

Aplikační list QIASymphony® RGQ

Aplikační list QIASymphony RGQ Sada *artus*® HI Virus-1 QS-RGQ (typ vzorku: plazma)

IVD

CE
0197



Před samotným testem si ověřte dostupnost nových revizí elektronického značení na adrese www.qiagen.com/products/artushivirusrp-pcrkitce.aspx. Současný stav revize je vyznačen datem vydání (formát: měsíc/rok).

Všeobecné informace

Sada	<i>artus</i> HI Virus-1 QS-RGQ Kit, verze 1, REF 4513363, 4513366
Validovaný materiál vzorku	Lidská plazma s EDTA
Čištění na předním konci	Midisada QIASymphony DSP Virus/Pathogen (kat. č. 937055)
Objem vzorku (včetně nadbytečného objemu)	1.200 µl
Sada parametrů	<i>artus</i> _HIV plasma1000_V4
Výchozí množina analytických kontrol	Cellfree1000_V6_DSP <i>artus</i> HIV
Eluční objem	60 µl
Vyžadovaná verze softwaru	Verze 4.0 nebo vyšší
Objem master mixu	30 µl
Objem templátu	20 µl
Počet reakcí	6–24 nebo 6–72*
Doba chodu na modulu AS	Pro 6 reakcí přibližně 9 minut Pro 72 reakcí přibližně 35 minut

* Když spouštíte více chodů analýzy dbejte na to, aby nebyl překročen limit 72 reakcí 1 adaptér stojánku pro analýzu. V období od dokončení běhu analýzy do přenosu do přístroje Rotor-Gene® Q nesmí dojít k prodloužení inkubační doby (>30 minut).

Květen 2012



Sample & Assay Technologies

Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky

Purifikační sada	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (midisada QIASymphony DSP Virus/Pathogen) (kat. č. 937055)
Adaptéry pro QIASymphony SP	■	Elution Microtube Rack QS (stojánek na eluční mikrozkušavky QS) (Cooling Adapter (chladičí adaptér), EMT, v2, Qsym, kat. čís. 9020730)
	■	Tube Insert 3B (vločka pro zkumavky) (Insert (vločka), 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym, kat. čís. 9242083)
Spotřební materiál pro QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges, 8-well (8jamkové zásobníky na přípravu vzorku) (kat. čís. 997002)
	■	8-Rod Covers (kryty hrotů (po osmi)) (kat. čís. 997004)
	■	Filter-Tips (špičky s filtrem), 1.500 µl (kat. čís. 997024)
	■	Filter-Tips (špičky s filtrem), 200 µl (kat. čís. 990332)
	■	Elution Microtubes (eluční mikrozkušavky) CL (kat. čís. 19588)
	■	Tip disposal bags (odpadní sáčky na špičky) (kat. čís. 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H or Micro tubes 2.0 ml Type I (2ml mikrozkušavky typu H nebo 2ml mikrozkušavky typu I) (Sarstedt, kat. čís. 72.693 a 72.694 www.sarstedt.com) pro použití se vzorky a interními kontrolami
Adaptéry a držáky na reagentie pro QIASymphony AS	■	Reagent holder 1 QS (držák na reagentie) (Cooling Adapter (chladičí adaptér), Reagent Holder 1 (držák na reagentie 1), Qsym, kat. čís. 9018090)
	■	Reagent holder 2 QS (držák na reagentie) (Cooling Adapter (chladičí adaptér), Reagent Holder 2 (držák na reagentie 1), Qsym, kat. čís. 9018089)
	■	RG Strip Tubes 72 QS (stripy se zkumavkami) (Cooling Adapter (chladičí adaptér), RG Strip Tubes (stripy se zkumavkami) 72, Qsym, kat. čís. 9018092)
Spotřební materiál pro QIASymphony AS	■	Strip Tubes and Caps (stripy se zkumavkami a víčky), 0.1 ml (kat. čís. 981103)
	■	Tubes, conical, 2 ml (2ml kónické zkumavky), Qsym AS (kat. čís. 997102)* nebo Micro tubes 2.0 ml Type I (2ml mikrozkušavky typu I) (Sarstedt, kat. čís. 72.694.005)
	■	Tube, conical, 5 ml (5ml kónická zkumavka), Qsym AS (kat. čís. 997104)* nebo Tubes with flat base from PP (polypropylenové zkumavky s plochým podstavcem) (Sarstedt, kat. čís. 60.558.001)
	■	Reagent Bottles (reagenční lahvičky), 30 ml, Qsym AS (kat. čís. 997108)
	■	Elution Microtubes (eluční mikrozkušavky) CL (kat. čís. 19588)
	■	Filter-Tips (špičky s filtrem), 1.500 µl (kat. čís. 997024)
	■	Filter-Tips (špičky s filtrem), 200 µl (kat. čís. 990332)
	■	Filter-Tips (špičky s filtrem), 50 µl (kat. čís. 997120)
	■	Tip disposal bags (odpadní sáčky na špičky) (kat. čís. 9013395)

