

# Toepassingsblad QIASymphony® RGQ

## QIASymphony RGQ-toepassing artus® HI Virus-1 QS-RGQ Kit (monstertype: plasma)



Controleer voordat u een test gaat uitvoeren of er nieuwe (herziene) elektronische bijsluiters beschikbaar zijn op [www.qiagen.com/products/artushivusrtpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivusrtpcrkitce.aspx). De status van de huidige herziening is aangegeven door middel van de uitgiftedatum (in de vorm maand/jaar).

## Algemene informatie

Kit	artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit, versie 1, <b>REF</b> 4513363, 4513366
Gevalideerd monstermateriaal	Humaan EDTA-plasma
'Front-end'-zuivering	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (cat.nr. 937055)
Monstervolume (inclusief overmaat volume)	1200 µl
Parameterset voor de assay	artus_HIV plasma1000_V4
Standaard assaycontroleset	Cellfree1000_V6 _DSP artus HIV
Elutievolume	60 µl
Vereiste softwareversie	Versie 4.0 of hoger
Volume mastermengsel	30 µl
Volume template	20 µl
Aantal reacties	6-24 of 6-72*
Duur van de run op AS-module	Voor 6 reacties: ongeveer 9 minuten Voor 72 reacties: ongeveer 35 minuten

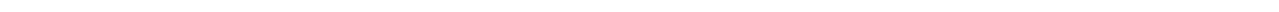
\* Zorg ervoor dat de limiet van 72 reacties en 1 assayrekadapter niet wordt overschreden wanneer meerdere assayruns worden uitgevoerd. Vermijd een verlengde incubatietijd (> 30 minuten) tussen het voltooien van de assayrun en het overbrengen naar de Rotor-Gene® Q.



## Benodigde maar niet meegeleverde materialen

Zuiveringskit	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (cat.nr. 937055)
Adapters voor de QIASymphony SP	■	Elution Microtube Rack QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym) (cat.nr. 9020730)
	■	Tube Insert 3B (Insert, 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym, cat.nr. 9242083)
Verbruiksartikelen voor de QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges, 8-well (cat.nr. 997002)
	■	8-Rod Covers (cat.nr. 997004)
	■	Filter-Tips, 1500 µl (cat.nr. 997024)
	■	Filter-Tips, 200 µl (cat.nr. 990332)
	■	Elution Microtubes CL (cat.nr. 19588)
	■	Tip disposal bags (cat.nr. 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H of Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, cat.nrs. 72.693 en 72.694, <a href="http://www.sarstedt.com">www.sarstedt.com</a> ) voor gebruik met monsters en interne controles
Adapters en reagenshouders voor de QIASymphony AS	■	Reagent holder 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym) (cat.nr. 9018090)
	■	Reagent holder 2 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 2, Qsym) (cat.nr. 9018089)
	■	RG Strip Tubes 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym) (cat.nr. 9018092)
Verbruiksartikelen voor de QIASymphony AS	■	Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (cat.nr. 981103)
	■	Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (cat.nr. 997102)* of Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, cat.nr. 72.694.005)
	■	Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (cat.nr. 997104)* of Tubes with flat base from PP (Sarstedt, cat.nr. 60.558.001)
	■	Reagent Bottles, 30 ml, Qsym AS (cat.nr. 997108)
	■	Elution Microtubes CL (cat.nr. 19588)
	■	Filter-Tips, 1500 µl (cat.nr. 997024)
	■	Filter-Tips, 200 µl (cat.nr. 990332)
	■	Filter-Tips, 50 µl (cat.nr. 997120)
	■	Tip disposal bags (cat.nr. 9013395)

\* Vraag naar beschikbaarheid.



