

QIASymphony® RGQ-tillämpningsblad

QIASymphony RGQ-tillämpning artus® HBV QS-RGQ-kit (provtyp: plasma)

IVD

CE
0197



Kontrollera om det finns nya elektroniska märkningsversioner på www.qiagen.com/products/artushbvprkitce.aspx innan ett test utförs. Nuvarande versionsstatus anges med utgivningsdatumet (format: månad/år).

Allmän information

Kit	artus HBV QS-RGQ-kit, version 1, REF 4506363, 4506366
Validerat provmaterial	Human EDTA-plasma
Frontrening	QIASymphony DSP virus/patogen midi-kit (kat.nr 937055)
Provolym (inklusive överskottsvolym)	1.200 µl
Analysparameteruppsättning	artus_HBV_plasma1000_V4
Förvald analyskontrolluppsättning	Cellfree1000_V6_DSP_artus_HBV
Elueringsvolym	60 µl
Nödvändig programversion	Version 4.0 eller senare
Masterblandningsvolym	30 µl
Templatvolym	20 µl
Antal reaktioner	7–24 eller 7–72*
Körtid på AS-modul	För 7 reaktioner: cirka 7 minuter För 72 reaktioner: cirka 35 minuter

* För analysinställningar för HBV kan maximalt 216 (3 x 72) analyser ställas in i en körning på QIASymphony AS.



Maj 2012

Sample & Assay Technologies

Material som behövs men inte medföljer

Reningskit	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (QIASymphony DSP virus/patogen midi-kit) (kat.nr 937055)
Adaptrar för QIASymphony SP	■	Elution Microtube Rack QS (Elueringsmikrorörställ QS) (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym [avkylningsadapter, EMT, v2, Qsym], kat.nr 9020730)
	■	Tube Insert 3B (Rörinsats 3B) (Insert, 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym [insats, 2,0 ml v2, provbärare (24), Qsym], kat.nr. 9242083)
Förbrukningsartiklar för QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges, 8-well (Provberedn.patroner, 8-brunnars) (kat.nr 997002)
	■	8-Rod Covers (8-stavsskydd) (kat.nr 997004)
	■	Filter-Tips, 1.500 µl (Filterspetsar, 1.500 µl) (kat.nr 997024)
	■	Filter-Tips, 200 µl (Filterspetsar, 200 µl) (kat.nr 990332)
	■	Elution Microtubes CL (Elueringsmikrorör CL) (kat.nr 19588)
	■	Tip disposal bags (Spetsavfallspåsar) (kat.nr 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H (Mikrorör 2,0 ml typ H) eller Micro tubes 2.0 ml Type I (Mikrorör 2,0 ml typ I) (Sarstedt, kat. nr 72.693 och 72.694, www.sarstedt.com) för användning med prover och interna kontroller
Adaptrar och reagenshållare för QIASymphony AS	■	Reagent holder 1 QS (Reagenshållare 1 QS) (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym [avkylningsadapter, reagenshållare 1, Qsym], kat.nr 9018090)
	■	Reagent holder 2 QS (Reagenshållare 2 QS) (Cooling Adapter, Reagent Holder 2, Qsym [avkylningsadapter, reagenshållare 2, Qsym], kat.nr 9018089)
	■	RG Strip Tubes 72 QS (RG-testremserör 72 QS) (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym [avkylningsadapter, RG-testremserör 72, Qsym], kat.nr 9018092)
Förbrukningsartiklar för QIASymphony AS	■	Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (Testremserör med lock, 0,1 ml) (kat.nr 981103)
	■	Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (Rör, koniska, 2 ml, Qsym AS) (kat.nr 997102)* eller Micro tubes 2.0 ml Type I (Mikrorör 2,0 ml, typ I) (Sarstedt, kat.nr 72.694.005)
	■	Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (Rör, koniskt, 5 ml, Qsym AS) (kat.nr 997104)* eller Tubes with flat base from PP (Rör med platt bas från PP) (Sarstedt, kat.nr 60.558.001)
	■	Reagent Bottles, 30 ml, Qsym AS (Reagensflaskor, 30 ml, Qsym AS) (kat.nr 997108)
	■	Elution Microtubes CL (Elueringsmikrorör CL) (kat.nr 19588)
	■	Filter-Tips, 1.500 µl (Filterspetsar, 1.500 µl) (kat.nr 997024)
	■	Filter-Tips, 200 µl (Filterspetsar, 200 µl) (kat.nr 990332)
	■	Filter-Tips, 50 µl (Filterspetsar, 50 µl) (kat.nr 997120)
	■	Tip disposal bags (Spetsavfallspåsar) (kat.nr 9013395)

* Kontrollera om produkten är tillgänglig.

