

April 2019

QIASymphony[®] RGQ- applikationsblad

artus[®] VZV QS-RGQ Kit (provtyp: plasma)

R2



4502363

artus VZV QS-RGQ Kit, version 1



Kontrollera om det finns några nya elektroniska märkningsrevisioner på www.qiagen.com/products/artusvzvpckitce.aspx innan testet utförs.

Allmän information

Kit	<i>artus</i> VZV QS-RGQ Kit, Version 1 (kat.nr 4502363)
Validerat provmaterial	Human EDTA-plasma
Inledande rening	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat.nr 937055)
Provolym (inklusive överskottsvolym)	1200 µl
Analysparameteruppsättning	<i>artus_VZV_plasma1000_V5</i>
Förvald analyskontrolluppsättning	Cellfree1000_V7_DSP_ <i>artus_VZV</i>
Elueringsvolym	60 µl
Nödändig programversion	Version 4.0 eller senare
Masterblandningsvolym	30 µl
Mallvolym	20 µl
Antal reaktioner	6–24
Körtid på AS-modul	För 6 reaktioner: cirka 9 minuter För 72 reaktioner: cirka 35 minuter

Material som behövs men inte medföljer

Reningskit

- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat.nr 937055)

Adaptrar för QIASymphony SP

- Elution Microtube Rack QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, kat.nr 9020730)
- Överföringsram
- Tube Insert 3B (Insert, 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym, kat.nr 9242083)

Förbrukningsprodukter för QIASymphony SP

- Sample Prep Cartridges, 8-well (kat.nr 997002)
- 8-Rod Covers (kat.nr 997004)
- Filter-Tips, 1500 µl (kat.nr 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (kat.nr 990332)
- Elution Microtubes CL (kat.nr 19588)
- Tip disposal bags (kat.nr 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Type H eller Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt®, kat.nr 72.693 och 72.694, www.sarstedt.com) för användning med prover och interna kontroller

Adaptrar och reagenshållare för QIASymphony AS

- Reagent holder 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, kat.nr 9018090)
- RG Strip Tubes 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, kat.nr 9018092)

Förbrukningsmaterial för QIASymphony AS

- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (kat.nr 981103)
- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (kat.nr 997102) eller Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, kat.nr 72.694.005)
- Alternativt: Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (kat.nr 997104) eller Tubes with flat base from PP (Sarstedt, kat.nr 60.558.001)
- Filter-Tips, 1500 µl (kat.nr 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (kat.nr 990332)
- Filter-Tips, 50 µl (kat.nr 997120)
- Tip disposal bags (kat.nr 9013395)

Hantering och förvaring av prover

Provtagning	Blodprov 5–10 ml EDTA-blod Blanda genom att vända 8 ggr – ingen omskakning! Hepariniserade humana prover får inte användas.
Provförvaring	Separation: 20 minuters centrifugering, 800–1 600 x g inom 24 timmar efter provtagning Överför den isolerade plasman till ett sterilt polypropylenrör Analysens sensitivitet kan minska om proven fryses som ett rutinförfarande eller om de förvaras under en längre tid.
Provtransport	Splitterfri transport Sändning inom 24 timmar Posta sändningen enligt rättsliga instruktioner för transport av patogenmaterial* Blodprover ska transporteras kylda (2 till 8 °C)
Interfererande substanser	Heparin (≥ 10 IU/ml) påverkar PCR. Prover som har insamlats i rör innehållande heparin som antikoagulant eller prover från hepariniserade patienter får inte användas.
Provberedning	Undvik skumbildning i eller på proven Prover måste uppnå rumstemperatur (15–25 °C) innan du startar körningen.

* International Air Transport Association (Internationellt samarbetsorgan för flygbolag) (IATA).
Dangerous Goods Regulations (Föreskrifter för farligt gods).

Procedur

Beredning av bärar-RNA och tillsats av den interna kontrollen till proverna

Användningen av QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit i kombination med *artus* VZV QS-RGQ Kit kräver att den interna kontrollen (VZV IC) förs in i reningsproceduren för att övervaka effektiviteten av provberedning och nedströmsanalys.

Interna kontroller måste tillsättas till blandningen av bärar-RNA (CARRIER) och Buffer AVE (AVE), och den totala volymen av blandningen av intern kontroll, bärar-RNA (CARRIER) och Buffer AVE (AVE) förblir 120 µl.

