

Aplikační list QIASymphony® RGQ

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

IVD

CE
0197



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

Všeobecné informace

Sada	Sada <i>artus</i> HBV QS-RGQ, verze 1, REF 4506363, 4506366
Validovaný materiál vzorku	Lidská plazma s EDTA
Čištění na předním konci	Midisada QIASymphony DSP Virus/Pathogen (kat. č. 937055)
Objem vzorku (včetně nadbytečného objemu)	1.200 µl
Sada parametrů	artus_HBV_plasma1000_V4
Výchozí množina analytických kontrol	Cellfree1000_V6_DSP_artus_HBV
Eluční objem	60 µl
Vyžadovaná verze softwaru	Verze 4.0 nebo vyšší
Objem master mixu	30 µl
Objem templátu	20 µl
Počet reakcí	7–24 nebo 7–72*
Doba chodu na modulu AS	Pro 7 reakcí přibližně 7 minut Pro 72 reakcí přibližně 35 minut

* U nastavení testu pro HBV lze nastavit až 216 (3 x 72) rozborů v jednom běhu na přístroji QIASymphony AS.

Květen 2012



Sample & Assay Technologies

Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky

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

* Prosím informujte se o dostupnosti.

Uchovávání a nakládání se vzorky

Sběr vzorků	Vzorek krve 5–10 ml krve s EDTA míchejte 8x otočením dnem vzhůru — bez protřepávání! Nesmí se používat heparinizované humánní vzorky
Skladování vzorků	Separace: 20 minut odstředování při 800–1.600 x g do 24 hodin po odběru Převedte izolovanou plazmu do sterilní polypropylénové zkumavky Citlivost testu může být narušena, pokud se vzorky zmrazují v důsledku rutinních činností nebo se uchovávají po delší dobu. Virová zapouzdřená DNA stabilní při:* 4°C dny –20°C týdny –70°C měsíce
Přeprava vzorků	Přeprava chránící před otřesy Přeprava do 24 hodin Poštovní přeprava podle právních pokynů pro přepravu patogenního materiálu† Krevní vzorky je zapotřebí přepravovat chlazené (2 až 8°C)
Látky narušující stanovení	Heparin (≥ 10 IU/ml) PCR nepříznivě ovlivňuje. Vzorky shromážděné ve zkumavkách obsahujících heparin jakožto antikoagulant nebo vzorky od heparinizovaných pacientů se používat nesmí.
Příprava vzorku	Zamezte vytvoření pěny na nebo ve vzorcích. Vzorky by měly být před začátkem protokolu ekvilibrovány na pokojovou teplotu (15–25°C).

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

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

Postup

Příprava RNA nosiče a přidavek interní kontroly ke vzorkům

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Nastavení QIASymphony SP

Zásuvka “Waste” (Odpad)

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

Zásuvka “Eluate” (Eluát)

Eluční stojánek	Použijte chladicí pozici, slot 1
Eluční objem*	Předvolený eluční objem: 60 μ l Výchozí eluční objem: 90 μ l

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

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

RC pozice 1 a 2	Vložte 1 zásobník s reagensy (RC) pro až 48 vzorků plazmy nebo 2 nové zásobníky s reagensy (RC) pro až 96 vzorků
Držák stojánků se špičkami pozice 1–18	Vložte dostatečné množství stojánků jednorázových špiček s filtrem, 200 μ l a 1.500 μ l (viz “Požadovaný plastový materiál pro 1–4 sady vzorků”, stránka 6)
Držák boxů s jednotkami pozice 1–4	Vložte jednotkové krabice obsahující zásobníky vzorových preparátů a 8tyčové kryty (viz “Požadovaný plastový materiál pro 1–4 sady vzorků”, stránka 6)

Zásuvka "Sample" (Vzorek)

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

Požadovaný plastový materiál pro 1–4 sady vzorků

	Jedna šarže, 24 vzorků*	Dvě šarže, 48 vzorků*	Tři sady, 72 vzorků*	Čtyři šarže, 96 vzorků*
Jednorázové špičky s filtrem, 200 µl ^{†‡}	28	52	76	100
Jednorázové špičky s filtrem, 1.500 µl ^{†‡}	113	206	309	402
Zásobníky pro přípravu vzorků [§]	21	42	54	72
8tyčové kryty [¶]	3	6	9	12

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

† Jeden stojánek na špičky obsahuje 32 špiček s filtrem.

