

# QIASymphony® RGQ Applikationsark

## QIASymphony RGQ applikation artus® HI Virus-1 QS-RGQ-kit (prøvetype: plasma)

IVD

CE  
0197



Se efter nye elektroniske etiketteringsrevisioner på [www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx) før udførelse af testen. Den aktuelle revisionsstatus angives af udstedelsesdatoen (format: måned/år).

### Generel information

Kit	artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit, Version 1, <b>REF</b> 4513363, 4513366
Valideret prøvemateriale	Humant EDTA-plasma
Frontend-oprensning	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat. nr. 937055)
Prøvevolumen (inklusive overskydende volumen)	1.200 µl
Analyseparametersæt	artus_HIV plasma1000_V4
Standard analysekontrolsæt	Cellfree1000_V6_DSP artus HIV
Elueringsvolumen	60 µl
Påkrævet softwareversion	Version 4.0 eller højere
Master-blandingsvolumen	30 µl
Skabelon-volumen	20 µl
Antal reaktioner	6–24 eller 6–72*
Kørselstid på AS-modul	Til 6 reaktioner: Ca. 9 minutter Til 72 reaktioner: Ca. 35 minutter

\* Ved kørsel af flere analysekørsler skal man sikre sig, at grænsen på 72 reaktioner og 1 analyserack-adapter ikke overskrides. Undgå forlænget inkubationstid (>30 minutter) mellem gennemførelse af analysekørslen og overførsel til Rotor-Gene® Q.

Maj 2012



Sample & Assay Technologies

## Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt

Oprensningskit	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat. nr. 937055)
Adaptore til QIASymphony SP	■	Elution Microtube Rack QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym (Eluerings-mikrorørs-rack QS (køleadapter, EMT, v2, Qsym) kat. nr. 9020730)
	■	Tube Insert 3B (Rørindsats 3B) (indsats, 2,0 ml v2, prøveholder. (24), Qsym, kat. nr. 9242083)
Forbrugsartikler til QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges, 8-well (Prøveklarg. beholdere, 8-brønde) (kat. nr. 997002)
	■	8-Rod Covers (8-stavs dæksler) (kat. nr. 997004)
	■	Filter-Tips (Filterspidser), 1.500 µl (kat. nr. 997024)
	■	Filter-Tips (Filterspidser), 200 µl (kat. nr. 990332)
	■	Elution Microtubes CL (Eluerings-mikrorør CL) (kat. nr. 19588)
	■	Tip disposal bags (Kanyleposer) (kat. nr. 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H (Mikrorør 2,0 ml Type H) eller Micro tubes 2.0 ml Type I (Mikrorør 2,0 ml Type I) (Sarstedt, kat. nr. 72.693 og 72.694, <a href="http://www.sarstedt.com">www.sarstedt.com</a> ) til anvendelse med prøver og interne kontroller
Adaptore og reagensholdere til QIASymphony AS	■	Reagent holder 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym (Reagensholder 1 QS (køleadapter, reagensholder 1, Qsym) kat. nr. 9018090)
	■	Reagent holder 2 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 2, Qsym (Reagensholder 2 QS (køleadapter, reagensholder 2, Qsym) kat. nr. 9018089)
	■	RG Strip Tubes 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym (RG strip-rør 72 QS (køleadapter, RG strip-rør 72, Qsym) kat. nr. 9018092)
Forbrugsartikler til QIASymphony AS	■	Strip Tubes and Caps (Strip-rør og hætter, 0,1 ml) (kat. nr. 981103)
	■	Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (Rør, koniske, 2 ml, Qsym AS) (kat. nr. 997102)* eller Micro tubes 2.0 ml Type I (Mikrorør 2,0 ml Type I) (Sarstedt, kat. nr. 72.694.005)
	■	Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (Rør, koniske, 5 ml, Qsym AS) (kat. nr. 997104)* eller Tubes with flat base from PP (Rør med flad basis fra PP) (Sarstedt, kat. nr. 60.558.001)
	■	Reagent Bottles (Reagensglas), 30 ml, Qsym AS (kat. nr. 997108)
	■	Elution Microtubes CL (Eluerings-mikrorør CL) (kat. nr. 19588)
	■	Filter-Tips (Filterspidser), 1.500 µl (kat. nr. 997024)
	■	Filter-Tips (Filterspidser), 200 µl (kat. nr. 990332)
	■	Filter-Tips (Filterspidser), 50 µl (kat. nr. 997120)
	■	Tip disposal bags (Kanyleposer) (kat. nr. 9013395)

\* Spørg efter tilgængelighed.