I tabellen anges tillsatsen av den interna kontrollen till isolatet i förhållandet 0,1 µl per 1 µl elueringsvolym. Vi rekommenderar att du bereder färska blandningar för varje körning precis före användning.

Alternativt kan verktyget "IC Calculator" (IC-kalkylator) i QIASymphony Management Console användas.

Komponent	Volym (µl) (Sarstedt-rör)*	Volym (µl) (Corning-rör)†
Stamlösning av bärar-RNA (CARRIER)	5	5
Intern kontroll‡	9	9
Buffer AVE	106	106
Slutlig volym per prov (exklusive dödvolum)	120	120
Total volym för n prover	$(n \times 120) + 360^{\S}$	$(n \times 120) + 600^{\parallel}$

* Micro tubes 2.0 ml Type H och Micro tubes 2.0 ml Type I, Sarstedt, kat.nr 72.693 och 72.694.

† Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Corning® Inc., kat.nr 352051; Becton Dickinson var tidigare leverantör av detta rör och Corning Inc. är nu ny leverantör).

‡ Beräkningen av andelen intern kontroll bygger på de inledande elueringsvolymerna (90 µl). Ytterligare tomvolym beror på vilken typ av provrör som används.

§ Intern kontrollblandning motsvarande ytterligare 3 prover (dvs. 360 µl) krävs. Fyll inte provröret med mer än totalt 1,92 ml (motsvarande högst 13 prover). Dessa volymer är specifika för Micro tubes 2.0 ml Type H och Micro tubes 2.0 ml Type I, Sarstedt kat.nr 72.693 och 72.694.

¶ Intern kontrollblandning motsvarande ytterligare 5 prover (dvs. 600 µl) krävs. Fyll inte provröret med mer än totalt 13,92 ml (motsvarande högst 111 prover). Dessa volymer är specifika för Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom, Corning Inc., kat.nr 352051; Becton Dickinson var tidigare leverantör av detta rör och Corning Inc. är nu ny leverantör).

QIAsymphony SP-uppsättning

Lådan "Waste" (Avfall)

Hållare för enhetslådor 1–4	Tomma enhetslådor
Avfallspåshållare	Avfallspåse
Hållare för flaska för flytande avfall	Töm och installera flaska för flytande avfall

Lådan "Eluate" (eluering)

Elueringsställ	Elution Microtubes CL i Elution Microtube Rack QS och överföringsram Använd uttag 1, kylpositionen
Elueringsvolym*	Förvald elueringsvolym: 60 µl Initial elueringsvolym: 90 µl

* Elueringsvolymen är förvald för protokollet. Detta är den minsta elueringsvolym som är tillgänglig i det slutliga elueringsröret. Den första volymen av elueringslösning krävs för att förvissa sig om att den verkliga volymen av eluerad substans är densamma som den förvalda volymen.

Lådan "Reagents and Consumables" (Reagens och förbrukningsmaterial)

RC-position 1 och 2	Ladda 1 reagenspatron (Reagent Cartridge, RC) för maximalt 48 prover eller 2 nya reagenspatroner (RC) för maximalt 96 prover
Spetsställhållare position 1-18	Ladda tillräckligt många ställ med engångsfilterspetsar, 200 µl och 1 500 µl (se "Nödvändiga plastartiklar för 1–4 provbatcher", sida 7)
Enhetslåd-hållare position 1–4	Ladda enhetslådor som innehåller provprepareringskassetter och 8-Rod Covers (se "Nödvändiga plastartiklar för 1–4 provbatcher", sida 7)

Lådan "Sample" (Prov)

Provtyp	Human EDTA-plasma
Provolym (inklusive överskottsvolym)	1200 µl
Provrör	Micro tubes 2.0 ml Type H eller Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, kat.nr 72.693 och 72.694)
Insats	Tube Insert 3B (kat.nr 9242083)

Nödvändiga plastartiklar för 1–4 provbatcher

Komponent	En batch, 24 prover*	Två batcher, 48 prover*	Tre batcher, 72 prover*	Fyra batcher, 96 prover*
Disposable filter-tips, 200 µl†‡	28	52	76	100
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	113	206	309	402
Sample Prep Cartridges §	21	42	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Om du använder fler än ett internt kontrollrör per batch och utför fler än en inventarieskanning krävs det fler engångsfilterspetsar.

† Det finns 32 filterspetsar/spetsställ.

