

QIASymphony® RGQ-tillämpningsblad

QIASymphony RGQ-tillämpning artus® HI Virus-1 QS-RGQ-kit (provtyp: plasma)

IVD

CE
0197



Kontrollera om det finns nya elektroniska märkningsversioner på www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx innan ett test utförs. Nuvarande versionsstatus anges med utgivningsdatumet (format: månad/år).

Allmän information

Kit	artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit, version 1, REF 4513363, 4513366
Validerat provmaterial	Human EDTA-plasma
Frontrening	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat.nr 937055)
Provolym (inklusive överskottsvolym)	1.200 µl
Analysparameteruppsättning	artus_HIV plasma1000_V4
Förvald analyskontrolluppsättning	Cellfree1000_V6_DSP artus HIV
Elueringsvolym	60 µl
Nödvändig programversion	Version 4.0 eller senare
Masterblandningsvolym	30 µl
Templatvolym	20 µl
Antal reaktioner	6–24 eller 6–72*
Körtid på AS-modul	För 6 reaktioner: cirka 9 minuter För 72 reaktioner: cirka 35 minuter

* Vid körning av flera analyskörningar måste det säkerställas att gränsen på 72 reaktioner och 1 analysställsadapter inte överskrids. Undvik långvarig inkubationstid (>30 minuter) mellan avslutandet av analyskörningen och överföring till Rotor-Gene® Q.

Maj 2012



Sample & Assay Technologies

Material som behövs men inte medföljer

Reningskit	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat.nr 937055)
Adaptrar för QIASymphony SP	■	Elution Microtube Rack (Elueringsmikrorörställ QS) (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym [avkylningsadapter, EMT, v2, Qsym], kat.nr 9020730)
	■	Tube Insert 3B (Rörinsats 3B) (Insert, 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym [insats, 2,0 ml v2, provbärare (24), Qsym], kat.nr. 9242083)
Förbrukningsartiklar för QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges, 8-well (Provberedn.patroner, 8-brunnars) (kat.nr 997002)
	■	8-Rod Covers (8-stavsskydd) (kat.nr 997004)
	■	Filter-Tips, 1.500 µl (Filterspetsar, 1.500 µl) (kat.nr 997024)
	■	Filter-Tips, 200 µl (Filterspetsar, 200 µl) (kat.nr 990332)
	■	Elution Microtubes CL (Elueringsmikrorör CL) (kat.nr 19588)
	■	Tip disposal bags (Spetsavfallspåsar) (kat.nr 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H (Mikrorör 2,0 ml typ H) eller Micro tubes 2.0 ml Type I (Mikrorör 2,0 ml typ I) (Sarstedt, kat. nr 72.693 och 72.694, www.sarstedt.com) för användning med prover och interna kontroller
Adaptrar och reagenshållare för QIASymphony AS	■	Reagent holder 1 QS (Reagenshållare 1 QS) (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym [avkylningsadapter, reagenshållare 1, Qsym], kat.nr 9018090)
	■	Reagent holder 2 QS (Reagenshållare 2 QS) (Cooling Adapter, Reagent Holder 2, Qsym [avkylningsadapter, reagenshållare 2, Qsym], kat.nr 9018089)
	■	RG Strip Tubes 72 QS (RG-testremserör 72 QS) (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym [avkylningsadapter, RG-testremserör 72, Qsym], kat.nr 9018092)
Förbrukningsartiklar för QIASymphony AS	■	Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (Testremserör med lock, 0,1 ml) (kat.nr 981103)
	■	Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (Rör, koniska, 2 ml, Qsym AS) (kat.nr 997102)* eller Micro tubes 2.0 ml Type I (Mikrorör 2,0 ml, typ I) (Sarstedt, kat.nr 72.694.005)
	■	Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (Rör, koniskt, 5 ml, Qsym AS) (kat.nr 997104)* eller Tubes with flat base from PP (Rör med platt bas från PP) (Sarstedt, kat.nr 60.558.001)
	■	Reagent Bottles, 30 ml, Qsym AS (Reagensflaskor, 30 ml, Qsym AS) (kat.nr 997108)
	■	Elution Microtubes CL (Elueringsmikrorör CL) (kat.nr 19588)
	■	Filter-Tips, 1.500 µl (Filterspetsar, 1.500 µl) (kat.nr 997024)
	■	Filter-Tips, 200 µl (Filterspetsar, 200 µl) (kat.nr 990332)
	■	Filter-Tips, 50 µl (Filterspetsar, 50 µl) (kat.nr 997120)
	■	Tip disposal bags (Spetsavfallspåsar) (kat.nr 9013395)

* Kontrollera om produkten är tillgänglig.

