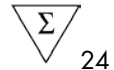


Novembre 2019

# Manuale di *artus*<sup>®</sup> EBV QS-RGQ Kit



Diagnostica in vitro quantitativa

Per l'uso con gli strumenti QIA Symphony<sup>®</sup> SP/AS e Rotor-Gene<sup>®</sup> Q

Versione 2

IVD

CE

REF

4501363



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R1 MAT

1119830IT

# Indice

Usò previsto .....	3
Sommario e spiegazioni .....	4
Informazioni sull'agente patogeno .....	4
Principio della procedura .....	4
Set di controllo dell'esame e set di parametri dell'esame .....	5
Materiali in dotazione .....	6
Contenuto del kit .....	6
Materiale necessario ma non in dotazione .....	7
Avvertenze e precauzioni .....	8
Informazioni sulla sicurezza .....	8
Precauzioni generali .....	9
Conservazione e manipolazione dei reagenti .....	9
Conservazione e manipolazione dei campioni .....	9
Purificazione del DNA virale .....	10
Isolamento del DNA e setup dell'esame sugli strumenti QIA Symphony SP/AS .....	11
Esecuzione di PCR sul Rotor-Gene Q .....	17
Guida alla risoluzione dei problemi .....	18
Controllo di qualità .....	22
Limitazioni .....	22
Caratteristiche delle prestazioni .....	22
Simboli .....	23
Informazioni per gli ordini .....	25
Cronologia delle revisioni del documento .....	26

# Uso previsto

*artus*<sup>®</sup> EBV QS-RGQ Kit è un test in vitro per l'amplificazione degli acidi nucleici usato per quantificare il DNA del virus di Epstein-Barr (Epstein-Barr Virus, EBV). Questo kit diagnostico utilizza la reazione a catena della polimerasi (Polymerase Chain Reaction, PCR) ed è configurato per l'uso sugli strumenti QIASymphony SP/AS e Rotor-Gene Q. Per maggiori informazioni sui campioni biologici umani specifici con cui è stato convalidato il kit, consultare le Schede di Applicazione disponibili online all'indirizzo <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

QIAGEN continua a sviluppare e convalidare altre applicazioni per gli *artus* QS-RGQ Kit, ad esempio l'uso con altri tipi di campioni.

La versione più aggiornata del presente manuale e delle corrispondenti Schede di Applicazione sono disponibili online all'indirizzo <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

L'*artus* EBV QS-RGQ Kit è destinato all'uso in combinazione con marker di manifestazione clinica e altri marker di laboratorio per la prognosi della malattia.

QIAGEN tiene sotto costante monitoraggio le prestazioni dell'esame e convalida nuove rivendicazioni, pertanto si chiede agli utenti di assicurarsi di operare sempre con la revisione più recente delle istruzioni per l'uso.

**Nota:** prima di eseguire il test verificare la disponibilità di nuove revisioni delle etichette elettroniche sul sito <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

Tutti i kit possono essere utilizzati con le rispettive istruzioni purché il numero di versione del manuale e le altre informazioni riportate sulle etichette corrispondano al numero di versione del kit. Il numero di versione è visibile su ogni etichetta della scatola del kit. QIAGEN assicura la compatibilità tra tutti i lotti dei kit di test che riportano lo stesso numero di versione.

# Sommario e spiegazioni

L'*artus* EBV QS-RGQ Kit è un sistema pronto all'uso per il rilevamento del DNA dell'EBV tramite reazione a catena della polimerasi (Polymerase Chain Reaction, PCR) su strumenti Rotor-Gene Q con preparazione dei campioni e setup dell'esame eseguiti con strumenti QIA Symphony SP/AS.

## Informazioni sull'agente patogeno

La trasmissione del virus di Epstein-Barr (Epstein-Barr Virus, EBV) avviene oralmente, principalmente tramite saliva contaminata. In linea generale, l'infezione da EBV, soprattutto se contratta in età infantile, è asintomatica. Il segno clinico di un'infezione acuta è la mononucleosi infettiva associata a febbre, stanchezza e angina, nonché infiammazione dei linfonodi e della milza. In alcuni pazienti questi sintomi ricompaiono in modo cronico. Si osservano forme gravi di infezione da EBV nei pazienti immunodeficienti e nei soggetti con difetti dei linfociti T.

## Principio della procedura

L'EBV RG Master contiene reagenti ed enzimi per l'amplificazione specifica di una regione di 97 bp del genoma di EBV, nonché per la rilevazione immediata dell'amplicone specifico nel canale di fluorescenza Cycling Green dello strumento Rotor-Gene Q.

L'*artus* EBV QS-RGQ Kit contiene anche un secondo sistema di amplificazione eterologo per il rilevamento di una possibile inibizione della PCR. Questa viene rilevata come controllo interno (Internal Control, IC) nel canale di fluorescenza Cycling Yellow del Rotor-Gene Q. Tale controllo non riduce il limite di sensibilità della PCR analitica dell'EBV.

Il kit contiene controlli positivi esterni (EBV RG QS 1–4) che consentono di determinare la quantità di DNA virale. Per maggiori informazioni consultare la corrispondente Scheda di Applicazione all'indirizzo <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

---

## Set di controllo dell'esame e set di parametri dell'esame

I set di controllo dell'esame sono una combinazione di un protocollo con alcuni parametri aggiuntivi, quali un controllo interno, per la purificazione dei campioni sul QIAasymphony SP. Un set di controllo dell'esame predefinito è preinstallato per ogni protocollo.

