



artus[®] VZV RG PCR Kit-håndbok

 24 (katalognr. 4502263)
 96 (katalognr. 4502265)

Versjon 1

IVD

Kvantitativ in vitro diagnostikk

Til bruk med Rotor-Gene[®] Q-instrumenter

CE

REF

4502263, 4502265

HB

1056824NO



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,

TYSKLAND

R4

MAT

1056824NO



QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN er den ledende leverandøren av nyskapende prøve- og assayteknologier som gjør det mulig å isolere og detektere innholdet i biologiske prøver. Våre avanserte produkter og tjenester av høy kvalitet sikrer suksess fra prøve til resultat.

QIAGEN setter standarder i:

- Rensing av DNA, RNA og proteiner
- Nukleinsyre- og proteinassayer
- mikroRNA forskning og RNAi
- Automatisering av prøve- og assayteknologi

Vår visjon er å gi deg muligheten til å oppnå fremragende suksess og gjennombrudd. For mer informasjon, besøk www.qiagen.com.

Innholdsfortegnelse

Tiltenkt bruk	4
Sammendrag og forklaring	4
Patogen informasjon	4
Prinsipp	4
Materialer som medfølger	5
Kitets innhold	5
Materialer som er nødvendige, men ikke medfølger	6
Advarsler og forsiktighetsregler	6
Allmenne forholdsregler	7
Oppbevaring og håndtering av reagenser	7
Prosedyre	7
DNA-isolering	7
Internkontroll	8
Protokoll	
■ PCR og dataanalyse	9
Tolking av resultater	15
Kvantitering	15
Resultater	16
Feilsøkingsveiledning	18
Kvalitetskontroll	20
Produktets bruksbegrensninger	20
Ytelsesegenskaper	20
Analytisk sensibilitet	20
Spesifisitet	21
Nøyaktighet	22
Referanser	26
Symboler	26
Kontaktinformasjon	27
Bestillingsinformasjon	28

Tiltenkt bruk

artus VZV RG PCR Kit er en in vitro nukleinsyre-amplifikasjonstest for kvantitering av VZV-DNA i human cerebral spinalvæske (CSF). Dette diagnostiske test-kitet benytter polymerase kjedereaksjonen (PCR) og er konfigurert til bruk med Rotor-Gene Q-instrumenter.

Merk: *artus* VZV RG PCR Kit skal ikke brukes med Rotor-Gene Q 2plex-instrumenter.

Sammendrag og forklaring

artus VZV RG PCR Kit er et bruksklart system for deteksjon av VZV-DNA ved hjelp av polymerase kjedereaksjon (PCR) på Rotor-Gene Q-instrumenter. VZV RG Master inneholder reagenser og enzymer for den spesifikke amplifikasjonen av en 82 bp-region av VZV-genomet, og til direkte deteksjon av det spesifikke amplikonet i fluorescenskanal Cycling Green av Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q eller Rotor-Gene 6000 (kilde 470 nm, detektor 510 nm).

Dessuten inneholder *artus* VZV RG PCR Kit et annet heterologt amplifikasjonssystem for å identifisere mulig PCR-inhibisjon. Dette detekteres som en internkontroll (IC) i fluorescenskanal Cycling Orange på Rotor-Gene Q eller Rotor-Gene 6000 (kilde 585 nm, detektor 610 nm).

Deteksjonsbegrensningen av den analytiske VZV PCR-en (se "**Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**", side **Fehler! Textmarke nicht definiert.**) blir ikke redusert. Det vedlegges eksterne positive kontroller (VZV RG QS 1–4) som brukes til å fastslå mengden av viral DNA. For ytterligere informasjon, se "**Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**", side **Fehler! Textmarke nicht definiert.**

Patogen informasjon

Varicella-zoster-viruset (VZV) er et DNA-virus som overføres fra person til person via dråpeinfeksjon eller ved direkte kontakt. Infeksjon med VZV forårsaker lett feber og påvirker den generelle helsen i moderat grad. Polymorf eksem med hevelser, blemmer og skorper sammen med sterk kløe (brennkopper) særpreger sykdommen. Alvorlig VZV-infeksjoner observeres hyppig hos pasienter med immunosuppressiv tilstand og kan føre til farlige komplikasjoner slik som pneumoni og encefalitt. Etter akutt infeksjon vedvarer patogenet i sensoriske spinalganglier og gangliene i kranialnervene. Hvis immuniteten svekkes, kan det oppstå eksaserbasjon (f.eks. helvetesild).


Prinsipp

Patogen deteksjon ved hjelp av polymerase kjedereaksjon (PCR) er basert på amplifikasjon av spesifikke regioner av det patogene genomet. Det amplifiserte

produktet detekteres via fluorescensfarge i sanntid-PCR. Disse er som regel koblet til oligonukleotid-sonder som binder spesifikt til det amplifiserte produktet. Overvåking av fluorescensintensiteten under PCR-kjøringen (dvs. i sanntid) gjør det mulig å detektere og kvantitere de akkumulerte produktene uten å måtte åpne reaksjonsrørene igjen etter PCR-kjøringen.*

Materialer som medfølger

Kitets innhold

artus VZV RG PCR Kit			(24)	(96)
Katalognr.			4502263	4502265
Antall reaksjoner			24	96
Blå	VZV RG Master		2 x 12 reaksjoner	8 x 12 reaksjoner
Gul	VZV RG Mg-Sol [†]	Mg-Sol	600 µl	600 µl
Rød	VZV RG QS 1 [‡] (1 x 10 ⁴ kopier/µl)	QS	200 µl	200 µl
Rød	VZV RG QS 2 [‡] (1 x 10 ³ kopier/µl)	QS	200 µl	200 µl
Rød	VZV RG QS 3 [‡] (1 x 10 ² kopier/µl)	QS	200 µl	200 µl
Rød	VZV RG QS 4 [‡] (1 x 10 ¹ kopier/µl)	QS	200 µl	200 µl
Grønn	VZV RG IC [§]	IC	1000 µl	2 x 1000 µl
Hvit	Water (PCR-Grade)		1000 µl	1000 µl
	Håndbok		1	1

[†] Magnesiumløsning.

[‡] Kvantiteringsstandard.

[§] Internkontroll.

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

Materialer som er nødvendige, men ikke medfølger

Når det arbeides med kjemikalier, skal man alltid ha på seg egnet laboratoriefrakk, engangshansker og beskyttelsesbriller.

For mer informasjon, vennligst les relevante material safety data sheets (sikkerhetsdatablad, SDS), tilgjengelig fra produktets leverandør.

Reagenser

- DNA-isoleringskit (se "DNA-isolering", side 7)

Forbruksvarer

- Sterile pipettespisser med filtre
- Strip Tubes and Caps, 0,1 ml, til bruk med 72-brønns rotor (kat.nr. 981103 eller 981106)
- Alternativt: PCR Tubes, 0,2 ml, til bruk med 36-brønns rotor (kat.nr. 981005 eller 981008)

Utstyr

- Pipetter (justerbare)*
- Virvelblander*
- Benkettopp-sentrifuge* med rotor for 2 ml reaksjonsrør
- Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q eller Rotor-Gene-instrument*[†] med fluorescenskanaler for Cycling Green og Cycling Orange
- Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q software-versjon 1.7.94 eller høyere (Rotor-Gene 6000 software-versjon 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94)
- Kjøleblokk (Loading Block 72 x 0,1 ml Tubes, kat.nr. 9018901, eller Loading Block 96 x 0,2 ml Tubes, kat.nr. 9018905)

Advarsler og forsiktighetsregler

For bruk til in vitro-diagnostikk

Når det arbeides med kjemikalier, skal man alltid ha på seg egnet laboratoriefrakk, engangshansker og beskyttelsesbriller. For mer informasjon se relevante safety data sheets (materialesikkerhetsdatablad, SDS). Databladene er tilgjengelige online i praktisk og kompakt PDF format på www.qiagen.com/safety hvor du kan finne, se og skrive ut SDS-databladet for hvert QIAGEN kit og kit-komponent.

Kast prøve- og assayavfall i henhold til dine lokale sikkerhetsforskrifter.

* Sørg for at instrumentene er undersøkt og kalibrert i henhold til produsentens anbefalinger.

† *artus* VZV RG PCR Kit skal ikke brukes med Rotor-Gene Q 2plex-instrumenter.

