

Håndbog til *artus*[®] HI Virus-1 RG RT-PCR-kit



24 (katalognr. 4513263)



96 (katalognr. 4513265)

Version 1



Kvantitativ in vitro-diagnostik

Til brug sammen med Rotor-Gene[®] Q-instrumenter



4513263, 4513265



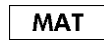
1049310DA



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724

Hilden, TYSKLAND

R5



1049310DA



QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN er den førende leverandør af innovative prøve- og analyseteknologier, som gør det muligt at isolere og detektere indholdet af enhver biologisk prøve. Vores avancerede høj kvalitetsprodukter og -service garanterer succes fra prøve til resultat.

QIAGEN sætter standarder i:


- Oprensning af DNA, RNA og proteiner
- Nukleinsyre- og proteinanalyser
- mikroRNA-undersøgelser og RNAi
- Automatisering af prøve- og analyseteknologier

Det er vores mål sætte dig i stand til at opnå enestående succes og gennembrud. Der findes flere oplysninger på www.qiagen.com.

Indhold

Kittet indeholder	6
Symbols	6
Opbevaring	7
Tilsligtet anvendelse	7
Begrænsninger af produktets anvendelse	8
Advarsler og forholdsregler	8
Kvalitetskontrol	8
Indledning	9
Princip	9
Patogeninformation	9
Ydelsesegenskaber	10
Udstyr og reagenser, der skal leveres af bruger	20
Vigtige bemærkninger	21
Almene forsigtighedsregler	21
Prøveindsamling, opbevaring og transport	21
RNA-isolering	23
Intern kontrol	23
Indstilling af tærsklen for PCR-analysen	24
Kvantitering	24
Protokol: PCR og dataanalyse	26
Fejlfindingsvejledning	36
Litteraturhenvisninger	39
Bestillingsinformation	40

Kittet indeholder

artus HI Virus-1 RG RT-PCR-kit		(24)	(96)
Katalognr.		4513263	4513265
Antal reaktioner		24	96
Blåt	HI Virus-1 RG Master A	2 x 12 reaktioner	8 x 12 reaktioner
Violet	HI Virus-1 RG Master B	2 x 12 reaktioner	8 x 12 reaktioner
Rødt	HI Virus-1 RG QS1* (1x 10 ⁴ IU/μl)	QS 200 μl	200 μl
Rødt	HI Virus-1 RG QS 2* (1x 10 ³ IU/μl)	QS 200 μl	200 μl
Rødt	HI Virus-1 RG QS 3* (1x 10 ² IU/μl)	QS 200 μl	200 μl
Rødt	HI Virus-1 RG QS 4* (1x 10 ¹ IU/μl)	QS 200 μl	200 μl
Grønt	HI Virus-1 RG IC [†]	IC 1000 μl	2 x 1000 μl
Hvidt	Vand (PCR kvalitet)	1000 μl	1000 μl
	Håndbog	 1	1

* Kvantiteringsstandard.

† Intern kontrol.

Symbols

 <N> Indeholder tilstrækkelige reagenser til <N> tests



Anvendes inden



In vitro-diagnostisk medicinsk produkt












Katalognummer



Lot-nummer



Materialenummer


	Komponenter
	Indeholder
	Nummer
	Guanidinhydrochlorid
	Globalt handelsvarenummer
	Temperaturbegrænsning
	Producent
	Læs brugsvejledningen
	Vigtig bemærkning

Opbevaring

Komponenterne i *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet skal opbevares ved -30 °C til -15 °C og er stabile indtil den udløbsdato, der er angivet på etiketten. Gentagne optøninger og genfrysninger (>2 x) bør undgås, da det kan reducere analysens følsomhed. Hvis reagenserne kun bruges forbigående, skal de fryses i aliquotter. Må ikke opbevares ved 2-8 °C i mere end fem timer.

Tilsigtet anvendelse

artus HI Virus-1 RG RT-RGQ-kit er en in vitro nucleinsyre-amplifikationstest til kvantitering af humant immundefektvirus type 1 (HIV-1) RNA i humant plasma. Dette diagnostiske testkit benytter revers transkriptions kædereaktion (RT-PCR) og er konfigureret til brug sammen med RotorGene Q-instrumenter. Testen kan kvantitere HIV-1-RNA i området 120 - 1 x 10⁸ HIV-1 IU/ml. Plasmaprøver indeholdende Gruppe M undertyperne A-H er blevet valideret til brug i analysen.

 *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet må ikke anvendes sammen med RotorGene Q 2plex-instrumenter.

artus HI Virus-1 RG RT-RGQ-kittet er beregnet til brug i forbindelse med klinisk præsentation og andre laboratoriemarkører for sygdomsprognoсе og til brug som hjælp ved vurdering af viralt respons på antiretroviral behandling målt ved ændringer af HIV-1 RNA-niveauer i EDTA-plasma. *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet er ikke beregnet til brug som screeningstest for HIV eller som diagnostisk test til bekræftelse af tilstedeværelse af HIV-infektion.

Begrænsninger af produktets anvendelse

Alle reagenser kan kun anvendes til in vitro-diagnostik.

Produktet må kun anvendes af personale, som er specielt instrueret og uddannet i in vitro-diagnostiske procedurer.

Det er absolut nødvendigt, at protokollen overholdes nøje, for at opnå optimale PCR-resultater.

Bemærk nøje udløbsdatoerne, der er trykt på æsken og etiketterne til alle komponenter. Brug aldrig for gamle komponenter.

Selv om det er sjældent, kan mutationer i de stærkt konserverede områder af det virale genom, der dækkes af kittets primere og/eller probe, resultere i underkvantitering eller manglende evne til at detektere tilstedeværelsen af virusset i disse tilfælde. Analysedesignets gyldighed og ydeevne revideres med jævne mellemrum.

Advarsler og forholdsregler

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der henvises til de relevante sikkerhedsdatablade (SDS) for yderligere information. De findes online i bekvemt og kompakt pdf-format på www.qiagen.com/safety, hvor sikkerhedsdatabladene til hvert QIAGEN® kit og hver kitkomponent kan findes, læses og udskrives.

Kassér prøve- og analyseaffald i henhold til de lokale sikkerhedsbestemmelser.

Kvalitetskontrol

I overensstemmelse med QIAGENs ISO-certificerede kvalitetsstyringssystem testes hvert lot af *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet efter fastlagte specifikationer for at sikre en ensartet produktkvalitet.

Indledning

artus HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet er et brugsklart system til detektion af HIV-1-RNA ved hjælp af polymerasekædereaktion (PCR) på RotorGene Q-instrumenter. HI Virus-1 RG Master A og B indeholder reagenser og enzymer til revers transkription og specifik amplifikation af en 93 bp region af HIV-1-genomet og til direkte detektion af det specifikke amplicon i fluorescenskanalen Cycling Green af RotorGene Q eller Rotor-Gene 6000 eller Cycling A.FAM™ (kilde 470 nm, detektor 510 nm) af Rotor-Gene 3000.

Desuden indeholder *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet et ekstra heterologt amplifikationssystem til identifikation af mulig PCR-inhibition. Denne detekteres som en intern kontrol (IC) i fluorescenskanalen Cycling Orange på RotorGene Q eller Rotor-Gene 6000 eller A.ROX™ (kilde 585 nm, detektor 610 nm) af Rotor-Gene 3000. Detektionsgrænsen for den analytiske HI Virus-1 RT-PCR (se "Analysefølsomhed", side 10) er ikke reduceret. Der leveres eksterne positive kontroller (HI Virus-1 RG QS 1-4), som tillader bestemmelse af mængden af viralt RNA. For yderligere information, se "**Kvantitering**", side 24.

Princip

Patogendetektion via polymerasekædereaktion (PCR) er baseret på amplifikation af specifikke områder af patogenets genom. Det amplificerede produkt detekteres i realtids-PCR via fluorescerende farver. Disse er i reglen knyttet til oligonucleotidprober, der bindes specifikt til det amplificerede produkt. Monitorering af fluorescensintensiteterne under PCR-kørslen (dvs. i realtid) muliggør detektion og kvantitering af det akkumulerede produkt, uden at man behøver genåbne reaktionsglassene efter PCR-kørslen.*

Patogeninformation

Det humane immundefektvirus (HIV) er et retrovirus, der forårsager erhvervet immundefektsyndrom (AIDS). Der er to typer HIV, der er ansvarlige for humane infektioner, HIV-1 og HIV-2, som adskiller sig i deres virulens og prævalens. De fleste rapporterede tilfælde af AIDS verden over er tilskrevet HIV-1. Infektion med HIV forekommer ved overførsel af inficeret blod, vaginalvæske, modermælk og andre kropsvæsker. Inden for disse kropsvæsker er HIV til stede både som frie viruspartikler og virus i inficerede immunceller. De tre vigtigste overførselsveje er ubeskyttet samleje, kontaminerede kanyler og overførsel fra en inficeret moder til hendes barn eller via modermælk.

* Mackay, I.M. (2004) Real-time PCR in the microbiology laboratory. Clin. Microbiol. Infect. **10**, 190.

HIV inficerer primært celler i det humane immunsystem, så som hjælpe-T-celler (specifikt CD4⁺). HIV-infektion medfører lave niveauer af CD4⁺ T-celler. Når antallet af CD4⁺T-celler falder til under et kritisk niveau, går den celleformidlede immunitet tabt, og kroppen bliver stadig mere følsom over for opportunistiske infektioner.

AIDS-symptomer forekommer i et fremskredet stadium af HIV-infektion, når det kompromitterede immunsystem ikke kan bekæmpe opportunistiske infektioner. På dette stadium udvikler den inficerede person i stigende grad symptomer udløst af sådanne infektioner. De mest almindelige infektioner omfatter kronisk cryptosporida diarré, cytomegalovirus-induceret øjeninfektion, pneumocystis-pneumoni, toxoplasmose og tuberkulose samt infektioner med medlemmer af *Mycobacterium avium*-komplekset. Der ses desuden hyppigt udvikling af forskellige typer cancer, så som invasiv cervikal cancer, Kaposi sarkom eller lymfom. For øjeblikket findes der ingen helbredelse af AIDS, og det menes, at de fleste personer med HIV-infektion med tiden vil dø af en AIDS-relateret sygdom. Men fremskridt inden for HIV/AIDS-behandlinger, inklusive dem, der bekæmper selve viruset og dem, der forebygger eller behandler opportunistiske infektioner, har drastisk forbedret den forventede levetid og livskvaliteten for mange HIV/AIDS-patienter.