I set di parametri dell'esame combinano una definizione dell'esame con alcuni parametri aggiuntivi definiti, quali il conteggio dei replicati e il numero degli standard dell'esame, per il setup dell'esame sul QIAasymphony AS.

Per i processi integrati sugli strumenti QIAasymphony SP/AS, il set di parametri dell'esame è direttamente collegato a un set di controllo dell'esame iniziale, che specifica il processo associato di purificazione dei campioni.

# Materiali in dotazione

## Contenuto del kit

<b>artus EBV QS-RGQ Kit</b>			<b>(24)</b>
<b>Numero di catalogo</b>			<b>4501363</b>
<b>Numero di reazioni</b>			<b>24</b>
Colore del	Nome componente	Simbolo	Quantità
Blu	EBV RG Master*	<b>MASTER</b> †	3 x 360 µl
Rosso	EBV QS 1 <sup>†</sup> (5 x 10 <sup>4</sup> copie/µl)	<b>QS</b> †	200 µl
Rosso	EBV QS 2 <sup>†</sup> (5 x 10 <sup>3</sup> copie/µl)	<b>QS</b> †	200 µl
Rosso	EBV QS 3 <sup>†</sup> (5 x 10 <sup>2</sup> copie/µl)	<b>QS</b> †	200 µl
Rosso	EBV QS 4 <sup>†</sup> (5 x 10 <sup>1</sup> copie/µl)	<b>QS</b> †	200 µl
Verde	EBV RG IC <sup>§</sup>	<b>IC</b> †	1000 µl
Bianco	Water (PCR grade) (Acqua (grado PCR))		1000 µl
Manuale			1

\* Contiene 1,2,4-triazolo. Vedere Informazioni sulla sicurezza.

† Vedere a pagina 23 l'elenco dei simboli e le definizioni.

‡ Standard di quantificazione.

§ Controllo interno.

# Materiale necessario ma non in dotazione

**Importante:** assicurarsi che gli strumenti utilizzati in questa procedura siano stati revisionati e calibrati secondo le raccomandazioni del produttore.

## Attrezzatura generica da laboratorio

- Pipette regolabili e puntali per pipetta sterili con filtri
- Miscelatore vortex
- Bagno d'acqua per l'incubazione a 37 °C
- Centrifuga da banco con rotore per provette di reazione da 2 ml, per centrifugazione a 6800 x g.

## Ulteriori apparecchiature e materiali per la preparazione di campioni

- QIASymphony SP (modulo del QIASymphony RGQ) (n. cat. 9001297)
- QIASymphony AS (modulo del QIASymphony RGQ) (n. cat. 9001301)
- Software QIASymphony versione 4.0
- QIASymphony DSP Virus/Pathogen kit (n. cat. 937055)
- QIASymphony DSP DNA Mini Kit (n. cat. 937236)

## Ulteriori apparecchiature per PCR

- Strumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM o Rotor-Gene Q 5plex HRM (modulo del QIASymphony RGQ)
- Software Rotor-Gene Q versione 2.1 o superiore

**Nota:** per ulteriori informazioni sui materiali necessari per applicazioni specifiche, consultare la relativa Scheda di Applicazione disponibile all'indirizzo <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

# Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico in vitro.

## Informazioni sulla sicurezza

Durante la manipolazione di sostanze chimiche, è opportuno indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per ulteriori informazioni, consultare le relative schede di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS), disponibili online in formato PDF all'indirizzo [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), dove è possibile visualizzare e stampare le schede SDS per ciascun kit QIAGEN e i relativi componenti.

Per le informazioni sulla sicurezza riguardanti i QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit, consultare i rispettivi manuali. Per le informazioni sulla sicurezza riguardanti il QIASymphony DSP DNA Mini Kit, consultare il rispettivo manuale. Per le informazioni sulla sicurezza riguardanti i moduli degli strumenti, consultare il manuale del relativo strumento.

Smaltire i campioni, i residui liquidi e i materiali di scarto secondo le disposizioni locali e nazionali in materia di sicurezza e tutela ambientale.

EBV RG Master



Contiene: 1,2,4-triazolo. Attenzione! Sospettato di nuocere alla fertilità o al feto. Indossare guanti/ indumenti protettivi/ Proteggere gli occhi/ il viso.



## Precauzioni generali

Prestare sempre attenzione alle seguenti precauzioni:

- Utilizzare puntali per pipette sterili con filtri.
- Durante le operazioni manuali, tenere chiuse le provette il più possibile ed evitare ogni contaminazione.
- Prima dell'inizio dell'esame scongelare tutti i componenti a temperatura ambiente (15-25 °C).
- Dopo lo scongelamento, miscelare i componenti (pipettando più volte su e giù o agitando in vortex ad impulsi) e centrifugare brevemente. Verificare che nelle provette dei reagenti non siano presenti bolle o schiuma.
- Non miscelare i componenti di kit con numero di lotto diverso.
- Accertarsi che gli adattatori necessari siano stati preraffreddati a 2–8 °C.
- Prima del caricamento, operare rapidamente tenendo i reagenti per PCR in ghiaccio o nel blocco di raffreddamento.
- Passare senza interruzioni da una fase all'altra del flusso di lavoro. Il tempo di trasferimento da un modulo all'altro (dal QIA Symphony SP al QIA Symphony AS al Rotor-Gene Q) non deve superare 30 minuti.