## Prøvehåndtering og -opbevaring

Prøvetagning	Blodprøve 5–10 ml EDTA-blod 8x vippeblanding – ingen omrøring! Hepariniserede human prøver må ikke anvendes
Opbevaring af prøver	Separation: 20 minutters centrifugering, 800–1.600 x g inden for 24 timer efter prøvetagning Overfør det isolerede plasma til et sterilt polypropylenrør Virus-indkapslet RNA stabilt ved: * 4 °C dage –20 °C uger –70 °C måneder
Transport af prøver	Splintfri transport Forsendelse inden for 24 timer Send forsendelsen i henhold til de lovbefalede vejledninger i transport af patogen materiale † Blodprøver skal sendes på køl (2–8 °C)
Forstyrrende stoffer	Heparin ( $\geq 10$ IE/ml) påvirker PCR. Prøver, der er indsamlet i rør, der indeholder heparin som antikoagulant, eller prøver fra hepariniserede patienter må ikke anvendes. Forhøjede niveauer af albumin ( $\leq 6$ g/dl), bilirubin ( $\leq 30$ mg/dl), lipider ( $\leq 1$ g/dl triglycerid) og hæmolytiske prøver ( $\leq 2$ g/dl hæmoglobin) påvirker ikke systemet.

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

† International Air Transport Association (Den internationale lufttransport-sammenslutning) (IATA). Dangerous Goods Regulations (Regler vedrørende transport af farligt gods).

## Procedure

### Klargøring af bærer-RNA og tilsætning af den interne kontrol til prøverne

Brug af QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi-kits i kombination med *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-kit kræver tilsætning af den interne kontrol (HI Virus-1 RG IC) til oprensingsproceduren for at overvåge effektiviteten af prøveklargøringen og efterfølgende analyse.

Interne kontroller skal tilsættes ved bærer-RNA (CARRIER)–Buffer AVE (AVE)-blanding, og det samlede volumen af blandingen af intern kontrol og bærer-RNA (CARRIER)–Buffer AVE (AVE) forbliver 120  $\mu$ l.

Tabellen udgør tilsætning af intern kontrol til isolationen i et forhold på 0,1  $\mu$ l pr. 1  $\mu$ l elueringsvolumen. Vi anbefaler at klargøre friske blandinger for hver kørsel lige før brug.

Komponent	Volumen ( $\mu$ l) (Sarstedt®-rør)*	Volumen ( $\mu$ l) (BD™-rør)†
Stambærer-RNA (CARRIER)	5	5
Intern kontrol‡	9	9
Buffer AVE	106	106
<b>Endelig volumen pr. prøve (eksklusive dødvolumen)</b>	<b>120</b>	<b>120</b>
<b>Samlet volumen for n- prøver</b>	<b>(n x 120) + 360§</b>	<b>(n x 120) + 600¶</b>

\* Mikrorør 2,0 ml Type H og mikrorør 2,0 ml Type I, Sarstedt, kat. nr. 72.693 og 72.694.

† Rør 14 ml, 17 x 100 mm af polystyren med rund bund (Becton Dickinson, kat. nr. 352051).

‡ Beregningen af mængden af intern kontrol er baseret på de initiale elueringsvolumener (90  $\mu$ l). Ekstra tom-volumen afhænger af typen af den anvendte prøve.

§ Blanding af intern kontrol svarende til 3 ekstra prøver (dvs. 360  $\mu$ l) er påkrævet. Fyld ikke mere end 1,92 ml total volumen (svarende til maks. 13 prøver. Disse volumener gælder specifikt for mikrorør 2,0 ml Type H og mikrorør 2,0 ml Type I, Sarstedt, kat. nr. 72.693 og 72.694).

