

Huhtikuu 2019

# QIASymphony<sup>®</sup>

## RGQ -sovellustiedot

*artus*<sup>®</sup> VZV QS-RGQ Kit -sarja (näytteen tyyppi:  
aivo-selkäydinneste)

R2

**IVD**

**CE**

**REF**

4502363

*artus* VZV QS-RGQ Kit, versio 1



Tarkista ennen kokeen suorittamista uusien elektronisten etikettiversioiden saatavuus osoitteesta [www.qiagen.com/products/artusvzvpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusvzvpcrkitce.aspx).

## Yleistä

Sarja	<i>artus</i> VZV QS-RGQ Kit, versio 1 (tuotenro 4502363)
Validoitu näyttemateriaali	Aivo-selkäydinneste
Alkuvaiheen puhdistus	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit (tuotenro 937036)
Näytetilavuus (ml. liikamäärä)	350 µl
Analyysin parametriasetus	<i>artus_VZV_CSF200_V5</i>
Analyysin kontrollin oletusasetus	<i>Cellfree200_V7_DSP_artus_VZV</i>
Eluutiotilavuus	60 µl
Tarvittava ohjelmistoversio	Versio 4.0 tai uudempi
Master-seoksen tilavuus	30 µl
Mallitilavuus	20 µl
Reaktioiden määrä	6-24
Ajoaika AS-moduulissa	6 reaktioon: noin 9 minuuttia 72 reaktioon: noin 35 minuuttia

## Tarvittavat materiaalit (jotka eivät kuulu toimitukseen)

### Puhdistussarja

- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit (tuotenro 937036)

### Sovittimet QIASymphony SP -laitteeseen

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

### Tarvikkeet QIASymphony SP -laitteeseen

- Sample Prep Cartridges, 8-well (tuotenro 997002)
- 8-Rod Covers (tuotenro 997004)
- Filter-Tips, 1500 µl (tuotenro 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (tuotenro 990332)
- Elution Microtubes CL (tuotenro 19588)
- Tip disposal bags (tuotenro 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Type H tai Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt®, tuotenrot 72.693 ja 72.694, [www.sarstedt.com](http://www.sarstedt.com)) käytettäväksi näytteille ja sisäisille kontrolleille

### Sovittimet ja reagenssipidikkeet QIASymphony AS -laitteelle

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

### Tarvikkeet QIASymphony AS -laitteeseen

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

## Näytteen käsittely ja säilytys

Näytteenotto	Selkäydinneste
Näytteen säilytys	Näytteet on säilytettävä lämpötilassa 2–8 °C tai –20 °C
Näytteen kuljetus	Särkymätön kuljetus Lähetys 24 tunnin sisällä Postikuljetus patogeenisten materiaalien kuljetusta koskevan lainsäädännön mukaisesti*
Näytteen valmistelu	Estä vaahdon muodostuminen näytteissä tai niiden päällä Näytteet on tasapainotettava huoneenlämpöön (15–25 °C) ennen ajon aloittamista.

\* Kansainvälinen ilmakuljetusliitto (International Air Transport Association, IATA).  
Dangerous Goods Regulations (Vaarallisia aineita koskevat määräykset).

# Menetelmä

## Kantaja-RNA:n valmistelu ja sisäisen kontrollin lisäys näytteisiin

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit -sarjan käyttäminen yhdessä *artus VZV OS-RGO Kit* -sarjan kanssa edellyttää sisäisen kontrollin (VZV IC) lisäämistä puhdistusprosessiin näytteen valmistelun ja sen jälkeisen analyysin tehon valvontaa varten.

Sisäisiä kontrolleja on lisättävä kantaja-RNA:n (CARRIER) – puskurin-AVE (AVE) -seoksen kanssa, ja sisäisen kontrollin kantaja-RNA (CARRIER) – Buffer-AVE (AVE) -seoksen kokonaismäärä pysyy 120 µl:ssa.

Taulukossa esitetään sisäisen kontrollin lisääminen isolaattiin suhteessa 0,1 µl per 1 µl eluaattia. Suosittelemme valmistamaan uuden seoksen jokaiseen aioon juuri ennen käyttöä.