Ydelsesegenskaber

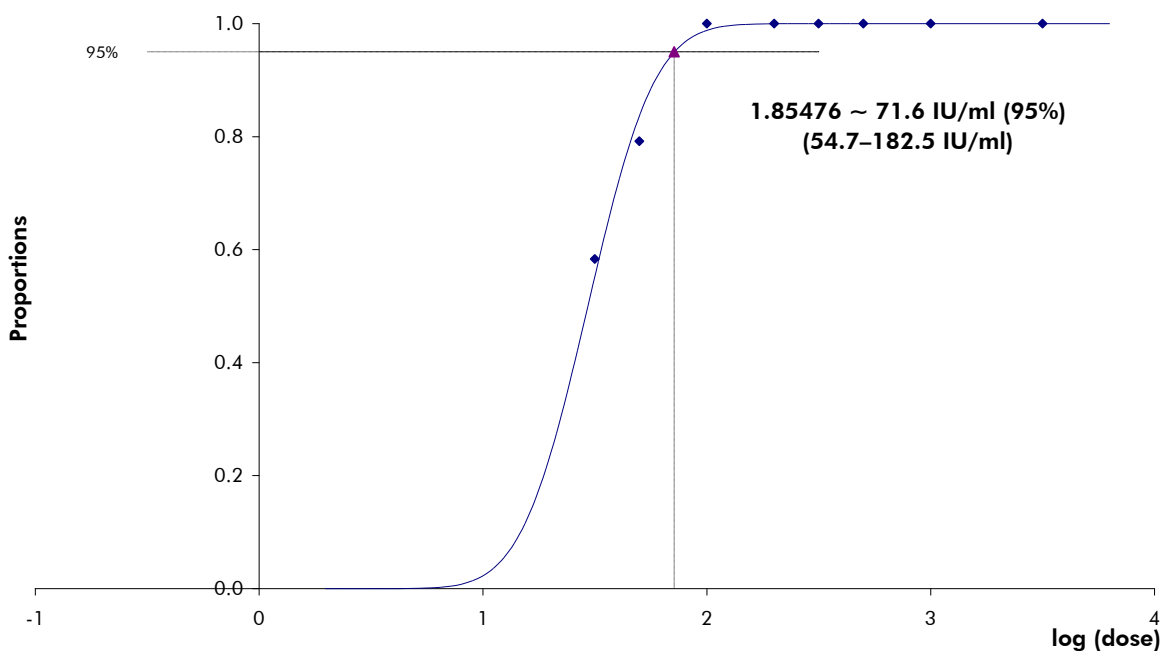
Analysefølsomhed

For valideringen af *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet blev både den analytiske detektionsgrænse og den analytiske detektionsgrænse med hensyn til oprensningen (sensitivitetsgrænser) bestemt. Den analytiske detektionsgrænse med hensyn til oprensningen blev bestemt ved hjælp af HIV-positive kliniske prøver med hensyn til den benyttede oprensningsmetode. I modsætning hertil bestemmes den analytiske detektionsgrænse uafhængigt af den valgte ekstraktionsmetode med anvendelse af en standard med en kendt koncentration.

Til bestemmelsen af den analytiske sensitivitet for *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet blev der udarbejdet en standardfortyndingsrække af 0,0316 til nominelt 31,6 IU*/µl. Denne blev derefter analyseret ved hjælp af *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet på Rotor-Gene 3000. Testene blev gennemført på 3 forskellige dage med 8 replika. Resultaterne blev udarbejdet ved hjælp af en probitanalyse. Den analytiske detektionsgrænse for *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet i kombination med Rotor-Gene 3000 er 4,5 IU/µl (p = 0,05). Det vil sige, at der er 95 % sandsynlighed for, at 4,5 IU/µl vil blive detekteret.

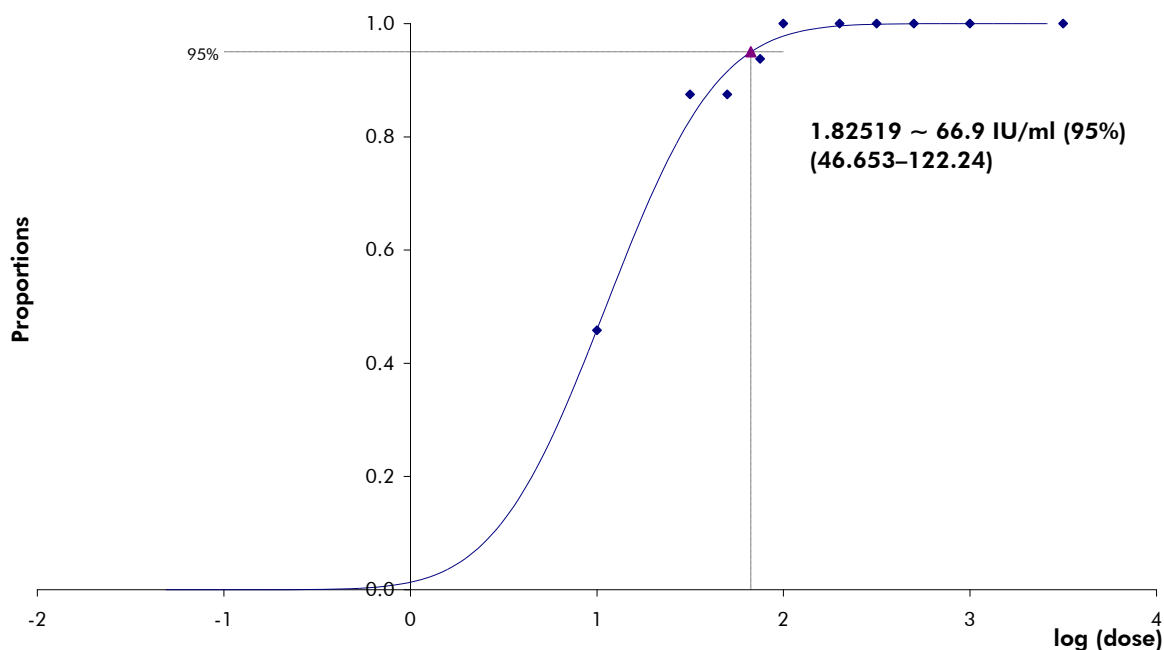
* Standarden er et in vitro-transkriberet RNA, hvis koncentration er kalibreret ved hjælp af den 2. internationale HIV-standard (WHO).

Den analytiske sensitivitet med hensyn til oprensningen (QIAamp® DSP Virus-kit, QUIAGEN) af *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet på Rotor-Gene-instrumenter blev bestemt med en fortyndingsrække af den 2. International WHO Standard for HIV-1-RNA for nukleinsyreamplifikationsteknologi (NAT) (NIBSC-kode 97/650) fra 10 til 3160 HIV IU/ml i kliniske plasmaprøver. Disse blev underkastet en RNA-oprensning med QIAamp DSP Virus Kit (QUIAGEN, ekstraktionsvolumen: 0,5 ml, elueringsvolumen: 25 µl). Hver af de 9 fortyndinger blev analyseret med *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet på 3 forskellige dage med hver 8 replika. Resultaterne blev udarbejdet ved hjælp af en probitanalyse. En grafisk illustration af probitanalysen er vist i figur 1. Den analytiske detektionsgrænse med hensyn til oprensningen af *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet i kombination med Rotor-Gene 3000 er 71,6 IU/ml ($p = 0,05$). Det vil sige, at der er 95 % sandsynlighed for, at 71,6 IE/ml vil blive detekteret.



Figur 1. Probitanalyse: HI Virus-1 (Rotor-Gene 3000). Analytisk sensitivitet med hensyn til oprensningen (QIAamp DSP Virus-kit, QUIAGEN) for *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet på Rotor-Gene 3000.

Den analytiske detektionsgrænse med hensyn til oprensningen af *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet i kombination med Rotor-Gene 3000 er 66,9 IU/ml ($p = 0,05$). Det vil sige, at der er 95 % sandsynlighed for, at 66,9 IE/ml vil blive detekteret.



Figur 2. Probitanalyse: HI Virus-1 (Rotor-Gene 6000). Analytisk sensitivitet med hensyn til oprensningen (QIAamp DSP Virus-kit, QIAGEN) for *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet på Rotor-Gene 6000.

Specificitet

Specificiteten for *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet sikres først og fremmest gennem udvalget af primere og prober samt ved valget af stringente reaktionsbetingelser. Primere og prober blev kontrolleret for mulige homologier med alle i genbanker publicerede sekvenser med sekvenssammenligningsanalyse. Detektérbarheden for alle relevante genotyperer således sikret ved en databasejustering og ved en PCR-kørsel på Rotor-Gene-instrumenter med følgende genotyper (se tabel 1).

Desuden blev specificiteten valideret med 100 forskellige HIV-negative plasmaprøver. Disse genererede ikke nogen signaler med HIV-specifikke primere og prober, som indgår i HI Virus-1 RG Master.

En potentiel krydsreaktivitet i *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet blev testet med den kontrolgruppe, der er angivet i tabel 2. Ingen af de testede patogener har været reaktive. Der viste sig ingen krydsreaktiviteter ved blandede infektioner.

Tabel 1. Testning af relevante genotypers specificitet

Virus	Genotype	Kilde	HIV (FAM)	Intern kontrol (ROX)
HI Virus-1	A	NIBSC*	+	+
HI Virus-1	B	NIBSC	+	+
HI Virus-1	C	NIBSC	+	+
HI Virus-1	D	NIBSC	+	+
HI Virus-1	E	NIBSC	+	+
HI Virus-1	F	NIBSC	+	+
HI Virus-1	G	NIBSC	+	+
HI Virus-1	H	NIBSC	+	+

* National Institute for Biological Standards and Control, Hertfordshire.

Tabel 2. Testning af kittets specificitet med potentielt krydsreaktive patogener

Kontrolgruppe	HIV (Cycling Green eller Cycling A.FAM)	Intern kontrol (Cycling Orange eller Cycling A.ROX)
Hepatitis A-virus	-	+
Hepatitis B-virus	-	+
Hepatitis C-virus	-	+
Humant herpesvirus 1 (herpes simplex-virus 1)	-	+
Humant herpesvirus 2 (herpes simplex-virus 2)	-	+
Humant herpesvirus 3 (varicella-zoster-virus)	-	+
Humant herpesvirus 5 (cytomegalovirus)	-	+

Tabellen fortsættes på næste side

Tabel 2. Fortsat

Kontrolgruppe	HIV (Cycling Green eller Cycling A.FAM)	Intern kontrol (Cycling Orange eller Cycling A.ROX)
Human T- celleleukæmivirus type 1 og type 2	–	+
Enterovirus	–	+
Parvovirus B19	–	+
Gul feber	–	+
<i>Aspergillus flavus</i>	–	+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	–	+
<i>Candida albicans</i>	–	+
<i>Chlamydia trachomatis</i>	–	+
<i>Cryptosporidium parvum</i>	–	+
<i>Filobasidiella neoformans</i>	–	+
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	–	+
<i>Pneumocystis carinii</i>	–	+
<i>Staphylococcus</i> sp.	–	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	–	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	–	+

Det lineære område af kvantificeringen

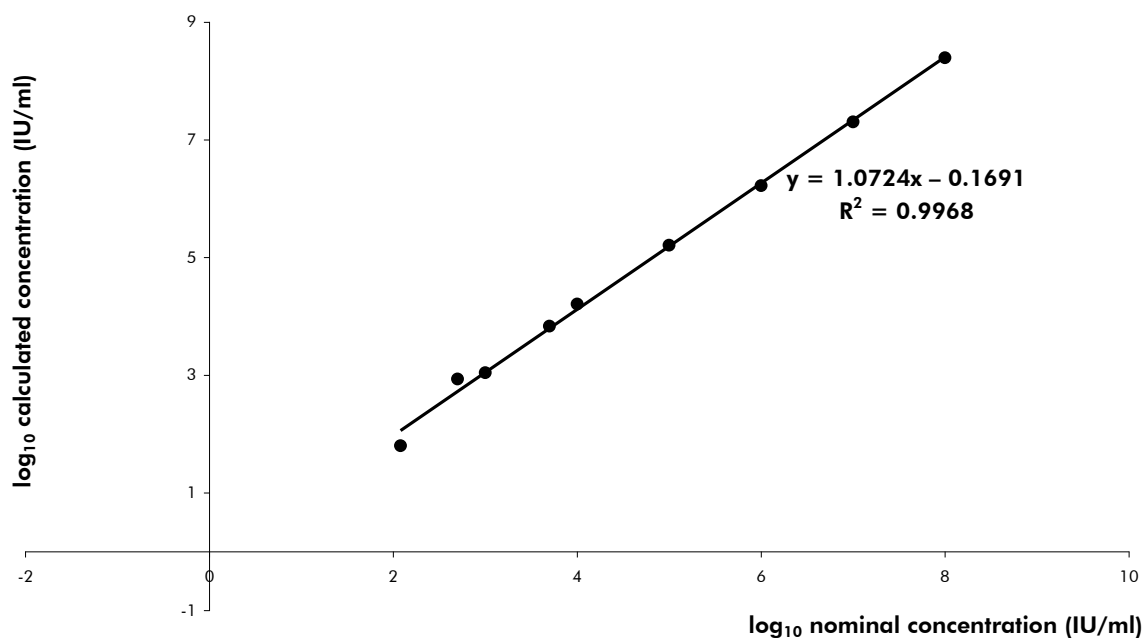
Det lineære område (analytisk måling) af *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet blev bestemt ved at analysere en fortyndingsrække af en HIV in vitro transkript fra 1×10^8 IU/ μ l til 1 IU/ μ l. Fortyndingsrækken blev i forvejen kalibreret imod "WHO 1st International HIV DNA Standard".

