

Mars 2021

# Handbok för *artus*<sup>®</sup> CMV RG PCR Kit



24 (katalognr 4503263)



96 (katalognr 4503265)

Version 1

Kvantitativ in vitro-diagnostik

För användning med Rotor-Gene<sup>®</sup> Q MDx-instrument

**IVD**

**CE** 0197

**REF**

4503263, 4503265



QIAGEN GmbH

QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R6 **MAT**

1123965SE



# Innehåll

Avsedd användning .....	5
Beskrivning och princip .....	5
Information om patogen .....	6
Testprincipen .....	6
Material som medföljer.....	7
Kitinnehåll .....	7
Material som behövs men inte medföljer.....	8
Reagenser .....	8
Förbrukningsartiklar .....	8
Utrustning .....	8
Varningar och försiktighetsåtgärder .....	9
Säkerhetsinformation .....	9
Försiktighetsåtgärder.....	9
Förvaring och hantering av reagenser .....	10
Förvaring och hantering av prover .....	10
Provtagning .....	10
Lagring av prover.....	11
Provtransport.....	11
Procedur.....	12
DNA-isolering .....	12
Intern kontroll .....	13
Protokoll: PCR och dataanalys.....	14

---

Tolkning av resultat .....	22
Kvantifiering .....	22
Resultat .....	23
Kvalitetskontroll .....	26
Begränsningar .....	26
Prestandaegenskaper .....	27
Analytisk känslighet .....	27
Linjära områden av kvantifieringen .....	29
Specificitet .....	30
Precision .....	32
Interfererande ämnen .....	34
Robusthet .....	36
Reproducerbarhet .....	36
Diagnostisk utvärdering .....	38
Referenser .....	40
Felsökningsguide .....	41
Symboler .....	43
Beställningsinformation .....	44
Dokumentrevisjoner .....	47

# Avsedd användning

*artus* CMV RG PCR Kit är ett in vitro-nukleinsyraamplifieringstest för kvantifiering av cytomegalovirus (CMV) DNA i human plasma. För detta diagnostiska testkit används polymeraskedjereaktion (PCR) och kitet är konfigurerat för användning med Rotor-Gene Q-instrument.

*artus* CMV RG PCR Kit är avsett för användning i samband med klinisk manifestation och andra laboriemarkörer för hantering av CMV-infektion i patienter med risk för CMV-sjukdom.

Resultaten från *artus* CMV RG PCR Kit måste tolkas tillsammans med all relevant klinisk information och laboriefynd.

*artus* CMV RG PCR Kit är inte avsett att användas som ett screeningtest för närvaro av CMV i blod eller blodprodukter eller som ett diagnostiskt test för att bekräfta förekomst av CMV-infektion.

## Beskrivning och princip

*artus* CMV RG PCR Kit utgör ett bruksfärdigt system för detektionen av CMV-DNA med användning av polymeraskedjereaktion (PCR) i Rotor-Gene Q MDx-instrument. CMV RG Master innehåller reagenser och enzymer för den specifika amplifieringen av en 105 bp-region av Major Immediate Early Gene (MIE) inom CMV-genomet (analysen kan upptäcka CMV-genotyper gB1 – gB4), och för direkt detektion av den specifika amplikonerna i fluorescenskanalen Cycling Green i Rotor-Gene Q MDx.

Dessutom innehåller *artus* CMV RG PCR Kit ett andra heterologt amplifieringssystem för detektion av en eventuell PCR-inhibering. Dessa detekteras som en intern kontroll (IC) i fluorescenskanalen Cycling Yellow i Rotor-Gene Q MDx. Externa positiva kontroller (CMV QS 1–4) medföljer, vilka gör det möjligt att fastställa andelen virus-DNA. Mer information: se "Kvantifiering", sidan 22.

---

## Information om patogen

Humant cytomegalovirus (CMV) påträffas hos infekterade personer i blod, vävnader och i så gott som alla sekretoriska vätskor. Överföring kan ske oralt, sexuellt, via blodtransfusion eller organtransplantation, intrauterint eller perinatalt (1–4). CMV viral lasttestning är ett viktigt hjälpmedel för att bedöma risken för sjukdom, diagnostisera sjukdom och övervaka terapivar (5).


Infektion med CMV leder ofta till en asymtomatisk infektion, följt av ett livslångt fortbestånd av viruset i kroppen. Om symtom uppträder hos tonåringar eller vuxna liknar de dem som förekommer vid mononukleos med feber, svag hepatit och allmän sjukdomskänsla (6). Svåra fall av CMV-infektion har framför allt observerats hos personer som infekterats intrauterint och patienter med immunbristsjukdom (4,7).

## Testprincipen

Patogen detektion med polymeraskedjereaktion (PCR) baseras på amplifieringen av specifika regioner i den patogena organismens genom. I real-time PCR detekteras den amplifierade produkten via fluorescerande färgämnen. Dessa är vanligtvis kopplade till oligonukleotidsökfragmen som binder specifikt till den amplifierade produkten. Övervakning av fluorescensintensiteterna under PCR-körningen (det vill säga i realtid) möjliggör detektion och kvantifiering av den ackumulerande produkten utan att man behöver öppna reaktionsrören på nytt efter PCR-körningen (8).

# Material som medföljer

## Kitinnehåll

<b>artus CMV RG PCR Kit</b>		(24)	(96)
<b>Katalognr</b>		4503263	<b>4503265</b>
<b>Antal reaktioner</b>		24	<b>96</b>
Blå	CMV RG Master (Taq 0,1 U/µl)		2 x 12 reaktioner
Gul	CMV Mg-Sol*	<b>Mg-Sol</b>	600 µl
Röd	CMV QS 1 <sup>†</sup> (1 x 104 kopior/µl)	<b>QS</b>	200 µl
Röd	CMV QS 2 <sup>†</sup> (1 x 103 kopior/µl)	<b>QS</b>	200 µl
Röd	CMV QS 3 <sup>†</sup> (1 x 102 kopior/µl)	<b>QS</b>	200 µl
Röd	CMV QS 4 <sup>†</sup> (1 x 101 kopior/µl)	<b>QS</b>	200 µl
Grön	CMV RG IC <sup>‡</sup>	<b>IC</b>	1000 µl
Vit	Water (Vatten) (PCR-kvalitet)		1000 µl
	Bruksanvisning		1

\* Magnesiumlösning

<sup>†</sup> Kvantifieringsstandard

<sup>‡</sup> Intern kontroll

# Material som behövs men inte medföljer

## Reagenser

- DNA-isoleringskit (se "DNA-isolering", sidan 12)

## Förbrukningsartiklar

- Sterila pipettspetsar med filter
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, för användning med 72-Well Rotor (kat.nr 981103 eller 981106)
- **Alternativt:** PCR Tubes, 0.2 ml, för användning med 36-Well Rotor (kat.nr 981005 eller 981008)

## Utrustning

- Pipetter (justerbara)\*
- Vortexblandare\*
- Bänkcentrifug\* med rotor för 2 ml reaktionsrör
- Instrumentet Rotor-Gene Q MDx\* med fluorescenskanaler för Cycling Green och Cycling Yellow
- Rotor-Gene Q programversion 2.3.5 eller senare
- Kylblock (Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes, kat.nr 9018901, eller Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes, kat.nr 9018905)

\* Säkerställ att instrumenten är kontrollerade och kalibrerade enligt tillverkarens rekommendationer före användning.



# Varningar och försiktighetsåtgärder

## Säkerhetsinformation

Använd alltid laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Mer information finns i tillämpliga säkerhetsdatablad (Safety Data Sheets, SDS). De finns tillgängliga på webben i behändigt PDF-format på adressen **[www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)**, där du kan hitta, visa och skriva ut säkerhetsdatablad för varje QIAGEN-kit och kitkomponent.

Kassera avfall från prover och analyser i enlighet med lokala säkerhetsregler.

## Försiktighetsåtgärder

Användaren ska alltid vara uppmärksam på följande:

- Använd sterila pipettspetsar med filter.
- Förvara och extrahera positiva material (prover, positiva kontroller och amplikoner) separerade från alla andra reagenser och tillsätt dem till reaktionsblandningen på en separat plats.
- Tina alla komponenter omsorgsfullt i rumstemperatur (15–25 °C) innan analysen påbörjas.
- När komponenterna tinats ska de blandas (genom att pipettera upp och ned upprepade gånger eller genom att vortexa i pulser) och centrifugeras en kort stund.
- Arbeta snabbt och förvara komponenter på is eller i kylblocket (laddningsblock med 72/96 brunnar).

## Förvaring och hantering av reagenser

Komponenterna i *artus* CMV RG PCR Kit måste förvaras vid  $-30$  till  $-15$  °C och är stabila fram till det utgångsdatum som anges på etiketten. Upprepad tining och frysning (> 2 ggr) ska undvikas, eftersom detta kan minska analysens känslighet. Reagenser som inte används regelbundet bör därför frysas i alikvoter. Förvaring vid  $2-8$  °C bör inte överskrida 5 timmar.

## Förvaring och hantering av prover

**Obs!** Alla prover måste behandlas som potentiellt smittsamt material.

**Obs!** Analytiska studier som utförs för att verifiera prestandan av detta kit hänvisar till EDTA-plasma som det mest lämpliga provmaterialet för CMV-detektion. Därför rekommenderar vi att du använder detta material tillsammans med *artus* CMV RG PCR Kit.

Valideringen av *artus* CMV RG PCR Kit genomfördes med human EDTA-plasmaprov. Andra provmaterial är inte validerade. Använd endast det rekommenderade nukleinsyraisoleringskitet (se "DNA-isolering", sida 12) för provberedningen.

Användning av vissa provmaterial samt särskilda föreskrifter för provtagning, förvaring och transport måste följas.

### Provtagning

Varje blodprovstagning medför en skada på blodkärl (artärer, vener eller kapillärer). Endast säkra och sterila material får användas. För blodprovstagningen bör lämpligt engångsmaterial finnas tillgängligt. För provtagning i ven bör du inte använda kapillärnålar som är för tunna. Tappa venblod på lämpliga ställen i armvecket, på underarmen eller på handens baksida. Blodet ska tas med standard provtagningsrör (rött lock, Sarstedt® eller likvärdiga provrör från andra tillverkare). Tappa en volym motsvarande 5–10 ml in i ett EDTA-rör. Provrören ska omedelbart efter provtagningen upprepade gånger vändas upp och ner (8 ggr, skaka ej).