¶ Blanding af intern kontrol svarende til 5 ekstra prøver (dvs. 600  $\mu$ l) er påkrævet. Fyld ikke mere end 13,92 ml total volumen (svarende til maks. 111 prøver. Disse volumener gælder specifikt for rør 14 ml, 17 x 100 mm af polystyren med rund bund Becton Dickinson, kat.nr. 352051).

---

## Opsætning af QIASymphony SP

### Skuffen "Waste" (Affald)

Enhedsboksholder 1–4	Tomme enhedsbokse
Affaldsposeholder	Affaldspose
Holder til flaske til flydende affald	Tøm og indsæt flaske til flydende affald

### Skuffen "Eluate" (Eluat)

Elueringsrack	Vi anbefaler at anvende åbning 1, afkølingsposition
Elueringsvolumen*	Forvalgt elueringsvolumen: 60 $\mu$ l Initiel elueringsvolumen: 90 $\mu$ l

\* Elueringsvolumenet er forvalgt til 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 (RC) til op til 48 prøver eller 2 nye reagensbeholdere (RC) til op til 96 prøver
Spids-rackholder position 1–4	Indsæt tilstrækkelige racks med engangs-filterspidser, 200 $\mu$ l (se "Nødvendige plastartikler til 1–4 prøvebatches", side 6)
Spids-rackholder position 5–18	Indsæt tilstrækkelige racks med engangs-filterspidser, 1.500 $\mu$ l (se "Nødvendige plastartikler til 1–4 prøvebatches", side 6)
Enhedsboksholder plads 1–3	Indsæt 3 enhedsbokse med prøveklargøringsbeholdere
Enhedsboksholder plads 4	Indsæt 1 enhedsboks med 8-stavs dæksler

## Skuffen "Sample" (Prøve)

<b>Prøvetype</b>	Plasma
<b>Prøvevolumen (inklusive overskydende volumen)</b>	1.200 $\mu$ l
<b>Prøverør</b>	Mikrorør 2,0 ml Type H eller mikrorør 2,0 ml Type I (Sarstedt, kat. nr. 72.693 og 72.694)
<b>Indsats</b>	Rør-indsats 3B (kat. nr. 9242083)

## Nødvendige plastartikler til 1–4 prøvebatches

	<b>Et batch, 24 prøver<sup>†</sup></b>	<b>To batches, 48 prøver<sup>†</sup></b>	<b>Tre batches, 72 prøver<sup>†</sup></b>	<b>Fire batches, 96 prøver<sup>†</sup></b>
<b>Engangsfilterspidser, 200 <math>\mu</math>l<sup>‡§</sup></b>	28	52	76	100
<b>Engangsfilterspidser, 1.500 <math>\mu</math>l<sup>‡§</sup></b>	113	206	309	402
<b>Prøveklargøringsbeholdere<sup>¶</sup></b>	21	42	54	72
<b>8-stavs dæksler<sup>**</sup></b>	3	6	9	12

<sup>†</sup> Brug af mere end et rør med intern kontrol pr. batch og gennemførelse af mere end en indholdsscanning kræver ekstra engangsfilterspidser.

<sup>‡</sup> Der er 32 filterspidser/spidsrack.

<sup>§</sup> Antal nødvendige filterspidser indeholder filterspidser til 1 indholdsscanning pr. reagensbeholder.

<sup>¶</sup> Der er 28 prøveklargøringsbeholdere/enhedsboks.

<sup>\*\*</sup> Der er tolv 8-stavs dæksler/enhedsboks.

# Opsætning af QIASymphony AS

## Forbrugsartikler

Under opsætningen angives de tilhørende positioner for hver forbrugsartikel på QIASymphony AS-modulet på instrumentets berøringskærm.

Forbrugsartikler	Navn på berøringskærm	Til brug sammen med adapter/reagensholder
Strip-rør og hætter, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG strip-rør 72 QS
Rør, koniske, 2 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt‡	Reagensholder 1 QS Reagensholder 2 QS
Rør, konisk, 5 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt‡	Reagensholder 1 QS Reagensholder 2 QS
Reagensglas, 30 ml, Qsym AS (50)*	QIA#997108 *Bottle 30 ml‡	Reagensholder 2 QS
Eluerings-mikrorør CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Eluerings-mikrorørs-rack QS

\* Til master-blandingskomponenter, system-klargjort master-blanding, analysestandarder og analysekontroller.

