

# Εγχειρίδιο κιτ *artus*<sup>®</sup> HI Virus-1 QS- RGQ



24 (αρ. καταλόγου 4513363)



72 (αρ. καταλόγου 4513366)

Έκδοση 1

**IVD**

Ποσοτική in vitro διαγνωστική χρήση

Για χρήση με τα όργανα QIASymphony<sup>®</sup> SP/AS και Rotor-Gene<sup>®</sup> Q



**REF** 4513363, 4513366



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANY

R5 **MAT** 1060923EN



# Τεχνολογίες προετοιμασίας δειγμάτων και ανάλυσης της QIAGEN

Η QIAGEN είναι ο κορυφαίος προμηθευτής καινοτόμων τεχνολογιών προετοιμασίας δειγμάτων και ανάλυσης, επιτρέποντας την απομόνωση και ανίχνευση περιεχομένων κάθε βιολογικού δείγματος. Τα προηγμένα, υψηλής ποιότητας προϊόντα και οι υπηρεσίες μας εξασφαλίζουν την επιτυχία, από την προετοιμασία του δείγματος μέχρι την εξαγωγή των αποτελεσμάτων.

## Η QIAGEN θέτει πρότυπα:

- στον καθαρισμό DNA, RNA και πρωτεϊνών
- στις αναλύσεις νουκλεϊκών οξέων και πρωτεϊνών
- στην έρευνα microRNA και RNAi
- στην αυτοματοποίηση τεχνολογιών προετοιμασίας δειγμάτων και ανάλυσης

Αποστολή μας είναι η διασφάλιση της επιτυχίας σας και της επίτευξης καινοτόμων ανακαλύψεων. Για περισσότερες πληροφορίες, επισκεφθείτε μας στη διεύθυνση [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## **Περιεχόμενα**

<b>Προβλεπόμενη χρήση</b>	<b>4</b>
<b>Σύνοψη και επεξήγηση</b>	<b>4</b>
Πληροφορίες σχετικά με τον παθογόνο παράγοντα	5
<b>Παρεχόμενα υλικά</b>	<b>7</b>
Περιεχόμενα του kit	7
<b>Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται</b>	<b>8</b>
<b>Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις</b>	<b>8</b>
Γενικές προφυλάξεις	9
<b>Φύλαξη και χειρισμός αντιδραστηρίων</b>	<b>9</b>
<b>Χειρισμός και φύλαξη δειγμάτων</b>	<b>9</b>
<b>Διαδικασία</b>	<b>10</b>
Βασικές οδηγίες για τα όργανα QIASymphony SP/AS	10
Καθαρισμός ιικού RNA	10
Χρήση προτύπου εσωτερικού ελέγχου και φορέα RNA (CARRIER)	10
Σετ προτύπων ελέγχου ανάλυσης και σετ παραμέτρων ανάλυσης	10
Αποδόσεις νουκλεϊκών οξέων	11
Φύλαξη νουκλεϊκών οξέων	11
Πρωτόκολλο: Απομόνωση RNA και ρύθμιση της ανάλυσης στο QIASymphony SP/AS	12
Πρωτόκολλο: RT-PCR στο Rotor-Gene Q	17
<b>Ερμηνεία των αποτελεσμάτων</b>	<b>18</b>
Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων	18
<b>Ποιοτικός Έλεγχος</b>	<b>24</b>
<b>Περιορισμοί</b>	<b>24</b>
<b>Χαρακτηριστικά Απόδοσης</b>	<b>24</b>
<b>Παραπομπές</b>	<b>24</b>
<b>Σύμβολα</b>	<b>25</b>
<b>Στοιχεία επικοινωνίας</b>	<b>25</b>
<b>Πληροφορίες παραγγελίας</b>	<b>27</b>

## Προβλεπόμενη χρήση

Το kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ είναι μια in vitro δοκιμασία ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων για τον ποσοτικό προσδιορισμό του RNA του ιού ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας τύπου 1 (HIV-1) σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα. Το εν λόγω kit διαγνωστικής δοκιμής χρησιμοποιεί την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης έπειτα από αντίστροφη μεταγραφή (RT-PCR) και είναι διαμορφωμένο για χρήση με τα όργανα QIA Symphony SP/AS και Rotor-Gene Q. Το δείγμα που περιέχει τους υποτύπους A-H της ομάδας M έχει επικυρωθεί για χρήση στην ανάλυση.

Το kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ προορίζεται για χρήση σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα και άλλους εργαστηριακούς δείκτες για την πρόγνωση νόσων και ως βοήθημα στην αξιολόγηση της ιικής απόκρισης στην αντιρετροϊκή θεραπεία, όπως αυτή μετράται από τις αλλαγές των επιπέδων HIV-1 RNA σε ανθρώπινο πλάσμα με EDTA. Το kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ δεν ενδείκνυται για χρήση ως δοκιμή ανίχνευσης του HIV ή ως διαγνωστική δοκιμή για επιβεβαίωση της παρουσίας λοίμωξης από HIV.



Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τα ειδικά βιολογικά δείγματα με τα οποία έγινε η επικύρωση του kit, ανατρέξτε στα Φύλλα Εφαρμογών, που είναι διαθέσιμα στην ηλεκτρονική διεύθυνση [www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx).

Καθώς η QIAGEN παρακολουθεί συνεχώς την απόδοση της ανάλυσης και επικυρώνει νέους ισχυρισμούς, οι χρήστες πρέπει να βεβαιωθούν ότι χρησιμοποιούν την τελευταία αναθεώρηση των οδηγιών χρήσης.



Πριν από τη διεξαγωγή μιας δοκιμής, ελέγξτε τη διαθεσιμότητα των νέων αναθεωρήσεων ηλεκτρονικής επισήμανσης στην ηλεκτρονική διεύθυνση [www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx).

Όλα τα kit μπορούν να χρησιμοποιηθούν με τα αντίστοιχα στοιχεία οδηγιών, αρκεί ο αριθμός έκδοσης του εγχειριδίου και οι άλλες πληροφορίες επισήμανσης να είναι συμβατές με τον αριθμό έκδοσης του kit. Ο αριθμός έκδοσης αναγράφεται στην ετικέτα κάθε συσκευασίας του kit. Η QIAGEN διασφαλίζει τη συμβατότητα μεταξύ όλων των παρτίδων του kit της δοκιμής με τον ίδιο αριθμό έκδοσης.

## Σύνοψη και επεξήγηση

Το kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ αποτελεί ένα έτοιμο προς χρήση σύστημα για την ανίχνευση RNA του HIV-1 με χρήση της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) σε όργανα Rotor-Gene Q με προετοιμασία δείγματος και ρύθμιση των παραμέτρων της δοκιμασίας με χρήση των οργάνων QIA Symphony SP/AS. Τα HI Virus-1 RG Master A και B περιέχουν αντιδραστήρια και ένζυμα για την αντίστροφη μεταγραφή και την ειδική ενίσχυση μιας περιοχής 93 bp του γονιδιώματος του HIV-1 και την άμεση ανίχνευση του ειδικού προϊόντος ενίσχυσης (αμπλικόνιο) στο κανάλι φθορισμού Cycling Green του Rotor-Gene Q.

Επιπλέον, το kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ περιέχει ένα δεύτερο ετερόλογο σύστημα ενίσχυσης για την ανίχνευση πιθανής αναστολής της PCR. Αυτή ανιχνεύεται ως μάρτυρας εσωτερικού ελέγχου (IC) στο κανάλι φθορισμού Cycling Green του Rotor-Gene Q. Το όριο ανίχνευσης της αναλυτικής HI Virus-1 RT-PCR δεν μειώνεται. Παρέχονται θετικοί μάρτυρες εξωτερικού ελέγχου (HI Virus-1 RG QS 1–4), οι οποίοι επιτρέπουν τον προσδιορισμό της ποσότητας του ιικού RNA. Για περαιτέρω πληροφορίες, ανατρέξτε στο σχετικό Φύλλο Εφαρμογών στην ηλεκτρονική διεύθυνση [www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx).