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

§ Je tu 28 kazet s preparáty vzorku/jednotková krabice.

¶ Je tu dvanáct 8tyčových krytů/jednotková krabice.

Nastavení QIASymphony AS

Spotřební díly

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

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

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

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

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

Adaptéry a držáky na reagentie

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

[§] Vypočítáno pro rozbor se 72 reakcemi.

Špičky s filtrem

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

Spotřební materiál	Název na dotekové obrazovce	Minimální počet pro 24 reakcí	Minimální počet pro 72 reakcí
Špičky s filtrem, 1.500 µl (1024)	1.500 µl	4	5
Špičky s filtrem, 200 µl (1024)	200 µl	9	8
Špičky s filtrem, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Odpadní sáčky na špičky	–	1	1

RT-PCR na Rotor-Gene Q

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

Specifická nastavení pro sadu *artus* HBV QS-RGQ

Rotor-Gene AssayManager automaticky nastavuje parametry pro sadu *artus* HBV QS-RGQ.

Specifická nastavení softwaru Rotor-Gene 2.1 jsou uvedena níže.

Reakční objem (µl)	50
Držet	Teplota zdržení: 95 stupňů Doba zdržení: 10 minut
Cyklování	45krát 95 stupňů po 15 s 55 stupňů po 30 s 72 stupňů po 15 s
Nastavení optimalizace automatického zesílení	55 stupňů (Vzorky: zelená; interní kontrola: žlutá)

Interpretace výsledků

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

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

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

Detekce signálu a závěry

Signál v kanálu Cycling Green	Signál v kanálu Cycling Yellow	Kvantitativní výsledek (IU/ml)	Interpretace
Ano	Ano	<10,22	Platný výsledek: Detekovaná HBV DNA, <31,6 IU/ml Kvantifikace není možná, protože výsledek kvantifikace je pod lineárním rozsahem rozboru. Reprodukovatelnost pozitivního výsledku není zajištěna.
Ano	Ano	≥10,22 a <31,6	Platný výsledek: Detekovaná HBV DNA, <31,6 IU/ml Kvantifikace není možná, protože výsledek kvantifikace je pod lineárním rozsahem rozboru.
Ano	Ano	≥31,6 a ≤2 x 10 ⁷	Platný výsledek: Detekovaná HBV DNA při vypočítané koncentraci Kvantitativní výsledek je v lineárním rozmezí rozboru.
Ano	Ano	>2 x 10 ⁷	Platný výsledek: Detekovaná HBV DNA, >2 x 10 ⁷ IU/ml Kvantifikace není možná, protože výsledek kvantifikace je nad lineárním rozsahem rozboru.*
Ne	Ano	–	Platný výsledek: Není detekovatelná žádná HBV DNA.†
Ne	Ne	–	Neplatný výsledek: Není možné učinit závěr.‡

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

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

‡ Informace ohledně zdrojů chyb a jejich řešení lze nalézt v "Troubleshooting guide" (Řešení problémů) Příručky pro sadu artus HBV QS-RGQ.

Nastavení prahové hodnoty pro analýzu PCR

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

Kvantifikace

S kvantifikačními standardy (HBV RG/TM QS 1–5) dodávanými se sadou *artus* HBV QS-RGQ se zachází stejně jako s již izolovanými vzorky a přidávají se ve stejném objemu (20 µl). Standardní křivku na přístroji Rotor-Gene Q vytvoříte tak, že vložíte všech pět kvantifikačních standardů, definujete je v okně menu “Edit Samples” (Upravit vzorky) přístroje Rotor-Gene Q jako standardy a zadáte uvedené koncentrace (viz uživatelský manuál přístroje).

