

Handleiding *artus*[®] HI Virus-1 QS-RGQ Kit



24 (catalogusnr. 4513363)



72 (catalogusnr. 4513366)

Versie 1

IVD

Kwantitatieve in-vitrodiagnostiek

Voor gebruik met QIASymphony[®] SP/AS- en Rotor-Gene[®] Q-apparaten



REF

4513363, 4513366



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, DUITSLAND

R5 **MAT**

1060923NL



QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN is de toonaangevende leverancier van innovatieve monster- en assaytechnologieën voor de isolatie en detectie van bestanddelen van ieder biologisch monster. Met onze geavanceerde producten en diensten van hoge kwaliteit is succes verzekerd, van monster tot resultaat.

QIAGEN zet de toon voor:

- Zuivering van DNA, RNA en eiwitten
- Nucleïnezuur- en eiwitassays
- onderzoek met microRNA en RNAi
- Automatisering van monster- en assaytechnologieën

Wij stellen ons ten doel ervoor te zorgen dat u uitstekende resultaten en doorbraken kunt bereiken. Kijk voor meer informatie op onze website: www.qiagen.com.

Inhoud

Beoogd gebruik	4
Samenvatting en uitleg	5
Informatie met betrekking tot het pathogeen	5
Meegeleverde materialen	7
Inhoud van de kit	7
Benodigde maar niet meegeleverde materialen	8
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen	8
Algemene voorzorgsmaatregelen	9
Opslag en verwerking van reagentia	9
Opslag en verwerking van monsters	9
Procedure	10
Beginnen met het gebruik van de QIASymphony SP/AS-apparaten	10
Zuivering viraal RNA	10
Een interne controle en carrier-RNA (CARRIER) gebruiken	10
Assaycontrolesets en assayparametersets	10
Opbrengst van nucleïnezuren	11
Opslag van nucleïnezuren	11
Protocol: RNA-isolatie en instelling van de assay op de QIASymphony SP/AS12	
Protocol: RT-PCR op de Rotor-Gene Q	17
Interpretatie van de resultaten	18
Probleemoplossingsgids	18
Kwaliteitscontrole	24
Beperkingen	24
Prestatiekenmerken	24
Referenties	24
Symbolen	25
Contactgegevens	26
Bestelgegevens	27

Beoogd gebruik

De *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit is een in vitro nucleïnezuuramplificatietest voor de kwantificatie van RNA van het humaan immunodeficiëntievirus type 1 (HIV-1) in humane biologische monsters. Deze diagnostische testkit gebruikt de omgekeerde transcriptie polymerasekettingreactie (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) en is geconfigureerd voor gebruik met de QIASymphony SP/AS en Rotor-Gene Q-apparaten. Monsters die groep M-subtypes A-H bevatten zijn gevalideerd voor het gebruik in de assay.

De *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit is bedoeld voor gebruik in combinatie met de klinische presentatie en andere laboratoriummarkers voor ziekteprognose, en voor gebruik als hulpmiddel bij het beoordelen van de virale respons op antiretrovirale behandeling zoals gemeten door veranderingen in humane EDTA-plasmaniveaus van HIV-1-RNA. De *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit is niet bedoeld als screeningtest voor hiv of als diagnostische test om de aanwezigheid van een HIV-infectie te bevestigen.



Raadpleeg voor meer informatie over specifieke humane biologische monsters waarmee de kit is gevalideerd de desbetreffende toepassingsbladen, die u kunt vinden op www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.

QIAGEN bewaakt constant de prestaties van de assay en valideert voortdurend nieuwe claims. Gebruikers dienen zich er daarom van te verzekeren dat ze de meest recente revisie van de gebruiksaanwijzing gebruiken.



Controleer voordat u een test gaat uitvoeren of er nieuwe (herziene) elektronische bijsluiters beschikbaar zijn op www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.

Alle kits kunnen worden gebruikt met de respectievelijke instructie-elementen, mits het versienummer van de handleiding en andere bijsluiterinformatie overeenstemt met het versienummer van de kit. U vindt het versienummer op het etiket op de doos van elke kit. QIAGEN garandeert de compatibiliteit van alle testkitpartijen onder hetzelfde versienummer.

Samenvatting en uitleg

De *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit is een gebruiksklaar systeem voor de detectie van HIV-1 RNA met gebruikmaking van de polymerasekettingreactie (polymerase chain reaction, PCR) op Rotor-Gene Q-apparaten met monstervoorbereiding en instellen van assays met gebruikmaking van QIASymphony SP/AS-apparaten. De HI Virus-1 RG Master A en B bevat reagentia en enzymen voor de omgekeerde transcriptie en specifieke amplificatie van een gebied van 93 bp van het HIV-1-genoom, en voor de directe detectie van het specifieke amplicon in fluorescentiekanaal Cycling Green (Cyclisch groen) van Rotor-Gene Q.

Daarnaast bevat de *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit een tweede heteroloog amplificatiesysteem voor de identificatie van een mogelijke PCR-inhibitie. Dit wordt gedetecteerd als een interne controle (IC) in fluorescentiekanaal Cycling Orange (Cyclisch oranje) van de Rotor-Gene Q. De detectielimiet van de analytische HI Virus-1 RT-PCR is niet verlaagd. Er zijn externe positieve controles (HI Virus-1 RG QS 1–4) meegeleverd die de bepaling van de hoeveelheid viraal RNA mogelijk maken. Zie voor meer informatie het desbetreffende toepassingsblad op www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx

Informatie met betrekking tot het pathogeen

Het humaan immunodeficiëntievirus (HIV) is een retrovirus dat het verworven immunodeficiëntiesyndroom (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS) veroorzaakt. Er zijn twee soorten HIV die humane infecties kunnen veroorzaken, HIV-1 en HIV-2, die verschillen in hun virulentie en prevalentie. De meeste gemelde gevallen van AIDS over de hele wereld worden toegeschreven aan HIV-1. Besmetting met HIV vindt plaats door de overdracht van geïnfecteerd bloed, vaginaal vocht, moedermelk en andere lichaamsvloeistoffen. Binnen deze lichaamsvloeistoffen is HIV aanwezig in de vorm van vrije virusdeeltjes en als virus in geïnfecteerde immuuncellen. De drie belangrijkste transmissiewegen zijn onbeschermd geslachtsgemeenschap, besmette naalden en overdracht van een besmette moeder op haar baby bij de geboorte of via de moedermelk.