## Conservazione e manipolazione dei reagenti

I componenti dell'*artus* EBV QS-RGQ Kit devono essere conservati ad una temperatura compresa tra -30 e -15 °C e sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta. Evitare ripetuti scongelamenti e congelamenti (più di due volte), perché ciò potrebbe ridurre le prestazioni dell'esame.

## Conservazione e manipolazione dei campioni

Per informazioni sulla conservazione e manipolazione dei campioni per applicazioni specifiche, consultare la corrispondente Scheda di Applicazione disponibile all'indirizzo <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

# Purificazione del DNA virale

L'*artus* EBV QS-RGQ Kit è stato convalidato con una fase di purificazione del DNA virale da plasma umano eseguita sullo strumento QIAAsymphony SP con un QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Consultare il *manuale QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen* per tutte le informazioni sulla procedura di preparazione della cartuccia reagenti per la fase di purificazione dei campioni sul QIAAsymphony SP.

L'*artus* EBV QS-RGQ Kit è stato convalidato con una fase di purificazione del DNA virale da sangue umano intero eseguita sullo strumento QIAAsymphony SP con un QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit. Consultare il *manuale QIAAsymphony DNA* per tutte le informazioni sulla procedura di preparazione della cartuccia reagenti per la fase di purificazione dei campioni sul QIAAsymphony SP.

## Utilizzo di un controllo interno e dell'RNA trasportatore (CARRIER)

L'utilizzo dei QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit e del QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit in combinazione con l'*artus* EBV QS-RGQ Kit richiede l'inserimento del controllo interno (EBV RG IC) nella procedura di purificazione per monitorare l'efficienza della preparazione dei campioni e dell'esame a valle. Inoltre, i QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit e il QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit possono richiedere la preparazione dell'RNA trasportatore (CARRIER). Per informazioni specifiche riguardanti il controllo interno e l'uso dell'RNA trasportatore (CARRIER), consultare la corrispondente Scheda di Applicazione disponibile all'indirizzo <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

## Rese degli acidi nucleici

Gli eluti preparati con RNA trasportatore (CARRIER) possono contenere molto più RNA trasportatore (CARRIER) degli acidi nucleici bersaglio. Si consiglia di utilizzare metodi di amplificazione quantitativa per stabilire le rese.

## Conservazione degli acidi nucleici

Per la conservazione a breve termine fino ad un massimo di 24 ore, si consiglia di conservare gli acidi nucleici purificati a 2–8 °C, mentre per la conservazione a lungo termine di oltre 24 ore si consiglia una conservazione a -30 -15 °C.

## Preparazione degli strumenti QIASymphony SP/AS

1. Chiudere tutti i cassette e i coperchi.
2. Accendere gli strumenti QIASymphony SP/AS e attendere la visualizzazione della schermata **Sample Preparation** (Preparazione campioni) e la fine della procedura di inizializzazione.
3. Registrarsi nello strumento (i cassette si sbloccano).

## Isolamento del DNA e setup dell'esame sugli strumenti QIASymphony SP/AS

Si illustra di seguito un protocollo generale per l'impiego dei QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit o del QIASymphony DSP DNA Mini Kit. Per informazioni dettagliate relative ad una specifica applicazione, ad esempio volumi e provette, consultare la corrispondente Scheda di Applicazione disponibile all'indirizzo <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

### Punti importanti prima di iniziare

- Acquisire esperienza con l'uso degli strumenti QIASymphony SP/AS. Per le istruzioni di funzionamento consultare i manuali utente allegati agli strumenti, le cui versioni più aggiornate sono disponibili online all'indirizzo [qiagen.com/products/qiasymphony-rgq-for-operating-instructions](https://www.qiagen.com/products/qiasymphony-rgq-for-operating-instructions).
- Prima di utilizzare una cartuccia reagenti (Reagent Cartridge, RC) per la prima volta, controllare che i Buffer QSL2 e QSB1 nella cartuccia non contengano precipitato.

---

Se necessario, rimuovere i recipienti contenenti i Buffer QSL2 e QSB1 dalla cartuccia reagenti (Reagent Cartridge, RC) e incubarli per 30 minuti a 37 °C agitandoli di tanto in tanto per far sciogliere il precipitato. Assicurarsi di riposizionare i recipienti nelle posizioni corrette. Se la cartuccia reagenti (Reagent Cartridge, RC) è già stata perforata, accertarsi che i recipienti vengano sigillati con le strisce sigillanti riutilizzabili, quindi incubare l'intera cartuccia reagenti per 30 minuti a 37 °C agitando di tanto in tanto in un bagnomaria.