## Πληροφορίες σχετικά με τον παθογόνο παράγοντα

Ο ιός ανοσοανεπάρκειας του ανθρώπου (HIV) είναι ένας ρετροϊός που προκαλεί το σύνδρομο επίκτητης ανοσοανεπάρκειας (AIDS). Για τις ανθρώπινες λοιμώξεις ευθύνονται δύο τύποι HIV, ο HIV-1 και ο HIV-2, οι οποίοι διαφέρουν στη μολυσματικότητα και τον επιπολασμό. Τα περισσότερα αναφερόμενα περιστατικά AIDS παγκοσμίως αποδίδονται στον HIV-1. Η λοίμωξη από HIV πραγματοποιείται με μεταφορά μολυσμένου αίματος, κολπικών υγρών, μητρικού γάλακτος και άλλων σωματικών υγρών. Εντός αυτών των σωματικών υγρών, ο HIV είναι παρών τόσο με τη μορφή ελεύθερων σωματιδίων όσο και εντός των μολυσμένων ανοσοκυττάρων. Οι τρεις κύριες οδοί μετάδοσης του ιού είναι η σεξουαλική επαφή χωρίς προφυλακτικό, οι μολυσμένες βελόνες και η μετάδοση από μια μολυσμένη μητέρα στο μωρό της κατά τον τοκετό ή μέσω του μητρικού γάλακτος.

Ο HIV προσβάλλει κυρίως το ανθρώπινο ανοσοποιητικό σύστημα όπως τα Τ-βοηθητικά κύτταρα (συγκεκριμένα τα CD4<sup>+</sup>). Η λοίμωξη από HIV οδηγεί σε χαμηλά επίπεδα Τ-κυττάρων CD4<sup>+</sup>. Όταν ο αριθμός των Τ-κυττάρων CD4<sup>+</sup> μειώνεται κάτω από ένα κρίσιμο επίπεδο, η κυτταρο-διαμεσολαβούμενη ανοσία χάνεται και ο οργανισμός καθίσταται προοδευτικά πιο ευάλωτος σε ευκαιριακές λοιμώξεις.

Τα συμπτώματα του AIDS εμφανίζονται σε προχωρημένο στάδιο της λοίμωξης από HIV, όταν το κατεσταλμένο ανοσοποιητικό σύστημα δεν μπορεί να καταπολεμήσει τις ευκαιριακές λοιμώξεις. Σε αυτό το στάδιο, το μολυσμένο άτομο αναπτύσσει σταδιακά συμπτώματα που ενεργοποιούνται από τέτοιες λοιμώξεις. Οι πιο συνηθισμένες λοιμώξεις περιλαμβάνουν χρόνια διάρροια από κρυπτοσπορίδιο, οφθαλμική λοίμωξη προκαλούμενη από κυτταρομεγαλοϊό, πνευμονία από πνευμοκύστη, τοξοπλάσμωση και φυματίωση καθώς και λοιμώξεις από μέλη του συμπλόκου *Mycobacterium avium*. Επιπλέον, συχνά παρατηρείται η ανάπτυξη διαφορετικών τύπου καρκίνου, όπως ο επιθετικός καρκίνος του τραχήλου της μήτρας, το σάρκωμα Kaposi ή το λέμφωμα. Προς το παρόν, δεν υπάρχει θεραπεία για το AIDS και πιστεύεται ότι τα περισσότερα άτομα που έχουν μολυνθεί με HIV τελικά θα καταλήξουν λόγω κάποιας νόσου σχετιζόμενης με το AIDS. Ωστόσο, οι εξελίξεις στις θεραπείες του HIV/AIDS, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που καταπολεμούν τον ίδιο τον ιό καθώς και εκείνων που αποτρέπουν ή

θεραπεύουν τις ευκαιριακές λοιμώξεις, έχουν βελτιώσει δραστικά το προσδόκιμο και την ποιότητα ζωής πολλών ασθενών με HIV/AIDS. (1–4)

## Παρεχόμενα υλικά

### Περιεχόμενα του ΚΙΤ

ΚΙΤ <i>artus</i> HI Virus-1 QS-RGQ		(24)	(72)
Αρ. καταλόγου		4513363	4513366
Αριθμός αντιδράσεων		24	72
Μπλε	HI Virus-1 RG Master A	4 x 144 μl	8 x 144 μl
Ιώδες	HI Virus-1 RG Master B	4 x 216 μl	8 x 216 μl
Ερυθρό	HI Virus-1 RG QS 1* (1x 10 <sup>4</sup> IU/μl)	<b>QS</b> 200 μl	200 μl
Ερυθρό	HI Virus-1 RG QS 2* (1x 10 <sup>3</sup> IU/μl)	<b>QS</b> 200 μl	200 μl
Ερυθρό	HI Virus-1 RG QS 3* (1x 10 <sup>2</sup> IU/μl)	<b>QS</b> 200 μl	200 μl
Ερυθρό	HI Virus-1 RG QS 4* (1x 10 <sup>1</sup> IU/μl)	<b>QS</b> 200 μl	200 μl
Πράσινο	HI Virus-1 RG IC <sup>†</sup>	<b>IC</b> 1000 μl	2 x 1000 μl
Λευκό	Νερό (για χρήση σε PCR)	1000 μl	1000 μl
	<i>Εγχειρίδιο kit artus® HI Virus-1 QS-RGQ (ελληνικά)</i>	1	1

\* Πρότυπο ποσοτικού προσδιορισμού.

† Πρότυπο εσωτερικού ελέγχου.

## Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται

Όταν εργάζεστε με χημικά θα πρέπει πάντοτε να φοράτε προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας (SDS), τα οποία είναι διαθέσιμα από τον προμηθευτή του προϊόντος.

- Πιπέτες (ρυθμιζόμενες)\* και αποστειρωμένα ρύγχη πιπετών με φίλτρα
- Συσκευή περιδίνισης\*
- Εργαστηριακή φυγόκεντρος\* με στροφέα για σωληνάρια αντίδρασης 2 ml με δυνατότητα φυγοκέντρισης στις 6800 x g

### Για προετοιμασία δειγμάτων

- Όργανο QIASymphony SP instrument (αρ. κατ. 9001297)\*
- Όργανο QIASymphony AS (αρ. κατ. 9001301)\*

### Για την PCR

- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM\*†
- Έκδοση λογισμικού Rotor-Gene Q 2.1 ή νεότερη έκδοση
- Προαιρετικά: Έκδοση λογισμικού Rotor-Gene AssayManager 1.0 ή νεότερη έκδοση

Σημείωση: Περαιτέρω πληροφορίες σχετικά με τα υλικά που απαιτούνται για ειδικές εφαρμογές περιέχονται στο σχετικό Φύλλο Εφαρμογών στην ηλεκτρονική διεύθυνση [www.qiagen.com/products/artushivirusrp-pcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusrp-pcrkitce.aspx).

## Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

Για in vitro διαγνωστική χρήση

Όταν εργάζεστε με χημικά θα πρέπει πάντοτε να φοράτε προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, παρακαλούμε ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας (SDS). Διατίθενται στο διαδίκτυο σε εύχρηστη και συμπιεσμένη μορφή PDF, στην ιστοσελίδα [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), όπου μπορείτε να βρείτε, να εμφανίσετε και να εκτυπώσετε τα SDS για κάθε kit της QIAGEN® καθώς και για τα περιεχόμενά του.

\* Βεβαιωθείτε πως τα όργανα έχουν ελεγχθεί και βαθμονομηθεί σύμφωνα με τις συστάσεις του κατασκευαστή.

†Εφόσον υπάρχει, μπορεί να χρησιμοποιηθεί το όργανο Rotor-Gene Q5plex HRM με ημερομηνία παραγωγής τον Ιανουάριο 2010 ή κάποιος μεταγενέστερος τύπος του. Η ημερομηνία παραγωγής μπορεί να ληφθεί από τον σειριακό αριθμό στο πίσω μέρος του οργάνου. Ο σειριακός αριθμός είναι στη μορφή «mmgggg» όπου το «mm» υποδεικνύει το μήνα παραγωγής με αριθμούς, το «gg» υποδεικνύει τα τελευταία δύο ψηφία του έτους παραγωγής και το «gggg» υποδεικνύει το μοναδικό αναγνωριστικό του οργάνου.



Για πληροφορίες ασφαλείας σχετικά με το κιτ καθαρισμού που χρησιμοποιείται, ανατρέξτε στο σχετικό εγχειρίδιο χρήσης του κιτ. Για πληροφορίες ασφαλείας σχετικά με τα όργανα, ανατρέξτε στο σχετικό εγχειρίδιο χρήσης του κιτ.

Απορρίψτε τα απόβλητα δειγμάτων και αναλύσεων σύμφωνα με τους εκάστοτε τοπικούς κανονισμούς ασφαλείας.