Allmenne forholdsregler

Brukeren skal alltid være oppmerksom på følgende:

- Bruk sterile pipettespisser med filtre.
- Oppbevar og ekstraher positive materialer (prøver, positive kontroller og amplikoner) atskilt fra alle andre reagenser og tilsett dem i reaksjonsblandingen i et separat anlegg.
- Alle komponentene må være fullstendig tinet ved romtemperatur (15–25 °C) før assayet startes.
- Etter tining bland komponentene (ved gjentatt pipettering opp og ned eller ved pulserende virvelblanding) og sentrifuger en kort stund.
- Arbeid raskt og behold komponentene på is eller i kjøleblokken (72/96-brønns lasteblokk).

Oppbevaring og håndtering av reagenser

Komponentene i *artus* VZV RG PCR Kit skal oppbevares ved -15 °C til -30 °C og er stabile til utløpsdatoen angitt på etiketten. Gjentatt tining og frysing (>2 x) skal unngås da dette kan redusere assayets sensibilitet. Hvis reagensene kun skal brukes periodisk, skal de fryses i alikvoter. Oppbevaring ved 2–8 °C skal ikke overskride en 5-timers periode.

Prosedyre

DNA-isolering

EZ1 DSP Virus Kit (QIAGEN, kat.nr. 62724)* er validert for viral nukleinsyrerensning fra humant CSF, til bruk med *artus* VZV RG PCR Kit. Utfør nukleinsyrerensning i henhold til anvisningene i *EZ1 DSP Virus Kit-håndboken*, med en innledende prøvestørrelse på 200 µl.

Merk: *artus* VZV RG PCR Kit skal ikke brukes med fenol-baserte isoleringsmetoder.

Merk: Bruk av bærer-RNA er av avgjørende betydning for ekstraherings-effektivitet og følgelig for DNA/RNA-utbyttet. Tilsett egnet mengde bærer-RNA til hver ekstrahering ifølge anvisningene i *EZ1 DSP Virus Kit-håndboken*.

Merk: Den interne kontrollen i *artus* VZV RG PCR Kit kan brukes umiddelbart i isoleringsprosedyren (se "Internkontroll" nedenfor).

Internkontroll

En internkontroll (VZV RG IC) følger med. Dette lar brukeren kontrollere både DNA-isoleringsprosedyren samt undersøke mulig PCR-inhibisjon. For denne anvendelsen, tilsett den interne kontrollen i isoleringen i et forhold på 0,1 μ l pr. 1 μ l elusjonsvolum. For eksempel, ved bruk av EZ1 DSP Virus Kit, hvis de virale nukleinsyrene elueres i 60 μ l elueringsbuffer (AVE), skal 6 μ l av den interne kontrollen tilsettes i begynnelsen.

Merk: Den interne kontrollen og bærer-RNA (se "DNA-isolering", side 7) skal kun tilsettes blandingen av lysisbuffer og prøvematerialet eller direkte i lysisbufferen.

Den interne kontrollen må ikke tilsettes prøvematerialet direkte. Hvis den tilsettes lysisbufferen vær oppmerksom på at blandingen av den interne kontrollen og lysisbuffer-bærer-RNA må prepareres friskt og brukes omgående (oppbevaring av blandingen ved romtemperatur eller i kjøleskap i bare noen få timer kan svekke den interne kontrollen og redusere ekstraheringens effektivitet).

Merk: Ikke tilsett den interne kontrollen og bærer-RNA direkte i prøvematerialet.

Den interne kontrollen kan alternativt utelukkende brukes til å kontrollere tegn på mulig PCR-inhibisjon. For denne anvendelsen tilsett den interne kontrollen direkte i blandingen av VZV RG Master og VZV RG Mg-Sol, som beskrevet i trinn 2b av protokollen (side 10).

* EZ1 DSP Virus Kit er også tilgjengelig som CE-IVD-merkede EASYartus® VZV RG PCR Kits, kombinert med artus VZV RG PCR Kit (se side 28 for bestillingsinformasjon).

Protokoll: PCR og dataanalyse

Viktige punkter før start

- Ta deg tid til å bli kjent med Rotor-Gene Q-instrumentet før du starter protokollen. Se instrument-brukerhåndboken.
- Sørg for at minst en kvantiteringsstandard samt en negativ kontroll (vann, PCR-grad) inkluderes pr. PCR-kjøring. For å generere en standardkurve brukes alle 4 vedlagte kvantiteringsstandarder (VZV RG QS 1–4) for hver PCR-kjøring.

Ting som må utføres før start

- Sørg for at kjøleblokken (tilbehør til Rotor-Gene Q-instrument) er forhåndskjølet til 2–8 °C.
- Hver gang før bruk må alle reagensene være helt tinet, blandet (ved gjentatt pipettering opp og ned eller ved rask virvelblanding) og sentrifugert en kort stund.

Prosedyre

1. Legg ønsket antall PCR-rør i adapterne på kjøleblokken.
2. Hvis du benytter den interne kontrollen til å kontrollere DNA-isoleringsprosedyren og til å etterse for mulig PCR-inhibisjon, følg trinn 2a. Hvis du bruker den interne kontrollen utelukkende for å kontrollere PCR-inhibisjon, følg trinn 2b.
- 2a. Den interne kontrollen er allerede tilsatt i isoleringen (se "Internkontroll", side 7). I dette tilfellet prepareres en hovedblanding i henhold til tabell 1.

Typisk reaksjonsblanding inneholder alle komponentene påkrevd for PCR unntatt prøven.

Tabell 1. Preparering av hovedblanding (internkontroll brukt til å kontrollere DNA-isolering og for å etterse PCR-inhibisjon)

Antall prøver	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
Totalvolum	30 µl	360 µl

- 2b. Den interne kontrollen må tilsettes direkte i blandingen av VZV RG Master og VZV RG Mg-Sol. I dette tilfellet prepareres en hovedblanding i henhold til tabell 2.**

Typisk reaksjonsblanding inneholder alle komponentene påkrevd for PCR unntatt prøven.

Tabell 2. Preparering av hovedblanding (internkontroll brukt utelukkende for å etterse PCR-inhibisjon)

Antall prøver	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
Totalvolum	32 µl*	384 µl*

* Volumøkningen forårsaket ved tilsetning av den interne kontrollen ignoreres når PCR-assayet prepareres. Deteksjonssystemets sensibilitet er ikke svekket.

- 3. Pipetter 30 µl av hovedblandingen i hvert PCR-rør. Tilsett deretter 20 µl av den eluterte DNA-prøven (se tabell 3). I tilsvarende grad må 20 µl av minst en av kvantiteringsstandardene (VZV RG QS 1–4) brukes som positiv kontroll og 20 µl av vann (vann, PCR-grad) som negativ kontroll.**

Tabell 3. Preparering av PCR-assay

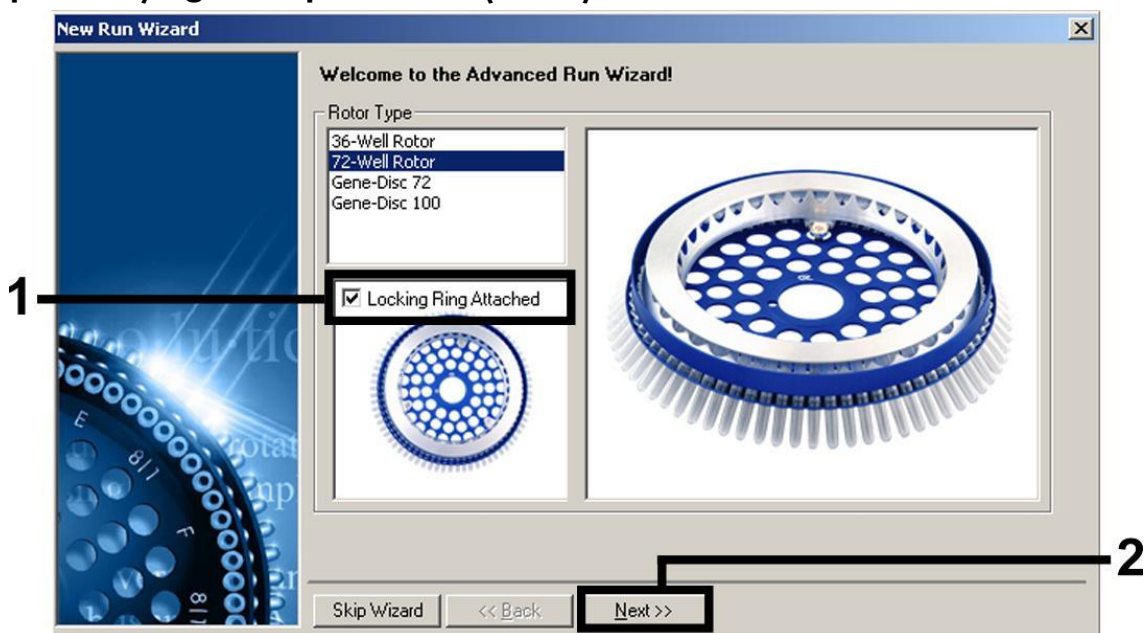
Antall prøver	1	12
Hovedblanding	30 µl	30 µl hver
Prøve	20 µl	20 µl hver
Totalvolum	50 µl	50 µl hver