HIV infecteert voornamelijk cellen van het menselijke immuunsysteem, zoals T-helpercellen (specifiek CD4⁺). HIV-infectie leidt tot lage niveaus CD4⁺ T-cellen. Wanneer het aantal CD4⁺ T-cellen onder een kritisch niveau daalt, gaat celgemedieerde immuniteit verloren en wordt het lichaam steeds vatbaarder voor opportunistische infecties.

AIDS-symptomen verschijnen in een vergevorderd stadium van de HIV-infectie wanneer het aangetaste immuunsysteem opportunistische infecties niet kan bestrijden. In dit stadium ontwikkelt de geïnfekteerde persoon steeds meer symptomen die worden veroorzaakt door dergelijke infecties. De meest voorkomende infecties zijn chronische cryptosporidium diarree, cytomegalovirus geïnduceerde ooginfectie, pneumocystis pneumonie, toxoplasmose en tuberculose, evenals infecties met leden van het *Mycobacterium avium*-complex. Bovendien wordt de ontwikkeling van verschillende soorten kanker, zoals invasieve baarmoederhalskanker, Kaposi-sarcoom of lymfoom, vaak waargenomen. Op dit moment is er geen genezende behandeling voor AIDS en men gelooft dat de meeste HIV-geïnfekteerde mensen uiteindelijk zullen sterven aan een AIDS-gerelateerde ziekte. Echter hebben verbeteringen in de behandeling van HIV/AIDS, waaronder behandelingen die het virus zelf bestrijden, evenals die welke opportunistische infecties voorkomen of behandelen, hebben de levensverwachting en -kwaliteit van veel HIV-/AIDS-patiënten drastisch verbeterd. (1-4)

Meegeleverde materialen

Inhoud van de kit

artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit		(24)	(72)
Catalogusnr.		4513363	4513366
Aantal reacties		24	72
Blauw	HI Virus-1 RG Master A	4 x 144 µl	8 x 144 µl
Paars	HI Virus-1 RG Master B	4 x 216 µl	8 x 216 µl
Rood	HI Virus-1 RG QS 1* (1x 10 ⁴ IE/µl) QS	200 µl	200 µl
Rood	HI Virus-1 RG QS 2* (1x 10 ³ IE/µl) QS	200 µl	200 µl
Rood	HI Virus-1 RG QS 3* (1x 10 ² IE/µl) QS	200 µl	200 µl
Rood	HI Virus-1 RG QS 4* (1x 10 ¹ IE/µl) QS	200 µl	200 µl
Groen	HI Virus-1 RG IC [†] IC	1000 µl	2 x 1000 µl
Wit	Water (PCR-kwaliteit)	1000 µl	1000 µl
	<i>artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit Handbook</i> (English) (handleiding artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit, in het Engels)	1	1

* Kwantificatiestandaard.

† Interne controle.

Benodigde maar niet meegeleverde materialen

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB's) die bij de leveranciers van de producten verkrijgbaar zijn.

- Pipetten (instelbaar)* en steriele pipettips met filter
- Vortexmixer*
- Tafelcentrifuge* met rotor voor reageerbuisjes van 2 ml die kan centrifugeren bij 6800 x g

Voor monsterbereiding

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

Voor PCR:

- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM*†
- Rotor-Gene Q-softwareversie 2.1 of hoger
- Optioneel: Rotor-Gene AssayManager versie 1.0 of hoger

Opmerking: Aanvullende informatie over de materialen die nodig zijn voor specifieke toepassingen is te vinden in het desbetreffende toepassingsblad op www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

Voor in-vitrodiagnostisch gebruik

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB). Deze zijn online beschikbaar in handig en compact pdf-formaat via www.qiagen.com/safety. Hier kunt u de VIB van alle kits en kitcomponenten van QIAGEN® vinden, bekijken en afdrukken.

* Zorg ervoor dat apparaten zijn gecontroleerd en gekalibreerd volgens de aanbevelingen van de fabrikant.

†Indien van toepassing, Rotor-Gene Q 5plex HRM-apparaat met een productiedatum van januari 2010 of later. De productiedatum kan worden achterhaald via het serienummer op de achterkant van het apparaat. Het serienummer heeft de vorm 'mmjjnnn', waarbij 'mm' staat voor de cijfers van de productiemaand, 'jj' voor de laatste twee cijfers van het productiejaar en 'nnn' voor de unieke identificatiecode van het apparaat.

Raadpleeg de relevante handleiding voor de gebruikte zuiveringskit voor veiligheidsinformatie over de kit. Raadpleeg de desbetreffende gebruikershandleidingen voor veiligheidsinformatie met betrekking tot de instrumenten.

Gooi monster- en assayafval weg in overeenstemming met de plaatselijke veiligheidsvoorschriften.