## Γενικές προφυλάξεις

Να δίνεται πάντα προσοχή στα ακόλουθα:

- Χρησιμοποιείτε αποστειρωμένα ρύγχη πιπेटών με φίλτρα.
- Κατά τη διάρκεια των σταδίων όπου ακολουθούνται χειροκίνητες διαδικασίες, διατηρήστε τα σωληνάρια κλειστά, όποτε είναι δυνατό, και αποφύγετε την επιμόλυνση.
- Αποψύξτε εντελώς όλα τα συστατικά σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) πριν από την έναρξη της ανάλυσης.
- Μετά την απόψυξη, αναμίξτε τα συστατικά (πιπετάροντας επανειλημμένα πάνω και κάτω ή με παλμική συσκευή περιδίνισης) και φυγοκεντρήστε για λίγο. Βεβαιωθείτε ότι δεν υπάρχει αφρός ή φυσαλίδες στα σωληνάρια των αντιδραστηρίων.
- Μην αναμιγνύετε τα συστατικά από κιτ διαφορετικού αριθμού παρτίδας.
- Βεβαιωθείτε ότι οι απαιτούμενοι μετασχηματιστές προψύχονται στους 2–8°C.
- Εργαστείτε γρήγορα και διατηρήστε τα αντιδραστήρια της PCR σε πάγο ή στο στοιχείο ψύξης πριν από τη φόρτωση.
- Προχωρείτε συνεχόμενα από το ένα μέρος της ροής εργασιών στο επόμενο. Μην υπερβαίνετε τα 30 λεπτά χρόνου μεταφοράς μεταξύ κάθε μονάδας (QIASymphony SP στο QIASymphony AS στο Rotor-Gene Q).

## Φύλαξη και χειρισμός αντιδραστηρίων

Τα συστατικά του κιτ *artus* HI Virus-1 QS-RGQ πρέπει να φυλάσσονται στους –15 έως –30°C και να είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα. Η επανειλημμένη απόψυξη και ψύξη (>2 x) θα πρέπει να αποφεύγεται καθώς αυτό μπορεί να μειώσει την απόδοση της ανάλυσης.

## Χειρισμός και φύλαξη δειγμάτων

Περαιτέρω πληροφορίες σχετικά με τον χειρισμό και τη φύλαξη για ειδικές εφαρμογές περιέχονται στο σχετικό Φύλλο Εφαρμογών στην ηλεκτρονική διεύθυνση [www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx).

## Διαδικασία

### Βασικές οδηγίες για τα όργανα QIASymphony SP/AS

Κλείστε όλα τα συρτάρια και καλύμματα.

Ενεργοποιήστε τα όργανα QIASymphony SP/AS και περιμένετε έως ότου εμφανιστεί η οθόνη «Sample Preparation» (Προετοιμασία δειγμάτων) και ολοκληρωθεί η διαδικασία εκκίνησης.

Συνδεθείτε στο όργανο (τα συρτάρια θα ξεκλειδώσουν).

### Καθαρισμός ιικού RNA

Το κιτ *artus* HI Virus-1 QS-RGQ έχει επικυρωθεί με ένα στάδιο καθαρισμού ιικού RNA που πραγματοποιήθηκε στο QIASymphony SP χρησιμοποιώντας ένα κιτ QIASymphony DSP Virus/Pathogen. Ανατρέξτε στο *Εγχειρίδιο QIASymphony DSP Virus/Pathogen* για όλες τις πληροφορίες σχετικά με την προετοιμασία της φύσιγγας των αντιδραστηρίων για το στάδιο καθαρισμού των δειγμάτων στο QIASymphony SP.

### Χρήση προτύπου εσωτερικού ελέγχου και φορέα RNA (CARRIER)

Η χρήση των κιτ QIASymphony DSP Virus/Pathogen σε συνδυασμό με το κιτ *artus* HI Virus-1 QS-RGQ απαιτεί την εισαγωγή προτύπου εσωτερικού ελέγχου (HI Virus-1 RG IC) εντός της διαδικασίας καθαρισμού για την παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας της προετοιμασίας του δείγματος και της καθοδικής ανάλυσης. Επιπλέον, τα κιτ QIASymphony DSP Virus/Pathogen ενδέχεται να απαιτούν την προετοιμασία φορέα RNA (CARRIER). Για ειδικές πληροφορίες σχετικά με το πρότυπο εσωτερικού ελέγχου και τη χρήση του φορέα RNA (CARRIER), ανατρέξτε στο σχετικό Φύλλο Εφαρμογών στην ηλεκτρονική διεύθυνση

[www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx).

### Σετ προτύπων ελέγχου ανάλυσης και σετ παραμέτρων ανάλυσης

Ένα σετ προτύπων ελέγχου ανάλυσης αποτελεί συνδυασμό πρωτοκόλλων πλέον πρόσθετων παραμέτρων, όπως τα πρότυπα εσωτερικού ελέγχου, για τον καθαρισμό δειγμάτων στο QIASymphony SP. Για κάθε πρωτόκολλο έχει προ-εγκατασταθεί ένα σετ προτύπων ελέγχου ανάλυσης.

Τα σετ παραμέτρων ανάλυσης αποτελούν συνδυασμό προσδιορισμού ανάλυσης με πρόσθετες παραμέτρους, όπως ο αριθμός αντιγράφων και ο αριθμός προτύπων ανάλυσης, για ρύθμιση της ανάλυσης στο QIASymphony AS.

Για ολοκληρωμένες εκτελέσεις δοκιμών στο QIASymphony SP/AS, το σετ παραμέτρων ανάλυσης συνδέεται απευθείας με το αρχικό σετ προτύπων ελέγχου ανάλυσης το οποίο προσδιορίζει τη σχετική διαδικασία καθαρισμού δείγματος.

## **Αποδόσεις νουκλεϊκών οξέων**

Τα παράγωγα έκλουσης που προετοιμάζονται με φορέα RNA (CARRIER) ενδέχεται να περιέχουν πολύ μεγαλύτερη ποσότητα φορέα RNA (CARRIER) απ' ό,τι τα νουκλεϊκά οξέα-στόχοι. Συνιστούμε τη χρήση μεθόδων ποσοτικής ενίσχυσης για τον καθορισμό των αποδόσεων.

## **Φύλαξη νουκλεϊκών οξέων**

Για βραχυπρόθεσμη φύλαξη έως και 24 ώρες, συνιστούμε τη φύλαξη κεκαθαμένων νουκλεϊκών οξέων στους 2–8°C. Για μακροπρόθεσμη φύλαξη πέραν των 24 ωρών, συνιστούμε τη φύλαξη στους –20°C.

## Πρωτόκολλο: Απομόνωση RNA και ρύθμιση της ανάλυσης στο QIASymphony SP/AS

Η παρακάτω περιγραφή αποτελεί ένα γενικό πρωτόκολλο για τη χρήση των κιτ QIASymphony DSP Virus/Pathogen. Αναλυτικές πληροφορίες σχετικά με μια συγκεκριμένη εφαρμογή, συμπεριλαμβανομένων των όγκων και των σωληναρίων, παρέχονται στο σχετικό Φύλλο Εφαρμογών στην ηλεκτρονική διεύθυνση [www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx).

### Σημαντικά σημεία πριν ξεκινήσετε

- Βεβαιωθείτε ότι έχετε εξοικειωθεί με τον χειρισμό των οργάνων QIASymphony SP/AS. Για οδηγίες λειτουργίας ανατρέξτε στα εγχειρίδια χρήστη που παρέχονται με τα όργανα και τις πιο πρόσφατες εκδόσεις που είναι διαδικτυακά διαθέσιμες στην ηλεκτρονική διεύθυνση [www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx](http://www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx).
- Προτού χρησιμοποιήσετε φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) για πρώτη φορά, βεβαιωθείτε ότι δεν έχουν σχηματιστεί ιζήματα στα ρυθμιστικά διαλύματα QSL2 και QSB1 εντός της φύσιγγας αντιδραστηρίων (RC). Εάν είναι απαραίτητο, αφαιρέστε τους περιέκτες με τα ρυθμιστικά διαλύματα QSL2 και QSB1 από τη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) και επωάστε για 30 λεπτά στους 37°C με περιστασιακή ανάδευση για τη διάλυση τυχόν ιζημάτων. Βεβαιωθείτε ότι επανατοποθετείτε τους περιέκτες στις σωστές θέσεις. Εάν η φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) έχει ήδη διατηρηθεί, βεβαιωθείτε ότι οι περιέκτες έχουν σφραγιστεί με ταινίες σφράγισης για επαναχρησιμοποίηση και επωάστε ολόκληρη τη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) για 30 λεπτά στους 37°C με περιστασιακή ανάδευση σε υδατόλουτρο.\*
- Αποφεύγετε την έντονη ανάδευση της φύσιγγας αντιδραστηρίων (RC), διότι ενδέχεται να σχηματιστεί αφρός, ο οποίος μπορεί να οδηγήσει σε προβλήματα ανίχνευσης της στάθμης του υγρού.
- Εργαστείτε γρήγορα και διατηρήστε τα αντιδραστήρια της PCR σε πάγο ή σε στοιχείο ψύξης πριν από τη φόρτωση.
- Οι όγκοι των αντιδραστηρίων έχουν βελτιστοποιηθεί για 24 ή 72 αντιδράσεις ανά κιτ ανά εκτέλεση δοκιμής (αρ. κατ. 4513363 και 4513366, αντίστοιχα).
- Πριν από κάθε χρήση, όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να αποψύχονται εντελώς, να αναμιγνύονται (με επανειλημμένο πιπτετάρισμα πάνω και κάτω ή με γρήγορη περιδίγιση) και να φυγοκεντρούνται για τουλάχιστον 3 δευτερόλεπτα στις 6800 x g. Αποφύγετε το σχηματισμό υπερβολικού αφρού.

