

artus[®] CMV QS-RGQ Kit — Instrukcja obsługi

Ilościowa diagnostyka in vitro

Do użytku z aparatami QIASymphony[®] SP/AS
i Rotor-Gene[®] Q

Wersja 1



4503363



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden



R6

1060926PL

Spis treści

Przeznaczenie.....	4
Podsumowanie i objaśnienie.....	5
Informacja o patogenie.....	5
Zasada procedury.....	5
Zestawy ustawień kontrolnych badania i zestawy ustawień parametrów badania	6
Materiały dostarczone w zestawie.....	7
Zawartość zestawu	7
Materiały wymagane, ale niedostarczone.....	8
Ostrzeżenia i środki ostrożności.....	9
Informacje dotyczące bezpieczeństwa	9
Ogólne środki ostrożności	9
Przechowywanie i sposób postępowania z odczynnikami.....	10
Przechowywanie i sposób postępowania z próbkami.....	10
Oczyszczanie wirusowego DNA.....	11
Izolacja DNA i ustawianie badania w aparatach QIASymphony SP/AS	12
PCR w aparacie Rotor-Gene Q.....	19
Interpretacja wyników.....	20
Rozwiązywanie problemów	20
Kontrola jakości.....	27
Ograniczenia.....	27
Charakterystyka działania testu.....	27
Symbole.....	28

Informacje dotyczące zamawiania.....	30
--------------------------------------	----

Przeznaczenie

artus CMV QS-RGQ Kit to test amplifikacji kwasu nukleinowego in vitro przeznaczony do ilościowego oznaczenia DNA cytomegalowirusa (cytomegalovirus, CMV) w ludzkich próbkach biologicznych. Ten diagnostyczny zestaw testowy wykorzystuje łańcuchową reakcję polimerazy (polymerase chain reaction, PCR) i jest skonfigurowany do użytku z aparatami QIASymphony SP/AS i Rotor Gene Q. W celu uzyskania dodatkowych informacji na temat swoistych próbek biologicznych, z którymi zwalidowano zestaw, należy zapoznać się z kartami zastosowań dostępnymi online pod adresem www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.

Firma QIAGEN kontynuuje opracowywanie i walidowanie dalszych zastosowań zestawów *artus* QS-RGQ Kit, takich jak stosowanie z dodatkowymi typami próbek.

Najnowsza wersja tej instrukcji obsługi oraz powiązane karty zastosowań są dostępne online pod adresem www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.

Zestaw *artus* CMV QS-RGQ Kit jest przeznaczony do stosowania w kontekście stanu klinicznego i innych markerów laboratoryjnych.

Firma QIAGEN w sposób ciągły monitoruje działanie oznaczenia oraz przeprowadza walidację nowych deklaracji zastosowań. Z tego względu użytkownicy są zobowiązani do upewnienia się, że pracują z najnowszym wydaniem instrukcji użycia.

Uwaga: Przed wykonaniem testu należy sprawdzić dostępność nowych elektronicznych wersji oznakowania pod adresem www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.

Wszystkich zestawów można używać z odpowiednimi elementami instrukcji, o ile numer wersji instrukcji obsługi oraz inne informacje na etykietach odpowiadają numerowi wersji zestawu. Numer wersji znajduje się na etykiecie opakowania każdego zestawu. Firma QIAGEN gwarantuje zgodność między wszystkimi seriami zestawów testowych oznaczonych tym samym numerem wersji.

Podsumowanie i objaśnienie

artus CMV QS-RGQ Kit jest gotowym do użycia systemem przeznaczonym do wykrywania DNA wirusa CMV za pomocą łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR) w aparatach Rotor Gene Q z przygotowaniem próbek i ustawieniem badania w aparatach QIA Symphony SP/AS.

Informacja o patogenie

Ludzki wirus CMV znajduje się we krwi, tkankach i prawie wszystkich wydzielinach zakażonych osób. Wirus może szerzyć się drogą oralną, kontaktów seksualnych, poprzez transfuzję krwi lub przeszczep narządu, wewnątrzmacicznie lub okołoporodowo. Zakażenie wirusem CMV często prowadzi do bezobjawowego zakażenia i utrzymywania się wirusa w organizmie do końca życia. Objawy zakażenia u nastolatków lub dorosłych przypominają objawy mononukleozy z gorączką, miernie nasilonymi objawami zapalenia wątroby oraz ogólnego osłabienia. Ciężki przebieg zakażenia wirusem CMV zaobserwowano zwłaszcza u noworodków zakażonych wewnątrzmacicznie oraz u pacjentów z niedoborami odporności.

Zasada procedury

Mieszanina CMV RG Master zawiera odczynniki i enzymy do swoistej amplifikacji regionu o długości 105 bp (base pairs — par zasad) genomu wirusa CMV oraz do bezpośredniego wykrywania swoistego amplikonu w zielonym kanale fluorescencyjnym aparatu Rotor-Gene Q.

