

Handbok för *artus*[®] CMV QS-RGQ Kit

Kvantitativ in vitro-diagnostik

För användning med QIA Symphony[®] SP/AS- och Rotor-
Gene[®] Q-instrument

Version 1

IVD

CE

REF

4503363



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R6 MAT

1060926

Innehåll

Användningsområde	4
Sammanfattning och förklaring	5
Information om patogen	5
Princip för proceduren	5
Analyskontrolluppsättningar och analysparameteruppsättningar	6
Material som medföljer	7
Kitinnehåll	7
Material som behövs men inte medföljer	8
Varningar och försiktighet	9
Säkerhetsinformation	9
Allmänna försiktighetsåtgärder	9
Förvaring och hantering av reagens	10
Hantering och förvaring av prover	10
Virus-DNA-rening	11
DNA-isolering och analysuppsättning på QIA Symphony SP/AS	12
PCR på Rotor-Gene Q	18
Tolkning av resultat	19
Felsökningshandbok	19
Kvalitetskontroll	26
Begränsningar	26
Prestandaegenskaper	26
Symboler	27

Beställningsinformation.....	29
------------------------------	----

Användningsområde

artus CMV QS-RGQ Kit är ett in vitro-nukleinsyraamplifieringstest för kvantifiering av DNA för cytomegalovirus (CMV) i humana biologiska prover. I detta diagnostiska testkit används polymeraskedjereaktion (PCR) och det är konfigurerat för användning med QIASymphony SP/AS- och RotorGene Q-instrument. Det finns mer information om specifika humana biologiska prover med vilka kitet har validerats i applikationsbladen som är tillgängliga online på www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.

QIAGEN fortsätter att utveckla och validera fler användningsområden för *artus* QS-RGQ Kit, till exempel användning med fler provtyper.

Den mest aktuella versionen av den här handboken och tillhörande applikationsblad är tillgängliga online på www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.

artus CMV QS-RGQ Kit är avsett för användning i samband med klinisk manifestation och andra laboriemarkörer för sjukdomsprognos.

Eftersom QIAGEN kontinuerligt övervakar analysens prestanda och validerar nya krav, måste användarna se till att de arbetar med den senaste versionen av bruksanvisningen.

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

Alla kit kan användas med respektive instruktionskomponent om versionsnumret på handboken och annan märkningsinformation matchar kitets versionsnummer. Versionsnumret står på etiketten på alla kitlådor. QIAGEN garanterar kompatibilitet mellan alla loter av testkit med samma versionsnummer.

Sammanfattning och förklaring

artus CMV QS-RGQ Kit utgör ett system som är klart att användas för upptäckt av CMV-DNA med användning av polymeraskedjereaktion (PCR) i Rotor-Gene Q-instrument och QIASymphony SP/AS-instrument för provberedning och analysinställning.

Information om patogen

Humant CMV påträffas i blod, vävnader och i så gott som alla sekretoriska vätskor hos infekterade personer. Överföring kan ske oralt, sexuellt, via blodtransfusion eller organtransplantation, intrauterint eller perinatalt. 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. Svåra fall av CMV-infektion har framför allt observerats hos personer som infekterats intrauterint och patienter med immunbristsjukdom.

Princip för proceduren

CMV RG Master innehåller reagenser och enzymer för den specifika amplifieringen av en 105 bp-region av CMV-genomet, och för direkt upptäckt av den specifika amplikonen i fluorescenskanalen Cycling Green i Rotor-Gene Q.

artus CMV QS-RGQ Kit innehåller ett andra heterologt amplifieringssystem för att identifiera eventuell PCR-inhibition. Denna upptäcks som en intern kontroll (IC) i fluorescenskanalen Cycling Yellow i Rotor-Gene Q. Detektionsgränsen för det analytiska CMV PCR har inte reducerats.

Externa positiva kontroller (CMV QS 1–4) medföljer, vilka gör det möjligt att fastställa andelen virus-DNA. Det finns mer information i relevant applikationsblad på www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.

Den negativa kontrollen (vatten, PCR-kvalitet) övervakar PCR avseende kontamination och benämns **NTC** (no template control, kontroll utan templat) i QIASymphony-programvaran.

Analyskontrolluppsättningar och analysparameteruppsättningar

Analyskontrolluppsättningar är kombinationen av ett protokoll plus extra parametrar, till exempel intern kontroll, för provrening på QIASymphony SP. En förvald analyskontrolluppsättning är redan installerad för varje protokoll.

