

Manual pentru kitul *artus*[®] HCV QS- RGQ



24 (nr. catalog 4518363)



72 (nr. catalog 4518366)

Editia 1



Diagnostic cantitativ in vitro

A se folosi impreuna cu instrumentele QIASymphony[®] SP/AS si Rotor-Gene[®] Q



REF 4518363, 4518366



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANIA

R6 **MAT** 1060924RO



QIAGEN Tehnologii de probe si testari

QIAGEN este principalul furnizor de tehnologii inovatoare in domeniul probelor si testarilor care permit izolarea si detectarea continutului oricarei mostre biologice. Produsele si serviciile noastre avansate si de mare calitate, asigura succesul de la proba la rezultat.

QIAGEN stabileste standarde cu privire la:

- Purificarea ADN-ului, ARN-ului si proteinelor
- Testari ce implica acizii nucleici si proteine
- Cercetarea micro-ARN si ARNi-interferent (RNAi)
- Automatizarea tehnologiilor de prelevare si testare

Misiunea noastra este sa va oferim posibilitatea de a obtine succese si progrese remarcabile. Pentru mai multe informatii vizitati site-ul www.qiagen.com.

Cuprins

Scopul utilizarii	4
Rezumat si explicatii	4
Informatii privind agentul patogen	5
Materiale furnizate	6
Continutul kitului	6
Materiale necesare neincluse in kit	7
Avertizari si precautii	7
Precautii generale	8
Depozitarea si manipularea reactivilor	8
Manipularea si depozitarea probelor	8
Procedura	9
Pornirea instrumentelor QIA Symphony SP/AS	9
Purificarea ARN-ului viral	9
Folosirea unui control intern si ARN purtator (CARRIER)	9
Seturi de teste de control si seturi parametri control	9
Randamentul acizilor nucleici	10
Depozitarea acizilor nucleici	10
Protocol: Izolare ARN si setare teste pe instrumentul QIA Symphony SP/AS11	
Protocol: RT-PCR (reactia de polimerizare in lant) pe instrumentul Rotor-Gene Q	16
Interpretare rezultate	17
Ghid de detectare si remediere	17
Control calitate	23
Limitari in utilizarea produsului	23
Caracteristici privind performanta	23
Referinte	24
Simboluri	24
Date de contact	25
Informatii privind efectuarea comenzilor	26

Scopul utilizarii

Kitul *artus* HCV QS-RGQ Kit este un test in vitro de amplificare a acidului nucleic pentru determinarea cantitatii de ARN al virusului hepatitei C (HCV) in plasma umana EDTA. Acest kit de testare pentru diagnostic utilizeaza transcrierea inversa a reactiei de polimerizare in lant (RT-PCR) si este configurat pentru a fi utilizat cu instrumentele QIA Symphony SP/AS si Rotor-Gene Q.

Kitul *artus* HCV QS RGQ Kit este destinat utilizarii impreuna cu tabloul clinic si alti markeri de laborator pentru prognosticul bolii si pentru utilizare ca ajutor in evaluarea raspunsului viral la tratamentul antiviral cum ar fi modificarea nivelurilor ARN HCV in plasma umana EDTA. Kitul *artus* HCV QS-RGQ Kit nu este destinat utilizarii ca un test de screening pentru virusul HCV sau ca test de diagnostic pentru confirmarea prezentei unei infectii cu HCV.



Pentru mai multe informatii privind probele biologice umane pentru care kitul a primit validare, consultati Fisele de Utilizare disponibile online la www.qiagen.com/products/artushcivrpgpckitce.aspx.

Deoarece QIAGEN monitorizeaza in mod continuu performanta testarilor si valideaza noi ipoteze, este necesar ca utilizatorii sa se asigure ca lucreaza cu ultima editie a instructiunilor de utilizare.



Verificati daca sunt disponibile versiunile electronice de etichetare la adresa www.qiagen.com/products/artushcivrpgpckitce.aspx inainte de efectuarea testarii.

Toate kiturile pot fi utilizate cu elementele de instructiuni respective atat timp cat numarul editiei manualului de utilizare si restul informatiilor de etichetare corespund cu numarul versiunii kitului. Numarul versiunii se regaseste pe eticheta cutiei kitului. QIAGEN asigura compatibilitatea intre toate kiturile de testare cu acelasi numar de versiune.

Rezumat si explicatii

Kitul *artus* HCV QS-RGQ constituie un sistem gata de utilizare pentru detectarea cantitatii de ARN-al virusului HCV prin utilizarea reactiei de polimerizare in lant (PCR) cu instrumentele Rotor-Gene Q si preparare proba si setare test prin utilizarea instrumentelor QIA Symphony SP/AS. Virusul hepatitei C RG Master A si B contine reactivi si enzime pentru amplificarea specifica a regiunii 240 bp a genomului HCV, si pentru detectarea directa a ampliconului specific in canalul de fluorescenta Cycling Green al Rotor-Gene Q.

De asemenea, Kitul HCV QS-RGQ contine o a doua amplificare heterologa pentru identificarea posibilei inhibari a reactiei de polimerizare in lant (PCR). Aceasta este detectata sub forma de control intern (IC) in canalul de fluorescenta Cycling Orange al Rotor-Gene Q. Limita de detectie a reactiei de polimerizare in lant (PCR) a virusului HCV nu este diminuata. Sunt furnizate

controale pozitive externe (HCV RG QS 1–4) ceea ce permite determinarea cantitatii de ARN viral. Pentru informatii suplimentare consultati Fisa de Utilizare corespunzatoare la www.qiagen.com/products/artushcvmrgpckitce.aspx.