---

## Opslag en verwerking van monsters

Monsterafname	Bloedmonster 5–10 ml EDTA-bloed 8x roterend (op de kop en weer terug) mengen – niet schudden of ronddraaien! Gebruik geen gehepariniseerde humane monsters
Monsteropslag	Scheiding: 20 minuten centrifugeren bij 800–1600 x g binnen 24 uur na afname Overbrengen van het geïsoleerde plasma in een steriel buisje van polypropyleen In virus ingekapseld RNA stabiel bij:* 4 °C dagen -20 °C weken -70 °C maanden
Monstertransport	Spatvrij transport Verzending binnen 24 uur Postverzending volgens wettelijke instructies voor transport van pathogeen materiaal† Bloedmonsters dienen gekoeld te worden verzonden (2 tot 8 °C)
Stoffen met een storende werking	Heparine ( $\geq 10$ IE/ml) heeft een negatieve invloed op de PCR. Gebruik geen monsters die zijn verzameld in buisjes met heparine als antistollingsmiddel of monsters van gehepariniseerde patiënten. Verhoogde niveaus van albumine ( $\leq 6$ g/dl), bilirubine ( $\leq 30$ mg/dl) en lipiden ( $\leq 1$ g/dl triglyceride) en hemolytische monsters ( $\leq 2$ g/dl hemoglobine) hebben geen invloed op het systeem.

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

† International Air Transport Association (IATA). Dangerous Goods Regulations (Regelgeving voor het vervoer van gevaarlijke stoffen door de lucht).

---

## Procedure

### Bereiding van carrier-RNA en toevoeging van de interne controle aan de monsters

Bij het gebruik van QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit in combinatie met de *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit is het nodig om de interne controle (HI Virus-1 RG IC) in de zuiveringsprocedure op te nemen om de efficiëntie van de monsterbereiding en de downstream assay te bewaken.

Interne controles moeten worden toegevoegd met mengsel van carrier-RNA (CARRIER) en Buffer AVE (AVE). Het totale volume van het mengsel van de interne controle, carrier-RNA (CARRIER) en Buffer AVE (AVE) blijft 120 µl.

In de tabel wordt de toevoeging van interne controle aan de isolatie weergegeven, in een verhouding van 0,1 µl per 1 µl elutievolume. Wij raden aan om voor elke run vlak voor gebruik nieuwe mengsels te bereiden.

Component	Volume (µl) (Sarstedt®-buisjes)*	Volume (µl) (BD™-buisjes)†
Vorraadoplossing carrier-RNA (CARRIER)	5	5
Interne controle‡	9	9
Buffer AVE	106	106
Eindvolume per monster (exclusief dood volume)	120	120
Totaal volume voor n monsters	$(n \times 120) + 360^{\S}$	$(n \times 120) + 600^{\parallel}$

\* Micro tubes 2.0 ml Type H en Micro tubes 2.0 ml Type I, Sarstedt cat.nrs. 72.693 en 72.694.

† Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Becton Dickinson, cat.nr. 352051).

‡ De berekening van de hoeveelheid interne controle is gebaseerd op de aanvankelijke elutievolume (90 µl). Extra dood volume is afhankelijk van het gebruikte type monsterbuisje.

§ Er is een volume interne-controlemengsel nodig dat overeenkomt met 3 extra monsters (d.w.z. 360 µl). Gebruik geen totaal volume groter dan 1,92 ml (overeenkomend met een maximum van 13 monsters. Deze volumes zijn specifiek voor Micro tubes 2.0 ml Type H en Micro tubes 2.0 ml Type I, Sarstedt cat.nrs. 72.693 en 72.694).

¶ Er is een volume interne-controlemengsel nodig dat overeenkomt met 5 extra monsters (d.w.z. 600 µl). Gebruik geen totaal volume groter dan 13,92 ml (overeenkomend met een maximum van 111 monsters. Deze volumes zijn specifiek voor Tubes 14 ml, 17 x 100 mm

---

polystyrene  
round-bottom, Becton Dickinson, cat.nr. 352051).