Zestaw *artus* CMV QS-RGQ Kit zawiera drugi, heterologiczny system amplifikacji służący do detekcji potencjalnej inhibicji reakcji PCR. Wykrywa się ją jako kontrolę wewnętrzną (internal control, IC) w żółtym kanale fluorescencyjnym aparatu Rotor-Gene Q. Granica wykrywalności analitycznej reakcji PCR pod kątem CMV nie ulega obniżeniu.

Dostarczone zewnętrzne kontrole pozytywne (CMV QS 1–4) umożliwiają określenie ilości wirusowego DNA. Więcej informacji zawiera odpowiednia karta zastosowania pod adresem www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx

Kontrola negatywna (woda odpowiednia do PCR) służy do monitorowania reakcji PCR pod kątem zanieczyszczeń, a w oprogramowaniu QIASymphony określana jest jako **NTC** (no template control — kontrola bez matrycy).

Zestawy ustawień kontrolnych badania i zestawy ustawień parametrów badania

Zestawy ustawień kontrolnych badania to połączenie protokołu i dodatkowych parametrów, takich jak kontrola wewnętrzna, przeznaczone do oczyszczenia próbek w aparacie QIASymphony SP. Dla każdego protokołu fabrycznie zainstalowano domyślny zestaw ustawień kontrolnych.

Zestawy parametrów badania to połączenie definicji badania z dodatkowymi zdefiniowanymi parametrami, takimi jak liczba powtórzeń i liczba wzorców oznaczenia, przeznaczone do ustawienia badania w aparacie QIASymphony AS.

W przypadku cykli zintegrowanych wykonywanych w aparatach QIASymphony SP/AS zestaw parametrów badania jest bezpośrednio związany z początkowym zestawem ustawień kontrolnych, który określa powiązany proces oczyszczenia próbki.

Materiały dostarczone w zestawie

Zawartość zestawu

artus CMV QS-RGQ Kit			(24)
Numer katalogowy			4503363
Liczba reakcji			24
Kolor	Nazwa składnika	Symbol	Ilość
Niebieski	CMV RG Master	MASTER _s	3 x 300 µl
Żółty	CMV Mg-Sol*	MG-SOL _s	600 µl
Czerwony	CMV QS 1 [†] (1 x 10 ⁴ kopii/µl)	QS _s	200 µl
Czerwony	CMV QS 2 [†] (1 x 10 ³ kopii/µl)	QS _s	200 µl
Czerwony	CMV QS 3 [†] (1 x 10 ² kopii/µl)	QS _s	200 µl
Czerwony	CMV QS 4 [†] (1 x 10 ¹ kopii/µl)	QS _s	200 µl
Zielony	CMV RG IC [‡]	IC _s	1000 µl
Biały	Water (PCR grade)		1000 µl
Handbook (Instrukcja obsługi)			1

* Magnesium solution — roztwór magnezu.

[†] Quantitation standard — wzorzec ilościowy.

[‡] Internal control — kontrola wewnętrzna.

_s Lista symbolów i definicji znajduje się na stronie 27.

Materiały wymagane, ale niedostarczone

Ważne: Należy upewnić się, że aparaty używane w tej procedurze zostały sprawdzone i skalibrowane zgodnie z wytycznymi producenta.

Ogólny sprzęt laboratoryjny

- Pipety z regulacją oraz jałowe końcówki do pipet z filtrami
- Wytrząsarka
- Łaźnia wodna umożliwiająca inkubację w temperaturze 37°C
- Wirówka laboratoryjna z rotorem dla probówek reakcyjnych o pojemności 2 ml umożliwiająca wirowanie przy 6800 x g

Dodatkowy sprzęt i materiały do przygotowania próbek

- Aparat QIASymphony SP (moduł systemu QIASymphony RGQ) (nr kat. 9001297)
- Aparat QIASymphony AS (moduł systemu QIASymphony RGQ) (nr kat. 9001301)
- Oprogramowanie QIASymphony w wersji 4.0
- Zestaw QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit (nr kat. 937036 lub 937055)
- Zestaw QIASymphony DSP DNA Mini Kit (nr kat. 937236)

Dodatkowy sprzęt do reakcji PCR

- Aparat Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM lub aparat Rotor-Gene Q 5plex HRM (moduł systemu QIASymphony RGQ)
- Oprogramowanie Rotor-Gene Q w wersji 2.1 lub wyższej

Uwaga: Dodatkowe informacje na temat materiałów wymaganych do określonych zastosowań zawiera odpowiednia karta zastosowania pod adresem www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

Do diagnostyki in vitro

Informacje dotyczące bezpieczeństwa

Podczas pracy ze środkami chemicznymi należy zawsze używać odpowiedniego fartucha laboratoryjnego, rękawiczek jednorazowych i okularów ochronnych. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z odpowiednimi kartami charakterystyki (safety data sheet, SDS). Są one dostępne online w formacie PDF pod adresem **www.qiagen.com/safety**. Na tej stronie można wyszukiwać, wyświetlać i drukować karty charakterystyki dla wszystkich zestawów i składników zestawów firmy QIAGEN.