- 4. Lukk PCR-rørene. Sørg for at låseringen (tilbehør til Rotor-Gene-instrumentet) plasseres på toppen av rotoren for å hindre utilsiktet åpning av rørene under kjøringen.**
- 5. For deteksjon av VZV DNA, opprett en temperaturprofil i henhold til følgende trinn.**

Innstilling av generelle assay-parametrer	Figur 1, 2, 3
Innledende aktivering av varmstart-enzymet	Figur 4
Amplifikasjon av DNA	Figur 5
Justering av fluorescenskanalens sensibilitet	Figur 6
Starte kjøringen	Figur 7

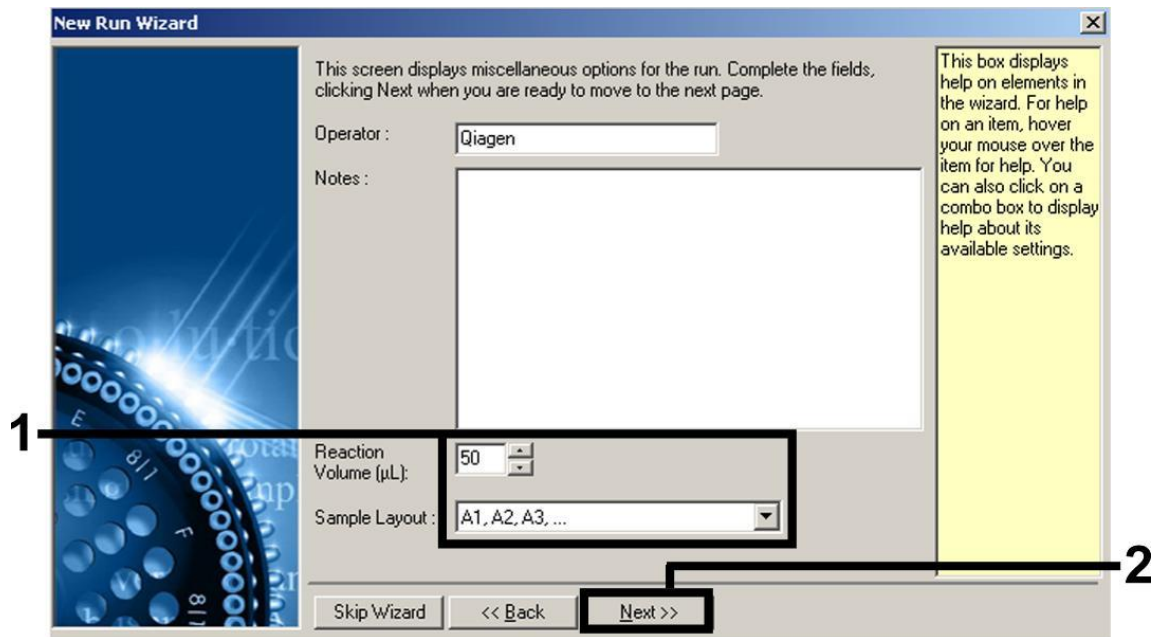
Alle spesifikasjoner henviser til Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q software versjon 1.7.94 og Rotor-Gene 6000 software versjoner 1.7.65, 1.7.87 og 1.7.94. Vennligst finn ytterligere informasjon om programmering av Rotor-Gene-instrumenter i brukerhåndboken. Illustrasjonene av disse innstillingene er fremhevd i svarte rammer. Illustrasjoner for Rotor-Gene Q-instrumenter inkluderes.

6. Åpne først dialogboksen "New Run Wizard" (ny kjøring-veiviser) (Figur 1). Kryss av boksen "Locking Ring Attached" (låsering påfestet) og klikk på "Next" (neste).



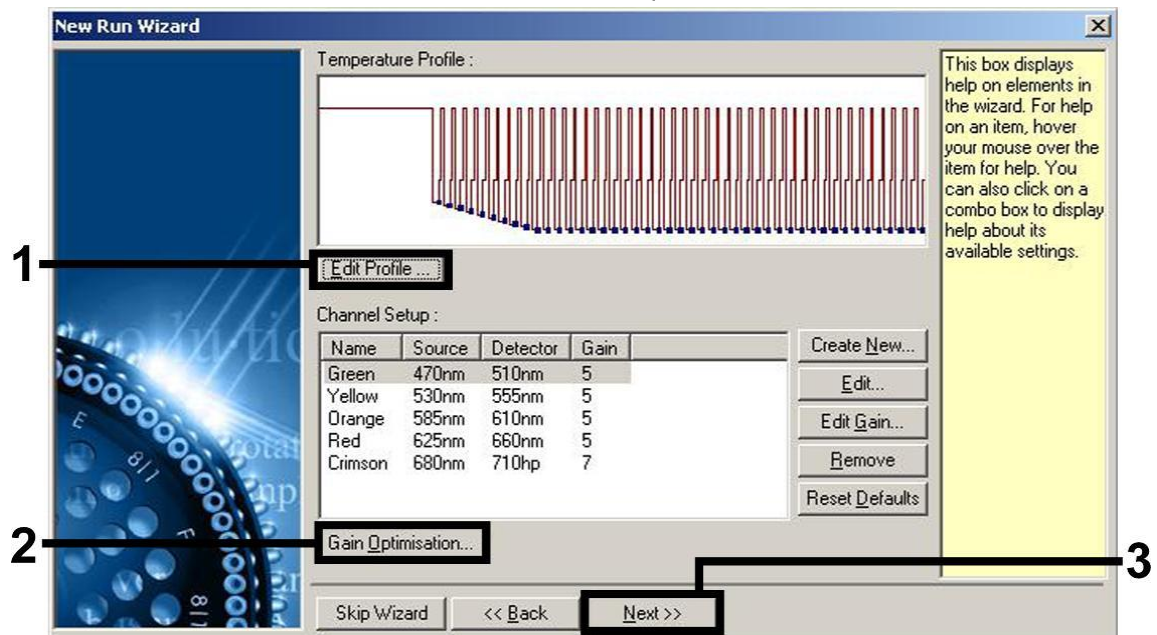
Figur 1. "New Run Wizard" (ny kjøring-veiviser)-dialogboks.