‡ Antalet filterspetsar som krävs inbegriper filterspetsar för 1 inventarieskanning per reagenskasset.

§ Det finns 28 provprepareringskassetter/enhetslåda.

¶ Det finns tolv 8-Rod Covers/enhetslåda.

QIASymphony AS-inställning

Förbrukningsprodukter

Under inställningen anges lämpliga positioner för varje förbrukningsprodukt på QIASymphony AS-modulen på instrumentets pekskärm.

Förbrukningsprodukt	Namn på pekskärm	För användning med adapter/ reagenshållare
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG Strip Tubes 72 QS
Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (500) ^{†‡}	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt [§]	Reagent holder 1 QS
Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (500) ^{†‡}	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt [§]	Reagent holder 1 QS

* Anger labbmateriel som kan kylas med en kyladapter med streckkod.

† För masterblandade komponenter, systempreparerad masterblandning, analysstandarder och analyskontroller.

‡ Alternativt går det att använda Sarstedt-rören som beskrivs i "Material som behövs men inte medföljer", sida 3.

§ Suffixet "(m)" på pekskärmen betyder att beräknad vätskenivå för respektive provrör har optimerats för reagens som bildar en konkav menisk.

Adaptrar och reagenshållare

Ställ/reagenshållare	Namn	Antal som krävs [¶]
Reagenshållare	Reagent holder 1 QS	1
Provställ	RG Strip Tubes 72 QS	1

[¶] Beräknad för en analyskörning med 72 reaktioner.

Filterspetsar

Ladda spetsställ med start med spetsuttag 1, 2 och 3 i lådan "Eluate and Reagents" (Eluat och reagenser) och ladda därefter spetsställ i spetsuttag 7, 8 och 9 i lådan "Assays" (Analys).

Förbrukningsprodukt	Namn på pekskärm	Minsta antal för 24 reaktioner	Minsta antal för 72 reaktioner
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	1500 µl	4	6
Filter-Tips, 200 µl (1024)	200 µl	9	8
Filter-Tips, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Tip Disposal Bags	–	1	1

PCR på Rotor-Gene Q*

Se det programspecifika kontrollbladet *Settings to run artus QS-RGQ Kits (Inställningar för körning av artus QS-RGQ Kit)* på www.qiagen.com/products/artusvzvpcrkitce.aspx för protokoll detaljer.

Specifika inställningar för *artus* VZV QS-RGQ Kit

Med Rotor-Gene®-programvara 2.1 eller senare visas de specifika inställningarna nedan.

Reaction Volume (Reaktionsvolym) (µl)	50
Hold (Håll)	Hålltemperatur: 95 grader Hålltid: 10 minuter
Cycling (Cykling)	45 gånger 95 grader i 15 sekunder 65 grader i 30 sekunder (insamling på Green, Orange och aktivera sluttlig funktion för 10 cykler) 72 grader i 20 sekunder
Auto-Gain Optimisation Setup (Inställning av automatisk optimering av förstärkning)	65 grader (Prover: Grön; IC: Orange)

Tolkning av resultat

I detta avsnitt beskrivs tolkningen av resultat på Rotor-Gene Q. Granska även provstatusinformation från QIASymphony SP/AS-resultatfiler för analys av det kompletta arbetsflödet prov-till-resultat. Använd endast prover med en giltig status.

artus VZV QS-RGQ Kit kan köras på Rotor-Gene Q med användning av manuell analys med Rotor-Gene Q-programvara 2.1 eller senare. I nedanstående avsnitt beskrivs tolkning av resultat med användning av Rotor-Gene Q-programvara 2.1 eller senare.

* Om tillämpligt, Rotor-Gene Q 5plex HRM-instrument med tillverkningsdatum januari 2010 eller senare. Tillverkningsdatumet kan utläsas från serienumret på baksidan av instrumentet. Serienumret har formatet "mmyynn" där "mm" anger månaden i tillverkningsdatumet med siffror, "yy" anger de två sista siffrorna i tillverkningsåret och "nnn" är en unik identifieringskod för instrumentet.