W celu uzyskania informacji o bezpieczeństwie dotyczących zestawów QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit należy zapoznać się z instrukcją obsługi odpowiedniego zestawu. W celu uzyskania informacji o bezpieczeństwie dotyczących zestawu QIASymphony DSP DNA Mini Kit należy zapoznać się z instrukcją obsługi odpowiedniego zestawu. W celu uzyskania informacji o bezpieczeństwie dotyczących modułów aparatu należy zapoznać się z odpowiednią instrukcją obsługi aparatu.

Pozostałości próbek, odpadów płynnych i odczynników należy utylizować zgodnie z lokalnymi przepisami dotyczącymi bezpieczeństwa.

Ogólne środki ostrożności

Zawsze należy mieć na uwadze poniższe zalecenia:

- Używać jałowych końcówek do pipet z filtrami.
- Podczas etapów wykonywanych ręcznie próbki trzymać zamknięte, kiedy tylko jest to możliwe, i unikać zanieczyszczenia.
- Przed rozpoczęciem oznaczenia całkowicie rozmrozić wszystkie odczynniki w temperaturze pokojowej (15–25°C).

- Po rozmrożeniu wymieszać składniki (kilka razy pipetując w górę i w dół lub wytrząsając pulsacyjnie), a następnie krótko odwirować. Upewnić się, że w probówkach z odczynnikami nie ma piany ani pęcherzyków powietrza.
- Nie łączyć składników z zestawów o różnych numerach serii.
- Upewnić się, że wymagane adaptory zostały wstępnie schłodzone do temperatury 2–8°C.
- Pracować szybko, a odczynniki do PCR trzymać przed załadowaniem w lodzie lub na bloku chłodzącym.
- Przechodzić do kolejnego etapu pracy laboratoryjnej bez zbędnej zwłoki. Czas przenoszenia próbek pomiędzy poszczególnymi modułami nie może przekraczać 30 minut (z aparatu QIASymphony SP do aparatu QIASymphony AS, a następnie do aparatu Rotor-Gene Q).

Przechowywanie i sposób postępowania z odczynnikami

Składniki zestawu *artus* CMV QS-RGQ Kit należy przechowywać w temperaturze od –15°C do –30°C, w której zachowują stabilność aż do daty ważności podanej na etykiecie. Należy unikać wielokrotnego rozmrażania i zamrażania (>2x), ponieważ może to doprowadzić do obniżenia skuteczności oznaczeń.

Przechowywanie i sposób postępowania z próbkami

Informacje na temat przechowywania i sposobu postępowania z próbkami dla określonych zastosowań zawiera odpowiednia karta zastosowania pod adresem www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.

Oczyszczanie wirusowego DNA

Zestaw *artus* CMV QS-RGQ Kit został zwalidowany z etapem oczyszczania wirusowego DNA z osocza ludzkiego wykonywanym na aparacie QIASymphony SP za pomocą zestawu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit. W celu uzyskania informacji na temat sposobu przygotowywania kartridża z odczynnikami do etapu oczyszczania próbki w aparacie QIASymphony SP należy zapoznać się z *Instrukcją obsługi zestawu QIASymphony DSP Virus/Pathogen* (QIASymphony DSP Virus/Pathogen Handbook).

Zestaw *artus* CMV QS-RGQ Kit został zwalidowany z etapem oczyszczania wirusowego DNA z ludzkiej krwi pełnej wykonywanym na aparacie QIASymphony SP za pomocą zestawu QIASymphony DSP DNA Mini Kit. W celu uzyskania informacji na temat sposobu przygotowywania kartridża z odczynnikami do etapu oczyszczania próbki w aparacie QIASymphony SP należy zapoznać się z *Instrukcją obsługi zestawu QIASymphony DNA* (QIASymphony DNA Handbook).

Korzystanie z kontroli wewnętrznej i nośnika RNA (CARRIER)

Stosowanie zestawów QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit i zestawu QIASymphony DSP DNA Mini Kit wraz z zestawem *artus* CMV QS-RGQ Kit wymaga wprowadzenia kontroli wewnętrznej (CMV RG IC) do procedury oczyszczania w celu monitorowania wydajności przygotowywania próbek i dalszych testów. Ponadto zestawy QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit i zestaw QIASymphony DSP DNA Mini Kit mogą wymagać przygotowania nośnika RNA (CARRIER). Szczegółowe informacje na temat kontroli wewnętrznej oraz stosowania nośnika RNA (CARRIER) zawiera odpowiednia karta zastosowania pod adresem www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.

