

januar 2016

# Håndbog til *artus*<sup>®</sup> HCV QS-RGQ-kit



24 (Katalognr. 4518363)



72 (Katalognr. 4518366)

Version 1

**IVD**

Kvantitativ in vitro-diagnostik

Til brug sammen med QIASymphony<sup>®</sup> SP/AS- og Rotor-Gene<sup>®</sup> Q-instrumenter



**REF**

4518363, 4518366



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND

R6

**MAT**

1060924DA



Sample & Assay Technologies

## **QIAGEN Sample and Assay Technologies**

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

### **QIAGEN sætter standarder i:**

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

Det er vores mål sætte Dem i stand til at opnå enestående succes og gennembrud. Der findes flere oplysninger på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Indhold

Tilsigtet anvendelse	4
Oversigt og forklaring	4
Patogeninformation	5
Leverede materialer	6
Kittets indhold	6
Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt	7
Advarsler og forholdsregler	7
Almene forsigtighedsregler	8
Opbevaring og håndtering af reagenser	8
Prøvehåndtering og -opbevaring	8
Procedure	9
Kom godt i gang med QIA Symphony SP/AS-instrumenterne	9
Oprensning af viralt RNA	9
Brug af en intern kontrol og bærer-RNA (CARRIER)	9
AnalysekontROLSæt og analyseparametersæt	9
Udbytte af nukleinsyrer	10
Opbevaring af nukleinsyrer	10
Protokoller	
■ Opsætning af RNA-isolation og -analyse på QIA Symphony SP/AS	11
■ RT-PCR på Rotor-Gene Q	16
Fortolkning af resultater	17
Fejlfindingsvejledning	17
Kvalitetskontrol	22
Begrænsninger	22
Ydelsesegenskaber	23
Litteraturhenvisninger	24
Symbols	24
Kontaktoplysninger	25
Bestillingsinformation	26

## Tilsigtet anvendelse

*artus* HCV QS-RGQ-kit er en in vitro nucleinsyreamplifikationstest til kvantitering af hepatitis C-virus (HCV) RNA i humant EDTA-plasma. Dette diagnostiske testkit benytter revers transkriptions kædereaktion (RT-PCR) og er konfigureret til brug sammen med QIA Symphony SP/AS og Rotor-Gene Q-instrumenter.

*artus* HCV QS-RGQ-kit er beregnet til anvendelse i forbindelse med klinisk præsentation og andre laboratoriemarkører for sygdomsprognose og til brug som hjælp ved vurdering af viral respons på antiviral behandling målt ved ændringer i humant EDTA plasma HCV RNA niveauer. *artus* HCV QS-RGQ-kit er ikke beregnet til brug som screeningstest for HCV eller som en diagnostisk test til bekræftelse af HCV-infektion.

 Yderligere oplysninger om specifikke humane biologiske prøver, som dette kit er godkendt til, findes i applikationsarkene, som er tilgængelige online på [www.qiagen.com/products/artushcvgpccrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushcvgpccrkitce.aspx).

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



Kontroller, hvilke nye reviderede udgaver af elektronisk mærkning der er tilgængelige på [www.qiagen.com/products/artushcvgpccrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushcvgpccrkitce.aspx), inden testen udføres.

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

## Oversigt og forklaring

*artus* HCV QS-RGQ-kittet udgør et brugsklart system til detektion af HCV DNA ved hjælp af polymerasekædereaktion (PCR) på Rotor-Gene Q-instrumenter med prøveklargøring og analyseopsætning ved hjælp af QIA Symphony SP/AS-instrumenterne. Hep. C Virus RG Master A og B indeholder reagenser og enzymer til specifik amplifikation af en 240 bp region af HCV-genomet og til direkte detektion af det specifikke amplicon i fluorescenskanalen Cycling Green af Rotor-Gene Q.

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

## Patogeninformation

Hepatitis C er en leverbetændelse forårsaget af viruset af samme navn. I modsætning til de øvrige hepatitis-virus af samme navn - A, B, D eller E, medfører infektion med hepatitis C-virus (HCV) i et stort antal tilfælde til kronisk leversygdom. En infektion med HCV giver ofte ingen symptomer i relativt lang tid. Derfor er de fleste patienter ikke klare over deres HCV-infektion. Men behandlingen er yderst effektiv i de tidligste stadier af sygdommen. I dag er interferon  $\alpha$  (i kombination med Ribavirin) den eneste godkendte, effektive behandling. Det er dog også kendt, at kun visse kroniske hepatitis C-patienter responderer på interferon-behandling. Derfor kan denne dyre patientbehandling under visse omstændigheder være ugunstig og have alvorlige bivirkninger, så som nedbrydning af immunsystemet, hvilket medfører forværringer (f.eks. forkølelsessår, udslæt). (1-4)