**Obs!** Hepariniserade prover får inte användas.

## Lagring av prover

Helblod måste separeras i plasma- och cellulära komponenter genom centrifugering under tjugo minuter vid 800–1600 x g inom sex timmar (9,10). Den utskilda plasman överförs till sterila provrör av polypropylen. Analysens känslighet kan minska om proven fryses som ett rutinförfarande eller om de förvaras under en längre tid.

## Provtransport

Provmaterial ska rutinmässigt transporteras i en splitterfri transportbehållare. På så sätt undviker du att en infektion uppstår på grund av läckande prov. Proverna ska transporteras i enlighet med gällande lokala och statliga föreskrifter för transport av potentiellt smittsamma ämnen.\*

Proven måste levereras inom sex timmar. Lagring på upphämtningsorten rekommenderas inte. Transport per post är möjlig, förordningarna om transport av potentiellt smittsamma ämnen ska dock beaktas. Vi rekommenderar provtransport via bud. Blodproven måste transporteras kylförvarade (2–8 °C), och den separerade plasman djupfrost (–30 till –15 °C).

\* En internationell flygbolagsorganisation (International Air Transport Association, IATA). Dangerous Goods Regulations (Föreskrifter för farligt gods).

# Procedur

## DNA-isolering

Kiten från QIAGEN som visas i Tabell 1 är validerade för virus-DNA-rening från de angivna humana provtyperna som används med *artus* CMV RG PCR Kit. Utför virus-DNA-reningen enligt anvisningarna i respektive kitens handböcker.

**Tabell 1. Reningskit som är validerade för användning med *artus* CMV RG PCR Kit**

Provmaterial	Provstorlek	Nukleinsyraisoleringskit	Katalognummer	Bärr-RNA
EDTA-plasma	500 µl	QIAamp® DSP Virus Kit	60704	Medföljer
EDTA-plasma	400 µl	EZ1® DSP Virus Kit (48)	62724	Medföljer

**Obs!** Användning av bärr-RNA är nödvändig för extraktionseffektiviteten och följljaktigen för DNA/RNA-utbytet. För att uppnå en högre stabilitet av det bärr-RNA som medföljer QIAamp DSP Virus Kit rekommenderar vi att du följer anvisningarna angående rekonstitution och lagring av bärr-RNA i avsnittet "Preparing reagents and buffers" ("Beredning av reagens och buffertar") av handboken för *QIAamp DSP Virus Kit*.

**Obs!** Den interna kontrollen för *artus* CMV RG PCR Kit kan användas direkt i isoleringsförfarandet. Se till att ta med ett negativt plasmaproov i isoleringsförfarandet. Den motsvarande signalen för den interna kontrollen utgör grunden för utvärderingen av isoleringen (se avsnittet "Intern kontroll" nedan).

## Intern kontroll

En intern kontroll (CMV RG IC) medföljer detta kit. Detta gör att användaren kan kontrollera DNA-isoleringsförfarandet och kontrollera om det finns en möjlig inhibering av PCR. För denna användning tillsätter man den interna kontrollen till isolatet i förhållandet 0,1 µl per 1 µl elueringsvolym. Till exempel, vid användning av QIAamp DSP Virus Kit elueras DNA i 60 µl elueringsbuffert (AVE). Därför ska 6 µl av den interna kontrollen tillsättas initialt. Mängden av intern kontroll som används beror endast på elueringsvolymen.

**Obs!** Den interna kontrollen och bärar-RNA (se "DNA-isolering", sidan 12) ska endast tillsättas blandningen av lyseringsbuffert och provmaterial eller direkt till lyseringsbufferten.

Den interna kontrollen får inte tillsättas direkt till provmaterialet. Om den tillsätts till lyseringsbufferten ska man observera att blandningen av intern kontroll och lyseringsbuffert-bärar-RNA måste beredas färsk och användas omedelbart (förvaring av blandningen vid rumstemperatur eller i kylskåp under bara några timmar kan leda till utebliven funktion av den interna kontrollen och en minskad extraheringseffektivitet).

**Obs!** Tillsätt inte den interna kontrollen och bärar-RNA direkt till provmaterialet.

För att en rening ska betraktas som framgångsrik måste  $C_T$ -värdet för den interna kontrollen för ett negativt plasmaproov som har behandlats med rening (QIAamp DSP Virus Kit) uppnå  $C_T = 27 \pm 3$  (gränsvärde: 0,03) med Rotor-Gene Q-instrument (se sida 25 för mer information). Spridningen beror på variansen hos instrumentet och reningen. En större avvikelse tyder på problem med reningen. Således måste reningen kontrolleras och eventuellt utvärderas på nytt. Om du skulle ha ytterligare frågor eller om andra problem uppträder, ber vi dig kontakta QIAGEN:s tekniska service.

Den interna kontrollen kan även användas uteslutande för att kontrollera eventuell PCR-inhibering. För denna användning ska man tillsätta den interna kontrollen direkt till blandningen av CMV RG Master och CMV Mg-Sol, enligt beskrivning i steg 2b av protokollet (sida 15).

# Protokoll: PCR och dataanalys

## Viktigt att tänka på före start

- Ta dig tid och bekanta dig med Rotor-Gene Q-instrumentet innan du startar protokollet. Se bruksanvisningen för respektive instrument för mer information.
- Säkerställ att minst en kvantifieringsstandard såväl som en negativ kontroll (vatten, PCR-kvalitet) ingår i varje PCR-körning. Om du vill skapa en standardkurva använder du alla 4 kvantifieringsstandarder som levererats (CMV QS 1– 4) för varje körning av PCR.

## Saker som måste göras före start

- Säkerställ att kylblocket (tillbehör till Rotor-Gene Q-instrumentet) är förkylt till 2–8 °C.
- Före varje användning måste alla reagenser tinas helt, blandas (pipettera upprepade gånger upp och ned eller vortex-blanda snabbt) och centrifugeras under kort tid.

## Procedur

1. Placera önskat antal PCR-rör i kylblockets adaptrar.
2. Om du använder den interna kontrollen för att övervaka DNA-isoleringen och kontrollera eventuell PCR-inhibering, följ steg 2a. Om du använder den interna kontrollen uteslutande för att kontrollera PCR-inhibering, följ steg 2b.

**Obs!** Det rekommenderas i hög grad att man tillsätter den interna kontrollen till CMV RG Master och CMV Mg-Sol som används för kvantifieringsstandarder. För kvantifieringsstandarderna ska man tillsätta den interna kontrollen direkt till CMV RG Master och CMV Mg-Sol, enligt beskrivning i steg 2b i protokollet, och använda denna masterblandning för varje kvantifieringsstandard (CMV QS 1–4).

- 2a. Den interna kontrollen har redan tillsatts till isolatet (se "*Intern kontroll*", sidan 13). I detta fall ska du bereda en Masterblandning enligt tabell 2 (nästa sida). Reaktionsblandningen innehåller vanligtvis alla komponenter som behövs för PCR, förutom provet.

**Tabell 2. Beredning av Masterblandning (intern kontroll används för att övervaka DNA-isolering och kontrollera PCR-inhibering)**

<b>Antal prover</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
CMV RG Master	25 µl	300 µl
CMV Mg-Sol	5 µl	60 µl
CMV RG IC	0 µl	0 µl
Total volym	30 µl	360 µl

- 2b. Den interna kontrollen måste tillsättas direkt till blandningen av CMV RG Master och CMV Mg-Sol. I detta fall ska du bereda en Masterblandning enligt tabell 3. Reaktionsblandningen innehåller vanligtvis alla komponenter som behövs för PCR, förutom provet.

**Tabell 3. Beredning av Masterblandning (intern kontroll används uteslutande för att kontrollera PCR-inhibering)**

<b>Antal prover</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
CMV RG Master	25 µl	300 µl
CMV Mg-Sol	5 µl	60 µl
CMV RG IC	2 µl	24 µl
Total volym	32 µl*	384 µl*

\*Volymökningen som orsakas av tillsats av den interna kontrollen är försumbar vid förberedelse av PCR-analysen. Detektionssystemets känslighet försämras inte.

3. Pipettera 30 µl av Masterblandningen i varje PCR-rör, tillsätt sedan 20 µl av det utspädda provet DNA (se tabell 4). På motsvarande sätt måste 20 µl av minst en av kvantifieringsstandarderna (CMV QS 1–4) användas som en positiv kontroll och 20 µl vatten (vatten, PCR-kvalitet) som en negativ kontroll.

**Tabell 4. Beredning av PCR-analys**

<b>Antal prover</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
Masterblandning	30 µl	vardera 30 µl
Prov	20 µl	vardera 20 µl
Total volym	50 µl	vardera 50 µl
Antal prover	1	12

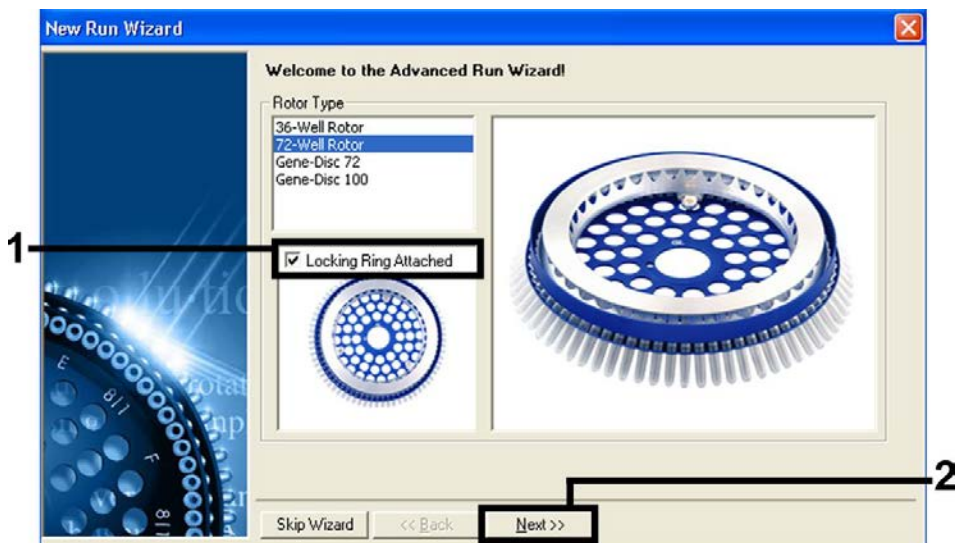
4. Stäng PCR-rören. Kontrollera att låsringen (tillbehör till Rotor-Gene-instrumentet) är placerad överst på rotorn för att förhindra att rören öppnas av misstag under körningen.
5. Skapa en temperaturprofil för detektion av CMV DNA genom att utföra följande steg.