- Evitare di agitare energicamente la cartuccia reagenti (Reagent Cartridge, RC) per prevenire la formazione di schiuma che può causare problemi di rilevamento del livello del liquido.
- Prima del caricamento, operare rapidamente tenendo i reagenti per PCR in ghiaccio o nel blocco di raffreddamento.
- I volumi di reagente sono ottimizzati per 24 reazioni per kit per processo.
- Prima di ogni utilizzo, tutti i reagenti devono essere scongelati completamente, miscelati (pipettandoli ripetutamente su e giù o su vortex rapido) e centrifugati per almeno 3 secondi a 6800 x g. Evitare la formazione di schiuma nei reagenti.
- È stata osservata la stabilità degli eluiti ottenuti dalla preparazione dei campioni e di tutti i componenti dell'*artus* EBV QS-RGQ Kit a bordo dello strumento per un tempo pari ad almeno il tempo normalmente richiesto per la purificazione di 96 campioni e il setup di 72 esami, compreso un tempo di trasferimento massimo di 30 minuti dal QIASymphony SP al QIASymphony AS e di massimo 30 minuti dal QIASymphony AS al Rotor-Gene Q.

### Accorgimenti prima di iniziare

- Preparare tutte le miscele necessarie. Se necessario, preparare le miscele contenenti RNA trasportatore (CARRIER) e i controlli interni subito prima di iniziare. Per maggiori informazioni consultare la relativa Scheda di Applicazione all'indirizzo <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.
- Prima di iniziare la procedura, assicurarsi che le particelle magnetiche siano completamente risospese. Agitare vigorosamente su vortex il recipiente contenente le particelle magnetiche per almeno 3 minuti prima del primo utilizzo.

- Prima di caricare la cartuccia reagenti (Reagent Cartridge, RC), rimuovere il coperchio dal recipiente contenente le particelle magnetiche e aprire le provette per enzima. Accertarsi che il rack per enzimi sia stato portato a temperatura ambiente (15–25 °C).
- Accertarsi che il coperchio perforante (Piercing Lid, PL) venga collocato sulla cartuccia reagenti (Reagent Cartridge, RC) e che il coperchio del recipiente delle particelle magnetiche venga rimosso, oppure, se si utilizza una cartuccia reagenti già parzialmente utilizzata, accertarsi che le strisce sigillanti riutilizzabili siano state rimosse.
- Se i campioni sono provvisti di codici a barre, orientare i campioni nel portaprovette in modo che i codici a barre siano rivolti verso il corrispondente lettore dentro il cassetto "Sample" (Campione) sul lato sinistro dello strumento QIASymphony SP.

## Configurazione di QIASymphony SP

1. Chiudere tutti i cassettei e i coperchi degli strumenti QIASymphony SP/AS.
2. Accendere gli strumenti e attendere la visualizzazione della schermata **Sample Preparation** (Preparazione campioni) e la fine della procedura di inizializzazione.

**NOTA:** l'interruttore di alimentazione è collocato nell'angolo in basso a sinistra del QIASymphony SP.

3. Eseguire il login agli strumenti.
4. Preparare i seguenti cassettei secondo la relativa Scheda di Applicazione disponibile all'indirizzo <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.
  - Cassetto "Waste" (Materiali di scarto)  
Dopo la relativa preparazione, eseguire una scansione di inventario.
  - Cassetto "Eluate" (Eluito)  
Dopo la relativa preparazione, eseguire una scansione di inventario.
  - Cassetto "Reagents and Consumables" (Reagenti e materiali di consumo)  
Dopo la relativa preparazione, eseguire una scansione di inventario.
  - Cassetto "Sample" (Campione)

5. Utilizzando il setup **Integrated run** (Processo integrato) sul touch screen del QIASymphony, inserire le informazioni necessarie per ogni lotto di campioni da processare.
6. Selezionare il set di parametri dell'esame per il processo, quindi assegnare lo stesso e il corrispondente lotto AS ai campioni.  
Per informazioni sul set di parametri dell'esame e sul volume di eluizione preselezionato, consultare la relativa Scheda di Applicazione.  
Per maggiori informazioni sui processi integrati sugli strumenti QIASymphony SP/AS, consultare i rispettivi manuali utente.
7. Quando si configura un processo integrato, verificare la corretta assegnazione del materiale da laboratorio per campioni, del tipo di campione (campione, EC+ e EC-) e dei rispettivi volumi.  
Per informazioni sui materiali di consumo e i componenti da caricare in ogni cassetto consultare la corrispondente Scheda di Applicazione.
8. Dopo aver inserito tutte le informazioni su tutti i lotti del processo integrato, fare clic su **Ok** per uscire dal setup **Integrated run** (Processo integrato).  
Lo stato di tutti i lotti nella panoramica del processo integrato passa da **LOADED** (Caricato) a **QUEUED** (In coda). Non appena un batch viene messo in coda, appare il pulsante **Run** (Processo).
9. Premere **Run** (Processo) per avviare la procedura.  
Tutte le fasi di elaborazione sono completamente automatizzate.

## Configurazione di QIASymphony AS

1. Dopo aver messo in coda un processo integrato, aprire i cassettei del QIASymphony AS. I componenti necessari da caricare sono visualizzati sul touch screen.
2. Accertarsi di eseguire sempre le seguenti operazioni prima del processo integrato:
  - 2a. Inserire lo scivolo dei puntali.
  - 2b. Eliminare il sacchetto per lo smaltimento dei puntali.
  - 2c. Installare un sacchetto vuoto per lo smaltimento dei puntali.