## Leverede materialer

### Kittets indhold

<b>artus HCV QS-RGQ-kit</b>		<b>(24)</b>	<b>(72)</b>
<b>Katalognr.</b>		<b>4518363</b>	<b>4518366</b>
<b>Antal reaktioner</b>		<b>24</b>	<b>72</b>
Blåt	Hep. C Virus RG Master A	4 x 144 µl	8 x 144 µl
Violet	Hep. C Virus RG Master B	4 x 216 µl	8 x 216 µl
Rødt	Hep. C Virus RG QS 1* (10 <sup>4</sup> IU/µl)	<b>QS</b> 200 µl	200 µl
Rødt	Hep. C Virus RG QS 2* (10 <sup>3</sup> IU/µl)	<b>QS</b> 200 µl	200 µl
Rødt	Hep. C Virus RG QS 3* (10 <sup>2</sup> IU/µl)	<b>QS</b> 200 µl	200 µl
Rødt	Hep. C Virus RG QS 4* (10 <sup>1</sup> IU/µl)	<b>QS</b> 200 µl	200 µl
Grønt	Hep. C Virus RG IC†	<b>IC</b> 1000 µl	2 x 1000 µl
Hvidt	Vand (PCR kvalitet)	1000 µl	1000 µl
	artus HCV QS-RGQ Kit Handbook (artus HCV QS-RGQ-kit-håndbog) (engelsk)	1	1

\* Kvantiteringsstandard.

†Intern kontrol.

## Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt

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

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

### Til prøveklargøring

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

### Til PCR

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

**Note:** Oplysninger om materialer til bestemte anvendelser findes på det relevante applikationsark på [www.qiagen.com/products/artushcvrgpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushcvrgpcrkitce.aspx).

## Advarsler og forholdsregler

Til in vitro-diagnostisk brug

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

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

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

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

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

Prøvepræparat- og analyseaffald bortskaffes ifølge de lokale sikkerhedsregler.

## Almene forsigtighedsregler

Du skal altid være opmærksom på følgende:

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

## Opbevaring og håndtering af reagenser

Komponenterne i *artus* HCV QS-RGQ-kittet skal opbevares ved -15 til -30 °C og er stabile indtil den udløbsdato, der er angivet på etiketten. Gentagne optøninger og nedfrysninger (>2 x) bør undgås, da det kan reducere analysens ydeevne.

## Prøvehåndtering og -opbevaring

Oplysninger om prøvehåndtering og -opbevaring til bestemte anvendelser findes på det relevante applikationsark på

[www.qiagen.com/products/artushcivrpgcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushcivrpgcrkitce.aspx).



## Procedure

### Kom godt i gang med QIA Symphony SP/AS-instrumenterne

Luk alle skuffer og stinkskebe.

Tænd for QIA Symphony SP/AS-instrumenterne, og vent, indtil skærmen "Sample Preparation" (Prøveklargøring) vises, og initieringsproceduren er færdig.

Log på instrumentet (skufferne låses op).

### Oprensning af viralt RNA

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

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

Brug af QIA Symphony DSP Virus/Pathogen-kit i kombination med *artus* HCV QS-RGQ-kittet kræver indsætning af den interne kontrol (Hep. virus RG IC) i oprensningsproceduren for at overvåge effektiviteten af prøveklargøringen og efterfølgende analyse. Desuden kræver QIA Symphony DSP/Pathogen-kittene sommetider klargøring af bærer-RNA (CARRIER). Der findes specifikke informationer om den interne kontrol og brugen af bærer-RNA (CARRIER) i den relevante anvendelsesbeskrivelse på [www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx).