Vaihtoehtoisesti voi käyttää QIASymphony Management Console -konsolin IC Calculator (IC-laskin) -työkalua.

Komponentti	Tilavuus (µl) (Sarstedt-putket)*	Tilavuus (µl) (kartioputket)†
Kantaja-RNA:n aine (CARRIER)	2,5	2,5
Sisäinen kontrolli‡	9	9
Buffer AVE	108,5	108,5
Näytteen lopullinen tilavuus (kuollut tilavuus poislukien)	120	120
Kokonaistilavuus n näytteelle	$(n \times 120) + 360^{\S}$	$(n \times 120) + 600^{\parallel}$

\* Micro tubes 2.0 ml Type H ja Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, tuotenrot 72.693 ja 72.694).

† Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Corning® Inc., tuotenro 352051; Becton Dickinson oli putkien aiempi toimittaja, mutta Corning, Inc. on nykyään näiden putkien toimittaja).

‡ Sisäisen kontrollin määrän laskenta perustuu eluaatin alkutilavuuteen (90 µl). Tyhjiön lisättilavuus määräytyy käytetyn näyteputken tyypin mukaan.

§ Kolmea lisänäytettä vastaava sisäisen kontrollin seos (ts. 360 µl) on tarpeen. Älä ylitä 1,92 ml:n kokonaistilavuutta (vastaa enintään 13 näytettä). Nämä tilavuudet koskevat vain Micro tubes 2.0 ml Type H -mikroputkia ja Micro tubes 2.0 ml Type I -mikroputkia, Sarstedt, tuotenrot 72.693 ja 72.694).

¶ Viittä lisänäytettä vastaava sisäisen kontrollin seos (ts. 600 µl) on tarpeen. Älä ylitä 13,92 ml:n kokonaistilavuutta (vastaa enintään 111 näytettä). Nämä tilavuudet koskevat vain tuotetta Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Corning Inc., tuotenro 352051; Becton Dickinson oli putkien aiempi toimittaja, mutta Corning, Inc. on nykyään näiden putkien toimittaja).

## QIASymphony SP -laitteen määrittäykset

### Waste (Jäte) -lokero

Yksikkölaatikon pidike 1–4	Tyhjät yksikkölaatikot
Jätepussin pidike	Jätepussi
Nestejätepullon pidike	Tyhjennä nestejätepullo ja aseta takaisin paikalleen

### Eluate (Eluaatti) -lokero

Eluutioline	Elution Microtubes CL -mikroputket Elution Microtube Rack QS -telineessä QS ja siirtokehys Käytä uurretta 1, jäähdytysasento
Eluutiolavuus*	Esivalittu eluaatin määrä: 60 µl Eluaatin alkumäärä: 90 µl

\* Eluaatin määrä on esivalittu protokollassa. Tämä on eluaatin pienin käytettävissä oleva määrä lopullisessa eluutioputkessa. Eluutioliuoksen alkumäärä tarvitaan varmistamaan, että eluaatin todellinen määrä on sama kuin esivalittu määrä.

### Reagents and Consumables (Reagenssit ja tarvikkeet) -lokero

RC-sijainti 1 ja 2	Aseta yksi reagenssikasetti (Reagent Cartridge, RC) enintään 96 näytettä varten.
Kärkitelineen pidikkeen sijainnit 1–18	Aseta riittävästi kertakäyttöisten 200 µl:n ja 1 500 µl:n filter-tip-suodatinkärkien telineitä (katso Tarvittavat muovivälineet 1-4 näyte-erää varten, sivu 7)
Yksikkölaatikon pidikkeen sijainnit 1–4	Aseta sample prep cartridge -kasetit sisältävät yksikkölaatikot ja 8-Rod Cover -kannet (katso Tarvittavat muovivälineet 1-4 näyte-erää varten, sivu 7)

## Sample (Näyte) -lokero

Näytetyyppi	Selkäydinneste
Näytetilavuus (ml. liikamäärä)	350 µl
Näyteputket	Micro tubes 2.0 ml Type H tai Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, tuotenrot 72.693 ja 72.694).
Tuki	Tube Insert 3B (tuotenro 9242083)