## Instellen QIASymphony SP

### De lade 'Waste' (Afval)

Verpakkingsdooshouder 1-4	Lege verpakkingsdozen
Afvalzakhouder	Afvalzak
Houder afvalvloeistoffenfles	Leeg en installeer afvalvloeistoffenfles

### De lade 'Eluate' (Eluaat)

Elutierek	Het gebruik van slot 1, de koelpositie, wordt aangeraden
Elutievolume*	Voorgeselecteerd elutievolume: 60 µl Aanvankelijk elutievolume: 90 µl

\* Het elutievolume is voorgeselecteerd voor het protocol. Dit is het minimaal toegankelijke eluaatvolume in de laatste elutiebus. Het aanvankelijke volume van de elutie-oplossing is nodig om er zeker van te zijn dat het daadwerkelijke eluaatvolume gelijk is aan het voorgeselecteerde volume.

### De lade 'Reagents and Consumables' (Reagentia en verbruiksartikelen)

RC-positie 1 en 2	Laad 1 reagenscartridge (RC) voor maximaal 48 monsters of 2 nieuwe reagenscartridges (RC) voor maximaal 96 monsters
Tiprekhouder posities 1-4	Laad voldoende rekken met wegwerpbare filtertips van 200 µl (zie 'Benodigde plastic artikelen voor 1-4 monsterbatches' op pagina 8)
Tiprekhouder posities 5-18	Laad voldoende rekken met wegwerpbare filtertips van 1500 µl (zie 'Benodigde plastic artikelen voor 1-4

---

monsterbatches' op pagina 8)

Verpakkingsdooshouder positie 1-3

Laad 3 verpakkingsdozen met  
monsterbereidingscartridges

Verpakkingsdooshouder positie 4

Laad 1 verpakkingsdoos met 8-Rod  
Covers

## De lade 'Sample' (Monster)

Monstertype	Plasma
Monstervolume (inclusief overmaat volume)	1200 µl
Monsterbuizen	Micro tubes 2.0 ml Type H of Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, cat.nrs. 72.693 en 72.694)
Inzet	Tube Insert 3B (cat.nr. 9242083)

## Benodigde plastic artikelen voor 1–4 monsterbatches

	Eén batch, 24 monsters <sup>†</sup>	Twee batches, 48 monsters <sup>†</sup>	Drie batches, 72 monsters <sup>†</sup>	Vier batches, 96 monsters <sup>†</sup>
Wegwerpbare filtertips, 200 µl <sup>‡§</sup>	28	52	76	100
Wegwerpbare filtertips, 1500 µl <sup>‡§</sup>	113	206	309	402
Monsterbereidings- cartridges <sup>¶</sup>	21	42	54	72
8-Rod Covers <sup>**</sup>	3	6	9	12

<sup>†</sup> Voor het gebruik van meer dan één interne-controlebuis per batch en het uitvoeren van meer dan één voorraadscan zijn extra wegwerpbare filtertips nodig.

<sup>‡</sup> Er zitten 32 filtertips in een filtertiprek.

<sup>§</sup> Het aantal benodigde filtertips is inclusief tips voor 1 voorraadscan per reagenscartridge.

<sup>¶</sup> Er zitten 28 monsterbereidingscartridges in een verpakkingsdoos.

<sup>\*\*</sup>Er zitten twaalf 8-Rod Covers in een verpakkingsdoos.



# Instellen QIASymphony AS

## Verbruiksartikelen

Tijdens het instellen worden de juiste posities voor alle verbruiksartikelen aangegeven op het aanraakscherm van de QIASymphony AS-module.

Verbruiksartikelen	Naam op aanraakscherm	Voor gebruik met adapter/reagenshouder
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG Strip Tubes 72 QS
Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt‡	Reagent holder 1 QS Reagent holder 2 QS
Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt‡	Reagent holder 1 QS Reagent holder 2 QS
Reagent Bottles, 30ml, Qsym AS (50)*	QIA#997108 *Bottle 30ml‡	Reagent holder 2 QS
Elution Microtubes CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Elution Microtube Rack QS

\* Voor mastermengselcomponenten, door het systeem bereid mastermengsel, assaystandaarden en assaycontroles.

