



Handbok för *artus*[®] VZV RG PCR-kit

 24 (katalognr 4502263)
 96 (katalognr 4502265)

Version 1



Kvantitativ in vitro-diagnostik

För användning med Rotor-Gene[®] Q-instrument



4502263, 4502265



1056824SV



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,

TYSKLAND

R4



1056824SV



QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN är den ledande tillverkaren av innovativa provtagnings- och analystekniker som möjliggör isolering och detektion av innehållet i alla biologiska prover. Våra avancerade produkter och tjänster av hög kvalitet garanterar framgång från prov till resultat.

QIAGEN skapar standarder inom:

- rening av DNA, RNA och proteiner
- nukleinsyra- och proteinanalyser
- mikroRNA-forskning och RNAi
- automatisering av provtagnings- och analystekniker

Vårt uppdrag är att göra det möjligt för dig att uppnå utomordentliga framgångar och genombrott. Det finns mer information på www.qiagen.com.

Innehåll

Användningsområde	6
Sammanfattning och förklaring	6
Information om patogen	6
Princip för proceduren	6
Material som medföljer	7
Kitinnehåll	7
Material som behövs men inte medföljer	8
Varningar och försiktighet	8
Allmänna försiktighetsåtgärder	9
Förvaring och hantering av reagens	9
Procedur	10
DNA-isolering	10
Intern kontroll	10
Protokoll: PCR och dataanalys	11
Tolkning av resultat	18
Kvantifiering	18
Resultat	19
Felsökningshandbok	20
Kvalitetskontroll	22
Begränsningar	22
Prestandaegenskaper	23
Analytisk sensitivitet	23
Specificitet	23
Precision	25
Litteraturhänvisningar	28
Symboler	28
Kontaktinformation	29
Beställningsinformation	30

Användningsområde

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

Obs! *artus* VZV RG PCR-kitet kan inte användas med Rotor-Gene Q 2plex-instrument.

Sammanfattning och förklaring

artus VZV RG PCR-kitet utgör ett bruksfärdigt system för detektionen av VZV-DNA med användning av polymeraskedjereaktion (PCR) i Rotor-Gene Q-instrument. VZV RG Master innehåller reagenser och enzymer för den specifika amplifieringen av en 82 bp-region av VZV-genomet, och för direkt detektion av den specifika amplikonen i fluorescenskanalen Cycling Green i Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q eller Rotor-Gene 6000 (källa 470 nm, detektor 510 nm).

Dessutom innehåller *artus* VZV RG PCR-kitet ett andra heterologt amplifieringssystem för detektion av en eventuell PCR-inhibering. Denna detekteras som en intern kontroll (IC) i fluorescenskanalen Cycling Orange i Rotor-Gene Q eller Rotor-Gene Q 6000 (källa 585 nm, detektor 610 nm). Detektionsgränsen för analytisk VZV-PCR (se "Analytisk sensitivitet", sidan 23) minskas inte. Externa positiva kontroller (VZV RG QS 1–4) medföljer, vilka gör det möjligt att fastställa andelen virus-DNA. Mer information: se "Kvantifiering", sidan 18.

Information om patogen

Varicella-zoster-virus (VZV) är ett DNA-virus, vilket överförs från person till person som en droppinfektion eller genom direktkontakt. Infektion med VZV ger något förhöjda temperaturer och påverkar det allmänna hälsotillståndet i måttlig grad. Polymorfa utslag med strimmor, blåsor och skorpor tillsammans med svår klåda (vattkoppor) kännetecknar sjukdomen. Svåra VZV-infektioner ses frekvent hos patienter med nedsatt immunförsvar och kan leda till farliga komplikationer, t.ex lunginflammation och encefalit. Efter den akuta infektionen finns patogenen kvar i sensoriska spinalganglier och ganglierna i kranialnerverna. Om immuniteten försvagas kan exacerbationer uppstå (t.ex. bältros).


Princip för proceduren

Patogen detektion med polymeraskedjereaktion (PCR) baseras på amplifieringen av specifika regioner i den patogena organismens genom. I realtids-PCR detekteras den amplifierade produkten via fluorescerande

färgämnen. Dessa är vanligtvis kopplade till sökfragment av oligonukleotider, vilka binder specifikt till den amplifierade produkten. Om du övervakar fluorescensintensiteterna under PCR-körningen (det vill säga i realtid) kan du upptäcka och kvantifiera den ackumulerande produkten utan att behöva öppna reaktionsrören på nytt efter PCR-körningen.*

Material som medföljer

Kitinnehåll

artus VZV RG PCR Kit			(24)	(96)
Katalognr			4502263	4502265
Antal reaktioner			24	96
Blå	VZV RG Master		2 x 12 reaktioner	8 x 12 reaktioner
Gul	VZV RG Mg-Sol [†]	Mg-Sol	600 µl	600 µl
Röd	VZV RG QS 1 [‡] (1 x 10 ⁴ kopior/µl)	QS	200 µl	200 µl
Röd	VZV RG QS 2 [‡] (1 x 10 ³ kopior/µl)	QS	200 µl	200 µl
Röd	VZV RG QS 3 [‡] (1 x 10 ² kopior/µl)	QS	200 µl	200 µl
Röd	VZV RG QS 4 [‡] (1 x 10 ¹ kopior/µl)	QS	200 µl	200 µl
Grön	VZV RG IC [§]	IC	1000 µl	2 x 1000 µl
Vit	Vatten (PCR-kvalitet)		1000 µl	1000 µl
	Handbok		1	1

[†] Magnesiumlösning.

[‡] Kvantifieringsstandard.

[§] Intern kontroll.

* Mackay, I.M. (2004) Real-time PCR in the microbiology laboratory. Clin. Microbiol. Infect. **10**, 190.

Material som behövs men inte medföljer

Använd alltid lämplig laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Mer information finns i tillämpliga säkerhetsdatablad (SDS) som kan erhållas från produktleverantören.

Reagenser

- DNA-isoleringskit (se "DNA-isolering", sidan 10)

Förbrukningsartiklar

- Sterila pipettspetsar med filter
- Strip-rör och lock, 0,1 ml, för användning med 72-brunnars rotor (kat.nr 981103 eller 981106)
- Alternativt: PCR-rör, 0,2 ml, för användning med 36-brunnars rotor (kat.nr 981005 eller 981008)

Utrustning

- Pipetter (justerbara)*
- Vortexblandare*
- Bänkcentrifug* med rotor för 2 ml-reaktionsrör
- Rotor-Gene Q MDx-, Rotor-Gene Q- eller Rotor-Gene-instrument*† med fluorescenskanaler för Cycling Green och Cycling Orange
- Rotor-Gene Q MDx-/Rotor-Gene Q-programvaruversion 1.7.94 eller senare (Rotor-Gene 6000-programvaruversion 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94)
- Kylblock (laddningsblock 72 x 0,1 ml rör, kat.nr 9018901, eller laddningsblock 96 x 0,2 ml rör, kat.nr 9018905)

Varningar och försiktighet

För in vitro-diagnostisk användning

Använd alltid lämplig laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Mer information finns i lämpligt säkerhetsdatablad (SDS). Dessa är tillgängliga online i praktiskt och kompakt PDF-format på www.qiagen.com/safety där du kan hitta, granska och skriva ut datablad för alla kit och kitkomponenter från QIAGEN®.

Kassera prov- och analysavfall enligt lokala säkerhetsregler.

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

† *artus* VZV RG PCR-kitet kan inte användas med Rotor-Gene Q 2plex-instrument.