Ethvert fortyndingstrin blev testet i replika ($n = 8$) med *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet på Rotor-Gene-instrumenter.

Det lineære område af kvantificeringen af *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet omfatter dermed koncentrationer fra $5 \text{ IU}/\mu\text{l}$ til minimum $1 \times 10^8 \text{ IU}/\mu\text{l}$.

Det lineære område med hensyn til oprensningen af *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet blev bestemt ved at analysere en fortyndingsrække af OptiQuant HIV-1 RNA Quantification Panel fra $1 \times 10^8 \text{ IU}/\mu\text{l}$ til $120 \text{ IU}/\mu\text{l}$.

Oprrensningen blev udført i duplikater ved hjælp af QIAamp DSP Virus Kit (ekstraktionsvolumen: $0,5 \text{ ml}$, elueringsvolumen: $25 \mu\text{l}$). Hver af de 9 prøver blev analyseret med *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet. Det lineære område med hensyn til oprensningen af *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet omfatter dermed koncentrationer fra $120 \text{ IU}/\mu\text{l}$ til minimum $1 \times 10^3 \text{ IU}/\mu\text{l}$ (se figur 3).



Figur 3. Lineært område for *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet. Beregning af det lineære område. Den lige linje blev bestemt ved en lineær regression af de beregnede \log_{10} -koncentrationer med de nominelle \log_{10} -koncentrationer. Formlen for regressionslinjen er medtaget i figuren.

Præcision

Præcisionsdata for *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet er indsamlet ved hjælp af Rotor-Gene instrumenter og tillader bestemmelsen af totalvariansen for testsystemet. Den totale varians består af variabilitet inden for analysen ($\times 10^3$; variabiliteten af flere resultater af prøver med samme koncentration inden for et eksperiment), variabiliteten mellem prøverne ($\times 10^3$; variabiliteten af flere resultater af analysen genereret på forskellige instrumenter af samme type af forskellige operatører inden for et laboratorium) og variabiliteten

mellem batches (variabiliteten af flere resultater af analysen ved brug af forskellige batches). De opnåede data blev brugt til at bestemme standardafvigelsen, variansen og variationskoefficienten for den patogenspecifikke og den interne kontrol-PCR.

Disse præcisionsdata blev bestemt for *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet på baggrund af kvantificeringsstandarder med den laveste koncentration (QS4; 10 IU/ μ l). Testene blev foretaget med 8 replika. Præcisionsdata blev beregnet på basis af C_T -værdierne af amplifikationskurverne (C_T : tærskelcyklus, se tabel 3). Baseret på disse resultater er den samlede statistiske spredning af enhver given prøve med den nævnte koncentration 1,66 % (C_T) og 2,15 % (C_T) for detektion af den interne kontrol. Disse værdier er baseret på den samlede mængde af alle enkelte værdier for de bestemte variabiliteter.

Tabel 3. Præcisionsdata på basis af C_T -værdierne

	C_T - værdi	Standardafvigelse	Variationskoefficient (%)
Variabilitet inden for analysen: HI Virus-1 RG QS 4	35,62	0,45	1,26
Variabilitet inden for analysen: Intern kontrol	31,24	0,18	0,58
Variabilitet mellem analyser: HI Virus-1 RG QS 4	35,75	0,56	1,55
Variabilitet mellem analyser: Intern kontrol	31,65	0,36	1,13
Variabilitet mellem batches: HI Virus-1 RG QS 4	35,40	0,61	1,73

Variabilitet mellem batches:	31,20	0,55	1,76
Intern kontrol			
Total varians:			
HI Virus-1 RG QS 4	35,58	0,59	1,66
Total varians:			
Intern kontrol	31,40	0,67	2,15

Robusthed

Kontrol af robustheden bruges til bestemmelsen af den samlede udskillelsesrate for *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet. Hertil blev benyttet 100 HIV negative plasmaprøver blandet med hver 4,5 IU/ μ l elueringsvolumen HIV- kontrol-RNA (tredobbelt koncentration af den analytiske sensitivitetsgrænse). Efter oprensningen med QIAamp DSP Virus Kit blev disse prøver analyseret med *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet. Fejlraten udgjorde for alle HIV-prøver 0 %. Robustheden af den interne kontrol blev yderligere kontrolleret gennem oprensning og analyse af 100 HIV-negative plasmaprøver. Den samlede fejlrate var 0 %. Der observeredes ingen inhibition. Dermed er robustheden for *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet ≥ 99 %.

Reproducerbarhed

Dataene for reproducerbarheden registreres for at kunne foretage en regelmæssig vurdering af effekten af *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet samt for en sammenligning med effekten af andre produkter. Disse data indhentes ved deltagelse i standardiserede præstationsprogrammer.

Diagnostisk evaluering

artus HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet blev vurderet i et studie. Ved sammenligning af *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet med COBAS® TaqMan® HIV-1 Test blev 241 plasmaprøver analyseret retrospektivt. Alle plasmaprøver blev foranalyseret positive eller negative ved hjælp af COBAS TaqMan HIV-1 Test til rutinediagnosticering.

HCV-RNA'et til test af *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet blev isoleret ved hjælp af QIAamp DSP Virus-kittet, og analysen blev udført på Rotor-Gene 6000-instrumentet. Til sammenlignende test med COBAS TaqMan HIV-1 Test blev HIV-RNA isoleret ifølge producentens anvisninger i indlægssedlen. De resultater, der blev opnået med *artus* HI Virus-1 RG PCR-kittet, blev

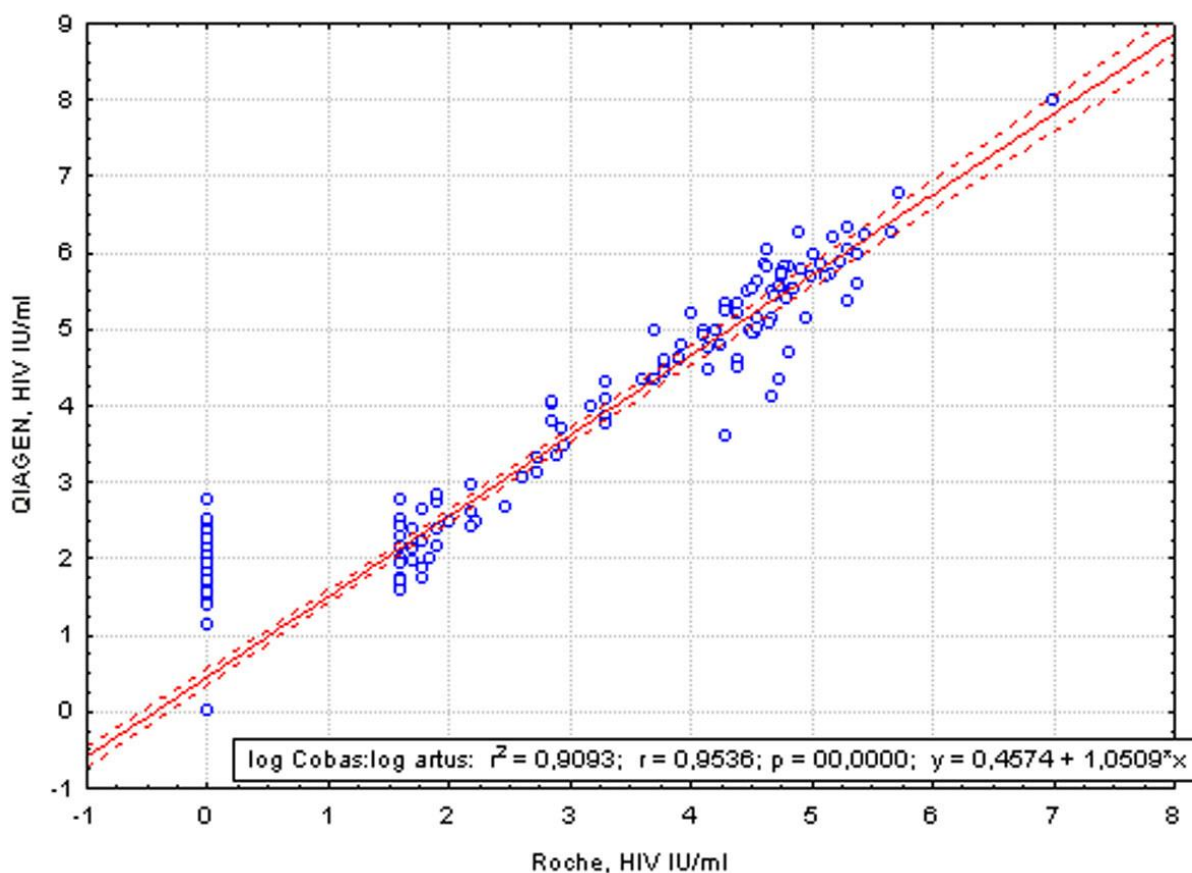
sammenlignet med resultaterne af COBAS TaqMan HIV-1 Test (se tabel 4 og figur 4).

105 af 126 prøver, der blev testet positive med COBAS TaqMan HIV-1 Test, var også positive med *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet. 113 af 115 prøver, der blev testet negative med COBAS TaqMan HIV-1 Test, var også negative med *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet.

Hvis resultaterne af COBAS TaqMan HIV-1 Test ruges som reference, er den diagnostiske følsomhed 98,1 %, og den diagnostiske specificitet er 84,3 %.

Tabel 4. Resultaterne af de 241 analyserede retrospektive EDTA-plasmaprøver

		COBAS TaqMan HIV-1 Test		
		+	-	Samlet
artus HI Virus-1 RG RT-PCR-kit	+	105	21	126
	-	2	113	115



Figur 4. Sammenligning af COBAS TaqMan HIV-1 Test (Roche, HCV; med prøveoprensning med COBAS AmpliPrep system) med artus HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet (QIAGEN, HIV; med prøveoprensning med QIAamp DSP Virus-kittet).

Korrelationen af de kvantitative resultater af begge testsystemer (tabel 4) blev analyseret ved hjælp af en lineær regression. Resultaterne fra begge kit er vist i et XY-diagram (spredningsdiagram) med log-log-skala.

Udstyr og reagenser, der skal leveres af bruger

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der findes mere information i de tilhørende sikkerhedsdatablade (material safety data sheets, SDSs), som kan fås hos den pågældende leverandør.