† Als alternatief kunnen de Sarstedt-buisjes beschreven in 'Benodigde maar niet meegeleverde materialen', pagina 2 worden gebruikt.

‡ Het achtervoegsel '(m)' op het aanraakscherm geeft aan dat de berekeningen van het vloeistofniveau voor het desbetreffende buisje geoptimaliseerd zijn voor reagentia die een holle meniscus vormen.

## Adapters en reagenshouders

Rek/reagenshouder	Naam	Benodigd aantal <sup>§</sup>
Monsterrek	Elution Microtube Rack QS	1
Reagenshouders	Reagent holder 1 QS	1
Assayrekken	RG Strip Tubes 72 QS	1

<sup>§</sup> Berekend voor een assayrun met 72 reacties.

---

## Filtertips

Laad de tiprekken beginnend met tipsleuven 1, 2 en 3 in de lade 'Eluate and Reagents' (Eluaat en reagentia) en vervolgens 7, 8 en 9 in de lade 'Assays'.

Verbruiksartikel	Naam op aanraakscherm	Minimumaantal voor 24 reacties	Minimumaantal voor 72 reacties
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	1500 µl	5	6
Filter-Tips, 200 µl (1024)	200 µl	10	10
Filter-Tips, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Tip Disposal Bags	-	1	1

## RT-PCR op de Rotor-Gene Q

Raadpleeg het softwarespecifieke protocolblad 'Instellingen voor het uitvoeren van artus QS-RGQ-kits' (Settings to run artus QS-RGQ Kits) op [www.qiagen.com/products/artushivirusr-t-pcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusr-t-pcrkitce.aspx).

### Specifieke instellingen voor de artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit

De Rotor-Gene AssayManager stelt de parameters voor de artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit automatisch in.

De specifieke instellingen voor Rotor-Gene-software 2.1 worden hieronder vermeld.

Reaction volume (µL) (reactievolume) (µl)	50
Hold (constant)	Hold Temperature (vasthoudtemperatuur): 50 graden Hold Time (vasthoudtijd): 30 minuten
Hold 2 (constant 2)	Hold Temperature (vasthoudtemperatuur): 95 graden Hold Time (vasthoudtijd): 15 minuten
Cycling (cyclus)	50 keer 95 graden gedurende 30 sec. 50 graden gedurende 60 sec. 72 graden gedurende 30 sec.

Auto-Gain Optimisation Setup (instelling optimalisatie automatische versterking)	50 graden  (Monsters: Green [groen]; IC: Orange [oranje])
--	---

## Interpretatie van de resultaten

In dit gedeelte wordt beschreven hoe de resultaten van de Rotor-Gene Q moeten worden geïnterpreteerd. Bekijk ook de informatie over de monsterstatus in de resultatenbestanden van de QIASymphony SP/AS voor analyse van de gehele workflow van monster tot resultaat. Alleen monsters met een status Valid (geldig) mogen worden gebruikt.

De Rotor-Gene AssayManager interpreteert de PCR-resultaten automatisch en geeft een conclusie en een kwantitatief resultaat.

In de volgende gedeeltes wordt beschreven hoe de resultaten moeten worden geïnterpreteerd met de Rotor-Gene-software 2.1 of hoger.