Hantering och förvaring av prover

Provtagning	Blodprov 5–10 ml EDTA-blod 8x blandning upp och ner – ingen omrörning! Hepariniserade humana prover får inte användas
Provförvaring	Separation: 20 minuters centrifugering, 800–1.600 x g inom 24 timmar efter provtagning Överför den isolerade plasman till ett sterilt polypropylenrör Virusinkapslat RNA är stabilt vid:* 4 °C dagar –20 °C veckor –70 °C månader
Provtransport	Splitterfri transport Sändning inom 24 timmar Sändning per post enligt rättsliga anvisningar för transport av patogenmaterial† Blodprover ska skickas kylda (2 till 8 °C)
Störande substanser	Heparin (≥ 10 IE/ml) påverkar PCR. Prover som samlats in i rör innehållande heparin som en antikoagulant eller prover från hepariniserade patienter får inte användas. Förhöjda nivåer av albumin (≤ 6 g/dl), bilirubin (≤ 30 mg/dl), lipider (≤ 1 g/dl triglycerid) och hemolytiska prover (≤ 2 g/dl hemoglobin) påverkar inte systemet.

* Arbeitskreis Blut, V17 (09.1997), Bundesgesundheitsblatt 11/1997, p. 452–456.

† International Air Transport Association (Internationellt samarbetsorgan för flygbolag) (IATA). Dangerous Goods Regulations (Föreskrifter om farligt gods).

Procedur

Beredning av bärar-RNA och tillsats av den interna kontrollen till proverna

Vid användning av QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi-kitet i kombination med *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-kitet krävs att den interna kontrollen (HI Virus-1 RG IC) förs in i reningsförloppet för att övervaka effektiviteten av provförberedelse och nedströmsanalys.

Intern kontroll måste tillsättas med en blandning av bärar-RNA (CARRIER)-AVE-buffert (AVE), och den totala volymen av blandningen av intern kontroll, bärar-RNA (CARRIER) och AVE-buffert (AVE) förblir 120 μ l.

Tabellen representerar tillsatsen av intern kontroll till isolatet i förhållandet 0,1 μ l per 1 μ l elueringsvolym. Vi rekommenderar att du preparerar färsk blandning för varje körning precis innan användning.

Komponent	Volym (μ l) (Sarstedt®-rör)*	Volym (μ l) (BD™-rör)†
Stammar från bärare av RNA (CARRIER)	5	5
Intern kontroll‡	9	9
AVE-buffert	106	106
Slutlig volym per prov (exklusive dödvolum).	120	120
Total volym för n prover	(n x 120) + 360§	(n x 120) + 600¶

* Mikrorör 2,0 ml typ H och mikrorör 2,0 ml typ I, Sarstedt kat. nr 72.693 och 72.694.

† Polystyrenrör 14 ml, 17 x 100 mm med rund botten (Becton Dickinson, kat. nr 352051).

‡ Beräkningen av andelen intern kontroll bygger på de inledande elueringsvolymerna (90 μ l). Ytterligare tomvolym beror på vilken typ av provrör som används.

§ Intern kontroll-blandning motsvarande 3 ytterligare prover (dvs. 360 μ l) krävs. Fyll inte till mer än 1,92 ml total volym (motsvarande högst 13 prover. Dessa volymer är specifika för mikrorör 2,0 ml typ H och mikrorör 2,0 ml typ I, Sarstedt kat. nr 72.693 och 72.694).

¶ Intern kontroll-blandning motsvarande 5 ytterligare prover (dvs. 600 μ l) krävs. Fyll inte till mer än 13,92 ml total volym (motsvarande högst 111 prover. Dessa volymer är specifika för polystyrenrör 14 ml, 17 x 100 mm med rund botten, Becton Dickinson, kat. nr 352051).

QIASymphony SP-inställning

Lådan "Waste" (avfall)

Hållare för enhetslådor 1–4	Tomma enhetslådor
Avfallspåshållare	Avfallspåse
Hållare för flaska för flytande avfall	Töm och installera flaska för flytande avfall

Lådan "Eluate" (eluat)

Elueringsställ	Vi rekommenderar att uttag 1, kylpositionen, används
Elueringsvolym*	Förvald elueringsvolym: 60 μ l Initial elueringsvolym: 90 μ l

* Elueringsvolymen är förvald för protokollet. Detta är den minsta volym som är tillgänglig av den eluerade substansen i det slutliga elueringsröret. Den första volym av elueringslösning som krävs för att förvissa sig om att den verkliga volymen av eluerad substans är densamma som den förvalda volymen.