- RNA-isoleringskit (se "**RNA-isolering**", side 23)
- Pipetter (justerbare)*
- Sterile pipettespidser med filtre
- Vortex-mixer*
- Bordcentrifuge* med rotor til 2 ml reagensglas
- Rotor-Gene Q- eller Rotor-Gene-instrument*[†] med fluorescenskanaler til Cycling Green og Cycling Orange eller med fluorescenskanaler til Cycling A.FAM og Cycling A.ROX
- Rotor-Gene Q softwareversion 1.7.94 (Rotor-Gene 6000 softwareversion 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94, Rotor-Gene 3000 softwareversion 6.0.23) eller nyere
- Striprør og hætter, 0,1 ml til brug med 72-brøndsrotor (katalognr. 981103 eller 981106)
- Alternativ mulighed: PCR-rør, 0,2 ml, til brug med 36-brøndsrotor (katalognr. 981005 eller 981008)
- Cooling block (Loading Block 72 x 0,1 ml rør, katalognr. 9018901 eller Loading Block 96 x 0,2 ml rør, katalognr. 9018905)

* Sørg for, at instrumenterne regelmæssigt kontrolleres og kalibreres efter producentens anvisninger.

[†] *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet må ikke anvendes sammen med Rotor-Gene Q 2plex-instrumenter.

Vigtige bemærkninger

Almene forsigtighedsregler


Brugeren skal altid være opmærksom på følgende:

- Brug sterile pipettespidser med filtre.
- Positivt materiale (prøver, positive kontroller, amplifikater) skal opbevares og oprenses adskilt fra de øvrige reagenser og tilsættes reaktionsblandingen i et separat rum.
- Optø alle komponenter grundigt ved stuetemperatur (15-25 °C), før en analyse påbegyndes.
- Når komponenterne er optøet, blandes de (ved at pipettere op og ned flere gange eller med en pulsvortexblanding) og centrifugeres kort.
- Arbejd hurtigt, og hold PCR-komponenterne på is eller i køleblokken (72/96-brønds påfyldningsblok).

Prøveindsamling, opbevaring og transport

 Alle prøver skal behandles som potentielt smittefarlige.

Det er kun tilladt at bruge følgende prøvematerialer, og følgende regler og specifikke vejledninger vedrørende indsamling, transport og opbevaring skal nøje overholdes.

 Hidtil foreliggende data viser, at EDTA- eller citrat-plasma er de prøvematerialer, som er bedst egnet til detektion af HIV. Vi anbefaler derfor, at disse materialer anvendes med *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet.

Den interne validering af *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet blev gennemført med prøver af humant EDTA-plasma. Andre prøvematerialer er ikke valideret. Du bør udelukkende bruge det anbefalede RNA-isolerings-kit (se "**RNA-isolering**", side 23) til klargøring af prøver.

Ved brug af visse prøvematerialer skal specifikke vejledninger vedrørende indsamling, transport og opbevaring nøje overholdes.

Prøveudtagning

Enhver blodprøve forårsager en skade på blodkar (arterier, vener, kapillærer). Der bør kun anvendes uskadeligt og sterilt materiale. Til udtagning af blodprøver findes der egnede engangsmaterialer. Til venepunktur må der ikke benyttes for fine kanyler. Udtagning af venøst blod skal ske i passende dele af albuebøjningen, underarmen eller håndryggen. Blod skal udtages med standard prøverør (rød hætte, Sarstedt eller tilsvarende rør fra anden

producent). Der skal udtages et volumen på 5-10 ml EDTA blod. Rørene skal blandes højt oppe direkte efter prøveudtagningen (8 x, må ikke omrystes).

i Prøver fra hepariniserede personer må ikke anvendes (se "Forstyrrende substanser", side 22).

Opbevaring af prøver

Fuldblod skal separeres i plasma og cellulære komponenter ved centrifugering i 20 minutter ved 800-1600 x g inden for 6 timer. Det isolerede plasma skal overføres til sterile polypropylenrør. Effekten af testen kan nedsættes, når prøverne nedfryses flere gange og opbevares i en længere tid. Virus-indkapslet RNA er stabilt i dage, hvis det opbevares ved 4°C, i uger hvis det opbevares ved -20 °C, og endog i måneder og år, hvis det opbevares ved -70 °C.*

Transport af prøver

Prøvemateriale skal principielt transporteres i en knusningssikker transportbeholder. Dermed kan en potentiel infektionsfare som følge af udlækkende prøvemateriale undgås. Prøverne skal transporteres efter de gyldige lokale og statslige forskrifter vedrørende transporten af sygdomsfremkaldende stoffer.†

Prøverne skal afsendes inden for 6 timer. Det anbefales ikke at prøven opbevares på afgangsstedet. Transport som almindelig postforsendelse er mulig, dog skal forskrifterne for opbevaring overholdes under transporten. Vi anbefaler, at prøven transporteres med kurer. Blodprøverne skal sendes på køl (2-8 °C) og separeret plasma i dybfrossen tilstand (-15 til -30 °C).

Forstyrrende substanser

Forhøjede bilirubin- (≤ 15 mg/dl) og lipidværdier (≤ 800 mg/dl) såvel som hæmolytiske prøver påvirker ikke systemet. Heparin (≥ 10 IE/ml) påvirker PCR. Prøver, der er indsamlet i rør, der indeholder heparin som antikoagulant, bør ikke anvendes. Prøver fra hepariniserede patienter må heller ikke anvendes.

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

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

RNA-isolering

QIAamp DSP Virus-kittet (QIAGEN, kat. nr. 60704) er valideret til viral RNA-oprensning fra humant plasma til brug sammen med *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet. Udfør den virale DNA-oprensning i henhold til anvisningerne i *Håndbog til QIAamp DSP Virus-kit*.

i Anvendelsen af carrier-RNA er af afgørende betydning for oprensningens effektivitet og dermed for DNA-/RNA-udbyttet. For at opnå en højere stabilitet af den i QIAamp DSP Virus Kit vedlagte carrier-RNA bør angivelserne for rekonstruktion og opbevaring af carrier-RNA i brugsanvisningen ("Preparing reagents and buffers") følges.

Før hver oprensning påbegyndes, skal der klargøres en blanding af lysisbuffer og carrier-RNA (og intern kontrol, hvor det er relevant, se "Intern kontrol" herunder) frisk i henhold til pipetteringsplanen i tabel 5.

Tabel 5. Pipetteringsplan for anvendelse af QIAamp DSP Virus-kittet

Antal prøver	1	12
Lysisbuffer (AL)*	550 μ l	6600 μ l
Carrier-RNA (1 μ g/ μ l)	6,2 μ l	74,4 μ l
Totalt volumen	556,2 μl	6674,4 μl
Volumen pr. ekstraktion	500 μl	500 μl hver

* Indeholder guanidinhydrochlorid; se *Håndbogen for QIAamp DSP Virus-kit* for sikkerhedsoplysninger.

i Brug straks den frisk klargjorte blanding af lysisbuffer og carrier-RNA til oprensning. Det er ikke muligt at opbevare blandingen.

i Den interne kontrol til *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet kan bruges direkte i isoleringsproceduren (se "**Intern kontrol**" herunder).

Intern kontrol

Der medfølger en intern kontrol (HI Virus-1 RG IC). Dette giver brugeren mulighed for både at kontrollere RNA-isoleringsproceduren og kontrollere for mulig PCR-inhibition. Til denne anvendelse tilsættes den interne kontrol i et forhold, der svarer til 0,1 μ l pr. 1 μ l elueringsvolumen til oprensningen. Ved brug af f.eks. QIAamp DSP Virus-kittet elueres RNA'et i 60 μ l elueringsbuffer (AVE). Derfor bør 6 μ l af den interne kontrol tilsættes initialt.

i Den interne kontrol og carrier-RNA (se "**RNA-isolering**", side 23) bør kun tilsættes blandingen af lysisbuffer og prøvemateriale eller direkte til lysisbufferen.

Den interne kontrol må ikke direkte tilsættes prøvematerialet. Ved tilsætningen til lysisbufferen skal der sørges for, at blandingen af den interne kontrol og lysisbuffer/carrier-RNA forberedes frisk og tilsættes med det samme (opbevaring af blandingen ved stuetemperatur eller i køleskabet kan allerede efter få timer føre til fravær af den interne kontrol og til en reduceret oprensningseffektivitet).

i Pipetter ikke den interne kontrol og carrier-RNA direkte i prøvematerialet.

Alternativt kan den interne kontrol anvendes udelukkende til kontrol af en mulig PCR-inhibition. Til denne anvendelse tilsættes den interne kontrol direkte til blandingen af HI Virus-1 RG Master A og HI Virus-1 RG Master B som beskrevet i trin 2b i protokollen (side 27).

Indstilling af tærsklen for PCR-analysen

De optimale tærskelindstillinger for en given kombination af Rotor-Gene Q-instrumentet og *artus* RG PCR-kittet skal sættes empirisk ved at teste hver individuel kombination, eftersom det er en relativ værdi, afhængig af den generelle diagnostiske arbejdsgang. Som udgangspunkt kan tærsklen indstilles på en præliminær værdi på 0,04 til analysen af den første PCR-kørsel, men denne værdi skal finindstilles i en komparativ analyse af de næste kørsler af arbejdsgangen. Tærsklen skal indstilles manuelt lige over baggrundssignalet for de negative kontroller og negative prøver. Tærskelmiddelværdien, som beregnes ud fra disse eksperimenter, vil sandsynligvis fungere for de fleste kørsler, men brugeren skal alligevel gennemgå den genererede tærskelværdi med jævne mellemrum. Tærskelværdien vil sædvanligvis ligge i intervallet 0,03-0,05 og skal afrundes til højst tre decimaler.

Kvantitering

De medfølgende kvantiteringsstandarder (HI Virus-1 RG QS 1-4) behandles som en allerede oprenset prøve og anvendes i samme volumen (20 µl). For at generere en standardkurve på Rotor-Gene Q-instrumenter bør alle 4 kvantiteringsstandarder bruges og defineres i dialogboksen "Edit Samples" (Rediger prøver) som standarder med de specificerede koncentrationer (se instrumentets brugervejledning).

① Kvantiteringsstandarderne defineres som IU/ μ l.* Følgende formel skal anvendes til at omregne de værdier, som er bestemt ved hjælp af standardkurven, til IE/ml prøvemateriale:

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

Det initiale prøvevolumen skal altid indsættes i ovenstående formel. Det skal tages i betragtning, når prøvevolumen ændres før nukleinsyreekstraktionen (f.eks. reduktion af volumen ved centrifugering eller øgning af volumen ved at tilsætte det nødvendige volumen til isoleringen).

Konverteringsfaktor

1 IU/ml svarer til 0,50 kopier/ml til detektion af HIV-1-RNA på Rotor-Gene Q i kombination med manuel prøveklargøring med QIAamp DSP Virus-kittet. Konverteringsfaktoren er en tilnærmelse, der er baseret på en gennemsnitsfaktor på tværs af analysens dynamiske område.

* Standarden er kalibreret ved hjælp af 1st International HIV-standard (WHO).

Protokol: PCR og dataanalyse

Vigtige anvisninger før start

- Før proceduren påbegyndes, bør "**Vigtige bemærkninger**", side 21-24 gennemlæses.
- Tag dig tid til at lære Rotor-Gene Q at kende, før du starter protokollen. Se brugervejledningen til instrumentet.
- Sørg for, at mindst en kvantiteringsstandard og en negativ kontrol (vand, PCR-kvalitet) er med i hver PCR-kørsel. For at generere en standardkurve bruges alle 4 kvantiteringsstandarder, der medfølger (HI Virus-1 RG QS 1-4) for hver PCR-kørsel.

Ting, der skal gøres før start

- Sørg for, at køleblokken (tilbehør til Rotor-Gene Q-instrumentet) er forkølet til 2-8°C.
- Alle reagenser skal, inden testen startes, optøs fuldstændigt ved stuetemperatur, blandes godt (gentagen pipettering eller kort vortexen) og centrifugeres kort.