7. Marker 50 for PCR-reaksjonsvolumet og klikk på "Next" (neste) (Figur 2).

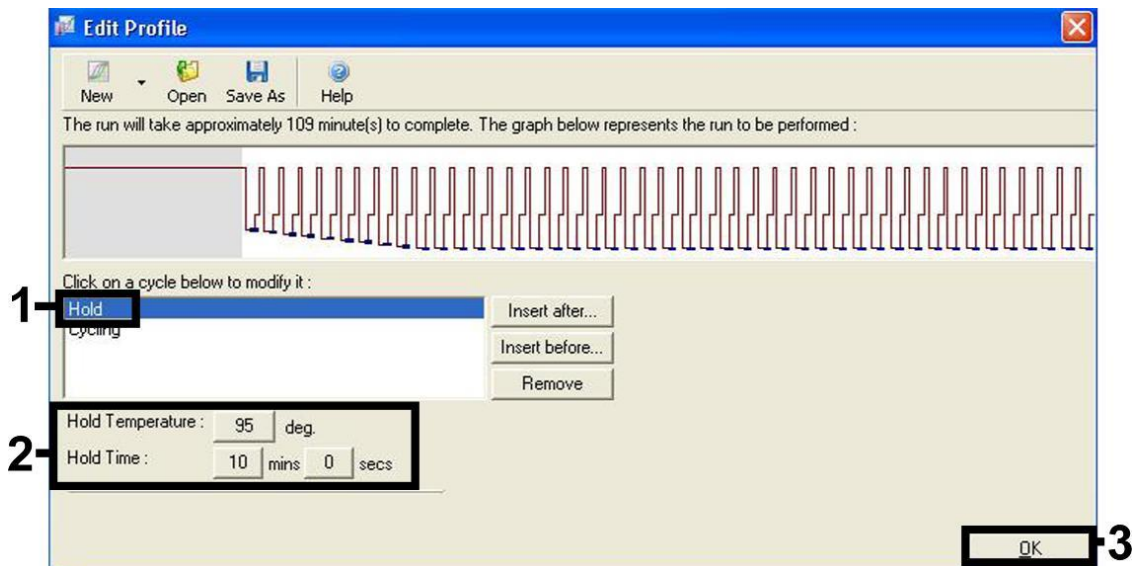


Figur 2. Innstilling av generelle assay-parametrer.

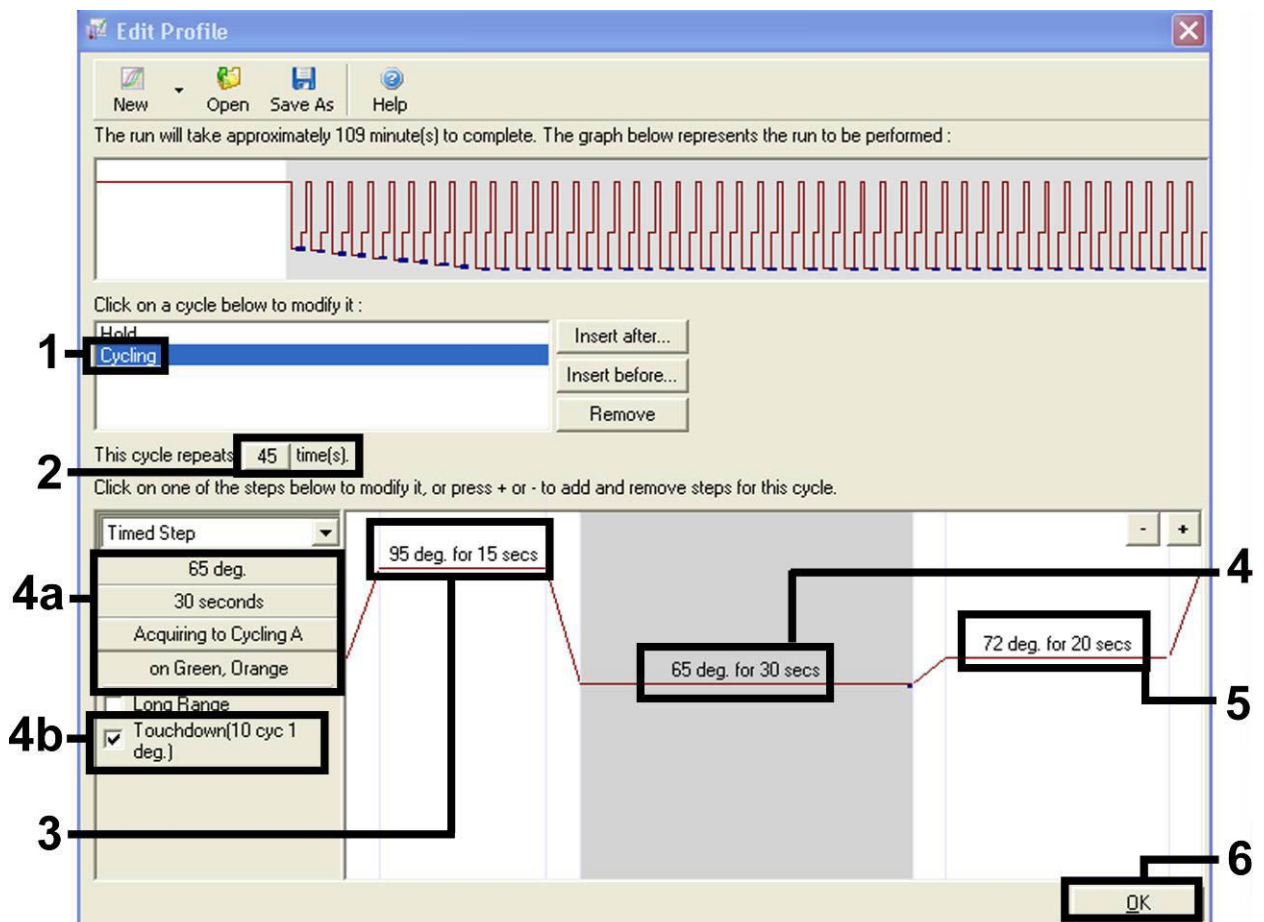
8. Klikk på "Edit Profile" (rediger profil)-knappen i neste "New Run Wizard" (ny kjøring-veiviser)-dialogboks (figur 3), og programmer temperaturprofilen som vist i figur 3–5).



Figur 3. Redigering av profilen.



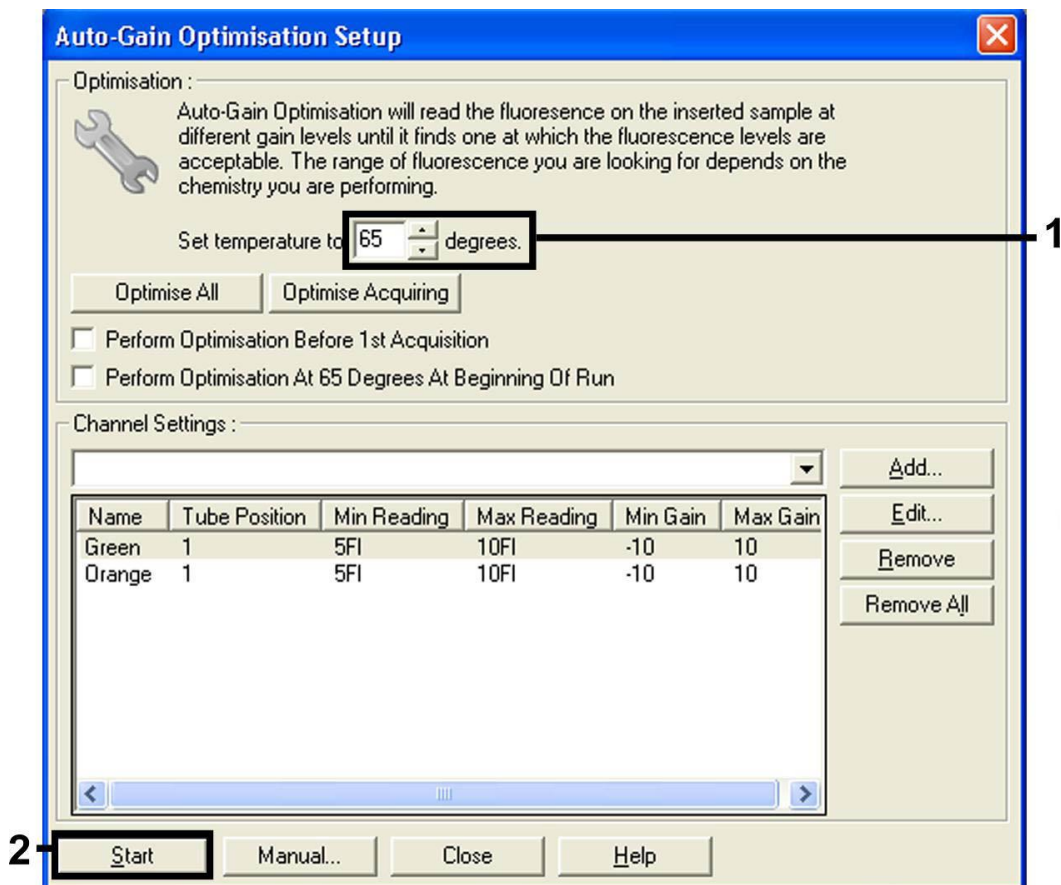
Figur 4. Initiell aktivering av varmstart-enzymet.