### AnalysekontROLSæt og analyseparametersæt

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

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

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

## **Udbytte af nukleinsyrer**

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

## **Opbevaring af nukleinsyrer**

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

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

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

### Vigtige anvisninger før start

- Brugeren skal være bekendt med betjeningen af QIASymphony SP/AS-instrumenter. Se betjeningsvejledningerne i de brugervejledninger, der leveres sammen med instrumenterne og deres seneste versioner, online på [www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx](http://www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx).
- Før en reagensbeholder (RC) bruges første gang skal det kontrolleres, at bufferne QSL2 og QSB1 i beholderen (RC) ikke indeholder et præcipitat. Fjern om nødvendigt de brønde, der indeholder bufferne QSL2 og QSB1, fra reagensbeholderen (RC), og inkubér i 30 minutter ved 37 °C med jævnlig omrystning for at opløse præcipitatet. Sørg for at sætte brøndene ind på de rigtige pladser igen. Hvis reagensbeholderen (RC) allerede er gennembrudt, skal man sikre sig, at brøndene er forsegleet med genbrugsforseglingstrips, derefter inkuberes hele reagensbeholderen (RC) i 30 minutter ved 37 °C med jævnlig omrystning i vandbad.\*
- Undgå for voldsom omrystning af reagensbeholderen (RC), ellers kan der dannes skum, hvilket kan medføre problemer med detektion af væskestanden.
- Arbejd hurtigt, og hold PCR-reagenserne på is eller i køleblok før påfyldning.
- Reagensvolumenerne er optimeret til 24 eller 72 reaktioner pr. kit pr. kørsel (hhv. kat.nr. 4518363 og 4518366).
- Før hver brug skal alle reagenser tøs helt op, blandes (ved gentagen op- og nedpipettering eller hurtig vortex-blanding) og centrifugeres i mindst 3 sekunder ved 6800 x g. Undgå, at reagenserne danner skum.

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

- Eluater fra prøveklargøringen og alle komponenter af *artus* HCV QS-RGQ-kittet har vist sig at være stabile på instrumentet i mindst den tid, der normalt kræves til prøveoprensning for 96 prøver og analyseopsætning af 72 analyser, inklusive op til 30 minutters overførselstid fra QIA Symphony SP til QIA Symphony AS og op til 30 minutters overførselstid fra QIA Symphony AS til Rotor-Gene Q.

### Ting, der skal gøres før start

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

### Procedure

#### Oprensning af viralt RNA på QIA Symphony SP

1. Luk alle skuffer og stinkskafe på QIA Symphony SP/AS-instrumenterne.
2. Tænd instrumenterne, og vent, indtil skærmen "Sample Preparation" vises, og initialiseringsproceduren er afsluttet.  
Afbryderkontakten sidder i nederste venstre hjørne af QIA Symphony SP.
3. Log på instrumenterne.

4. **Klargør følgende skuffer iht. det relevante applikationsark på [www.qiagen.com/products/artushcvcrgpckitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushcvcrgpckitce.aspx).**
  - Skuffen "Waste" (Affald). Udfør en indholdsscanning, når skuffen er klargjort.
  - Skuffen "Eluate" (Eluat). Udfør en indholdsscanning, når skuffen er klargjort.
  - Skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbrugsartikler). Udfør en indholdsscanning, når skuffen er klargjort.
  - Skuffen "Sample"
5. **Brug opsætningen "Integrated run" (Integreret kørsel) på QIASymphony-berøringsskærmen til at indlæse de nødvendige oplysninger for hvert batch af prøver, der skal behandles. Vælg et analyseparametersæt for kørslen, og knyt den samt den modsvarende AS-batch til prøverne.**

Der findes informationer om analyseparametersættet og den forvalgte elutionsmængde i den relevante anvendelsesbeskrivelse.

Der findes flere informationer om integrerede kørsler på QIASymphony SP/AS i instrumentbrugervejledningerne.
6. **Når en integreret kørsel opsættes, skal man kontrollere, at den korrekte prøvelabware og prøvetype (prøve, EC+ og EC-) og volumener er tilknyttet.**

Der findes informationer om de forbrugsartikler og komponenter, der skal fyldes i hver enkelt skuffe, i den relevante anvendelsesbeskrivelse.
7. **Klik på knappen "Ok", når der er angivet informationer om alle batches, for at afslutte opsætningen "Integrated run". På oversigten for den integrerede kørsel ændres status for alle batches fra "LOADED" (PÅFYLDT) til "QUEUED" (I KØ). Så snart en batch er i kø, vises knappen "Run" (Kørsel). Tryk på knappen "Run" for at starte proceduren.**

Alle behandlingstrin er fuldautomatiske.

#### Isætning af QIASymphony AS-skufferne til analyseopsætning

8. **Efter at den integrerede kørsel er sat i kø, skal man åbne skufferne på QIASymphony AS. De påkrævede komponenter, som kan indsættes, vises på berøringsskærmen.**
9. **Sørg altid for at gøre følgende inden den integrerede kørsel.**
  - Indsæt spidsskakten
  - Kassér spidsaffaldsposen
  - Indsæt en tom spidsaffaldspose

10. **Definér og isæt analyse-rack(s). Analyse-rack(s), i for-kølet adapter(e), isættes på pladsen eller pladserne "Assay" (Analyse). Oplysninger om analyserackene findes på relevante applikationsark [www.qiagen.com/products/artushcvcrgpckitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushcvcrgpckitce.aspx).**
11. **Kontrollér kølepositionernes temperatur.**