Procedure

- 1. Anbring det ønskede antal PCR-rør i køleblokkens adaptere.**
- 2. Hvis du anvender den interne kontrol til at monitorere oprensningen af RNA og til at kontrollere en eventuel inhibition af PCR, følges trin 2a. Hvis du kun anvender den interne kontrol til at kontrollere en inhibition af PCR, følges trin 2b.**
- 2a. Den interne kontrol er allerede tilsat oprensningen (se "Intern kontrol", side 23). I dette tilfælde klargøres en Master Mix ifølge tabel 6.**

Reaktionsblandingen indeholder typisk alle de komponenter, der skal anvendes til PCR, undtagen prøven.

Tabel 6. Klargøring af Master Mix (intern kontrol anvendes til at monitorere RNA-oprensning og kontrollere for PCR-inhibition)

Antal prøver	1	12
HI Virus-1 RG Master A	12 μ l	144 μ l
HI Virus-1 RG Master B	18 μ l	216 μ l
HI Virus-1 RG IC	0 μ l	0 μ l
Totalt volumen	30 μl	360 μl

- 2b. Den interne kontrol skal tilsættes direkte til blandingen af HI Virus-1 Master A og HI Virus-1 Master B. I dette tilfælde klargøres en Master Mix ifølge tabel 7.**

Reaktionsblandingen indeholder typisk alle de komponenter, der skal anvendes til PCR, undtagen prøven.

Tabel 7. Klargøring af Master Mix (intern kontrol anvendes kun til at kontrollere for PCR-inhibition)

Antal prøver	1	12
HI Virus-1 RG Master A	12 μ l	144 μ l
HI Virus-1 RG Master B	18 μ l	216 μ l
HI Virus-1 RG IC	2 μ l	24 μ l
Totalt volumen	32 μl*	384 μl*

* Volumenforhøjelsen, som opstår på grund af den interne kontrol, er irrelevant. Sensitiviteten for detektionssystemet påvirkes ikke.

- 3. Pipetter 30 μ l af Master Mix i hvert PCR-rør. Tilsæt derefter 20 μ l af det eluerede prøve-RNA (se tabel 8). Der skal tilsvarende bruges 20 μ l af mindst én af kvantiteringsstandarderne (HI Virus-1 RG QS 1-4) som positiv kontrol og 20 μ l vand (vand, PCR-kvalitet) som negativ kontrol.**

Tabel 8. Opsætning af PCR-reaktion

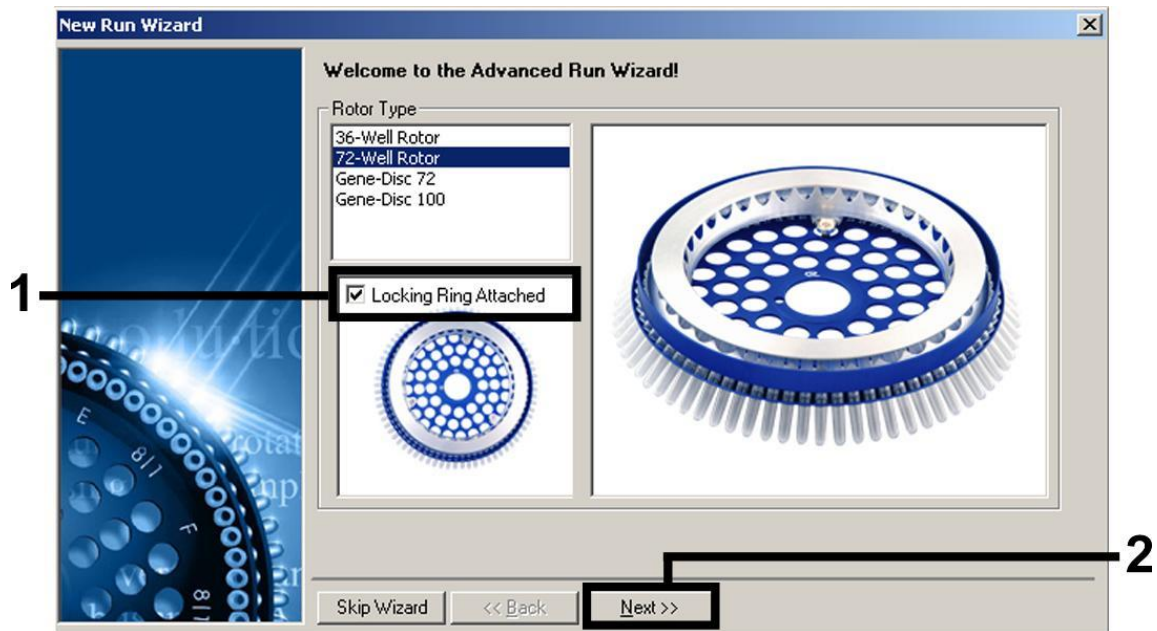
Antal prøver	1	12
Master-blanding	30 μ l	30 μ l hver
Prøve	20 μ l	20 μ l hver
Totalt volumen	50 μl	50 μl hver

- 4. Luk PCR-rørene. Sørg for, at låseringen (tilbehør til Rotor-Gene-instrumentet) er placeret oven på rotoren for at forebygge utilsigtet åbning af rørene under kørslen.**
- 5. Til detektion af HIV-1-RNA oprettes en temperaturprofil i henhold til de følgende trin.**

Indstilling af generelle analyseparametre	Figur 5, 6, 7
Revers transkription af RNA	Figur 8
Indledende aktivering af hot-start enzymet	Figur 9
Amplifikation af cDNA'et	Figur 10
Justering af fluorescenskanalens følsomhed	Figur 11
Start af kørsel	Figur 12

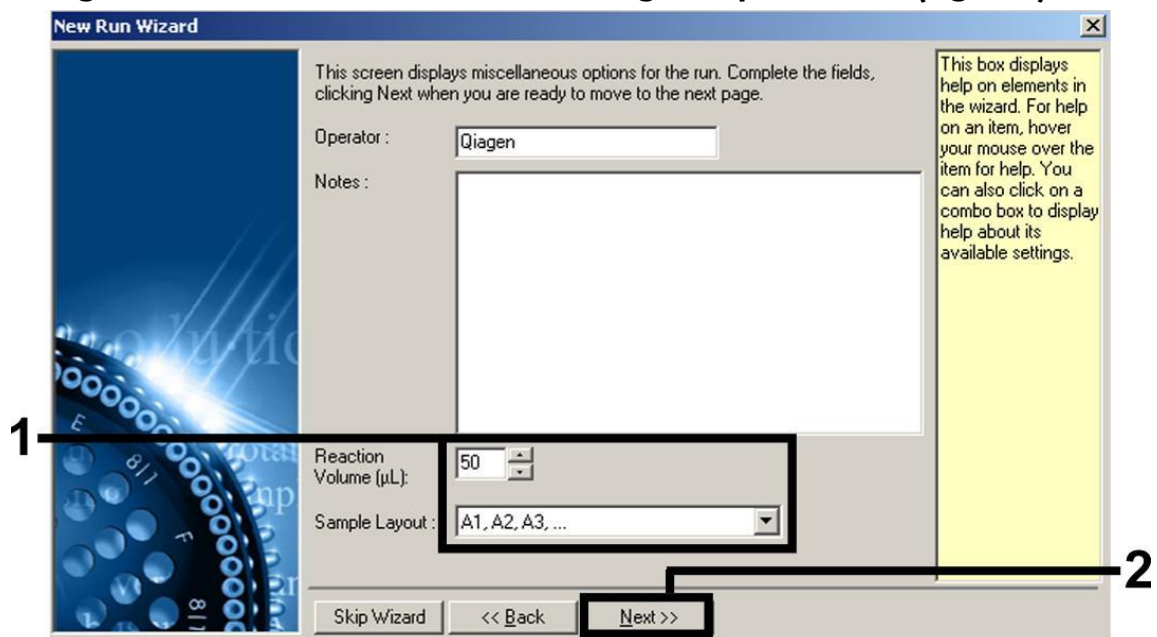
Alle specifikationer henviser til Rotor-Gene Q softwareversion 1.7.94 (Rotor-Gene 6000 softwareversion 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94, Rotor-Gene 3000 softwareversion 6.0.23). Yderligere oplysninger om programmering af Rotor-Gene Q-instrumenter kan ses i instrumentets brugervejledning. I illustrationerne er disse illustrationer indrammet med en fed, sort streg. Der er illustrationer til Rotor-Gene Q-instrumenter. Når der skal anvendes andre værdier til Rotor-Gene 3000, er forskellene beskrevet i teksten.

6. Åbn først dialogboksen "New Run Wizard" (Hjælp til ny kørsel) (figur 5). Marker afkrydsningsfeltet "Locking Ring Attached" (Låsering påsat), og klik på "Next" (Næste).



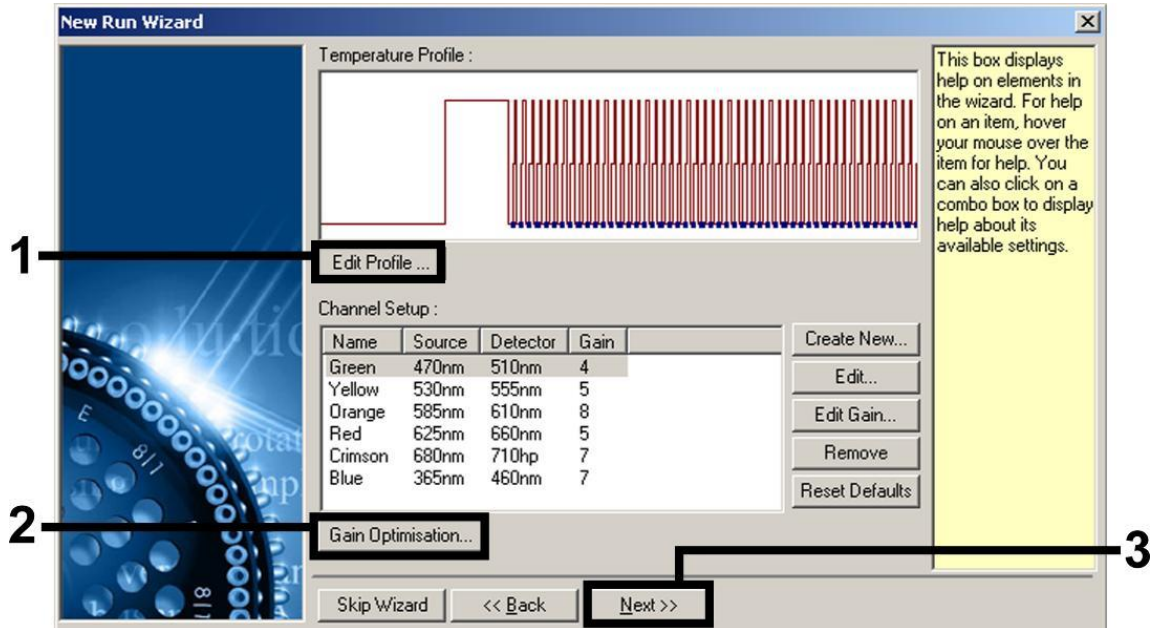
Figur 5. Dialogboksen "New Run Wizard".