* Prosím informujte se o dostupnosti.

Uchovávání a nakládání se vzorky

Sběr vzorků	Vzorek krve 5–10 ml krve s EDTA míchejte 8x otočením dnem vzhůru — bez protřepávání! Nesmí se používat heparinizované humánní vzorky
Skladování vzorků	Separace: 20 minut odstředování při 800–1.600 x g do 24 hodin po odběru Převedte izolovanou plazmu do sterilní polypropylénové zkumavky Virová zapouzdřená RNA stabilní při:* 4°C dny –20°C týdny –70°C měsíce
Přeprava vzorků	Přeprava chránící před otřesy Přeprava do 24 hodin Poštovní přeprava podle právních pokynů pro přepravu patogenního materiálu† Krevní vzorky je zapotřebí přepravovat chlazené (2 až 8°C)
Látky narušující stanovení	Heparin (≥ 10 IU/ml) PCR nepříznivě ovlivňuje. Vzorky shromážděné ve zkumavkách obsahujících heparin jakožto antikoagulant nebo vzorky od heparinizovaných pacientů se používat nesmí. Zvýšené hodnoty albuminu (≤ 6 g/dl), bilirubinu (≤ 30 mg/dl), lipidů (≤ 1 g/dl triglyceridů), stejně jako hemolytické vzorky (≤ 2 g/dl hemoglobinu) analytický systém neovlivňují.

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

† International Air Transport Association (Mezinárodní asociace leteckých dopravců) (IATA). Dangerous Goods Regulations (Předpisy pro přepravu nebezpečného zboží).

Postup

Příprava RNA nosiče a přidavek interní kontroly ke vzorkům

Použití midisady QIASymphony DSP Virus/Pathogen ve spojení se sadou *artus* HI Virus-1 QS-RGQ vyžaduje zapojení interní kontroly (HI Virus-1 RG IC) do purifikační procedury, aby se mohla monitorovat efektivita přípravy vzorku a následných rozborů.

Interní kontroly se musí přidávat spolu se směsí RNA nosiče (CARRIER) a pufru AVE (AVE). Celkový objem směsi interní kontroly, RNA nosiče (CARRIER) a pufru AVE (AVE) zůstává 120 μ l.

Tabulka udává přidavek interní kontrolu k izolaci v poměru 0,1 μ l na 1 μ l elučního objemu. Doporučujeme připravit pro každý běh čerstvé směsi bezprostředně před použitím.