Analysparameteruppsättningar är kombinationen av en analysdefinition med ytterligare parametrar definierade, till exempel replikatantal och antal analysstandarder, för analysinställningar på QIASymphony AS.

För integrerade körningar på QIASymphony SP/AS är analysparameteruppsättningen direkt kopplad till en analyskontrolluppsättning, som specificerar den associerade provreningssprocessen.

Material som medföljer

Kitinnehåll

artus CMV QS-RGQ Kit			(24)
Katalognummer			4503363
Antal reaktioner			24
Lockfärg	Komponentnamn	Symbol	Mängd
Blå	CMV RG Master	MASTER [§]	3 x 300 µl
Gul	CMV Mg-Sol*	MG-SOL [§]	600 µl
Röd	CMV QS 1 [†] (1 x 10 ⁴ kopior/µl)	QS [§]	200 µl
Röd	CMV QS 2 [†] (1 x 10 ³ kopior/µl)	QS [§]	200 µl
Röd	CMV QS 3 [†] (1 x 10 ² kopior/µl)	QS [§]	200 µl
Röd	CMV QS 4 [†] (1 x 10 ¹ kopior/µl)	QS [§]	200 µl
Grön	CMV RG IC [‡]	IC [§]	1 000 µl
Vit	Vatten (PCR-kvalitet)		1 000 µl
Handbok			1

* Magnesiumlösning.

† Kvantifieringsstandard.

‡ Intern kontroll.

§ På sida 27 finns en symbolista och -definitioner.

Material som behövs men inte medföljer

Viktigt! Se till att alla instrument som används i den här proceduren har kontrollerats och kalibrerats enligt tillverkarens anvisningar.

Allmän laboratorieanvändning

- Justerbara pipetter och sterila pipettspetsar med filter
- Vortexblandare
- Vattenbad som klarar inkubation vid 37 °C
- Bänkcentrifug med rotor för 2 ml reaktionsrör med en centrifugeringskapacitet på 6800 x g.

Ytterligare utrustning och material för provberedning

- QIASymphony SP (modul i QIASymphony RGQ) (katalognr 9001297)
- QIASymphony AS (modul i QIASymphony RGQ) (katalognr 9001301)
- QIASymphony programversion 4.0
- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit (katalognr 937036 eller 937055)
- QIASymphony DSP DNA Mini Kit (katalognr 937236)

Ytterligare utrustning för PCR

- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM- eller Rotor-Gene Q 5plex HRM-instrument (modul i QIASymphony RGQ)
- Rotor-Gene Q programversion 2.1 eller högre

Obs! Det finns mer information om material som krävs för specifika tillämpningar i det relevanta applikationsbladet på www.qiagen.com/products/artuscmvprkitce.aspx.

Varningar och försiktighet

För in vitro-diagnostisk användning

Säkerhetsinformation

Använd alltid lämplig laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Ytterligare information finns i aktuella säkerhetsdatablad för materialsäkerhet. Dessa är tillgängliga online i pdf-format på www.qiagen.com/safety där du kan hitta, granska och skriva ut datablad för alla kit och kitkomponenter från QIAGEN.

Se tillämplig kithandbok när det gäller säkerhetsinformation för QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Se tillämplig kithandbok när det gäller säkerhetsinformation för QIASymphony DSP DNA Mini Kit. Se tillämplig instrumentanvändarhandbok när det gäller säkerhetsinformation för instrumentmoduler.

Kassera prov-, vätske- och analysavfall enligt nationella och lokala säkerhets- och miljöföreskrifter.

Allmänna försiktighetsåtgärder

Var alltid noga med följande:

- Använd sterila pipettspetsar med filter.
- Håll om möjligt rör stängda under manuella åtgärder och undvik kontamination.
- Tina alla komponenter noggrant vid rumstemperatur (15–25 °C) innan du startar en analys.
- När komponenterna är tinade blandar du dem (pipettera upprepade gånger upp och ned eller genom pulsvortexblandning) och centrifugera kortvarigt. Kontrollera att det inte finns något skum eller några bubblor i reagensrören.

- Blanda inte komponenter från kit med olika lotnummer.
- Kontrollera att de nödvändiga adaptrarna har kylts till 2–8 °C.
- Arbeta snabbt och håll PCR-reagenser på is eller i kylblocket innan du laddar dem.
- Fortgå kontinuerligt från en del i arbetsflödet till nästa. Överskrid inte 30 minuters överföringstid mellan varje modul (QIASymphony SP till QIASymphony AS till Rotor-Gene Q).