7. Vælg 50 for PCR-reaktionsvolumen, og klik på "Next" (figur 6).

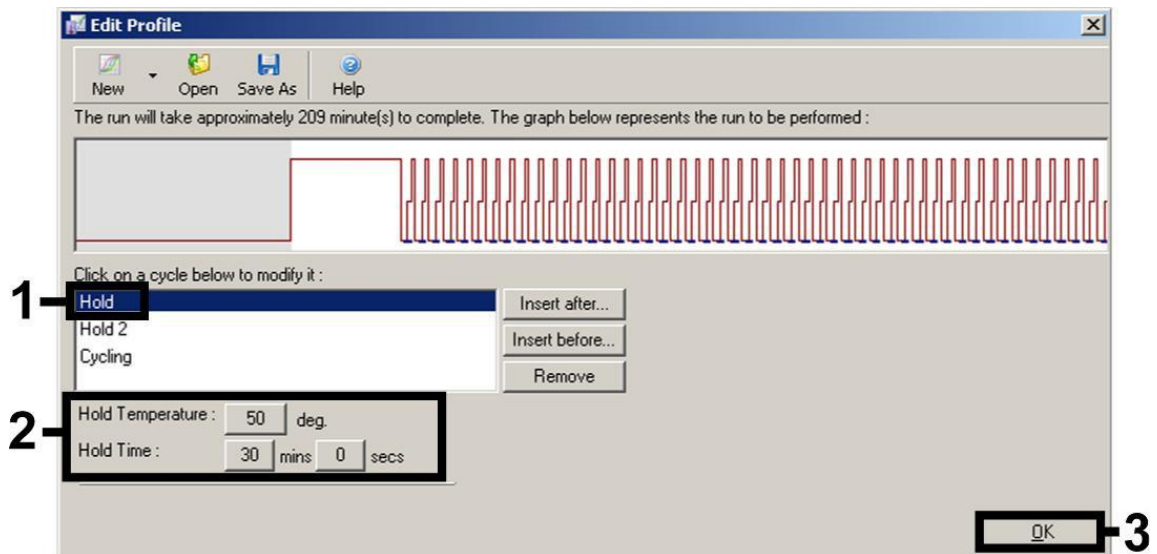


Figur 6. Indstilling af generelle analyseparametre.

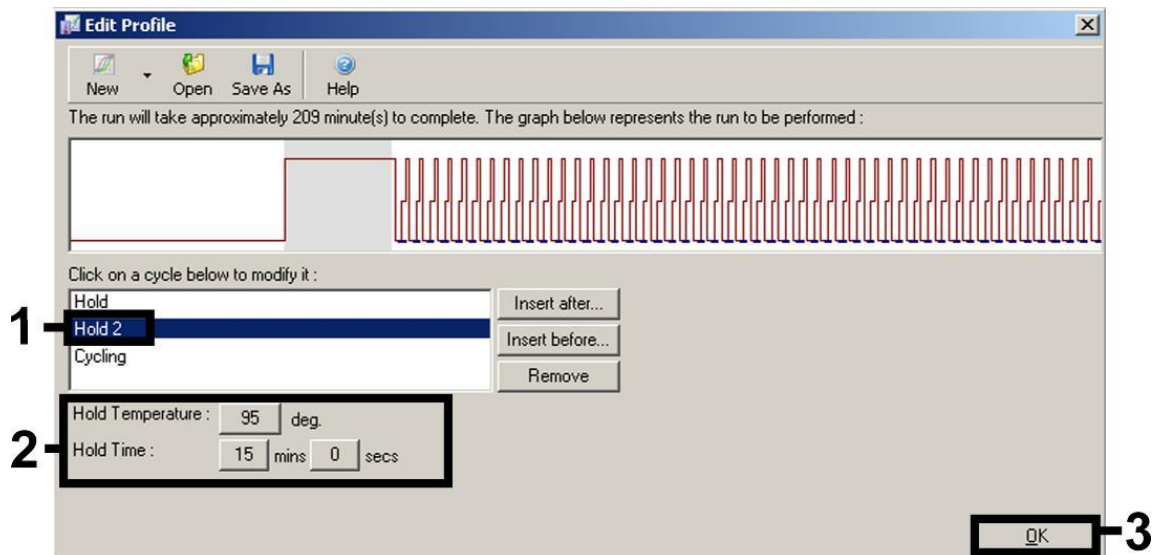
8. Klik på knappen "Edit Profile" (Rediger profil) i den næste dialogboks "New Run Wizard" (figur 7) og programmer temperaturprofilen som vist i figur 7-10).



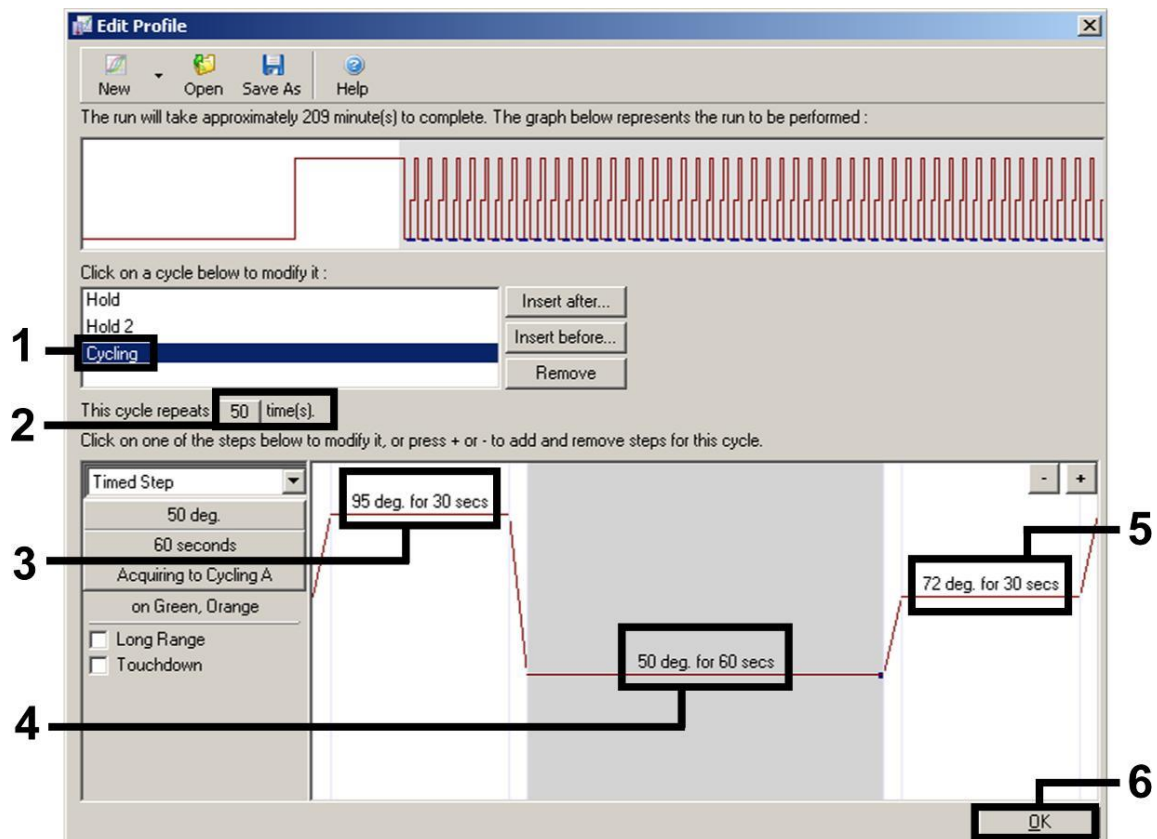
Figur 7. Redigering af profilen.



Figur 8. Revers transkription af RNA.

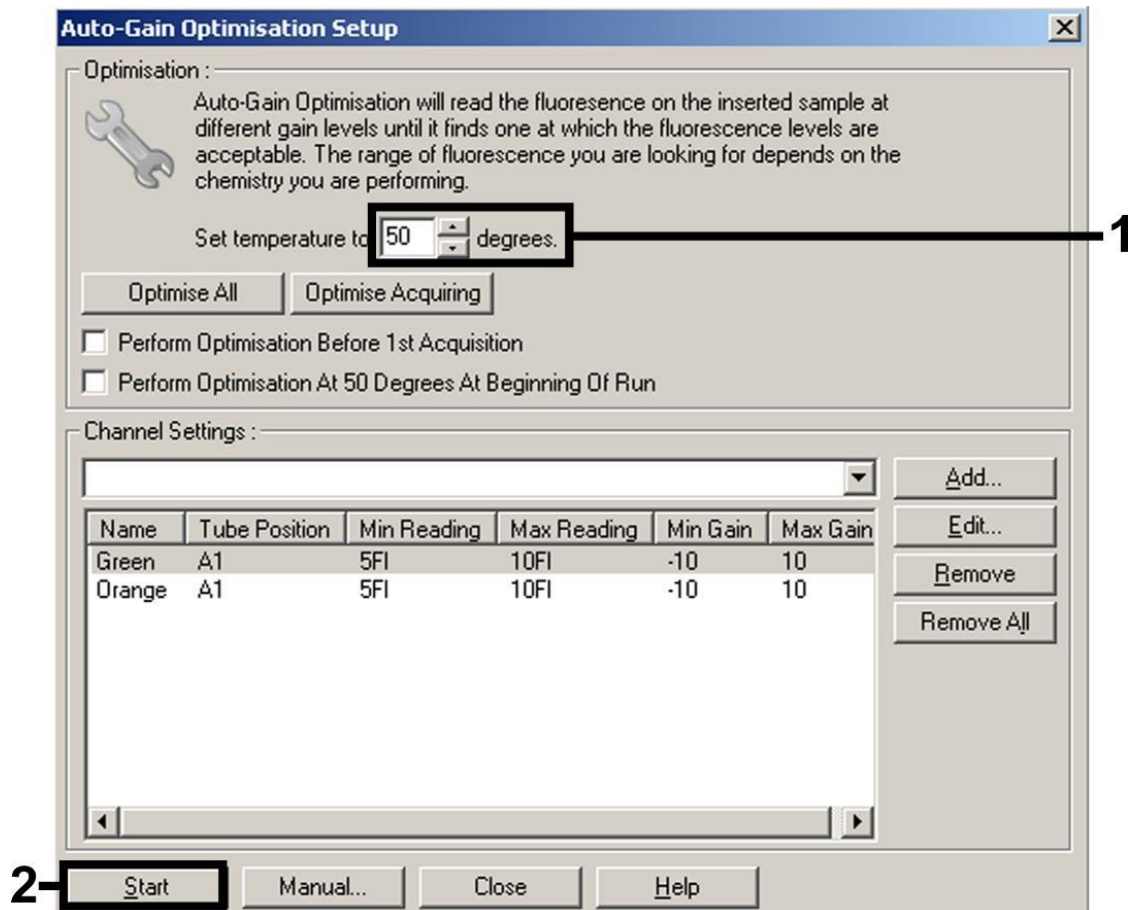


Figur 9. Indledende aktivering af hot-start enzymet.



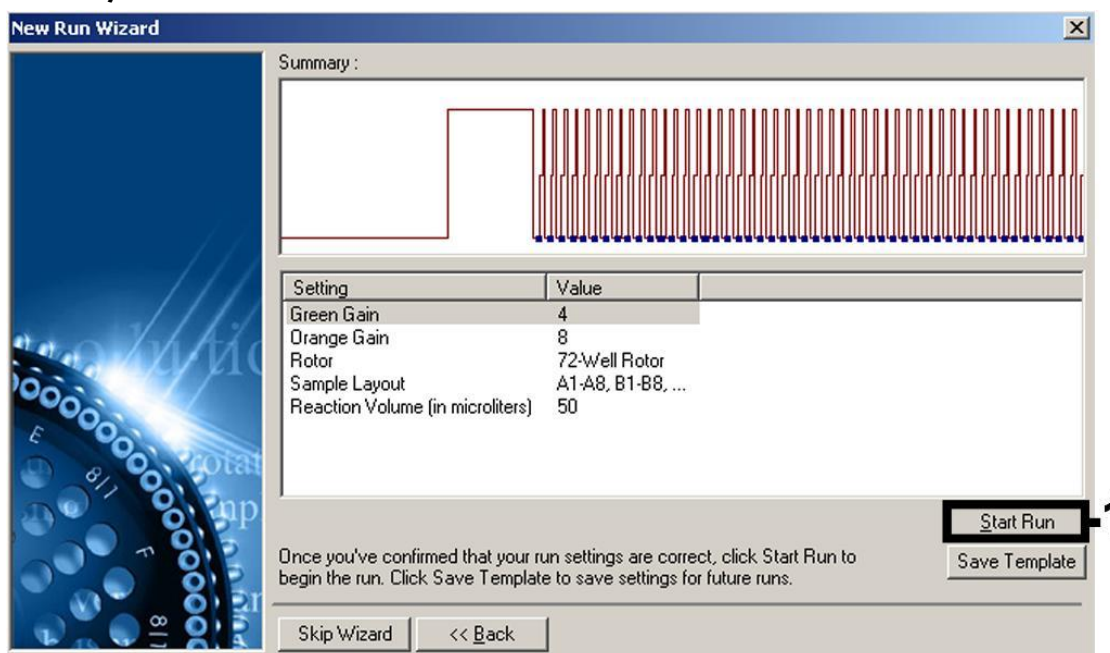
Figur 10. Amplifikation af cDNA'et. Bemærk, at softwaren på Rotor-Gene 3000 vil definere fluorescensfarver som "FAM/Sybr, ROX".