## Tarvittavat muovivälineet 1-4 näyte-erää varten

Komponentti	Yksi erä, 24 näytettä*	Kaksi erää, 48 näytettä*	Kolme erää, 72 näytettä*	Neljä erää, 96 näytettä*
Disposable filter-tips, 200 µl, 200 µl††	30	54	78	102
Disposable filter-tips, 1500 µl††	101	182	271	354
Sample Prep Cartridges <sup>§</sup>	21	42	63	84
8-Rod Covers <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* Useamman kuin yhden sisäisen kontrollin putken käyttö erää kohti ja useamman kuin yhden inventaarioskannauksen tekeminen edellyttää ylimääräisiä kertakäyttöisiä suodatinkärkiä.

† Filter-tip-suodatinkärkiä on 32 kpl/kärkiteline.

‡ Tarvittavien filter-tip-suodatinkärkien määrä käsittää suodatinkärjet yhteen skannaukseen reagenssikasettia kohti.

§ Yksikkölaatikossa on 28 sample prep cartridge -kasettia.

¶ Yksikkölaatikossa on 12 kpl 8-Rod Cover -kantta.

## QIASymphony AS -laitteen määriykset

### Tarvikkeet

Alkuasennuksen aikana kunkin tarvikkeen sijainti QIASymphony AS -moduulissa on ilmoitettu laitteen kosketusnäytössä.

Tarvikkeet	Nimi kosketusnäytössä	Käytettäväksi sovittimen/ reagenssipidikkeen kanssa
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) <sup>†‡</sup>	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt <sup>§</sup>	Reagent holder 1 QS
Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (500) <sup>†‡</sup>	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt <sup>§</sup>	Reagent holder 1 QS

\* Merkki laboratoriotarvikkeista, joita voidaan jäähdyttää viivakoodillisella jäähdytyssovitimella.

<sup>†</sup> Pääseoksen osat, järjestelmän valmistama pääseos, määritysstandardit ja määrityskontrollit.

<sup>‡</sup> Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää Sarstedt-putkia, jotka on kuvattu kohdassa Tarvittavat materiaalit (jotka eivät kuulu toimitukseen), sivulla 3.

<sup>§</sup> Pääte (m) kosketusnäytössä osoittaa, että asianomaisen putken nestetason laskennat on optimoitu kuperan puolikuun muodostaville reagensseille.

### Sovittimet ja reagenssipidikkeet

Teline/reagenssipidike	Nimi	Tarvittu määrä <sup>¶</sup>
Reagenssipidikkeet	Reagent holder 1 QS	1
Näytetelineet	RG Strip Tubes 72 QS	1

<sup>¶</sup> Laskettu määritysajosta, jossa oli 72 reaktiota.

### Suodatinkärjet

Täytä kärkilineet alkaen kärkipaikoista 1, 2 ja 3 Eluate and Reagents (Eluaatti ja reagenssit) -lokerosta ja jatka kärkilineiden täyttämistä Assays (Testit) -lokeron kärkisijainteihin 7, 8 ja 9.

Tarvikkeet	Nimi kosketusnäytössä	Vähimmäismäärä 24 reaktioon	Vähimmäismäärä 72 reaktioon
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	1500 µl	4	6
Filter-Tips, 200 µl (1024)	200 µl	10	9
Filter-Tips, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Tip Disposal Bags	–	1	1



## PCR Rotor-Gene Q -laitteessa\*

Katso lisätietoja ohjelmistokohtaisesta protokollalomakkeesta *Asetukset artus QS-RGQ Kit* -sarjojen ajamiseen osoitteesta [www.qiagen.com/products/artusvzvpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusvzvpcrkitce.aspx).

*artus* VZV QS-RGQ Kit -sarjan tarkat asetukset

Käytettäessä Rotor-Gene®-ohjelmistoversiota 2.1 tai uudempaa tarkat asetukset on esitetty alla.