Allmänna försiktighetsåtgärder

Användaren ska alltid vara uppmärksam om 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 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.
- Arbeta snabbt och förvara komponenter på is eller i kylblocket (72/96-brunnars laddningsblock).

Förvaring och hantering av reagens

Komponenterna i *artus* VZV RG PCR-kitet måste förvaras vid –15 °C 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 sensitivitet. Om reagenserna endast ska användas periodvis ska de frysas ned i aliquoter. Förvaring vid 2–8 °C ska inte överskrida 5 timmar.

Procedur

DNA-isolering

EZ1 DSP Virus Kit (QIAGEN, kat. nr 62724)* har utvärderats för viral nukleinsyrarening från human CSF, för användning med *artus* VZV RG PCR-kitet. Utför den virala nukleinsyrareningen enligt anvisningarna i handboken till *EZ1 DSP Virus Kit*, med en initial provvolym på 200 μ l.

Obs! *artus* VZV RG PCR-kitet ska inte användas med fenolbaserade isoleringsmetoder.

Obs! Användningen av bärar-RNA är nödvändig för extraktionseffektiviteten och följljaktligen för DNA/RNA-utbytet. Tillsätt den lämpliga mängden bärar-RNA till varje extraktion enligt anvisningarna i handboken till *EZ1 DSP Virus Kit*.

Obs! Den interna kontrollen för *artus* VZV RG PCR-kitet kan användas direkt i isoleringsförfarandet (se "Intern kontroll", nedan).

Intern kontroll

En intern kontroll (VZV RG IC) medföljer. Detta gör att användaren både 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 μ l per 1 μ l elueringsvolym. Till exempel, om man vid användning av EZ1 DSP Virus-kitet eluerar virusnukleinsyrorna i 60 μ l elueringsbuffert (AVE), så ska 6 μ l av den interna kontrollen användas initialt.

Obs! Den interna kontrollen och bärar-RNA (se "DNA-isolering", sidan 10) 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.

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 VZV RG Master och VZV RG Mg-Sol, enligt beskrivning i steg 2b i protokollet (sidan 12).

* EZ1 DSP Virus Kit är även tillgängligt som CE-IVD-märkt EASYartus® VZV RG PCR Kit, i kombination med *artus* VZV RG PCR-kitet (se sidan 30 för beställningsinformation).

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 instrumentets användarhandbok.
- Säkerställ att minst en kvantifieringsstandard såväl som en negativ kontroll (vatten, PCR-kvalitet) ingår i varje PCR-körning. För att skapa en standardkurva använder du alla 4 kvantifieringsstandarder som medföljer (VZV RG QS 1–4) för varje körning av PCR.

Saker som ska utföras 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.**
- 2a. Den interna kontrollen har redan tillsatts till isolatet (se "Intern kontroll", sidan 10). I detta fall ska du bereda en masterblandning enligt tabell 1.**

Reaktionsblandningen innehåller vanligtvis alla komponenter som behövs för PCR, förutom provet.

Tabell 1. Beredning av masterblandning (intern kontroll som används för att övervaka DNA-isolering och kontrollera PCR-inhibering)

Antal prover	1	12
VZV RG Master	25,5 µl	306 µl
VZV RG Mg-Sol	4,5 µl	54 µl
VZV RG IC	0 µl	0 µl
Total volym	30 µl	360 µl

- 2b. Den interna kontrollen måste tillsättas direkt till blandningen av VZV RG Master och VZV RG Mg-Sol. I detta fall ska du bereda en masterblandning enligt tabell 2.**

Reaktionsblandningen innehåller vanligtvis alla komponenter som behövs för PCR, förutom provet.

Tabell 2. Beredning av masterblandning (intern kontroll som används uteslutande för att kontrollera PCR-inhibering)

Antal prover	1	12
VZV RG Master	25,5 µl	306 µl
VZV RG Mg-Sol	4,5 µl	54 µl
VZV 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 sensitivitet försämras inte.

- 3. Pipettera 30 µl av masterblandningen i varje PCR-rör. Tillsätt sedan 20 µl av eluerad prov-DNA (se tabell 3). På motsvarande sätt måste 20 µl av minst en av kvantifieringsstandarderna (VZV RG QS 1–4) användas som en positiv kontroll och 20 µl vatten (vatten, PCR-kvalitet) som en negativ kontroll.**

Tabell 3. Beredning av PCR-reaktion

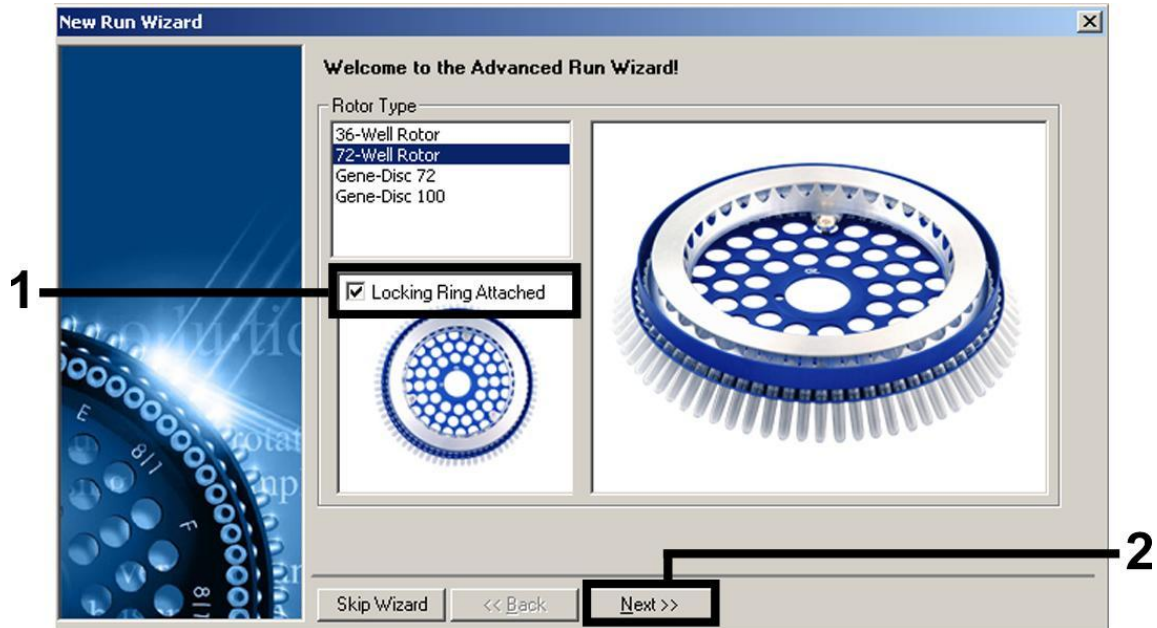
Antal prover	1	12
Masterblandning	30 μ l	30 μ l av vardera
Prov	20 μ l	20 μ l av vardera
Total volym	50 μl	50 μl av vardera

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 VZV-DNA genom att utföra nedanstående steg.