Hantering och förvaring av prover

Provtagning	Blodprov 5–10 ml EDTA-blod 8x blandning upp och ner – ingen omrörning! Hepariniserade humana prover får inte användas.
Provförvaring	Separation: 20 minuters centrifugering, 800–1.600 x g inom 24 timmar efter provtagning Överför den isolerade plasman till ett sterilt polypropylenrör Analysens sensitivitet kan minska om du fryser proven som ett rutinförfarande eller förvarar dem under en längre tid. Virusinkapslat DNA är stabilt vid:* 4 °C dagar –20 °C veckor –70 °C månader
Provtransport	Splitterfri transport Sändning inom 24 timmar Sändning per post enligt rättsliga anvisningar för transport av patogenmaterial† Blodprover ska skickas kylda (2 till 8 °C)
Störande substanser	Heparin (≥10 IE/ml) påverkar PCR. Prover som samlats in i rör innehållande heparin som en antikoagulant eller prover från hepariniserade patienter får inte användas.
Provberedning	Undvik skumbildning i eller på proven. Prover ska få komma upp i rumstemperatur (15–25 °C) innan du startar körningen.

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

† International Air Transport Association (Internationellt samarbetsorgan för flygbolag) (IATA). Dangerous Goods Regulations (Föreskrifter om farligt gods).

Procedur

Beredning av bärar-RNA och tillsats av den interna kontrollen till proverna

QIAasymphony DSP-virus/patogen midi-kit i kombination med *artus* HBV QS-RGQ-kitet kräver att den interna kontrollen (HBV RG/TM IC) förs in i reningsförfarandet för att övervaka effektiviteten av provförberedelse och nedströmsanalys.

Interna kontroller måste tillsättas med en blandning av bärar-RNA (CARRIER)-AVE-buffert (AVE), och den totala volymen av blandningen av intern kontroll, bärar-RNA (CARRIER) och AVE-buffert (AVE) förblir 120 μ l.

Tabellen representerar tillsatsen av intern kontroll till isolatet i förhållandet 0,1 μ l per 1 μ l elueringsvolym. Vi rekommenderar att du preparerar färsk blandningar för varje körning precis innan användning.

Komponent	Volym (μ l) (Sarstedt®-rör)*	Volym (μ l) (BD™-rör)†
Stammar från bärare av RNA (CARRIER)	5	5
Intern kontroll‡	9	9
AVE-buffert	106	106
Slutlig volym per prov (exklusive dödvolum).	120	120
Total volym för n prover	(n x 120) + 360§	(n x 120) + 600¶

* Mikrorör 2,0 ml typ H och mikrorör 2,0 ml typ I, Sarstedt kat. nr 72.693 och 72.694.

† Polystyrenrör 14 ml, 17 x 100 mm med rund botten (Becton Dickinson, kat. nr 352051).

‡ Beräkningen av andelen intern kontroll bygger på de inledande elueringsvolymerna (90 μ l). Ytterligare tomvolym beror på vilken typ av provrör som används.

§ Intern kontroll-blandning motsvarande 3 ytterligare prover (dvs. 360 μ l) krävs. Fyll inte till mer än 1,92 ml total volym (motsvarande högst 13 prover. Dessa volymer är specifika för mikrorör 2,0 ml typ H och mikrorör 2,0 ml typ I, Sarstedt kat. nr 72.693 och 72.694).

¶ Intern kontroll-blandning motsvarande 5 ytterligare prover (dvs. 600 μ l) krävs. Fyll inte till mer än 13,92 ml total volym (motsvarande högst 111 prover. Dessa volymer är specifika för polystyrenrör 14 ml, 17 x 100 mm med rund botten, Becton Dickinson, kat. nr 352051).