### Signaaldetectie en conclusies

Signaal in kanaal Cycling Green (Cyclisch groen)	Signaal in kanaal Cycling Orange (Cyclisch oranje)	Kwantitatief resultaat (IE/ml)	Interpretatie
Ja	Ja	< 76,4	Geldig resultaat: HIV-1-RNA gedetecteerd, < 100 IE/ml Kwantificatie niet mogelijk omdat het kwantificatieresultaat lager is dan de detectielimiet. Reproduceerbaarheid van het positieve resultaat is niet gegarandeerd.
Ja	Ja	≥ 76,4 en < 100	Geldig resultaat: HIV-1-RNA gedetecteerd, < 100 IE/ml Kwantificatie niet mogelijk omdat het kwantificatieresultaat lager is dan het lineaire bereik van de assay.
Ja	Ja	≥ 100 en ≤ 1,00 x 10 <sup>8</sup>	Geldig resultaat: HIV-1-RNA gedetecteerd in de berekende concentratie Kwantitatief resultaat valt binnen het lineaire bereik van de assay.
Ja	Ja	> 1,00 x 10 <sup>8</sup>	Geldig resultaat: HIV-1-RNA gedetecteerd, > 1,00 x 10 <sup>8</sup> Kwantificatie niet mogelijk omdat het kwantificatieresultaat hoger is dan het lineaire bereik van de assay.*
Nee	Ja	-	Geldig resultaat: Geen HIV-1-RNA gedetecteerd.†
Nee	Nee	-	Ongeldig resultaat: Er kan geen resultaat worden vastgesteld.‡

---

\* Verdun het monster met plasma zonder HIV-virus en verwerk opnieuw indien kwantificatie gewenst is. Vermenigvuldig het kwantitatieve resultaat van het herverwerkte monster met de verdunningsfactor.

† Indien de  $C_T$ -waarde voor de interne controle van een negatief monster meer dan 3 cycli hoger is dan de  $C_T$ -waarde voor de interne controle van de NTC in de run ( $C_{TIC\text{-monster}} - C_{TIC\text{ NTC}} > 3$ ), moet het monster als ongeldig worden beschouwd. Er kan geen resultaat worden vastgesteld.

‡ Raadpleeg het gedeelte 'Probleemoplossingsgids' in de *handleiding van de artus HI Virus-1*

QS-RGQ Kit (artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit Handbook) voor informatie over de oorzaken van fouten en hun oplossing.

## Drempelinstelling voor de PCR-analyse

De optimale drempelinstellingen voor een gegeven combinatie van een Rotor-Gene Q-apparaat en een *artus* QS-RGQ Kit moeten op empirische wijze worden ingesteld door elke afzonderlijke combinatie te testen, omdat het om relatieve waarden gaat die afhankelijk zijn van de gehele diagnostische workflow. De drempel kan voor de analyse van de eerste PCR-run worden ingesteld op een voorlopige waarde van 0,04, maar deze moet worden afgestemd in een vergelijkende analyse van de volgende runs van de workflow. De drempel moet handmatig net boven het achtergrondsignaal van de negatieve controles en negatieve monsters worden ingesteld. De gemiddelde drempelwaarde die op basis van deze experimenten wordt berekend, is waarschijnlijk geschikt voor de meeste toekomstige runs; de gebruiker moet de gegenereerde drempelwaarde echter regelmatig opnieuw beoordelen. De drempelwaarde valt gewoonlijk binnen het bereik van 0,03-0,05 en moet worden afgerond op niet meer dan drie decimalen.

## Kwantificatie

De kwantificatiestandaarden (HI Virus-1 RG QS 1-4) in de *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit worden op dezelfde wijze behandeld als vooraf gezuiverde monsters en hetzelfde volume wordt gebruikt (20  $\mu$ l). Om een standaardcurve te genereren op Rotor-Gene Q-apparaten dienen alle 4 de kwantificatiestandaarden te worden gebruikt en in het dialoogvenster 'Edit Samples' (Monsters bewerken) van het Rotor-Gene Q-apparaat te worden gedefinieerd als standaarden met de gespecificeerde concentraties (zie de gebruikershandleiding van het apparaat).