Informatii privind agentul patogen

Hepatita C este o inflamare a ficatului provocata de virusul cu acelasi nume. Spre deosebire de alti virusi de hepatita A, B, D sau E, infectia cu virusul hepatitei C (HCV) conduce, de cele mai multe ori, la afectiuni hepatice cronice. O infectie cu HCV de multe ori nu are niciun simptom pentru o perioada lunga de timp. Din aceasta cauza marea majoritate a pacientilor nu sunt constienti de infectia cu HCV. Cu toate acestea, terapia este eficienta in stadii incipiente ale bolii. In prezent, interferonul α (in combinatie cu Ribavirin) este singurul tratament dovedit eficient. Totusi este cunoscut faptul ca doar anumiti pacienti cu hepatita C cronica raspund la tratamentul cu interferon. Prin urmare, in anumite circumstante, acest tratament costisitor pentru pacient poate fi nefavorabil si poate avea efecte adverse grave cum ar fi slabirea sistemului imunitar conducand la exacerbari (de ex: herpes bucal, zona zoster) (1–4).

Materiale furnizate

Continutul kitului

Kit <i>artus</i> HCV QS-RGQ	(24)	(72)
Nr. catalog	4518363	4518366
Numar de reactii	24	72
Albastru Virus Hep. C RG Master A	4 x 144 µl	8 x 144 µl
Violet Virus Hep. C RG Master B	4 x 216 µl	8 x 216 µl
Rosu Virus Hep. C RG QS 1* (10 ⁴ IU/µl) QS	200 µl	200 µl
Rosu Virus Hep. C RG QS 2* (10 ³ IU/µl) QS	200 µl	200 µl
Rosu Virus Hep. C RG QS 3* (10 ² IU/µl) QS	200 µl	200 µl
Rosu Virus Hep. C RG QS 4* (10 ¹ IU/µl) QS	200 µl	200 µl
Verde Virus Hep. C RG IC [†] IC	1000 µl	2 x 1000 µl
Alb Apa (tip PCR grade)	1000 µl	1000 µl
Manual de utilizare Kit <i>artus</i> HCV QS-RGQ (engleza)	1	1

* Standard de determinare a cantitatii.

† Control intern.

Materiale necesare neincluse in kit

La operarea cu substante chimice, purtati intotdeauna halat de protectie, manusi de unica folosinta si ochelari de protectie. Pentru informatii suplimentare, consultati Fisele de date de securitate (SDSs), oferite de furnizori.

- Pipete (ajustabile)*si varfuri de pipeta cu filtre
- Mixer vortex*
- Centrifuga de laborator* cu rotor pentru eprubete de reactie de 2 ml, capacitate de centrifugare 6800 x g

Pentru pregatire probe

- Instrument QIASymphony SP (cat. nr. 9001297)*
- Instrument QIASymphony AS (cat. nr. 9001301)*

Pentru reactia de polimerizare in lant (PCR)

- Instrument Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM*†
- Software pentru instrumentul Rotor-Gene Q versiunea 2.1, sau superioara
- Optional: Rotor-Gene AssayManager versiunea 1.0, sau superioara

Nota: Informatii suplimentare cu privire la materiale si utilizari specifice se regasesc in Fisele de Utilizare pe site-ul www.qiagen.com/products/artushcvcrgpcrkitce.aspx.

Avertizari si precautii

A se utiliza pentru diagnosticul in vitro

Cand lucrati cu substante chimice, purtati intotdeauna halat de laborator, manusi de unica folosinta si ochelari de protectie. Pentru informatii suplimentare, consultati fisele de date de securitate (SDSs). Acestea sunt disponibile online in format PDF, convenabil si compact, pe site-ul www.qiagen.com/safety unde puteti gasi, vizualiza si tipari fisele de date de securitate (SDS) pentru fiecare kit QIAGEN® si componente ale kitului.

Pentru informatii legate de siguranta cu privire la kitul de purificare utilizat, cititi manualul de utilizare al kitului. Pentru informatii de siguranta referitoare la instrumente, cititi manualul utilizatorului.

*Asigurati-va ca instrumentele au fost verificate si calibrate in conformitate cu recomandarile producatorului.

† Daca se aplica, instrumentul Rotor-Gene Q 5plex HRM cu o data de fabricatie in ianuarie 2010 sau mai tarziu. Data de fabricatie poate fi obtinuta din numarul de serie de pe spatele instrumentului. Numarul de serie este in format "l1aannn" unde "l1" reprezinta luna de fabricatie in cifre, "aa" reprezinta ultimele doua cifre ale anului de fabricatie si "nnn" reprezinta identificatorul unic al instrumentului.

Distrugeti deseurile probelor si testarilor conform reglementarilor de siguranta aplicate in centrul in care lucrati.

Precautii generale

Utilizatorul trebuie sa acorde atentie urmatoarelor:

- Sa utilizeze varfuri de pipeta sterile cu filtre.
- Pe durata operatiunilor manuale, sa pastreze eprubetele inchise atunci cand este posibil pentru a evita contaminarea.
- Sa dezghete complet toate componentele la temperatura camerei (15–25°C) inainte de a incepe o testare.
- La decongelare, sa amestece componentele (luand si turnand cu pipeta in mod repetat sau prin puls vortexing) si sa centrifugheze pentru scurt timp. Sa se asigure ca nu s-a format spuma sau bule in tuburile de reactivi.
- Sa nu amestece componente ale kiturilor cu numere de lot diferite.
- Sa se asigure ca adaptorii sunt pre-raciti la o temperatura intre 2–8°C.
- Sa lucreze rapid si sa mentina reactivii PCR la gheata sau in compartimentul de racire inainte de utilizare.
- Odata inceput fluxul de lucru, sa nu fie intrerupt, sa nu se faca pauze intre etapele acestuia. Nu depasiti 30 de minute de trecere de la un modul al altul (QIASymphony SP catre QIASymphony AS catre Rotor-Gene Q).