Inställning av allmänna analysparametrar	Figurer 1, 2, 3
Första aktivering av enzym med varmstart	Figur 4
DNA-amplifiering	Figur 5
Justering av fluorescenskanalsensitiviteten	Figur 6
Start av körningen	Figur 7

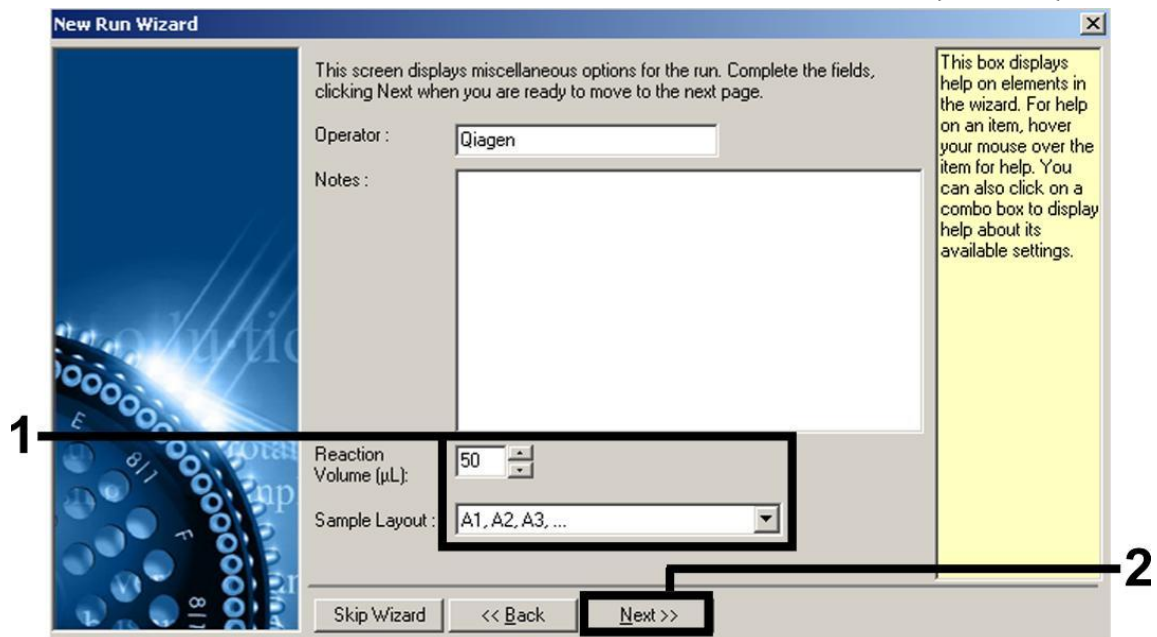
Alla specifikationer gäller för Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q-programvaruversion 1.7.94 och Rotor-Gene 6000-programvaruversion 1.7.65, 1.7.87 och 1.7.94. Mer information om hur du programmerar Rotor-Gene-instrument hittar du i användarhandboken till instrumentet. I illustrationerna är dessa inställningar inramade i svart fet stil. Illustrationer ingår för Rotor-Gene Q-instrument.

6. Öppna först dialogrutan "New Run Wizard" (Ny körning av guide) (figur 1). Markera rutan "Locking Ring Attached" (Låsring fäst) och klicka på "Next" (Nästa).



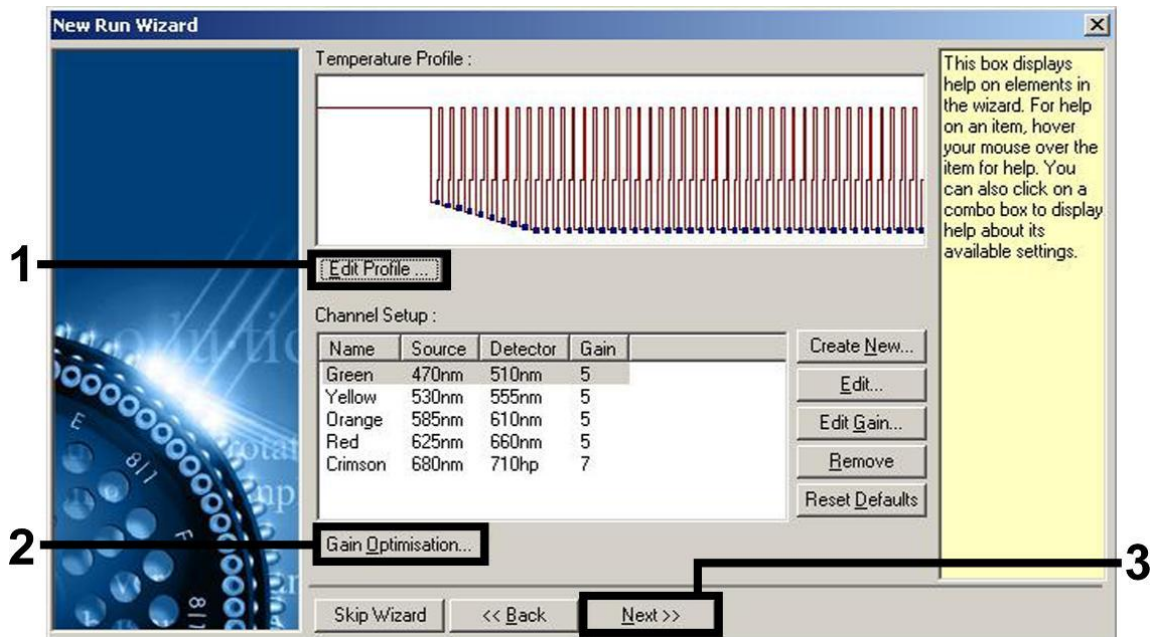
Figur 1. Dialogrutan "New Run Wizard".

7. Välj 50 för PCR-reaktionsvolymen och klicka på "Next" (figur 2).

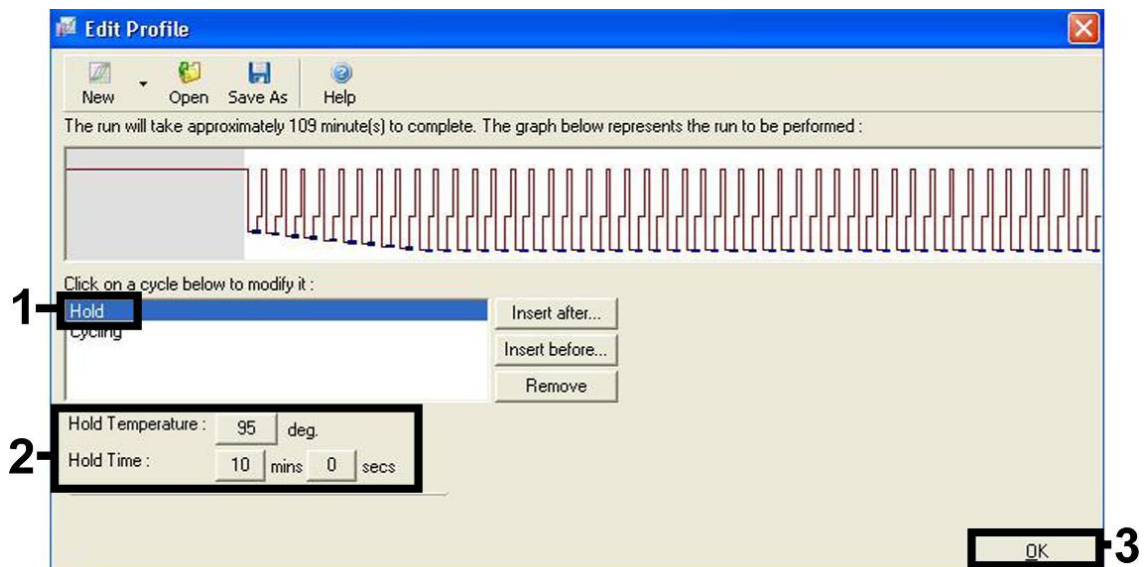


Figur 2. Inställning av allmänna analysparametrar.

