

April 2019

# QIASymphony<sup>®</sup> RGQ- applikationsark

*artus*<sup>®</sup> VZV QS-RGQ Kit (prøvetype: plasma)

R2



4502363

*artus* VZV QS-RGQ Kit, version 1



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

## Generelle oplysninger

Kit	<i>artus</i> VZV QS-RGQ Kit, version 1 (katalognr. 4502363)
Valideret prøvemateriale	Humant EDTA-plasma
Automatiseret oprensning	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (katalognr. 937055)
Prøvevolumen (inkl. overskydende volumen)	1200 µl
Analyseparametersæt	<i>artus_VZV_plasma1000_V5</i>
StandardanalysekontROLSæt	<i>Cellfree1000_V7_DSP_artus_VZV</i>
Elueringsvolumen	60 µl
Påkrævet softwareversion	Version 4.0 eller højere
Masterblandingsvolumen	30 µl
Skabelonvolumen	20 µl
Antal reaktioner	6-24
Kørselstid på AS-modul	For 6 reaktioner: ca. 9 minutter For 72 reaktioner: ca. 35 minutter

## Nødvendige materialer, som ikke medfølger

### Oprensningskit

- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (katalognr. 937055)

### Adaptere til QIASymphony SP

- Elution Microtube Rack QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, katalognr. 9020730)
- Transfer frame
- Tube Insert 3B (Insert, 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym, katalognr. 9242083)

### Forbrugsartikler til QIASymphony SP

- Sample Prep Cartridges, 8-well (katalognr. 997002)
- 8-Rod Covers (katalognr. 997004)
- Filter-Tips, 1.500 µl (katalognr. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (katalognr. 990332)
- Elution Microtubes CL (katalognr. 19588)
- Tip disposal bags (katalognr. 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Type H eller Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt®, katalognr. 72.693 og 72.694, [www.sarstedt.com](http://www.sarstedt.com)) til brug sammen med prøver og interne kontroller

### Adaptere og reagensholdere til QIASymphony AS

- Reagent Holder 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, katalognr. 9018090)
- RG Strip Tubes 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, katalognr. 9018092)

### Forbrugsartikler til QIASymphony AS

- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (katalognr. 981103)
- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (katalognr. 997102) eller Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, katalognr. 72.694.005)
- Alternativ mulighed: Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (katalognr. 997104) eller Tubes with flat base from PP (Sarstedt, katalognr. 60.558.001)
- Filter-Tips, 1500 µl (katalognr. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (katalognr. 990332)
- Filter-Tips, 50 µl (katalognr. 997120)
- Tip disposal bags (katalognr. 9013395)

## Håndtering og opbevaring af prøver

Prøveopsamling	Blodprøve 5–10 ml EDTA-blod 8x topblanding – ingen omrystning! Hepariniserede humane prøver må ikke anvendes.
Opbevaring af prøver	Separation: 20 minutters centrifugering, 800–1600 x g senest 24 timer efter indsamling Det isolerede plasma skal overføres til et sterilt polypropylenrør Analysens sensitivitet kan reduceres, hvis prøverne rutinemæssigt fryses eller opbevares i længere tid.
Transport af prøver	Sikker transport af glas Forsendelse inden 24 timer Forsendelse med posten i henhold til de lovbestemte vejledninger i transport af patogen materiale* Blodprøver skal sendes på køl (2 til 8 °C)
Interfererende stoffer	<b>Heparin</b> ( $\geq 10$ IU/ml) påvirker PCR. Prøver, der er indsamlet i rør med heparin som antikoagulant, eller prøver fra hepariniserede patienter må ikke anvendes.
Klargøring af prøver	Sørg for, at der ikke dannes skum i eller på prøverne Prøverne skal ekvilibreres til stuetemperatur (15-25 °C), før kørslen startes.

\* (IATA) International Air Transport Association.  
Dangerous Goods Regulations (Regler vedrørende transport af farligt gods).

# Procedure

## Klargøring af bærer-RNA og tilsætning af intern kontrol til prøverne

Brug af QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit i kombination med *artus* VZV QS-RGQ Kit kræver indføring af den interne kontrol (VZV IC) under oprensingsproceduren for at overvåge effektiviteten af prøveklargøringen og efterfølgende analyse.

Interne kontroller skal tilsættes blanding af carrier RNA (CARRIER) og Buffer AVE (AVE), og den samlede mængde af blandingen af intern kontrol, carrier RNA (CARRIER) og Buffer AVE (AVE) forbliver 120 µl.