Reaction Volume (Reaktiotilavuus) (µl)	50
Hold (Pito)	Pitolämpötila: 95 astetta Pitoaika: 10 minuuttia
Cycling (Sykliit)	45 kertaa 95 astetta 15 sekunnin ajan 65 astetta 30 sekunnin ajan (keräys Green ja Orange sekä touchdown-toiminnon aktivointi 10 sykliksi) 72 astetta 20 sekunnin ajan
Auto-Gain Optimisation Setup (Automaattivahvistuksen optimoinnin määrittäminen)	65 astetta (näytteet: Green; IC: Orange)

## Tulosten tulkitseminen

Tässä osassa kuvataan Rotor-Gene Q -laitteella saatujen tulosten tulkintaa. Katso myös näytteen tilatiedot QIASymphony SP/AS -tulostiedostoista analysoidessasi koko työnkulkua näytteestä tulokseen. Käytä vain näytteitä, joiden tila on kelvollinen.

*artus* VZV QS-RGQ Kit -sarja voidaan ajaa Rotor-Gene Q -laitteella käyttämällä manuaalista analyysiä Rotor-Gene Q -ohjelmistoversiossa 2.1 tai uudemmassa. Seuraavissa osissa kuvataan tulosten tulkitsemista Rotor-Gene Q -ohjelmistoversion 2.1 tai uudemman avulla.

\* Mikäli mahdollista, voidaan käyttää Rotor-Gene Q 5plex HRM -instrumenttia, joka on valmistettu tammikuussa 2010 tai myöhemmin. Valmistuspäivä on nähtävissä laitteen taustapuolella olevasta sarjanumerosta. Sarjanumero on muodossa kkvwnn, jossa kk on valmistuskuukausi, vv on valmistusvuoden kaksi viimeistä numeroa ja nnn on laitteen tunnistenumero.

## Signaalin tunnistus ja johtopäätökset

Signaali kanavassa Cycling Green	Signaali kanavassa Cycling Orange	Kvantitatiivinen tulos (kopiota/ml)	Tulkinta
kyllä	kyllä	< 80,7	Hyväksyttävä tulos: VZV DNA:ta havaittu, < 500 kopiota/ml. Kvantitointi ei ole mahdollista, koska kvantitatiivinen tulos on alle havaitsemisrajan. Positiivisen tuloksen toistettavuus ei ole varmaa.
kyllä	kyllä	≥ 80,7 ja < 500	Hyväksyttävä tulos: VZV DNA:ta havaittu, < 500 kopiota/ml. Kvantitointi ei ole mahdollista, koska kvantitatiivinen tulos on määrittämisen lineaarisen alueen alapuolella.
kyllä	Kyllä/ei*	≥ 500 ja ≤ 1 x 10 <sup>8</sup>	Hyväksyttävä tulos: VZV DNA:ta havaittu lasketulla pitoisuudella. Kvantitatiivinen tulos on määrittämisen lineaarisen alueen sisällä.
kyllä	Kyllä/ei*	> 1 x 10 <sup>8</sup>	Hyväksyttävä tulos: VZV DNA:ta havaittu, > 1 x 10 <sup>8</sup> kopiota/ml. Kvantitointi ei ole mahdollista, koska kvantitatiivinen tulos on määrittämisen lineaarisen alueen yläpuolella.†
Ei	kyllä	–	Hyväksyttävä tulos: VZV DNA:ta ei havaittavissa.‡
Ei	Ei	–	Virheellinen tulos: Tulosta ei voi määrittää.§

\* Tällaisessa tapauksessa signaalin tunnistaminen Cycling Orange -kanavassa jää tarpeettomaksi, koska VZV-DNA:n suuri alkupitoisuus (positiivinen signaali Cycling Green -kanavassa) saattaa johtaa sisäisen kontrollin fluoresenssisignaalin heikkenemiseen tai poisjäämiseen Cycling Orange -kanavassa (kilpailu).

† Jos kvantitointi on tarpeen, laimenna näytettä VZV:tä sisältämättömällä aivo-selkäydinnesteellä ja käsittele uudelleen. Kerro uudelleenkäsitellyn näytteen kvantitatiivinen tulos laimennuskertoimella.