\* Βεβαιωθείτε ότι τα όργανα έχουν ελεγχθεί, συντηρηθεί και βαθμονομηθεί σε τακτική βάση σύμφωνα με τις συστάσεις του κατασκευαστή.

- Τα παράγωγα έκλουσης από την προετοιμασία των δειγμάτων και όλα τα συστατικά του kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ έχουν αποδειχθεί σταθερά επί του οργάνου τουλάχιστον για τον φυσιολογικό χρόνο που απαιτείται για τον καθαρισμό 96 δειγμάτων και τη ρύθμιση 72 αναλύσεων, συμπεριλαμβανομένου του χρόνου μεταφοράς των 30 λεπτών από το QIASymphony SP στο QIASymphony AS και του χρόνου μεταφοράς από το QIASymphony AS στο Rotor-Gene Q που μπορεί να φτάσει τα 30 λεπτά.

### **Τι πρέπει να κάνετε πριν από την εκκίνηση**

- Προετοιμάστε όλα τα απαραίτητα μείγματα. Εάν είναι απαραίτητο, προετοιμάστε μείγματα που περιέχουν φορέα RNA (CARRIER) και εσωτερικά πρότυπα ελέγχου πριν ξεκινήσετε. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στο σχετικό Φύλλο Εφαρμογών στην ηλεκτρονική διεύθυνση [www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx).
- Πριν από την έναρξη της διαδικασίας, βεβαιωθείτε ότι τα μαγνητικά σωματίδια είναι πλήρως ανακαταναμημένα. Αναδεύστε έντονα τον περιέκτη που περιέχει τα μαγνητικά σωματίδια σε αναδευτήρα vortex για τουλάχιστον 3 λεπτά, πριν από την πρώτη χρήση.
- Πριν φορτώσετε τη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC), αφαιρέστε το κάλυμμα από τον περιέκτη που περιέχει τα μαγνητικά σωματίδια και ανοίξτε τα σωληνάρια ενζύμων. Βεβαιωθείτε ότι η θήκη του ενζύμου έχει αποκτήσει θερμοκρασία δωματίου (15–25°C).
- Βεβαιωθείτε ότι το κάλυμμα διάτρησης (PL) έχει τοποθετηθεί επάνω στη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) και ότι έχει αφαιρεθεί το κάλυμμα του περιέκτη μαγνητικών σωματιδίων, ή, εάν χρησιμοποιείτε μια μερικώς χρησιμοποιημένη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC), βεβαιωθείτε ότι έχουν αφαιρεθεί οι επαναχρησιμοποιούμενες ταινίες σφράγισης.
- Εάν τα δείγματα φέρουν γραμμωτό κώδικα, προσανατολίστε τα δείγματα στον φορέα σωληναρίων με τέτοιον τρόπο ώστε οι γραμμωτοί κώδικες να είναι στραμμένοι προς τη συσκευή ανάγνωσης γραμμωτού κώδικα εντός του συρταριού «Sample» (Δείγμα) στην αριστερή πλευρά του QIASymphony SP.

## Διαδικασία

### Καθαρισμός ιικού RNA στο QIAAsymphony SP

1. **Κλείστε όλα τα συρτάρια και το κάλυμμα των οργάνων QIAAsymphony SP/AS.**
2. **Ενεργοποιήστε τα όργανα και περιμένετε έως ότου εμφανιστεί η οθόνη "Sample Preparation" (Προετοιμασία δειγμάτων) και ολοκληρωθεί η διαδικασία εκκίνησης.**

Ο κεντρικός διακόπτης βρίσκεται στην κάτω αριστερή γωνία του QIAAsymphony SP.
3. **Συνδεθείτε στο όργανο.**
4. **Προετοιμάστε τα παρακάτω συρτάρια σύμφωνα με το σχετικό Φύλλο Εφαρμογών στην ηλεκτρονική διεύθυνση [www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx).**
  - Συρτάρι «Waste» (Απόβλητα). Όταν προετοιμαστεί, εκτελέστε μια σάρωση υλικού.
  - Συρτάρι «Eluate» (Παράγωγο έκλουσης). Όταν προετοιμαστεί, εκτελέστε μια σάρωση υλικού.
  - Συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα). Όταν προετοιμαστεί, εκτελέστε μια σάρωση υλικού.
  - Συρτάρι «Sample» (Δείγμα)
5. **Χρησιμοποιώντας τη ρύθμιση «Integrated run» (Ολοκληρωμένη εκτέλεση δοκιμής) στην οθόνη αφής του QIAAsymphony, καταχωρίστε τις απαιτούμενες πληροφορίες για κάθε παρτίδα δειγμάτων που πρόκειται να υποβληθούν σε επεξεργασία. Επιλέξτε ένα σετ παραμέτρων ανάλυσης για την εκτέλεση της δοκιμής και καταχωρίστε τις μαζί με την αντίστοιχη παρτίδα AS στα δείγματα.**

Πληροφορίες σχετικά με το σετ παραμέτρων ανάλυσης και τον προεπιλεγμένο όγκο έκλουσης παρέχεται στο σχετικό Φύλλο Εφαρμογών.

Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με την ολοκληρωμένη εκτέλεση δοκιμών στο QIAAsymphony SP/AS, ανατρέξτε στα εγχειρίδια χρήσης του οργάνου.
6. **Κατά την εγκατάσταση μιας ολοκληρωμένης εκτέλεσης δοκιμής βεβαιωθείτε για τη σωστή καταχώριση των εργαστηριακών υλικών, του τύπου του δείγματος (δείγμα, EC+, και EC-) και των όγκων.**

Πληροφορίες σχετικά με τα αναλώσιμα και τα συστατικά που πρόκειται να φορτωθούν σε κάθε συρτάρι παρέχονται στο σχετικό Φύλλο Οδηγιών.
7. **Μετά την καταχώριση όλων των παρτίδων της ολοκληρωμένης εκτέλεσης δοκιμής, πατήστε το πλήκτρο «Ok» για έξοδο από τη ρύθμιση «Integrated run» (Ολοκληρωμένη εκτέλεση δοκιμής). Η κατάσταση όλων των παρτίδων εντός της επισκόπησης της**

ολοκληρωμένης εκτέλεσης δοκιμής αλλάζει από «LOADED» (Φορτώθηκε) σε «QUEUED» (Σε αναμονή). Εφόσον μία παρτίδα τεθεί σε αναμονή, εμφανίζεται το πλήκτρο "Run" (Εκτέλεση). Πατήστε το πλήκτρο "Run" (Εκτέλεση) για να ξεκινήσετε τη διαδικασία.

Όλα τα στάδια επεξεργασίας είναι πλήρως αυτοματοποιημένα.