Tabellen viser tilsætning af intern kontrol til isolationen i et forhold på 0,1 µl pr. 1 µl elueringsvolumen. Vi anbefaler at klargøre friske blandinger til hver kørsel umiddelbart før brug.

Alternativt kan værktøjet "IC Calculator" (IC-kalkulator) i QIASymphony Management Console anvendes.

Komponent	Volumen (µl) (Sarstedt-rør)*	Volumen (µl) (Corning-rør)†
Stambærer-RNA (CARRIER)	5	5
Intern kontrol‡	9	9
Buffer AVE	106	106
Endeligt volumen pr. prøve (ekskl. dødvolumen)	120	120
Samlet volumen for n prøver	$(n \times 120) + 360^{\S}$	$(n \times 120) + 600^{\parallel}$

\* Micro tubes 2.0 ml Type H og Micro tubes 2.0 ml Type I, Sarstedt katalognr. 72.693 og 72.694).

† Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Corning® Inc., katalognr. 352051; Becton Dickinson var den tidligere leverandør af dette rør, og Corning Inc. er den nye leverandør).

‡ Beregningen af mængden af intern kontrol er baseret på de initiale elueringsvolumener (90 µl). Yderligere porevolumen afhænger af den anvendte prøverørstype.

§ Intern kontrolblanding, der svarer til 3 yderligere prøver (dvs. 360 µl), er påkrævet. Fyld ikke røret med mere end 1,92 ml (svarende til maksimalt 13 prøver. Disse volumener er specifikke for Micro tubes 2.0 ml Type H og Micro tubes 2.0 ml Type I, Sarstedt katalognr. 72.693 og 72.694).

¶ Intern kontrolblanding, der svarer til 5 yderligere prøver (dvs. 600 µl), er påkrævet. Fyld ikke røret med mere end 13,92 ml i alt (svarende til maksimalt 111 prøver. Disse volumener er specifikke for Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom, Corning Inc., katalognr. 352051; Becton Dickinson var den tidligere leverandør af dette rør, og Corning Inc. er den nye leverandør).

## Opsætning af QIASymphony SP

### Skuffen "Waste" (affald)

Enhedsboksholder 1-4	Tomme enhedsbokse
Affaldsposeholder	Affaldspose
Væskeaffaldsflaskeholder	Tøm og indsæt flaske til flydende affald

### Skuffen "Eluate" (eluat)

Elueringsrack	Elution Microtubes CL i Elution Microtube Rack QS og Transfer frame Brug åbning 1, afkølingsposition
Elueringsvolumen*	Forvalgt elueringsvolumen: 60 µl Initialt elueringsvolumen: 90 µl

\* Det elueringsvolumen, der er forvalgt for protokollen. Dette er det minimalt tilgængelige eluatvolumen i det sidste elueringsrør. Det initiale volumen af elueringsopløsning, der skal til for at sikre, at det aktuelle eluatvolumen er det samme som det forvalgte volumen.

### Skuffen "Reagents and Consumables" (reagenser og forbrugsartikler)

RC-position 1 og 2	Indsæt 1 reagensbeholder (Reagent Cartridge, RC) til op til 48 prøver eller 2 nye reagensbeholdere (RC) til op til 96 prøver
Spidsrackholderposition 1-18	Indsæt tilstrækkelige racks med engangsfilterspidser, 200 µl og 1500 µl (se "Nødvendige plastartikler til 1-4 prøvebatches", side 7)
Enhedsboksbeholderposition 1-4	Indsæt enhedsbokse med prøveklargøringsbeholdere og 8-Rod Covers (se "Nødvendige plastartikler til 1-4 prøvebatches", side 7)

## Skuffen "Sample" (prøve)

Prøvetype	Humant EDTA-plasma
Prøvevolumen (inkl. overskydende volumen)	1200 µl
Prøverør	Micro tubes 2.0 ml Type H eller Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, katalognr. 72.693 og 72.694)
Indsats	Tube Insert 3B (katalognr. 9242083)

## Nødvendige plastartikler til 1-4 prøvebatches

Komponent	En batch, 24 prøver*	To batches, 48 prøver*	Tre batches, 72 prøver*	Fire batches, 96 prøver*
Disposable filter-tips, 200 µl†‡	28	52	76	100
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	113	206	309	402
Sample Prep Cartridges§	21	42	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

\* Brug af mere end ét rør med intern kontrol pr. batch og gennemførelse af mere end en indholdsscanning kræver ekstra engangsfilterspidser.

† Der er 32 filterspidser/spidsrack.

‡ Antal nødvendige filterspidser indeholder filterspidser til 1 indholdsscanning pr. reagensbeholder.