‡ Jos negatiivisen näytteen sisäisen kontrollin C<sub>T</sub>-arvo on yli 3 jaksoa korkeampi kuin mallittoman kontrollin sisäisen kontrollin C<sub>T</sub>-arvo ajossa (C<sub>T</sub> IC<sub>näyte</sub> – C<sub>T</sub> IC<sub>NTC</sub> >3), näytettä on käsiteltävä virheellisenä. Tulosta ei voi määrittää.

§ Tietoa virhelähteistä ja virheiden ratkaisuista löytyy artus VZV QS-RGQ Kit -käsikirjan vianmääritysosiosta.

## PCR-analyysin kynnyksen määrittäminen

Tietyn Rotor-Gene Q -laitteen ja *artus* QS-RGQ Kit -sarjan yhdistelmän optimaaliset kynnyasetukset on asetettava empiirisesti testaamalla kaikki yksittäiset yhdistelmät, koska tuloksena on suhteellinen arvo yleisen diagnostisen työnkulun mukaan. Kynnys voidaan asettaa alustavaan arvoon 0,04 ensimmäisen PCR-ajon analyysiä varten, mutta tätä arvoa on hienosäädettävä työnkulun seuraavien ajojen vertailevalla analyysillä. Kynnys on asetettava manuaalisesti juuri negatiivisten kontrollien ja negatiivisten näytteiden taustasignaalin yläpuolelle. Näistä kokeista laskettu keskimääräinen kynnysarvo on todennäköisesti käytettävissä suurimmalle osalle tulevista ajoista, mutta käyttäjän tulisi siitä huolimatta tarkastaa luotu kynnysarvo säännöllisin väliajoin. Kynnysarvo on yleensä alueella 0,03–0,05, eikä sitä pidä pyöristää kuin korkeintaan kolmen desimaalin tarkkuudelle.

## Quantitation (Kvantitointi)

*artus* VZV QS-RGQ Kit -sarjan kvantitointistandardeja (VZV QS 1–4) käsitellään aiemmin puhdistettuina näytteinä ja samaa tilavuutta käytetään (20 µl). Standardikäyrän luomiseksi Rotor-Gene Q -laitteissa kaikkia neljää kvantitointistandardia on käytettävä ja ne on määritettävä Edit Samples (Muokkaa näytteitä) -valintaikkunassa Rotor-Gene Q -laitteessa standardeina, joilla on määritetyt pitoisuudet (katso laitteen käyttöopas).

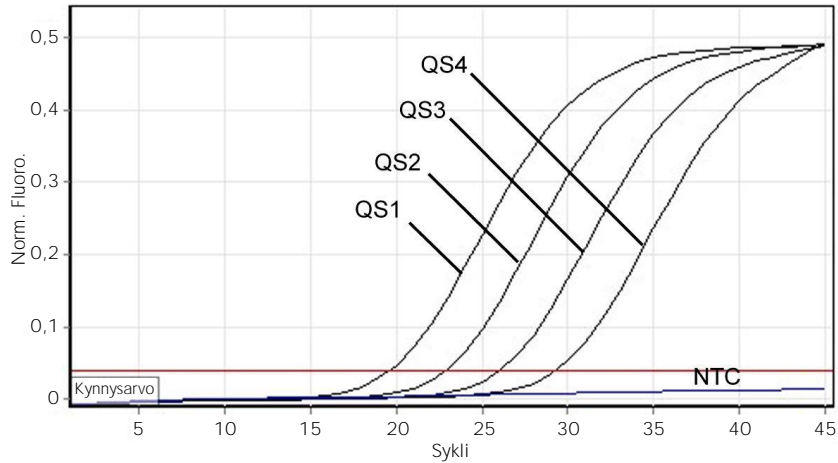
Huomautus: Kvantitointistandardit on määritetty yksikössä kopiota/µl eluaattia. Seuraavan kaavan avulla voi muuntaa standardikuvaajaa käyttämällä saadut arvot muotoon kopiota / ml näytemateriaalia.

$$\text{Tulos näytemateriaalissa (kopiota/ml)} = \frac{\text{Tulos eluaatissa (kopiota/µl)} \times \text{eluaatin alkutilavuus (90 µl)*}}{\text{näytteen tilavuus (ml)}}$$