Komponenta	Objem (μ l) (zkumavky Sarstedt®)*	Objem (μ l) (zkumavky BD™)†
Základní nosič RNA (CARRIER)	5	5
Interní kontrola‡	9	9
Pufr AVE	106	106
Konečný objem na jeden vzorek (vyjma mrtvého objemu)	120	120
Celkový objem pro n vzorků	(n x 120) + 360§	(n x 120) + 600¶

* 2ml mikrozkušavky typu H nebo 2ml mikrozkušavky typu I, Sarstedt, kat. čís. 72.693 a 72.694

† Zkušavky 14 ml, 17 x 100 mm polystyrénové zkušavky s kulatým dnem (Becton Dickinson, kat. č. 352051).

‡ Výpočet množství interní kontroly se zakládá na výchozích elučních objemech (90 μ l). Dodatečný mrtvý objem závisí na typu použité zkušavky na vzorek.

§ Vyžaduje se směs interní kontroly odpovídající 3 přídavných vzorků (tj. 360 μ l). Neplňte více než na celkový objem 1,92 ml (odpovídající maximu 13 vzorků. Tyto objemy jsou specifické pro 2ml mikrozkušavky typu H nebo 2ml mikrozkušavky typu I, Sarstedt, kat. čís. 72.693 a 72.694).

¶ Vyžaduje se směs interní kontroly odpovídající 5 přídavných vzorků (tj. 600 μ l). Neplňte více než na celkový objem 13,92 ml (odpovídající maximu 111 vzorků. Zkušavky 14 ml, 17 x 100 mm polystyrénové zkušavky s kulatým dnem, Becton Dickinson, kat. č. 352051).

Nastavení QIASymphony SP

Zásuvka “Waste” (Odpad)

Držák jednotkové krabice 1—4	Prázdné jednotkové krabice
Držák odpadních sáčků	Odpadní sáček
Držák lahve na kapalný odpad	Vyprázdněte a vložte nádobu na tekutý odpad

Zásuvka “Eluate” (Eluát)

Eluční stojánek	Doporučujeme použít chladicí pozici, drážka 1
Eluční objem*	Předvolený eluční objem: 60 µl Výchozí eluční objem: 90 µl

* Eluční objem je předvolený pro protokol. Toto je minimální dosažitelné množství eluátu ve výsledné eluční zkumavce. Původní objem elučního roztoku je vyžadován, aby bylo zajištěno, že skutečný objem eluátu odpovídá předvolenému objemu.

Zásuvka “Reagents and Consumables” (Reagencie a spotřební díly)

RC pozice 1 a 2	Vložte 1 zásobník s reagensy (RC) pro až 48 vzorků plazmy nebo 2 nové zásobníky s reagensy (RC) pro až 96 vzorků
Držák stojánků se špičkami pozice 1–4	Vložte dostatečné množství jednorázových špiček s filtrem, 200 µl (viz “Požadovaný plastový materiál pro 1–4 sady vzorků”, strana 6)
Držák stojánků se špičkami pozice 5–18	Vložte dostatečné množství jednorázových špiček s filtrem, 1.500 µl (viz “Požadovaný plastový materiál pro 1–4 sady vzorků”, strana 6)
Držák boxů s jednotkami pozice 1–3	Vložte 3 boxy obsahující zásobníky pro přípravu vzorků
Držák boxů s jednotkami pozice 4	Vložte 1 box obsahující kryty hrotů

Zásuvka "Sample" (Vzorek)

Typ vzorku	Plazma
Objem vzorku (včetně nadbytečného objemu)	1.200 µl
Zkumavky na vzorky	2ml mikrozukavky typu H nebo 2ml mikrozukavky typu I, (Sarstedt, kat. čís. 72.693 a 72.694)
Vložka	Vložka pro zkumavky 3B (kat. čís. 9242083)

Požadovaný plastový materiál pro 1–4 sady vzorků

	Jedna šarže, 24 vzorků [†]	Dvě šarže, 48 vzorků [†]	Tři šarže, 72 vzorků [†]	Čtyři šarže, 96 vzorků [†]
Jednorázové špičky s filtrem, 200 µl ^{‡§}	28	52	76	100
Jednorázové špičky s filtrem, 1.500 µl ^{‡§}	113	206	309	402
Zásobníky pro přípravu vzorků [¶]	21	42	54	72
Kryty hrotů (po osmi)**	3	6	9	12

[†] Užití více než jedné zkumavky s interní kontrolou na jednu sadu a provedení více než jedné kontroly vloženého obsahu vyžaduje dodatečné jednorázové špičky s filtrem.