Depozitarea si manipularea reactivilor

Componentele kitului *artus* HCV QS-RGQ trebuie pastrate la o temperatura intre –15 si –30°C si sunt stabile pana la data expirarii specificata pe eticheta. Dezghetarea si reinghetarea repetata (>2 ori) trebuie evitata, deoarece poate afecta performanta testului.

Manipularea si depozitarea probelor

Informatii despre pastrarea si utilizarea specifica a probelor se regasesc in Fisele de utilizare relevante de pe site-ul www.qiagen.com/products/artushcvgpcrkitce.aspx.

Procedura

Pornirea instrumentelor QIASymphony SP/AS

Inchideti toate sertarele si hotele.

Porniti instrumentele QIASymphony SP/AS si asteptati pana apare fereastra "Sample Preparation" (Pregatire proba) si s-a incheiat procedura de initializare.

Logati-va la instrument (sertarele se vor debloca).

Purificarea ARN-ului viral

Kitul *artus* HCV QS-RGQ a fost validat pentru efectuarea unei etape de purificare a ARN-ului viral, efectuata cu ajutorul QIASymphony SP folosind un kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen. Studiat manualul de utilizare al kitului *QIASymphony DSP Virus/Pathogen* pentru informatii despre pregatirea cartusului de reactivi in vederea purificarii probei pe QIASymphony SP.

Folosirea unui control intern si ARN purtator (CARRIER)

Utilizarea kiturilor QIASymphony DSP Virus/Pathogen in combinatie cu kitul *artus* HCV QS-RGQ necesita introducerea unui control intern (Virus Hep. C RG IC) in procedura de purificare, in vederea monitorizarii eficientiei pregatirii probei si pentru buna desfasurare ulterioara. In plus, kiturile QIASymphony DSP Virus/Pathogen pot necesita prepararea de ARN purtator (CARRIER). Pentru informatii specifice cu privire la controlul intern si utilizarea de ARN purtator (CARRIER), consultati Fisa de utilizare specifica la www.qiagen.com/products/artushcvmrgpckitce.aspx.

Seturi de teste de control si seturi parametri control

Seturi de teste de control sunt combinatii intre un protocol si parametrii aditionali, cum ar fi un control intern, pentru purificarea probei cu ajutorul QIASymphony SP. Un set predefinit de testari de control este preinstalat pe fiecare protocol.

Seturile de parametri control sunt combinatii de testari cu parametrii aditionali definiti, cum ar fi un numar de replici si numar de teste standard , utilizate pentru setare teste pe instrumentul QIASymphony AS.

Pentru analizele integrate efectuate cu instrumentul QIASymphony SP/AS, setul de parametri de proba este direct legat de un set de teste de control care specifica procesul asociat de purificare a probei.

Randamentul acizilor nucleici

Eluatii preparati cu un ARN purtator (CARRIER) pot contine o cantitate mai mare de ARN purtator (CARRIER) decat acizii nucleici tinta. Recomandam utilizarea de metode de amplificare cantitativa pentru a determina randamentele.

Depozitarea acizilor nucleici

Pentru depozitarea pe termen scurt, pana la 24 de ore, recomandam depozitarea acizilor nucleici purificati la temperaturi intre 2–8°C. Pentru depozitare pe perioade de peste 24 de ore, recomandam depozitarea la –20°C.

Protocol: Izolare ARN si setare teste pe instrumentul QIASymphony SP/AS

Urmatoarea descriere este un protocol de utilizare a kiturilor QIASymphony DSP Virus/Pathogen. Informatiile detaliate de utilizare specifica, inclusiv despre volume si eprubete sunt furnizate in Fisa de Utilizare relevanta pe site-ul www.qiagen.com/products/artushcvrgpcrkitce.aspx.

Aspecte initiale importante

- Asigurati-va ca v-ati familiarizat cu metoda de operare a instrumentelor QIASymphony SP/AS. Cititi cea mai recenta editie a manualului de utilizare furnizat impreuna cu instrumentele disponibila online la www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx cu privire la instructiunile de operare.
- Inainte de utilizarea unui cartus de reactivi (RC) pentru prima data, verificati ca solutiile tampon QSL2 si QSB1 din cartus (RC) nu contin precipitat. Daca este necesar, indepartati cuvele care contin solutiile tampon QSL2 si QSB1 din cartusul de reactivi (RC) si incubati timp de 30 de minute la temperatura de 37°C agitand ocazional pentru a dizolva precipitatul. Asigurati-va ca replasati cuvele cu solutiile tampon in pozitia corecta. In cazul in care cartusul de reactivi (RC) este deja perforat, asigurati-va de sigilarea cuvelor cu benzi de resigare in vederea refolosirii si incubati intregul cartus de reactivi (RC) in baie de apa timp de 30 de minute la 37°C agitand ocazional.*
- Incercati sa nu agitati cu putere cartusul de reactivi (RC), altfel se poate forma spuma, care poate duce la probleme de detectare a nivelului de lichid.
- Lucrati rapid si pastrati reactivii PCR la gheata sau in compartimentul de racire inainte de incarcarea acestora in instrument.
- Volumele de reactivi sunt optimizate pentru un numar de 24 sau 72 de reactii per kit per derulare (cat. nr. 4518363 si 4518366).
- Inainte de fiecare utilizare, toti reactivii trebuie dezghetati complet, mixati (luand si turnand cu pipeta in mod repetat sau prin vortexing), si centrifugati timp de cel putin 3 secunde la 6800 x g. Evitati formarea de spuma.

*Asigurati-va ca instrumentele au fost verificate, ca s-au efectuat operatiunile de mentenanta si calibrare periodica, conform instructiunilor producatorului.

- Eluatii din prepararea probei si toate componentele kitului *artus* HCV QS-RGQ au fost verificate si sunt stabile la nivelul instrumentului cel putin pe durata normala necesara de purificare a probei pentru un numar de 96 de probe si pentru un complex de 72 de teste, inclusiv pe o perioada estimata de 30 de minute de transfer intre QIASymphony SP si QIASymphony AS si pentru o perioada estimata de 30 de minute de transfer intre QIASymphony AS si Rotor-Gene Q.