Ställa in allmänna analysparametrar	Figur 1, figur 2 och figur 3
Första aktivering av enzym med varmstart	Figur 4
Amplifiering av DNA (touchdown PCR)	Figur 5.
Justering av fluorescenskanalkänslighet	Figur 6
Starta körningen	Figur 7

Alla specifikationer avser Rotor-Gene Q, programversion 2.3.5 eller högre. Mer information om hur du programmerar Rotor-Gene Q-instrumenten hittar du i användarhandboken till instrumentet. I figurerna har dessa inställningar ramats in i svart. Figurer inkluderas för Rotor-Gene Q-instrument.

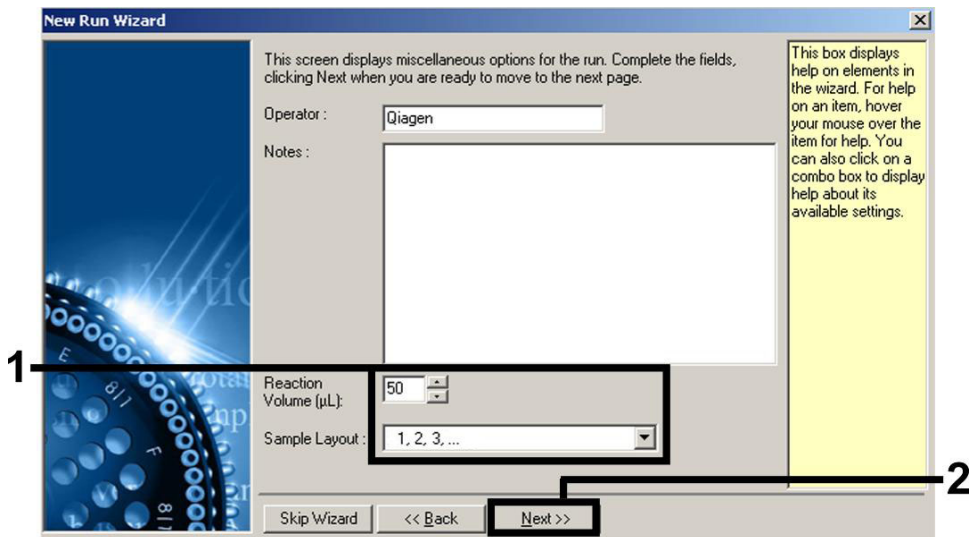
6. Öppna dialogrutan "**New Run Wizard**" (Guide för ny körning) (figur 1, nästa sida). Markera rutan **Locking Ring Attached** (Låsring fäst) och klicka på **Next** (Nästa).





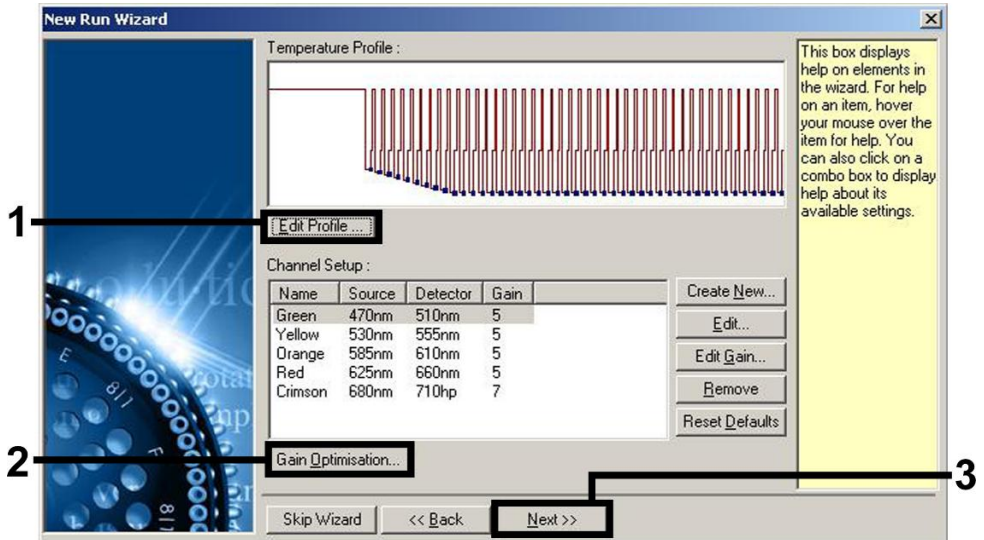
Figur 1. Dialogrutan "New Run Wizard" (Guide för ny körning).

7. Välj 50 för PCR-reaktionsvolym och klicka på **Next** (Nästa) (Figur 2).

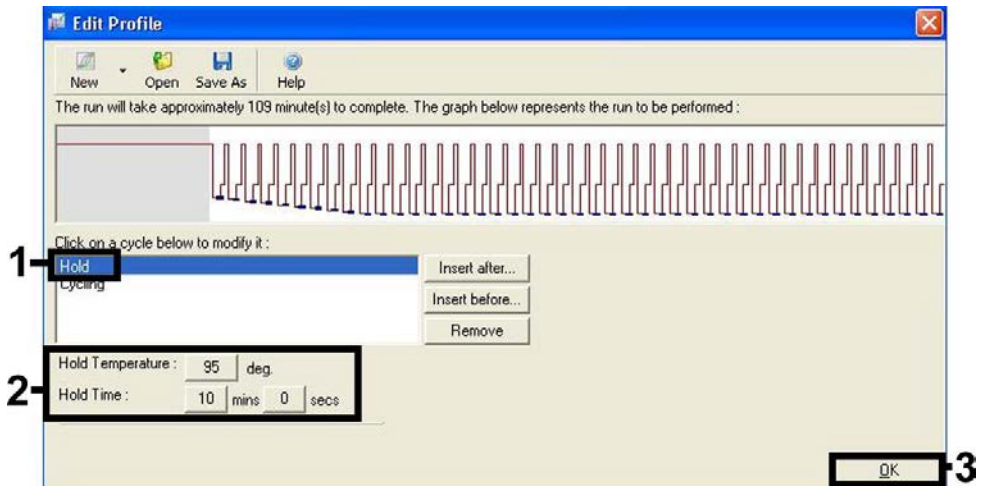


Figur 2. Ställa in allmänna analysparametrar.

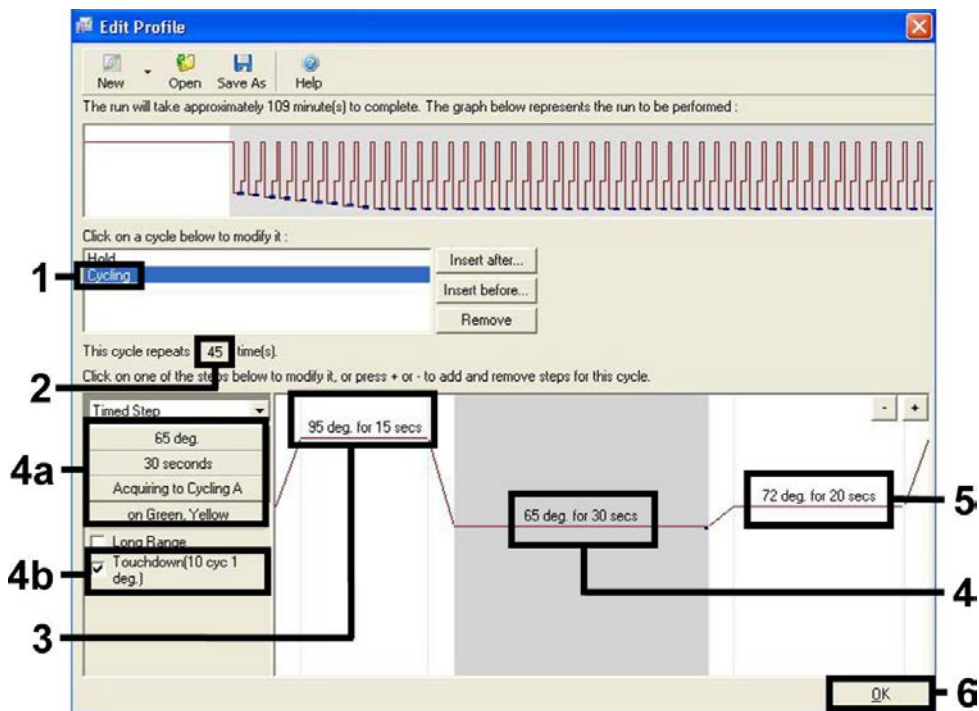
8. Klicka på knappen **Edit Profile** (Redigera profil) i nästa dialogruta i **New Run Wizard** (Guide för ny körning) (Figur 3) och programmera temperaturprofilen enligt figur 3 till figur 5.



Figur 3. Ändra profilen.