Signaldetektion och slutsatser

Signal i kanalen Cycling Green	Signal i kanalen Cycling Orange	Kvantitativt resultat (kopior/ml)	Tolkning
Ja	Ja	< 12,7	Giltigt resultat: VZV-DNA detekterat, < 127 kopior/ml. Kvantifiering är ej möjlig, eftersom det kvantitativa resultatet är under detektionsgränsen. Det positiva resultatets reproducerbarhet är inte säkerställt.
Ja	Ja	≥ 12,7 och < 127	Giltigt resultat: VZV-DNA detekterat, < 127 kopior/ml. Kvantifiering är ej möjlig, eftersom det kvantitativa resultatet är under analysens linjära område.
Ja	Ja/Nej*	≥ 127 och ≤ 6,92 x 10 ⁶	Giltigt resultat: VZV-DNA detekterat vid den beräknade koncentrationen. Kvantitativt resultat är inom analysens linjära område.
Ja	Ja/Nej*	> 6,92 x 10 ⁶	Giltigt resultat: VZV-DNA detekterat, > 6,92 x 10 ⁶ kopior/ml. Kvantifiering är ej möjlig, eftersom det kvantitativa resultatet är över analysens linjära område.†
Nej	Ja	–	Giltigt resultat: Inget VZV-DNA kan detekteras.‡
Nej	Nej	–	Ogiltigt resultat: Det går inte att komma fram till något resultat.§

* I det här fallet är detektionen av en signal i kanalen Cycling Orange umbärlig, eftersom höga inledande koncentrationer av VZV-DNA (positiv signal i kanalen Cycling Green) kan leda till en reducerad eller utebliven fluorescenssignal för den interna kontrollen i kanalen Cycling Orange (konkurrens).

† Om kvantifiering önskas ska provet spädas med VZV-fri plasma och ombearbetas. Multiplicera det kvantitativa resultatet från det ombearbetade provet med spädningsfaktorn.

‡ Om C_T-värdet för den interna kontrollen av ett negativt prov är mer än 3 cykler högre än C_T-värdet för den interna kontrollen av kontrollen utan mall i körningen (C_{T IC Prov} – C_{T IC NTC} >3) så ska provet betraktas som ogilligt. Det går inte att komma fram till något resultat.

§ Information om felkällor och deras lösning kan du hitta i "felsökningshandboken" i artus VZV QS-RGQ Kit Handbook (Handboken till VZV QS-RGQ Kit).

Tröskelinställning för PCR-analysen

De optimala tröskelinställningarna för en viss kombination av Rotor-Gene Q-instrument och *artus* QS-RGQ Kit ska fastställas empiriskt genom testning av varje enskild kombination, då detta är ett relativt värde som beror på det övergripande diagnostiska arbetsflödet. Tröskeln kan ställas in på ett preliminärt värde av 0,04 för analysen av den första PCR-körningen, men detta värde ska finjusteras genom komparativ analys av följande körningar i arbetsflödet. Tröskeln ska ställas in manuellt strax över bakgrundssignalen från de negativa kontrollerna och negativa proverna. Det genomsnittliga tröskelvärdet som beräknas genom dessa experiment kommer sannolikt att fungera för de flesta av de kommande körningarna, men användaren måste inte desto mindre granska det genererade tröskelvärdet regelbundet. Tröskelvärdet ligger oftast inom området 0,03–0,05 och ska rundas av till högst tre decimaler.

Kvantifiering

Kvantifieringsstandarderna (VZV QS 1–4) i *artus* VZV QS-RGQ Kit behandlas som tidigare renade prover och samma volym används (20 µl). Om du vill framställa en standardkurva på Rotor-Gene Q-instrument, måste du använda alla 4 kvantifieringsstandarder och definiera dessa i dialogrutan Edit Samples (Redigera prover) på Rotor-Gene Q-instrumentet som standarder med de specificerade koncentrationerna (se instrumentanvändarhandboken).

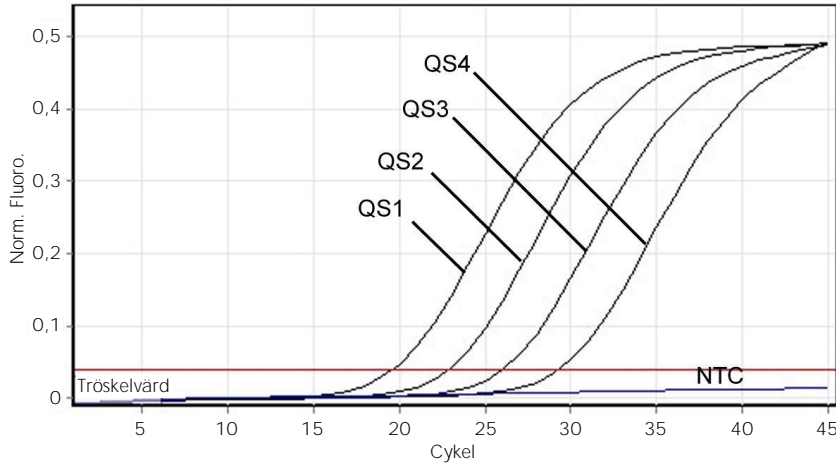
Obs: Kvantifieringsstandarderna definieras som kopior/µl i eluatet. Följande ekvation måste användas för att omvandla de fastställda värdena med hjälp av standardkurvan till kopior/ml av provmaterial.