Förvaring och hantering av reagens

Komponenterna i *artus CMV QS-RGQ Kit* ska förvaras vid –15 till –30 °C och är stabila fram till det utgångsdatum som anges på etiketten. Upprepad tining och frysning (>2 x) ska undvikas, eftersom detta kan minska analysens prestanda.

Hantering och förvaring av prover

Det finns information om hantering och förvaring av prover för specifika tillämpningar i det relevanta applikationsbladet på www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.

Virus-DNA-rening

artus CMV QS-RGQ Kit har validerats med ett virus-DNA-reningssteg från human plasma som utförts på QIASymphony SP med användning av ett QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Se handboken till QIASymphony DSP Virus/Pathogen (*QIASymphony DSP Virus/Pathogen Handbook*) för all information om hur man bereder reagenskassetten för provreningssteget på QIASymphony SP.

artus CMV QS-RGQ Kit har validerats med ett virus-DNA-reningssteg från humant helblod som utförts på QIASymphony SP med användning av ett QIASymphony DSP DNA Mini Kit. Se handboken till QIASymphony DNA (*QIASymphony DNA Handbook*) för all information om hur man bereder reagenskassetten för provreningssteget på QIASymphony SP.

Använda en intern kontroll och bärar-RNA (CARRIER)

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit och QIASymphony DSP DNA Mini Kit i kombination med *artus* CMV QS-RGQ Kit kräver att den interna kontrollen (CMV RG IC) förs in i reningsförfarandet för att övervaka effektiviteten av provförberedelse och nedströmsanalys. Dessutom kan QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit och QIASymphony DSP DNA Mini Kitkräva att man bereder bärar-RNA (CARRIER). Det finns specifik information om den interna kontrollen och användningen av bärar-RNA (CARRIER) i det relevanta applikationsbladet på www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.

Utbyten av nukleinsyror

Eluat som beretts med bärar-RNA (CARRIER) kan innehålla mycket mer bärar-RNA (CARRIER) än målnukleinsyror. Vi rekommenderar att du använder kvantitativa amplifieringsmetoder för att fastställa utbyten.

Förvaring av nukleinsyror

För korttidsförvaring i upp till 24 timmar rekommenderar vi förvaring av nukleinsyror vid 2–8 °C. För längre förvaring än 24 timmar rekommenderar vi förvaring vid –20 °C.

Så här kommer du i gång med QIASymphony SP/AS-instrument

1. Stäng alla lådor och huvar.
2. Sätt på QIASymphony SP/AS-instrumenten och vänta tills skärmen **Sample Preparation** (Provberedning) visas och initieringen har slutförts.
3. Logga in på instrumentet (lådorna låses upp).

DNA-isolering och analysuppsättning på QIASymphony SP/AS

Nedanstående beskrivning är ett allmänt protokoll för användning av QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit eller QIASymphony DSP DNA Mini Kit. Ingående information om en specifik tillämpning, inklusive volymer och rör, finns i det relevanta applikationsbladet på www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.

Viktigt att tänka på före start

- Säkerställ att du känner till hur man använder QIASymphony SP/AS-instrument. Se användarhandböckerna som medföljer instrumenten och de senaste versionerna som finns online på www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx för driftanvisningar.
- Innan du använder reagenspatronen (RC) för första gången kontrollerar du att bufferterna QSL2 och QSB1 i patronen (RC) inte innehåller någon utfällning. Vid behov avlägsnar du de tråg som innehåller buffertarna QSL2 och QSB1 från reagenskassetten (RC) och inkuberar i 30 minuter vid 37 °C med sporadiska omskakningar för att lösa upp fällningen. Sätt tillbaka trågen på rätt plats. Om du redan har stuckit igenom reagenskassetten (RC), kontrollerar du att trågen är tätade med

återanvändbara tättningsremсор och inkuberar hela reagenskassetten (RC) i 30 minuter vid 37 °C med sporadiska omskakningar i ett vattenbad.