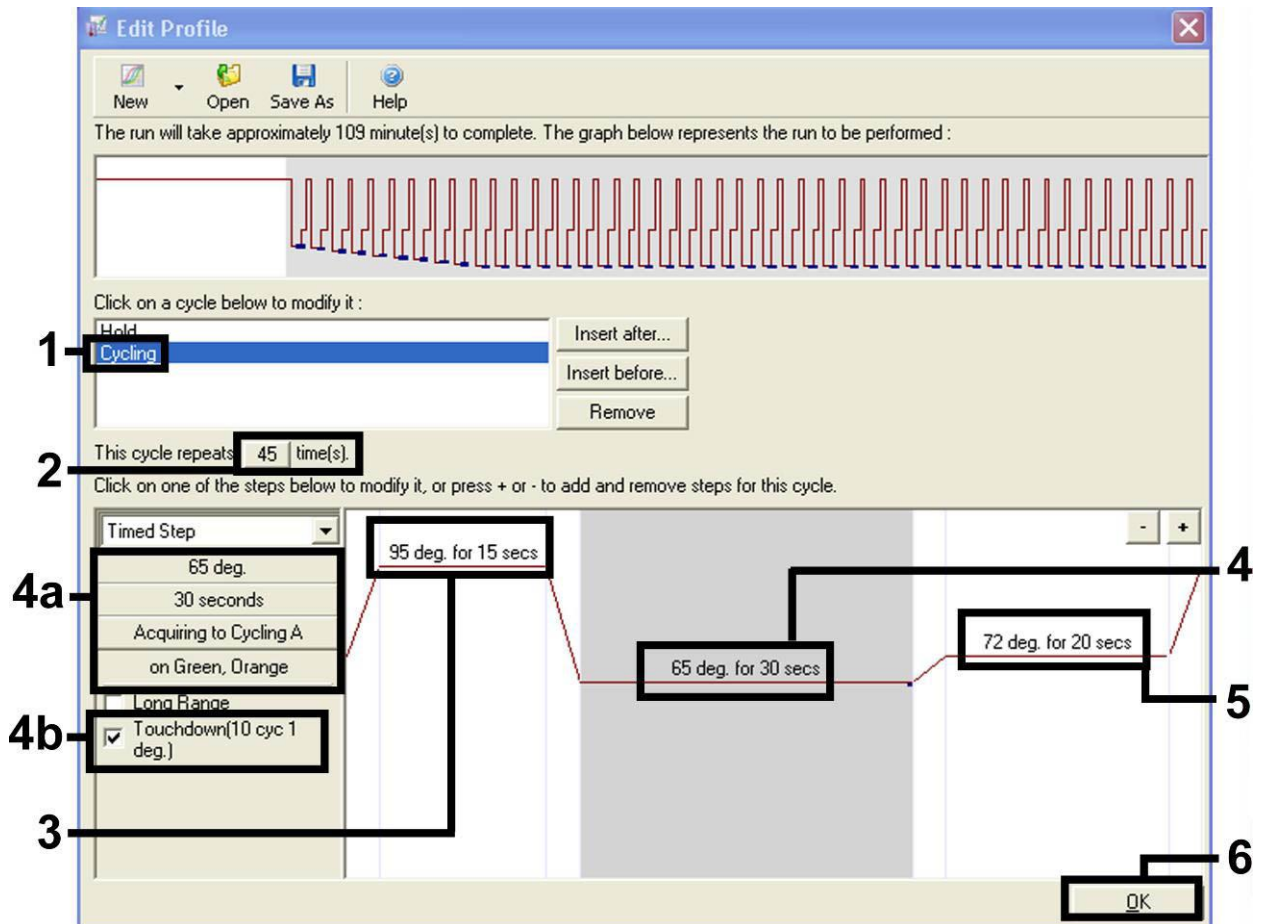
8. Klicka på knappen "Edit Profile" (Redigera profil) i nästa dialogruta "New Run Wizard", (figur 3), och programmera temperaturprofilen enligt bild i figurerna 3-5.



Figur 3. Redigering av profilen.

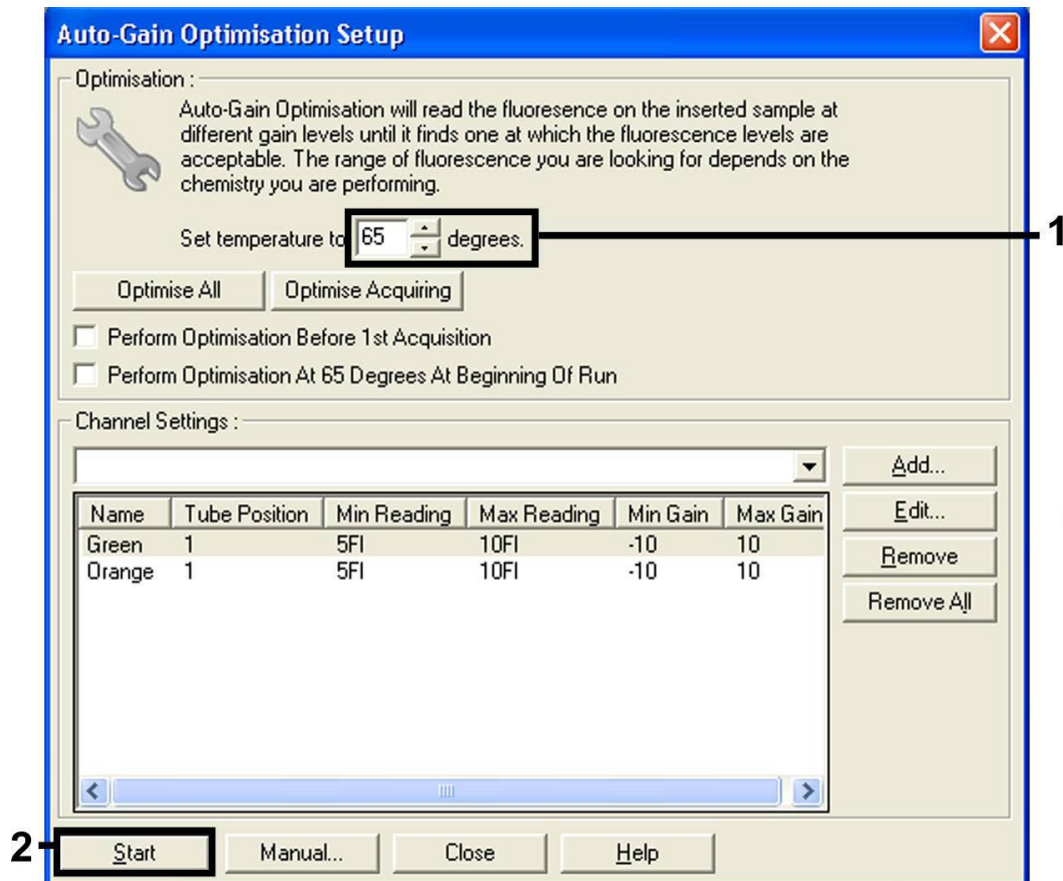


Figur 4. Första aktivering av enzym med varmstart.