[‡] Jeden stojánek na špičky obsahuje 32 špiček s filtrem.

[§] Počet požadovaných filtračních špiček zahrnuje filtrační špičky pro 1 snímek inventáře na kazetu s reagensy.

[¶] Je tu 28 kazet s preparáty vzorku/jednotková krabice.

** Jeden box na jednotky obsahuje dvanáct krytů hrotů (po osmi).

Nastavení QIASymphony AS

Spotřební díly

Během nastavení jsou na dotykové obrazovce přístroje vyznačeny příslušné pozice pro každý spotřební díl na modulu QIASymphony AS.

Spotřební díly	Název na dotekové obrazovce	Pro použití s adaptérem/držákem na reagentie
Zkumavky s proužky a uzávěry, 0.1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	Zkumavky s proužky 72 QS
Kónické zkumavky, 2 ml, Qsym AS (500)* [†]	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt [‡]	Držák na reagentie 1 QS Držák na reagentie 2 QS
Kónická zkumavka, 5 ml, Qsym AS (500)* [†]	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt [‡]	Držák na reagentie 1 QS Držák na reagentie 2 QS
30 ml reagentní lahvičky Qsym AS (50)*	QIA#997108 *Bottle 30ml [‡]	Držák na reagentie 2 QS
Eluční mikrozukavky CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Stojánek na eluční mikrozukavky QS

* Pro komponenty master mixu, systémem připravený master mix, standardy a kontroly.

[†] Alternativně lze použít zkumavky Sarstedt uvedené na "Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky" straně 2.

[‡] Přípona "(m)" na dotekové obrazovce ukazuje, že výpočet hladiny tekutiny u příslušné zkumavky byl optimalizován pro reagentie tvořící konkávní meniskus.

Adaptéry a držáky na reagentie

Stojánek/držák na reagentie	Název	Požadovaný počet [§]
Stojánek pro vzorky	Stojánek na eluční mikrozukavky QS	1
Držáky na reagentie	Držák na reagentie 1 QS	1
Stojánky pro rozbor	Zkumavky s proužky 72 QS	1

[§] Vypočítáno pro rozbor se 72 reakcemi.

Špičky s filtrem

Vložte stojánky na špičky počínaje drážkami 1, 2 a 3 do zásuvky "Eluate and Reagents" (Eluát a reagenzie) a poté vložte držáky na špičky do drážek 7, 8 a 9 v zásuvce "Assays" (Analýzy).

Spotřební materiál	Název na dotekové obrazovce	Minimální počet pro 24 reakcí	Minimální počet pro 72 reakcí
Špičky s filtrem, 1.500 µl (1024)	1.500 µl	5	6
Špičky s filtrem, 200 µl (1024)	200 µl	10	10
Špičky s filtrem, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Odpadní sáčky na špičky	–	1	1

RT-PCR na Rotor-Gene Q

Další informace viz list protokolu specifického pro software "Settings to run *artus* QS-RGQ Kits" (Nastavení pro spuštění sad *artus* QS-RGQ) naleznete na adrese www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx.

Specifická nastavení pro sadu *artus* HI Virus-1 QS-RGQ

Rotor-Gene AssayManager automaticky nastavuje parametry pro sadu *artus* HI Virus-1 QS-RGQ.

Specifická nastavení softwaru Rotor-Gene 2.1 jsou uvedena níže.