QIASymphony SP-inställning

Lådan "Waste" (avfall)

Hållare för enhetslådor 1–4	Tomma enhetslådor
Avfallspåshållare	Avfallspåse
Hållare för flaska för flytande avfall	Töm och installera flaska för flytande avfall

Lådan "Eluate" (eluat)

Elueringsställ	Använd skåra 1, nedkylningsposition
Elueringsvolym*	Förvald elueringsvolym: 60 μ l Initial elueringsvolym: 90 μ l

* Elueringsvolymen är förvald för protokollet. Detta är den minsta volym som är tillgänglig av den eluerade substansen i det slutliga elueringsröret. Den första volym av elueringslösning som krävs för att förvissa sig om att den verkliga volymen av eluerad substans är densamma som den förvalda volymen.

Lådan "Reagents and Consumables" (reagens och förbrukningsmaterial)

RC-position 1 och 2	Ladda 1 reagenspatron (reagent cartridge, RC) för maximalt 48 prover eller två nya reagenspatroner (RC) med maximalt 96 prover.
Spetsställhållare, position 1–18	Ladda tillräckligt många engångsfilterspetsar, 200 μ l och 1.500 μ l (se "Nödvändiga plastartiklar för 1–4 provbatcher", sida 6)
Enhetslådbehållare, position 1-4	Ladda enhetslådor innehållande provberedningspatroner och 8-stavsskydd (se "Nödvändiga plastartiklar för 1–4 provbatcher", sida 6)

Lådan "Sample" (prov)

Provtyp	Plasma
Provvoly (inklusive överskottsvoly)	1.200 μ l
Provrör	Mikrorör 2,0 ml Typ H eller mikrorör 2,0 ml Typ I (Sarstedt, kat.nr. 72.693 och 72.694)
Insats	Rörinsats 3B (kat.nr 9242083)

Nödvändiga plastartiklar för 1–4 provbatcher

	En batch, 24 prover*	Två batcher, 48 prover*	Tre batcher, 72 prover*	Fyra batcher, 96 prover*
Engångsfilterspetsar, 200 μl^{†‡}	28	52	76	100
Engångsfilterspetsar, 1.500 μl^{†‡}	113	206	309	402
Provberedningspatroner[§]	21	42	54	72
8-stavsskydd[¶]	3	6	9	12

* Om du använder fler än ett rör med intern kontroll per batch och utför mer än en inventarieskanning, måste du ha fler engångsfilterspetsar.

† Det finns 32 filterspetsar/spetsställ.

‡ Antalet filterspetsar som krävs inbegriper filterspetsar för 1 inventarieskanning per reagenspatron.

§ Det finns 28 provberedningspatroner/enhetslåda.

¶ Det finns tolv 8-stavsskydd/enhetslåda.

QIASymphony AS-inställning

Förbrukningsartiklar

Under inställningen anges rätt positioner för varje förbrukningsprodukt på QIASymphony AS-modulen på instrumentets pekskärm.

Förbrukningsartiklar	Namn på pekskärm	För användning med adapter/reagenshållare
Testremserör med lock, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG-testremserör 72 QS
Rör, konformade, 2 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt‡	Reagenshållare 1 QS Reagenshållare 2 QS
Rör, konformat, 5 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt‡	Reagenshållare 1 QS Reagenshållare 2 QS
Reagensflaskor, 30 ml, Qsym AS (50)*	QIA#997108 *Bottle 30ml‡	Reagenshållare 2 QS
Elueringsmikrorör CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Elueringsmikrorörställ QS

* För masterblandningskomponenter, systempreparerad masterblandning, analysstandarder och analyskontroller.

† Alternativt kan Sarstedt-rören som beskrivs i "Material som behövs men inte medföljer", sida 2, användas.

‡ Suffixet "(m)" på pekskärmen betyder att beräknad vätskenivå för respektive provrör har optimerats för reagens som bildar en konkav menisk.