### Φόρτωση των συρταριών QIASymphony AS για ρύθμιση των παραμέτρων της ανάλυσης

8. Αφού η ολοκληρωμένη εκτέλεση δοκιμής τεθεί σε αναμονή, ανοίξτε τα συρτάρια του QIASymphony AS. Τα απαιτούμενα συστατικά που πρέπει να φορτωθούν παρουσιάζονται στην οθόνη αφής.
9. Πριν από μια ολοκληρωμένη εκτέλεση δοκιμής βεβαιωθείτε ότι πραγματοποιείτε τα εξής:
  - Εισάγετε τον αγωγό ρυγχών.
  - Απορρίψτε τη σακούλα απόρριψης ρυγχών
  - Εγκαταστήστε κενή σακούλα απόρριψης ρυγχών
10. Ορίστε και φορτώστε τη (ις) βάση (εις) στήριξης της ανάλυσης. Η (οι) βάση (εις) στήριξης της ανάλυσης, σε προψυγμένο προσαρμογέα, φορτώνεται στην (ις) υποδοχή (ές) «Assay» (Ανάλυση). Περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τις θήκες της ανάλυσης, παρέχονται στο σχετικό Φύλλο Εφαρμογών στην ηλεκτρονική διεύθυνση [www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx).
11. Ελέγξτε τη θερμοκρασία των θέσεων ψύξης.  
Μόλις επιτευχθούν οι επιθυμητές θερμοκρασίες ψύξης, ο μικρός αστερίσκος δίπλα σε κάθε υποδοχή γίνεται πράσινος.
12. Συνδυάστε όλα τα σωληνάρια του HI Virus-1 RG Master A ενός μόνο κιτ εντός ενός σωληναρίου πριν από τη χρήση. Συνδυάστε όλα τα σωληνάρια του HI Virus-1 RG Master B ενός μόνο κιτ εντός ενός σωληναρίου πριν από τη χρήση.  
**Σημείωση:** Τα παχύρρευστα αντιδραστήρια ενδέχεται να είναι δύσκολα στον χειρισμό τους με χειροκίνητες πιπέτες. Βεβαιωθείτε ότι μεταφέρετε το σύνολο του όγκου του μείγματος Master στο σωληνάριο.
13. Γεμίστε κάθε σωληνάριο αντιδραστηρίου με τον απαιτούμενο όγκο αντιδραστηρίου σύμφωνα με τις πληροφορίες φόρτωσης που δίνονται από το λογισμικό του οργάνου.  
**Σημείωση:** Πριν από κάθε χρήση, όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να αποψύχονται εντελώς, να αναμιγνύονται (με επανειλημμένο πιπτετάρισμα πάνω και κάτω ή με γρήγορη περιδίνιση) και να φυγοκεντρώνονται για τουλάχιστον 3 δευτερόλεπτα σε 6800 x g. Αποφύγετε τη δημιουργία φουσαλίδων ή αφρού, που θα μπορούσαν να προκαλέσουν σφάλματα ανίχνευσης. Εργαστείτε γρήγορα και διατηρήστε τα συστατικά της PCR σε πάγο ή στο στοιχείο ψύξης πριν από τη φόρτωση.

14. Φορτώστε τις βάσεις στήριξης αντιδραστηρίων και τοποθετήστε τα σωληνάρια αντιδραστηρίων, χωρίς τα καλύμματά τους, στις κατάλληλες θέσεις προψυγμένων προσαρμογέων για αντιδραστήρια σύμφωνα με το αντίστοιχο Φύλλο Εφαρμογών.
15. Φορτώστε ρύγχη φίλτρου μίας χρήσης στα συρτάρια «Eluate and Reagents» (Παράγωγο έκλουσης και Αντιδραστήρια) και "Assays" (Αναλύσεις), σύμφωνα με τον απαιτούμενο αριθμό κάθε τύπου ρύγχους όπως υποδεικνύεται στο σχετικό Φύλλο Οδηγιών.
16. Κλείστε τα συρτάρια «Eluate and Reagents» (Παράγωγο έκλουσης και Αντιδραστήρια) και «Assays» (Αναλύσεις).
17. Με το κλείσιμο κάθε συρταριού, πιέστε «Scan» (Σάρωση) για την έναρξη της σάρωσης υλικών για κάθε συρτάρι.

Η σάρωση υλικών ελέγχει τις υποδοχές, τους προσαρμογείς, τα ρύγχη φίλτρου και τον αγωγό ρυγχών καθώς και τη σωστή φόρτωση συγκεκριμένων όγκων αντιδραστηρίων. Εάν απαιτείται, διορθώστε τυχόν σφάλματα.

Η ρύθμιση των παραμέτρων της ανάλυσης θα ξεκινήσει αυτόματα μετά την ολοκλήρωση του σταδίου καθαρισμού στο QIASymphony SP και τη μεταφορά των βάσεων στήριξης των παραγώγων έκλουσης στο QIASymphony AS.

18. Αφού ολοκληρωθεί η εκτέλεση δοκιμής, πιέστε «Remove» (Αφαίρεση) στην οθόνη ρύθμισης παραμέτρων ανάλυσης «Overview» (Επισκόπηση). Ανοίξτε το συρτάρι «Assays» (Αναλύσεις) και ξεφορτώστε τη (ις) βάση (εις) στήριξης της ανάλυσης.
19. Μεταφορτώστε το αποτέλεσμα και τα αρχεία του κυκλοποιητή.
20. Αν σε μια ολοκληρωμένη εκτέλεση δοκιμής διαμορφώνονται πολλαπλές παρτίδες στο QIASymphony AS, φορτώστε εκ νέου τα συρτάρια QIASymphony AS ξεκινώντας από το στάδιο 8.
21. Προχωρήστε στο «Protocol: RT-PCR on the Rotor-Gene Q», σελίδα 17.
22. Πραγματοποιήστε την τακτική συντήρηση του QIASymphony AS κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης δοκιμής PCR στο Rotor-Gene Q ή αργότερα.

Επειδή η ροή εργασιών είναι μια ολοκληρωμένη διεργασία, καθαρίστε όλα τα όργανα στο τέλος της πλήρους ροής εργασιών.

Ακολουθείστε τις οδηγίες συντήρησης στο *εγχειρίδιο χρήση του QIASymphony SP/AS — Γενική περιγραφή*. Βεβαιωθείτε ότι η συντήρηση πραγματοποιείται τακτικά για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου διασταυρούμενης μόλυνσης.



## Πρωτόκολλο: RT-PCR στο Rotor-Gene Q

### Σημαντικά σημεία πριν ξεκινήσετε

- Αφιερώστε χρόνο για να εξοικειωθείτε με το Rotor-Gene Q πριν προχωρήσετε στην εφαρμογή του πρωτοκόλλου. Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήσης του οργάνου.
- Για αυτόματη ερμηνεία των αποτελεσμάτων της PCR, αντί του λογισμικού Rotor-Gene Q μπορεί να χρησιμοποιηθεί το Rotor-Gene AssayManager.
- Βεβαιωθείτε ότι και τα 4 πρότυπα προσδιορισμού καθώς και ένα τουλάχιστο πρότυπο εσωτερικού ελέγχου (νερό, βαθμού PCR) περιλαμβάνονται ανά εκτέλεση δοκιμής PCR. Για την παραγωγή μιας πρότυπης καμπύλης, χρησιμοποιείτε και τα 4 πρότυπα προσδιορισμού (HI Virus-1 QS 1–4) για κάθε εκτέλεση δοκιμής PCR.

### Διαδικασία

1. Κλείστε τα σωληνάρια PCR και τοποθετήστε τα στον στρόφlea 72 φρεατίων του Rotor-Gene Q. Βεβαιωθείτε ότι τα σωληνάρια 4 ταινιών του Rotor-Gene Q μεταφέρονται με το σωστό προσανατολισμό, έτσι ώστε οι δείκτες θέσης του προσαρμογέα ψύξης να συνταιριάζουν με αυτούς του στρόφlea. Βεβαιωθείτε ότι ο δακτύλιος ασφάλισης (εξάρτημα του οργάνου Rotor-Gene Q) είναι τοποθετημένος στο επάνω μέρος του στρόφlea για αποτροπή τυχαίου ανοίγματος κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης.
2. Μεταφέρετε το αρχείο του κυκλοποιητή QIASymphony AS στον υπολογιστή του Rotor-Gene Q.
3. Για την ανίχνευση του HIV-1 RNA δημιουργήστε ένα προφίλ θερμοκρασιών και ξεκινήστε την εκτέλεση δοκιμής σύμφωνα με το σχετικό Φύλλο Ασφαλείας στην ηλεκτρονική διεύθυνση [www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx). Ειδικές για το λογισμικό πληροφορίες σχετικά με τον προγραμματισμό του Rotor-Gene Q παρέχονται στο σχετικό Φύλλο Πρωτοκόλλου «Settings to run *artus* QS-RGQ Kits» (Ρυθμίσεις για την εκτέλεση δοκιμών στα κιτ *artus* QS-RGQ) στην ηλεκτρονική διεύθυνση [www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx).

## Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Ανατρέξτε στο σχετικό Φύλλο Εφαρμογών στην ηλεκτρονική διεύθυνση [www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx) για λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

## Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων

Αυτός ο οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων μπορεί να σας βοηθήσει στην επίλυση οποιωνδήποτε προβλημάτων ενδεχομένως προκύψουν. Οι επιστήμονες των Τεχνικών Υπηρεσιών της QIAGEN είναι πάντοτε πρόθυμοι να απαντήσουν σε οιοσδήποτε απορίες σας σχετικά είτε με τις πληροφορίες και τα πρωτόκολλα του παρόντος εγχειριδίου είτε με τις τεχνολογίες δειγμάτων και προσδιορισμών (για στοιχεία επικοινωνίας, βλ. οπισθόφυλλο ή επισκεφθείτε τη διεύθυνση [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

### Σχόλια και προτάσεις

---

#### Γενικός χειρισμός

Μήνυμα σφάλματος στην οθόνη αφής

Εάν εμφανιστεί μήνυμα σφάλματος κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης ενός πρωτοκόλλου, ανατρέξτε στα εγχειρίδια χρήσης που σας παρέχονται με το όργανο.

#### Ίζημα στον περιέκτη αντιδραστηρίου ανοιγμένης φύσιγγας του kit QIAsymphony DSP Virus/Pathogen

α) Εξάτμιση ρυθμιστικού διαλύματος

Η υπερβολική εξάτμιση μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της συγκέντρωσης άλατος ή σε μείωση των συγκεντρώσεων αλκοόλης στα ρυθμιστικά διαλύματα. Απορρίψτε τη φύσιγγα αντιδραστηρίου (RC) Βεβαιωθείτε ότι σφραγίζετε τους περιέκτες ρυθμιστικών διαλυμάτων των μερικώς χρησιμοποιημένων φυσίγγων αντιδραστηρίων (RC) με επαναχρησιμοποιούμενες ταινίες σφράγισης, όταν δεν χρησιμοποιούνται για καθαρισμό.

## Σχόλια και προτάσεις

- β) Φύλαξη φύσιγγας αντιδραστηρίου (RC) Η φύλαξη της φύσιγγας αντιδραστηρίων (RC) σε θερμοκρασία μικρότερη των 15°C μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό ιζημάτων. Εάν είναι απαραίτητο, αφαιρέστε τους περιέκτες με τα ρυθμιστικά διαλύματα QSL2 και QSB1 από τη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) και επωάστε σε υδατόλουτρο\* στους 37°C για 30 λεπτά με περιστασιακή ανάδευση για τη διάλυση τυχόν ιζημάτων. Βεβαιωθείτε ότι επανατοποθετείτε τους περιέκτες στις σωστές θέσεις. Εάν η φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) έχει ήδη διατρηθεί, βεβαιωθείτε πως οι περιέκτες έχουν κλειστεί εκ νέου με επαναχρησιμοποιούμενες ταινίες σφράγισης και επωάστε ολόκληρη τη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) σε υδατόλουτρο\* στους 37°C για 30 λεπτά με περιστασιακή ανάδευση.

### Χαμηλές αποδόσεις νουκλεϊκών οξέων

- α) Τα μαγνητικά σωματίδια δεν ήταν πλήρως ανακατανεμημένα. Πριν από την έναρξη της διαδικασίας, βεβαιωθείτε ότι τα μαγνητικά σωματίδια είναι πλήρως ανακατανεμημένα. Αναδεύστε σε αναδευτήρα vortex για τουλάχιστον 3 λεπτά πριν από τη χρήση.
- β) Τα κατεψυγμένα δείγματα δεν αναμείχθηκαν σωστά μετά την απόψυξη Αποψύξτε τα κατεψυγμένα δείγματα με ήπια ανακίνηση ώστε να διασφαλιστεί η πλήρης ανάμειξη.
- γ) Δεν προστέθηκε φορέας RNA (CARRIER) Ανασυγκροτήστε τον φορέα RNA (CARRIER) στο ρυθμιστικό διάλυμα AVE (AVE) και αναμίξτε με τον κατάλληλο όγκο ρυθμιστικού διαλύματος AVE (AVE), όπως περιγράφεται στο σχετικό Φύλλο Εφαρμογών στην ηλεκτρονική διεύθυνση [www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx). Επαναλάβετε τη διαδικασία καθαρισμού με νέα δείγματα.
- δ) Νουκλεϊκά οξέα που υπέστησαν διάσπαση Εσφαλμένη φύλαξη των δειγμάτων ή υπέστησαν πάρα πολλούς κύκλους ψύξης-απόψυξης. Επαναλάβετε τη διαδικασία καθαρισμού με νέα δείγματα.

\* Βεβαιωθείτε ότι τα όργανα έχουν ελεγχθεί, συντηρηθεί και βαθμονομηθεί σε τακτική βάση σύμφωνα με τις συστάσεις του κατασκευαστή.

## Σχόλια και προτάσεις

---

- ε) Ατελής λύση δείγματος      Πριν από τη χρήση, ελέγξτε ότι τα ρυθμιστικά διαλύματα QSL2 και QSB1 δεν περιέχουν ιζήματα. Εάν είναι απαραίτητο, αφαιρέστε τους περιέκτες με τα ρυθμιστικά διαλύματα QSL1 και QSB1 από τη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) και επωάστε για 30 λεπτά στους 37°C με περιστασιακή ανάδευση για τη διάλυση τυχόν ιζημάτων. Εάν η φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) έχει ήδη διατηρηθεί, βεβαιωθείτε πως οι περιέκτες έχουν κλειστεί εκ νέου με επαναχρησιμοποιούμενες ταινίες σφράγισης και επωάστε ολόκληρη τη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) για 30 λεπτά στους 37°C με περιστασιακή ανάδευση σε λουτρό νερού.\*
- στ) Έμφραξη του ρύγχους της πιπέτας λόγω αδιάλυτων υλικών      Τα αδιάλυτα υλικά δεν αφαιρέθηκαν από το δείγμα πριν από την έναρξη της διαδικασίας καθαρισμού του QIASymphony. Για την αφαίρεση αδιάλυτων υλικών για ιικές εφαρμογές, φυγοκεντρίστε το δείγμα σε 3000 x g για 1 λεπτό και μεταφέρετε το υπερκείμενο σε ένα νέο σωληνάριο δείγματος.

\*Βεβαιωθείτε πως τα όργανα έχουν ελεγχθεί, συντηρηθεί και βαθμονομηθεί τακτικά σύμφωνα με τις συστάσεις του κατασκευαστή.

## Σχόλια και προτάσεις

---

### **Το QIAasymphony AS ανιχνεύει ανεπαρκές μείγμα Master**

Δεν έχει μεταφερθεί όλο το μείγμα Master στο σωληνάριο

Συνδυάστε όλα τα σωληνάρια του HI Virus-1 RG Master A ενός μόνο κιτ εντός ενός σωληναρίου πριν από τη χρήση. Συνδυάστε όλα τα σωληνάρια του HI Virus-1 RG Master B ενός μόνο κιτ εντός ενός σωληναρίου πριν από τη χρήση. Τα παχύρρευστα αντιδραστήρια ενδέχεται να είναι δύσκολα στον χειρισμό τους με χειροκίνητες πιπέτες. Βεβαιωθείτε ότι μεταφέρετε το σύνολο του όγκου του μείγματος Master στο σωληνάριο.

Για ιξώδη αντιδραστήρια, συνιστούμε την αναρρόφηση ενός πρόσθετου όγκου 5% κατά τη χρήση χειροκίνητων πιπετών (π.χ. ρυθμίστε τη πιπέτα στα 840 μl για έναν όγκο 800 μl).

Εναλλακτικά, μετά την αργή διανομή του υγρού και το άδειασμα της πιπέτας στα τοιχώματα του σωληναρίου-στόχου, αφαιρέστε το ρύγχος από το υγρό, απελευθερώστε το έμβολο της πιπέτας και περιμένετε για άλλα 10 δευτερόλεπτα. Το υγρό που έχει απομείνει θα ρέει προς το κάτω μέρος του ρύγχους και μπορεί να αδειάσει με πάτημα του εμβόλου της πιπέτας για δεύτερη φορά. Η χρήση ρυγχών φίλτρου βαθμού PCR με την επισήμανση «low retention» (χαμηλής κατακράτησης) μπορεί να βελτιώσει την ανάκτηση του υγρού.

### **Απουσία σήματος με θετικά εσωτερικά πρότυπα εσωτερικού ελέγχου (HI Virus-1 RG QS 1–4) στο κανάλι φθορισμού Cycling Green**

α) Το επιλεγμένο κανάλι φθορισμού για ανάλυση δεδομένων PCR δεν συμμορφώνεται με το πρωτόκολλο

Για ανάλυση δεδομένων επιλέξτε το κανάλι φθορισμού Cycling Green για την ανάλυση HI Virus-1 RT-PCR και το κανάλι φθορισμού Cycling Orange για το πρότυπο εσωτερικού ελέγχου PCR.