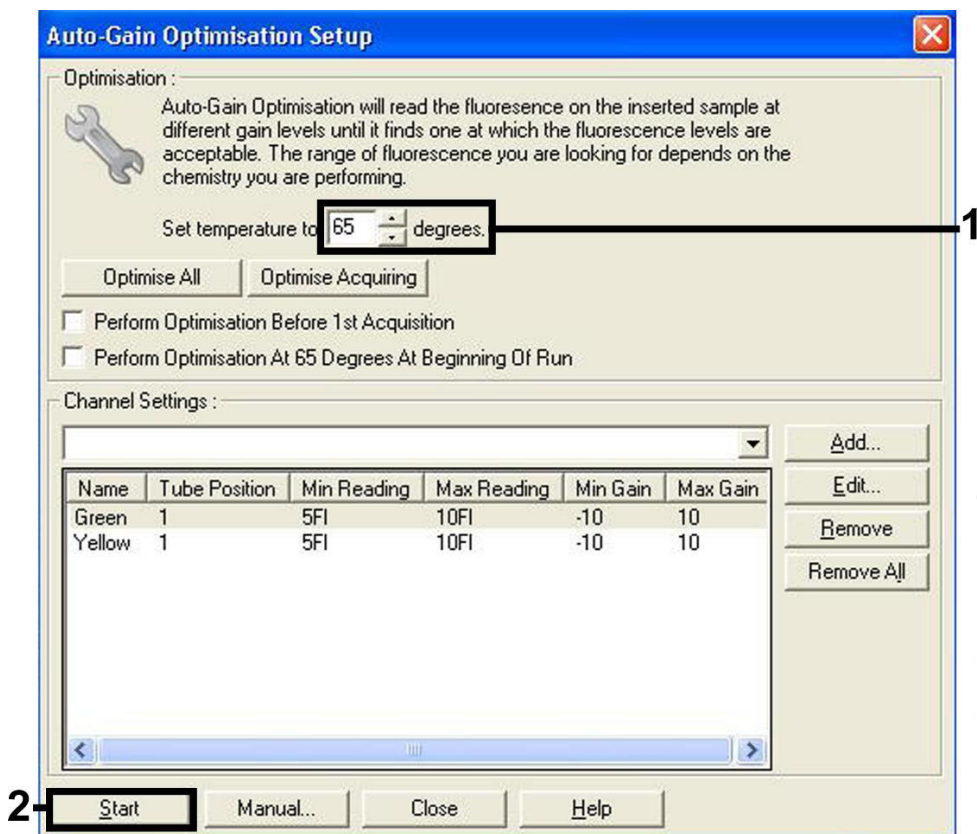


Figur 4. Första aktivering av enzym med varmstart.



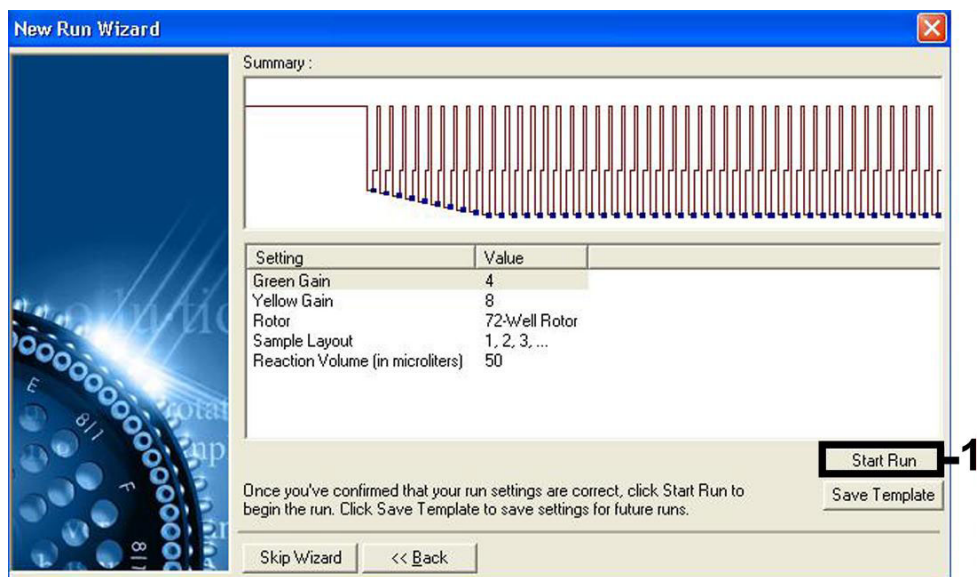
Figur 5. DNA-amplifiering. Kontrollera att du har aktiverat den slutliga funktionen för 10 cykler i hybridiseringssteget.

9. Detektionsintervallet för fluorescenskanalerna måste fastställas enligt fluorescensintensiteterna i PCR-rören. Klicka på **Gain Optimisation** (Optimering av förstärkning) i dialogrutan "**New Run Wizard**" (Guide för ny körning) (se figur 3, föregående sida) för att öppna dialogrutan "**Auto-Gain Optimisation Setup**" (Ställ in automatisk optimering av förstärkning). Ställ in kalibreringstemperaturen på 65 så att den stämmer överens med amplifieringsprogrammets temperatur för hybridisering (figur 6, nästa sida).



Figur 6. Justering av fluorescenskanalkänslighet.

- De förstärkningsvärden som fastställs av kanalkalibreringen sparas automatiskt och anges i det sista menyfönstret i programmeringsproceduren (figur 7, nästa sida). Klicka på **Start run** (Starta körning).



Figur 7. Starta körningen.

# Tolkning av resultat

## Kvantifiering

De medföljande kvantifieringsstandarderna (CMV QS 1–4) behandlas på samma sätt som redan isolerade prover och används i samma volym (20 µl) direkt i PCR (ingen vidare extraktion krävs). För att generera en standardkurva på Rotor-Gene Q-instrument ska alla 4 kvantifieringsstandarder användas och definieras i dialogrutan "**Edit Samples**" (Redigera prover) som standarder med specificerade koncentrationer (se instrumentets användarhandbok).

**Obs!** För att säkerställa noggrann kvantifiering rekommenderas det i hög grad att man tillsätter den interna kontrollen till CMV RG Master och CMV Mg-Sol som används för kvantifieringsstandarder. För denna användning ska man tillsätta den interna kontrollen direkt till CMV RG Master och CMV Mg-Sol, enligt beskrivning i steg 2b av protokollet (sida 15), och använda denna masterblandning för varje kvantifieringsstandard (CMV QS 1–4).

**Obs!** Kvantifieringsstandarderna definieras som kopior/µl. Följande ekvation måste användas för att omvandla de fastställda värdena med hjälp av standardkurvan till kopior/ml provmaterial:

$$\text{Resultat} \left( \frac{\text{kopior}}{\text{ml}} \right) = \frac{\text{Resultat (kopior/}\mu\text{l)} \times \text{spädningsvolym (}\mu\text{l)}}{\text{Provvolyml (ml)}}$$

Principiellt ska den inledande provvolymen anges i ekvationen ovan. Tag hänsyn till denna när provvolymen har förändrats före extraktionen av nukleinsyra (till exempel reduktion av volymen genom centrifugering eller ökning av volymen genom att tillsätta till den volym som krävs för isoleringen).

---

**Obs!** Kvantifieringsstandarderna har kalibrerats mot den första internationella standarden för humant cytomegalovirus (NIBSC-kod: 09/162) enligt Världshälsoorganisationen (WHO).

För att konvertera kopior/ml till IU/ml med hänsyn till QIAamp DSP Virus Kit:

$$\text{WHO (IU/ml)} = 2,933 \times \text{artus CMV (kopior/ml)}$$

**Obs!** För QIAamp-arbetsflödet måste kvantifierade prov vara inom det linjära området av kvantifieringen på QS  $1 \times 10^1$  till  $1 \times 10^4$  kopior/ $\mu$ l. Kvantifiering kan inte säkerställas utanför detta område.

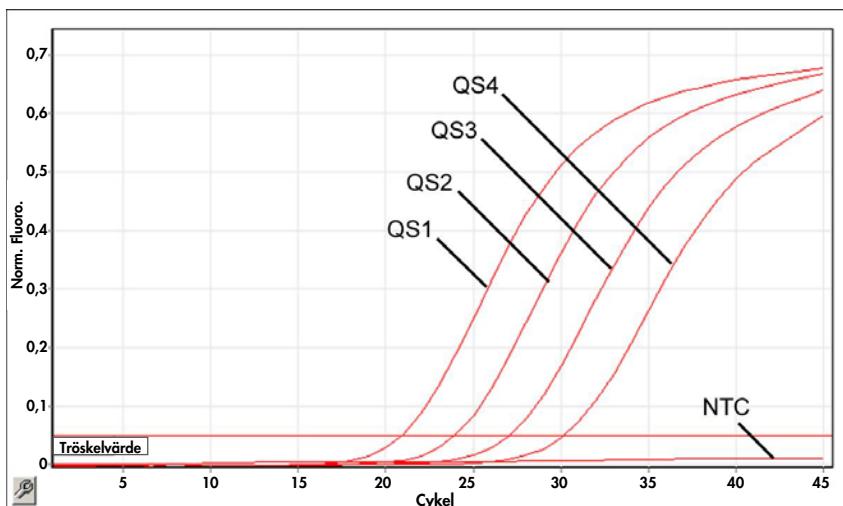
För att konvertera/ml till IU/ml med hänsyn till EZ1 DSP Virus Kit på EZ1 Advanced XL-instrumentet:

$$\text{WHO (IU/ml)} = 0,794 \times \text{artus CMV (kopior/ml)}$$

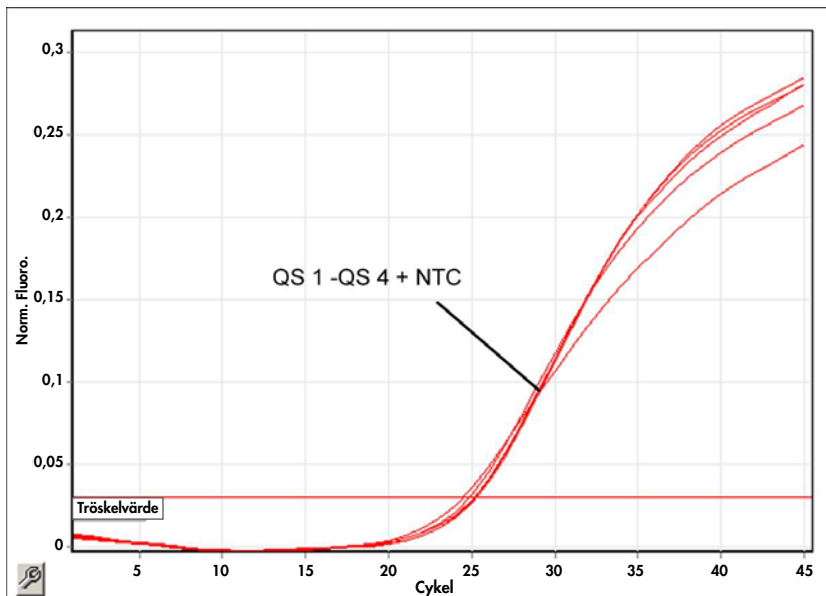
**Obs!** För EZ1-arbetsflödet måste kvantifierade prov vara inom det linjära området  $3,16E+02$  till  $1,00E+08$  kopior/ml. Kvantifiering kan inte säkerställas utanför detta område.