Adaptrar och reagenshållare

Ställ/reagenshållare	Namn	Antal som krävs [§]
Provställ	Elueringsmikrorörställ QS	1
Reagenshållare	Reagenshållare 1 QS	1
Analysställ	RG-testremserör 72 QS	1

[§] Beräknad för en analyskörning med 72 reaktioner.

Filterspetsar

Ladda spetsställ med start med spetskårorna 1, 2 och 3 i lådan "Eluate and Reagents" (eluat och reagenser) och ladda därefter spetsställ i spetskårorna 7, 8 och 9 i lådan "Assays" (analyser).

Förbrukningsartikel	Namn på pekskärm	Minsta antal för 24 reaktioner	Minsta antal för 72 reaktioner
Filterspetsar, 1.500 μ l (1024)	1.500 μ l	4	5
Filterspetsar, 200 μ l (1024)	200 μ l	9	8
Filterspetsar, 50 μ l (1024)	50 μ l	25	73
Spetsavfallspåsar	–	1	1

RT-PCR på Rotor-Gene Q

Se det programspecifika protokollbladet "Settings to run *artus* QS-RGQ Kits" (Inställningar för att köra *artus* QS-RGQ-kit) på www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.

Specifika inställningar för *artus* HBV QS-RGQ-kitet

Rotor-Gene AssayManager ställer automatiskt in parametrarna för *artus* HBV QS-RGQ-kitet.

Med Rotor-Gene-program 2.1 visas de specifika inställningarna nedan.

Reaktionsvolym (µL)	50
Uppehåll	Uppehållstemperatur: 95 grader Uppehållstid: 10 min.
Cykling	45 gånger 95 grader i 15 sek. 55 grader i 30 sek. 72 grader i 15 sek.
Inställning av automatisk förstärkningsoptimering (Auto-Gain Optimisation)	55 grader (Prover: grön; IC: gul)

Tolkning av resultat

I detta avsnitt beskrivs tolkningen av resultat på Rotor-Gene Q. Granska även provstatusinformationen från QIASymphony SP/AS-resultatfilerna för analys av det slutförda arbetsflödet prov-till-resultat. Använd endast prover med ett giltigt status.

Rotor-Gene AssayManager tolkar automatiskt PCR-resultaten och lämnar en slutsats och ett kvantitativt resultat.

I nedanstående avsnitt beskrivs tolkningen av resultat med Rotor-Gene-programmet 2.1 eller senare.

Signaldetektion och slutsatser

Signal i kanalen Cycling Green	Signal i kanalen Cycling Yellow	Kvantitativt resultat (IE/ml)	Tolkning
Ja	Ja	<10,22	Giltigt resultat: HBV-DNA detekterat, <31,6 kopior/ml Kvantifiering omöjlig eftersom det kvantitativa resultatet ligger under detektionsgränsen. Det positiva resultatets reproducerbarhet är inte säkerställt.
Ja	Ja	$\geq 10,22$ och <31,6	Giltigt resultat: HBV-DNA detekterat, <31,6 kopior/ml Kvantifiering omöjlig eftersom det kvantitativa resultatet ligger under analysens linjära intervall.
Ja	Ja	$\geq 31,6$ och $\leq 2 \times 10^7$	Giltigt resultat: HBV-DNA detekterat vid den beräknade koncentrationen Kvantitativt resultat ligger inom analysens linjära intervall.
Ja	Ja	$> 2 \times 10^7$	Giltigt resultat: HBV-DNA detekterat, $> 2 \times 10^7$ kopior/ml Kvantifiering omöjlig eftersom det kvantitativa resultatet ligger över analysens linjära intervall.*
Nej	Ja	–	Giltigt resultat: Inget HBV-DNA kan detekteras.†
Nej	Nej	–	Ogiltigt resultat: Det går inte att komma fram till några resultat.‡

* Om kvantifiering önskas, ska provet spädas på nytt med HBV-fri plasma och bearbetas igen. Multiplicera det kvantitativa resultatet från det ombearbetade provet med spädningsfaktorn.