β) Λανθασμένος προγραμματισμός του προφίλ θερμοκρασιών στο όργανο Rotor-Gene

Συγκρίνετε το προφίλ θερμοκρασιών με το πρωτόκολλο. Ανατρέξτε στο σχετικό Φύλλο Εφαρμογών και το Φύλλο Πρωτοκόλλου στην ηλεκτρονική διεύθυνση [www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx).

## Σχόλια και προτάσεις

---

- γ) Λανθασμένη ρύθμιση παραμέτρων της PCR  
Βεβαιωθείτε ότι η ρύθμιση των παραμέτρων της ανάλυσης πραγματοποιήθηκε σωστά και ότι χρησιμοποιήθηκε το σωστό σεντ παραμέτρων ανάλυσης. Επαναλάβετε την PCR, εάν είναι απαραίτητο. Ανατρέξτε στο σχετικό Φύλλο Εφαρμογών στην ηλεκτρονική διεύθυνση [www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx).
- δ) Οι συνθήκες φύλαξης για ένα ή περισσότερα από τα περιεχόμενα του κιτ δεν συμμορφώνονται με τις οδηγίες που περιλαμβάνονται στο «Reagent Storage and Handling» (σελίδα 9)  
Ελέγξτε τις συνθήκες φύλαξης και την ημερομηνία λήξης (ανατρέξτε στην ετικέτα του κιτ) των αντιδραστηρίων και χρησιμοποιήστε ένα καινούριο κιτ, αν χρειαστεί.
- ε) Το κιτ *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR έχει λήξει  
Ελέγξτε τις συνθήκες φύλαξης και την ημερομηνία λήξης (ανατρέξτε στην ετικέτα του κιτ) των αντιδραστηρίων και χρησιμοποιήστε ένα καινούριο κιτ, αν χρειαστεί.

**Ασθενές σήμα ή απουσία σήματος του εσωτερικού προτύπου ελέγχου ενός αρνητικού δείγματος πλάσματος που υπέστη καθαρισμό με χρήση του κιτ QIASymphony DSP Virus/Pathogen στο κανάλι φθορισμού Cycling Orange και ταυτόχρονη απουσία σήματος στο κανάλι Cycling Green**

- α) Οι συνθήκες PCR δεν συμμορφώνονται με το πρωτόκολλο  
Ελέγξτε τις συνθήκες PCR (βλ. παραπάνω) και επαναλάβετε την PCR με διορθωμένες ρυθμίσεις, εάν είναι απαραίτητο.
- β) Η PCR ανεστάλη  
Βεβαιωθείτε πως χρησιμοποιείτε την επικυρωμένη μέθοδο απομόνωσης (βλ. «Protocol: RNA isolation and assay setup on the QIASymphony SP/AS», σελίδα 12) και ακολουθήστε προσεκτικά τις οδηγίες.

## Σχόλια και προτάσεις

---

- γ) Υπήρξε απώλεια RNA κατά την εκχύλιση
- Η απουσία σήματος του εσωτερικού προτύπου ελέγχου μπορεί να υποδεικνύει απώλεια του RNA κατά την εκχύλιση. Βεβαιωθείτε πως χρησιμοποιείτε την επικυρωμένη μέθοδο απομόνωσης (βλ. «Protocol: RNA isolation and assay setup on the QIA Symphony SP/AS», σελίδα 12) και ακολουθήστε προσεκτικά τις οδηγίες.
- Βλ. επίσης «Χαμηλές αποδόσεις νουκλεϊκών οξέων», παραπάνω.
- δ) Οι συνθήκες φύλαξης για ένα ή περισσότερα από τα περιεχόμενα του κιτ δεν συμμορφώνονται με τις οδηγίες που περιλαμβάνονται στο «Reagent Storage and Handling» (σελίδα 9)
- Ελέγξτε τις συνθήκες φύλαξης και την ημερομηνία λήξης (ανατρέξτε στην ετικέτα του κιτ) των αντιδραστηρίων και χρησιμοποιήστε ένα καινούριο κιτ, αν χρειαστεί.
- ε) Το κιτ *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR έχει λήξει
- Ελέγξτε τις συνθήκες φύλαξης και την ημερομηνία λήξης (ανατρέξτε στην ετικέτα του κιτ) των αντιδραστηρίων και χρησιμοποιήστε ένα καινούριο κιτ, αν χρειαστεί.

### Σήματα με τα αρνητικά εσωτερικά πρότυπα στο κανάλι φθορισμού Cycling Green της αναλυτικής PCR

- α) Προέκυψε επιμόλυνση κατά την προετοιμασία της PCR
- Επαναλάβετε την PCR με νέα αντιδραστήρια σε αντίγραφα.
- Εάν είναι δυνατό, κλείστε τα σωληνάρια PCR αμέσως μετά την προσθήκη του δείγματος που πρόκειται να υποβληθεί σε έλεγχο.
- Βεβαιωθείτε ότι ο χώρος εργασίας και τα όργανα απολυμαίνονται σε τακτά χρονικά διαστήματα.
- β) Παρουσιάστηκε επιμόλυνση κατά την εκχύλιση
- Επαναλάβετε την εκχύλιση και την PCR του δείγματος που πρόκειται να υποβληθεί σε έλεγχο, χρησιμοποιώντας νέα αντιδραστήρια
- Βεβαιωθείτε ότι ο χώρος εργασίας και τα όργανα απολυμαίνονται σε τακτά χρονικά διαστήματα.

## Ποιοτικός Έλεγχος

Σύμφωνα με το πιστοποιημένο με ISO Σύστημα Διαχείρισης Ποιότητας της QIAGEN, κάθε παρτίδα του kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ ελέγχεται ως προς τις προκαθορισμένες προδιαγραφές για τη διασφάλιση της σταθερής ποιότητας των προϊόντων.

## Περιορισμοί

Η χρήση όλων των αντιδραστηρίων επιτρέπεται αποκλειστικά για *in vitro* διαγνωστικούς σκοπούς.

Το εν λόγω προϊόν πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο από ειδικά καταρτισμένο και εκπαιδευμένο προσωπικό στις *in vitro* διαγνωστικές διαδικασίες.

Για βέλτιστα αποτελέσματα PCR, απαιτείται αυστηρή συμμόρφωση με το εγχειρίδιο χρήσης.

Επιστάται η προσοχή στις ημερομηνίες λήξης που αναγράφονται στα κουτιά και τις ετικέτες όλων των συστατικών. Μη χρησιμοποιείτε τα συστατικά μετά την ημερομηνία λήξης τους.

Αν και σπάνιες, οι μεταλλάξεις εντός των εξαιρετικά συντηρημένων περιοχών του ιικού γονιδιώματος που καλύπτονται από τους εκκινητές ή/και τον ανιχνευτή του kit, μπορούν να οδηγήσουν σε υποπροσδιορισμό ή αδυναμία ανίχνευσης της παρουσίας του ιού σε αυτές τις περιπτώσεις. Η εγκυρότητα και η απόδοση της σχεδίασης της ανάλυσης αναθεωρούνται ανά τακτά διαστήματα.

## Χαρακτηριστικά Απόδοσης

Για τα χαρακτηριστικά απόδοσης του kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ βλ. [www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx).

## Παραπομπές

1. McCutchan, F.E. (2006) Global epidemiology of HIV. *J. Med. Virol.* **78** Suppl 1, S7.
2. Nikolopoulos, G., Tsiodras, S., Bonovas, S., and Hatzakis, A. (2012) Antiretrovirals for HIV exposure prophylaxis. *Curr. Med. Chem.* **19**, 5924.
3. Perrin, L., Kaiser, L., and Yerly, S. (2003) Travel and the spread of HIV-1 genetic variants. *Lancet Infect. Dis.* **3**, 22.
4. Roques, P. et al. (2004) Phylogenetic characteristics of three new HIV-1 N strains and implications for the origin of group N. *AIDS* **18**, 1371.