$$\text{Resultat i provmaterial (kopior/ml)} = \frac{\text{Resultat i eluat (kopior/µl)} \times \text{inledande elueringsvolym (90 µl)*}}{\text{Prowolym (ml)}}$$

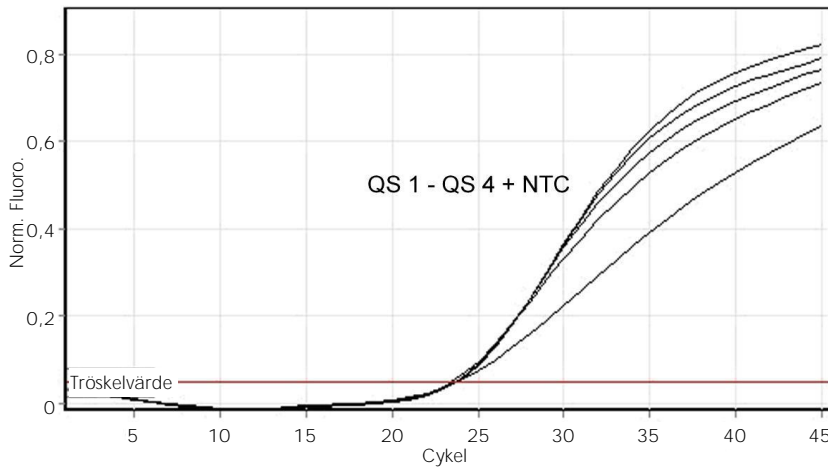
Principiellt ska den inledande prowolymen anges i ekvationen ovan. Tag hänsyn till denna när prowolymen har förändrats före extraheringen av nukleinsyra (till exempel reduktion av volymen genom centrifugering eller ökning av volymen genom att tillsätta den volym som krävs för isoleringen).

* Beräkningen baseras på de inledande elueringsvolymerna (90 µl).

Exempel på positiva och negativa PCR-reaktioner



Detektion av kvantifieringsstandarderna (VZV QS 1–4) i fluorescenskanalen Cycling Green.
NTC: No Template Control (Kontroll utan mall) (negativ kontroll).



Detektion av den interna kontrollen (Internal Control, IC) i fluorescenskanalen Cycling Orange med samtidig amplifiering av kvantifieringsstandarderna (VZV QS 1–4). NTC: No Template Control (Kontroll utan mall) (negativ kontroll).

Dokumentrevisjoner

R2, april 2019	Tog bort fotnot om konfiguration av 216 analyser. Ändrade till nya versioner av QIASymphony-protokoll. Uppdaterade material som krävs för konfiguration till maximalt 72 reaktioner. Lade till information om användning av QMC-verktyget "IC Calculator" (IC-kalkylator). Uppdaterade namn för Corning-labbprodukter (tidigare Becton Dickinson). Lade till specifika körningsinställningar för Rotor-Gene Q (användning av slutlig funktion, insamlingar). Lade till information i Tolkning av resultat, så att fallet "patogen positiv och IC negativ" är inkluderat. Tog bort instruktioner avseende användning Rotor-Gene AssayManager®; Ändrade formuleringen från RT-PCR till PCR för att göra texten klarare; Förklaring av skillnaden mellan eluerings- och provkoncentration i kvantifieringsberäkning.
----------------	--

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i respektive QIAGEN-kithandbok eller -bruksanvisning. Handböcker och bruksanvisningar till QIAGEN-kit finns på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGENS tekniska support eller din lokala återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN Group); Corning® (Corning Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Registrerade namn, varumärken etc. som används i det här dokumentet ska inte anses som oskyddade enligt lag även om de inte uttryckligen anges som skyddade.
04/2019 HB-0401-S02-002
© 2012-2019 QIAGEN, med ensamrätt.