Reakční objem (µl)	50
Držet	Teplota zdržení: 50 stupňů Doba zdržení: 30 minut
Držet 2	Teplota zdržení: 95 stupňů Doba zdržení: 15 minut
Cyklování	50krát 95 stupňů po 30 sekund 50 stupňů po 60 sekund 72 stupňů po 30 sekund
Nastavení optimalizace automatického zesílení	50 stupňů (Vzorky: zelená; interní kontrola: oranžová)

Interpretace výsledků

Tato část popisuje interpretaci výsledků na Rotor-Gene Q. Provéřte také informace o stavu vzorku ze souborů s výsledky QIASymphony SP/AS k analýze úplného pracovního toku od vzorku k výsledku. Je nutné používat pouze vzorky s platným stavem

Rotor-Gene AssayManager automaticky interpretuje výsledky PCR a poskytuje závěr a kvantitativní výsledek.

Následující části popisují interpretaci výsledků pomocí softwaru Rotor-Gene 2.1 nebo vyšším.

Detekce signálu a závěry

Signál v kanálu Cycling Green	Signál v kanálu Cycling Orange	Kvantitativní výsledek (IU/ml)	Interpretace
Ano	Ano	<76,4	Platný výsledek: Detekovaná HIV-1 RNA, <100 IU/ml Kvantifikace není možná, protože výsledek kvantifikace je pod lineárním rozsahem rozboru. Reprodukovatelnost pozitivního výsledku není zajištěna.
Ano	Ano	≥76,4 a <100	Platný výsledek: Detekovaná HIV-1 RNA, <100 IU/ml Kvantifikace není možná, protože výsledek kvantifikace je pod lineárním rozsahem rozboru.
Ano	Ano	≥100 a ≤1,00 x 10 ⁸	Platný výsledek: Detekovaná HIV-1 RNA při vypočítané koncentraci Kvantitativní výsledek je v lineárním rozmezí rozboru.
Ano	Ano	>1,00 x 10 ⁸	Platný výsledek: Detekovaná HIV-1 RNA, >1,00 x 10 ⁸ Kvantifikace není možná, protože výsledek kvantifikace je nad lineárním rozsahem rozboru.*
Ne	Ano	–	Platný výsledek: Není detekovatelná žádná HIV-1 RNA.†
Ne	Ne	–	Neplatný výsledek: Není možné učinit závěr.‡

* Pokud se požaduje kvantifikace, naředte vzorek plazmou bez HIV a znovu zpracujte. Kvantifikační výsledek z opakovaně zpracovaného vzorku vynásobte faktorem ředění.

† Pokud je ovšem C_T hodnota interní kontroly negativního vzorku po více než 3 cykly vyšší než C_T hodnota interní kontroly beztemplátové kontroly (C_T IC Sample – C_T IC NTC >3), měl by být tento vzorek považován za neplatný. Není možné učinit závěr.

‡ Informace ohledně zdrojů chyb a jejich řešení lze nalézt v "Troubleshooting guide" (Průvodce odstraňováním závad) Příručky pro sadu artus HI Virus-1 QS-RGQ.

Nastavení prahové hodnoty pro analýzu PCR

Optimální nastavení mezní hodnoty pro danou kombinaci Rotor-Gene Q přístroje a sady *artus* QS-RGQ by mělo být empiricky stanoveno testováním každé individuální kombinace, protože se jedná o relativní hodnotu závislou na celkovém diagnostickém pracovním postupu. Mezní hodnota může být nastavena na úvodní hodnotu 0,04 pro analýzu prvního PCR běhu. Tato hodnota by ale měla být doladěna v komparativní analýze dalších běhů v pracovním schématu. Mezní hodnota by měla být nastavena manuálně těsně nad signál pozadí negativních kontrol a negativních vzorků. Průměrná mezní hodnota vypočítaná z těchto pokusů by měla s velkou pravděpodobností platit i pro většinu následujících běhů. Uživatel by přesto měl generované mezní hodnoty pravidelně kontrolovat. Mezní hodnota se pohybuje obvykle mezi 0,03–0,05 a měla by se zaokrouhlovat na maximálně tři desetinná místa.