§ Der er 28 prøveklargøringsbeholdere/enhedsboks.

¶ Der er 12 8-Rod Covers/enhedsboks.

## Opsætning af QIASymphony AS

### Forbrugsartikler

Under opsætningen er de rette positioner for hver forbrugsartikel på QIASymphony AS-modulet angivet på instrumentets berøringskærm.

Forbrugsartikel	Navn på berøringskærm	Til brug sammen med adapter/reagensholder
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) <sup>†‡</sup>	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt <sup>§</sup>	Reagent holder 1 QS
Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (500) <sup>†‡</sup>	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt <sup>§</sup>	Reagent holder 1 QS

\* Angiver, at laboratoriematerialer kan nedkøles med en køleadapter med stregkode.

<sup>†</sup> Til master-blandingskomponenter, systemklargjort master-blanding, analysestandarder og analysekontroller.

<sup>‡</sup> Alternativt kan Sarstedt-rør, som er beskrevet i "Nødvendige materialer, som ikke medfølger", side 3, bruges.

<sup>§</sup> Suffikset "(m)" på berøringskærmen angiver, at væskestandsberegningerne for det respektive rør er blevet optimeret til reagenser, der danner en konkav menisk.

### Adaptore og reagensholdere

Rack/reagensholder	Navn	Nødvendigt antal <sup>¶</sup>
Reagensholdere	Reagent holder 1 QS	1
Rack til prøver	RG Strip Tubes 72 QS	1

<sup>¶</sup> Beregnet til en analysekørsel med 72 reaktioner.

### Filterspidser

Indsæt spids-racks startende med spidspladserne 1, 2 og 3 i skuffen "Eluate and Reagents" (eluat og reagenser), og indsæt dernæst spids-racks på spidsplads 7, 8 og 9 i skuffen "Assays" (analyser).

Forbrugsartikel	Navn på berøringskærm	Minimumsantal til 24 reaktioner	Minimumsantal til 72 reaktioner
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	1500 µl	4	6
Filter-Tips, 200 µl (1024)	200 µl	9	8
Filter-Tips, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Tip Disposal Bags	–	1	1



## PCR på Rotor-Gene Q\*

Der henvises til det softwarespecifikke protokolark *Settings to run artus QS-RGQ Kits* (Indstillinger til kørsel af artus QS-RGQ Kits) på [www.qiagen.com/products/artusvzvpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusvzvpcrkitce.aspx) for at få nærmere oplysninger om protokoller.

### Specifikke indstillinger for *artus* VZV QS-RGQ Kit

Med Rotor-Gene®-software 2.1 eller nyere vises de specifikke indstillinger nedenfor.

Reaction Volume (Reaktionsvolumen) (µl)	50
Hold (Stop)	Stoptemperatur: 95 grader Stoptid: 10 minutter
Cycling (Cyklus)	45 gange 95 grader i 15 sekunder 65 grader i 30 sekunder (hentning på Green og Orange, og aktivér touchdown-funktionen for 10 cyklusser) 72 grader i 20 sekunder
Auto-Gain Optimization Setup (Opsætning af automatisk gain-optimering)	65 grader (prøver: Green, IC: Orange)

## Fortolkning af resultater

Dette afsnit beskriver tolkning af resultater på Rotor-Gene Q. Evaluer også prøvestatusoplysninger fra QIASymphony SP/AS-resultatfilerne med henblik på analyse af den komplette arbejdsgang fra prøve til resultat. Kun prøver med en gyldig status bør anvendes.

*artus* VZV QS-RGQ Kit kan køres på Rotor-Gene Q vha. manuel analyse med Rotor-Gene Q-software 2.1 eller nyere. De følgende afsnit beskriver tolkning af resultater vha. Rotor-Gene Q-software 2.1 eller nyere.

\* Hvis relevant et Rotor-Gene Q 5plex HRM-instrument med en fremstillingsdato fra januar 2010 eller senere. Produktionsdatoen findes under serienummeret på bagsiden af instrumentet. Serienummeret findes i formatet "mmåånnn", hvor "mm" står for produktionsmåneden i tal, "åå" står for de sidste to tal i produktionsåret, og "nnn" står for den entydige instrumentidentifikator.