---

3. Definire e caricare il/i rack per l'esame. Il/i rack per l'esame, collocato/i su adattatore/i preraffreddato/i, è/sono caricato/i nella/e apertura/e "Assay" (Esame). Per informazioni sui rack per l'esame consultare la corrispondente Scheda di Applicazione disponibile all'indirizzo <https://www.qiagen.com/productsartus-ebv-pcr-kits-ce>.

4. Controllare la temperatura delle posizioni di raffreddamento.

Raggiunte le temperature target di raffreddamento, i piccoli asterischi accanto ad ogni apertura vengono visualizzati in verde.

5. Combinare tutte le provette di EBV RG Master di un unico kit in una sola provetta prima dell'uso.

**Nota:** i reagenti viscosi possono essere difficili da manipolare con pipette manuali. Accertarsi di trasferire l'intero volume di EBV RG Master nella provetta.

6. Riempire ogni provetta per reagente con il volume necessario del rispettivo reagente secondo le informazioni di caricamento fornite dal software dello strumento.

**Nota:** prima di ogni utilizzo, tutti i reagenti devono essere scongelati completamente, miscelati (pipettandoli ripetutamente su e giù o su vortex rapido) e centrifugati per almeno 3 secondi a 6800 x g. Evitare la formazione di bolle o schiuma che potrebbe causare errori di analisi. Prima del caricamento, operare rapidamente e tenere i componenti per PCR in ghiaccio o nel blocco di raffreddamento.

7. Caricare il rack per reagenti e collocare le provette per reagenti, senza coperchi, nelle rispettive posizioni degli adattatori preraffreddati per reagenti secondo la corrispondente Scheda di Applicazione.

8. Caricare i puntali con filtro monouso nei cassettei "Eluate and Reagents" (Eluito e reagenti) e "Assays" (Esami) in base al numero necessario di ogni tipo di puntale indicato nella corrispondente Scheda di Applicazione.

9. Chiudere i cassettei "Eluate and Reagents" (Eluito e reagenti) e "Assays" (Esami).

10. Alla chiusura di ciascun cassetto, premere **Scan** (Scansiona) per avviare la scansione di inventario per ogni cassetto.

La scansione di inventario controlla le aperture, gli adattatori, i puntali con filtro e lo scivolo dei puntali, nonché il corretto caricamento dei volumi specifici dei reagenti.

Se necessario, correggere eventuali errori.

Il setup dell'esame si avvia automaticamente dopo che la fase di purificazione sul QIASymphony SP è stata completata e i rack per eluizione sono stati trasferiti nel QIASymphony AS.

11. Finita l'analisi, premere **Remove** (Rimuovi) nella schermata **Overview** (Panoramica) del setup dell'esame. Aprire il cassetto "Assays" (Esami) e scaricare i rack.
12. Scaricare i file dei risultati e del termociclatore.
13. Se sul QIASymphony AS sono configurati più lotti in un processo integrato, ricaricare i cassettei del QIASymphony AS partendo dal punto 1.
14. Procedere con la procedura "Esecuzione di PCR sul Rotor-Gene Q".
15. Eseguire regolarmente la manutenzione del QIASymphony AS durante la PCR sul Rotor-Gene Q o successivamente.

Essendo previsto un funzionamento integrato, pulire tutti gli strumenti alla fine dell'intero flusso di lavoro.

Seguire le istruzioni per la manutenzione contenute nel *Manuale utente QIASymphony SP/AS — descrizione generale*. Accertarsi di eseguire regolarmente la manutenzione per ridurre al minimo il rischio di contaminazione incrociata.



# Esecuzione di PCR sul Rotor-Gene Q

## Punti importanti prima di iniziare

- Dedicare il tempo necessario ad acquisire familiarità con il Rotor-Gene Q prima di avviare il protocollo. Fare riferimento al manuale utente dello strumento.
- Accertarsi che in ogni PCR siano inclusi tutti i 4 standard di quantificazione e almeno un controllo negativo (acqua, grado PCR). Per generare una curva standard, utilizzare tutti i 4 standard di quantificazione forniti (EBV QS 1–4) per ogni PCR.

## Procedura

1. Chiudere le provette PCR e collocarle nel rotore 72-Well Rotor del Rotor-Gene Q.
2. Assicurarsi che le strisce da 4 provette Rotor-Gene Q vengano trasferite con il giusto orientamento, in modo da far coincidere gli indici di posizione dell'adattatore di raffreddamento e del rotore.
3. Assicurarsi che l'anello bloccante (accessorio dello strumento Rotor-Gene Q) sia montato esattamente sopra il rotore, in modo da impedire che le provette si aprano accidentalmente durante il ciclo.
4. Trasferire il file del termociclatore dal QIASymphony AS al computer del Rotor-Gene Q.
5. Per il rilevamento del DNA dell'EBV, creare un profilo termico e avviare il processo secondo la corrispondente Scheda di Applicazione disponibile all'indirizzo <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>. Per informazioni specifiche sul software per la programmazione dello strumento Rotor-Gene Q consultare la relativa Scheda di Applicazione *Impostazioni per eseguire gli artus QS RGQ Kit* all'indirizzo <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

## Interpretazione dei risultati

Per informazioni dettagliate sull'interpretazione dei risultati consultare la corrispondente Scheda di Applicazione disponibile all'indirizzo [qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce](https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce).