Algemene voorzorgsmaatregelen

Besteed altijd aandacht aan het volgende:

- Gebruik steriele pipetpunten met filters.
- Houd tijdens handmatige stappen de buisjes altijd gesloten, wanneer dat mogelijk is, en vermijd contaminatie.
- Ontdooi alle onderdelen volledig bij kamertemperatuur (15 - 25 °C) voordat u een assay start.
- Als de onderdelen zijn ontdooid, mengt u deze (door herhaaldelijk op en neer te pipetteren of te mengen met een pulse-vortexmixer) en centrifugeert u ze kort. Controleer of er geen schuim of luchtbelletjes in de reagensbuisjes aanwezig zijn.
- Meng geen onderdelen uit kits met verschillende partijnummers.
- Zorg dat de benodigde adapters worden voorgekoeld tot 2–8 °C.
- Werk snel en bewaar de PCR-reagentia voordat ze op het apparaat worden geplaatst op ijs of in het koelblok.
- Werk aan één stuk door van het ene deel van de workflow naar het volgende. Zorg dat de transfertijd tussen de verschillende modules (QIA Symphony SP naar QIA Symphony AS naar Rotor-Gene Q) niet langer is dan 30 minuten.

Opslag en verwerking van reagentia

De componenten van de *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit dienen bij -15 tot -30 °C te worden bewaard en blijven stabiel tot de uiterste houdbaarheidsdatum die op het etiket staat vermeld. Herhaaldelijk ontdooien en weer invriezen (> 2 x) dient te worden vermeden, aangezien dit ertoe kan leiden dat de assay minder goed werkt.

Opslag en verwerking van monsters

Informatie over de verwerking en opslag van monsters voor specifieke toepassingen is te vinden in het desbetreffende toepassingsblad op www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.

Procedure

Beginnen met het gebruik van de QIASymphony SP/AS-apparaten

Sluit alle laden en de kappen.

Zet de QIASymphony SP/AS-apparaten aan en wacht tot het scherm 'Sample preparation' (monsterbereiding) verschijnt en de initialisatieprocedure is voltooid.

Meld u aan bij het apparaat (de laden worden ontgrendeld).

Zuivering viraal RNA

De *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit is gevalideerd met een stap van zuivering van viraal RNA die werd uitgevoerd op de QIASymphony SP met gebruikmaking van een QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Raadpleeg de *handleiding QIASymphony DSP Virus/Pathogen* (QIASymphony DSP Virus/Pathogen Handbook) voor alle informatie over het voorbereiden van de reagenscartridge voor de monsterzuiveringsstap op de QIASymphony SP.

Een interne controle en carrier-RNA (CARRIER) gebruiken

Bij het gebruik van QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits in combinatie met de *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit is het nodig om de interne controle (HI Virus-1 RG IC) in de zuiveringsprocedure op te nemen om de efficiëntie van de monsterbereiding en de downstream assay te monitoren. Daarnaast kan het bij het gebruik van QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits nodig zijn om carrier-RNA (CARRIER) te bereiden. Raadpleeg voor specifieke informatie over de interne controle en het gebruik van carrier-RNA (CARRIER) het desbetreffende toepassingsblad op www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.

Assaycontrolesets en assayparametersets

Assay Control Sets (assaycontrolesets) zijn combinaties van een protocol met aanvullende parameters, zoals interne controle, voor monsterzuivering op de QIASymphony SP. Voor elk protocol is een standaard assaycontrole set voorgeïnstalleerd.

Assay Parameter Sets (assayparametersets) zijn combinaties van een assaydefinitie met aanvullende parameters, zoals het aantal replica's en aantal assaystandaarden, voor het instellen van de assay op de QIASymphony AS.

Voor geïntegreerde runs op de QIASymphony SP/AS is de assayparameterset direct gekoppeld aan een vooraf gemaakte assaycontrole set die het bijbehorende monsterzuiveringsproces specificeert.

Opbrengst van nucleïezuren

Eluaten die zijn bereid met carrier-RNA (CARRIER) bevatten mogelijk veel meer carrier-RNA (CARRIER) dan doelnucleïezuren. We raden aan om kwantitatieve amplificatiemethoden te gebruiken voor het bepalen van de opbrengst.

Opslag van nucleïezuren

Voor kortdurende opslag van maximaal 24 uur adviseren we om gezuiverde nucleïezuren op te slaan bij 2-8 °C. Voor langdurige opslag van meer dan 24 uur adviseren we om ze op te slaan bij -20 °C.

Protocol: RNA-isolatie en instelling van de assay op de QIASymphony SP/AS

Hieronder wordt een algemeen protocol beschreven voor het gebruik van QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits. Uitgebreide informatie voor een specifieke toepassing, inclusief volumes en buisjes, vindt u in het desbetreffende toepassingsblad op www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.

Wat u moet weten voor u begint

- Zorg dat u bekend bent met het bedienen van de QIASymphony SP/AS-apparaten. Raadpleeg voor bedieningsinstructies de handleidingen die bij uw apparaten zijn geleverd en de meest recente versies die u online kunt vinden op www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx.
- Controleer voordat u een reagenscartridge (reagent cartridge, RC) voor de eerste keer gebruikt of er geen precipitaat aanwezig is in de Buffers QSL2 en QSB1 in de cartridge (RC). Verwijder indien nodig de containers met Buffers QSL2 en QSB1 uit de reagenscartridge (RC) en incubeer deze, onder af en toe schudden, 30 minuten bij 37 °C om het precipitaat op te lossen. Zorg ervoor dat u de bakjes in de juiste posities plaatst. Als de reagenscartridge (RC) al is doorgeprik, zorg dan dat de containers weer worden afgesloten met een sealstrip voor hergebruik en incubeer de hele reagenscartridge (RC), onder af en toe schudden, 30 min bij 37 °C in een waterbad.*
- Vermijd dat u de reagenscartridge (RC) te hard schudt, want dan kan er schuim ontstaan, wat kan leiden tot detectieproblemen met de vloeistof.
- Werk snel en bewaar de PCR-reagentia voordat ze op het apparaat worden geplaatst op ijs of in het koelblok.
- De reagentvolumes zijn geoptimaliseerd voor 24 of 72 reacties per kit per run (cat.nr. respectievelijk 4513363 en 4513366)
- Voorafgaand aan elk gebruik moeten alle reagentia volledig worden ontdooid, gemengd (door ze herhaaldelijk met een pipet op te zuigen of door ze snel te vortexen) en ten minste 3 seconden worden gecentrifugeerd bij 6800 x g. Voorkom schuimen van de reagentia.