## Resultat

Exempel på positiva och negativa PCR-reaktioner ges i figur 8 och figur 9, (nästa sida).



Figur 8. Detektion av kvantifieringsstandarderna (CMV QS 1–4) i fluorescenskanalen Cycling Green.  
NTC: No template control (Kontroll utan mall) (negativ kontroll).



Figur 9. Detektion av den interna kontrollen (internal control, IC) i fluorescenskanalen Cycling Yellow med samtidig amplifiering av kvantifieringsstandarderna (CMV QS 1–4). NTC: No template control (Kontroll utan mall) (negativ kontroll).



---

En signal upptäcks i fluorescenskanalen "Cycling Green".

Analysresultatet är positivt: provet innehåller CMV-DNA.

I det här fallet är upptäckten av en signal i kanalen "Cycling Yellow" umbärlig, eftersom höga inledande koncentrationer av CMV-DNA (positiv signal i kanalen "Cycling Green") kan leda till en reducerad eller frånvarande fluorescenssignal i den interna kontrollen i kanalen "Cycling Yellow" (konkurrens).

I fluorescenskanalen "Cycling Green" har ingen signal upptäckts. På samma gång syns en signal från den interna kontrollen i kanalen "Cycling Yellow".

Ingen CMV DNA går att detektera i provet. Det kan därför anses som negativt.

I fallet av en negativ PCR för CMV utesluter den upptäckta signalen i den interna kontrollen möjligheten av en inhibition av PCR.

Ingen signal har upptäckts i kanalerna "Cycling Green" respektive "Cycling Yellow".

Inget resultat kan fastställas.

Information om felkällor och deras lösning kan du hitta i "Felsökningsguide", sidan 41.

---

# Kvalitetskontroll

I enlighet med QIAGEN:s ISO-certifierade kvalitetshanteringsystem testas varje lot av *artus* CMV RG PCR Kit mot förutbestämda specifikationer för att garantera följdriktig produktkvalitet.

## Begränsningar

Alla reagenser är endast för in vitro-diagnostisk användning.

Produkten ska användas av personal som särskilt utbildats i in vitro-diagnostiska procedurer.

För optimalt PCR-resultat krävs att anvisningarna i användarmanualen för respektive instrument följs strikt.

Var uppmärksam på de utgångsdatum som anges på förpackningen och på etiketterna till alla komponenter. Använd inte komponenter vars utgångsdatum har passerat.

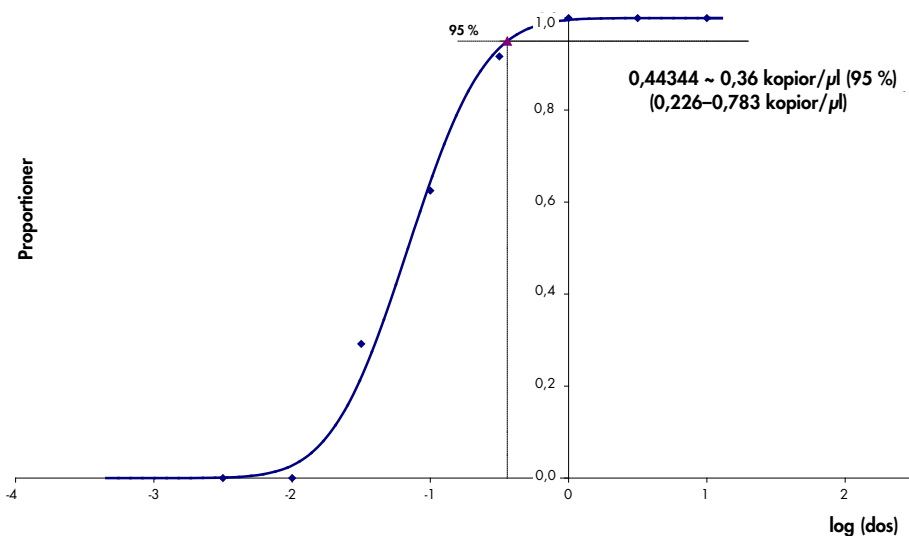
Även om det i sällsynta fall kan uppkomma mutationer inom virusgenomet i hög grad bevarade områden, vilka täcks av satsens primrar och/eller sökfragment, kan detta resultera i underkvantifiering eller kan befintligheten av virus i dessa fall missas att upptäckas. Därför granskas analysens giltighet och prestanda med jämna mellanrum.

# Prestandaegenskaper

## Analytisk känslighet

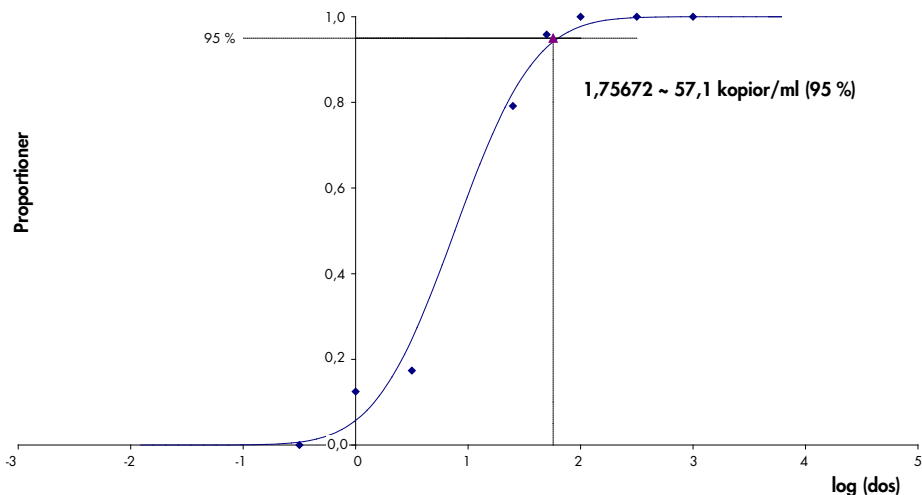
Den analytiska detektionsgränsen såväl som den analytiska detektionsgränsen med hänsyn till reningen (känslighetsgränser) bedömdes för *artus* CMV RG PCR Kit. Den analytiska detektionsgränsen, med hänsyn till reningen, bestämdes med hjälp av CMV-positiva kliniska prover i kombination med en särskild extraktionsmetod. Däremot bestäms den analytiska detektionsgränsen oberoende av den valda extraktionsmetoden, med användning av CMV-DNA med känd koncentration.

För att bestämma den analytiska känsligheten för *artus* CMV RG PCR Kit ordnades en spädningsserie av CMV genomiskt DNA från 10 till nominellt 0,00316 kopior/ $\mu$ l och analyserades i Rotor-Gene-instrumenten i kombination med *artus* CMV RG PCR Kit. Testningen utfördes under 3 olika dagar med 8 replikat. Resultaten fastställdes genom en probitanalys. En grafisk bild av probitanalysen i Rotor-Gene 6000 visas i figur 10 (nästa sida). Den analytiska detektionsgränsen för *artus* CMV RG PCR Kit i kombination med Rotor-Gene Q MDx/Q/6000 och Rotor-Gene 3000 är 0,36 kopior/ $\mu$ l ( $p = 0,05$ ) respektive 0,24 kopior/ $\mu$ l ( $p = 0,05$ ). Detta innebär att det finns en 95-procentig sannolikhet att 0,36 kopior/ $\mu$ l eller 0,24 kopior/ $\mu$ l kommer att detekteras.



Figur 10. Probitanalys: CMV (Rotor-Gene 6000). Analytisk känslighet för *artus* CMV RG PCR Kit i Rotor-Gene 6000.

Den analytiska känsligheten med hänsyn till reningen (QIAamp DSP Virus Kit) av *artus* CMV RG PCR Kit på Rotor-Gene-instrument fastställdes med hjälp av spädningsserier av CMV-virusmaterial från 1000 till nominellt 0,316 CMV-kopior/ml toppade i kliniska plasmaprover. Dessa genomgick en DNA-extraktion med QIAamp DSP Virus Kit (extraktionsvolym: 0,5 ml, elueringsvolym: 60 μl). Var och en av de 8 spädningarna analyserades med *artus* CMV RG PCR Kit på 3 olika dagar och med 8 replikat. Resultaten fastställdes genom en probitanalys. En grafisk bild av probitanalysen visas i figur 11 (nästa sida). Den analytiska detektionsgränsen med hänsyn till reningen av *artus* CMV RG PCR Kit i kombination med Rotor-Gene 3000 är 57,1 kopior/ml ( $p = 0,05$ ). Detta innebär att det finns en 95-procentig sannolikhet att 57,1 kopior/ml kommer att detekteras.



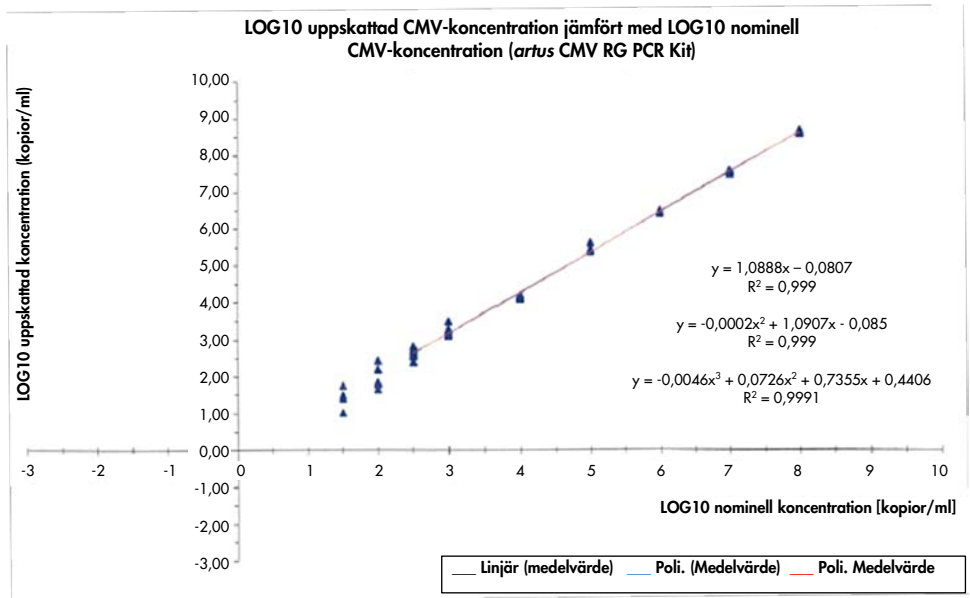
**Figur 11. Probitanalys: CMV (Rotor-Gene 3000). Analytisk känslighet med hänsyn till reningen (QIAamp DSP Virus Kit, QIAGEN) av *artus* CMV RG PCR Kit i Rotor-Gene 3000.**

Den analytiska känsligheten med hänsyn till reningen med EZ1 DSP Virus Kit (extraheringsvolym: 0,4 ml, elueringsvolym: 60 µl) med EZ1 Advanced XL-instrumentet av *artus* CMV RG PCR Kit på Rotor-Gene 6000 är 68,75 kopior/ml ( $p = 0,05$ ). Detta innebär att det finns en 95-procentig sannolikhet att 68,75 kopior/ml kommer att detekteras.