Uzysk kwasów nukleinowych

Eluaty przygotowane z nośnikiem RNA (CARRIER) mogą zawierać dużo więcej nośnika RNA (CARRIER) niż docelowych kwasów nukleinowych. W celu określenia uzysku zalecamy korzystanie z metod amplifikacji ilościowej.

Przechowywanie kwasów nukleinowych

W przypadku przechowywania krótkoterminowego (do 24 godzin) zalecamy przechowywanie oczyszczonych kwasów nukleinowych w temperaturze 2–8°C. W przypadku przechowywania długoterminowego (powyżej 24 godzin) zalecamy przechowywanie w temperaturze –20°C.

Rozpoczynanie pracy z aparatami QIASymphony SP/AS

1. Zamknąć wszystkie szuflady i pokrywy.
2. Włączyć aparaty QIASymphony SP/AS i odczekać do momentu wyświetlenia ekranu **Sample Preparation** (Przygotowanie próbki) oraz zakończenia procedury inicjalizacji.
3. Zalogować się w aparacie (nastąpi odblokowanie szuflad).

Izolacja DNA i ustawianie badania w aparatach QIASymphony SP/AS

Poniżej znajduje się ogólny protokół przeznaczony do stosowania zestawów QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit lub zestawu QIASymphony DSP DNA Mini Kit. Szczegółowe informacje na temat określonego zastosowania, w tym dotyczące objętości i probówek, zawiera odpowiednia karta zastosowania pod adresem www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.

Ważne czynności do wykonania przed rozpoczęciem

- Upewnić się, że użytkownik potrafi obsługiwać aparaty QIASymphony SP/AS. Instrukcje obsługi znajdują się w podręcznikach użytkownika dostarczonych z aparatem oraz w najnowszych wersjach tych podręczników dostępnych online pod adresem www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx.
- Przed pierwszym użyciem kartridża z odczynnikami (reagent cartridge, RC) sprawdzić, czy bufony QSL2 i QSB1 w kartridżu z odczynnikami (RC) nie zawierają osadu.
W razie potrzeby, aby rozpuścić osad, należy wyjąć rynienki zawierające bufony QSL2 i QSB1 z kartridża z odczynnikami (RC) i inkubować je przez 30 minut w temperaturze 37°C, od czasu do czasu wstrząsając. Upewnić się, że rynienki umieszczono ponownie we właściwych pozycjach. W przypadku gdy kartridż z odczynnikami (RC) został już przebity, upewnić się, że rynienki zamknięto paskami Reuse Seal Strip, a następnie inkubować cały kartridż z odczynnikami (RC) w łaźni wodnej przez 30 minut w temperaturze 37°C, od czasu do czasu wstrząsając.
- Unikać energicznego potrząsania kartridżem z odczynnikami (RC), gdyż może to powodować pienienie się buforów, prowadząc do błędów podczas wykrywania poziomu płynu.
- Pracować szybko, a odczynniki do PCR trzymać przed załadowaniem w lodzie lub na bloku chłodzącym.
- Objętości odczynników są zoptymalizowane dla 24 reakcji na zestaw na cykl.
- Przed każdym użyciem należy całkowicie rozmrozić wszystkie odczynniki, wymieszać je (kilka razy pipetując w górę i w dół lub szybko wstrząsając) i odwirować przez co najmniej 3 sekundy przy 6800 x g. Nie dopuszczać do wytworzenia się piany w odczynnikach.

- Udowodniono, że eluaty z etapu przygotowania próbek i wszystkie składniki zestawu *artus* CMV QS-RGQ Kit zachowują stabilność w aparacie co najmniej przez czas przeciętnie wymagany do oczyszczenia 96 próbek oraz ustawienia badania dla 72 oznaczeń, wliczając w to maksymalnie 30 minut potrzebne na przeniesienie próbek z aparatu QIASymphony SP do aparatu QIASymphony AS oraz maksymalnie 30 minut potrzebne na przeniesienie próbek z aparatu QIASymphony AS do aparatu Rotor-Gene Q.

Czynności do wykonania przed rozpoczęciem

- Przygotować wszystkie wymagane mieszaniny. W razie potrzeby, bezpośrednio przed rozpoczęciem przygotować mieszaniny zawierające nośnik RNA (CARRIER) i kontrole wewnętrzne. Więcej informacji zawiera odpowiednia karta zastosowania pod adresem **www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx**.
- Przed rozpoczęciem procedury upewnić się, że cząstki magnetyczne są całkowicie zawieszane. Przed pierwszym użyciem energicznie wytrząsać rynienkę z cząstkami magnetycznymi przez co najmniej 3 minuty.
- Przed załadowaniem kartridża z odczynnikami (RC) zdjąć pokrywę z rynienki zawierającej cząstki magnetyczne oraz otworzyć probówki z enzymami. Upewnić się, że statyw na enzymy osiągnął temperaturę pokojową (15–25°C).
- Upewnić się, że na kartridżu z odczynnikami (RC) umieszczono wieko perforujące (piercing lid, PL) i zdjęto wieczko rynienki z cząstkami magnetycznymi. W przypadku korzystania z częściowo zużytego kartridża z odczynnikami (RC), upewnić się, że usunięto paski Reuse Seal Strip.
- Jeśli próbki są oznaczone kodem kreskowym, ułożyć je w nośniku probówek tak, aby kody kreskowe znalazły się na wprost czytnika kodów kreskowych w obrębie szuflady „Sample” (Próbka) po lewej stronie aparatu QIASymphony SP.