† Om C_T -värdet för den interna kontrollen för ett negativt prov är mer än 3 cykler högre än C_T -värdet för den interna kontrollen för kontrollen utan templat i körningen ($C_{T\text{ IC-prov}} - C_{T\text{ IC NTC}} > 3$), så ska provet betraktas som ogiltigt. Det går inte att komma fram till något resultat.

‡ Information om fel och deras lösning återfinns i "Felsökningshandboken" i handboken till artus HBV QS-RGQ-kitet.

Tröskelinställning för PCR-analysen

Optimal tröskelinställning för en viss kombination av Rotor-Gene Q-instrument och *artus* QS-RGQ-kitet ska fastställas empiriskt genom testning av varje enskild kombination, då detta är ett relativt värde som beror på det övergripande diagnostiska arbetsflödet. Tröskeln kan ställas in på ett preliminärt värde av 0,04 för analysen av den första PCR-körningen, men detta värde ska finjusteras genom komparativ analys av följande körningar i arbetsflödet. Tröskeln ska ställas in manuellt strax över bakgrundssignalen från de negativa kontrollerna och negativa proverna. Det genomsnittliga tröskelvärde som beräknas genom dessa experiment kommer sannolikt att fungera för de flesta av de kommande körningarna, men användaren måste inte desto mindre granska det genererade tröskelvärdet regelbundet. Tröskelvärdet ligger oftast inom området 0,03–0,05 och ska rundas av till högst tre decimaler.

Kvantifiering

Kvantifieringsstandarderna (HBV RG/TM QS 1–5) i *artus* HBV QS-RGQ-kitet behandlas som tidigare renade prover och samma volym används (20 μ l). För att generera en standardkurva på Rotor-Gene Q-instrument ska alla 5 kvantifieringsstandarderna användas och definieras i dialogrutan "Edit Samples" (redigera prover) på Rotor-Gene Q-instrumentet som standarder med de specificerade koncentrationerna (se användarhandboken till instrumentet).

Obs! Kvantifieringsstandarderna definieras som IE/ μ l*. Nedanstående ekvation måste användas för att omvandla de fastställda värdena med hjälp av standardkurvan till IE/ml provmaterial.

$$\text{Resultat (IE/ml)} = \frac{\text{Resultat (IE/\mu l)} \times \text{inledande elueringsvolym (90 \mu l)^\dagger}}{\text{Provolym (ml)}}$$

Principiellt ska den inledande provvolymen skrivas in i ekvationen ovan. Tag hänsyn till detta när provvolymen har förändrats före extraheringen av nukleinsyra (till exempel reduktion av volymen genom centrifugering eller ökning av volymen genom att tillsätta den volym som krävs för isoleringen).

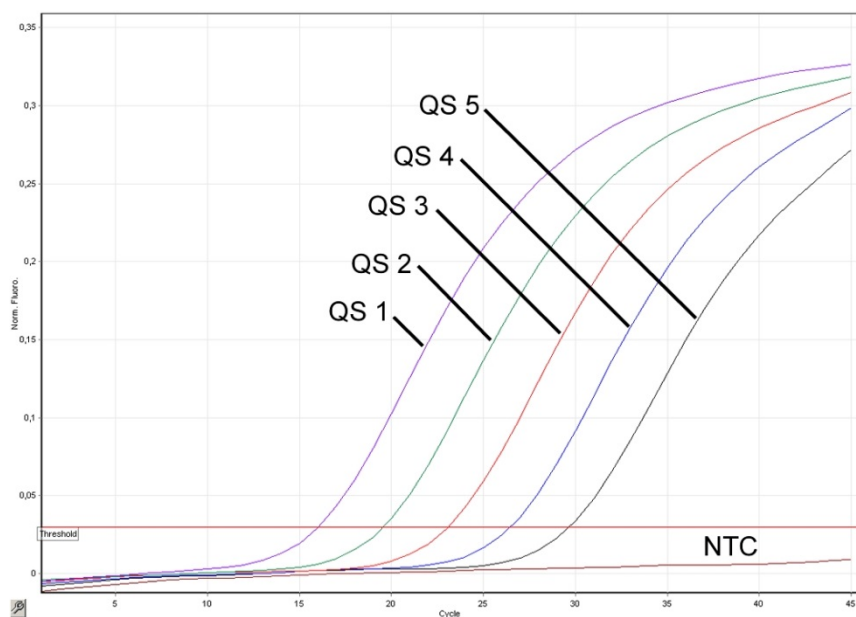
Omvandlingsfaktor

1 IE/ml motsvarar 8,21 kopior/ml för detektion av HBV-DNA på Rotor-Gene Q. Omvandlingsfaktorn är en approximering baserad på en medelfaktor över hela analysens dynamiska intervall.