Etape preliminare inainte de operare

- Pregatiti toate amestecurile necesare. Daca este necesar, pregatiti amestecurile care contin ARN purtator (CARRIER) si controalele interne chiar inainte de a incepe. Pentru informatii suplimentare cititi Fisa de Utilizare pe site-ul www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.
- Inainte de demararea procedurii, asigurati-va ca particulele magnetice sunt complet resuspendate. Amestecati cu putere prin vortexing cuvele care contin particulele magnetice timp de cel putin 3 minute inainte de prima utilizare.
- Inainte de incarcarea cartusului de reactivi (RC), indepartati capacul cuvei care contine particulele magnetice si deschideti eprubetele care contin enzime. Asigurati-va ca stativul de eprubete cu enzime a fost adus la temperatura camerei (15–25°C).
- Verificati pozitia capacului de perforare (PL) pe cartusul de reactivi (RC) si faptul ca s-a indepartat capacul cuvei cu particule magnetice, sau, in cazul in care utilizati un cartus de reactivi (RC) partial folosit, asigurati-va ca ati indepartat banda de resigare in vederea refolosirii.
- In cazul in care probele sunt etichetate cu coduri de bare, orientati probele in suportul de eprubete in asa fel incat codurile de bare sa fie orientate catre cititorul de coduri de bare in sertarul de probe (“Sample”) in partea stanga a instrumentului QIASymphony SP.

Procedura

Purificarea ARN-ului viral cu ajutorul instrumentului QIASymphony SP

- 1. Inchideti toate sertarele si capacele instrumentelor QIASymphony SP/AS.**
- 2. Porniti instrumentele si asteptati aparitia ferestrei “Sample Preparation” (Pregatire Proba) si s-a finalizat procedura de initializare.**

Butonul de pornire este localizat in partea inferioara, in coltul din stanga al instrumentului QIASymphony SP.

- 3. Autenticati-va la instrumente.**

4. Pregatiti urmatoarele sertare conform Fisei de Utilizare relevante regasita pe site-ul www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

- Sertarul “Waste” (Deseuri) atunci cand este pregatit, efectuati o scanare de inventar.
- Sertarul “Eluate” (Eluati) atunci cand este pregatit, efectuati o scanare de inventar.
- Sertarul “Reagents and Consumables” (Reactivi si consumabile) atunci cand este pregatit, efectuati o scanare de inventar.
- Sertarul “Sample” (Proba)

5. Folosind optiunea “Integrated run” (Derulare integrata) de pe ecranul tactil al instrumentului QIASymphony, introduceti informatia solicitata pentru fiecare lot de probe care va fi procesat. Selectati un Assay Parameter Set (Test setare parametri probe) pentru derulare si alocati-l probelor impreuna cu lotul AS.

Informatii despre Assay Parameter Set si volumul de eludare preselectat sunt oferite in Fisa de Utilizare relevanta.

Pentru mai multe date despre rularile integrate pe instrumentul QIASymphony SP/AS, cititi manualele de utilizare ale instrumentului.

6. La setarea unei rulari integrate, verificati alocarea corecta a datelor de laborator ale probei, tipul probei (proba, EC+, si EC-) si volume.

Informatii cu privire la consumabile si componente care trebuie incarcate in fiecare sertar se regasesc in Fisa de Utilizare relevanta.

7. Dupa introducerea tuturor informatiilor despre loturile din derularea integrata, apasati butonul “Ok” pentru a iesi din fereastra de setare “Integrated run” (Derulare integrata). Statusul loturilor in fereastra de privire de ansamblu a rularii integrate se schimba din “LOADED” (Incarcate) in “QUEUED” (Aduagate in lista de asteptare). Imediat ce un lot este adaugat la lista de asteptare, apare butonul “Run” (Derulare) pentru a demara procedura.

Toti pasii de procesare sunt complet automatizati.

Incarcarea sertarelor pe QIASymphony AS pentru setare teste

8. Dupa adaugarea la lista de asteptare a unei rulari integrate deschideti sertarele instrumentului QIASymphony AS. Componentele care este necesar a fi incarcate vor fi afisate pe ecranul tactil.

9. Asigurati-va intotdeauna ca efectuati pasii de mai jos inainte de derularea integrata.

- Introduceti suportul varfului
- Aruncati punga pentru varfuri utilizate
- Puneti o noua punga pentru varfuri utilizate

- 10. Definiti si incarcati suporturile testelor. Suporturile testelor, in adaptoarele pre-racite se incarca in locasurile “Assay” (Teste). Informatii despre suporturile testelor se regasesc in Fisa de Utilizare relevanta de pe site-ul www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.**
- 11. Verificati temperatura pozitiilor de racire.**

Atunci cand se atinge temperatura de racire dorita, micul asterisc de langa fiecare pozitie va avea culoarea verde.
- 12. Combinati toate eprubetele HCV RG Master A dintr-un singur kit intr-o singura eprubeta inainte de utilizare. Combinati toate eprubetele HCV RG Master B dintr-un singur kit intr-o singura eprubeta inainte de utilizare.**

Nota: Reactivii cu consistenta vascoasa pot fi dificil de manipulat cu ajutorul pipetelor manuale. Asigurati-va ca ati transferat intregul volum al amestecului in eprubeta.
- 13. Umpleti fiecare tub de reactivi cu volumul necesar de reactiv conform informatiilor de incarcare oferite de programul de operare al instrumentului.**