# Guida alla risoluzione dei problemi

Questa guida alla risoluzione dei problemi può essere utile per risolvere eventuali situazioni problematiche. Per le informazioni sui contatti, vedere il retro di copertina o visitare il sito [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Commenti e suggerimenti

### Manipolazione in generale

Messaggio d'errore visualizzato sul touch screen

Se durante un processo integrato viene visualizzato un messaggio d'errore, consultare i manuali utente forniti con gli strumenti.

### Precipitato nel recipiente del reagente della cartuccia aperta del QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit o del QIASymphony DSP DNA Mini Kit

- a) Evaporazione dei tamponi
- Un'eccessiva evaporazione può causare un aumento della concentrazione di sali o una riduzione della concentrazione di alcol nei tamponi. Eliminare la cartuccia reagenti (Reagent Cartridge, RC). Accertarsi di sigillare i recipienti dei tamponi di una cartuccia reagenti (Reagent Cartridge, RC) utilizzata solo parzialmente con le strisce sigillanti riutilizzabili se i tamponi non vengono utilizzati per la purificazione.
- b) Conservazione della cartuccia reagenti (Reagent Cartridge, RC)
- La conservazione della cartuccia reagenti (Reagent Cartridge, RC) ad una temperatura inferiore ai 15 °C può provocare la formazione di precipitati. Se necessario, rimuovere i recipienti contenenti i Buffer QSL2 e QSB1 dalla cartuccia reagenti (Reagent Cartridge, RC) e incubarli in un bagnomaria per 30 minuti a 37 °C agitandoli di tanto in tanto per far sciogliere il precipitato. Assicurarsi di riposizionare i recipienti nelle posizioni corrette. Se la cartuccia reagenti (Reagent Cartridge, RC) è già stata perforata, accertarsi che i recipienti vengano sigillati con le strisce sigillanti riutilizzabili, quindi incubare l'intera cartuccia reagenti in un bagnomaria per 30 minuti a 37 °C agitando di tanto in tanto.

### Bassa resa di acidi nucleici

- a) Particelle magnetiche non risospese completamente
- Prima di iniziare la procedura, assicurarsi che le particelle magnetiche siano completamente risospese. Agitare su vortex per almeno 3 minuti prima dell'uso.
- b) Campioni congelati non miscelati correttamente dopo lo scongelamento
- Scongelare i campioni con una leggera agitazione per garantirne un'accurata miscelazione.

## Commenti e suggerimenti

c)	RNA trasportatore (CARRIER) non aggiunto	Ricostituire l'RNA trasportatore (CARRIER) nel Buffer AVE (AVE) o ATE (ATE) e miscelare con un volume adeguato di Buffer AVE (AVE) o ATE (ATE) come descritto nella corrispondente Scheda di Applicazione disponibile all'indirizzo <a href="http://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce">www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce</a> . Ripetere il processo di purificazione con nuovi campioni.
d)	Acidi nucleici degradati	I campioni sono stati conservati in modo errato oppure soggetti a troppi cicli di congelamento-scongelo. Ripetere il processo di purificazione con nuovi campioni.
e)	Lisi dei campioni incompleta	Prima dell'uso verificare che i Buffer QSL2 e QSB1 non contengano precipitati. Se necessario, rimuovere i recipienti contenenti i Buffer QSL1 e QSB1 dalla cartuccia reagenti (Reagent Cartridge, RC) e incubarli per 30 minuti a 37 °C agitando di tanto in tanto per far sciogliere il precipitato. Se la cartuccia reagenti (Reagent Cartridge, RC) è già stata perforata, accertarsi che i recipienti vengano sigillati con le strisce sigillanti riutilizzabili, quindi incubare l'intera cartuccia reagenti per 30 minuti a 37 °C agitando di tanto in tanto in un bagnomaria.
f)	Ostruzione del puntale per pipetta a causa di materiale insolubile	Il materiale insolubile non è stato rimosso dal campione prima di avviare la procedura di purificazione su QIASymphony. Per rimuovere il materiale insolubile per applicazioni virali, centrifugare il campione a 3.000 x g per 1 minuto, quindi trasferire il supernatante in una nuova provetta.

### QIASymphony AS rileva Master insufficiente

Non tutto il Master trasferito nella provetta

Combinare tutte le provette di EBV RG Master di un unico kit in una sola provetta prima dell'uso. I reagenti viscosi possono essere difficili da manipolare con pipette manuali. Accertarsi di trasferire l'intero volume di Master nella provetta.

Per i reagenti viscosi si consiglia di aspirare un volume eccedente del 5% quando si utilizzano le pipette manuali (ad es. regolare la pipetta a 840 µl per un volume di 800 µl).

In alternativa, dopo aver lentamente dispensato il liquido ed effettuato un blow-out sulla parete della provetta target, rimuovere il puntale dal liquido, rilasciare lo stantuffo della pipetta e attendere altri 10 secondi. Il liquido residuo scenderà dal puntale e, a questo punto, si potrà effettuare il blow-out premendo una seconda volta lo stantuffo della pipetta. L'impiego di puntali con filtro per PCR "low retention" (a bassa ritenzione) può migliorare il recupero del liquido.