Konfiguracja aparatu QIASymphony SP

1. Zamknąć wszystkie szuflady i pokrywy aparatów QIASymphony SP/AS.

2. Włączyć aparaty i odczekać do momentu pokazania się ekranu **Sample Preparation** (Przygotowanie próbki) oraz zakończenia procedury inicjalizacji.

Przełącznik zasilania znajduje się w lewym dolnym rogu aparatu QIASymphony SP.

3. Zalogować się w aparatach.
4. Przygotować następujące szuflady zgodnie z odpowiednią kartą zastosowania dostępną pod adresem www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.

- Szuflada „Waste” (Odpady)
Po przygotowaniu szuflady wykonać skanowanie inwentaryzujące.
- Szuflada „Eluate” (Eluat)
Po przygotowaniu szuflady wykonać skanowanie inwentaryzujące.
- Szuflada „Reagents and Consumables” (Odczynniki i materiały eksploatacyjne)
Po przygotowaniu szuflady wykonać skanowanie inwentaryzujące.
- Szuflada „Sample” (Próbka)

5. Za pomocą konfiguracji **Integrated run** (Cykl zintegrowany) na ekranie dotykowym aparatu QIASymphony wprowadzić informacje wymagane do przetworzenia każdej partii próbek.
6. Wybrać zestaw parametrów badania dla cyklu i przypisać go oraz odpowiednią partię AS do próbek.

Informacje o zestawie parametrów badania i wstępnie wybranej objętości elucji zawiera odpowiednia karta zastosowania.

Więcej informacji o cyklach zintegrowanych wykonywanych w aparatach QIASymphony SP/AS zawierają instrukcje obsługi aparatów.

7. Podczas ustawiania cyklu zintegrowanego należy sprawdzić, czy prawidłowo przypisano sprzęt laboratoryjny, typ próbki (próbka, EC+ i EC-) i objętości.

Informacje o materiałach eksploatacyjnych i składnikach, które należy załadować do każdej szuflady zawiera odpowiednia karta zastosowania.

8. Po wprowadzeniu informacji o wszystkich partiach cyklu zintegrowanego kliknąć przycisk **Ok**, aby wyjść z konfiguracji **Integrated run** (Cykl zintegrowany).

9. Status wszystkich partii w obrębie przeglądu cyklu zintegrowanego zostanie zmieniony z **LOADED** (ZAŁADOWANE) na **QUEUED** (W KOLEJCE). Gdy tylko partia zostanie dodana do kolejki, pojawi się przycisk **Run** (Uruchom). Nacisnąć przycisk **Run** (Uruchom), aby rozpocząć procedurę.

Wszystkie etapy przetwarzania są całkowicie zautomatyzowane.

Konfiguracja aparatu QIAsymphony AS

1. Po dodaniu cyklu zintegrowanego do kolejki otworzyć szuflady aparatu QIAsymphony AS. Składniki, które mają zostać załadowane, są wyświetlane na ekranie dotykowym.
2. Przed rozpoczęciem cyklu zintegrowanego należy upewnić się, że wykonano poniższe czynności:
 - Włożyć zsyp na końcówki
 - Wyrzucić worek na zużyte końcówki
 - Założyć pusty worek na zużyte końcówki
3. Zdefiniować i załadować statyw(y) badań
Statywy badań, we wstępnie schłodzonych adapterach, są ładowane do gniazd „Assay” (Badanie).
Informacje na temat statywów badań zawiera odpowiednia karta zastosowania pod adresem www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.
4. Sprawdzić temperaturę pozycji chłodzenia.
Po osiągnięciu docelowych temperatur chłodzenia mała gwiazdka znajdująca się obok każdego gniazda zmieni kolor na zielony.
5. Przed użyciem zlać zawartość wszystkich probówek z mieszaniną CMV RG Master z jednego zestawu do jednej probówki.
Uwaga: Ręczne pipetowanie lepkich odczynników może sprawiać trudności. Upewnić się, że do probówki przeniesiono całą objętość mieszaniny CMV RG Master.
6. Wypełnić każdą probówkę odpowiednią objętością właściwego odczynnika zgodnie z informacją ładowania podaną przez oprogramowanie aparatu.