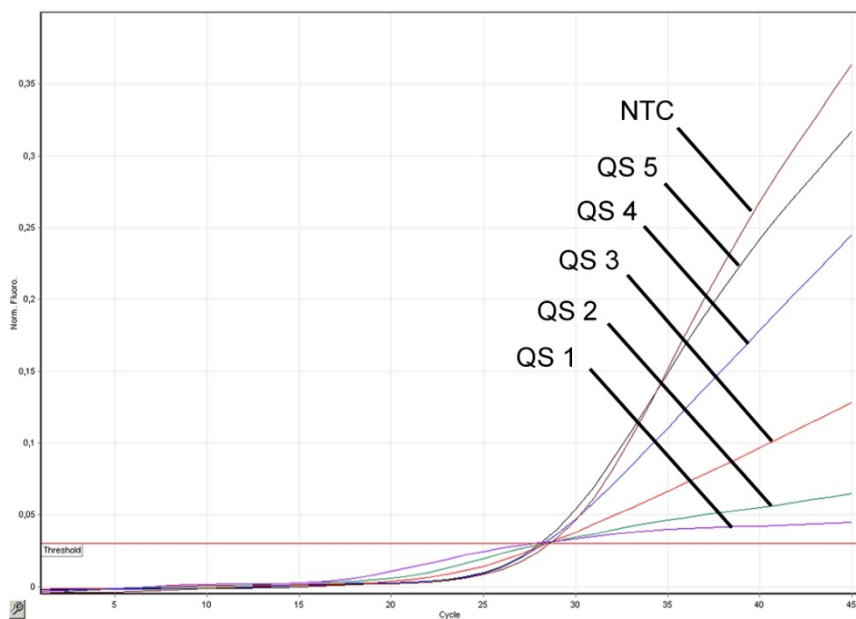
* Standarden har kalibrerats med användning av den internationella HBV-standard (WHO).

† Beräkningen är baserad på de inledande elueringsvolymerna (90 μ l).

Exempel på positiva och negativa PCR-reaktioner



Detektion av kvantifieringsstandarderna (HBV RG/TM QS 1–5) i fluorescenskanalen **Cycling Green**. NTC: Ingen templatkontroll (negativ kontroll).



Detektion av den interna kontrollen (IC) i fluorescenskanalen **Cycling Yellow** med samtidig amplifiering av kvantifieringsstandarderna (HBV RG/TM QS 1–5). NTC: Ingen templatkontroll (negativ kontroll).

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler: se respektive QIAGEN-kithandbok eller användarhandbok. QIAGEN-kithandböcker och användarhandböcker finns att tillgå på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN teknisk support eller från lokal återförsäljare.

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

© 2012 QIAGEN, med ensamrätt.

www.qiagen.com

Australia ■ 1-800-243-800	Canada ■ 800-572-9613	Ireland ■ 1800 555 049	Norway ■ 800-18859
Austria ■ 0800/281010	China ■ 021-3865-3865	Italy ■ 800-787980	Singapore ■ 65-67775366
Belgium ■ 0800-79612	Denmark ■ 80-885945	Japan ■ 03-6890-7300	Spain ■ 91-630-7050
Brazil ■ 0800-557779	Finland ■ 0800-914416	Korea (South) ■ 1544 7145	Sweden ■ 020-790282
	France ■ 01-60-920-930	Luxembourg ■ 8002 2076	Switzerland ■ 055-254-22-11
	Germany ■ 02103-29-12000	Mexico ■ 01-800-7742-639	UK ■ 01293-422-911
	Hong Kong ■ 800 933 965	The Netherlands ■ 0800 0229592	USA ■ 800-426-8157



Sample & Assay Technologies