Nota: Inainte de fiecare utilizare, toti reactivii trebuie sa fie complet dezghetati, mixati (luand si turnand cu pipeta in mod repetat sau prin vortexing rapid), si centrifugati pentru cel putin 3 secunde la 6800 x g. Evitati formarea de bule sau de spuma, ceea ce ar putea cauza erori de detectare. Lucrati rapid si pastrati componentele PCR la gheata sau in blocul de racire pana la incarcare.
- 14. Incarcati suportul de reactivi si plasati eprubetele cu reactivi, fara capac, in pozitiile corespunzatoare ale adaptoarelor pre-racite pentru reactivi, conform Fisei de Utilizare corespunzatoare.**
- 15. Incarcati varfurile de unica folosinta cu filtre in sertarele “Eluate and Reagents” (Eluati si reactivi) si “Assays” (Teste), conform numarului fiecarui varf indicat in Fisa de Utilizare corespunzatoare.**
- 16. Inchideti sertarele “Eluate and Reagents” (Eluati si reactivi) si “Assays” (Teste).**
- 17. La inchiderea fiecarui sertar, apasati “Scan” (Scanare) pentru a demara scanarea de inventariere pentru fiecare sertar.**

Scanarea de inventariere verifica plasarea corecta, adaptoarele, varfurile cu filtre si suporturile de varfuri, dar si incarcarea adecvata a volumelor de reactivi specifici. Daca este necesar, corectati erorile.

Setarea testului va incepe automat dupa finalizarea etapei de purificare efectuata de instrumentul QIASymphony SP si dupa ce suporturile cu eluati sunt transferate pe instrumentul QIASymphony AS.
- 18. Dupa finalizarea derularii, apasati “Remove” (Indeprtare) din fereastra “Overview” (Privire de ansamblu). Deschideti sertarul “Assays” (Teste) si scoateti suporturile de test.**

19. Descarcati rezultate si fisierele de ciclizare.
20. Daca sunt configurate mai multe loturi intr-o derulare integrata pe instrumentul QIASymphony AS, reincarcati sertarele QIASymphony AS incepand cu pasul 8.
21. Treceti mai departe la “Protocol: RT-PCR on the Rotor-Gene Q” (Protocol PCR-reactia de polimerizare in lant pe instrumentul Rotor Gene Q), pagina 16.
22. Derulati operatiunile de mentenanta periodica ale instrumentului QIASymphony AS pe parcursul derularii protocolului PCR pe instrumentul Rotor-Gene Q sau ulterior.

Deoarece fluxul de lucru este o operatiune integrata, este necesar sa curatati toate instrumentele la finalul unui flux de lucru.

Urmati instructiunile de mentenanta din Manualul de Utilizare al instrumentului *QIASymphony SP/AS User Manual — General Description (Descriere Generala)*. Asigurati-va ca mentenanta se desfasoara periodic pentru a evita contaminarea incrucisata.

Protocol: RT-PCR (reactia de polimerizare in lant) pe instrumentul Rotor-Gene Q

Elemente preliminare importante

- Familiarizati-va cu instrumentul Rotor-Gene Q inainte de demararea protocolului. Cititi manualul de utilizare.
- Pentru interpretarea automata a rezultatelor PCR se poate utiliza Rotor-Gene AssayManager in locul software-ului Rotor-Gene Q.
- Asigurati-va ca toate cele 4 standarde de determinare a cantitatii si cel putin un control negativ (Apa, tip PCR grade) sunt incluse la fiecare derulare a reactiei de polimerizare in lant (PCR). Pentru a genera o curba a standardelor, utilizati toate cele 4 standarde de determinare a cantitatii oferite de (Virus Hep. C RG QS 1–4) la fiecare derulare a reactiei de polimerizare in lant - PCR.

Procedura

1. **Inchideti tuburile PCR si plasati-le in rotorul cu 72 de locuri al Rotor-Gene Q. Asigurati-va ca ati transferat eprubetele Rotor-Gene Q 4-cu banda orientate corect, in asa fel incat sa se potriveasca indicii de pozitionare ai adaptorului de racire cu rotorul. Asigurati-va ca inelul de inchidere (accesoriu al instrumentului Rotor-Gene) este pozitionat deasupra rotorului pentru a preveni deschiderea accidentala a eprubetelor pe parcursul derularii.**
2. **Transferati fisierul de ciclizare de pe QIASymphony AS pe computerul Rotor-Gene Q.**
3. **Pentru detectarea ARN-ului HCV creati un profil de temperatura si demarati derularea conform Fitei de Utilizare corespunzatoare regasita pe site-ul www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx. Informatii specifice despre software si programarea Rotor-Gene Q se regasesc in Fisa de Protocol corespunzatoare "Settings to run *artus* QS-RGQ Kits"(Setari de derulare a kitului *artus* QS-RGQ) pe site-ul www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.**

Interpretare rezultate

Consultati Fisele de Utilizare corespunzatoare pe site-ul www.qiagen.com/products/artushcvcrgpckitce.aspx pentru informatii detaliate despre interpretarea rezultatelor.

Ghid de detectare si remediere

Acest Ghid de detectare si remediere a erorilor poate fi util in solutionarea problemelor care pot aparea. Expertii de la Serviciul Tehnic QIAGEN va vor raspunde cu placere la toate intrebarile privind fie informatiile si protocoalele din acest manual, fie tehnologiile de probe si testari (gasiti datele de contact pe ultima coperta sau pe site-ul www.qiagen.com).