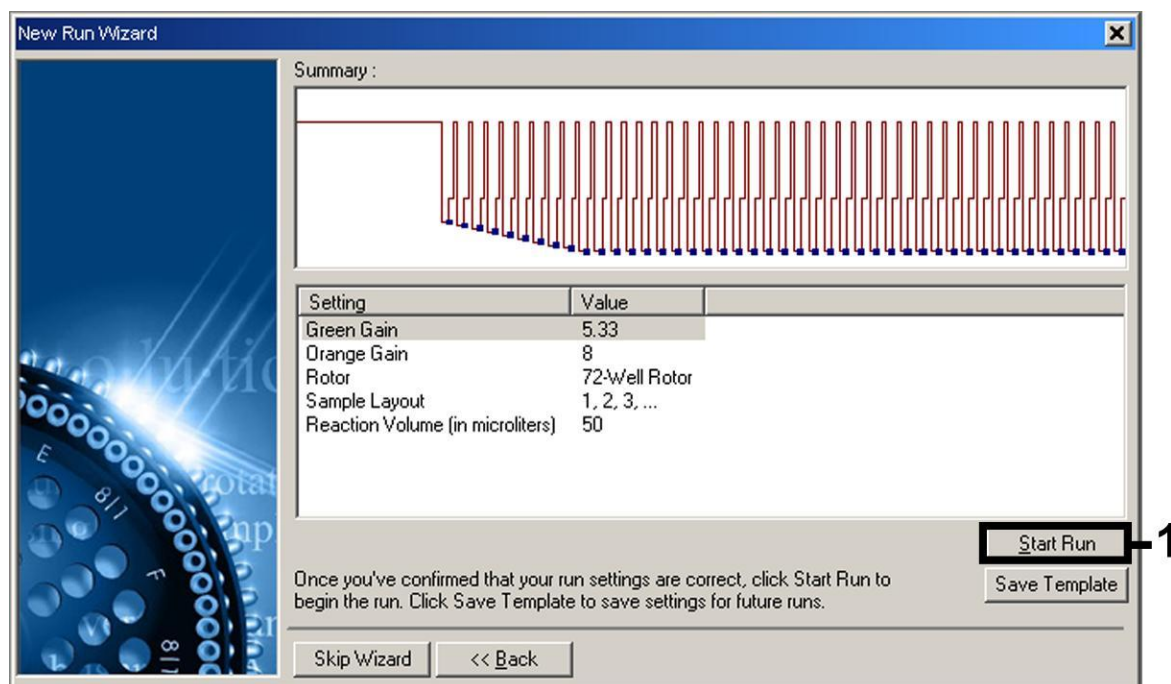
Figur 5. DNA-amplifiering. Kontrollera att du har aktiverat den slutliga funktionen för 10 cykler i hybridiseringssteget.

9. Detektionsintervallet för fluorescenskanalerna måste fastställas enligt fluorescensintensiteterna i PCR-rören. Klicka på "Gain Optimisation" (Optimeringsvinst) i dialogrutan "New Run Wizard", (se figur 3) för att öppna dialogrutan "Auto-Gain Optimisation Setup" (Inställningar av automatisk optimeringsvinst). Ställ in kalibreringstemperaturen på 65 så att den stämmer överens med amplifieringsprogrammets kyltemperatur (figur 6).



Figur 6. Justering av fluorescenskanalsensitiviteten.

10. De förstärkningsvärden som fastställs av kanalkalibreringen sparas automatiskt och anges i det sista menyfönstret i programmeringsproceduren (figur 7). Klicka på "Start Run" (Starta körning).



Figur 7. Start av körningen.

Tolkning av resultat

Kvantifiering

De medföljande kvantifieringsstandarderna (VZV RG QS 1–4) behandlas på samma sätt som redan isolerade prover och används i samma volym (20 μ l). 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).

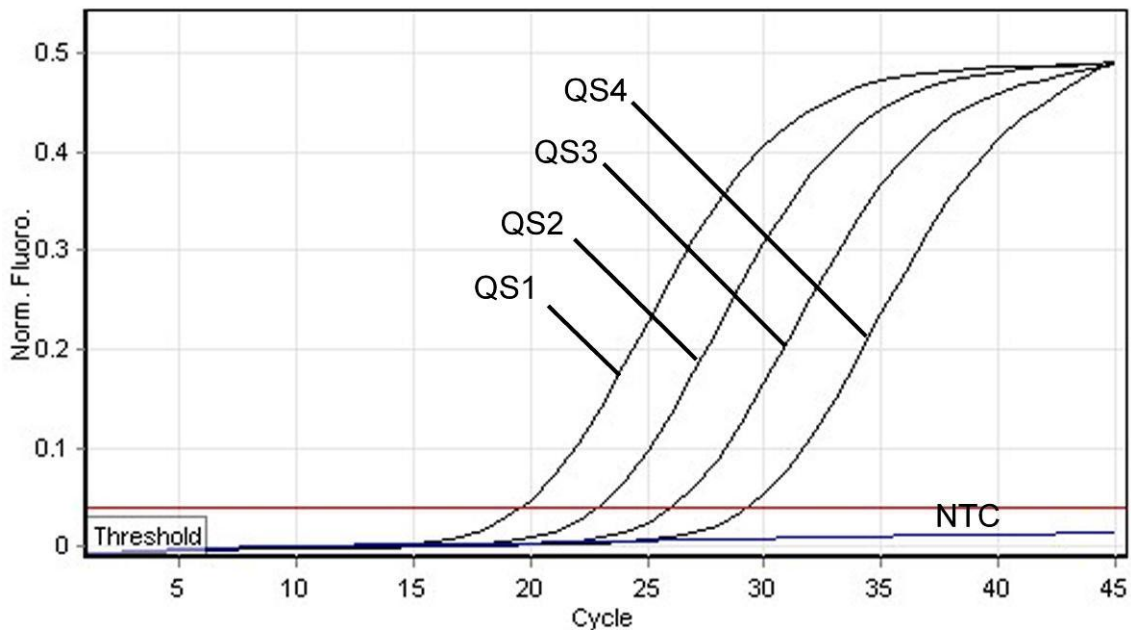
Obs! Kvantifieringsstandarderna definieras som kopior/ μ l. Följande ekvation måste användas för att omvandla de fastställda värdena med hjälp av standardkurvan till kopior/ml provmaterial:

$$\text{Resultat (kopior/ml)} = \frac{\text{Resultat (kopior/\mu l)} \times \text{elueringsvolym (\mu l)}}{\text{Provolym (ml)}}$$

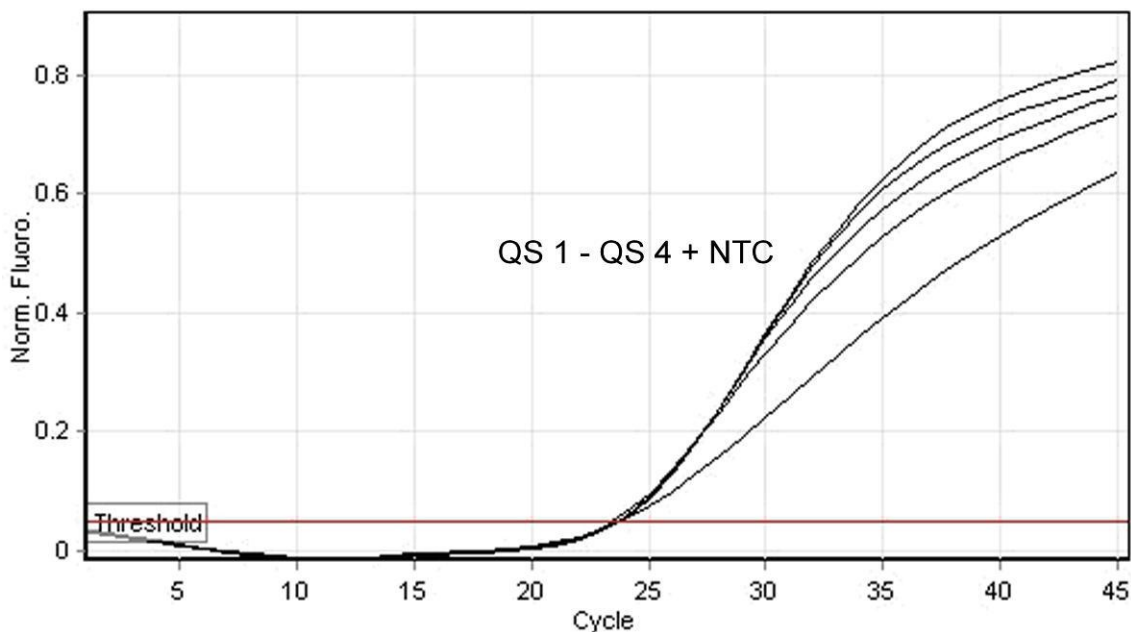
Principiellt ska den inledande provvolymen ifyllas i ekvationen ovan. Tag hänsyn till denna när provvolymen har förändrats före extraheringen av nukleinsyra (till exempel reducering av volymen genom centrifugering eller ökning av volymen genom att tillsätta den volym som krävs för isoleringen).