Kvantifikace

S kvantifikačními standardy (HI Virus-1 RG QS 1–4) dodávanými se sadou *artus* HI Virus-1 QS-RGQ se zachází stejně jako s již izolovanými vzorky a přidávají se ve stejném objemu (20 µl). Standardní křivku na přístroji Rotor-Gene Q vytvoříte tak, že vložíte všechny čtyři kvantifikační standardy, definujete je v okně menu “Edit Samples” (Upravit vzorky) přístroje Rotor-Gene Q jako standardy a zadáte uvedené koncentrace (viz uživatelský manuál přístroje).

Poznámka: Kvantifikační standardy jsou definovány jako IU/µl.* Pro přepočtení hodnot získaných pomocí standardní křivky na IU/ml vzorku se používá následující vzorec

$$\text{Výsledek (IU/ml)} = \frac{\text{výsledek (IU/}\mu\text{l)} \times \text{původní eluční objem (90 }\mu\text{l)}^\dagger}{\text{objem vzorku (ml)}}$$

Do výše uvedeného vzorce se dosazuje zásadně původní objem vzorku. Toto se musí zohlednit, byl-li objem vzorku před izolací nukleových kyselin pozměněn (např. redukce objemu centrifugací nebo jeho zvýšení naplněním na objem požadovaný pro izolaci).

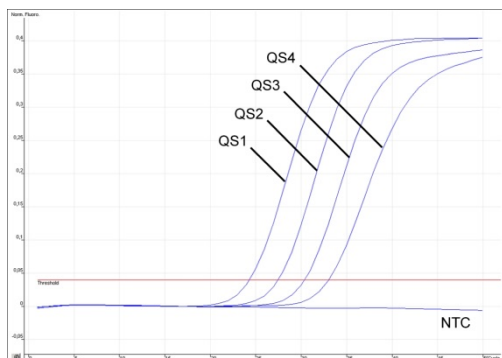
Konverzní faktor

1 IU/ml odpovídá 0,45 kopie/ml pro detekci HIV-1 RNA na přístroji Rotor-Gene Q. Konverzní faktor byl zjištěn regresní analýzou řady více ředění porovnávaných proti referenční metodě udávající výsledky v kopiích/ml.

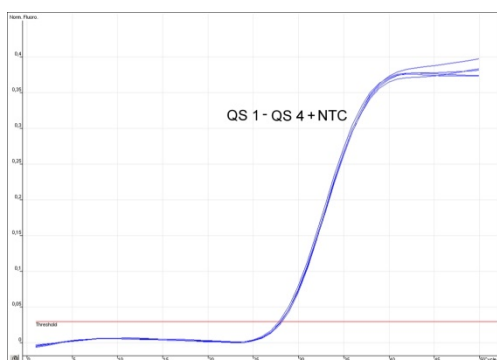
* Standard byl kalibrován pomocí Mezinárodního standardu HIV (WHO).

† Výpočet se zakládá na výchozích elučních objemech (90 µl).

Příklady pozitivních a negativních reakcí PCR



Průkaz kvantifikačních standardů (HI Virus-1 RG QS 1–4) ve fluorescenčním kanálu Cycling Green. NTC: Beztemplátová kontrola (negativní kontrola).



Průkaz interní kontroly (IC) ve fluorescenčním kanálu Cycling Orange při současné amplifikaci kvantifikačních standardů (HI Virus-1 RG QS 1–4). NTC: Beztemplátová kontrola (negativní kontrola).

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifická pro výrobek jsou uvedeny v příručce pro sadu QIAGEN nebo příručce uživatele. Příručky a uživatelské návody sady QIAGEN jsou k dispozici na stránkách www.qiagen.com nebo si je lze vyžádat u Technických služeb QIAGEN nebo svého lokálního distributora.

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

© 2012 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

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