Figur 5. Amplifikasjon av DNA. Pass på å aktivere touchdown-funksjonen for 10 sykluser i annealing-trinnet.

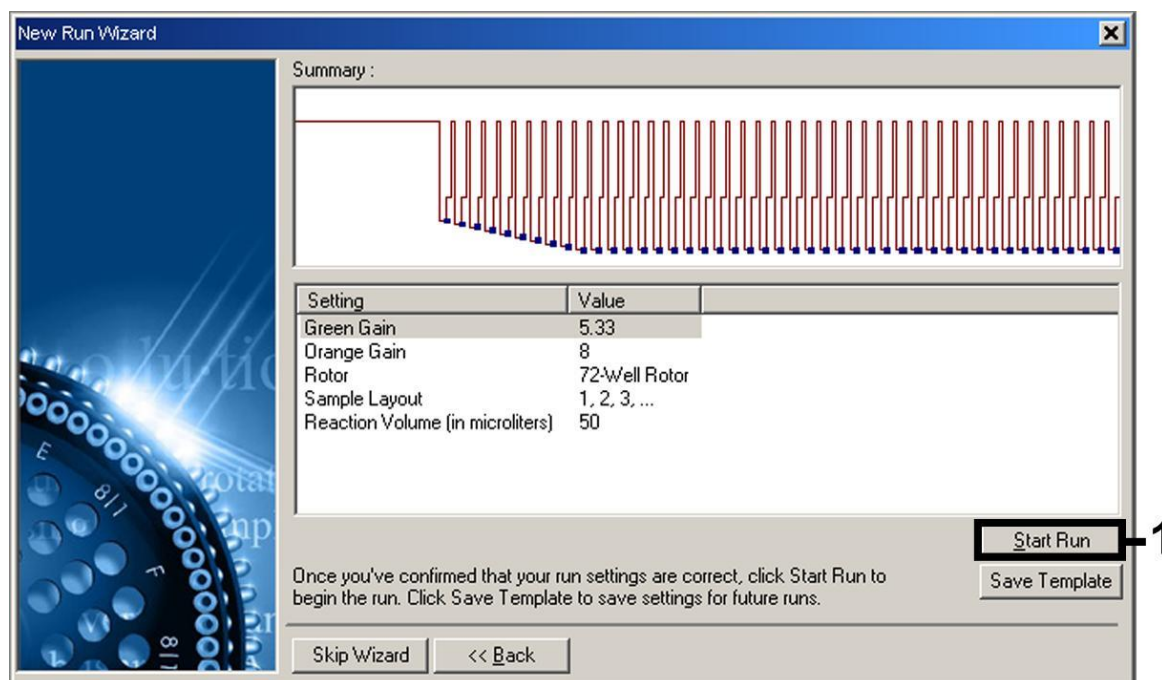
9. Deteksjons-verdiområdet i fluorescenskanalene må fastslås i henhold til fluorescensintensiteten i PCR-rørene. Klikk på "Gain Optimisation" (forsterkning-optimalisering) i "New Run Wizard" (ny

kjøring-veiviser)-dialogboksen (se Figur 3) for å åpne "Auto-Gain Optimisation Setup" (auto-forsterkning-optimaliseringsoppsett)-dialogboks. Sett kalibreringstemperaturen til 65 for å tilpasse annealing-temperaturen i amplifikasjonsprogrammet (figur 6).



Figur 6. Justering av fluorescenskanalens sensibilitet.

10. Forsterknings-(gain)-verdiene fastslått av kanalkalibreringen lagres automatisk og står oppført i siste menyvindu til programmeringsprosedyren (Figur 7). Klikk på "Start Run" (start kjøringen).



Figur 7. Kjøringen starter.

Tolking av resultater

Kvantitering

De vedlagte kvantiteringsstandardene (VZV RG QS 1–4) behandles som forhåndsrensede prøver og samme volum tas i bruk (20 μ l). For å generere en standardkurve på Rotor-Gene Q-instrumenter skal alle 4 kvantiteringsstandarder brukes og defineres i "Edit Samples" (rediger prøver)-dialogboksen som standarder med de spesifiserte konsentrasjonene (se instrument-brukerhåndboken).

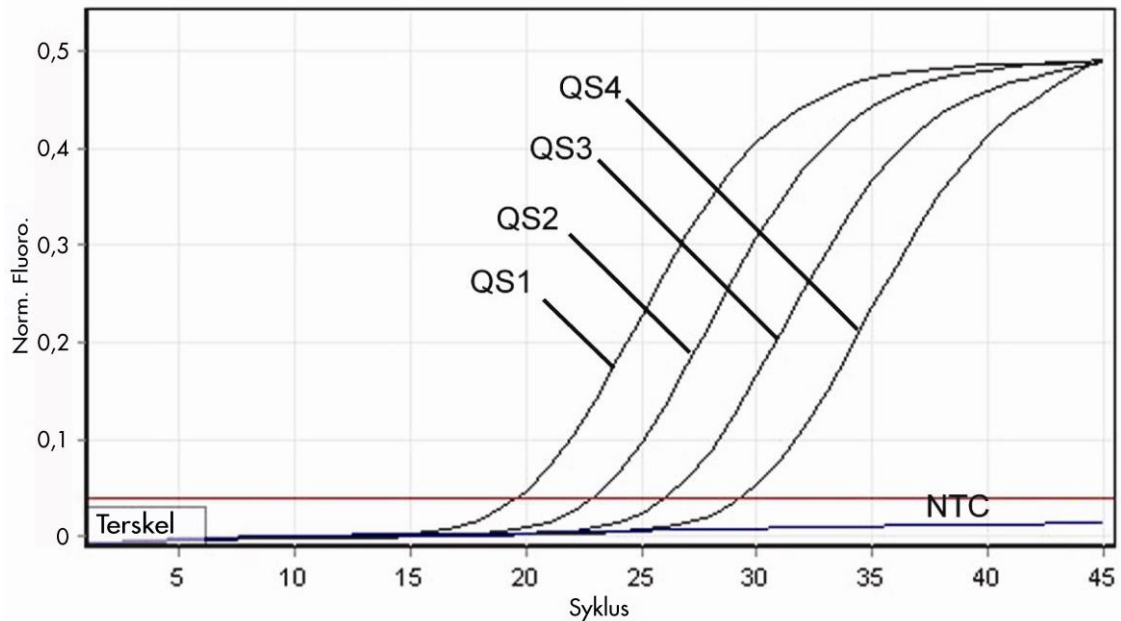
Merk: Kvantiteringsstandarder defineres som kopier/ μ l. Det må anvendes følgende ligning for å konvertere de fastslåtte verdiene ved bruk av standardkurve til kopier/ml av prøvemateriale:

$$\text{Resultat (kopier/ml)} = \frac{\text{Resultat (kopier}/\mu\text{l)} \times \text{elueringsvolum } (\mu\text{l})}{\text{Prøvevolum (ml)}}$$