Resultat

Exempel på positiva och negativa PCR-reaktioner ges i figur 8 och figur 9.



Figur 8. Detektion av kvantifieringsstandarderna (VZV RG QS 1-4) i fluorescenskanalen Cycling Green. NTC: Kontroll utan mall (negativ kontroll).



Figur 9. Detektion av den interna kontrollen (IC) i fluorescenskanalen Cycling Orange med samtidig amplifiering av kvantifieringsstandarderna (VZV RG QS 1-4). NTC: Kontroll utan mall (negativ kontroll).

En signal har upptäckts i fluorescenskanalen "Cycling Green" (grön återvinning).

Analysresultatet är positivt: provet innehåller VZV-DNA.

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).

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

I provet upptäcks inget VZV-DNA. Det kan därför anses som negativt.

I fallet av en negativ VZV-PCR, utesluter den detekterade signalen i den interna kontrollen möjligheten av en inhibition av PCR.

Ingen signal har detekterats i kanalerna Cycling Green respektive Cycling Orange.

Det går inte att komma fram till några resultat.

Information om felkällor och deras lösning kan du hitta i "Felsökningshandbok", sidan 20.

Felsökningshandbok

Denna felsökningshandbok kan vara till hjälp för att lösa eventuella problem som uppstår. För ytterligare information, se även sidan Frequently Asked Questions (Vanliga frågor) på vårt tekniska supportcenter: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Dessutom svarar teamet för QIAGEN:s tekniska service gärna på frågor om informationen och protokollet i denna handbok eller prov- och analysmetoder (för kontaktinformation, se baksidan eller besök www.qiagen.com).

Kommentarer och förslag

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

- | | |
|---|---|
| a) Den valda fluorescenskanalen för PCR-dataanalys stämmer inte överens med protokollet | För dataanalys väljer du fluorescenskanalen Cycling Green för den analytiska PCR för VZV och fluorescenskanalen Cycling Orange för den interna kontrollen av PCR. |
|---|---|

Kommentarer och förslag

- | | |
|---|---|
| b) Felaktig programmering av temperaturprofilen för Rotor-Gene-instrumentet | Jämför temperaturprofilen med protokollet. Se "Protokoll: PCR och dataanalys", sidan 10. |
| c) Felaktig konfiguration av PCR | Kontrollera ditt arbete med användning av pipetteringsschemat och upprepa PCR-analysen vid behov. Se "Protokoll: PCR och dataanalys", sidan 10. |
| d) Förvaringsvillkoren för en eller flera kitkomponenter överensstämde inte med de instruktioner som gavs i "Förvaring och hantering av reagens" (sidan 9). | Kontrollera reagensernas förvaringsvillkor och utgångsdatum (se kitetiketten) och använd ett nytt kit vid behov. |
| e) Utgångsdatum för <i>artus</i> VZV RG PCR-kitet har passerats | Kontrollera reagensernas förvaringsvillkor och utgångsdatum (se kitetiketten) och använd ett nytt kit vid behov. |

Svag eller obefintlig signal i den interna kontrollen för ett negativt CSF-prov som renats med hjälp av EZ1 DSP Virus Kit i fluorescenskanalen Cycling Orange och samtidig frånvaro av signal i kanalen 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. |
| 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 extraheringen kan en frånvarande signal för den interna kontrollen tyda på att DNA gått förlorad under extraheringen. Säkerställ att du använder den rekommenderade isoleringsmetoden (se "DNA-isolering", sidan 10) och noggrant följer tillverkarens anvisningar. |

Kommentarer och förslag

- | | |
|---|--|
| d) Förvaringsvillkoren för en eller flera kitkomponenter överensstämde inte med de instruktioner som gavs i "Förvaring och hantering av reagens" (sidan 9). | Kontrollera reagensernas förvaringsvillkor och utgångsdatum (se kitetiketten) och använd ett nytt kit vid behov. |
| e) Utgångsdatum för <i>artus</i> VZV RG PCR-kitet har passerats | Kontrollera reagensernas förvaringsvillkor och utgångsdatum (se kitetiketten) och använd ett nytt kit vid behov. |

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

- | | |
|---|---|
| a) Kontamination inträffade under förberedelse av PCR | Upprepa PCR med nya reagenser i replikat.
Stäng om möjligt PCR-rören direkt när du har tillsatt det prov som ska testas.
Se till att pipettera den positiva kontrollen sist.
Kontrollera med jämna mellanrum att arbetsytan och instrumenten är dekontaminerade. |
| b) Kontamination inträffade under extraktion | Upprepa extraktionen och PCR-analysen för det prov som ska testas med nya reagenser.
Kontrollera med jämna mellanrum att arbetsytan och instrumenten är dekontaminerade. |

Kvalitetskontroll

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

Begränsningar

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.

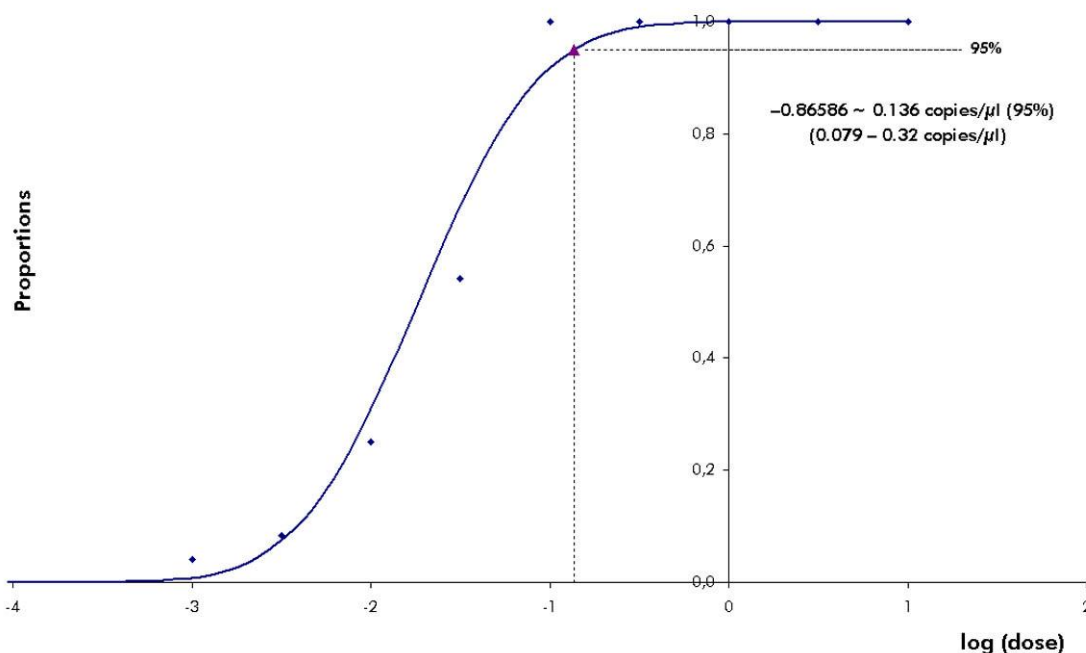
Var noga med att uppmärksamma de utgångsdatum som är angivna på asken och på etiketterna för alla komponenter. Använd inte utgångna komponenter.