9. Detektionsområdet for fluorescenskanalerne skal bestemmes i henhold til fluorescensintensiteterne i PCR-rørene. Klik på "Gain-Optimisation" (Gain-optimering) i dialogboksen "New Run Wizard" (se figur 7) for at åbne dialogboksen "Auto-Gain Optimisation Setup" (Opsætning af automatisk gain-optimering). Indstil kalibreringstemperaturen til 50 for at matche amplifikationsprogrammets afhærdningstemperatur (figur 11).



Figur 11. Justering af fluorescenskanalens følsomhed. Bemærk, at softwaren på Rotor-Gene 3000 vil definere fluorescensfarver som "FAM/Sybr" og "ROX".

10. Gain-værdierne, der bestemmes af kanalkalibreringen, gemmes automatisk og angives i det sidste menuvindue i programmeringsproceduren (figur 12). Klik på "Start Run" (Start kørsel).



Figur 12. Start kørslen. Bemærk, at softwaren på Rotor-Gene 3000 vil definere fluorescensfarver som "FAM/Sybr" og "ROX".

11. . Følgende resultater (11a, 11b og 11c) er mulige.

Eksempler på positive og negative PCR-reaktioner er givet i figur 13 og figur 14.

Tabel 9 indeholder retningslinjer vedrørende tolkning af kvantitative resultater.

11a. Der er detekteret et signal i fluorescenskanalen Cycling Green. Analysens resultat er positivt: prøven indeholder HIV-1-RNA.

I dette tilfælde er detektion af et signal i kanalen Cycling Orange unødvendigt, idet høje indledende koncentrationer af HIV-1-RNA (positivt signal i Cycling Green-kanalen) kan medføre reduceret eller manglende fluorescenssignal fra den interne kontrol i Cycling Orange-kanalen (konkurrence).



Bemærk, at de relevante kanaler på Rotor-Gene 3000 er Cycling A.FAM for det positive signal og Cycling A.ROX for den interne kontrol.

11b. Der er ikke detekteret noget signal i fluorescenskanalen Cycling Green. Samtidig vises et signal fra den interne kontrol i Cycling Orange-kanalen.

I prøven kan der ikke påvises HIV-1-RNA. Den kan betragtes som negativ.

I tilfælde af en negativ HI Virus-1 RT-PCR udelukker det detekterede signal af den interne kontrol muligheden for RT-PCR-inhibition.

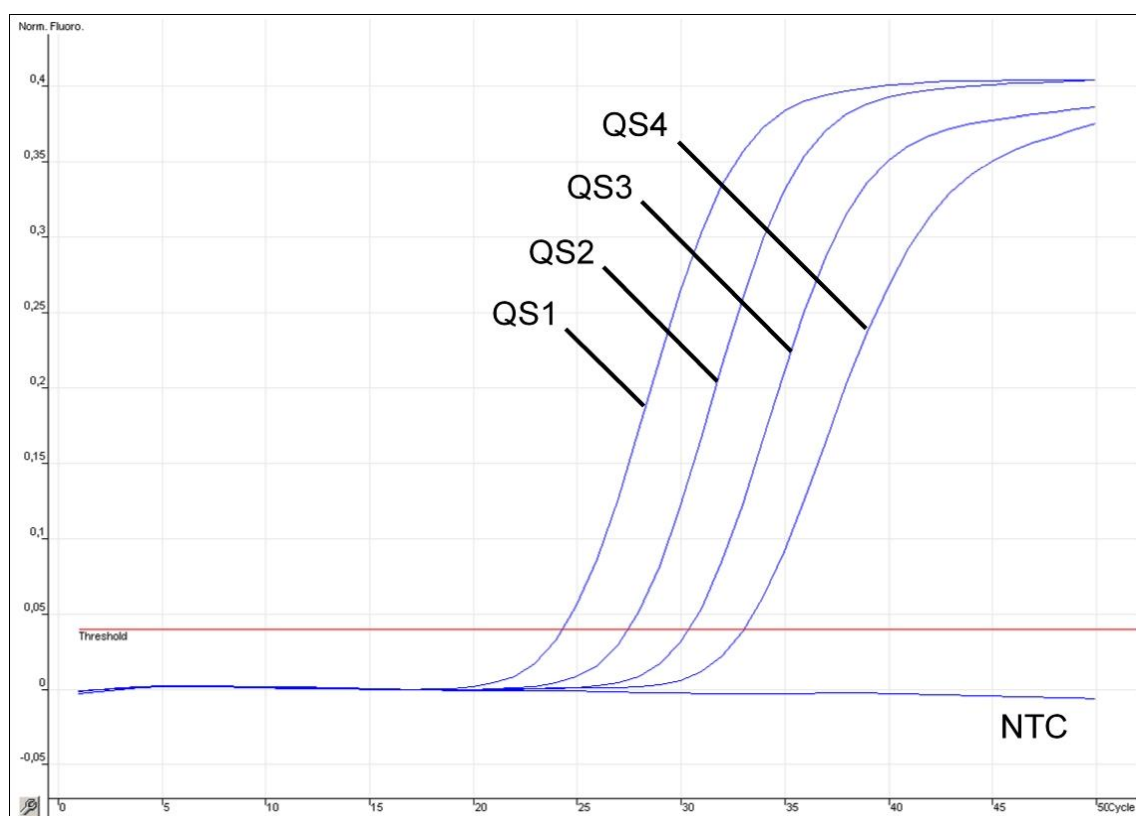
i Bemærk, at de relevante kanaler på Rotor-Gene 3000 er Cycling A.ROX for den interne kontrol og intet signal for Cycling A.FAM.

11c. Intet signal detekteret i Cycling Green eller Cycling Orange-kanalerne.

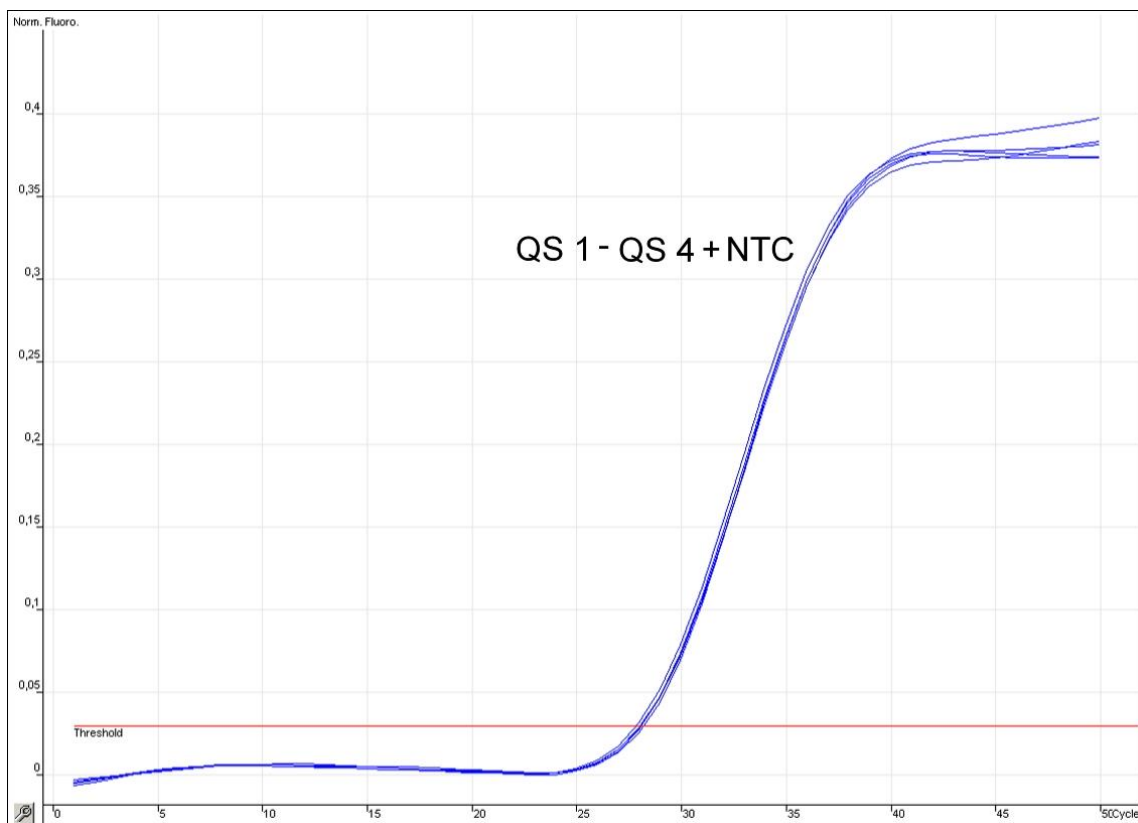
Der kan ikke udledes noget resultat.

Information vedrørende fejlkilder og deres løsning kan findes i "Fejlfindingsvejledning", side 36.

i Bemærk, at de relevante kanaler på Rotor-Gene 3000 er Cycling A.FAM og Cycling A.ROX.



Figur 13. Detektion af kvantiteringsstandarderne (HI Virus-1 RG QS 1-4) i fluorescenskanalen Cycling Green. NTC: Ingen skabelonkontrol (negativ kontrol).



Figur 14. Detektion af den interne kontrol (IC) i fluorescenskanalen Cycling Orange med samtidig amplifikation af kvantiteringsstandarderne (HI Virus-1 RG QS 1-4). NTC: Ingen skabelonkontrol (negativ kontrol).

Tabel 9. Tolkning af kvantitative resultater

Resultat	Tolkning
HIV-RNA >72 IU/ml	Resultatet ligger inden for det bestemte testområde. Detektionssandsynligheden for HIV-RNA is >95 %. Det positive testresultat er statistisk sikret.
HIV-RNA <72 IU/ml	Resultatet ligger uden for det bestemte testområde. Reproducerbarheden af det positive resultat er ikke garanteret.
HIV-RNA negativ	Intet HIV-RNA blev detekteret.






Fejlfindingsvejledning

I denne fejlfindingsvejledning kan der findes brugbare henvisninger, som kan hjælpe ved løsningen af eventuelle problemer. Der findes desuden flere informationer på siden "Frequently Asked Questions" [Hyppigt stillede spørgsmål] hos vores tekniske supportcenter:

www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Derudover svarer personalet fra QIAGENs tekniske service gerne på spørgsmål vedrørende informationen og protokollerne i denne håndbog eller prøve- og analyseteknologier (kontaktinformation: se bagsiden, eller besøg www.qiagen.com).