## Linjära områden av kvantifieringen

Det linjära området med hänsyn till reningen med EZ1 DSP Virus Kit (extraheringsvolym: 0,4ml, elueringsvolym: 60 µl) med EZ1 Advanced XL-instrumentet fastställdes genom att testa 4 till 6 replikat av CMV-virusmaterial i en spädningsserie från  $3,16E+01$  till  $1,00E+08$  kopior/ml.

En grafisk bild av probitanalysen visas i figur 12 (nästa sida).



**Figur 12. Polynomial regression av dataset av *artus* CMV RG PCR Kit med hänsyn till reningen (EZ1 DSP Virus Kit) på EZ1 Advanced XL-instrumentet. Linjära, kvadratiska och kubiska regressionsmodeller är inkluderade.**

Det linjära området av *artus* CMV RG PCR Kit med hänsyn till reningen med EZ1 DSP Virus Kit (extraheringsvolym: 0,4ml, elueringsvolym: 60µl) med EZ1 Advanced XL-instrumentet är 3,16E+02 till 1,00E+08 kopior/ml.

**Obs!** Det linjära området av *artus* CMV RG PCR Kit med hänsyn till reningen med QIAamp DSP Virus Kit (extraheringsvolym: 0,4 ml, elueringsvolym: 60 µl) är 1,00E+01 till 1,00E+04 kopior/µl.

## Specificitet

Specificiteten för *artus* CMV RG PCR Kit garanteras i första hand genom val av primrar och sökfragment samt val av strikta reaktionsförhållanden. Primrarna och sökfragmenten kontrollerades beträffande eventuella homologier i alla sekvenser som publicerats i genbanker genom sekvensjämförande analys. Därmed säkerställs att alla relevanta stammar kan detekteras.

Dessutom validerades specificiteten med hundra olika negativa plasmaprover av CMV. 99 av dessa prover alstrade inga signaler med de CMV-specifika primrar och sökfragment som ingår i CMV RG Master.

**Obs!** 1 prov som genererade en signal i CMV-specifika primers och sökfragment som också testade CMV-positivt i *artus* CMV LC och TM RG PCR Kits är lika positiva. Den slutliga specificiteten baserat på testning av 100 individuella donatorprov verifierades som 99,00 % (99/100).

En potentiell korsreaktivitet för *artus* CMV RG PCR Kit testades med hjälp av den kontrollgrupp som anges i tabell 5. Ingen av de testade patogenerna var reaktiv. Inga korsreaktiviteter visade sig med blandade infektioner.

**Tabell 5. Testning av kitets specificitet med potentiellt korsreaktiva patogener**

Kontrollgrupp	CMV (Cycling Green eller Cycling A.FAM)	Intern kontroll (Cycling Yellow eller Cycling A.JOE)
Humant herpesvirus 1 (Herpes simplex-virus 1)	–	+
Humant herpesvirus 2 (Herpes simplex-virus 2)	–	+
Humant herpesvirus 3 (varicella-zoster-virus)	–	+
Humant herpesvirus 4 (Epstein-Barr-virus)	–	+
Humant herpesvirus 6A	–	+
Humant herpesvirus 6B	–	+
Humant herpesvirus 7	–	+
Humant herpesvirus 8 (Kaposis sarkom-associerat herpesvirus)	–	+
Hepatit A-virus	–	+
Hepatit B-virus	–	+
Hepatit C-virus	–	+

(fortsättning på nästa sida)

Tabell 5 (forts. från föregående sida)

Kontrollgrupp	CMV (Cycling Green eller Cycling A.FAM)	Intern kontroll (Cycling Yellow eller Cycling A.JOE)
Humant immunbristvirus 1	–	+
Humant T-cell-leukemivirus 1	–	+
Humant T-cell-leukemivirus 2	–	+
West Nile-virus	–	+
Enterovirus	–	+
Parvovirus B19	–	+

## Precision

Precisionsuppgifter för *artus* CMV RG PCR Kit har samlats in med användning av Rotor-Gene-instrument och möjliggör bestämning av analysens totala varians. Den totala variansen består av intra-analysvariabilitet (variabilitet för flera resultat av prover med samma koncentration inom ett experiment), inter-analysvariabilitet (variabilitet för flera resultat av analysen som genererats på olika instrument av samma typ av olika operatörer inom ett laboratorium) och inter-batchvariabilitet (variabilitet för flera resultat av analysen med användning av olika batcher). De uppgifter som erhöles användes för att fastställa standardavvikelsen, variansen, variationskoefficienten för den specifika patogenen och den interna kontrollen för PCR.

Precisionsdata för *artus* CMV RG PCR har samlats in med hjälp av kvantifieringsstandarden för den lägsta koncentrationen (QS 4; 10 kopior/ $\mu$ l). Testning utfördes med 8 replikat. Precisionsdata beräknades med utgångspunkt från  $C_T$ -värdena för förstärkningsgraferna ( $C_T$ : tröskelcykel, se tabell 6, nästa sida). Dessutom fastställdes precisionsuppgifter för kvantitativa resultat i kopior/ $\mu$ l med användning av motsvarande  $C_T$ -värden (se tabell 7, nästa sida). Baserat på dessa resultat är den totala statistiska spridningen för ett givet prov med nämnd koncentration 1,21% ( $C_T$ ) eller 14,38% (koncentration) och 1,93% ( $C_T$ ) för detektionen av den interna kontrollen. Dessa värden baseras på summan av alla enskilda bestämda variabiliteter.



**Tabell 6. Precisionsdata på grundval av Ct-värdena**

	<b>Standardavvikelse</b>	<b>Varians</b>	<b>Variationskoefficient (%)</b>
Intraanalysvariabilitet: CMV QS 4	0,17	0,03	0,57
Intraanalysvariabilitet: Intern kontroll	0,31	0,10	1,16
Interanalysvariabilitet: CMV QS 4	0,38	0,14	1,27
Interanalysvariabilitet: Intern kontroll	0,47	0,22	1,77
Interbatchvariabilitet: CMV QS 4	0,33	0,11	1,10
Interbatchvariabilitet: Intern kontroll	0,53	0,28	2,02
Total varians: CMV QS 4	0,36	0,13	1,21
Total varians: Intern kontroll	0,51	0,26	1,93

**Tabell 7. Precisionsuppgifter baserade på kvantitativa resultat (i kopior/ $\mu$ l)**

	<b>Standardavvikelse</b>	<b>Varians</b>	<b>Variationskoefficient (%)</b>
Intraanalysvariabilitet: CMV QS 4	1,34	1,80	13,30
Interanalysvariabilitet: CMV QS 4	1,54	2,38	15,25
Interbatchvariabilitet: CMV QS 4	1,46	2,12	14,41
Total varians: CMV QS 4	1,45	2,11	14,38

## Interfererande ämnen

CMV DNA toppades till negativ plasma i olika kommersiellt tillgängliga blodprovssystem med olika antikoagulanter. Den beräknade koncentrationen (kopior/ml,  $C_T$  medelvärde, standardavvikelse, varians och CV %) rapporteras i tabell 8. Standardavvikelse och variationskoefficient är inom ramen av 5 % och därmed inom toleransområdet. Ingen betydande effekt på PCR på grund av de varierande ämnena identifierades.

**Tabell 8. Kommerciellt blodprovssystem och antikoaguleringsdata**

Ämne	Koncentration (kopior/ml)	$C_T$ medelvärde	$C_T$ Standardavvikelse	$C_T$ Varians	$C_T$ CV (%)
Kalium EDTA, Becton Dickinson®	399,60	31,06	0,11	0,01	0,36
Kalium EDTA, Sarstedt	350,10	31,26	0,30	0,09	0,97
Kalium EDTA, Greiner Bio-One®	285,00	31,58	0,50	0,25	1,58
Kalium EDTA, Springe (referens)	310,40	31,40	0,16	0,03	0,52
Kalium EDTA, Sarstedt (referens)	487,20	30,80	0,14	0,02	0,47
Kalium EDTA (graviditet)	423,30	33,2	0,26	0,07	0,79

Endogena ämnen (tabell 9, nästa sida) toppades i CMV-positiva EDTA-plasmaprov vid 3 x LOD och 10 x LOD. Alla prov har framgångsrikt upptäckts och ingen interferens observerades för prov som innehåller upphöjda nivåer av endogena hämmare (bilirubin, hemoglobin, triglycerid och albumin).

**Tabell 9. Testade endogena substanser**

Interfererande ämnen	Lista med interfererande ämnen
Bilirubin	30 mg/dl
Hemoglobin	2 g/dl
Triglycerid	1 g/dl
Albumin	6 g/dl

Vanliga läkemedel som används vid transplantationer testades med 3 ggr den akuta toppkoncentrationen efter en läkemedelsterapeutisk behandling, så som rekommenderat i riktlinjen CLSI® EP07-A2 (11) (se tabell 10). Alla dessa ämnen toppades i både CMV-negativa och CMV-positiva prov som testades i 4 replikat.

Alla testade exogena ämnen visade ingen betydande påverkan på prestationen av *artus* CMV RG PCR kit.