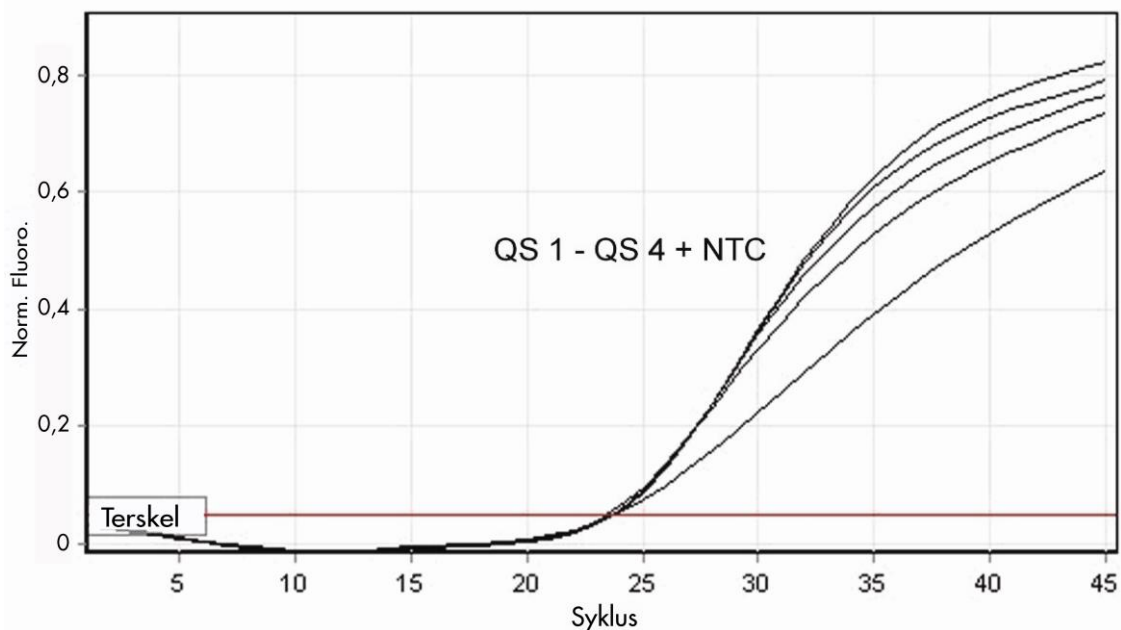
Av prinsipp skal det innledende prøvevolumet legges inn i ovennevnte ligning. Dette må tas i betraktning når prøvevolumet har blitt endret før nukleinsyren ekstraheres (f.eks. volumet ble redusert pga. sentrifugering eller økt pga. at det ble tilføyelser til påkrevd volum for isolering).

Resultater

Eksempler på positive og negative PCR-reaksjoner angis i figur 8 og figur 9.



Figur 8. Deteksjon av kvantiteringsstandarder (VZV RG QS 1–4) i fluorescenskanal Cycling Green. NTC: Ingen templat-kontroll (negativ kontroll).



Figur 9. Deteksjon av den interne kontrollen (IC) i fluorescenskanal Cycling Orange med simultan amplifikasjon av kvantiteringsstandardene (VZV RG QS 1–4). NTC: Ingen templat-kontroll (negativ kontroll).

**Et signal detekteres i fluorescenskanal Cycling Green.
Resultatet av analysen er positiv: prøven inneholder VZV-DNA.**

I dette tilfellet er deteksjonen av et signal i Cycling Orange-kanalen unnværlig, da de høye innledende konsentrasjonene av VZV-DNA (positivt signal i Cycling Green-kanalen) kan føre til et redusert eller fraværende fluorescenssignal hos den interne kontrollen i Cycling Orange-kanalen (konkurransen).

I fluorescenskanal Cycling Green er intet signal detektert. Et signal fra den interne kontrollen i Cycling Orange-kanalen vises på samme tid. VZV-DNA er ikke detektert i prøven. Den kan betraktes som negativ.

Ved negativ VZV-PCR, utelukker det detekterte signalet i den interne kontrollen muligheten for PCR-inhibisjon.

Intet signal er detektert i Cycling Green- eller Cycling Orange-kanalene. Ingen resultater kan konkluderes.

Informasjon om feilkilder og tilsvarende løsning finnes i "Feilsøkingerveiledning", side 18.

Feilsøkingsveiledning

Feilsøkingsveiledningen kan være til hjelp i å løse evt. problemer som kan oppstå. For mer informasjon, se også Ofte stilte spørsmål-siden ved vårt Teknisk støtte senter: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Vitenskapsmennene og -kvinnene ved QIAGENS tekniske service er alltid beredt til å svare alle de spørsmål du måtte ha om informasjonen eller protokollen i denne håndboken eller om prøve- og assayteknologier (for kontaktinformasjon, se baksiden eller besøk www.qiagen.com).

Kommentarer og forslag

Intet signal med positive kontroller (VZV RG QS 1–4) i fluorescenskanal Cycling Green

- | | |
|--|--|
| a) Valgt fluorescenskanal for PCR-analyse oppfyller ikke protokollen | For dataanalysen velg fluorescenskanal Cycling Green for analytisk VZV-PCR og fluorescenskanal Cycling Orange for internkontroll av PCR. |
| b) Feil programmering av temperaturprofilen for Rotor-Gene-instrument | Sammenlign temperaturprofilen med protokollen. Se "Protokoll: PCR og dataanalyse", side 9. |
| c) Feil konfigurering av PCR | Kontroller dine arbeidstrinn ved hjelp av pipetteringsskjemaet og gjenta PCR hvis nødvendig. Se "Protokoll: PCR og dataanalyse", side 9. |
| d) Oppbevaringsforholdene for en eller flere kit-komponenter var ikke i samsvar med anvisningene angitt i "Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden. og håndtering av reagenser" (side Fehler! Textmarke nicht definiert.) | Kontroller reagensenes oppbevaringsforhold og utløpsdato (se kitets etikett) og bruk et nytt kit hvis nødvendig. |
| e) <i>artus</i> VZV RG PCR Kit er utløpt | Kontroller reagensenes oppbevaringsforhold og utløpsdato (se kitets etikett) og bruk et nytt kit hvis nødvendig. |

Kommentarer og forslag

Svakt eller intet signal i den interne kontrollen til en negativ CSF-prøve utsatt for rensing ved hjelp av EZ1 DSP Virus Kit i fluorescenskanal Cycling Orange og samtidig fravær av et signal i Cycling Green-kanalen

- | | |
|---|--|
| a) PCR-forholdene oppfyller ikke protokollen | Kontroller PCR-forholdene (se ovenfor) og gjenta PCR med korrigerte innstillinger, hvis nødvendig. |
| b) PCR var inhibert | Pass på å bruke den anbefalte isoleringsmetoden og følg nøyaktig produsentens anvisninger. |
| c) DNA ble tapt under ekstrahering | Hvis den interne kontrollen ble tilføyd i ekstraheringen, kan et fraværende signal av den interne kontrollen indikere tap av DNA under ekstraheringen. Pass på å bruke den anbefalte isoleringsmetoden (se "DNA-isolering", side 7) og følg nøyaktig produsentens anvisninger. |
| d) Oppbevaringsforholdene for en eller flere kit-komponenter var ikke i samsvar med anvisningene angitt i "Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden. og håndtering av reagenser" (side Fehler! Textmarke nicht definiert.) | Kontroller reagensenes oppbevaringsforhold og utløpsdato (se kitets etikett) og bruk et nytt kit hvis nødvendig. |
| e) <i>artus</i> VZV RG PCR Kit er utløpt | Kontroller reagensenes oppbevaringsforhold og utløpsdato (se kitets etikett) og bruk et nytt kit hvis nødvendig. |

Signaler med de negative kontrollene i fluorescenskanal Cycling Green i analytisk PCR

- a) Det oppsto kontaminasjon under preparering av PCR
- Gjenta PCR med nye reagenser i replikater.
Hvis mulig, lukk PCR-rørene rett etter tilsetning av prøven som skal testes.
Pass på å pipettere den positive kontrollen sist.
Pass på at arbeidsplassen og instrumentene dekontamineres ved regelmessige intervaller.
- b) Det oppsto kontaminasjon under ekstrahering
- Gjenta ekstraheringen og PCR av prøven som skal testes med nye reagenser.
Pass på at arbeidsplassen og instrumentene dekontamineres ved regelmessige intervaller.

Kvalitetskontroll

I henhold til QIAGENs ISO-sertifiserte kvalitetsstyringssystem, testes hvert parti av *artus* VZV RG PCR Kit mot forhåndsfastsatte spesifikasjoner for å sikre konsistent produktkvalitet.

Produktets bruksbegrensninger

Produktet skal kun brukes av personell som er spesielt instruert og opplært i in vitro diagnostiske prosedyrer.

Det kreves streng overholdelse av brukerhåndboken for optimale PCR-resultater.

Det bør utvises påpasselighet mht. utløpsdatoer trykt på esken og etikettene til alle komponenter. Ikke bruk utløpte komponenter.