Kommentarer og forslag

Intet signal ved positive kontroller (HI Virus-1 RG QS 1-4) i fluorescenskanalen Cycling Green eller Cycling A.FAM

- | | |
|---|--|
| a) Den valgte fluorescenskanal for PCR-dataanalyse stemmer ikke overens med protokollen |  Ved dataanalyse vælges fluorescenskanalen Cycling Green eller Cycling A.FAM til analytisk HI Virus-1 RT-PCR og fluorescenskanalen Cycling Orange eller Cycling A.ROX til den interne kontrol RT-PCR. |
| b) Ukorrekt programmering af temperaturprofilen for RotorGene-instrumentet |  Sammenlign temperaturprofilen med protokollen. Se " Protokol: PCR og dataanalyse ", side 26. |
| c) Ukorrekt konfiguration af PCR |  Kontrollér dine arbejdsstrin ved hjælp af pipetteringsskemaet, og gentag PCR, hvis det er nødvendigt. Se " Protokol: PCR og dataanalyse ", side 26. |
| d) Opbevaringsbetingelserne for en eller flere kitkomponenter var ikke i overensstemmelse med de instruktioner, der er angivet i " Opbevaring " (side 7) |  Kontrollér opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit. |
| e) <i>artus</i> HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet er udløbet |  Kontrollér opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit. |

Kommentarer og forslag

Svagt eller intet signal fra den interne kontrol i fluorimeterkanalen Cycling Orange eller Cycling A.ROX og samtidigt fravær af signal i kanalen Cycling Green eller Cycling A.FAM

- a) PCR-betingelserne stemmer ikke overens med protokollen
- ⓘ Kontrollér PCR-betingelserne (se herover), og gentag om nødvendigt PCR med korrigerede indstillinger.
- b) PCR blev hæmmet
- ⓘ Sørg for at bruge den anbefalede isoleringsmetode, og følg producentens vejledning nøje.
- c) Der foreligger tab af RNA forårsaget af oprensningen
- ⓘ Hvis den interne kontrol er tilsat til ekstraktionen, kan et manglende signal fra den interne kontrol være tegn på tab af RNA under ekstraktionen. Sørg for at bruge den anbefalede isoleringsmetode (se "**RNA-isolering**", side 23), og følg producentens vejledning nøje.
- d) Opbevaringsbetingelserne for en eller flere kitkomponenter var ikke i overensstemmelse med de instruktioner, der er angivet i "**Opbevaring**" (side 7)
- ⓘ Kontrollér opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit.
- e) *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet er udløbet
- ⓘ Kontrollér opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit.

Kommentarer og forslag

Signaler med de negative kontroller i fluorescenskanalen Cycling Green eller Cycling A.FAM eller i den analytiske PCR

- a) Kontamination under klargøring af PCR
- ① Gentag PCR med nye reagenser i replika.
 - ① Luk om muligt PCR-rørene umiddelbart efter tilsætning af den prøve, der skal testes.
 - ① Positiv-kontrollerne skal pipetteres til sidst.
 - ① Sørg for, at arbejdspladsen og instrumenterne dekontamineres jævnligt.
- b) Der forekom kontamination under ekstraktion
- ① Gentag ekstraktion og PCR for den prøve, der skal testes, med nye reagenser.
 - ① Sørg for, at arbejdspladsen og instrumenterne dekontamineres jævnligt.

Litteraturhenvisninger

QIAGEN vedligeholder en stor, ajourført onlinedatabase med videnskabelige publikationer, hvor QIAGENS produkter er anvendt. De avancerede søgefunktioner gør det muligt at finde de artikler, du har brug for, enten med en simpel nøgleordssøgning eller ved at angive applikation, forskningsområde, titel osv.

En fuldstændig referenceliste kan fås ved at besøge QIAGENS referencedatabase online på www.qiagen.com/RefDB/search.asp eller kontakte QIAGENS tekniske service eller den lokale forhandler.

Bestillingsinformation

Produkt	Indhold	Kat. nr.
<i>artus</i> HI Virus-1 RG RT-PCR-kit (24)	Til 24 reaktioner: 2 Masters, 4 kvantiteringsstandarder, intern kontrol, vand (PCR-kvalitet)	4513263
<i>artus</i> HI Virus-1 RG RT-PCR-kit (96)	Til 96 reaktioner: 2 Masters, 4 kvantiteringsstandarder, intern kontrol, vand (PCR-kvalitet)	4513265
QIAamp DSP Virus-kit — til oprensning af virale nukleinsyrer fra humant plasma til in vitro-diagnostiske formål		
QIAamp DSP Virus Kit	Til 50 klargøringer: QIAamp MinElute [®] spin-spalter, buffere, reagenser, spalte-ekstendere og VacConnectors	60704
Rotor-Gene Q MDx — til IVD-valideret PCR-analyse i realtid til klinisk anvendelse		
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Realtids-PCR-cycler med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet), bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Realtids-PCR-cycler med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet), bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Realtids-PCR-cycler og Højopløselig smelteanalysator med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002033

Produkt	Indhold	Kat. nr.
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Realtids-PCR-cycler og Højopløselig smelteanalysator med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9002032
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Realtids-PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grøn, gul, orange, rød, violet), inkl. bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002043
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Realtids-PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grøn, gul, orange, rød, violet), inkl. bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9002042
Rotor-Gene Q — for enestående ydeevne i realtids-PCR		
Rotor-Gene Q 5plex System	Realtids-PCR-cycler med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet), bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9001640
Rotor-Gene Q 5plex Platform	Realtids-PCR-cycler med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet), bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9001570
Rotor-Gene Q 5plex HRM System	Realtids-PCR-cycler og Højopløselig smelteanalysator med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9001650

Produkt	Indhold	Kat. nr.
Rotor-Gene Q 5plex HRM Platform	Realtids-PCR-cycler og Højopløselig smelteanalysator med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9001580
Rotor-Gene Q 6plex System	Realtids-PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grøn, gul, orange, rød, violet), inkl. bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9001660
Rotor-Gene Q 6plex Platform	Realtids-PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grøn, gul, orange, rød, violet), inkl. bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9001590
Rotor-Gene Q-tilbehør		
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Aluminiumsblok til manuel opsætning af reaktion med en etkanalspipette i 72 x 0,1 ml rør	9018901
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Aluminiumsblok til manuel opsætning af reaktion i et standard 8 x 12-array med 96 x 0,2 ml rør	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 strips a 4 rør og hætter til 1000 reaktioner	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 strips a 4 rør og hætter til 10.000 reaktioner	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 tyndvæggede rør til 1000 reaktioner	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 tyndvæggede rør til 1000 reaktioner	981008

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

Denne side skal være tom

Denne side skal være tom

Ved køb af dette produkt må køber anvende det til at udføre diagnostiske tjenester til human in vitro-diagnostik. Der gives ikke hermed noget generelt patent eller anden form for licens end denne specifikke brugsret via købet.

Varemærker: QIAGEN®, QIAamp®, artus®, MinElute®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); COBAS®, TaqMan® (Roche Group); FAM™, ROX™ (Life Technologies Corporation); SYBR® (Molecular Probes, Inc.).

artus HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet og QIAamp DSP Virus-kittet er CE-mærkede diagnostiske kit i overensstemmelse med EU's direktiv om medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik 98/79/EØF. Ikke tilgængeligt i alle lande.

Aftale om begrænset licens

Brug af dette produkt betyder, at enhver køber eller bruger af artus HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet accepterer følgende vilkår:

1. artus HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet må kun bruges i overensstemmelse med håndbogen til artus HI Virus-1 RG RT-PCR-kittet, og kun med de komponenter, der følger med kittet. QIAGEN giver ingen licens, under nogen intellektuel ejendomsret, til at bruge eller inkorporere komponenterne i dette kit med komponenter, der ikke er inkluderet i dette kit, undtagen som beskrevet i håndbogen til artus HI Virus-1 RG RT-PCR-kit og yderligere protokoller, som er tilgængelige på www.qiagen.com.
2. Ud over de udtrykkeligt givne licenser giver QIAGEN ingen garanti for, at dette kit og/eller brugen af det ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
3. Dette kit og dets komponenter er under licens til engangsbrug og må ikke genbruges, gendannes eller videresælges.
4. QIAGEN afviser specifikt alle andre licenser, udtrykte eller underforståede, end dem, der udtrykkeligt er angivet.
5. Køberen og brugeren af kittet indvilliger i ikke at tage, eller lade andre tage, skridt, der kunne føre til eller fremme handlinger, der forbydes ovenfor. QIAGEN kan håndhæve forbuddene i denne begrænsede licensaftale i enhver ret, og vil inddrive alle undersøgelses- og retsomkostninger, herunder advokatsalærer, i ethvert søgsmål for at håndhæve denne begrænsede licensaftale samt alle deres intellektuelle ejendomsrettigheder i forbindelse med kittet og/eller komponenterne deri.

For opdaterede licensbetingelser henvises der til www.qiagen.com.

© 2015 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.

www.qiagen.com

Australia ■ Orders 1-800-243-800 ■ Fax 03-9840-9888 ■ Technical 1-800-243-066

Austria ■ Orders 0800-28-10-10 ■ Fax 0800-28-10-19 ■ Technical 0800-28-10-11

Belgium ■ Orders 0800-79612 ■ Fax 0800-79611 ■ Technical 0800-79556

Brazil ■ Orders 0800-557779 ■ Fax 55-11-5079-4001 ■ Technical 0800-557779

Canada ■ Orders 800-572-9613 ■ Fax 800-713-5951 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

China ■ Orders 86-21-3865-3865 ■ Fax 86-21-3865-3965 ■ Technical 800-988-0325

Denmark ■ Orders 80-885945 ■ Fax 80-885944 ■ Technical 80-885942

Finland ■ Orders 0800-914416 ■ Fax 0800-914415 ■ Technical 0800-914413

France ■ Orders 01-60-920-926 ■ Fax 01-60-920-925 ■ Technical 01-60-920-930 ■ Offers 01-60-920-928

Germany ■ Orders 02103-29-12000 ■ Fax 02103-29-22000 ■ Technical 02103-29-12400

Hong Kong ■ Orders 800 933 965 ■ Fax 800 930 439 ■ Technical 800 930 425

Ireland ■ Orders 1800 555 049 ■ Fax 1800 555 048 ■ Technical 1800 555 061

Italy ■ Orders 800-789-544 ■ Fax 02-334304-826 ■ Technical 800-787980

Japan ■ Telephone 03-6890-7300 ■ Fax 03-5547-0818 ■ Technical 03-6890-7300

Korea (South) ■ Orders 080-000-7146 ■ Fax 02-2626-5703 ■ Technical 080-000-7145

Luxembourg ■ Orders 8002-2076 ■ Fax 8002-2073 ■ Technical 8002-2067

Mexico ■ Orders 01-800-7742-639 ■ Fax 01-800-1122-330 ■ Technical 01-800-7742-436

The Netherlands ■ Orders 0800-0229592 ■ Fax 0800-0229593 ■ Technical 0800-0229602

Norway ■ Orders 800-18859 ■ Fax 800-18817 ■ Technical 800-18712

Singapore ■ Orders 1800-742-4362 ■ Fax 65-6854-8184 ■ Technical 1800-742-4368

Spain ■ Orders 91-630-7050 ■ Fax 91-630-5145 ■ Technical 91-630-7050

Sweden ■ Orders 020-790282 ■ Fax 020-790582 ■ Technical 020-798328

Switzerland ■ Orders 055-254-22-11 ■ Fax 055-254-22-13 ■ Technical 055-254-22-12

UK ■ Orders 01293-422-911 ■ Fax 01293-422-922 ■ Technical 01293-422-999

USA ■ Orders 800-426-8157 ■ Fax 800-718-2056 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