Observatii si sugestii

Date generale de utilizare

Mesaje de eroare afisate pe ecranul tactil	Daca se afiseaza un mesaj de eroare in timpul unei derulari a unui protocol, cititi manualele de utilizare furnizate impreuna cu instrumentele.
--	---

Se regaseste precipitat in cuva de reactiv a cartusului deschis al kitului QIASymphony DSP Virus/Pathogen

a) Evaporare solutie tampon	Evaporarea excesiva poate avea ca rezultat cresterea concentratiei de saruri sau scaderea concentratiei de alcool in solutiile tampon. Renuntati la cartusul de reactivi (RC) respectiv. Asigurati-va ca sigilati cuvele care contin solutii tampon ale unui cartus (RC) partial folosit cu ajutorul benzilor de resigare in vederea refolosirii atunci cand nu sunt folosite pentru purificare.
-----------------------------	--

Observatii si sugestii

- b) Depozitarea cartusului de reactivi (RC) de reactivi (RC) Depozitarea cartusului de reactivi (RC) la o temperatura sub 15°C poate duce la formarea de precipitat. Daca este necesar, indepartati cuvele cu solutii tampon QSL2 si QSB1 din cartusul de reactivi (RC) si incubati in baie de apa* la 37°C timp de 30 de minute agitand din cand in cand pentru a dizolva precipitatul. Asigurati-va ca plasati cuvele in pozitiile corecte. In cazul in care cartusul de reactivi (RC) este deja perforat, asigurati-va de reinchiderea cuvelor cu ajutorul benzilor de resigare pentru refolosire si incubati intregul cartus (RC) in baie de apa* la 37°C timp de 30 de minute, agitand din cand in cand.

Randament scazut al acizilor nucleici

- a) Particule magnetice nu au fost complet resuspendate Inainte de demararea procedurii, asigurati-va ca particulele magnetice sunt complet resuspendate. Mixati prin vortexing timp de 3 minute inainte de utilizare.
- b) Probele congelate nu au fost amestecate corect dupa dezghetare Probele congelate si dezghetate trebuie agitate usor pentru a se asigura amestecarea acestora.
- c) ARN-ul purtator (CARRIER) nu este adaugat Reconstituiti ARN-ul purtator (CARRIER) in solutia tampon AVE (AVE) si mixati cu volumul corect de solutie tampon AVE (AVE) asa cum este detaliat in Fisa de Utilizare regasita la adresa www.qiagen.com/products/artushcvrgpcrkitce.aspx. Repetati procedura de purificare cu un nou set de probe.
- d) Acizi nucleici degradati Probele au fost depozitate incorect sau au fost supuse prea multor cicluri de inghetare-dezghetare. Repetati procedura de purificare cu un nou set de probe.

*Asigurati-va ca instrumentele au fost verificate, ca s-au efectuat operatiunile de mentenanta si calibrare periodica, conform instructiunilor producatorului.

Observatii si sugestii

- e) Liza incompleta a probei
- Inainte de utilizare, verificati daca solutiile tampon QSL2 si QSB1 contin sau nu precipitat. Daca este necesar, indepartati cuvele cu solutiile tampon QSL1 si QSB1 din cartusul cu reactivi (RC) si incubati timp de 30 de minute la o temperatura de 37°C cu agitare din cand in cand pentru a dizolva precipitatul. In cazul in care cartusul de reactivi (RC) este deja perforat, asigurati-va de reinchiderea cuvelor cu ajutorul benzilor de resigare pentru re folosire si incubati intregul cartus (RC) in baie de apa* la 37°C timp de 30 de minute agitand din cand in cand.
- f) Blocarea varfului pipetei deoarece materialul este insolubil
- Materialul insolubil nu a fost indepartat din proba inainte de demararea procedurii de purificare QIA Symphony. Pentru a indeparta materialul insolubil, pentru utilizari virale, centrifugati proba la 3000 x g timp de 1 minut, transferati lichidul supernatant intr-o noua eprubeta de proba.

*Asigurati-va ca instrumentele au fost verificate, ca s-au efectuat operatiunile de mentenanta si calibrare periodica, conform instructiunilor producatorului.

Observatii si sugestii

QIA Symphony AS detecteaza amestec Master insuficient

Nu s-a transferat in eprubeta tot amestecul Master

Combinati toate eprubetele de amestec Master A HCV RG dintr-un singur kit intr-o singura eprubeta inainte de utilizare. Combinati toate eprubetele de amestec Master B HCV RG dintr-un singur kit intr-o singura eprubeta inainte de utilizare. Reactivii cu consistenta vascoasa pot fi dificil de manipulat cu pipete manuale. Asigurati-va ca ati transferat intregul volum al amestecului Master in eprubeta.

Pentru reactivii cu consistenta vascoasa, recomandam aspirarea unui volum suplimentar de 5% la utilizarea pipetelor manuale (e.g., ajustati pipeta la 840 µl pentru un volum de 800 µl).

Ca solutie alternativa, dupa introducerea lichidului cu putere in interiorul eprubetei, indepartati varful din lichid, eliberati pistonul pipetei si mai asteptati timp de 10 secunde. Lichidul rezidual se va scurge prin varf si poate fi expulzat prin presarea pistonului pipetei a doua oara. Utilizarea varfurilor cu filtre tip PCR etichetate "low retention" (Retentie scazuta) poate imbunatati recuperarea lichidului.

Nu exista semnal la controalele pozitive (Virus Hep. C RG QS 1–4) in canalul de fluorescenta Cycling Green

a) Canalul de fluorescenta selectat pentru analiza datelor reactiei de polimerizare in lant-PCR nu respecta protocolul

Pentru analiza datelor, selectati canalul de fluorescenta Cycling Green pentru analiza reactiei de polimerizare in lant -PCR a HCV si canalul de fluorescenta Cycling Orange pentru reactia de polimerizare in lant -PCR de control intern.

b) Programare incorecta a profilului de temperatura la instrumentul Rotor-Gene

Comparati profilul temperaturii cu protocolul. Consultati Fisele de Utilizare relevante si Fisa de Protocol la adresa www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

Observatii si sugestii

- c) Configurare incorecta a reactiei de polimerizare in lant-PCR
Asigurati-va ca toate fazele de lucru au fost efectuate corect si ca s-a utilizat setul corect de parametri de teste. Repetati PCR, daca este necesar. Consultati Fisa de Utilizare relevanta la adresa www.qiagen.com/products/artushcivrpgcrkitce.aspx.
- d) Conditile de pastrare pentru una sau mai multe componente ale kitului nu au respectat instructiunile din sectiunea "Reagent Storage and Handling" (Pastrarea si utilizarea reactivilor) (pagina **Fehler! Textmarke nicht definiert.**)
Verificati conditiile de pastrare si data de expirare (vezi eticheta kit) a reactivilor si utilizati un nou kit, daca este necesar.
- e) Kitul *artus* HCV QS-RGQ Kit a expirat
Verificati conditiile de pastrare si data de expirare (vezi eticheta kit) a reactivilor si utilizati un nou kit, daca este necesar.

