings- og domstolskostnader, inkludert advokathonorarer, knyttet til enhver handling som iverksettes for å håndheve denne begrensede lisensavtalen eller eventuelle immaterielle rettigheter forbundet med settet og/eller komponentene.

Oppdaterte lisensvilkår er tilgjengelige på www.qiagen.com.

Innkjøpet av dette produktet gjør det mulig for kjøperen å bruke det til å utføre diagnostikkjenester for human in vitro-diagnostikk. Det gis ingen generelle patent- eller andre lisensrettigheter i forbindelse med kjøpet bortsett fra bruksretten.

HB-2556-002 1115368 01/2019

© 2019 QIAGEN. Med enerett.

Bestilling www.qiagen.com/contact | Teknisk støtte support.qiagen.com | Nettside www.qiagen.com