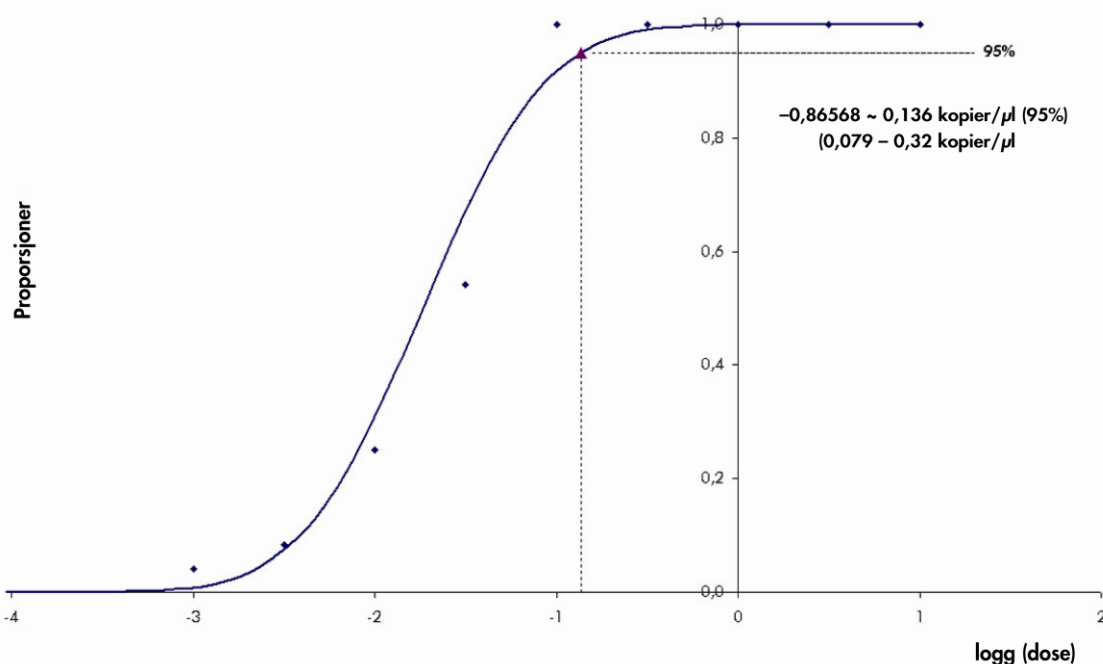
Selv om det er sjelden, kan mutasjoner i de svært konserverte regionene av det virale genomet som dekkes av kitets primere og/eller probe føre til underkvantitering eller unnlattelse av å detektere viruset i slike tilfeller. Assayutformingens validitet og ytelse gjennomgås ved jevne mellomrom.

Ytelseegenskaper

Analytisk sensibilitet

For å fastslå den analytiske sensibiliteten til *artus* VZV RG PCR Kit, ble det utarbeidet en fortyningsserie med VZV genomisk DNA fra 10 til

0,001 kopier/ μ l som ble analysert på Rotor-Gene 6000 i kombinasjon med *artus* VZV RG PCR Kit. Testingen ble utført på 3 forskjellige dager med 8 replikater. Resultatene ble fastslått av en probit-analyse. En grafisk illustrasjon av probitanalysen på Rotor-Gene 6000 vises i figur 10. Den analytiske deteksjonsbegrensningen av *artus* VZV RG PCR Kit i kombinasjon med Rotor-Gene MDx/Q/6000 er 0,136 kopier/ μ l ($p = 0,05$). Dette betyr at 0,136 kopier/ μ l kan detekteres med 95 % sannsynlighet.



Figur 10. Probit-analyse: VZV (Rotor-Gene 6000). Analytisk sensibilitet til *artus* VZV RG PCR Kit på Rotor-Gene 6000.

Spesifisitet

Spesifisiteten til *artus* VZV RG PCR Kit sikres først og fremst ved valget av primere og sonder, så vel som valget av strenge reaksjonsforhold. Primerne og sondene ble undersøkt for mulige homologier med alle publiserte sekvenser i genbanker ved hjelp av sekvenssammenlignings-analyse. Detekterbarheten av alle relevante genotyper blir på denne måten sikret.

Dessuten ble spesifisiteten validert med 30 forskjellige VZV negative CSF-prøver. Disse genererte ingen signaler med VZV-spesifikke primere og sonder, dette inkluderes i VZV RG Master.

En potensiell kryssreaktivitet av *artus* VZV RG PCR Kit ble testet ved hjelp av kontrollgruppen angitt i tabell 4. Ingen av disse testede patogenene har vært reaktive.

Tabell 4. Testing av kitets spesifisitet med potensielt kryssreaktive patogener

Kontrollgruppe	VZV (Cycling Green)	Internkontroll (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 (Kaposis sarkom-forbundet herpesvirus)	–	+
Hepatitt A-virus	–	+
Hepatitt B-virus	–	+
Hepatitt C-virus	–	+
Humant immundefekt virus (HIV)	–	+
Humant T-celle leukemivirus 1	–	+
Humant T-celle leukemivirus 2	–	+
Enterovirus	–	+
Parvovirus B19	–	+
Vest-Nil-virus	–	+

Nøyaktighet

Nøyaktighetsdata for *artus* VZV RG PCR Kit ble samlet via Rotor-Gene-instrumenter og tillater fastsettelse av assayets totalvarians. Totalvariansen består av intra-assay variabilitet (variabilitet av mangfoldige prøveresultater av samme konsentrasjon innenfor et eksperiment), inter-assay variabiliteten (variabiliteten av mangfoldige resultater i assayet generert på forskjellige instrumenter av samme type utført av forskjellige operatører i et laboratorium)

og inter-parti variabiliteten (variabiliteten i assayets mangfoldige resultater ved bruk av ulike partier). Dataene ble brukt til å beregne standardavviket, variansen og varianskoeffisienten for den patogenspesifikke og internkontroll PCR-en.

Nøyaktighetsdata for *artus* VZV RG PCR ble samlet ved hjelp av kvantiteringsstandarder med den laveste konsentrasjonen (QS 4; 10 kopier/ μ l). Testingen ble utført med 8 replikater. Nøyaktighetsdata ble beregnet på grunnlag av amplifikasjonskurvenes C_T -verdier (C_T : terskelsyklus, se tabell 5, side 24). Dessuten ble nøyaktighetsdata for kvantitative resultater i kopier/ μ l fastslått ved å bruke de tilsvarende C_T -verdiene (se tabell 6, side 24). På grunnlag av disse resultatene utgjør den totale statistiske spredningen av en prøve med nevnte konsentrasjon 0,45 % (C_T) eller 8,32 % (konsentrasjon), og 2,81 % (C_T) for deteksjon av den interne kontrollen. Disse verdiene er basert på helheten av alle enkeltverdiene av de fastslåtte variabilitetene.

Robusthet

Bekreftet robusthet brukes til å fastslå samlet feilrate for *artus* VZV RG PCR Kit. 30 VZV negative prøver av CSF ble tilsatt 0,4 kopier/ μ l elusjonsvolum av VZV-DNA (ca. trefoldig konsentrasjon av den analytiske sensibilitetsbegrensningen). Etter ekstrahering ved hjelp av EZ1[®] DSP Virus Kit (se "DNA-isolering", side 8), ble disse prøvene analysert med *artus* VZV RG PCR Kit. Feilraten for alle 30 prøver var 0 %. Dessuten ble robustheten til den interne kontrollen vurdert ved rensing og analyse av 30 VZV negative CSF-prøver. Total feilrate var 0 %. Inhibisjoner ble ikke observert. Dermed er robustheten for *artus* VZV RG PCR Kit ≥ 99 %.

Reproduserbarhet

Data for reproduserbarheten tillater regelmessig ytelsesvurdering av *artus* VZV RG PCR Kit så vel som en effektivitetssammenligning med andre produkter. Disse dataene skaffes via deltakelse i etablerte programmer som måler laboratorieteknikernes kyndighet.

