

QIASymphony[®] RGQ-applikasjonsark

QIASymphony RGQ-applikasjon artus[®] HI Virus-1 QS-RGQ-sett (prøvetype: plasma)

IVD

CE
0197



Se etter nye elektroniske etikettoppdateringer på www.qiagen.com/products/artushivusrt-pcrkitce.aspx før testen utføres. Gjeldende revisjonsstatus indikeres av utgivelsesdato (format: måned/år).

Generell informasjon

Sett	artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit, versjon 1, REF 4513363, 4513366
Validert prøvemateriale	Humant EDTA-plasma
“Front-end”-rensing	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat.nr. 937055)
Prøvevolum (inkludert for stort volum)	1.200 µl
Analyseparametersett	artus_HIV plasma1000_V4
Standard analyse	kontroll Cellfree1000_V6_DSP artus HIV
Elueringsvolum	60 µl
Nødvendig programvare	versjon Versjon 4.0 eller høyere
Hovedblande­volum	30 µl
Malvolum	20 µl
Antall reaksjoner	6–24 eller 6–72*
Kjøretid på AS-modul	For 6 reaksjoner: Ca. 9 minutter For 72 reaksjoner: Ca. 35 minutter

* Ved kjøring av flere analyser må man forsikre at grensen for 72 reaksjoner og 1 analysestativadapter ikke overskrides. Unngå forlenget inkubasjonstid (>30 minutter) mellom fullførelse av analysekjøringen og overføring til Rotor-Gene[®] Q.

Mai 2012



Sample & Assay Technologies

Nødvendige materialer som ikke følger med

Rensesett	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat.nr. 937055)
Adaptore for QIASymphony SP	■	Elution Microtube Rack QS (Elusjonsmikrorørstativ QS) (kjøleadapter, EMT, v2, Qsym, kat.nr. 9020730)
	■	Tube Insert 3B (Rørinlegg 3B) (innlegg, 2,0 ml v2, prøvevogn (24), Qsym, kat.nr. 9242083)
Forbruksvarer for QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges, 8-well (Prøveklargjøringspatroner, 8-brønns) (kat.nr. 997002)
	■	8-Rod Covers (8-stangsdeksler) (kat.nr. 997004)
	■	Filter-Tips, 1.500 µl (Filterspisser, 1.500 µl) (kat.nr. 997024)
	■	Filter-Tips, 200 µl (Filterspisser, 200 µl) (kat.nr. 990332)
	■	Elution Microtubes CL (Elusjonsmikrorør CL) (kat.nr. 19588)
	■	Tip disposal bags (Spissavfallsposer) (kat.nr. 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H (Mikrorør 2,0 ml type H) eller Micro tubes 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 interne controller
Adaptore og reagensholdere for QIASymphony AS	■	Reagent holder 1 QS (Reagensholder 1 QS) (kjøleadapter, reagensholder 1, Qsym, kat.nr. 9018090)
	■	Reagent holder 2 QS (Reagensholder 2 QS) (kjøleadapter, reagensholder 2, Qsym, kat.nr. 9018089)
	■	RG Strip Tubes 72 QS (RG-strimmelrør 72 QS) (kjøleadapter, RG-strimmelrør 72, Qsym, kat.nr. 9018092)
Forbruksvarer for QIASymphony AS	■	Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (Strimmelrør og lokk, 0,1 ml) (kat.nr. 981103)
	■	Tubes, conical 2 ml, Qsym AS (Rør, koniske, 2 ml, Qsym AS) (kat.nr. 997102)* eller Micro tubes 2.0 ml Type I (Mikrorør 2,0 ml type I) (Sarstedt, kat.nr. 72.694.005)
	■	Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (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, 30 ml, Qsym AS (Reagensflasker, 30 ml, Qsym AS) (kat. nr. 997108)
	■	Elution Microtubes CL (Elusjonsmikrorør CL) (kat.nr. 19588)
	■	Filter-Tips, 1.500 µl (Filterspisser, 1.500 µl) (kat.nr. 997024)
	■	Filter-Tips, 200 µl (Filterspisser, 200 µl) (kat.nr. 990332)
	■	Filter-Tips, 50 µl (Filterspisser, 50 µl) (kat.nr. 997120)
	■	Tip disposal bags (Spissavfallsposer) (kat.nr. 9013395)

* Vennligst spør om tilgjengelighet.