## Signaldetektering og konklusioner

Signal i Cycling Green	Signal i Cycling Orange	Kvantitativt resultat (kopier/ml)	Tolkning
Ja	Ja	<12,7	Gyldigt resultat: VZV DNA detekteret, <127 kopier/ml. Kvantitering ikke mulig, da det kvantitative resultat ligger under detektionsgrænsen. Reproducérbarheden for det positive resultat er ikke sikret.
Ja	Ja	≥12,7 og <127	Gyldigt resultat: VZV DNA detekteret, <127 kopier/ml. Kvantitering ikke mulig, da det kvantitative resultat ligger under analysens lineære område.
Ja	Ja/Nej*	≥127 og ≤6,92 x 10 <sup>6</sup>	Gyldigt resultat: VZV DNA detekteret ved den beregnede koncentration. Det kvantitative resultat ligger inden for analysens lineære område.
Ja	Ja/Nej*	>6,92 x 10 <sup>6</sup>	Gyldigt resultat: VZV DNA detekteret, >6,92 x 10 <sup>6</sup> kopier/ml. Kvantitering ikke mulig, da det kvantitative resultat ligger over analysens lineære område.†
Nej	Ja	–	Gyldigt resultat: VZV-DNA kan ikke detekteres. ‡
Nej	Nej	–	Ugyldigt resultat: Der kan ikke udledes noget resultat. §

\* I dette tilfælde er detektion af et signal i kanalen Cycling Orange unødvendigt, idet høje indledende koncentrationer af VZV-DNA (positivt signal i Cycling Green-kanalen) kan medføre reduceret eller manglende fluorescenssignal fra den interne kontrol i Cycling Orange-kanalen (konkurrence).

† Hvis kvantitering ønskes, fortyndes prøven med VZV-frit plasma og behandles igen. Multipliser det kvantitative resultat fra den genbehandlede prøve med fortyndingsfaktoren.

‡ Hvis C<sub>T</sub>-værdien for den interne kontrol af en negativ prøve er mere end 3 cyklusser højere end C<sub>T</sub>-værdien for den interne kontrol af kontrollen uden skabelon i kørslen (C<sub>T IC-prøve</sub> – C<sub>T IC NTC</sub> >3), skal prøven behandles som ugyldig. Der kan ikke udledes noget resultat.

§ Information vedrørende fejlkilder og deres løsning kan findes i "Fejlfindingsvejledning" i *Håndbog til artus VZV QS-RGQ Kit*.

## Indstilling af tærsklen for PCR-analysen

De optimale tærskelindstillinger for en given kombination af Rotor-Gene Q-instrumentet og *artus* QS-RGQ Kit skal sættes empirisk ved at teste hver individuel kombination, eftersom det er en relativ værdi, afhængig af den generelle diagnostiske arbejdsgang. Tærsklen kan indstilles på en præliminær værdi på 0,04 til analysen af den første PCR-kørsel, men denne værdi skal finindstilles i en komparativ analyse af de næste kørsler af arbejdsgangen. Tærsklen skal indstilles manuelt lige over baggrundssignalet for de negative kontroller og negative prøver. Tærskelmiddelværdien, som beregnes ud fra disse eksperimenter, vil sandsynligvis fungere for de fleste kørsler, men brugeren skal alligevel gennemgå den genererede tærskelværdi med jævne mellemrum. Tærskelværdien vil sædvanligvis ligge i intervallet 0,03–0,05 og skal afrundes til højst tre decimaler.

## Kvantitering

Kvantiteringsstandarderne (VZV QS 1-4) i *artus* VZV QS-RGQ Kit behandles som tidligere oprensede prøver, og der anvendes samme volumen (20 µl). For at generere en standardkurve på Rotor-Gene Q-instrumenter bør alle 4 kvantiteringsstandarder bruges og defineres i dialogboksen Edit Samples (Rediger prøver) på Rotor-Gene Q-instrumentet som standarder med de specificerede koncentrationer (se instrumentets brugervejledning).

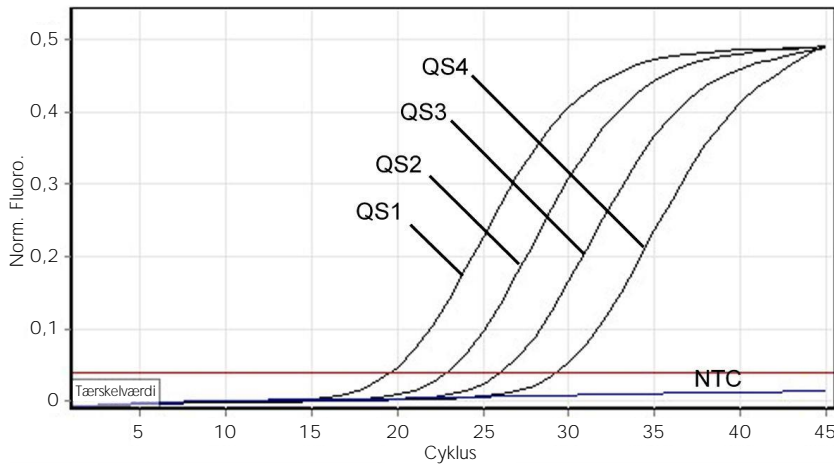
Bemærk: **Kvantiteringsstandarderne defineres som kopier/µl i eluatet. Følgende formel skal anvendes til at omregne de værdier, som er bestemt ved hjælp af standardkurven, til kopier/ml prøvemateriale.**