† Alternativt kan der bruges Sarstedt-rør, beskrevet i "Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt", side 2.

‡ 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>
Prøve-rack	Eluerings-mikrorørs-rack QS	1
Reagensholdere	Reagensholder 1 QS	1
Analyse-racks	RG strip-rør 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
Filterspidser, 1.500 $\mu$ l (1024)	1.500 $\mu$ l	5	6
Filterspidser, 200 $\mu$ l (1024)	200 $\mu$ l	10	10
Filterspidser, 50 $\mu$ l (1024)	50 $\mu$ l	25	73
Kanyleposer	–	1	1

## RT-PCR på Rotor-Gene Q

Jf. det softwarespecifikke protokolark "Settings to run *artus* QS-RGQ Kits" ((Indstillinger til kørsel af *artus* QS-RGQ-kit) på [www.qiagen.com/products/artushivirusr-t-pcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushivirusr-t-pcrkitce.aspx).

### Specifikke indstillinger af *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-kit

Rotor-Gene AssayManager indstiller automatisk parametrene til *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-kit.

Med Rotor-Gene software 2.1 vises de specifikke indstillinger herunder.

<b>Reaktionsvolumen (<math>\mu</math>l)</b>	50
<b>Hold</b>	Holdetemperatur: 50 °C Holdetid: 30 min.
<b>Hold 2</b>	Holdetemperatur: 95 °C Holdetid: 15 min.
<b>Cyklusdrift</b>	50 gange 95 °C i 30 sek. 50 °C i 60 sek. 72 °C i 30 sek.
<b>Opsætning af Auto-Gain Optimisation</b>	50 °C (Prøver: Grøn; IC: Orange)



## Tolkning af resultater

Dette afsnit beskriver, hvordan resultaterne på Rotor-Gene Q skal tolkes. Se også på oplysningerne om prøvestatus fra QIA Symphony SP/AS-resultatfiler med henblik på analyse af den komplette arbejdsgang fra prøve til resultat. Der bør kun bruges prøver med en gyldig status.

Rotor-Gene AssayManager tolker automatisk PCR-resultater og giver en konklusion og et kvantitativt resultat.

Følgende afsnit beskriver tolkningen af Rotor-Gene software 2.1 eller senere.

### Signaldetektion og -konklusioner

Signal i kanalen Cycling Green	Signal i kanalen Cycling Orange	Kvantitativt resultat (IE/ml)	Tolkning
Ja	Ja	<76,4	Gyldigt resultat: HIV-1 RNA detekteret, <100 IE/ml Kvantitering ikke mulig, fordi det kvantitative resultat er under detektionsgrænsen. Reproducerbarheden for det positive resultat er ikke sikret.
Ja	Ja	≥76,4 og <100	Gyldigt resultat: HIV-1 RNA detekteret, <100 IE/ml Kvantitering ikke mulig, fordi det kvantitative resultat er under analysens lineære område.
Ja	Ja	≥100 og ≤1,00 x 10 <sup>8</sup>	Gyldigt resultat: HIV-1 RNA detekteret ved den beregnede koncentration Kvantitativt resultat er inden for analysens lineære område.
Ja	Ja	>1,00 x 10 <sup>8</sup>	Gyldigt resultat: HIV-1 RNA detekteret, >1,00 x 10 <sup>8</sup> Kvantitering ikke mulig, fordi det kvantitative resultat er over analysens lineære område.*
Nej	Ja	–	Gyldigt resultat: Intet HIV-1 RNA kan detekteres. <sup>†</sup>
Nej	Nej	–	Ugyldigt resultat: Der kan ikke udledes noget resultat. <sup>‡</sup>

\* Hvis kvantificering ønskes, skal prøven fortyndes med HIV-frit plasma og genbehandles. Det kvantitative resultat fra den genbehandlede prøve skal multipliceres med fortyndingsfaktoren.

<sup>†</sup> Men 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</sub> IC prøve – C<sub>T</sub> IC NTC > 3), så skal prøven behandles som ugyldig. Der kan ikke udledes noget resultat.