Uwaga: Przed każdym użyciem należy całkowicie rozmrozić wszystkie odczynniki, wymieszać je (kilka razy pipetując w górę i w dół lub szybko wytrząsając) i odwirować przez co najmniej 3 sekundy przy 6800 x g. Nie dopuszczać do wytworzenia się pęcherzyków powietrza i piany, gdyż może to spowodować błędy wykrywania. Pracować szybko, a odczynniki do PCR trzymać przed załadowaniem w lodzie lub na bloku chłodzącym.

7. Załadować statyw odczynników, a następnie umieścić probówki z odczynnikiem, bez wieczek, w odpowiednich pozycjach wstępnie schłodzonych adapterów dla odczynników zgodnie z odpowiednią kartą zastosowania.
8. Załadować jednorazowe końcówki z filtrem do szuflad „Eluate and Reagents” (Eluat i odczynniki) oraz „Assays” (Badania) zgodnie z wymaganą liczbą końcówek każdego typu określoną na odpowiedniej karcie zastosowania.
9. Zamknąć szuflady „Eluate and Reagents” (Eluat i odczynniki) oraz „Assays” (Badania).
10. W momencie zamykania każdej szuflady naciskać przycisk **Scan** (Skanuj), aby rozpocząć skanowanie inwentaryzujące każdej szuflady.

Podczas skanowania inwentaryzującego sprawdzane są gniazda, adaptory, końcówki z filtrem oraz zsypanie na końcówki, jak również to, czy załadowano prawidłowe objętości określonych odczynników. W razie potrzeby skorygować wszystkie błędy.

Po zakończeniu etapu oczyszczania w aparacie QIASymphony SP i przeniesieniu statywów elucji do aparatu QIASymphony AS automatycznie rozpocznie się ustawianie badania.

11. Po zakończeniu cyklu nacisnąć przycisk **Remove** (Usuń) na ekranie **Overview** (Przegląd) ustawień badania. Otworzyć szufladę „Assays” (Badania) i wyładować statyw(y) badań.
12. Pobrać plik wynikowy i plik cyklera.
13. Jeśli w aparacie QIASymphony AS skonfigurowano wiele partii w cyklu zintegrowanym, ponownie załadować szuflady aparatu QIASymphony AS, rozpoczynając od kroku 1.
14. Przejść do części „PCR w aparacie Rotor-Gene Q”, strona 19.

15. Podczas reakcji PCR w aparacie Rotor-Gene Q lub po jej zakończeniu przeprowadzić regularną konserwację aparatu QIASymphony AS.

Ze względu na to, że przebieg pracy jest zintegrowany, pod koniec przebiegu pracy wyczyścić wszystkie aparaty.

Postępować zgodnie ze instrukcjami dotyczącymi konserwacji zawartymi w dokumencie *Instrukcja obsługi aparatów QIASymphony SP/AS — opis ogólny* (QIASymphony SP/AS User Manual — General Description). Upewnić się, że konserwacja jest wykonywana regularnie, aby zminimalizować ryzyko zanieczyszczenia krzyżowego.

PCR w aparacie Rotor-Gene Q

Ważne czynności do wykonania przed rozpoczęciem

- Przed rozpoczęciem protokołu zapoznać się z obsługą aparatu Rotor-Gene Q. Patrz instrukcja obsługi aparatu.
 - Upewnić się, że do każdej reakcji PCR dołączono wszystkie 4 wzorce ilościowe, jak również co najmniej jedną kontrolę negatywną (woda odpowiednia do PCR). Aby wyznaczyć krzywą wzorcową, do każdej reakcji PCR należy użyć wszystkich 4 wzorców ilościowych (CMV QS 1–4).
1. Zamknąć probówki PCR i umieścić je w rotorze 72-dółkowym w aparacie Rotor-Gene Q.
 2. Upewnić się, że probówki w paskach (po 4 na pasek) Rotor-Gene Q zostały przeniesione w prawidłowej orientacji, tak aby wskaźniki pozycji adaptera chłodzącego i rotora do siebie pasowały.
 3. Upewnić się, że pierścień blokujący (akcesorium do aparatu Rotor-Gene Q) jest umieszczony na górze rotora, aby zapobiec przypadkowemu otwarciu się probówek podczas wirowania.
 4. Przenieść plik cyklera z komputera aparatu QIASymphony AS do komputera aparatu Rotor Gene Q.
 5. W celu detekcji DNA wirusa CMV utworzyć profil temperaturowy i rozpocząć cykl zgodnie z odpowiednią kartą zastosowania pod adresem **www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx**.
Informacje specyficzne dla oprogramowania dotyczące programowania aparatu Rotor-Gene Q zawiera odpowiednia karta protokołu *Konfiguracja w celu uruchomienia zestawów artus QS RGQ Kit* (Settings to run artus QS RGQ Kits) pod adresem **www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx**.

Interpretacja wyników

Szczegółowe informacje na temat interpretacji wyników zawiera odpowiednia karta zastosowania pod adresem www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.