- Försök att undvika kraftiga omskakningar av reagenskassetten (RC) eftersom det då kan bildas skum, vilket kan göra det svårt att fastställa vätskenivån.
- Arbeta snabbt och håll PCR-reagenser på is eller i kylblocket innan du laddar dem.
- Reagensvolymerna är optimerade för 24 reaktioner per sats och körning.
- Före varje användning måste alla reagenser tinas helt, blandas (pipettera upprepade gånger upp och ned eller vortexblanda snabbt) och centrifugeras i minst 3 sekunder vid 6800 x g. Undvik skumbildning av reagenserna.
- Eluat från provberedningen och samtliga komponenter i *artus CMV QS-RGQ Kit* har visat sig vara stabila i instrumentet under minst den tid som normalt krävs för provrening av 96 prover och analysinställning av 72 analyser, inklusive upp till 30 minuters överföringstid från QIA Symphony SP till QIA Symphony AS samt upp till 30 minuters överföringstid från QIA Symphony AS till Rotor-Gene Q.

Åtgärder som ska utföras före start

- Bered alla blandningar som behövs. Vid behov bereder du blandningar som innehåller bärar-RNA (CARRIER) och interna kontroller precis innan du startar. Det finns mer information i det relevanta applikationsbladet på www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.
- Innan du startar förfarandet, måste du kontrollera att magnetpartiklarna är helt återsuspenderade. Vortexblanda tråget som innehåller de magnetiska partiklarna kraftfullt i minst 3 minuter före första användningen.
- Innan du laddar reagenskassetten (RC) tar du bort skyddet från det tråg som innehåller de magnetiska partiklarna och öppnar enzymrören. Kontrollera att enzymstället har bringats i jämvikt med rumstemperatur (15–25 °C).
- Kontrollera att du har placerat instickslocket (PL) på reagenspatronen (RC), och att du har tagit bort locket på magnetpartikeltråget. Om du använder en reagenspatron (RC) som är delvis använd, kontrollerar du att de återanvändbara tättningsremсорna är borttagna.

- Om prover är streckkodade, ställer du in proven i rörbäraren så att streckkoderna pekar mot streckkodsläsaren inuti lådan "Sample" (Prov) till vänster om QIASymphony SP.

QIASymphony SP-uppsättning

1. Stäng alla lådor och huvar på QIASymphony SP/AS-instrumenten.
2. Sätt på instrumenten och vänta tills skärmen **Sample Preparation** (Provberedning) visas och initieringen har slutförts.
Strömbrytaren sitter i det nedre vänstra hörnet på QIASymphony SP.
3. Logga in på instrumenten.
4. Bered nedanstående lådor i enlighet med det relevanta applikationsbladet på www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.
 - Lådan "Waste" (Avfall)
När den är klar gör du en inventarieskanning.
 - Lådan "Eluate" (Eluat)
När den är klar gör du en inventarieskanning.
 - Lådan "Reagents and Consumables" (Reagens och förbrukningsmaterial)
När den är klar gör du en inventarieskanning.
 - Lådan "Sample"
5. Med inställningen **Integrated run** (Integrerad körning) på QIASymphony-pekskärmen matar du in nödvändig information för varje provbatch som ska bearbetas.
6. Välj en analysparameter för körningen, och tilldela den och den motsvarande AS-batchen till proverna.
Information om analysparameteruppsättningen och den förvalda elueringsvolymen anges på det relevanta applikationsbladet.
Det finns mer information om integrerade körningar på QIASymphony SP/AS i användarhandböckerna till instrumentet.

7. Vid inställning av en integrerad körning ska du kontrollera korrekt tilldelning av provlaboratoriematerial, provtyp (prov, EC+ och EC+) och volymer.
Information om vilket förbrukningsmaterial och vilka komponenter som ska laddas i respektive låda anges på det relevanta applikationsbladet.
8. När information om alla batcher för den integrerade körningen har matats in klickar du på knappen **Ok** för att avsluta inställningen av **Integrated run**.
9. Status för alla batcher inom översikten av den integrerade körningen ändras från **LOADED** (Laddad) till **QUEUED** (I kö). Så snart en sats är i kö visas knappen **Run** (Kör). Tryck på knappen **Run** för att starta reningsförfarandet.
Alla bearbetningssteg är helautomatiserade.