<sup>‡</sup> Oplysninger om fejlkilder og deres løsning kan findes i "Fejlfindingsvejledning" i artus HI Virus-1 QS-RGQ-kit-håndbogen.

---

## Indstilling af tærsklen for PCR-analysen

De optimale tærskelindstillinger for en given kombination af Rotor-Gene Q-instrumentet og *artus* QS-RGQ-kittet skal indstilles empirisk ved at teste hver individuel kombination, eftersom det er en relativ værdi, afhængigt af den generelle diagnostiske arbejdsgang. Tærsklen kan indstilles på en foreløbig 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. Middeltærskelværdien, der er beregnet ud fra disse eksperimenter, vil højst sandsynligt fungere for størstedelen af fremtidige kørsler, men brugeren skulle ikke desto mindre gennemse den genererede tærskelværdi med regelmæssige mellemrum. Tærskelværdien vil sædvanligvis være inden for området 0,03–0,05 og skal rundes op til højst tre decimalpladser.

## Kvantitering

Kvantiteringsstandarderne (HI Virus-1 RG QS 1–4) i *artus* HI Virus-1 QS-RGQ-kittet 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 er defineret som IE/µl.\* Følgende ligning skal anvendes for at konvertere værdierne, der er bestemt ved hjælp af standardkurven, til IE/ml af prøvematerialet:

$$\text{Resultat (IE/ml)} = \frac{\text{Resultat (IE/}\mu\text{l)} \times \text{Initielt elueringsvolumen (90 }\mu\text{l)}^\dagger}{\text{Prøvevolumen (ml)}}$$

Principielt skal det initiale prøvevolumen indsættes i ligningen ovenfor. Dette skal der tages hensyn til, når prøvevolumenet er blevet ændret før nucleinsyreekstraktionen (f.eks. ved at reducere volumen ved centrifugering eller ved at øge volumen ved at øge det volumen, der kræves til isoleringen).

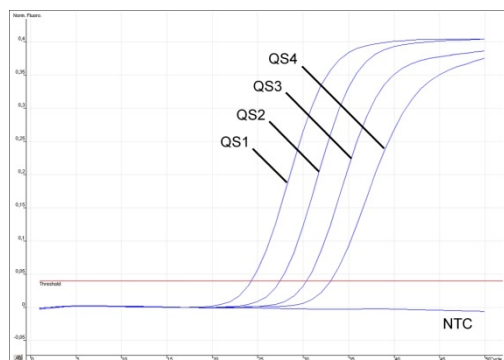
## Omregningsfaktor

1 IE/ml svarer til 0,45 kopier/ml til detektering af HIV-1 RNA på Rotor-Gene Q. Omregningsfaktoren blev fastlagt ved en regressionsanalyse af flere fortyndingsserier i forhold til en referencemetode, der rapporterer i kopier/ml.

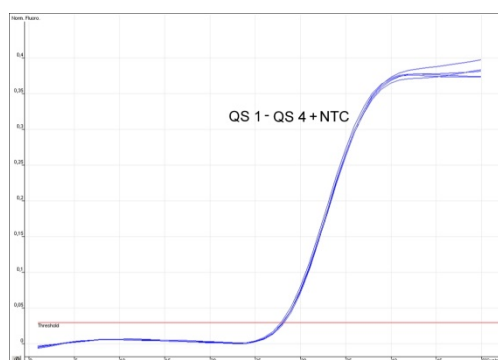
\* Standarden er blevet kalibreret ved hjælp af den internationale HIV-standard (WHO).

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

## Eksempler på positive og negative PCR-reaktioner



**Detektion af kvantiteringsstandarderne (HI Virus-1 RG QS 1–4) i fluorescenskanalen Cycling Green. NTC:** Ingen skabelonkontrol (negativ kontrol).



**Detektion af den interne kontrol (IC) i fluorescenskanalen Cycling Orange med samtidig amplifikation af kvantiteringsstandarderne (HI Virus-1 RG QS 1–4). NTC:** Ingen skabelonkontrol (negativ kontrol).

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

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

© 2012 QIAGEN. Alle rettigheder forbeholdes.

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