**Tabell 10. Lista med läkemedel testade som exogena ämnen**

Interfererande ämnen	Testkoncentration
<b>Antibiotika</b>	
Sulfametoxazol	200 mg/l
Trimetoprim	5,2 mg/l
Claforan® (Cefotaxime)	1 g/l
Tazobac® (Piperacillin+Tazobactam)	Piperacillin: 1 g/l Tazobactam: 125 mg/l
Ticarcillin	1 g/l
Augmentin® (Amoxicillin + klavulansyra)	Amoxicillin: 125 mg/l Klavulansyra: 25 mg/l
Vancomycin	125 mg/l
<b>Antisvamp</b>	
Fluconazol	1 mg/l
<b>Immunhämmande läkemedel</b>	
Rapamycin	100 mg/l
Mykofenolatnatrium	80 mg/l

## Robusthet

Med hjälp av verifieringen av robustheten går det att fastställa den totala felfrekvensen för *artus CMV RG PCR Kit*. 100 CMV-negativa plasmaprover fick toppades med CMV vid en slutlig koncentration på 170 kopior/ml (ungefär tre gånger så stor koncentration som den analytiska känslighetsgränsen). Efter extraktion med användning av QIAamp DSP Virus Kit analyserades dessa prover med *artus CMV RG PCR Kit*. Felfrekvensen var 0 % för alla CMV-proven. Den interna kontrollens robusthet prövades dessutom genom rening och analys av 100 CMV-negativa-plasmaprover. Robustheten för *artus CMV RG PCR Kit* är således  $\geq 99$  %.

## Reproducerbarhet

Med hjälp av reproducerbarhetsdata är det möjligt att regelbundet utvärdera *artus CMV RG PCR Kit* och att göra en effektivitetsjämförelse med andra produkter. Dessa data erhålls genom deltagande i etablerade kunskapsprogram.

Förutom deltagande i etablerade kunskapsprogram testade en 10-medlemmars CMV-panel (tabell 11) i 3 externa laboratorier med EZ1 DSP Virus Kit på EZ1 Advanced XL-instrumentet för att rena nukleinsyra och *artus RG PCR kit* för att testa DNA-eluat.

**Tabell 11. Sammanfattning av CMV-panelmedlemmarna**

Panelnummer (typ av panelmedlem)	Panelmedlem	Spädningseffekt
1001 (1)	Negativ	Negativ pool 1
1002 (1)	Negativ	Negativ pool 2
1003 (2)	Högt negativ	50 % positiv
1004 (2)	Högt negativ	50 % positiv
1005 (3)	Lågt positiv	200 kopior/ml
1006 (3)	Lågt positiv	200 kopior/ml
1007 (4)	Måttligt positiv	2 000 kopior/ml
1008 (4)	Måttligt positiv	2 000 kopior/ml
1009 (5)	Högt positiv	200 000 kopior/ml
1010 (5)	Högt positiv	200 000 kopior/ml

Den 10-medlemspanelen testades dubbelt av 2 olika operatörer varje dag i 6 dagar på varje plats med 3 reagenskitverktyg. Därför är 20 prov multiplicerat med 2 operatörer under 6 dagar på 3 platser är lika med 720 datapunkter.

Den totala reproducerbarheten av *artus* CMV RGQ MDx-testet fastställdes vara  $\leq 12\%$  CV för prov med en koncentration mellan 200 kopior/ml och 200 000 kopior/ml (tabell 12)

**Tabell 12. Övergripande sammanfattning (varje panelmedlemstyp) – observerade genomsnitt**

panel_member_type	Antal observationer	Medelvärde	Median	Standardavvikelse	Procent CV	Minimum
1	144	0,02	0,00	0,158	849,84	0,00
2	144	0,68	0,83	0,630	92,19	-0,10
3	144	1,91	1,95	0,226	11,83	0,98
4	144	2,96	2,96	0,168	5,68	2,16
5	144	5,03	5,03	0,091	1,80	4,75

Den övergripande sammanfattningen av procentvariansen och standardavvikelsen för log<sub>10</sub> IU/ml-värden för var och en av de 5 panelerna över lot, plats, operatör, dag, mellan körning och inom körning presenteras i tabell 13 (nästa sida).

Tabell 13. Övergripande sammanfattning och standardavvikelse

Prov	1	2	3	4	5	
<b>Provtyp</b>	negativ	högt negativ	lågt positiv	måttligt positiv	högt positiv	
<b>Observerat medelvärde log<sub>10</sub> IU/ml</b>	0,02	0,68	1,91	2,96	5,03	
<b>Antal tester</b>	144	144	144	144	144	
<b>Mätning</b>	<b>% varians S.D.</b>					
<b>Varianskomponent</b>	<b>Lot</b>	0	3,10	0	0	3,00
		0	0,113	0	0	0,016
	<b>Område</b>	0	0	0	0,90	0
		0	0	0	0,016	0
	<b>Operator (Operatör)</b>	4,3	4,6	0	18,8	15,4
		0,033	0,136	0	0,074	0,037
	<b>Dag</b>	0	0	8,60	6,00	48,10
		0	0	0,067	0,042	0,065
	<b>Mellan körningar</b>	0	0	4,40	10,90	7,90
		0	0	0,048	0,057	0,026
	<b>Inom körning</b>	95,7	92,3	87	63,40	25,60
		0,155	0,611	0,212	0,136	0,048
	<b>Totalt</b>	100	100	100	100	100
	0,158	0,635	0,227	0,171	0,094	

## Diagnostisk utvärdering

artus CMV RG PCR Kit bedömdes i en studie som jämförde artus CMV RG PCR Kit med COBAS® AMPLICOR® CMV MONITOR® Test. 156 retrospektiva och prospektiva kliniska EDTA-plasmaprover analyserades. Alla prover hade analyserats i förväg som positiva eller negativa med COBAS AMPLICOR CMV MONITOR för rutinmässig diagnostik.

CMV DNA för testning av *artus* CMV RG PCR Kit isolerades med QIAamp DSP Virus Kit, med den interna kontrollen av *artus* CMV RG PCR Kit tillsatt till isoleringen och analysen utfördes på Rotor-Gene 3000. Proverna för COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test bearbetades och analyserades i enlighet med tillverkarens anvisningar som finns i bipacksedeln.

Samtliga 11 prover som testades positiva med COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test testades även positiva med *artus* CMV RG PCR Kit. 123 av 145 prover som testades negativa med COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test testades även negativa med *artus* CMV RG PCR Kit. 22 diskrepanta resultat erhöles (tabell 14).

**Tabell 14. Resultat från den jämförande valideringsstudien**

		COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test		Totalt
		+	-	
<i>artus</i> CMV RG PCR Kit	+	11	22	33
	-	0	123	123

Om resultaten av COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test används som referens, är den diagnostiska känsligheten för samtliga prover för *artus* CMV RG PCR Kit 100 %, och den diagnostiska specificiteten är 84,8 %.

Ytterligare tester av de 22 diskrepanta proverna bekräftade resultaten för *artus* PCR-kiten. Man kan därför utgå från att diskrepansen beror på högre känslighet hos *artus* CMV RG PCR Kit.

---

# Referenser

1. Plosa E.J., Esbenshade J.C., Fuller M.P., and Weitkamp J.H. (2012). Cytomegalovirus Infection. *Pediatr. Rev.* **33**, 156-163.
2. Furui Y., Satake M., Hoshi Y., Uchida S., Suzuki K., and Tadokoro K. (2013). Cytomegalovirus (CMV) seroprevalance in Japanese blood donors and high detection frequency of CMV DNA in elderly donors. *Transfusion.* **53**, 2190-2197.
3. Atabani, S.F., et al. (2012). Cytomegalovirus replication kinetics in solid organ transplant recipients managed by preemptive therapy. *Am. J. Transplant.* **12**, 2457-2464.
4. Enders G., Daiminger A., Bäder U., Exler S., and Enders M. (2011). Intrauterine transmission and clinical outcome of 248 pregnancies with primary cytomegalovirus infection in relation to gestational age. *J. Clin. Virol.* **52**, 244-246.
5. Kotton, C.N., et al. (2018). The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-organ Transplantation. *Transplantation.* **102**, 900-931.
6. Lancini D, Faddy H.M., Flower R., and Hogan C. (2014). Cytomegalovirus disease in immunocompetent adults. *Med. J. Aust.* **201**, 578-580.
7. Eddleston M, Peacock S, Juniper M, and Warrell DA. (1997). Severe cytomegalovirus infection in immunocompetent patients. *Clin. Infect. Dis.* **24**, 52-56.
8. Mackay, I.M. (2004). Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin. Microbiol. Infect.* **10**, 190-212.
9. Nesbitt S.E., Cook L., Jerome K.R. (2004). Cytomegalovirus quantitation by real-time PCR is unaffected by delayed separation of plasma from whole blood. **42**, 1296-1297.
10. Abdul-Ali D., Kraft C.S., Ingersoll J., Frempong M., Caliendo A.M. (2011). Cytomegalovirus DNA stability in EDTA Anti-Coagulated Whole Blood and Plasma Samples. *J. Clin. Virol.* **52**, 222-224
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2005). Interference Testing in Clinical Chemistry: Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP07-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS).



# Felsökningsguide

Den här felsökningsguiden kan vara till hjälp för att lösa eventuella problem som uppstår. Mer information finns på sidan vanliga frågor (Frequently Asked Questions, FAQs) på vårt tekniska supportcenter: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx).