Lådan "Reagents and Consumables" (reagens och förbrukningsmaterial)

RC-position 1 och 2	Ladda 1 reagenspatron (reagent cartridge, RC) för maximalt 48 prover eller två nya reagenspatroner (RC) med maximalt 96 prover.
Spetsställhållare, position 1–4	Ladda tillräckligt många engångsfilterspetsar, 200 μ l (se "Nödvändiga plastartiklar för 1–4 provbatcher", sida 6)
Spetsställhållare, position 5–18	Ladda tillräckligt många engångsfilterspetsar, 1.500 μ l (se "Nödvändiga plastartiklar för 1–4 provbatcher", sida 6)
Enhetslådihållare, position 1–3	Ladda tre enhetslådor innehållande provberedningspatroner
Enhetslådihållare, position 4	Ladda 1 enhetslåda innehållande 8-stavskydd

Lådan "Sample" (prov)

Provtyp	Plasma
Provvoly (inklusive överskottsvoly)	1.200 μ l
Provrör	Mikrorör 2,0 ml Typ H eller mikrorör 2,0 ml Typ I (Sarstedt, kat.nr. 72.693 och 72.694)
Insats	Rörinsats 3B (kat.nr 9242083)

Nödvändiga plastartiklar för 1–4 provbatcher

	En batch, 24 prover[†]	Två batcher, 48 prover[†]	Tre batcher, 72 prover[†]	Fyra batcher, 96 prover[†]
Engångsfilterspetsar, 200 μl^{‡§†}	28	52	76	100
Engångsfilterspetsar, 1.500 μl[§]	113	206	309	402
Provberedningspatroner[¶]	21	42	54	72
8-stavsskydd^{**}	3	6	9	12

[†] Om du använder fler än ett rör med intern kontroll per batch och utför mer än en inventarieskanning, måste du ha fler engångsfilterspetsar.

[‡] Det finns 32 filterspetsar/spetsställ.

[§] Antalet filterspetsar som krävs inbegriper filterspetsar för 1 inventarieskanning per reagenspatron.

[¶] Det finns 28 provberedningspatroner/enhetslåda.

^{**} Det finns tolv 8-stavsskydd/enhetsask.

QIASymphony AS-inställning

Förbrukningsartiklar

Under inställningen anges rätt positioner för varje förbrukningsprodukt på QIASymphony AS-modulen på instrumentets pekskärm.

Förbrukningsartiklar	Namn på pekskärm	För användning med adapter/reagenshållare
Testremserör med lock, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG-testremserör 72 QS
Rör, konformade, 2 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt‡	Reagenshållare 1 QS Reagenshållare 2 QS
Rör, konformat, 5 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt‡□	Reagenshållare 1 QS Reagenshållare 2 QS
Reagensflaskor, 30 ml, Qsym AS (50)*	QIA#997108 *Bottle 30ml‡	Reagenshållare 2 QS
Elueringsmikrorör CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Elueringsmikrorörställ QS

* För masterblandningskomponenter, systempreparerad masterblandning, analysstandarder och analyskontroller.

† Alternativt kan Sarstedt-rören som beskrivs i "Material som behövs men inte medföljer", sida 2, användas.

‡ Suffixet "(m)" på pekskärmen betyder att beräknad vätskenivå för respektive provrör har optimerats för reagens som bildar en konkav menisk.

Adaptrar och reagenshållare

Ställ/reagenshållare	Namn	Antal som krävs [§]
Provställ	Elueringsmikrorörställ QS	1
Reagenshållare	Reagenshållare 1 QS	1
Analysställ	RG-testremserör 72 QS	1

[§] Beräknad för en analyskörning med 72 reaktioner.

Filterspetsar

Ladda spetsställ med start med spetskårorna 1, 2 och 3 i lådan "Eluate and Reagents" (eluat och reagenser) och ladda därefter spetsställ i spetskårorna 7, 8 och 9 i lådan "Assays" (analyser).

Förbrukningsartikel	Namn på pekskärm	Minsta antal för 24 reaktioner	Minsta antal för 72 reaktioner
Filterspetsar, 1.500 μ l (1024)	1.500 μ l	5	6
Filterspetsar, 200 μ l (1024)	200 μ l	10	10
Filterspetsar, 50 μ l (1024)	50 μ l	25	73
Spetsavfallspåsar	–	1	1

RT-PCR på Rotor-Gene Q

Se det programspecifika protokollbladet "Settings to run *artus* QS-RGQ Kits" (Inställningar för att köra *artus* QS-RGQ-kit) på www.qiagen.com/products/artushivirusr-t-pcrkitce.aspx.