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

Analytisk sensitivitet

För att bestämma den analytiska sensitiviteten för *artus* VZV RG PCR-kitet ordnades en standardspädningsserie från 10 till 0,001 kopior/ μ l och analyserades i Rotor-Gene 6000 i kombination med *artus* VZV RG PCR-kitet. 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. Den analytiska detektionsgränsen för *artus* VZV RG PCR-kitet i kombination med Rotor-Gene Q MDx/Q/6000 är 0,136 kopior/ml ($p = 0,05$). Detta innebär att det finns en 95-procentig sannolikhet att 0,136 kopior/ μ l kommer att detekteras.



Figur 10. Probitanalys: VZV (Rotor-Gene 6000). Analytisk sensitivitet för *artus* VZV RG PCR-kitet i Rotor-Gene 6000.

Specificitet

Specificiteten för *artus* VZV RG PCR-kitet garanteras i första hand genom val av primrar och prober samt val av strikta reaktionsförhållanden. Primrarna och proberna kontrollerades beträffande eventuella homologier i alla sekvenser

som publicerats i genbanker genom sekvensjämförande analys. Därmed säkerställs att alla relevanta genotyper kan detekteras.

Dessutom validerades specificiteten med 30 olika VZV-negativa CSF-prover. Dessa alstrade inga signaler med de VZV-specifika primrar och prober som ingår i VZV RG Master.

En potentiell korsreaktivitet för *artus* VZV RG PCR-kitet testades med hjälp av den kontrollgrupp som anges i tabell 4. Ingen av de testade patogenerna har varit reaktiv.

Tabell 4. Testning av kitets specificitet med potentiellt korsreaktiva patogener

Kontrollgrupp	VZV (Cycling Green)	Intern kontroll (Cycling Orange)
Humant herpesvirus 1 (herpes simplex-virus 1)	-	+
Humant herpesvirus 2 (herpes simplex-virus 2)	-	+
Humant herpesvirus 4 (Epstein-Barr-virus)	-	+
Humant herpesvirus 5 (cytomegalovirus)	-	+
Humant herpesvirus 6A	-	+
Humant herpesvirus 6B	-	+
Humant herpesvirus 7	-	+
Humant herpesvirus 8 (Kaposi sarkom-associerat herpesvirus)	-	+
Hepatit A-virus	-	+
Hepatit B-virus	-	+
Hepatit C-virus	-	+
Humant immunbristvirus (HIV)	-	+
Humant T-cell-leukemivirus 1	-	+
Humant T-cell-leukemivirus 2	-	+
Enterovirus	-	+
Parvovirus B19	-	+
West Nile-virus	-	+

Precision

Precisionsuppgifter för *artus* VZV RG PCR-kitet har samlats in med användning av Rotor-Gene-instrument och möjliggör bestämning av analysens totala varians. Den totala variansen består av intraanalysvariabilitet (variabilitet för

flera provresultat med samma koncentration inom ett experiment), interanalysvariabilitet (variabilitet för flera analysresultat som genererats på olika instrument av samma typ av olika operatörer inom ett laboratorium) och interbatchvariabilitet (variabilitet för flera analysresultat med användning av olika batcher). De uppgifter som erhöles användes för att fastställa standardavvikelsen, variansen, variationskoefficienten för den specifika sjukdomsalstraren och den interna kontrollen för PCR.

Precisionsdata för *artus* VZV RG PCR har samlats in med hjälp av kvantifieringsstandarden för den lägsta koncentrationen (QS 4; 10 kopior/ μ l). Testning utfördes med 8 replikat. Precisionsdata beräknades med utgångspunkt från C_T -värdena för amplifieringskurvorna (C_T : tröskelcykel, se tabell 5, sidan 27). Dessutom fastställdes precisionsdata för kvantitativa resultat i kopior/ μ l med användning av motsvarande C_T -värden (se tabell 6, sidan 27). Baserat på dessa resultat är den totala statistiska spridningen för ett givet prov med nämnd koncentration 0,45 % (C_T) eller 8,32 % (koncentration) och 2,81 % (C_T) för detektionen av den interna kontrollen. Dessa värden baseras på slutsumman för alla enskilda värden av de fastställda variabiliteterna.

Robusthet

Med hjälp av verifieringen av robustheten går det att fastställa den totala felfrekvensen för *artus* VZV RG PCR-kitet. 30 VZV-negativa CSF-prover fick en tillsats av 0,4 kopior/ml elueringsvolym av VZV-DNA (en ungefär tre gånger så stor koncentration av den analytiska sensitivitetsgränsen). Efter extraktion med användning av EZ1[®] DSP-viruskitet (se "DNA-isolering", sidan 10) analyserades dessa prover med *artus* VZV RG PCR-kitet. Felfrekvensen var 0 % för alla de 30 proven. Dessutom utvärderades robustheten för den interna kontrollen genom rening och analys av 30 VZV-negativa CSF-prover. Den totala misslyckandefrekvensen var 0 %. Inhibitioner observerades inte. Robustheten för *artus* VZV RG PCR-kitet är således ≥ 99 %.

Reproducerbarhet

Med hjälp av reproducerbarhetsdata är det möjligt att regelbundet utvärdera *artus* VZV RG PCR-kitet och att göra en effektivitetsjämförelse med andra produkter. Dessa uppgifter erhålls vid deltagande i etablerade kunskapsprogram.

Tabell 5. Precisionsdata på grundval av C_T-värdena

	Standardavvikelse	Varians	Variationskoefficient (%)
Intraanalysvariabilitet: VZV QS 4	0,08	0,01	0,26
Intraanalysvariabilitet: Intern kontroll	0,04	0,002	0,17
Interanalysvariabilitet: VZV QS 4	0,15	0,02	0,5
Interanalysvariabilitet: Intern kontroll	0,39	0,15	1,63
Interbatchvariabilitet: VZV QS 4	0,1	0,01	0,34
Interbatchvariabilitet: Intern kontroll	0,66	0,43	2,65
Total varians: VZV QS 4	0,13	0,02	0,45
Total varians: Intern kontroll	0,68	0,47	2,81

Tabell 6. Precisionsuppgifter baserade på kvantitativa resultat (i kopior/μl)

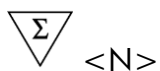
	Standardavvikelse	Varians	Variationskoefficient (%)
Intraanalysvariabilitet: VZV QS 4	0,5	0,25	5,46
Interanalysvariabilitet: VZV QS 4	0,85	0,72	8,72
Interbatchvariabilitet: VZVQS 4	0,75	0,56	7,67
Total varians: VZV QS 4	0,81	0,66	8,32

Litteraturhänvisningar

QIAGEN upprätthåller en stor och uppdaterad databas online med vetenskapliga publiceringar där QIAGEN-produkter används. Omfattande sökalternativ gör att du kan hitta de artiklar du behöver, antingen genom en enkel nyckelordssökning eller genom att specificera tillämpning, forskningsområde, titel osv.