### **Non viene rilevato nessun segnale con controlli positivi (EBV RG QS 1–4) nel canale di fluorescenza Cycling Green**

- |    |  |   |
|----|--|---|
| a) | Il canale di fluorescenza selezionato per l'analisi dei dati PCR non è conforme al protocollo  | Per l'analisi dei dati selezionare il canale di fluorescenza Cycling Green per la PCR analitica dell'EBV e il canale Cycling Yellow per la PCR del controllo interno.   |
| b) | Programmazione non corretta del profilo termico dello strumento Rotor-Gene Q.  | Confrontare il profilo termico con il protocollo. Consultare la corrispondente Scheda di Applicazione e la Scheda del Protocollo disponibili all'indirizzo <a href="http://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce">www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce</a> .   |
| c) | Configurazione errata della PCR  | Verificare che il setup dell'esame sia stato eseguito correttamente e che sia stato usato il corretto set di parametri dell'esame. Ripetere la PCR, se necessario. Consultare la corrispondente Scheda di Applicazione disponibile all'indirizzo <a href="http://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce">www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce</a> . |
| d) | Le condizioni di conservazione per uno o più componenti del kit non corrispondevano alle istruzioni fornite in "Conservazione e manipolazione dei reagenti". | Controllare le condizioni di conservazione e la data di scadenza sull'etichetta del kit dei reagenti e utilizzare un nuovo kit, se necessario.  |
| e) | L'artus EBV QS-RGQ Kit è scaduto   | Controllare le condizioni di conservazione e la data di scadenza sull'etichetta del kit dei reagenti e utilizzare un nuovo kit, se necessario.  |

### **Segnale debole o assente del controllo interno di un campione di plasma negativo sottoposto a purificazione con il QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit o il QIASymphony DSP DNA Mini Kit nel canale di fluorescenza Cycling Yellow e assenza simultanea di segnale nel canale Cycling Green**

- |    |  |   |
|----|--|---|
| a) | Le condizioni della PCR non sono conformi al protocollo  | Verificare le condizioni della PCR (vedere sopra) ed eventualmente ripetere la PCR con le impostazioni corrette.  |
| b) | La PCR era inibita   | Verificare che sia stato usato il metodo di isolamento validato (vedere "Isolamento del DNA e setup dell'esame sugli strumenti QIASymphony SP/AS" ) e seguire scrupolosamente le istruzioni.  |
| c) | DNA perso durante l'estrazione   | L'assenza di segnale del controllo interno può indicare la perdita di DNA durante l'estrazione. Verificare che sia stato usato il metodo di isolamento validato (vedere "Isolamento del DNA e setup dell'esame sugli strumenti QIASymphony SP/AS" ) e seguire scrupolosamente le istruzioni.<br><br>Vedere anche "Bassa resa di acidi nucleici", più sopra. |
| d) | Le condizioni di conservazione per uno o più componenti del kit non corrispondevano alle istruzioni fornite in "Conservazione e manipolazione dei reagenti". | Controllare le condizioni di conservazione e la data di scadenza sull'etichetta del kit dei reagenti e utilizzare un nuovo kit, se necessario.  |
| e) | L'artus EBV QS-RGQ Kit è scaduto   | Controllare le condizioni di conservazione e la data di scadenza sull'etichetta del kit dei reagenti e utilizzare un nuovo kit, se necessario.  |

---

### Segnali con i controlli negativi nel canale di fluorescenza Cycling Green della PCR analitica

- a) Si è verificata una contaminazione durante la preparazione della PCR
- Ripetere la PCR in replicati con reagenti non ancora utilizzati.
- Se possibile, chiudere le provette per PCR subito dopo l'aggiunta del campione da testare.
- Assicurarsi che l'area di lavoro e gli strumenti vengano decontaminati a intervalli regolari.
- b) Si è verificata una contaminazione durante l'estrazione
- Ripetere l'estrazione e la PCR del campione da sottoporre a test con reagenti non ancora utilizzati.
- Assicurarsi che l'area di lavoro e gli strumenti vengano decontaminati a intervalli regolari.

---

## Controllo di qualità

In conformità con il sistema di gestione della qualità di QIAGEN certificato ISO, ogni lotto dell'*artus* EBV QS-RGQ Kit è stato testato in base a specifiche prestabilite per garantire la costante qualità del prodotto.

## Limitazioni

L'uso di tutti i reagenti è riservato esclusivamente alla diagnostica in vitro.

L'utilizzo è consentito soltanto a personale dotato delle necessarie conoscenze e competenze specifiche per le procedure della diagnostica in vitro.

Per ottenere risultati ottimali della PCR è necessario attenersi rigorosamente al manuale utente.

Rispettare le date di scadenza dei singoli componenti, riportate sulla confezione e sulle etichette. Non utilizzare componenti scaduti.

Sebbene accada raramente, eventuali mutazioni nelle regioni altamente conservate del genoma virale coperte dai primer e/o dalla sonda del kit possono essere causa di una sottoquantificazione o perfino della mancata individuazione del virus. La validità e le prestazioni dell'esame vengono revisionate ad intervalli regolari.

## Caratteristiche delle prestazioni

Vedere [www.qiagen.com/artus-ebv-pcr-kits-ce](http://www.qiagen.com/artus-ebv-pcr-kits-ce) per le caratteristiche delle prestazioni dell'*artus* EBV QS-RGQ Kit.