Specifika inställningar för *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-kitet

Rotor-Gene AssayManager ställer automatiskt in parametrarna för *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-kitet.

Med Rotor-Gene-program 2.1 visas de specifika inställningarna nedan.

Reaktionsvolym (µL)	50
Uppehåll	Uppehållstemperatur: 50 grader Uppehållstid: 30 min.
Uppehåll 2	Uppehållstemperatur: 95 grader Uppehållstid: 15 min.
Cykling	50 ggr 95 grader i 30 sek. 50 grader i 60 sek. 72 grader i 30 sek.
Inställning av förstärkningsoptimering (Optimisation)	automatisk (Auto-Gain) 50 grader (Prover: grön; IC: orange)

Tolkning av resultat

I detta avsnitt beskrivs tolkningen av resultat på Rotor-Gene Q. Granska även provstatusinformationen från QIASymphony SP/AS-resultatfilerna för analys av det slutförda arbetsflödet prov-till-resultat. Använd endast prover med ett giltigt status

Rotor-Gene AssayManager tolkar automatiskt PCR-resultaten och lämnar en slutsats och ett kvantitativt resultat.

I nedanstående avsnitt beskrivs tolkningen av resultat med Rotor-Gene-programmet 2.1 eller senare.

Signaldetektion och slutsatser

Signal i kanalen Cycling Green	Signal i kanalen Cycling Orange	Kvantitativt resultat (IE/ml)	Tolkning
Ja	Ja	<76,4	Giltigt resultat: HIV-1-RNA detekterat, <100 IE/ml Kvantifiering omöjlig eftersom det kvantitativa resultatet ligger under detektionsgränsen. Det positiva resultatets reproducerbarhet är inte säkerställt.
Ja	Ja	≥76,4 och <100	Giltigt resultat: HIV-1-RNA detekterat, <100 IE/ml Kvantifiering omöjlig eftersom det kvantitativa resultatet ligger under analysens linjära intervall.
Ja	Ja	≥100 och ≤1,00 x 10 ⁸	Giltigt resultat: HIV-1-RNA detekterat vid den beräknade koncentrationen Kvantitativt resultat ligger inom analysens linjära intervall.
Ja	Ja	>1,00 x 10 ⁸	Giltigt resultat: HIV-1-RNA detekterat, >1,00 x 10 ⁸ Kvantifiering omöjlig eftersom det kvantitativa resultatet ligger över analysens linjära intervall.*
Nej	Ja	–	Giltigt resultat: Inget HIV-1-RNA kan detekteras.†
Nej	Nej	–	Ogiltigt resultat: Det går inte att komma fram till några resultat.‡

* Om kvantifiering önskas, ska provet spädas på nytt med HIV-fri plasma och bearbetas igen. Multiplicera det kvantitativa resultatet från det ombearbetade provet med spädningsfaktorn.

† Om C_T -värdet för den interna kontrollen för ett negativt prov är mer än 3 cykler högre än C_T -värdet för den interna kontrollen för kontrollen utan templat i körningen ($C_{T\ IC\ prov} - C_{T\ IC\ NTC} > 3$), så ska provet behandlas som ogiltigt. Det går inte att komma fram till något resultat.

‡ Information om fel och deras lösning återfinns i "Felsökningshandboken" i *Handboken till artus HI Virus-1 QS-RGQ-kitet*.

Tröskelinställning för PCR-analysen

Optimal tröskelinställning för en viss kombination av Rotor-Gene Q-instrument och *artus* QS-RGQ-kitet ska fastställas empiriskt genom testning av varje enskild kombination, då detta är ett relativt värde som beror på det övergripande diagnostiska arbetsflödet. Tröskeln kan ställas in på ett preliminärt värde av 0,04 för analysen av den första PCR-körningen, men detta värde ska finjusteras

genom komparativ analys av följande körningar i arbetsflödet. Tröskeln ska ställas in manuellt strax över bakgrundssignalen från de negativa kontrollerna och negativa proverna. Det genomsnittliga tröskelvärde som beräknas genom dessa experiment kommer sannolikt att fungera för de flesta av de kommande körningarna, men användaren måste inte desto mindre granska det genererade tröskelvärdet regelbundet. Tröskelvärdet ligger oftast inom området 0,03–0,05 och ska rundas av till högst tre decimaler.