Semnal slab sau inexistent de control intern la o proba de plasma negativa supusa purificarii cu kitul QIASymphony DSP Virus/Pathogen in canalul de fluorescanta Cycling Orange si absenta simultana a semnalului in canalul Cycling Green

- a) Configurare incorecta a reactiei de polimerizare in lant PCR
Verificati conditiile reactiei de polimerizare in lant-PCR (a se vedea mai sus) si repetati PCR cu setarile corectate, daca este necesar.
- b) Reactia de polimerizare in lant – PCR a fost inhibata
Asigurati-va ca utilizati metoda de izolare validata (consultati "Protocol: RNA isolation and assay setup on the QIASymphony SP/AS" (Protocol: Izolare ARN si setare teste pe instrumentul QIASymphony SP/AS), (pagina 11) si urmati indeaproape instructiunile.

Observatii si sugestii

- c) ARN-ul s-a pierdut la extragere
Absenta semnalului de control intern poate indica pierderea ARN-ului in cursul extragerii. Asigurati-va va folositi metoda de izolare recomandata (consultati "Protocol: RNA isolation and assay setup on the QIASymphony SP/AS" (Protocol: Izolare ARN si setare teste pe instrumentul QIASymphony SP/AS), pagina 11) si urmati indeaproape instructiunile.
Consultati de asemenea "Low yield of nucleic acids" (Randamentul scazut al acizilor nucleici), de mai sus.
- d) Conditii de pastrare pentru una sau mai multe componente ale kitului nu au respectat instructiunile din sectiunea "Reagent Storage and Handling" (Pastrarea si utilizarea reactivilor) (pagina **Fehler! Textmarke nicht definiert.**)
Verificati conditiile de pastrare si data de expirare (vezi eticheta kitului) a reactivilor si utilizati un nou kit daca este necesar.
- e) Kitul *artus* HCV QS-RGQ a expirat
Verificati conditiile de pastrare si data de expirare (vezi eticheta kit) a reactivilor si utilizati un nou kit, daca este necesar.

Semnale la controalele negative in canalul de fluorescena Cycling Green al PCR analitic

- a) S-a produs contaminare in timpul pregatirii reactiei de polimerizare in lant-PCR
Repetati reactia de polimerizare in lant (PCR) cu noi reactivi in replicate.
Daca este posibil, inchideti eprubetele pentru reactia de polimerizare in lant (PCR) imediat dupa adaugarea probei care trebuie testata.
Asigurati-va ca spatiul si instrumentele de lucru sunt decontaminate la intervale regulate.
- b) S-a produs contaminare in timpul extragerii
Repetati extragerea si reactia de polimerizare in lant (PCR) pentru proba care trebuie testata folosind reactivi.
Asigurati-va ca spatiul si instrumentele de lucru sunt decontaminate la intervale regulate.

Control calitate

In conformitate cu sistemul QIAGEN de management al calitatii cu certificare ISO, fiecare lot de kituri *artus* HCV QS-RGQ este testat la specificatiile predeterminate pentru a asigura calitatea conforma produselor.

Limitari in utilizarea produsului

Toti reactivii pot fi folositi exclusiv pentru diagnosticarea in vitro.

Acest produs va fi folosit numai de catre personalul special instruit si pregatit pentru procedurile de diagnosticare in vitro.

Pentru a obtine rezultate optime la reactia de polimerizare in lant (PCR) trebuie respectate cu strictete instructiunile din Manualul Utilizatorului.

Trebuie acordata atentie datelor de expirare tiparite pe cutia si etichetele tuturor componentelor. Nu folositi componente expirate.

Desi rare, mutatiile in cadrul zonelor inalt conservate ale genomului viral, acoperite de primerii si/sau de proba kitului, pot conduce la subdeterminarea cantitatii sau la eroare in detectarea prezentei virusului in aceste cazuri. Valabilitatea si randamentul designului testarii sunt revizuite la intervale de timp regulate.

Caracteristici privind performanta

Consultati www.qiagen.com/products/artushcivrpgpckitce.aspx cu privire la caracteristicile privind performanta kitului *artus* HCV QS-RGQ.

Referinte

1. Mauss, S., Berg, T., Rockstroh, J., Sarrazin, C., and Wedemeyer, H., editia (2012) *The Flying Publisher Short Guide to Hepatitis C. (Mic ghid pentru Hepatita C)* editia 2012. Nicio locatie: Flying Publisher.
2. Mauss, S., Berg, T., Rockstroh, J., Sarrazin, C., and Wedemeyer, H., editia (2012) *Hepatitis: A Clinical Thextbook (Hepatita: un manual clinic)* editia 2012. Nicio locatie: Flying Publisher.
3. Munir, S. et al. (2010) Hepatitis C treatment: current and future perspectives (*Tratamentul hepatitei C: perspective prezente si viitoare*). Virol. J. **7**, 296.
4. Harrington, P.R., Zeng, W., and Naeger, L.K. (2012) Clinical relevance of detectable but not quantifiable hepatitis C virus RNA during boceprevir or telaprevir treatment (Relevanta clinica a ARN-ului de virus hepatitic C detectabil, dar nu cuantificabil in timpul tratamentului cu boceprevir sau cu telaprevir). *Hepatology* **55**, 1048.