* Verzeker u ervan dat de apparaten regelmatig zijn gecontroleerd, onderhouden en gekalibreerd volgens de aanwijzingen van de fabrikant.

- Aangetoond is dat eluaten van de monsterbereiding en alle onderdelen van de *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit stabiel zijn in het apparaat gedurende ten minste de normale tijd die nodig is voor de monsterzuivering van 96 monsters en de instelling van de 72 assays, inclusief maximaal 30 minuten transfertijd van de QIA Symphony SP naar de QIA Symphony AS en maximaal 30 minuten transfertijd van de QIA Symphony AS naar de Rotor-Gene Q.

Wat u moet doen voor u begint

- Bereid alle benodigde mengsels. Bereid indien nodig vlak vóór u begint mengsels met carrier-RNA (CARRIER) en interne controles. Zie voor meer informatie het desbetreffende toepassingsblad op www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx.
- Voordat u de procedure start, dient u ervoor te zorgen dat de magnetische deeltjes volledig zijn geresuspendeerd. Vortex de container met de magnetische deeltjes vóór het eerste gebruik krachtig gedurende minimaal 3 minuten.
- Verwijder, voordat u de reagenscartridge (RC) in het apparaat plaatst, de kap van de container met de magnetische deeltjes en open de enzymbuisjes. Zorg ervoor dat het enzymrek op kamertemperatuur (15-25 °C) is gebracht.
- Zorg dat de doorprikdeksel (piercing lid, PL) op de reagenscartridge (RC) is geplaatst en dat de deksel van de container met magnetische deeltjes is verwijderd, of, als u een gedeeltelijk gebruikte reagenscartridge (RC) gebruikt, controleer of de sealstrips voor hergebruik zijn verwijderd.
- Als de monsters zijn voorzien van een streepjescode, plaats de monsters dan zo in de buizendrager dat de streepjescodes naar de streepjescodelezer in de lade 'Sample' (monsterlade) aan de linkerzijde van de QIA Symphony SP zijn gericht.

Procedure

Virale zuivering van RNA met de QIA Symphony SP

- 1. Sluit alle laden en de kappen van de QIA Symphony SP/AS-apparaten.**
- 2. Zet de apparaten aan en wacht tot het scherm 'Sample Preparation' (monstervoorbereiding) verschijnt en de initialisatieprocedure is voltooid.**
De aan/uitknop zit linksonderaan op de hoek van de QIA Symphony SP.
- 3. Meld u aan op de apparaten.**

4. **Bereid de volgende laden voor zoals aangegeven op het desbetreffende toepassingsblad op www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.**
 - Lade 'Waste' (afval); voer na de voorbereiding een voorraadscan uit.
 - Lade 'Eluate' (eluaat); voer na voorbereiding een voorraadscan uit.
 - Lade 'Reagents and Consumables' (Reagentia en verbruiksartikelen); voer na voorbereiding een voorraadscan uit.
 - De lade 'Sample' (Monster)
5. **Gebruik de set-up 'Integrated run' (geïntegreerde run) op het aanraakscherm van de QIASymphony en voer voor elke batch monsters die moet worden verwerkt de benodigde gegevens in. Selecteer een assayparameterset voor de run en wijs deze en de bijbehorende AS-batch toe aan de monsters.**

U vindt informatie over de assayparameterset en het voorgeselecteerde elutievolume op het desbetreffende toepassingsblad.

Zie de gebruikershandleiding van het apparaat voor meer informatie over geïntegreerde runs op de QIASymphony SP/AS.
6. **Controleer bij het opzetten van een geïntegreerde run of de monsterlabware, monstertypen (monster, EC+ en EC-) en volumes correct zijn toegewezen.**

U vindt informatie over de verbruiksartikelen en componenten die in elke lade moeten worden geplaatst op het desbetreffende toepassingsblad.
7. **Klik nadat u informatie hebt ingevoerd over alle batches van de geïntegreerde run op de knop 'OK' om het instellen van de 'Integrated run' te verlaten. De status van alle batches binnen het overzicht van de geïntegreerde run verandert van 'LOADED' (geladen) naar 'QUEUED' (in wachtrij). Zodra één batch in de wachtrij is gezet, verschijnt de knop 'Run'. Druk op de knop 'Run' om de procedure te starten.**

Alle stappen van de verwerking worden volledig automatisch uitgevoerd.

De laden van de QIASymphony AS vullen voor het opzetten van de assay

8. **Open nadat u een geïntegreerde run in de wachtrij hebt gezet de laden van de QIASymphony AS. Op het scherm wordt aangegeven welke componenten moeten worden geladen.**
9. **Doe altijd het volgende vóór de geïntegreerde run:**
 - plaats de tipgoot;
 - gooi de afvalzak voor tips weg;
 - plaats een lege afvalzak voor tips.