Kvantifiering

Kvantifieringsstandarderna (HI Virus-1 RG/TM QS 1–4) i *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-kitet behandlas som tidigare renade prover och samma volym används (20 µl). För att generera en standardkurva på Rotor-Gene Q-instrumentet ska alla 4 kvantifieringsstandarderna användas och definieras i dialogrutan "Edit Samples" (redigera prover) på Rotor-Gene Q-instrumentet som standarder med de specificerade koncentrationerna (se användarhandboken till instrumentet).

Obs! Kvantifieringsstandarderna är definierade som IE/µl.* Följande ekvation måste användas för att omvandla de fastställda värdena med hjälp av standardkurvan till IE/ml provmaterial:

$$\text{Resultat (IE/ml)} = \frac{\text{Resultat (IE/}\mu\text{l)} \times \text{inledande elueringsvolym (90 }\mu\text{l)}^\dagger}{\text{Provolym (ml)}}$$

Principiellt ska den inledande provvolymen skrivas in i ekvationen ovan. Tag hänsyn till detta när provvolymen har förändrats före extraheringen av nukleinsyra (till exempel reducering av volymen genom centrifugering eller ökning av volymen genom att tillsätta den volym som krävs för isoleringen).

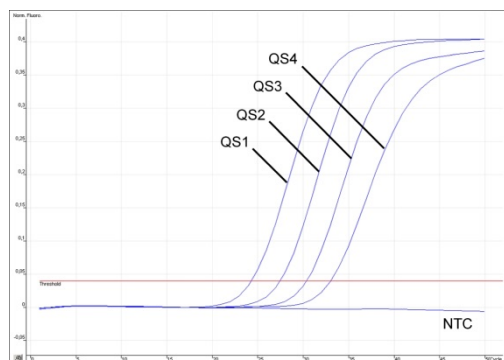
Omvandlingsfaktor

1 IE/ml motsvarar 0,45 kopior/ml för detektion av HIV-1-RNA på Rotor-Gene Q. Omvandlingsfaktorn fastställdes med en regressionsanalys av flera spädningsserier jämfört med en referensmetod som rapporterades i kopior/ml.

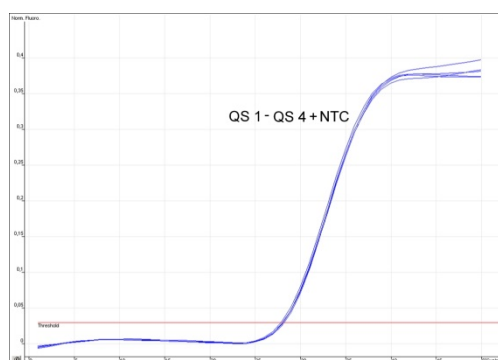
* Standarden har kalibrerats med hjälp av den internationella HIV-standard (WHO).

† Beräkningen är baserad på de inledande elueringsvolymerna (90 µl).

Exempel på positiva och negativa PCR-reaktioner



Detektion av kvantifieringsstandarderna (HI Virus-1 QS 1–4) i fluorescenskanalen Cycling Green. NTC: Ingen templatkontroll (negativ kontroll).



Detektion av den interna kontrollen (IC) i fluorescenskanalen Cycling Orange med samtidig amplifiering av kvantifieringsstandarderna (HI Virus-1 RG QS 1–4). NTC: Ingen templatkontroll (negativ kontroll).

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler: se respektive QIAGEN-kithandbok eller användarhandbok. QIAGEN-kithandböcker och användarhandböcker finns att tillgå på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN teknisk support eller från lokal återförsäljare.

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

© 2012 QIAGEN, med ensamrätt.

www.qiagen.com

Canada = 800-572-9613

Ireland = 1800 555 049

Norway = 800-18859

China = 021-3865-3865

Italy = 800-787980

Singapore = 65-67775366

Denmark = 80-885945

Japan = 03-6890-7300

Spain = 91-630-7050

Australia = 1-800-243-800

Finland = 0800-914416

Korea (South) = 1544 7145

Sweden = 020-790282

Austria = 0800/281010

France = 01-60-920-930

Luxembourg = 8002 2076

Switzerland = 055-254-22-11

Belgium = 0800-79612

Germany = 02103-29-12000

Mexico = 01-800-7742-639

UK = 01293-422-911

Brazil = 0800-557779

Hong Kong = 800 933 965

The Netherlands = 0800 0229592

USA = 800-426-8157



Sample & Assay Technologies