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

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

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

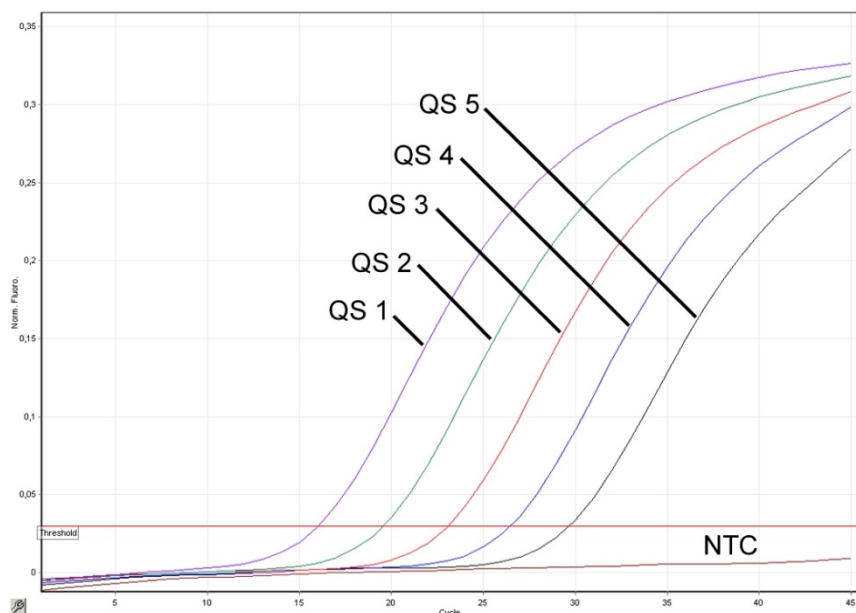
Konverzní faktor

1 IU/ml odpovídá 8,21 kopií/ml při detekci HBV DNA na Rotor-Gene Q. Konverzní faktor je aproximace založená na průměrném faktoru v celém dynamickém rozsahu rozboru.

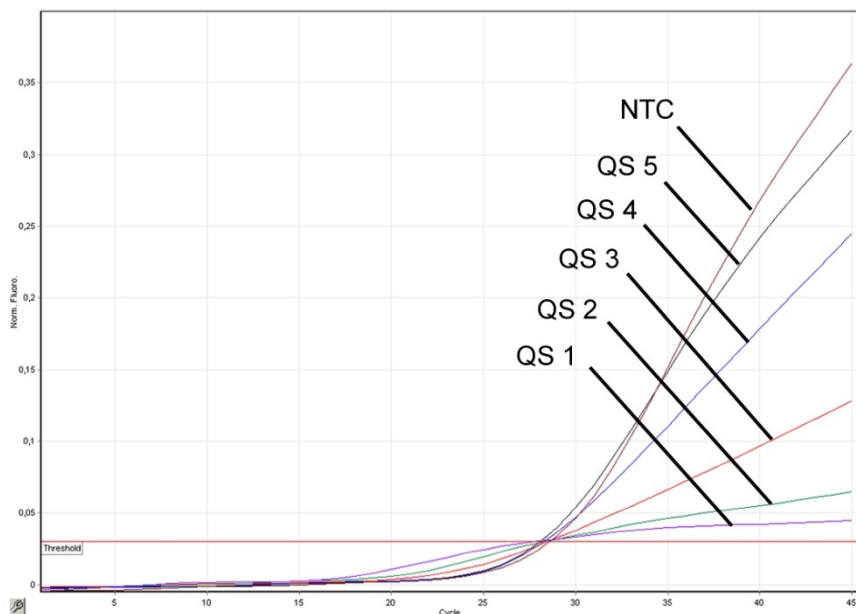
* Standard byl kalibrován pomocí Mezinárodního standardu HBV (WHO).

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

Příklady pozitivních a negativních reakcí PCR



Průkaz kvantifikačních standardů (HBV RG/TM QS 1–5) ve fluorescenčním kanálu Cycling Green. NTC: Beztemplátová kontrola (negativní kontrola).



Průkaz interní kontroly (IC) ve fluorescenčním kanálu Cycling Yellow při současné amplifikaci kvantifikačních standardů (HBV RG/TM QS 1–5). NTC: Beztemplátová kontrola (negativní kontrola).

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

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

© 2012 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

www.qiagen.com

Canada = 800-572-9613

Ireland = 1800 555 049

Norway = 800-18859

China = 021-3865-3865

Italy = 800-787980

Singapore = 65-67775366

Denmark = 80-885945

Japan = 03-6890-7300

Spain = 91-630-7050

Australia = 1-800-243-800

Finland = 0800-914416

Korea (South) = 1544 7145

Sweden = 020-790282

Austria = 0800/281010

France = 01-60-920-930

Luxembourg = 8002 2076

Switzerland = 055-254-22-11

Belgium = 0800-79612

Germany = 02103-29-12000

Mexico = 01-800-7742-639

UK = 01293-422-911

Brazil = 0800-557779

Hong Kong = 800 933 965

The Netherlands = 0800 0229592

USA = 800-426-8157



Sample & Assay Technologies