Håndtering og oppbevaring av prøver

Prøvetaking	Blodprøve 5–10 ml EDTA-blod 8x "overhead"-blanding — må ikke rystes! Hepariniserte humane prøver må ikke brukes
Oppbevaring av prøver	Separasjon: 20 minutters sentrifugering, 800–1.600 x g innen 24 timer etter prøvetaking Overfør det isolerte plasmaet til et sterilt polypropylenrør Virusinnkapslet RNA stabilt ved:* 4 °C dager –20 °C uker –70 °C måneder
Transport av prøver	Knusesikker transport Sendes innen 24 timer Forsendelse via post i samsvar med lovmessige instruksjoner for transport av patogen materiale† Blodprøver skal sendes nedkjølte (2 til 8 °C)
Forstyrrende stoffer	Heparin (≥ 10 IE/ml) påvirker PCR. Prøver samlet inn i glass som inneholder heparin som antikoagulant eller prøver fra hepariniserte pasienter, må ikke brukes. Forhøyede nivåer av albumin (≤ 6 g/dl), bilirubin (≤ 30 mg/dl), lipider (≤ 1 g/dl triglyserid) og hemolytiske prøver (≤ 2 g/dl hemoglobin) har ingen innvirkning på systemet.

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

† International Air Transport Association (IATA) (Internasjonalt lufttransportforbund (IATA). Dangerous Goods Regulations (Bestemmelser for farlig gods).

Prosedyre

Klargjøring av bærer-RNA og tilsetning av den interne kontrollen i prøvene

Bruk av QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi-settene i kombinasjon med *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-settet krever introduksjon av den interne kontrollen (HI Virus-1 RG IC) i renseprosedyren for å overvåke effektiviteten på prøveklargjøringen og downstream-analysen.

Interne kontroller må tilsettes med bærer-RNA (CARRIER)-Buffer AVE (AVE)-blanding, og den totale mengden på den interne kontroll-bærer-RNA (CARRIER)-Buffer AVE (AVE)-blandingen forblir 120 μ l.

Tabellen representerer tilsetningen av intern kontroll i isolasjonen med et forhold på 0,1 μ l pr. 1 μ l elusjonsvolum. Vi anbefaler å klargjøre ferske blandinger for hver kjøring rett før bruk.

Komponent	Volum (μ l) (Sarstedt®-rør)*	Volum (μ l) (BD™-rør)†
Lager bærer-RNA (CARRIER)	5	5
Intern kontroll‡	9	9
Buffer AVE	106	106
Endelig volum per prøve (ekskludert dødvolum)	120	120
Totalt volum for n prøver	(n x 120) + 360§	(n x 120) + 600¶

* Mikrorør 2,0 ml type H og mikrorør 2,0 ml type I, Sarstedt, kat.nr. 72.693 og 72.694.

† Rør 14 ml, 17 x 100 mm polystyren, rund bunn (Becton Dickinson, kat.nr. 352051).

‡ Beregningen av mengden intern kontroll er basert på de innledende elusjonsvolumene (90 μ l). Ekstra tomt volum avhenger av typen prøverør som brukes.

§ Intern kontroll-blanding tilsvarende 3 ytterligere prøver (dvs., 360 μ l) ved behov. Ikke fyll mer enn 1,92 ml totalt volum (tilsvarende maks. 13 prøver. Disse volumene er spesifikke for mikrorør 2,0 ml type H og mikrorør 2,0 ml type I, Sarstedt, kat.nr. 72.693 og 72.694).

¶ Intern kontroll-blanding tilsvarende 5 ytterligere prøver (dvs., 600 μ l) ved behov. Ikke fyll mer enn 13,92 ml totalt volum (tilsvarende maks. 111 prøver. Disse volumene er spesifikke for rør 14 ml, 17 x 100 mm polystyren, rund bunn, Becton Dickinson, kat.nr. 352051).

Oppsett av QIASymphony SP

Skuffen "Waste" (Avfall)

Enhetsboksholder 1–4	Tomme enhetsbokser
Avfallsposeholder	Avfallspose
Holder for væskeavfallsflaske	Tøm og installer væskeavfallsflasken

Skuffen "Eluate" (Eluat)

Elusjonsstativ	Vi anbefaler bruk av åpning 1, nedkjølingsposisjon
Elueringsvolum*	Forhåndsvalgt elusjonsvolum: 60 μ l Innledende elusjonsvolum: 90 μ l

* Elusjonsvolumet som er forhåndsvalgt for protokollen. Dette er minimum tilgjengelig eluatvolum i det endelige elusjonsrøret. Det innledende volumet av elusjonsløsning er nødvendig for å sikre at det faktiske eluatvolumet er det samme som det forhåndsvalgte volumet.

Skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbruksvarer)

RC-posisjon 1 og 2	Last 1 reagenspatron (RC) for opptil 48 prøver eller 2 nye reagenspatroner (RC) for opptil 96 prøver
Spisstativholder posisjon 1–4	Last tilstrekkelige stativer med engangsfilterspisser, 200 μ l (se "Nødvendig plastvare for 1–4 prøvekjøringer", side 6)
Spisstativholder posisjon 5–18	Last tilstrekkelige stativer med engangsfilterspisser, 1.500 μ l (se "Nødvendig plastvare for 1–4 prøvekjøringer", side 6)
Enhetsboksholderposisjon 1–3	Last 3 enhetsbokser som inneholder prøveklargjøringspatroner
Enhetsboksholder posisjon 4	Last 1 enhetsboks som inneholder 8-stangdeksler

Skuffen "Sample" (Prøve)

Prøvetype	Plasma
Prøvevolum (inkludert for stort volum)	1.200 μ l
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)

Nødvendig plastvare for 1–4 prøvekjøringer

	Én omgang, 24 prøver[†]	To omganger, 48 prøver[†]	Tre omganger, 72 prøver[†]	Fire omganger, 96 prøver[†]
Filterspisser til engangsbruk, 200 μl^{‡§}	28	52	76	100
Filterspisser til engangsbruk, 1.500 μl^{‡§}	113	206	309	402
Prøveklargjøringspatroner[¶]	21	42	54	72
8-stangdeksler^{**}	3	6	9	12

[†] Bruk av mer enn ett internt kontrollrør per omgang og utføring av mer enn én inventarskanning krever ekstra engangsfilterspisser.

[‡] Det finnes 32 filterspisser/spisstativ.

[§] Antall nødvendige filterspisser inkluderer filterspisser for 1 inventarskanning per reagenspatron.

[¶] Det finnes 28 prøveklargjøringspatroner/enhetsboks.

^{**} Det finnes tolv 8-stangdeksler/enhetsboks.

Oppsett av QIASymphony AS

Forbruksvarer

Under oppsettet er riktig posisjon for hver forbruksvare på QIASymphony AS-modulen indikert på instrumentets berørings skjerm.

Forbruksvarer	Navn på berørings skjermen	Til bruk med adapter/reagensholder
Strimmelrør og lokk, (250)	0 QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG-strimmelrør 72 QS
Rør, koniske, 2 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt‡	Reagensholder 1 QS Reagensholder 2 QS
Rør, konisk, 5 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt‡	Reagensholder 1 QS Reagensholder 2 QS
Reagensflasker, 30 ml, Qsym AS (50)*	QIA#997108 *Bottle 30ml‡	Reagensholder 2 QS
Elusjonsmikrorør CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Elusjonsmikrorørstativ QS

* For hovedblandingskomponenter, systemklargjort hovedblander, analysestandarder og analysekontroller.

† Alternativt kan Sarstedt-rørene som beskrives på "Nødvendige materialer som ikke følger med", side 2, kan brukes.

‡ Suffikset "(m)" på berørings skjermen indikerer at væskeniåberegninger for det respektive røret har blitt optimalisert for reagenser som danner en konkav meniscus.

Adaptore og reagensholdere

Stativ/reagensholder	Navn	Påkrevd antall§
Prøvestativ	Elusjonsmikrorørstativ QS	1
Reagensholdere	Reagensholder 1 QS	1
Analysestativer	RG-strimmelrør 72 QS	1

§ Beregnet for en analysekjøring med 72 reaksjoner.

Filterspisser

Last spisstativene ved å starte med spissåpningene 1, 2 og 3 i skuffen "Eluate and Reagents (Eluat og reagenser)" og last deretter spisstativene inn i spissåpningene 7, 8 og 9 i skuffen "Assays" (Analyser).