QIASymphony AS-inställning

1. När du har ställt en integrerad körning i kö öppnar du QIASymphony AS-lådorna. Komponenterna som ska laddas visas på pekskärmen.
2. Se till att nedanstående åtgärder alltid utförs före den integrerade körningen:
 - Sätt i spetsrännan
 - Kassera spetsavfallspåsen
 - Installera en tom spetsavfallspåse
3. Definiera och ladda analysställ.
Analysställ, i en eller flera i förväg kyllda adaptrar, laddas i uttag(en) "Assay" (Analys).
Det finns information om analysställena i relevant applikationsblad på www.qiagen.com/products/artuscmvprkitce.aspx.
4. Kontrollera temperaturen för avkylningspositionerna.
När malkylningstemperaturerna har uppnåtts visas den lilla asterisken bredvid varje uttag i grön färg.
5. Kombinera alla rör med CMV RG Master i ett enda kit i ett rör före användning.
Obs! Viskösa reagens kan vara svåra att hantera med manuella pipetter. Var noga med att överföra hela volymen av CMV RG Master till provröret.

6. Fyll varje reagensrör med nödvändig volym tillämplig reagens enligt den laddningsinformation du erhöll från instrumentprogrammet.

Obs! Före varje användning måste alla reagenser tinas helt, blandas (pipettera upprepade gånger upp och ned eller vortexblanda snabbt) och centrifugeras i minst 3 sek. vid

6800 x g. Undvik bubblor eller skumbildning, vilket kan ge upphov till detektionsfel.

Arbeta snabbt och håll PCR-komponenter på is eller i kylblocket innan du laddar dem.

7. Ladda reagensstället och placera reagensrören, utan lock, i lämpliga positioner i redan kylda reagensadaptrar enligt det relevanta applikationsbladet.
8. Ladda engångsfilterspetsar i lådorna "Eluate and Reagents" (Eluat och reagenser) och "Assays" enligt det antal som varje spetsstyp kräver, vilket anges i relevant applikationsblad.
9. Stäng lådorna "Eluate and Reagents" och "Assays".
10. När du har stängt var och en av lådorna trycker du på **Scan** (Skanna) för att starta inventarieskanningen av respektive låda.

Inventarieskanningen kontrollerar uttagen, adaptrarna, filterspetsarna och spetsrännan, liksom att laddningen av de specifika reagensvolymerna är korrekt. Korrigera eventuella fel vid behov.

Analysinställningen startar automatiskt när reningssteget i QIASymphony SP är klart och eluatställen överförs till QIASymphony AS.
11. När körningen är klar trycker du på **Remove** (Ta bort) på skärmen **Overview** (Översikt) i analysinställningarna. Öppna lådan "Assays" och ladda ur analysstället/-ställen.
12. Ladda ned resultatet och cyklerfilerna.
13. Om flera batcher i QIASymphony AS är konfigurerade i en integrerad körning ska du ladda om QIASymphony AS-lådorna, med början vid steg 1.
14. Fortsätt till "PCR on the Rotor-Gene Q", sida 18.

15. Utför regelbundet underhåll på QIAAsymphony AS under PCR-körningen på Rotor-Gene Q eller senare.

Eftersom arbetsflödet är en integrerad drift ska du rengöra alla instrument vid slutet av det slutförda arbetsflödet.

Följ underhållsinstruktionerna i användarhandboken för QIAAsymphony SP/AS – allmän beskrivning (*QIAAsymphony SP/AS User Manual – General Description*). Kontrollera att du utför underhåll regelbundet för att minimera risken för korskontamination.

PCR på Rotor-Gene Q

Viktigt att tänka på före start

- Ta dig tid att bekanta dig med Rotor-Gene Q-instrumentet innan du startar protokollet. Se instrumentets användarhandbok.
- Kontrollera att alla 4 kvantifieringsstandarderna såväl som minst en negativ kontroll (vatten av PCR-kvalitet) är inkluderade per PCR-körning. Om du vill skapa en standardkurva använder du alla 4 kvantifieringsstandarder som levererats (CMV QS 1–4) för varje körning av PCR.

1. Stäng PCR-rören och placera dem i Rotor-Gene Q:s 72-brunnsrotor.
2. Förvissa dig om att du överför Rotor-Gene Q-4-striprören i rätt riktning, så att positionsangivelserna för avkylningsadaptorn och rotorn stämmer överens.
3. Kontrollera att låsringen (tillhör till Rotor-Gene-instrumentet) är placerad överst på rotorn för att förhindra att rören öppnas av misstag under körningen.
4. Överför cyklerfilen från QIASymphony AS till RotorGene Q-datorn.
5. För detektionen av CMV-DNA skapar du en temperaturprofil och startar körningen i enlighet med det relevanta applikationsbladet på

www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.