## Σύμβολα



Περιέχει επαρκή αντιδραστήρια για <N> αντιδράσεις



Ημερομηνία λήξης



In vitro διαγνωστική ιατροτεχνολογική συσκευή



Αριθμός καταλόγου



Αριθμός παρτίδας



Αριθμός υλικού



Συστατικά



Περιέχει



Αριθμός



Διεθνής Κωδικός Μονάδας Εμπορίας



Περιορισμός θερμοκρασίας



Κατασκευαστής



Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης



Προσοχή

## Στοιχεία επικοινωνίας

Για τεχνική βοήθεια και περισσότερες πληροφορίες, παρακαλούμε επισκεφθείτε το Technical Support Center (Κέντρο Τεχνικής Υποστήριξης) της εταιρείας μας στην ιστοσελίδα [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support), καλέστε το 00800-22-44-6000 ή επικοινωνήστε με τα Τμήματα Τεχνικής Εξυπηρέτησης ή τους

τοπικούς διανομείς της QIAGEN (δείτε το οπισθόφυλλο ή επισκεφθείτε την ιστοσελίδα [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Πληροφορίες παραγγελίας

Προϊόν	Περιεχόμενα	Αριθ. κατ.
Κιτ <i>artus</i> HI Virus-1 QS-RGQ (24)	Για 24 αντιδράσεις: 2 μείγματα Masters, 4 πρότυπα προσδιορισμού, νερό (βαθμού PCR)	4513363
Κιτ <i>artus</i> HI Virus-1 QS-RGQ (72)	Για 72 αντιδράσεις: 2 μείγματα Masters, 4 πρότυπα προσδιορισμού, νερό (βαθμού PCR)	4513366
<b>Σύστημα QIASymphony RGQ</b>		
Σύστημα QIASymphony RGQ	QIASymphony SP, QIASymphony AS, Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM, απαιτούμενα εξαρτήματα και αναλώσιμα, εγκατάσταση και εκπαίδευση	9001850

Για τις τρέχουσες πληροφορίες άδειας χρήσης και αποποιήσεις ευθυνών που αφορούν συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στο αντίστοιχο εγχειρίδιο κιτ ή εγχειρίδιο χρήσης της QIAGEN. Τα εγχειρίδια κιτ και τα εγχειρίδια χρήσης της QIAGEN διατίθενται στη διεύθυνση [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ή μπορείτε να τα ζητήσετε από τις Τεχνικές Υπηρεσίες της QIAGEN ή τον τοπικό σας διανομέα.

Αυτή η σελίδα έχει παραμείνει σκοπίμως κενή.

Αυτή η σελίδα έχει παραμείνει σκοπίμως κενή.

Αυτή η σελίδα έχει παραμείνει σκοπίμως κενή.

Η αγορά του εν λόγω προϊόντος επιτρέπει στον αγοραστή να τη χρησιμοποιήσει για την πραγματοποίηση διαγνωστικών υπηρεσιών για τη διάγνωση in vitro σε ανθρώπους. Δια του παρόντος, δεν χορηγείται κανένα δίπλωμα ευρεσιτεχνίας ή άλλη άδεια οποιουδήποτε τύπου εκτός από το εν λόγω ειδικό δικαίωμα από την αγορά.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

Το kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ είναι ένα διαγνωστικό kit με σήμανση CE σύμφωνα με την Οδηγία 98/79/EK για τα ιατροτεχνολογικά βοηθήματα που χρησιμοποιούνται στη διάγνωση in vitro. Μη διαθέσιμο σε όλες τις χώρες.

#### **Άδεια Περιορισμένης Χρήσης για το kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ**

Η χρήση αυτού του προϊόντος ισοδυναμεί με την αποδοχή από πλευράς οποιουδήποτε αγοραστή ή χρήστη του προϊόντος των εξής όρων:

1. Το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποκλειστικά και μόνο όπως ορίζεται από τα πρωτόκολλα που παρέχονται με το εν λόγω προϊόν και από το εν λόγω εγχειρίδιο και για χρήση μόνο με τα συστατικά που περιέχονται στο kit. Η QIAGEN δεν παρέχει άδεια χρήσης υπό οποιαδήποτε πνευματική ιδιοκτησία της για τη χρήση ή ενσωμάτωση των παρεχόμενων συστατικών αυτού του kit σε οιαδήποτε συστατικά που δεν περιλαμβάνονται σε αυτό το kit, παρά μόνο όπως περιγράφεται στα πρωτόκολλα που παρέχονται μαζί με το προϊόν, σε αυτό το εγχειρίδιο και στα συμπληρωματικά πρωτόκολλα που διατίθενται στην ηλεκτρονική διεύθυνση [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Ορισμένα από αυτά τα συμπληρωματικά πρωτόκολλα παρέχονται από χρήστες της QIAGEN σε χρήστες της QIAGEN. Τα πρωτόκολλα αυτά δεν έχουν ελεγχθεί ενδελεχώς, ούτε βελτιστοποιηθεί από την QIAGEN. Η QIAGEN δεν εγγυάται για αυτά ούτε για το ότι δεν παραβιάζουν τα δικαιώματα τρίτων.
2. Εκτός από τις άδειες που αναφέρονται ρητά, η QIAGEN δεν εγγυάται ότι το παρόν kit ή/και η (οι) χρήση(εις) του δεν παραβιάζουν τα δικαιώματα τρίτων.
3. Το παρόν kit και τα συστατικά του παραχωρούνται με άδεια για μία μόνο χρήση και δεν επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση, η επανεπεξεργασία ή η μεταπώλησή τους.
4. Η QIAGEN αποποιείται ειδικά κάθε άλλη άδεια, ρητή ή σιωπηρή, εκτός από αυτές που αναφέρονται ρητά.
5. Ο αγοραστής και ο χρήστης του kit συμφωνούν να μην προβούν και να μην επιτρέψουν σε κανέναν να προβεί σε ενέργειες οι οποίες θα μπορούσαν να προκαλέσουν ή να διευκολύνουν ενέργειες που απαγορεύονται σύμφωνα με τα προαναφερθέντα. Η QIAGEN διατηρεί το δικαίωμα να επιβάλει τις απαγορεύσεις της παρούσας Άδειας Περιορισμένης Χρήσης σε οποιοδήποτε δικαστήριο και πρέπει να αποζημιωθεί για όλες τις δαπάνες ανάκρισης και δικαστηρίου, συμπεριλαμβανομένων των δικηγορικών αμοιβών, στο πλαίσιο οιασδήποτε ενέργειας για την επιβολή της παρούσας Άδειας Περιορισμένης Χρήσης ή οιασδήποτε εκ των δικαιωμάτων πνευματικής της ιδιοκτησίας σχετικά με το kit και/ή τα συστατικά του.

Για τους ενημερωμένους όρους της άδειας, ανατρέξτε στην ιστοσελίδα [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2010–2014 QIAGEN, με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

---

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

Australia ■ [techservice-au@qiagen.com](mailto:techservice-au@qiagen.com)

Austria ■ [techservice-at@qiagen.com](mailto:techservice-at@qiagen.com)

Belgium ■ [techservice-bnl@qiagen.com](mailto:techservice-bnl@qiagen.com)

Brazil ■ [suportetecnico.brasil@qiagen.com](mailto:suportetecnico.brasil@qiagen.com)

Canada ■ [techservice-ca@qiagen.com](mailto:techservice-ca@qiagen.com)

China ■ [techservice-cn@qiagen.com](mailto:techservice-cn@qiagen.com)

Denmark ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

Finland ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

France ■ [techservice-fr@qiagen.com](mailto:techservice-fr@qiagen.com)

Germany ■ [techservice-de@qiagen.com](mailto:techservice-de@qiagen.com)

Hong Kong ■ [techservice-hk@qiagen.com](mailto:techservice-hk@qiagen.com)

India ■ [techservice-india@qiagen.com](mailto:techservice-india@qiagen.com)

Ireland ■ [techservice-uk@qiagen.com](mailto:techservice-uk@qiagen.com)

Italy ■ [techservice-it@qiagen.com](mailto:techservice-it@qiagen.com)

Japan ■ [techservice-jp@qiagen.com](mailto:techservice-jp@qiagen.com)

Korea (South) ■ [techservice-kr@qiagen.com](mailto:techservice-kr@qiagen.com)

Luxembourg ■ [techservice-bnl@qiagen.com](mailto:techservice-bnl@qiagen.com)

Mexico ■ [techservice-mx@qiagen.com](mailto:techservice-mx@qiagen.com)

The Netherlands ■ [techservice-bnl@qiagen.com](mailto:techservice-bnl@qiagen.com)

Norway ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

Singapore ■ [techservice-sg@qiagen.com](mailto:techservice-sg@qiagen.com)

Sweden ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

Switzerland ■ [techservice-ch@qiagen.com](mailto:techservice-ch@qiagen.com)

UK ■ [techservice-uk@qiagen.com](mailto:techservice-uk@qiagen.com)

USA ■ [techservice-us@qiagen.com](mailto:techservice-us@qiagen.com)