# Simboli

La tabella che segue descrive i simboli che possono comparire sull'etichettatura o nel presente documento.



<N>

Contenuto di reagenti sufficiente per <N> reazioni



Data di scadenza



Dispositivo medico-diagnostico in vitro



Numero di catalogo



Numero di lotto



Numero di materiale



Componenti



Contenuto



Numero

**GTIN**

Codice GTIN

**Rn**

R indica la revisione del manuale e n il numero della revisione



Limite di temperatura



Produttore



Consultare le istruzioni per l'uso



Attenzione

**MASTER**

Master

**MG-SOL**

Soluzione di magnesio

**QS**

Standard di quantificazione

**IC**

Controllo interno



Pericolo per la salute



## Informazioni per gli ordini

<b>Prodotto</b>	<b>Contenuto</b>	<b>N. cat.</b>
<i>artus</i> EBV QS-RGQ Kit (24)	Per 24 reazioni: Master, 4 standard di quantificazione, controllo interno, acqua (grado PCR)	4501363
QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit	Per 96 preparazioni (da 1000 µl cad.): include 2 cartucce reagenti, rack per enzimi e accessori	937055
QIASymphony DSP DNA Mini Kit	Per 192 preparazioni (da 200 µl cad.): include 2 cartucce reagenti, rack per enzimi e accessori	937236
QIASymphony RGQ System	QIASymphony SP, QIASymphony AS, Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM, accessori e materiali di consumo necessari, installazione e addestramento	9001850

Per le informazioni aggiornate sulla licenza e le clausole di esclusione della responsabilità per i singoli prodotti, consultare il manuale del kit o il manuale utente QIAGEN specifico. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili sul sito [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) oppure possono essere richiesti al servizio di assistenza tecnica QIAGEN o al proprio distributore locale.

# Cronologia delle revisioni del documento

Data	Modifiche
R1 11/2019	Aggiornamento dell' <i>artus</i> EBV QS-RGQ Kit dalla Versione 1 alla Versione 2; Aggiornamento della sezione relativa al contenuto del kit per aggiungere informazioni per EBV RG Master. Aggiunta dell'avvertenza relativa alla pericolosità del materiale nella sezione sulla sicurezza; eliminazione di QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit; chiarimento sulle temperature di conservazione; aggiornamenti al layout.

Acquistando il presente prodotto si acquisisce il diritto all'uso dello stesso per lo svolgimento di servizi diagnostici nell'ambito della diagnostica umana in vitro. L'acquisto non costituisce concessione di licenze generali o di altre licenze di alcun altro tipo, salvo questo specifico diritto all'uso.

L'*artus* EBV QS-RGQ Kit è un kit diagnostico con marchio CE secondo la direttiva europea relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro 98/79/CE. Non disponibile in tutti i Paesi.

## Contratto di Licenza Limitato per *artus* EBV QS-RGQ Kit

L'utilizzo di questo prodotto comporta per l'acquirente o l'utente del prodotto l'accettazione dei seguenti termini:

1. Il prodotto può essere utilizzato esclusivamente in conformità ai protocolli forniti insieme al prodotto e al relativo manuale e soltanto con i componenti contenuti nel rispettivo kit. QIAGEN non concede nessuna licenza, nell'ambito della sua proprietà intellettuale, per l'utilizzo o l'integrazione dei componenti di questo kit con qualsiasi componente non incluso in questo kit, fatta eccezione per i protocolli forniti con il prodotto, il presente manuale e i protocolli aggiuntivi disponibili sul sito [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Alcuni di questi protocolli aggiuntivi sono stati messi a punto da utenti QIAGEN a beneficio degli utenti QIAGEN. Si tratta di protocolli che non sono stati collaudati o ottimizzati da QIAGEN. QIAGEN non offre alcuna garanzia in merito a essi né alla violazione da parte di essi di eventuali diritti di terzi.
2. A parte le licenze espressamente dichiarate, QIAGEN non fornisce alcuna garanzia che questo kit e/o l'uso o gli usi dello stesso non costituiscano violazione dei diritti di terzi.
3. Questo kit e i relativi componenti sono concessi in licenza per un solo utilizzo e non possono essere riutilizzati, rinnovati o rivenduti.
4. QIAGEN esclude specificamente qualunque altra licenza, espressa o implicita, che non rientri tra quelle espressamente dichiarate.
5. L'acquirente e l'utente del kit acconsentono a non intraprendere e a non permettere a nessun altro di intraprendere qualsiasi iniziativa che possa determinare o agevolare qualunque azione di cui si fa divieto sopra. QIAGEN farà valere i divieti di questo Contratto di licenza limitata presso qualsiasi foro e otterrà il risarcimento di tutte le spese sostenute a scopo di indagine e consulenza legale, ivi comprese le parcelle degli avvocati, con riferimento a qualsiasi causa legale intentata per fare rispettare questo Contratto di licenza limitata o qualsiasi altro diritto di proprietà intellettuale correlato a questo kit e/o ai relativi componenti.

Per i termini di licenza aggiornati, visitare il sito [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (Gruppo QIAGEN).

I marchi registrati, i marchi di fabbrica ecc. utilizzati in questo documento, anche se non indicati in modo specifico come tali, non devono essere considerati non protetti dalla legge.

1119830 11/2019 HB-2733-001 © 2019 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