- 10. Definieer en laad assayrekken. Assayrekken in voorgekoelde adapters worden in de 'Assay'-sleuven geladen. U vindt informatie over de assayrekken op het desbetreffende toepassingsblad op www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.**
- 11. Controleer de temperatuur van de koelposities.**

Wanneer de gewenste koeltemperaturen zijn bereikt, wordt het sterretje naast elke sleuf groen.
- 12. Combineer alle buisjes HI Virus-1 RG Master A in een kit voor gebruik in één buisje. Combineer alle buisjes HI Virus-1 RG Master B in een kit voor gebruik in één buisje.**

Opmerking: Het kan moeilijk zijn om viskeuze reagentia met handmatige pipetten te verwerken. Zorg ervoor dat u het gehele volume master in de buis overbrengt.
- 13. Vul elk reagensbuisje met het vereiste volume van het benodigde reagens, in overeenstemming met de laadinformatie van de apparaatsoftware.**

Opmerking: Voorafgaand aan elk gebruik moeten alle reagentia volledig worden ontdooid, gemengd (door ze herhaaldelijk met een pipet op te zuigen of door ze snel te vortexen) en ten minste 3 seconden worden gecentrifugeerd bij 6800 x g. Zorg dat er geen luchtbelletjes of schuim worden gevormd; deze kunnen detectiefouten veroorzaken. Werk snel en bewaar de PCR-componenten voordat ze in het apparaat worden geladen op ijs of in het koelblok.
- 14. Laad het reagensrek en plaats de reagensbuisjes, zonder afdekking, in de juiste posities van voorgekoelde adapters voor reagentia, in overeenstemming met het desbetreffende toepassingsblad.**
- 15. Plaats van elk type wegwerpfiltertips het op het desbetreffende toepassingsblad aangegeven benodigde aantal in de laden 'Eluate and Reagents' (Eluaat en reagentia) en 'Assays'.**
- 16. Sluit de laden 'Eluate and Reagents' (Eluaat en reagens) en 'Assays'.**
- 17. Druk nadat u elke lade hebt gesloten op 'Scan' (scannen) om de voorraadscan voor elke lade te starten.**

Tijdens de voorraadscan worden de sleuven, adapters, filtertips en de tipgoot gecontroleerd, en daarnaast de correcte plaatsing van de specifieke reagensvolumes. Corrigeer, indien nodig, eventuele fouten.

De assay-instelling start automatisch nadat de zuiveringsstap op de QIASymphony SP is voltooid en de eluaatrekken zijn overgeplaatst naar de QIASymphony AS.

18. Druk nadat de run is voltooid op 'Remove' (verwijderen) in het scherm 'Overview' (overzicht) van de assay-instelling. Open de lade 'Assays' en verwijder de assayrekken.
19. Download de resultaat- en cyclerbestanden.
20. Als er meerdere batches op de QIASymphony AS worden geconfigureerd in een geïntegreerde run, vul dan de laden van de QIASymphony AS opnieuw, te beginnen bij stap 8.
21. Ga door met 'Protocol: RT-PCR op de Rotor-Gene Q', pagina 17.
22. Voer het reguliere onderhoud van de QIASymphony AS uit tijdens de PCR-run op de Rotor-Gene Q of later.

De workflow omvat alle handelingen; reinig daarom alle apparaten aan het einde van de voltooide workflow.

Volg de onderhoudsinstructies in de *Gebruikershandleiding voor de QIASymphony SP/AS – Algemene beschrijving* (QIASymphony SP/AS User Manual – General Description). Zorg dat u regelmatig onderhoud pleegt om het risico van kruiscontaminatie tot een minimum te beperken.

Protocol: RT-PCR op de Rotor-Gene Q

Wat u moet weten voor u begint

- Neem de tijd om vertrouwd te raken met de Rotor-Gene Q alvorens het protocol te starten. Raadpleeg de gebruikershandleiding van het apparaat.
- Voor geautomatiseerde interpretatie van de PCR-resultaten kan Rotor-Gene AssayManager worden gebruikt in plaats van Rotor-Gene Q-software.
- Zorg ervoor dat per PCR-run alle 4 de kwantificatiestandaarden en ten minste één negatieve controle (water, PCR-kwaliteit) worden opgenomen. Om een standaardcurve te genereren, gebruikt u voor elke PCR-run alle 4 de meegeleverde kwantificatiestandaarden (HI Virus-1 QS 1–4).

Procedure

1. **Sluit de PCR-buisjes af en plaats ze in de 72-wells rotor van de Rotor-Gene Q. Zorg ervoor dat u de 4-strips busjes voor Rotor-Gene Q in de juiste positie overplaatst, zodat de daarvoor bedoelde markeringen op de koeladapter en de rotor overeenkomen. Zorg ervoor dat de vergrendelingsring (accessoire van het Rotor-Gene-apparaat) op de rotor is geplaatst om te voorkomen dat de busjes tijdens de run per ongeluk open gaan.**
2. **Breng het cyclerbestand over van de QIASymphony AS naar de Rotor-Gene Q-computer.**
3. **Maak voor de detectie van HIV-1-RNA een temperatuurprofiel aan en start de run zoals aangegeven op het desbetreffende toepassingsblad op www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx. Softwarespecifieke informatie over het programmeren van de Rotor-Gene Q vindt u op het protocolblad 'instellingen voor runs met artus QS-RGQ Kits' (Settings to run *artus QS-RGQ Kits*) op www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.**

Interpretatie van de resultaten

Zie het desbetreffende toepassingsblad op www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx voor uitgebreide informatie over de interpretatie van resultaten.