Om du vill ha en fullständig referenslista kan du besöka QIAGEN:s referensdatabas online på www.qiagen.com/RefDB/search.asp eller kontakta QIAGEN:s tekniska serviceavdelning eller din lokala distributör.

Symboler



Innehåller reagenser som räcker för <N> tester



Utgångsdatum



Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik



Katalognummer



Lotnummer



Materialnummer



Komponenter



Innehåller



Antal



GTIN-artikelnummer (Global Trade Item Number)



Temperaturbegränsning



Tillverkare



Se bruksanvisningen

Kontaktinformation

För teknisk hjälp och ytterligare information, besök vårt center för teknisk support på www.qiagen.com/Support eller ring en av QIAGEN:s avdelningar för teknisk support eller lokala distributörer (se baksidan eller besök www.qiagen.com).

Beställningsinformation

Produkt	Innehåll	Kat.nr
<i>artus</i> VZV RG PCR Kit (24)	För 24 reaktioner: Master, 4 kvantifieringsstandarder, intern kontroll, magnesiumlösning, vatten (PCR-kvalitet)	4502263
<i>artus</i> VZV RG PCR Kit (96)	För 96 reaktioner: Master, 4 kvantifieringsstandarder, intern kontroll, magnesiumlösning, vatten (PCR-kvalitet)	4502265
EASYartus VZV RG PCR Kit – för fullständigt CE-IVD-överensstämmande integrerad automatisk provrening och patogendetektion		
<i>artus</i> VZV RG PCR Kit 1	För 48 virusnukleinsyrapreparat och 24 analyser: 1 x EZ1 DSP Virus Kit, 1 x <i>artus</i> VZV RG PCR Kit (24)	EA10223
EASYartus VZV RG PCR Kit 2	För 48 virusnukleinsyrapreparat och 48 analyser: 1 x EZ1 DSP Virus Kit, 2 x <i>artus</i> VZV RG PCR Kit (24)	EA10224
EZ1 DSP Virus Kit – för automatisk, simultan rening av virus-DNA och -RNA från 1–14 prover av human plasma, serum eller CSF		
EZ1 DSP Virus Kit (48)	För 48 virusnukleinsyrapreparat: Förfyllda reagenskassetter, engångspetshållare, engångsfilterspetsar, provrör, elueringsrör, buffertar, bärar-RNA	62724
Rotor-Gene Q MDx och tillbehör		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	PCR-cykler i realtid med 5 kanaler (grön, gul, orange, röd och karmosinröd), laptopdator, program, tillbehör: inkluderar 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning ingår inte	9002022

Produkt	Innehåll	Kat.nr
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	PCR-cykler i realtid med 5 kanaler (grön, gul, orange, röd och karmosinröd), laptopdator, program, tillbehör: inkluderar 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Plattform	PCR-cykler i realtid och analysator med högupplösningssmältning och 5 kanaler (grön, gul, orange, röd och karmosinröd) plus HRM-kanal, laptopdator, program, tillbehör: inkluderar 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning ingår inte	9002032
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	PCR-cykler i realtid och analysator med högupplösningssmältning och 5 kanaler (grön, gul, orange, röd och karmosinröd) plus HRM-kanal, laptopdator, program, tillbehör: inkluderar 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Plattform	PCR-cykler i realtid 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	PCR-cykler i realtid 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	9002043
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Aluminiumblock för manuell reaktionsinställning med en enkanalspipett i 72 x 0,1 ml rör	9018901

Produkt	Innehåll	Kat.nr
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 för 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: se respektive QIAGEN-kithandbok eller användarhandbok. QIAGEN-kithandböcker och användarhandböcker 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®, *artus*®, EASY*artus*®, EZ1®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

Begränsat licensavtal

Genom användningen av denna produkt samtycker inköparen eller användaren av *artus* VZV RG PCR-kitet till följande villkor:

1. *artus* VZV RG PCR-kitet får endast användas i enlighet med handboken till *artus* VZV RG PCR-kitet och med de komponenter som ingår i kitet. QIAGEN beviljar inget tillstånd enligt något av dess immaterialrätt att använda eller inkorporera de ingående komponenterna i detta kit med någon komponent som inte ingår i detta kit förutom enligt beskrivning i handboken till *artus* VZV RG PCR-kitet och ytterligare protokoll som finns tillgängliga på www.qiagen.com.
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 frånsäger 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 eventuellt försök att upprätthålla detta begränsade licensavtal eller någon av sina immateriella rättigheter avseende kitet och/eller någon av dess komponenter.

För uppdaterade licensvillkor, se www.qiagen.com.

© 2009-2014 QIAGEN, med ensamrätt.

www.qiagen.com

Australia ■ Orders 1-800-243-800 ■ Fax 03-9840-9888 ■ Technical 1-800-243-066

Austria ■ Orders 0800-28-10-10 ■ Fax 0800-28-10-19 ■ Technical 0800-28-10-11

Belgium ■ Orders 0800-79612 ■ Fax 0800-79611 ■ Technical 0800-79556

Brazil ■ Orders 0800-557779 ■ Fax 55-11-5079-4001 ■ Technical 0800-557779

Canada ■ Orders 800-572-9613 ■ Fax 800-713-5951 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

China ■ Orders 86-21-3865-3865 ■ Fax 86-21-3865-3965 ■ Technical 800-988-0325

Denmark ■ Orders 80-885945 ■ Fax 80-885944 ■ Technical 80-885942

Finland ■ Orders 0800-914416 ■ Fax 0800-914415 ■ Technical 0800-914413

France ■ Orders 01-60-920-926 ■ Fax 01-60-920-925 ■ Technical 01-60-920-930 ■ Offers 01-60-920-928

Germany ■ Orders 02103-29-12000 ■ Fax 02103-29-22000 ■ Technical 02103-29-12400

Hong Kong ■ Orders 800 933 965 ■ Fax 800 930 439 ■ Technical 800 930 425

Ireland ■ Orders 1800 555 049 ■ Fax 1800 555 048 ■ Technical 1800 555 061

Italy ■ Orders 800-789-544 ■ Fax 02-334304-826 ■ Technical 800-787980

Japan ■ Telephone 03-6890-7300 ■ Fax 03-5547-0818 ■ Technical 03-6890-7300

Korea (South) ■ Orders 080-000-7146 ■ Fax 02-2626-5703 ■ Technical 080-000-7145

Luxembourg ■ Orders 8002-2076 ■ Fax 8002-2073 ■ Technical 8002-2067

Mexico ■ Orders 01-800-7742-639 ■ Fax 01-800-1122-330 ■ Technical 01-800-7742-436

The Netherlands ■ Orders 0800-0229592 ■ Fax 0800-0229593 ■ Technical 0800-0229602

Norway ■ Orders 800-18859 ■ Fax 800-18817 ■ Technical 800-18712

Singapore ■ Orders 1800-742-4362 ■ Fax 65-6854-8184 ■ Technical 1800-742-4368

Spain ■ Orders 91-630-7050 ■ Fax 91-630-5145 ■ Technical 91-630-7050

Sweden ■ Orders 020-790282 ■ Fax 020-790582 ■ Technical 020-798328

Switzerland ■ Orders 055-254-22-11 ■ Fax 055-254-22-13 ■ Technical 055-254-22-12

UK ■ Orders 01293-422-911 ■ Fax 01293-422-922 ■ Technical 01293-422-999

USA ■ Orders 800-426-8157 ■ Fax 800-718-2056 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)