Tabell 5. Nøyaktighetsdata på grunnlag av C_T-verdier

	Standardavvik	Varians	Variasjons- koeffisient (%)
Intra-assay variabilitet: VZV QS 4	0,08	0,01	0,26
Intra-assay variabilitet: Internkontroll	0,04	0,002	0,17
Inter-assay variabilitet: VZV QS 4	0,15	0,02	0,5
Inter-assay variabilitet: Internkontroll	0,39	0,15	1,63
Inter-parti variabilitet: VZV QS 4	0,1	0,01	0,34
Inter-parti variabilitet: Internkontroll	0,66	0,43	2,65
Totalvarians: VZV QS 4	0,13	0,02	0,45
Totalvarians: Internkontroll	0,68	0,47	2,81

Tabell 6. Nøyaktighetsdata på grunnlag av de kvantitative resultatene (i kopier/ μ l)

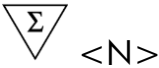











	Standardavvik	Varians	Variasjonskoeffisient (%)
Intra-assay variabilitet: VZV QS 4	0,5	0,25	5,46
Inter-assay variabilitet: VZV QS 4	0,85	0,72	8,72
Inter-parti variabilitet: VZV QS 4	0,75	0,56	7,67
Totalvarians: VZV QS 4	0,81	0,66	8,32

Referanser

QIAGEN vedlikeholder en stor, oppdatert online database med vitenskapelige publikasjoner som bruker QIAGEN-produkter. Omfattende søkealternativer lar deg finne artiklene du trenger, enten med et vanlig nøkkelordsøk eller ved å spesifisere anvendelsen, forskningsområdet, tittel, osv.

For en komplett liste med referanser, besøk QIAGENS referansedatabase online på www.qiagen.com/RefDB/search.asp eller ta kontakt med QIAGEN teknisk service eller din lokale forhandler.

Symboler

	Inneholder reagenser for <N> tester
	Bruk innen
	In vitro diagnostisk medisinsk utstyr
	Katalognummer
	Partinummer
	Materialenummer
	Komponenter
	Inneholder
	Nummer
	Temperaturbegrensninger
	Lovlig produsent
	Se informasjon i håndboken

Kontaktinformasjon

For teknisk assistanse og mer informasjon, besøk vårt Technical Support Center (tekniske støttesenter) på www.qiagen.com/Support eller ring en av våre QIAGEN tekniske serviceavdelinger eller lokale forhandlere (se baksiden eller besøk www.qiagen.com).

Bestillingsinformasjon

Produkt	Innhold	Kat.nr.
<i>artus</i> VZV RG PCR Kit (24)	For 24 reaksjoner: Hovedblanding, magnesiumløsning, 4 kvantiteringsstandarder, internkontroll, vann (PCR- grad)	4502263
<i>artus</i> VZV RG PCR Kit (96)	For 96 reaksjoner: Hovedblanding, magnesiumløsning, 4 kvantiteringsstandarder, internkontroll, vann (PCR- grad)	4502265
EASYartus VZV RG PCR Kits — for integrert automatisert prøverensing og patogen deteksjon, i fullt samsvar med CE-IVD		
EASYartus VZV RG PCR Kit 1	For 48 virale nukleinsyre-prepareringer og 24 assayer: 1 x EZ1 DSP Virus Kit, 1 x <i>artus</i> VZV RG PCR Kit (24)	EA10223
EASYartus VZV RG PCR Kit 2	For 48 virale nukleinsyre-prepareringer og 48 assayer: 1 x EZ1 DSP Virus Kit, 2 x <i>artus</i> VZV RG PCR Kit (24)	EA10224
EZ1 DSP Virus Kit – for automatisert, simultan rensing av viral DNA og RNA fra 1–14 human plasma-, serum- eller CSF-prøver		
EZ1 DSP Virus Kit (48)	For 48 virale nukleinsyre-prepareringer: ferdigfylte reagens-patroner, engangspissholdere, engangsfilterspisser, prøverør, elusjonsrør, buffere, bærer-RNA	62724
Rotor-Gene Q MDx og tilbehør		

Produkt	Innhold	Kat.nr.
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Sanntids PCR-sykler med 5 kanaler (grønn, gul, oransje, rød, karmosinrød), bærbar datamaskin, software, tilbehør: inkluderer 1-års garanti på deler og arbeid, installasjon og opplæring ikke inkludert	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Sanntids PCR-sykler med 5 kanaler (grønn, gul, oransje, rød, karmosinrød), bærbar datamaskin, software, tilbehør: inkluderer 1-års garanti på deler og arbeid, installasjon og opplæring	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Sanntids PCR-sykler og "smelteanalysator med høy oppløsning"-analysator med 5 kanaler (grønn, gul, oransje, rød, karmosinrød) pluss HRM-kanal, bærbar datamaskin, software, tilbehør: inkluderer 1-års garanti på deler og arbeid, installasjon og opplæring ikke inkludert	9002032
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Sanntid PCR-sykler og "smelteanalysator med høy oppløsning"-analysator med 5 kanaler (grønn, gul, oransje, rød, karmosinrød) pluss HRM-kanal, bærbar datamaskin, software, tilbehør: inkluderer 1-års garanti på deler og arbeid, installasjon og opplæring	9002033

Produkt	Innhold	Kat.nr.
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Sanntids PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grønn, gul, oransje, rød, karmosinrød), bærbar datamaskin, software, tilbehør: inkluderer 1-års garanti på deler og arbeid, installasjon og opplæring ikke inkludert	9002042
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Sanntids PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grønn, gul, oransje, rød, karmosinrød), bærbar datamaskin, software, tilbehør: inkluderer 1-års garanti på deler og arbeid, installasjon og opplæring	9002043
Loading Block 72 x 0,1 ml Tubes	Aluminiumsblokk for manuell reaksjonsoppsett med enkelkanal-pipett i 72 x 0,1 ml rør	9018901
Loading Block 96 x 0,2 ml Tubes	Aluminiumsblokk for manuell reaksjonsoppsett i standard 8 x 12 oppstilling med 96 x 0,2 ml rør	9018905
Strip Tubes and Caps, 0,1 ml (250)	250 remser med 4 rør og hetter for 1000 reaksjoner	981103
Strip Tubes and Caps, 0,1 ml (2500)	10 x 250 remser med 4 rør og hetter for 10 000 reaksjoner	981106
PCR Tubes, 0,2 ml (1000)	1000 tynnveggede rør for 1000 reaksjoner	981005
PCR Tubes, 0,2 ml (10 000)	10 x 1000 tynnveggede rør for 10 000 reaksjoner	981008

For oppdatert lisensieringsinformasjon og produkt-spesifikke fraskrivelser, se henholdsvis QIAGEN kitets håndbok eller brukerhåndbok. QIAGEN kit-

håndbøker og brukerhåndbøker er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan fås fra QIAGEN teknisk service eller din lokale forhandler.

Denne siden er med hensikt ubeskrevet

Kjøp av dette produktet lar kjøperen bruke det til å utføre diagnostiske tjenester for human in vitro diagnostikk. Det gis herved ingen generell patent eller annen lisens av hvilket som helst slag bortsett fra denne spesifikke bruksretten for kjøp.

Varemerker: QIAGEN®, artus®, EASYartus®, EZ1®; Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

Begrenset lisensavtale

Bruk av dette produktet betyr at kjøperen eller brukeren av artus VZV RG PCR Kit samtykker i følgende betingelser:

1. artus VZV RG PCR Kit kan utelukkende brukes i henhold til artus VZV RG PCR Kit-håndbok og anvendes kun med komponentene inkludert i kitet. QIAGEN gir ingen lisens under dets åndsverk til å bruke eller inkorporere komponentene inkludert i dette kitet med andre komponenter som ikke er inkludert i dette kitet bortsett fra det som beskrives i VZV RG PCR Kit-håndbok og i ytterligere protokoller tilgjengelige på www.qiagen.com.
2. Andre enn de uttrykkelige nevnte lisensene, garanterer ikke QIAGEN at dette kitet og/eller dets bruk ikke krenker tredjeparts rettigheter.
3. Dette kitet og dets komponenter er lisensiert for engangsbruk og kan ikke brukes, renoveres eller selges på nytt.
4. QIAGEN frasier seg spesielt alle andre lisenser, uttrykkelige eller underforståtte, unntatt dem som uttrykkelig nevnes.
5. Kjøperen og brukeren av kitet samtykker i at de ikke vil ta eller tillate noen andre å ta evt. skritt som kan lede til eller fasilitere tiltak som forbyr ovenfor. QIAGEN kan håndheve forbudene i denne begrensede lisensavtalen ved enhver domstol, og skal bli tilkjent erstatning for alle dets forskningskostnader og rettslige kostnader, innbefattet advokathonorarer, ved ethvert søksmål for å håndheve denne begrensede lisensavtalen eller dets opphavsrett forbundet med kitet og/eller dets komponenter.

For oppdaterte lisensbetingelser, se www.qiagen.com.

© 2009–2014 QIAGEN, alle rettigheter forbeholdt.

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)