Probleemoplossingsgids

Deze gids voor probleemoplossing kan helpen bij het oplossen van eventuele problemen. De wetenschappers bij de technische dienst van QIAGEN beantwoorden altijd graag uw vragen over de informatie en protocollen in deze handleiding of over monster- en assaytechnologieën (zie voor contactgegevens de achterzijde van deze handleiding of ga naar www.qiagen.com).

Opmerkingen en suggesties

Algemeen werk

Foutmelding op het aanraakscherm	Als tijdens een protocolrun een foutmelding wordt weergegeven, raadpleeg dan de gebruikershandleidingen van uw apparaten.
----------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Precipitaat in reagenscontainer van geopende cartridge van de QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit

a) Verdamping van buffer	Overmatige verdamping kan leiden tot verhoogde zoutconcentraties of verlaagde alcoholconcentraties in buffers. Gooi de reagenscartridge (RC) weg. Zorg dat u de containers met buffers van een gedeeltelijk gebruikte reagenscartridge (RC) goed afsluit met sealstrips voor hergebruik wanneer ze niet worden gebruikt voor zuivering.
--------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Opmerkingen en suggesties

- b) Bewaren van de reagenscartridge (RC) Als een reagenscartridge (RC) beneden 15 °C wordt bewaard, kunnen precipitaten worden gevormd. Verwijder indien nodig de containers met Buffers QSL2 en QSB1 uit de reagenscartridge (RC) en incubeer deze, onder af en toe schudden, 30 minuten bij 37 °C in een waterbad* om het precipitaat op te lossen. Zorg ervoor dat u de bakjes in de juiste posities plaatst. Als de reagenscartridge (RC) al is doorgeprikt, zorg dan dat de containers weer worden gesloten met sealstrips voor hergebruik en incubeer de hele reagenscartridge (RC), onder af en toe schudden, 30 minuten bij 37 °C in een waterbad*.

Lage opbrengst aan nucleïnezuren

- a) De magnetische deeltjes waren niet volledig geresuspendeerd Voordat u de procedure start, dient u ervoor te zorgen dat de magnetische deeltjes volledig zijn geresuspendeerd. Vortex vóór gebruik gedurende minimaal 3 minuten.
- b) Bevroren monsters zijn na het ontdooien niet goed gemengd Ontdooi bevroren monsters onder zacht schudden om te verzekeren dat de monsters goed gemengd worden.
- c) Er is geen carrier-RNA (CARRIER) toegevoegd Reconstitueer carrier-RNA (CARRIER) in Buffer AVE (AVE) en meng met het juiste volume Buffer AVE (AVE) zoals beschreven in het desbetreffende toepassingsblad op www.qiagen.com/products/artushivirust-pcrkitce.aspx. Herhaal de zuiveringsprocedure met nieuwe monsters.
- d) De nucleïnezuren zijn afgebroken De monsters zijn niet op de juiste manier bewaard of ze hebben te veel vries-dooicycli doorlopen. Herhaal de zuiveringsprocedure met nieuwe monsters.

* Verzeker u ervan dat de apparaten regelmatig zijn gecontroleerd, onderhouden en gekalibreerd volgens de aanwijzingen van de fabrikant.

Opmerkingen en suggesties

- e) De monsters zijn onvolledig gelyseerd
- Controleer vóór gebruik of de Buffers QSL2 en QSB1 geen precipitaat bevatten. Verwijder indien nodig de containers met Buffers QSL1 en QSB1 uit de reagenscartridge (RC) en incubeer deze, onder af en toe schudden, 30 minuten bij 37 °C om het precipitaat op te lossen. Als de reagenscartridge (RC) al is doorgeprikt, zorg dan dat de containers weer worden afgesloten met een sealstrip voor hergebruik en incubeer de hele reagenscartridge (RC), onder af en toe schudden, 30 minuten bij 37 °C in een waterbad.*
- f) De pipettip was verstopt door onoplosbaar materiaal
- Onoplosbaar materiaal is niet uit het monster verwijderd voordat werd gestart met de zuiveringsprocedure van de QIASymphony. Om onoplosbaar materiaal te verwijderen voor virale toepassingen, centrifugeert u het monster 1 minuut bij 3000 x g en brengt u het supernatant over naar een nieuwe monsterbuis.

*Verzeker u ervan dat de apparaten regelmatig zijn gecontroleerd, onderhouden en gekalibreerd volgens de aanwijzingen van de fabrikant.

Opmerkingen en suggesties

QIA Symphony AS detecteert onvoldoende master

Niet alle master is overgebracht naar de buis

Combineer alle buisjes HI Virus-1 RG Master A in een kit voor gebruik in één buisje. Combineer alle buisjes HI Virus-1 RG Master B in een kit voor gebruik in één buisje. Het kan moeilijk zijn om viskeuze reagentia met handmatige pipetten te verwerken. Zorg ervoor dat u het gehele volume master in de buis overbrengt.

Voor viskeuze reagentia raden wij aan om bij gebruik van handmatige pipetten een extra volume van 5% op te zuigen (stel bijv. voor een volume van 800 µl de pipet in op 840 µl).

U kunt ook de vloeistof langzaam uitpipetteren en de pipet tegen de wand van de buis leegblazen, dan de tip uit de vloeistof nemen, de zuiger van de pipet loslaten en nog eens 10 seconden wachten. Achtergebleven vloeistof stroomt dan in de tip naar beneden en kan worden uitgeblazen door de zuiger van de pipet nogmaals in te drukken. Het gebruik van filtertips van PCR-kwaliteit met de aanduiding 'low retention' (lage retentie) kan de hoeveelheid overgebrachte vloeistof verbeteren.