Forbruksvare	Navn på berørings skjermen	Minimum antall for 24 reaksjoner	Minimum antall for 72 reaksjoner
Filterspisser, 1.500 μ l (1024)	1.500 μ l	5	6
Filterspisser, 200 μ l (1024)	200 μ l	10	10
Filterspisser, 50 μ l (1024)	50 μ l	25	73
Spissavfallsposer	–	1	1

RT-PCR på Rotor-Gene Q

Se det programvarespesifikke protokollarket "Settings to run *artus* QS-RGQ Kits" (Innstillinger for å kjøre *artus* QS-RGQ-sett) på www.qiagen.com/products/artushivirusr-t-pcrkitce.aspx.

Spesifikke innstillinger for *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-settet

Rotor-Gene AssayManager stiller inn parametrene for *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-settet automatisk.

Med Rotor-Gene-programvare 2.1, vises de spesifikke innstillingene nedenfor.

Reaksjonsvolum (μL)	50
 Holding	Holdetemperatur: 50 grader Holdetid: 30 min.
 Holding 2	Holdetemperatur: 95 grader Holdetid: 15 min.
 Sykling	50 gang(er) 95 grader i 30 sek. 50 grader i 60 sek. 72 grader i 30 sek.
 Oppsett av automatisk økningsoptimalisering	50 grader (Prøver: Grønn; IC: Oransj)

Tolkning av resultater

Dette avsnittet beskriver tolkning av resultater på Rotor-Gene Q. Gjennomgå også prøvestatusinformasjonen fra QIASymphony SP/AS-resultatfilene for analyse av den fullstendige prøve-fil-resultat-arbeidsflyten. Bruk kun prøver med gyldig status

Rotor-Gene AssayManager tolker automatisk PCR-resultatene og gir en konklusjon og et kvantitativt resultat.

Følgende avsnitt beskriver tolkning av resultater ved bruk av Rotor-Gene programvare 2.1 eller høyere.

Signalpåvisning og konklusjoner

Signal i kanalen Cycling Green	Signal i kanalen Cycling Orange	Kvantitativt resultat (IE/ml)	Tolkning
Ja	Ja	<76,4	Gyldig resultat: HIV-1-RNA påvist, <100 IE/ml Kvantifisering er ikke mulig siden det kvantitative resultatet er under deteksjonsgrensen. Reproduserbarhet for det positive resultatet er ikke garantert.
Ja	Ja	≥76,4 og <100	Gyldig resultat: HIV-1-RNA påvist, <100 IE/ml Kvantifisering er ikke mulig siden det kvantitative resultatet er under analysens lineære område.
Ja	Ja	≥100 og ≤1,00 x 10 ⁸	Gyldig resultat: HIV-1-RNA påvist ved beregnet konsentrasjon Det kvantitative resultatet er innenfor analysens lineære område.
Ja	Ja	>1,00 x 10 ⁸	Gyldig resultat: HIV-1-RNA påvist, >1,00 x 10 ⁸ Kvantifisering er ikke mulig siden det kvantitative resultatet er over analysens lineære område.*
Nei	Ja	–	Gyldig resultat: Ingen HIV-1-RNA kan påvises.†
Nei	Nei	–	Ugyldig resultat: Det kan ikke konkluderes med noe resultat.‡

* Hvis kvantifisering ønskes, må prøven fortynnes med HIV-fritt plasma og behandles på nytt. Multipliser det kvantitative resultatet fra den gjenbehandlede prøven med fortynningsfaktoren.

† Hvis C_T-verdien for den interne kontrollen for en negativ prøve er mer enn 3 sykluser høyere enn C_T-verdien for den interne kontrollen for ingen mal-kontrollen i kjøringen (C_{T I.K.-prøve} – C_{T IC NTC} >3), skal prøven anses å være ugyldig. Det kan ikke konkluderes med noe resultat.

‡ Informasjon om feilkilder og løsning av disse kan finnes i "Feilssøkingeveiledning" i Håndboken for artus HI Virus-1 QS-RGQ-settet.