Programspecifik information om programmering av Rotor-Gene Q finns i det relevanta protokollbladet "*Settings to run artus QSRGQ Kits*" (Inställningar för att köra artus QS-RGQ Kit) på **www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.**

Tolkning av resultat

Se relevant applikationsblad på www.qiagen.com/products/artuscmvprkitce.aspx för ingående information om tolkning av resultat.

Felsökningshandbok

Denna felsökningshandbok kan vara till hjälp för att lösa eventuella problem som uppstår. Kontaktuppgifter finns på baksidan eller på www.qiagen.com.

Kommentarer och förslag

Allmän hantering

Felmeddelande som visas på pekskärmen	Om ett felmeddelande visas under en integrerad körning, hänvisas till de användarhandböcker som levereras tillsammans med instrumenten.
---------------------------------------	---

Utfällning i reagenstråg i en öppnad kassett i QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit eller QIASymphony DSP DNA Mini Kit

- a) Buffertavdunstning
- Kraftig avdunstning kan leda till ökad saltkoncentration eller minskade alkoholkoncentrationer i buffertar. Kassera reagenskassetten (RC). Se till att försegla bufferttrågen till en delvis använd reagenskassett (RC) med tätningsremсор för återanvändning när dessa inte används för rening.

Kommentarer och förslag

- b) Förvaring av reagenskasset (RC)
- Förvaring av en reagenskasset (RC) under 15 °C kan leda till bildning av fällningar. Vid behov avlägsnar du de tråg som innehåller buffertarna QSL2 och QSB1 från reagenskassetten (RC) och inkuberar i ett vattenbad vid 37 °C i 30 minuter med sporadiska omskakningar för att lösa upp fällningen. Sätt tillbaka trägen på rätt plats. Om du redan har stuckit igenom reagenskassetten (RC) kontrollerar du att trägen har stängts igen med återanvändbara tättningsremсор och inkuberar hela reagenskassetten (RC) i ett vattenbad vid 37 °C i 30 minuter med sporadiska omskakningar.

Lågt utbyte av nukleinsyror

- a) Magnetiska partiklar suspenderades inte helt
- Innan du startar förfarandet, måste du kontrollera att magnetpartiklarna är helt återsuspenderade. Vortexblanda i minst 3 minuter före användning.
- b) Frusna prover blandades inte korrekt efter tining
- Tina frusna prover med lätt omrörning för att garantera en noggrann blandning.
- c) Bärar-RNA (CARRIER) inte tillsatt
- Rekonstituera bärar-RNA (CARRIER) i AVE-buffert (AVE) eller ATE-buffert (ATE) och blanda med lämplig volym av AVE-buffert (AVE) eller ATE-buffert (ATE) enligt beskrivning i relevant applikationsblad på www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx. Upprepa reningsförfarandet med nya prover.

Kommentarer och förslag

- d) Nedbrutna nukleinsyror Prover lagrades inkorrekt eller utsattes för alltför många frysnings-/tiningscyklar. Upprepa reningsförfarandet med nya prover.
- e) Ofullständig provlys Kontrollera före användning att buffert QSL2 och QSB1 inte innehåller några fällningar. Vid behov avlägsnar du de trågar som innehåller buffertarna QSL1 och QSB1 från reagenskassetten (RC) och inkuberar i 30 minuter vid 37 °C med sporadiska omskakningar för att lösa upp fällningen. Om du redan har stuckit igenom reagenskassetten (RC), kontrollerar du att trågen återigen är tätade med återanvändbara tätningssremor och inkuberar hela reagenskassetten (RC) i 30 minuter vid 37 °C med sporadiska omskakningar i ett vattenbad.
- f) Tilltäppning av pipettspets på grund av olösligt material Olösligt material avlägsnades inte från provet innan du startade reningsproceduren på QIA Symphony. Om du vill ta bort olösligt material för virustillämpningar centrifugerar du provet vid 3 000 x g i 1 minut och överför supernatanten till ett nytt provrör.

Kommentarer och förslag

QIASymphony AS detekterar otillräcklig master

All Master har inte överförts till provröret

Kombinera alla rör med CMV RG Master i ett enda kit i ett rör före användning. Viskösa reagens kan vara svåra att hantera med manuella pipetter. Se till att du överför all master till röret.

För viskösa reagens rekommenderar vi att du aspirerar en extra volym på 5 % om du använder manuella pipetter (justera t.ex. pipetten till 840 µl för 800 µl volym).