De positieve controles (HI Virus-1 RG QS 1–4) geven geen signaal in fluorescentiekanaal Cycling Green (Cyclisch groen)

a) Het gekozen fluorescentiekanaal voor de analyse van PCR-gegevens voldoet niet aan het protocol

Voor de analyse van gegevens kiest u het fluorescentiekanaal Cycling Green (Cyclisch groen) voor de analytische HI Virus-1-PCR en het fluorescentiekanaal Cycling Orange (Cyclisch oranje) voor de interne controle-PCR.

b) Onjuiste programmering van het temperatuurprofiel van het Rotor-Gene-apparaat

Vergelijk het temperatuurprofiel met het protocol. Zie voor meer informatie het desbetreffende toepassingsblad en protocolblad op www.qiagen.com/products/artushivirusrtpcrkitce.aspx.

Opmerkingen en suggesties

- c) Onjuiste configuratie van de PCR Zorg ervoor dat de assay-setup correct is uitgevoerd en dat de juiste parameterset voor de assay is gebruikt. Herhaal zo nodig de PCR. Zie voor meer informatie het desbetreffende toepassingsblad op www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx.
- d) De bewaarcondities voor een of meer kitonderdelen voldeden niet aan de instructies die worden gegeven in 'Opslag en verwerking van reagentia' (pagina 9) Controleer de bewaarcondities en de houdbaarheidsdatum (zie het etiket van de kit) van de reagentia en neem indien nodig een nieuwe kit.
- e) De uiterste houdbaarheidsdatum van de *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit is verstreken Controleer de bewaarcondities en de houdbaarheidsdatum (zie het etiket van de kit) van de reagentia en neem indien nodig een nieuwe kit.

Zwak of geen signaal van de interne controle van een negatief plasmamonster dat is gezuiverd met gebruik van de QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit in fluorescentiekanaal Cycling Orange (Cyclisch oranje) en tegelijkertijd afwezigheid van een signaal in kanaal Cycling Green (Cyclisch groen)

- a) De PCR-condities voldoen niet aan het protocol Controleer de PCR-condities (zie hierboven) en herhaal indien nodig de PCR met de gecorrigeerde instellingen.
- b) De PCR werd geremd Zorg ervoor dat u de gevalideerde isolatiemethode gebruikt (zie 'Protocol: RNA-isolatie en instelling van de assay op de QIASymphony SP/AS', pagina 12) en volg de aanwijzingen nauwgezet op.

Opmerkingen en suggesties

- c) Tijdens de extractie is RNA verloren gegaan Afwezigheid van een signaal van de interne controle kan wijzen op het verlies van RNA tijdens de extractie. Zorg ervoor dat u de gevalideerde isolatiemethode gebruikt (zie 'Protocol: RNA-isolatie en instelling van de assay op de QIA Symphony SP/AS', pagina 12) en volg de aanwijzingen nauwgezet op.
Zie ook 'Lage opbrengst aan nucleïnezuren' hierboven.
- d) De bewaarcondities voor een of meer kitonderdelen voldeden niet aan de instructies die worden gegeven in 'Opslag en verwerking van reagentia' (pagina 9) Controleer de bewaarcondities en de houdbaarheidsdatum (zie het etiket van de kit) van de reagentia en neem indien nodig een nieuwe kit.
- e) De uiterste houdbaarheidsdatum van de *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit is verstreken Controleer de bewaarcondities en de houdbaarheidsdatum (zie het etiket van de kit) van de reagentia en neem indien nodig een nieuwe kit.

Signalen met de negatieve controles in fluorescentiekanaal Cycling Green (Cyclisch groen) van de analytische PCR

- a) Er is contaminatie opgetreden tijdens de voorbereiding van de PCR Herhaal de PCR in replica's met nieuwe reagentia.
Sluit indien mogelijk de PCR-buisjes direct na toevoeging van het te testen monster af.
Zorg ervoor dat de werkruimte en apparaten regelmatig gedecontamineerd worden.
- b) Er is contaminatie opgetreden tijdens de extractie Herhaal de extractie en de PCR van het te testen monster met gebruikmaking van nieuwe reagentia.
Zorg ervoor dat de werkruimte en apparaten regelmatig gedecontamineerd worden.

Kwaliteitscontrole

Elke partij van de *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit wordt, in overeenstemming met het ISO-gecertificeerde kwaliteitsbeheersysteem van QIAGEN, getest tegen vooraf vastgestelde specificaties om een consistente kwaliteit van het product te waarborgen.

Beperkingen

Alle reagentia mogen uitsluitend worden gebruikt voor in-vitrodiagnostiek.

Het product dient uitsluitend te worden gebruikt door personeel dat speciale instructies en training heeft gekregen in de procedures voor in-vitrodiagnostiek.

Om optimale PCR-resultaten te verkrijgen is het noodzakelijk dat men zich strikt houdt aan de gebruikershandleiding.

Let goed op de uiterste houdbaarheidsdatums op het etiket van de doos en op de etiketten van alle onderdelen. Gebruik geen onderdelen waarvan de uiterste houdbaarheidsdatum is verstreken.

Hoewel dit zelden voorkomt, kunnen mutaties binnen de sterk geconserveerde gebieden van het virale genoom waar de primers van de kit en/of de probe aan binden, ertoe leiden dat de aanwezigheid van het virus in deze gevallen niet wordt gedetecteerd of wordt ondergewaardeerd. De validiteit en de werking van de assay-opzet worden op regelmatige tijden herzien.

Prestatiekenmerken

Zie www.qiagen.com/products/artushivirusrt-pcrkitce.aspx voor de prestatiekenmerken van de *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit.