Terskeloppsett for PCR-analyse

De optimale terskelinnstillingene for en gitt kombinasjon av Rotor-Gene Q-instrumentet og artus QS-RGQ-settet skal stilles inn empirisk ved å teste hver enkelt kombinasjon siden det er en relativ verdi avhengig av den helhetlige diagnostiske arbeidsflyten. Terskelen kan stilles inn ved en foreløpig verdi på 0,04 for analysen av den første PCR-kjøringen, men denne verdien skal fininnstilles i en

sammenlignbar analyse av de neste kjøringene i arbeidsflyten. Terskelen skal stilles inn manuelt rett over bakgrunnssignalet for de negative kontrollene og de negative prøvene. Den gjennomsnittlige terskelverdien som beregnes fra disse eksperimentene vil mest sannsynlig fungere for flertallet av fremtidige kjøring, men brukeren skal likevel gjennomgå den genererte terskelverdien ved regelmessige intervaller. Terskelverdien vil vanligvis ligge i området 0,03–0,05 og skal rundes av til maksimalt tre desimalplasser.

Kvantifisering

Kvantifiseringsstandardene (HI Virus-1-RG QS 1–4) i *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-settet behandles som tidligere rensede prøver, og det samme volumet brukes (20 µl). For å opprette en standardkurve på Rotor-Gene Q-instrumenter skal alle 4 kvantifiseringsstandardene brukes og defineres i dialogboksen “Edit Samples” (Rediger prøver) på Rotor-Gene Q-instrumentet som standarder med de spesifiserte konsentrasjonene (se instrumentets brukerhåndbok).

Merk: Kvantifiseringsstandardene defineres som IE/µl.*Følgende ligning må brukes for å konvertere verdiene som fastsettes ved bruk av standardkurven til IE/ml av prøvemateriale

$$\text{Resultat (IE/ml)} = \frac{\text{Resultat (IE/}\mu\text{l)} \times \text{innledende elusjonsvolum}}{\text{Prøvevolum (ml)}}$$

Som en prinsipp sak skal det innledende prøvevolumet oppgis i ligningen ovenfor. Dette må betraktes når prøvevolumet har blitt endret forut for nukleinsyreekstraheringen (f.eks. redusere volumet gjennom sentrifugering eller øking av volumet ved å legge til volumet som kreves for isolasjonen).

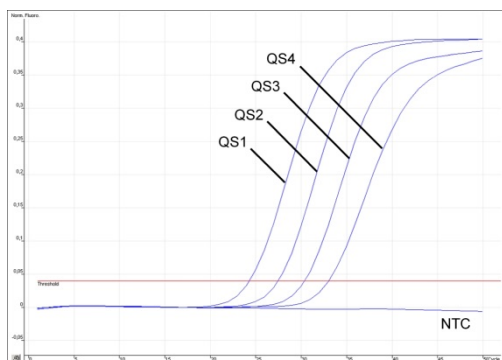
Konverteringsfaktor

1 IE/ml tilsvarer 0,45 kopier/ml for påvisning av HIV-1 RNA på Rotor-Gene Q. Konverteringsfaktoren ble fastslått ved bruk av en regresjonsanalyse av flere fortyningsserier sammenlignet med en referansem metode som rapporterer i kopier/ml.

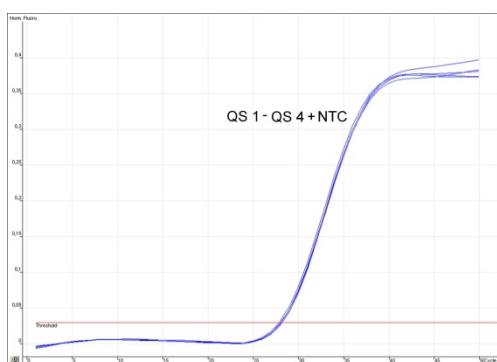
* Standarden er kalibrert ved bruk av den internasjonale HIV-standard (WHO).

† Beregningen er basert på de innledende elusjonsvolumene (90 µl).

Eksempler på positive og negative PCR-reaksjoner



Påvisning av kvantifiseringsstandardene (HI Virus-1 RG QS 1–4) i fluorescenskanalen Cycling Green. NTC: No Template Control (Ingen malkontroll) (negativ kontroll).



Påvisning av den interne kontrollen (IC) i fluorescenskanalen Cycling Orange med samtidig forsterkning av kvantifiseringsstandardene (HI Virus-1 RG QS 1–4). NTC: No Template Control (Ingen malkontroll) (negativ kontroll).

For oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, se den respektive håndboken eller brukerhåndboken for QIAGEN-settet. Håndboker og brukerhåndbøker for QIAGEN-sett er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan anmodes fra QIAGENS tekniske serviceavdeling eller din lokale distributør.

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

© 2012 QIAGEN, med enerett.

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