Rozwiązywanie problemów

Ta część instrukcji może przydać się w przypadku wystąpienia ewentualnych problemów. Informacje kontaktowe znajdują się na tylnej stronie okładki lub pod adresem www.qiagen.com.

Komentarze i wskazówki

Ogólne postępowanie

Na ekranie dotykowym wyświetlany jest komunikat o błędzie	Jeśli podczas cyklu zintegrowanego zostanie wyświetlony komunikat o błędzie, należy skorzystać z podręczników użytkownika dostarczonych z aparatami.
---	--

Osad w rynience z odczynnikami otwartego kartridża zestawu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit lub QIASymphony DSP DNA Mini Kit

- a) Wyparowanie buforu Nadmierne parowanie buforów może prowadzić do zwiększenia stężenia soli lub zmniejszenia stężenia alkoholu w buforach. Wyrzucić kartridż z odczynnikami (RC). Upewnić się, że rynienki z buforem z częściowo zużytego kartridża z odczynnikami (RC) zostały zamknięte za pomocą pasków Reuse Seal Strip, gdy nie są używane do oczyszczania.

Komentarze i wskazówki

- b) Przechowywanie kartridża z odczynnikami (RC)
- Przechowywanie kartridża z odczynnikami (RC) w temperaturze poniżej 15°C może prowadzić do powstawania osadu. W razie potrzeby, aby rozpuścić osad, należy wyjąć rynienki zawierające bufony QSL2 i QSB1 z kartridża z odczynnikami (RC) i inkubować je w łaźni wodnej w temperaturze 37°C przez 30 minut, od czasu do czasu wstrząsając. Upewnić się, że rynienki umieszczono ponownie we właściwych pozycjach. W przypadku gdy kartridż z odczynnikami (RC) został już przebity, upewnić się, że rynienki zamknięto paskami Reuse Seal Strip, a następnie cały kartridż z odczynnikami (RC) poddać inkubacji w łaźni wodnej w temperaturze 37°C przez 30 minut, od czasu do czasu wstrząsając.

Niedostateczny uzysk kwasów nukleinowych

- a) Cząstki magnetyczne nie zostały równomiernie zawieszane
- Przed rozpoczęciem procedury upewnić się, że cząstki magnetyczne są całkowicie zawieszane. Przed użyciem wytrząsać przez co najmniej 3 minuty.
- b) Zamrożone próbki nie zostały dobrze wymieszane po rozmrożeniu
- Rozmrozić próbki, delikatnie je wstrząsając, aby zapewnić całkowite ich wymieszanie.

Komentarze i wskazówki

- c) Nie dodano nośnika RNA (CARRIER) Zrekonstruować nośnik RNA (CARRIER) w buforze AVE (AVE) lub ATE (ATE) i wymieszać go z odpowiednią objętością buforu AVE (AVE) lub ATE (ATE), tak jak to opisano w odpowiedniej karcie zastosowania pod adresem **www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx**. Powtórzyć procedurę oczyszczania z nowymi próbkami.
- d) Zdegradowane kwasy nukleinowe Próbki przechowywano nieprawidłowo lub zostały one poddane zbyt dużej liczbie cykli zamrażania–rozmarzania. Powtórzyć procedurę oczyszczania z nowymi próbkami.
- e) Niecałkowita liza próbki Przed rozpoczęciem sprawdzić, czy bufor QSL2 i QSB1 nie zawierają osadu. W razie potrzeby, aby rozpuścić osad, należy wyjąć rynienki zawierające bufor QSL1 i QSB1 z kartridża z odczynnikami (RC) i inkubować je przez 30 minut w temperaturze 37°C, od czasu do czasu wstrząsając. W przypadku gdy kartridż z odczynnikami (RC) został już przebity, upewnić się, że rynienki zamknięto paskami Reuse Seal Strip, a następnie inkubować cały kartridż z odczynnikami (RC) w łaźni wodnej przez 30 minut w temperaturze 37°C, od czasu do czasu wstrząsając.
- f) Zatkanie końcówki pipety nierozpuszczalnym materiałem Przed rozpoczęciem procedury oczyszczania QIASymphony nie usunięto z próbki nierozpuszczalnego materiału. W celu usunięcia nierozpuszczalnego materiału do oznaczeń wirusowych, odwirować próbkę przy 3000 x g przez 1 minutę, a następnie przenieść supernatant do nowej próbki.

Komentarze i wskazówki

Aparat QIA Symphony AS wykrywa niewystarczającą ilość mieszaniny Master

Do próbki nie przeniesiono całej objętości mieszaniny Master

Przed użyciem zlać zawartość wszystkich próbek z mieszaniną CMV RG Master z jednego zestawu do jednej próbki. Ręczne pipetowanie lepkich odczynników może sprawiać trudności. Upewnić się, że do próbki przeniesiono całą objętość mieszaniny Master.

W przypadku lepkich odczynników zalecamy zaaspirować dodatkowo 5% objętości w przypadku używania pipet ręcznych (np. ustawić pipetę na 840 μ l w przypadku stosowania objętości 800 μ l).