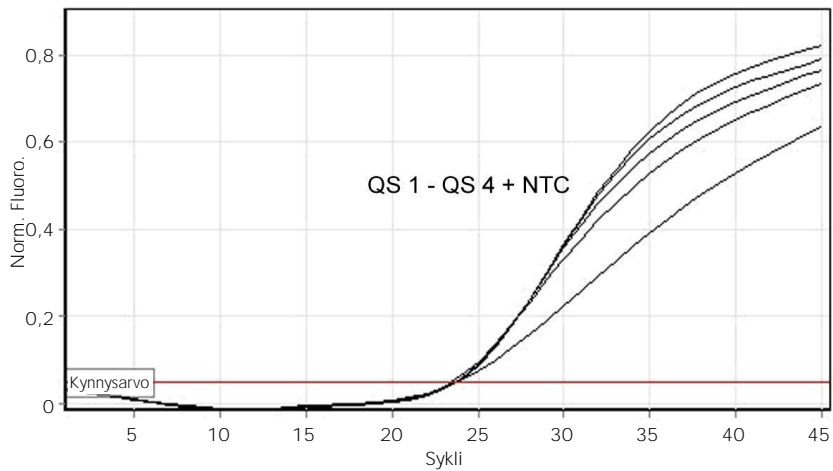
Huomaa peruseriaate, että edellä esitettyyn kaavaan tulee antaa näytteen tilavuus aluksi. Tämä on huomioitava, kun näytteen tilavuus muuttuu ennen nukleiinihappojen erotusta (esim. tilavuuden pieneneminen sentrifugoitaessa tai tilavuuden suureneminen täydennettäessä määrää eristämisen vaatiman tilavuuden saavuttamiseksi).

\*Laskenta perustuu eluaatin alkutilavuuteen (90 µl).

Esimerkkejä positiivisista ja negatiivisista PCR-reaktioista



Kvantitointistandardien tunnistus (VZV QS 1–4) fluoresenssikanavassa, Cycling Green  
NTC: No template control (Malliton kontrolli) (negatiivinen kontrolli).



Sisäisen kontrollin (Internal Control, IC) tunnistus fluoresenssikanavassa Cycling Orange  
monistettaessa samanaikaisesti kvantitointistandardeja (VZV QS 1–4).  
NTC: No template control (Malliton kontrolli) (negatiivinen kontrolli).

## Asiakirjan muutoshistoria

R2, huhtikuu 2019 Poistettu alaviite 216 määrityksen valmisteleminen. Vaihdettu uusiin QIASymphony-protokollien versioihin. Päivitetty pakolliset materiaalit enintään 72 reaktion valmistelua varten. Lisätty tietoa QMC IC Calculator (Sisäisen kontrollin laskin) -työkalun käytöstä. Päivitetty Corning-laboratoriotarvikkeiden nimitys (aiemmin Becton Dickinson). Lisätty tarkat ajoasetukset Rotor-Gene Q -laitteelle (touchdown-toiminnon ja keräysten käyttö). Lisätty tietoa tulosten tulkitsemisesta sisältämään patogeeneinegatiivisen ja IC-negatiivisen tapauksen. Poistettu ohjeet Rotor-Gene AssayManager® -ohjelmiston käytöstä. Vaihdettu RT-PCR-maininta PCR:ksi selkeyden vuoksi. Selvennetty eluaatin ja näytteen pitoisuuden välistä eroa kvantitoinnin laskennassa.

Voimassa olevat lisenssitiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet ovat saatavilla tuotekohtaisista QIAGEN-sarjojen käyttöoppaista tai käsikirjoista. QIAGEN-sarjojen käsikirjat ja käyttöoppaat löytyvät osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), tai niitä voi tiedustella QIAGENin teknisestä palvelusta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

Tavaramerkit: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN Group); Corning® (Corning Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Tässä asiakirjassa mainittuja rekisteröityjä nimiä, tavaramerkkejä jne. on pidettävä lain suojaamina, vaikkei niitä olisi erityisesti sellaisiksi merkitty. 04/2019 HB-0401-S01-002\_FI © 2012–2019 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään.