Alternativt kan du, efter att långsamt ha dispenserat vätskan och utfört utblåsning mot målrörets väggar, avlägsna spetsen från vätskan, släppa pipettblåsan och vänta i ytterligare 10 sek. Vätskerester kommer att flöda ner längst spetsen och kan blåsas ut om du trycker på pipettblåsan ytterligare en gång. Att använda filterspetsar för PCR märkta med "low retention" (litet bibehållande) kan förbättra återhämtningen av vätska.

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

a) Den valda fluorescenskanalen för PCR-dataanalys stämmer inte överens 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.

Kommentarer och förslag

- | | | |
|----|--|--|
| b) | Felaktig programmering av temperaturprofilen för Rotor-Gene Q-instrument | Jämför temperaturprofilen med protokollet. Se relevant applikationsblad och protokollblad på www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx . |
| c) | Felaktig konfiguration av PCR | Kontrollera att du har ställt in analysen korrekt och att du använde korrekt analysparameteruppsättning. Upprepa PCR vid behov. Se relevant applikationsblad på www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx . |
| d) | Förvaringsvillkoren för en eller flera kitkomponenter överensstämde inte med de instruktioner som gavs i "Reagent Storage and Handling", sidan 10. | Kontrollera reagensernas förvaringsvillkor och utgångsdatum på kitetiketten och använd ett nytt kit vid behov. |
| e) | Utgångsdatum för <i>artus</i> CMV QS-RGQ Kit har passerats | Kontrollera reagensernas förvaringsvillkor och utgångsdatum på kitetiketten och använd ett nytt kit vid behov. |

Svag eller obefintlig signal i den interna kontrollen för ett negativt plasmaproov som renats med hjälp av QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit eller QIASymphony DSP DNA Mini Kit i fluorescenskanal Cycling Yellow och samtidigt frånvaro av signal i kanal Cycling Green

- | | | |
|----|--|---|
| a) | Villkoren för PCR stämmer inte överens med protokollet | Kontrollera villkoren för PCR (se ovan) och upprepa reaktionen med korrekt inställningar vid behov. |
|----|--|---|

Kommentarer och förslag

- b) PCR inhiberades Kontrollera att du använder den validerade isoleringsmetoden (se "DNA isolation and assay setup on the QIA Symphony SP/AS", sida 12) och följ anvisningarna noga.
- c) DNA förlorades under extrahering Frånvaro av signal i den interna kontrollen kan tyda på förlust av DNA under extraktionen. Kontrollera att du använder den validerade isoleringsmetoden (se "DNA isolation and assay setup on the QIA Symphony SP/AS", sida 12) och följ anvisningarna noga.

Se även "Low yield av nukleinsyror", above.
- d) Förvaringsvillkoren för en eller flera kitkomponenter överensstämde inte med de instruktioner som gavs i "Reagent Storage and Handling", (sida 10) Kontrollera reagensernas förvaringsvillkor och utgångsdatum på kitetiketten och använd ett nytt kit vid behov.
- e) Utgångsdatum för *artus* CMV QS-RGQ Kit har passerats Kontrollera reagensernas förvaringsvillkor och utgångsdatum på kitetiketten och använd ett nytt kit vid behov.

Kommentarer och förslag

Signaler med de negativa kontrollerna i fluorescenskanalen Cycling Green i den analytiska PCR

- | | |
|---|---|
| a) Kontamination inträffade under förberedning av PCR | Upprepa PCR med oanvända reagenser i replikat.
Stäng om möjligt PCR-rören direkt när du har tillsatt det prov som ska testas.
Kontrollera med jämna mellanrum att arbetsytan och instrumenten är dekontaminerade. |
| b) Kontamination inträffade under extrahering | Upprepa extrahering och PCR av proven som ska testas med hjälp av oanvända reagenser.
Försäkra dig om att arbetsplatser och apparater dekontamineras regelbundet. |

Kvalitetskontroll

I enlighet med QIAGENs ISO-certifierade kvalitetshanteringssystem testas varje lot av *artus* CMV QS-RGQ Kit mot förutbestämda specifikationer för att garantera följdriktig produktkvalitet.

Begränsningar

Alla reagenser kan uteslutande användas vid in vitro-diagnostik.

Produkten ska endast användas av personal som har fått specialinstruktioner och som har utbildats i in vitro-diagnostiska förfaranden.