Simboluri



<N>

Contine reactivi suficienti pentru <N> reactii



A se folosi pana la



Dispozitiv medical de diagnostic in vitro



Numar catalog



Numar lot



Numar material



Componente



Contine



Numar



Numar global al articolului comercial



Limitare de temperatura



Producator



Consultati instructiunile de utilizare



Atentie

Date de contact

Pentru asistenta tehnica si informatii detaliate va rugam sa consultati Centrul de Suport Tehnic la adresa www.qiagen.com/Support, sunati la 00800-22-44-6000, sau contactati unul dintre Departamentele de Suport tehnic ale QIAGEN sau distribuitorii locali (vedeti coperta inferioara sau vizitati site-ul www.qiagen.com).

Informatii privind efectuarea comenzilor

Produs	Continut	Nr. cat.
<i>artus</i> HCV QS-RGQ Kit (24)	Pentru 24 de probe: 2 amestecuri Master, 4 standarde de determinare cantitativa, Control Intern, Apa (tip PCR grade)	4518363
<i>artus</i> HCV QS-RGQ Kit (72)	Pentru 72 de probe: 2 amestecuri Master, 4 standarde de determinare cantitativa, Control Intern, Apa (tip PCR grade)	4518366
QIASymphony RGQ system		
QIASymphony RGQ, System	QIASymphony SP, QIASymphony AS, Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM, accesorii si consumabile necesare, instalare si instruire	9001850

Pentru informatii la zi privind acordarea licentei si declinarea responsabilitatii pentru produse, consultati manualul kitului sau manualul utilizatorului de la QIAGEN. Manualele kiturilor si manualele utilizatorului de la QIAGEN sunt disponibile la adresa www.qiagen.com sau pot fi solicitate de la Serviciul Tehnic al firmei QIAGEN ori de la distribuitorul dvs. local.

Achiziționarea acestui produs permite cumpărătorului să îl utilizeze în scopul efectuării de servicii de diagnosticare pentru diagnosticare in vitro la oameni. Prin prezența nu se acordă vreun brevet general sau vreo licență de orice fel în afara dreptului specific de utilizare dobândit în urma achiziționării.

Marci înregistrate: QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

Kitul *artus*HCV QS-RGQ este un kit de diagnosticare cu marcaj CE în conformitate cu Directiva UE 98/79/CE privind diagnosticarea in vitro. Nu sunt disponibile în toate țările.

Contract limitat de licență pentru kitul *artus* HCV QS-RGQ

Utilizarea acestui produs înseamnă că orice cumpărător sau utilizator al acestui produs este de acord cu următoarele condiții:

1. Produsul poate fi folosit doar în conformitate cu protocoalele furnizate de produs și de manualul de utilizare al acestuia și doar cu componentele incluse în kit. QIAGEN nu acordă, în cadrul drepturilor sale de proprietate intelectuală, licență pentru utilizarea sau includerea componentelor existente în acest kit cu/in alte componente care nu sunt incluse în acest kit, cu excepția situațiilor prezentate în manualul kitului și în protocoalele adiționale prezentate la adresa www.qiagen.com. Câteva dintre aceste protocoale adiționale au fost furnizate de către utilizatorii QIAGEN pentru utilizatorii QIAGEN. Aceste protocoale nu au fost testate în detaliu sau optimizate de către QIAGEN. QIAGEN nu le garantează și nici nu garantează că acestea nu încalcă drepturi ale terților.
2. Cu excepția licențelor expres menționate, QIAGEN nu garantează că acest kit și/sau utilizarea lui nu încalcă drepturi ale terților.
3. Prezentul kit și componentele sale au licență pentru o singură utilizare și nu pot fi refoșite, renovate sau revândute.
4. QIAGEN renunță, în mod expres, la orice licențe, exprimate sau implicite, care nu sunt menționate în mod expres.
5. Cumpărătorul utilizator al kitului este de acord să nu ia, și să nu permită altor persoane să ia, măsuri care ar putea duce la, sau facilita, vreuna din faptele interzise mai sus. QIAGEN poate impune interdicțiile prezentului Contract limitat de licență în orice instanță și își va recupera toate cheltuielile de cercetare și de judecată, inclusiv cheltuielile de avocat, în orice acțiune în instanță intentată pentru a pune în aplicare prezentul Contract limitat de licență sau oricare din drepturile sale de proprietate intelectuală asupra kitului și/sau componentelor acestuia.

Pentru condițiile actualizate ale licenței, consultați site-ul www.qiagen.com.

© 2010–2014 QIAGEN, toate drepturile rezervate.

www.qiagen.com

Australia ■ techservice-au@qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Belgia ■ techservice-bnl@qiagen.com

Brazilia ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

Canada ■ techservice-ca@qiagen.com

China ■ techservice-cn@qiagen.com

Danemarca ■ techservice-nordic@qiagen.com

Finlanda ■ techservice-nordic@qiagen.com

Franta ■ techservice-fr@qiagen.com

Germania ■ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ■ techservice-hk@qiagen.com

India ■ techservice-india@qiagen.com

Irlanda ■ techservice-uk@qiagen.com

Italia ■ techservice-it@qiagen.com

Japonia ■ techservice-jp@qiagen.com

Coreea (de Sud) ■ techservice-kr@qiagen.com

Luxembourg ■ techservice-bnl@qiagen.com

Mexic ■ techservice-mx@qiagen.com

Olanda ■ techservice-bnl@qiagen.com

Norvegia ■ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ■ techservice-sg@qiagen.com

Suedia ■ techservice-nordic@qiagen.com

Elvetia ■ techservice-ch@qiagen.com

Marea Britanie ■ techservice-uk@qiagen.com

SUA ■ techservice-us@qiagen.com