## Kommentarer och förslag på åtgärd

### Ingen signal med positiva kontroller (CMV QS 1–4) i fluorescenskanalen Cycling Green

- |   |   |
|---|---|
| a) Den valda fluorescenskanalen för PCR-dataanalysen överensstämmer inte med protokollet  | Vid dataanalys väljer du fluorescenskanalen Cycling Green för den analytiska PCR för CMV och fluorescenskanalen Cycling Yellow för den interna kontrollen av PCR. |
| b) Felaktig programmering av temperaturprofilen för Rotor-Gene-instrumentet   | Jämför temperaturprofilen med protokollet. Se "Protokoll: PCR och dataanalys", sidan 14.  |
| c) Felaktig konfiguration av PCR  | Kontrollera arbetsstegen med hjälp av pipetteringsschemat och upprepa PCR-analysen vid behov. Se "Protokoll: PCR och dataanalys", sidan 14.                       |
| d) Förvaringsvillkoren för en eller flera kitkomponenter överensstämde inte med de instruktioner som gavs i "Förvaring och hantering av reagenser" (sidan 10) | Kontrollera förvaringsvillkoren och utgångsdatumet (se etiketten på kitet) för reagenserna och använd ett nytt kit vid behov.                                     |
| e) Utgångsdatumet för <i>artus</i> CMV RG PCR Kit har passerat  | Kontrollera förvaringsvillkoren och utgångsdatumet (se etiketten på kitet) för reagenserna och använd ett nytt kit vid behov.                                     |

### Svag eller obefintlig signal i den interna kontrollen för ett negativt plasmaprov som renats med hjälp av QIAamp DSP Virus Kit ( $C_T = 27 \pm 3$ ; tröskelvärde, 0,03) i fluorescenskanal Cycling Yellow och samtidig frånvaro av signal i kanal Cycling Green

- |   |  |
|---|--|
| a) Villkoren för PCR stämmer inte överens med protokollet | Kontrollera PCR-villkoren (se ovan) och upprepa, om nödvändigt, PCR med korrigerade inställningar.   |
| b) PCR inhiberades  | Säkerställ att du använder den rekommenderade isoleringsmetoden och noggrant följer tillverkarens anvisningar.   |
| c) DNA förlorades under extraktion                        | Om den interna kontrollen tillsattes i extraktionen kan en frånvarande signal för den interna kontrollen tyda på att DNA gått förlorat under extraktionen. Säkerställ att du använder den rekommenderade isoleringsmetoden (se "DNA-isolering", sidan 12) och noggrant följer tillverkarens anvisningar. |

## Kommentarer och förslag på åtgärd

---

- |   |   |
|---|---|
| d) Förvaringsvillkoren för en eller flera kitkomponenter överensstämde inte med de instruktioner som gavs i "Förvaring och hantering av reagenser" (sidan 10) | Kontrollera förvaringsvillkoren och utgångsdatumet (se etiketten på kitet) för reagenserna och använd ett nytt kit vid behov. |
| e) Utgångsdatumet för <i>artus CMV RG PCR Kit</i> har passerat  | Kontrollera förvaringsvillkoren och utgångsdatumet (se etiketten på kitet) för reagenserna och använd ett nytt kit vid behov. |

### Signaler med de negativa kontrollerna i fluorescenskanalen *Cycling Green* för analytisk PCR

- |   |  |
|---|--|
| a) Kontaminering inträffade under förberedelse av PCR | Upprepa PCR med oanvända reagenser i replikat.<br>Stäng om möjligt PCR-rören direkt när du har tillsatt det prov som ska testas.<br>Se till att pipettera den positiva kontrollen sist.<br>Försäkra dig om att arbetsytan och instrumentet dekontamineras regelbundet. |
| b) Kontamination inträffade under extraktion          | Upprepa extraktion och PCR av provet som ska testas med hjälp av oanvända reagenser.<br>Försäkra dig om att arbetsytan och instrumentet dekontamineras regelbundet.  |

# Symboler



<N>

Innehåller tillräckligt med reagenser för <N> test



Utgångsdatum

**IVD**

In vitro-diagnostisk medicinteknisk enhet

**REF**

Katalognummer

**LOT**

Lotnummer

**MAT**

Materialnummer

**COMP**

Komponenter

**CONT**

Innehåller

**NUM**

Antal

**GTIN**

GSI-artikelnummer



Temperaturbegränsning



Tillverkare



Läs bruksanvisningen innan användning

# Beställningsinformation

Produkt	Innehåll	Kat.nr
artus CMV RG PCR Kit (24)	För 24 reaktioner: Master, magnesiumlösning, 4 kvantifieringsstandarder, intern kontroll, vatten (polymeraskedjereaktionsgrad)	4503263
artus CMV RG PCR Kit (96)	För 96 reaktioner: Master, magnesiumlösning, 4 kvantifieringsstandarder, intern kontroll, vatten (polymeraskedjereaktionsgrad)	4503265
<b>EZ1 DSP Virus Kit – för automatisk, simultan rening av viralt DNA och RNA från 1–14 prover av serum, plasma eller CSF</b>		
EZ1 DSP Virus Kit (48)	För 48 virusnukleinsyra preparat: Förfyllda reagenskassetter, engångsspetsållare, engångsfilterspetsar, provrör, elueringsrör, buffertar, bärar-RNA	62724
<b>QIAamp DSP Virus Kit – för rening av virusnukleinsyror från human plasma för in vitro-diagnostik</b>		
QIAamp DSP Virus Kit	För 50 beredningar: QIAamp MinElute® centrifugeringskolonner, buffertar, reagenser, rör, kolonnförlängare och VacConnectors	60704
<b>Rotor-Gene Q MDx och tillbehör</b>		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Real-time PCR-cykler med 5 kanaler (grön, gul, orange, röd och karmosinröd), bärbar dator, program och tillbehör: inkluderar 1 års garanti på delar och arbete; installation och utbildning ingår inte	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Real-time PCR-cykler med 5 kanaler (grön, gul, orange, röd och karmosinröd), bärbar dator, program och tillbehör: inkluderar 1 års garanti på delar och arbete samt installation och utbildning	9002023

<b>Produkt</b>	<b>Innehåll</b>	<b>Kat.nr</b>
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Real-time PCR-cykler och HRM-analysinstrument (High Resolution Melt) med 5 kanaler (grön, gul, orange, röd och karmosinröd) plus HRM-kanal, bärbar dator, program och tillbehör: inkluderar 1 års garanti på delar och arbete; installation och utbildning ingår inte	9002032
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Real-time PCR-cykler och HRM-analysinstrument (High Resolution Melt) med 5 kanaler (grön, gul, orange, röd och karmosinröd) plus HRM-kanal, bärbar dator, programvara och tillbehör: inkluderar 1 års garanti på delar och arbete samt installation och utbildning	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Real-time PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grön, gul, orange, röd och karmosinröd), inklusive laptopdator, program, tillbehör: inkluderar 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning ingår inte	9002042
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Real-time PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grön, gul, orange, röd och karmosinröd), inklusive bärbar dator, program och tillbehör: inkluderar 1 års garanti på delar och arbete samt installation och utbildning	9002043
Rotor-Gene Q MDx 2plex Platform	Real-time PCR-cykler med 2 kanaler (grön och gul), bärbar dator, program, tillbehör: inkluderar 1 års garanti på delar och arbete, installation och utbildning ingår inte	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex System	Real-time PCR-cykler med 2 kanaler (grön och gul), bärbar dator, program, tillbehör: inkluderar 1 års garanti på delar och arbete samt installation och utbildning	9002003
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM Platform	Real-time PCR-cykler och HRM-analysinstrument (High Resolution Melt) med 2 kanaler (grön och gul) plus HRM-kanal, bärbar dator, program, tillbehör: inkluderar 1 års garanti på delar och arbete; installation och utbildning ingår inte	9002012

Produkt	Innehåll	Kat.nr
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM System	Real-time PCR-cykler och HRM-analysinstrument (High Resolution Melt) med 2 kanaler (grön och gul) plus HRM-kanal, bärbar dator, program och tillbehör: inkluderar 1 års garanti på delar och arbete samt installation och utbildning	9002013
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Aluminiumblock för manuell reaktionsinställning med en enkanalspipett i 72 x 0,1 ml rör	9018901
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Aluminiumblock för manuell reaktionsinställning i en standarduppsättning på 8 x 12 med 96 x 0,2 ml rör	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 remsor för 4 rör och lock för 1 000 reaktioner	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 remsor med 4 rör och lock för 10 000 reaktioner	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1 000 tunnväggiga rör för 1 000 reaktioner	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1 000 tunnväggiga rör för 10 000 reaktioner	981008

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i respektive handbok eller användarmanual för QIAGEN-kit. Handböcker och användarmanualer till QIAGEN-kit finns på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan beställas från QIAGEN teknisk service eller din lokala återförsäljare.

# Dokumentrevisioner

Revision	Ändringar
R6 mars 2021	Tillägg av avsnitten Linjära områden av kvantifieringen, Interfererande ämnen och Reproducerbarhet. Uppdateringar av avsnitten Avsedd användning och Kvantifiering. Borttagande av referenser för QIAGEN-instrument som inte längre stöds.

## Begränsat licensavtal för *artus* CMV RG PCR Kit

Användning av den här produkten innebär att köpare eller användare av produkten godkänner följande villkor:

1. Produkten får endast användas i enlighet med de protokoll som medföljer produkten och den här handboken och får endast användas med komponenterna som ingår i kitet. QIAGEN ger ingen licens för någon av sina immateriella tillgångar för att använda eller inkludera komponenterna i detta kit med komponenter som inte ingår i detta kit, förutom vad som beskrivs i de protokoll som medföljer produkten, den här handboken och ytterligare protokoll som finns på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Vissa av de här ytterligare protokollen har tillhandahållits av QIAGEN-användare för andra QIAGEN-användare. De här protokollen har inte testats noggrant eller optimerats av QIAGEN. QIAGEN garanterar inte att de inte kränker tredje parts rättigheter.
2. Förutom de uttryckligen angivna licenserna kan QIAGEN inte garantera att detta kit och/eller dess användning inte kränker oberoende tredje parts rättigheter.
3. Kitet och dess komponenter är licensierade för engångsbruk och får inte återanvändas, förbättras eller säljas vidare.
4. QIAGEN avsäger sig specifikt ansvar för alla andra licenser, uttryckliga eller underförstådda, förutom de uttryckligen angivna.
5. Inköparen och användaren av detta kit samtycker till att inte vidta eller tillåta att någon annan vidtar några steg som kan leda till eller underlätta några åtgärder som är förbjudna enligt ovan. QIAGEN kan kräva upphävande av detta begränsade licensavtal i domstol och ska ersättas för alla undersöknings- och rättegångskostnader, inklusive advokatkostnader, vid eventuell åtgärd för att upprätthålla detta begränsade licensavtal eller någon av företagets immateriella rättigheter avseende kitet och/eller någon av dess komponenter.

För uppdaterade licensvillkor, se [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Köpet av den här produkten ger användaren rätt att utföra diagnostiska analyser för human in vitro-diagnostik. Inget allmänt patent eller licens av något slag förutom den här specifika rättigheten ingår i köpet.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, *artus*®, EZ1®, MinElute®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); CLSI®, (Clinical Laboratory and Standards, Inc.); Augmentin® (Glaxo Group Limited); Tazobac® (Pfizer Inc.); AMPLICOR®, COBAS®, MONITOR® (Roche Group); Claforan (Sanofi-Aventis Group); FAM™, JOE™ (Thermo Fisher Scientific).

HB-0046-008 1123965 R6 03/2021© 2021 QIAGEN, med ensamrätt.

---

Beställning [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Teknisk support [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Webbplats [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)