$$\text{Resultat i prøvemateriale (kopier/ml)} = \frac{\text{Resultat i eluat (kopier/}\mu\text{l)} \times \text{Initialt elueringsvolumen (90 }\mu\text{l)}^*}{\text{Prøvevolumen (ml)}}$$

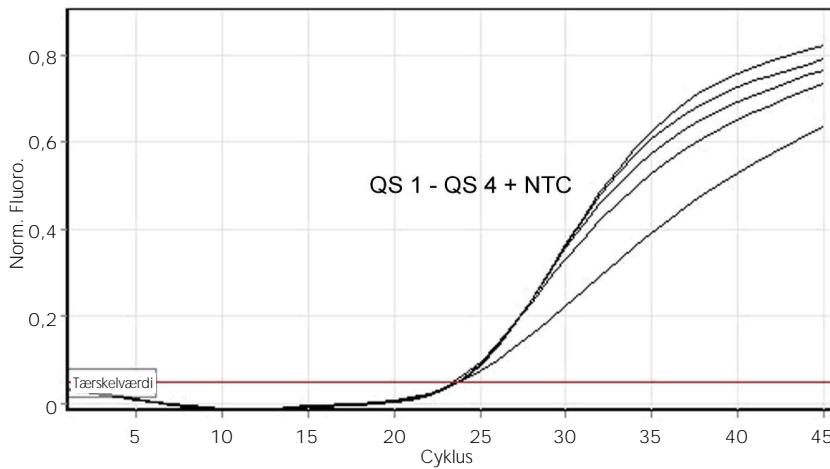
Det initiale prøvevolumen skal altid indsættes i ovenstående formel. Det skal tages i betragtning, når prøvevolumen ændres før nukleinsyrestraktion (f.eks. reduktion af volumen ved centrifugering eller øgning af volumen ved at tilsætte det nødvendige volumen til isolationen).

\* Beregningen er baseret på de initiale elueringsvolumener (90 µl).

## Eksempler på positive og negative PCR-reaktioner



Detektion af kvantiteringsstandarderne (VZV QS 1-4) i fluorescenskanalen Cycling Green.  
NTC: No template control (Ingen skabelonkontrol) (negativ kontrol).



Detektion af den interne kontrol (IC) i fluorescenskanalen Cycling Orange med samtidig  
amplifikation af kvantiteringsstandarderne (VZV QS 1-4). NTC: No template control (Ingen  
skabelonkontrol) (negativ kontrol).

#### Revisionshistorik for dokumentet

R2, april 2019 Fodnote vedrørende opsætning af 216 analyser er blevet fjernet. Skiftet til nye versioner af QIASymphony-protokollerne. Påkrævet materiale til opsætning af 72 reaktioner er blevet opdateret. Der er **blevet tilføjet oplysninger om brugen af værktøjet "IC Calculator"** (IC-kalkulator) i QMC. Navnet på Corning-laboratorieudstyret er blevet opdateret (tidligere Becton Dickinson). Der er blevet tilføjet specifikke kørselsindstillinger for Rotor-Gene Q (brug af touchdown-funktionen, hentninger). Der er blevet tilføjet oplysninger om **fortolkning af resultater, så "patogenpositiv og IC-negativ" er inkluderet.** Vejledningen i brug af Rotor-Gene AssayManager® er blevet fjernet, RT-PCR er ændret til PCR for at give øget klarhed, og forskellen mellem eluat og prøvekoncentration i kvantiteringsberegning er blevet forklaret nærmere

For opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises til den aktuelle QIAGEN kit-håndbog eller -brugervejledning. QIAGEN kit-håndbøger og brugervejledninger kan fås via [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan rekvireres hos QIAGENS tekniske service eller den lokale distributør.

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN Group); Corning® (Corning Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Registrerede navne, varemærker osv. anvendt i dette dokument må ikke, selv når de ikke specifikt er markeret som sådan, betragtes som værende juridisk ubeskyttede.  
04/2019 HB-0401-S02-002 © 2012-2019 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.