Referenties

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

Symbolen



Bevat voldoende reagentia voor <N> reacties



Uiterste gebruiksdatum



Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek



Catalogusnummer



Partijnummer



Materiaalnummer



Componenten



Bevat



Nummer



Global Trade Item Number (Artikelnummer wereldhandel)



Temperatuurbeppering



Fabrikant



Raadpleeg de gebruiksaanwijzing



Voorzichtig

Contactgegevens

Neem voor technische ondersteuning en aanvullende informatie contact op met ons centrum voor technische ondersteuning via www.qiagen.com/Support. Ook kunt u bellen naar 00800-22-44-6000 of contact opnemen met de afdeling Technical Service van QIAGEN of de plaatselijke distributeur (zie achterzijde of ga naar www.qiagen.com).

Bestelgegevens

Product	Inhoud	Cat.nr.
<i>artus</i> HI Virus-1 QS-RGQ Kit (24)	Voor 24 reacties: 2 masters, 4 kwantificatiestandaarden, interne controle, water (PCR-klasse)	4513363
<i>artus</i> HI Virus-1 QS-RGQ Kit (72)	Voor 72 reacties: 2 masters, 4 kwantificatiestandaarden, interne controle, water (PCR-klasse)	4513366
QIASymphony RGQ-systeem		
QIASymphony RGQ, System	QIASymphony SP, QIASymphony AS, Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM, benodigde accessoires en verbruiksartikelen, installatie en training	9001850

Zie de (gebruikers)handleiding van de betreffende QIAGEN-kit voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules.

De (gebruikers)handleidingen van QIAGEN Kits zijn verkrijgbaar via www.qiagen.com of kunnen bij de afdeling Technical Services van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur worden aangevraagd.

Deze pagina is met opzet leeg gelaten

Deze pagina is met opzet leeg gelaten

Deze pagina is met opzet leeg gelaten

De aankoop van dit product geeft de koper het recht om het product te gebruiken voor het uitvoeren van diagnostische diensten voor humane in-vitrodiagnostiek. Hierbij wordt door de aanschaf geen algemeen octrooi of andere licentie van enige aard verleend anders dan dit specifieke recht van gebruik.

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

De artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit is een diagnostische kit met CE-markering volgens de Europese Richtlijn 98/79/EG betreffende in-vitrodiagnostiek. Niet in alle landen verkrijgbaar.

Beperkte licentieovereenkomst voor de artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit

Door dit product te gebruiken verklaart de koper of gebruiker zich akkoord met de volgende voorwaarden:

1. Het product mag uitsluitend worden gebruikt in overeenstemming met de protocollen die bij het product en deze handleiding zijn meegeleverd en mag alleen worden gebruikt met onderdelen die zich in de kit bevinden. QIAGEN geeft onder haar intellectuele eigendom geen licentie om de bijgesloten onderdelen van deze kit te gebruiken of samen te stellen met onderdelen die niet bij de kit zijn meegeleverd, behalve zoals beschreven in de protocollen die bij het product en deze handleiding zijn meegeleverd en in aanvullende protocollen die verkrijgbaar zijn op www.qiagen.com. Enkele van deze aanvullende protocollen zijn door QIAGEN-gebruikers geleverd aan QIAGEN-gebruikers. Deze protocollen zijn niet grondig door QIAGEN getest of geoptimaliseerd. QIAGEN garandeert deze protocollen niet en garandeert evenmin dat ze geen rechten van derden schenden.
2. Anders dan uitdrukkelijk gesteld in licenties, garandeert QIAGEN niet dat deze kit en/of het gebruik ervan geen rechten van derden schenden.
3. Deze kit en de onderdelen ervan worden in licentie gegeven voor eenmalig gebruik en mogen niet worden hergebruikt, opgeknapt of doorverkocht.
4. QIAGEN doet in het bijzonder afstand van enige andere licenties die worden genoemd of geïmpliceerd, anders dan de uitdrukkelijk gestelde.
5. De koper en gebruiker van de kit gaan ermee akkoord dat zij geen stappen ondernemen of niemand anders toestaan stappen te ondernemen die tot bovenstaande verboden handelingen kunnen leiden of deze vergemakkelijken. QIAGEN kan de verbodsbepalingen in deze Beperkte licentieovereenkomst afdwingen bij de rechter en zal alle onderzoekskosten en gerechtelijke kosten verhalen, inclusief advocaatkosten, bij elke handeling om deze Beperkte licentieovereenkomst of een intellectueel eigendomsrecht met betrekking tot de kit en/of de componenten ervan af te dwingen.

Raadpleeg www.qiagen.com voor de bijgewerkte licentievoorwaarden.

© 2010-2014 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

www.qiagen.com

Australia ■ techservice-au@qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Belgium ■ techservice-bnl@qiagen.com

Brazil ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

Canada ■ techservice-ca@qiagen.com

China ■ techservice-cn@qiagen.com

Denmark ■ techservice-nordic@qiagen.com

Finland ■ techservice-nordic@qiagen.com

France ■ techservice-fr@qiagen.com

Germany ■ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ■ techservice-hk@qiagen.com

India ■ techservice-india@qiagen.com

Ireland ■ techservice-uk@qiagen.com

Italy ■ techservice-it@qiagen.com

Japan ■ techservice-jp@qiagen.com

Korea (South) ■ techservice-kr@qiagen.com

Luxembourg ■ techservice-bnl@qiagen.com

Mexico ■ techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands ■ techservice-bnl@qiagen.com

Norway ■ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ■ techservice-sg@qiagen.com

Sweden ■ techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland ■ techservice-ch@qiagen.com

UK ■ techservice-uk@qiagen.com

USA ■ techservice-us@qiagen.com