Når de tilsigtede køletemperaturer er nået, vil den lille stjerne ved siden af hver enkelt plads være grøn.
12. **Kombinér alle rør i HCV RG Master A i et enkelt kit i ét rør før brug. Kombinér alle rør i HCV RG Master B i et enkelt kit i ét rør før brug.**

**Note:** Viskøse reagenser kan være vanskelige at håndtere med manuelle pipetter. Sørg for at overføre hele volumen af Master i røret.
13. **Fyld hvert reagensglas med den nødvendige mængde passende reagens i henhold til den fyldningsinformation, der er angivet i instrumentets software.**

**Note:** Før hver brug skal alle reagenser tøs helt op, blandes (ved gentagen op- og nedpipettering eller hurtig vortex-blanding) og centrifugeres i mindst 3 sekunder ved 6800 x g. Undgå bobler eller skum, som kan medføre detektionsfejl. Arbejd hurtigt, og hold PCR-komponenterne på is eller i køleblokken før isætning.
14. **Isæt reagens-racket, og placér reagensglassene uden låg i de korrekte positioner af for-kølede adaptere til reagenser i overensstemmelse med den relevante anvendelsesbeskrivelse.**
15. **Læg engangsfilterspidser i skufferne "Eluate and Reagents" (Eluat og Analyser) og "Assays" (Analyser) efter det nødvendige antal af hver spidstype, der er angivet i den relevante anvendelsesbeskrivelse.**
16. **Luk skufferne "Eluate and Reagents" og "Assays".**
17. **Når hver enkelt skuffe er lukket, trykkes på "Scan" (Scanning) for at starte indholdsscanningen for hver af skufferne.**

Indholdsscanningen kontrollerer pladser, adaptere, filterspidser og spidsskakt, samt at de specifikke reagensvolumener er indsat korrekt. Ret eventuelle fejl.

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

21. Gå videre til "Protokol: RT-PCR på Rotor-Gene Q" på side 16.
22. Gennemfør den regelmæssige vedligeholdelse af QIAasymphony AS under PCR-kørslen på Rotor-Gene Q eller senere.

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

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

# Protokol: RT-PCR på Rotor-Gene Q

## Vigtige anvisninger før start

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

## Procedure

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



## Fortolkning af resultater

Der findes detaljerede informationer om fortolkning af resultater i den relevante anvendelsesbeskrivelse på [www.qiagen.com/products/artushcvrgpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushcvrgpcrkitce.aspx).

## Fejlfindingsvejledning

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

### Kommentarer og forslag

---

#### Generel håndtering

Fejlmeddelelse vist på berøringsskærmen

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

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

a) Bufferfordampning

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

## Kommentarer og forslag

---

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

### Lav ydelse af nukleinsyrer

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

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

## Kommentarer og forslag

---

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

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

### QIA Symphony AS detekterer utilstrækkelig Master

Ikke al Master overført til rør

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

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

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

### Intet signal ved positive kontroller (Hep. C Virus RG QS 1-4) i fluorescenskanalen Cycling Green

- a) Den valgte fluorescenskanal for PCR-dataanalyse stemmer ikke overens med protokollen
  - b) Ukorrekt programmering af temperaturprofilen for Rotor-Gene-instrument
  - c) Ukorrekt konfiguration af PCR
- Ved dataanalyse vælges fluorescenskanalen Cycling Green for analytisk HCV-PCR og fluorescenskanalen Cycling Orange for intern kontrol-PCR.
- Sammenlign temperaturprofilen med protokollen. Se det relevante applikationsark og protokolark på [www.qiagen.com/products/artushcvmrgpckitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushcvmrgpckitce.aspx).
- Kontroller, at analyseopsætningen er udført korrekt, og at det korrekte analyseparametersæt er anvendt. Gentag om nødvendigt PCR. Se det relevante applikationsark på [www.qiagen.com/products/artushcvmrgpckitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushcvmrgpckitce.aspx).

## Kommentarer og forslag

---

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

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

- a) PCR-betingelserne stemmer ikke overens med protokollen Kontroller PCR-betingelserne (se ovenfor), og gentag om nødvendigt PCR med korrigerede indstillinger.
- b) PCR blev hæmmet Sørg for, at du bruger den godkendte isoleringsmetode (se "Protokol: Opsætning af RNA-isolation og -analyse på QIA Symphony SP/AS", side 11), og følg vejledningen nøje.
- c) Der foreligger tab af RNA forårsaget af oprensningen Et manglende signal fra den interne kontrol kan være tegn på tab af RNA under oprensningen. Sørg for, at du bruger den godkendte isoleringsmetode (se "Protokol: Opsætning af RNA-isolation og -analyse på QIA Symphony SP/AS", side 11), og følg vejledningen nøje. Se også "Lav ydelse af nukleinsyrer" ovenfor.