Opmerking: De kwantificatiestandaarden worden gedefinieerd als IE/ $\mu$ l.\* Onderstaande vergelijking moet worden gebruikt om de aan de hand van de standaardcurve bepaalde waarden om te zetten in IE/ml van het monstermateriaal

$$\text{Resultaat (IE/ml)} = \frac{\text{Resultaat (IE/\mu l) x aanvankelijk elutievolume (90 \mu l)^\dagger}{\text{Monstervolume (ml)}}$$

---

Als uitgangspunt dient het aanvankelijke monstervolume in bovengenoemde vergelijking te worden ingevoerd. Hiermee moet rekening worden gehouden wanneer het monstervolume voorafgaand aan de nucleïnezuurextractie is veranderd (bijv. verkleining van het volume door middel van centrifugeren of vergroting van het volume door aanvulling tot het voor de isolatie vereiste volume).

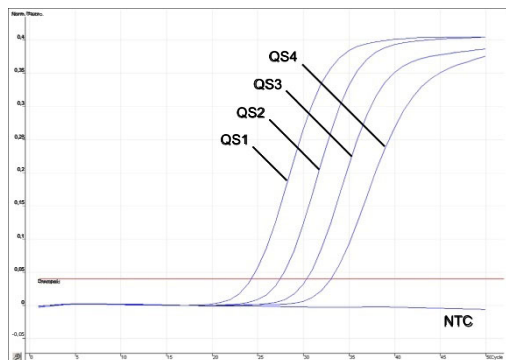
## Conversiefactor

1 IE/ml komt overeen met 0,45 kopieën/ml voor detectie van HIV-1-RNA op de Rotor-Gene Q. De conversiefactor is samengesteld door middel van een regressieanalyse van meerdere verdunningsreeksen die werd vergeleken met een referentiemethode die in kopieën/ml wordt uitgedrukt.

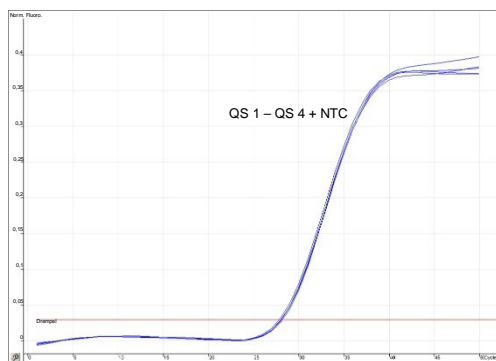
\* De standaard is gekalibreerd met behulp van de Internationale HIV-richtlijn (WHO).

† De berekening is gebaseerd op de aanvankelijke elutievolumes (90 µl).

## Voorbeelden van positieve en negatieve PCR-reacties



Detectie van de kwantificatiestandaarden (HI Virus-1 RG QS 1-4) in fluorescentiekanaal Cycling Green (Cyclisch groen). NTC: No template control (Controle zonder template) (negatieve controle).



Detectie van de interne controle (IC) in fluorescentiekanaal Cycling Orange (Cyclisch oranje) met gelijktijdige amplificatie van de kwantificatiestandaarden (HI Virus-1 RG QS 1-4). NTC: No template control (Controle zonder template) (negatieve controle).

Zie de (gebruikers)handleiding van de betreffende QIAGEN-kit voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules. De (gebruikers)handleidingen van QIAGEN Kits zijn verkrijgbaar via [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) of kunnen bij de afdeling Technical Services van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur worden aangevraagd.

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

© 2012 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

Canada = 800-572-9613

Ireland = 1800 555 049

Norway = 800-18859

China = 021-3865-3865

Italy = 800-787980

Singapore = 65-67775366

Denmark = 80-885945

Japan = 03-6890-7300

Spain = 91-630-7050

Australia = 1-800-243-800

Finland = 0800-914416

Korea (South) = 1544 7145

Sweden = 020-790282

Austria = 0800/281010

France = 01-60-920-930

Luxembourg = 8002 2076

Switzerland = 055-254-22-11

Belgium = 0800-79612

Germany = 02103-29-12000

Mexico = 01-800-7742-639

UK = 01293-422-911

Brazil = 0800-557779

Hong Kong = 800 933 965

The Netherlands = 0800 0229592

USA = 800-426-8157



Sample & Assay Technologies