Användarhandboken måste följas strikt för att uppnå optimala resultat för PCR.

Var noga med att uppmärksamma de utgångsdatum som är angivna på asken och på etiketterna för alla komponenter. Använd inte utgångna komponenter.

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

Prestandaegenskaper

Se www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx avseende prestandaegenskaper för *artus* CMV QS-RGQ Kit.

Symboler

I nedanstående tabell beskrivs de symboler som kan förekomma i märkningen eller i detta dokument.



<N>

Innehåller reagenser som räcker till <N> reaktioner



Utgångsdatum



Medicinsk utrustning för in vitro-diagnostik



Katalognummer



Lotnummer



Materialnummer



Komponenter



Innehåller



Antal

GTIN

GTIN-artikelnummer (Global Trade Item Number)

Rn

R står för revision av handboken och n är revisionsnumret



Temperaturbegränsning



Tillverkare



Läs bruksanvisningen



Varning!

MASTER

Master

MG-SOL

Magnesiumlösning

QS

Kvantifieringsstandard

IC

Intern kontroll

Beställningsinformation

Produkt	Innehåll	Kat.nr
<i>artus</i> CMV QS-RGQ Kit (24)	För 24 reaktioner: Master, magnesiumlösning, 4 kvantifieringsstandarder, intern kontroll, vatten (polymeraskedjereaktionsgrad)	4503363
QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit	För 96 beredningar (1 000 µl i varje): inkluderar 2 reagenskassetter och enzymställ och tillbehör	937055
QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit	För 192 beredningar (200 µl i varje): inkluderar 2 reagenskassetter och enzymställ och tillbehör	937036
QIASymphony DSP DNA Mini Kit	För 192 beredningar (200 µl i varje): inkluderar 2 reagenskassetter och enzymställ och tillbehör.	937236
QIASymphony RGQ System	QIASymphony SP, QIASymphony AS, Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM, nödvändiga tillbehör och konsumtionsvaror, installation och utbildning	9001850

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i respektive QIAGEN-kithandbok eller -bruksanvisning. QIAGEN-kithandböcker och bruksanvisningar finns att tillgå på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN:s tekniska serviceavdelning eller från lokal återförsäljare.

Denna sida har med avsikt lämnats tom

I och med inköpet av denna produkt kan personen använda den för diagnostiska tjänster för human in vitro-diagnostik. Inget allmänt patent eller annan licens av något slag förutom denna specifika användarrätt i och med inköpet beviljas härigenom.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

Registrerade namn, varumärken osv. som används i detta dokument, även när de inte uttryckligen har markerats som sådana, får inte betraktas som oskyddade i lag.

artus CMV QS-RGQ Kit är ett CE-märkt diagnostiskt kit enligt det europeiska in vitro-diagnostiska direktivet 98/79/EG. Ej tillgängligt i alla länder.

Begränsat licensavtal för *artus* CMV QS-RGQ Kit

Användning av denna produkt innebär att köparen eller användaren av produkten godkänner följande villkor:

1. Produkten får enbart användas i enlighet med protokollen som medföljer produkten och denna handbok och får enbart användas tillsammans med komponenter som ingår i kitet. QIAGEN beviljar ingen licens under någon av företagets immateriella tillgångar för användning eller inkorporering av de medföljande komponenterna i denna sats med/i komponenter som inte ingår i denna sats, förutom vad som beskrivs i protokollen som medföljer denna produkt, denna handbok och ytterligare protokoll som finns på www.qiagen.com. Vissa av dessa ytterligare protokoll har tillhandahållits av QIAGEN-användare för QIAGEN-användare. Dessa protokoll är inte noggrant testade eller optimerade av QIAGEN. QIAGEN lämnar ingen garanti för dem och garanterar heller inte att de inte utgör ett intrång på rättigheter för tredje part.
2. Förutom de uttryckligen angivna licenserna kan QIAGEN inte garantera att detta kit och/eller dess användning inte kränker oberoende tredje parts rättigheter.
3. Detta kit och dess komponenter är licensierade för engångsbruk och får inte återanvändas, renoveras eller säljas vidare.
4. QIAGEN fransäger sig specifikt alla andra licenser, uttryckliga eller underförstådda, bortsett från dem som uttryckligen angivits.
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.

HB-0356-006 1060926 154023595 05/2016

© 2010–2016 QIAGEN, med ensamrätt.