## Kommentarer og forslag

---

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

### Signaler med de negative kontroller i fluorescenskanalen Cycling Green eller i den analytiske PCR

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

## Kvalitetskontrol

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

## Begrænsninger

Alle reagenser kan kun anvendes til in vitro-diagnostik.

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

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

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

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

## Ydelsesegenskaber

Se [www.qiagen.com/products/artushcvrgppcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushcvrgppcrkitce.aspx) vedrørende ydelsesegenskaber for *artus* HCV QS-RGQ-kittet.

## Litteraturhenvisninger

1. Mauss, S., Berg, T., Rockstroh, J., Sarrazin, C., and Wedemeyer, H., eds. (2012) *The Flying Publisher Short Guide to Hepatitis C*. 2012 ed. No location: Flying Publisher.
2. Mauss, S., Berg, T., Rockstroh, J., Sarrazin, C., and Wedemeyer, H., eds. (2012) *Hepatitis: A Clinical Textbook*. 2012 ed. No location: Flying Publisher.
3. Munir, S. et al. (2010) Hepatitis C treatment: current and future perspectives. *Virology* **7**, 296.
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.

## Symbols



<N>

Indeholder tilstrækkeligt med reagenser til <N> reaktioner



Anvendes inden



In vitro-diagnostisk medicinsk produkt



Katalognummer



Lot-nummer



Materialenummer



Komponenter



Indeholder



Nummer



Globalt varenummer





Temperaturbegrænsning



Producent



Læs brugsvejledningen



Forsigtig

## Kontaktoplysninger

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

## Bestillingsinformation

Produkt	Indhold	Kat. nr.
<i>artus</i> HCV QS-RGQ Kit (24)	Til 24 reaktioner: 2 Masters, 4 kvantiteringsstandarder, intern kontrol, vand (PCR-kvalitet)	4518363
<i>artus</i> HCV QS-RGQ Kit (72)	Til 72 reaktioner: 2 Masters, 4 kvantiteringsstandarder, intern kontrol, vand (PCR-kvalitet)	4518366
<b>QIASymphony RGQ-system</b>		
QIASymphony RGQ, System	QIASymphony SP, QIASymphony AS, Rotor-Gene Q 5plex HRM, nødvendigt tilbehør og forbrugsartikler, installation og uddannelse	9001850

For opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises til den aktuelle QIAGEN-kit-håndbog eller -brugervejledning. QIAGEN kit-håndbøger og brugervejledninger kan findes på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan rekvireres fra QIAGENs tekniske serviceafdeling eller den lokale leverandør.

Ved købet af dette produkt erhverver brugeren tilladelse til at bruge det til udførelse af diagnostiske serviceydelser til human in vitro-diagnostik. Derved gives intet generelt patent eller nogen anden tilladelse af nogen art ud over denne specifikke brugsret.

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

*artus* HCV QSRGQ-kittet er et CE-mærket diagnostisk kit i overensstemmelse med Europa-Parlamentets og Rådets direktiv 98/79/EF om medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik. Ikke tilgængeligt i alle lande.

#### **Begrænset licens for *artus* HCV QS-RGQ-kittet**

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

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

For opdaterede licensbetingelser henvises der til [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2010–2014 QIAGEN. Alle rettigheder forbeholdes.

---

**www.qiagen.com**

**Australia** ■ techservice-au@qiagen.com

**Austria** ■ techservice-at@qiagen.com

**Belgium** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Brazil** ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

**Canada** ■ techservice-ca@qiagen.com

**China** ■ techservice-cn@qiagen.com

**Denmark** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Finland** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**France** ■ techservice-fr@qiagen.com

**Germany** ■ techservice-de@qiagen.com

**Hong Kong** ■ techservice-hk@qiagen.com

**India** ■ techservice-india@qiagen.com

**Ireland** ■ techservice-uk@qiagen.com

**Italien** ■ techservice-it@qiagen.com

**Japan** ■ techservice-jp@qiagen.com

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

**Luxembourg** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Mexico** ■ techservice-mx@qiagen.com

**The Netherlands** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Norway** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Singapore** ■ techservice-sg@qiagen.com

**Sweden** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Switzerland** ■ techservice-ch@qiagen.com

**UK** ■ techservice-uk@qiagen.com

**USA** ■ techservice-us@qiagen.com