Alternatywnie, po powolnym dozowaniu płynu i wydmuchaniu resztek na ściankę docelowej próbki wyciągnąć końcówkę z płynu, zwolnić tłok pipety, a następnie odczekać dodatkowe 10 sekund. Pozostałości płynu spłyną w dół końcówki i będzie można je wydmuchać, ponownie naciskając tłok. Zastosowanie końcówek przeznaczonych do PCR oznaczonych jako „mała retencja” może poprawić odzysk płynu.

Brak sygnału dla kontroli pozytywnych (CMV RG QS 1–4) w zielonym kanale fluorescencyjnym

a) Wybrany do analizy danych PCR kanał fluorescencyjny nie spełnia wymagań protokołu

Do analizy danych wybrać zielony kanał fluorescencyjny dla analitycznej reakcji PCR pod kątem CMV oraz żółty kanał fluorescencyjny dla kontroli wewnętrznej PCR.

Komentarze i wskazówki

- b) Nieprawidłowe zaprogramowanie profilu temperaturowego w aparacie Rotor-Gene Q
- Porównać profil temperaturowy z protokołem. Patrz odpowiednia karta zastosowania i karta protokołu pod adresem **www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx**.
- c) Nieprawidłowa konfiguracja reakcji PCR
- Upewnić się, że badanie ustawiono poprawnie oraz zastosowano właściwy zestaw parametrów badania. W razie potrzeby powtórzyć reakcję PCR. Patrz odpowiednia karta zastosowania pod adresem **www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx**.
- d) Warunki przechowywania co najmniej jednego z odczynników wchodzących w skład zestawu nie spełniły zaleceń zawartych w części „Przechowywanie i sposób postępowania z odczynnikami”, strona 10.
- Sprawdzić warunki przechowywania i datę ważności na etykiecie zestawu odczynników i, w razie potrzeby, użyć nowego zestawu.
- e) Upłynęła data ważności zestawu *artus CMV QS-RGQ* Kit
- Sprawdzić warunki przechowywania i datę ważności na etykiecie zestawu odczynników i, w razie potrzeby, użyć nowego zestawu.

Komentarze i wskazówki

Słaby sygnał lub brak sygnału kontroli wewnętrznej negatywnej próbki osocza poddanej oczyszczeniu za pomocą zestawu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit lub zestawu QIASymphony DSP DNA Mini Kit w żółtym kanale fluorescencyjnym i jednoczesny brak sygnału w zielonym kanale

- | | |
|---|---|
| a) Warunki reakcji PCR nie są zgodne z protokołem | Sprawdzić warunki reakcji PCR (patrz wyżej) i, w razie potrzeby, powtórzyć PCR z prawidłowymi parametrami. |
| b) Wystąpiła inhibicja reakcji PCR | Sprawdzić, czy użytkownik korzysta ze zwalidowanej metody izolacji (patrz „Izolacja DNA i ustawianie badania w aparatach QIASymphony SP/AS”, strona 12) i ściśle przestrzega instrukcji. |
| c) Podczas izolacji utracono materiał DNA | Brak sygnału kontroli wewnętrznej może oznaczać utratę materiału DNA podczas izolacji. Sprawdzić, czy użytkownik korzysta ze zwalidowanej metody izolacji (patrz „Izolacja DNA i ustawianie badania w aparatach QIASymphony SP/AS”, strona 12) i ściśle przestrzega instrukcji.

Patrz również część „Niedostateczny uzysk kwasów nukleinowych”, wyżej. |

Komentarze i wskazówki

- d) Warunki przechowywania co najmniej jednego z odczynników wchodzących w skład zestawu nie spełniły zaleceń zawartych w części „Przechowywanie i sposób postępowania z odczynnikami”, strona 10. Sprawdzić warunki przechowywania i datę ważności na etykiecie zestawu odczynników i, w razie potrzeby, użyć nowego zestawu.
- e) Upłynęła data ważności zestawu *artus* CMV QS-RGQ Kit Sprawdzić warunki przechowywania i datę ważności na etykiecie zestawu odczynników i, w razie potrzeby, użyć nowego zestawu.

Sygnaly dla kontroli negatywnych w zielonym kanale fluorescencyjnym analitycznej reakcji PCR

- a) Podczas przygotowywania reakcji PCR doszło do zanieczyszczenia próbki Powtórzyć reakcję PCR z nowymi odczynnikami w powtórzeniach. Jeśli to możliwe, zamknąć próbki PCR niezwłocznie po dodaniu próbki badanej. Upewnić się, że przestrzeń robocza oraz aparaty są regularnie odkażane.
- b) Podczas izolacji doszło do zanieczyszczenia Powtórzyć izolację i reakcję PCR próbki testowej, korzystając z nowych odczynników. Upewnić się, że przestrzeń robocza oraz aparaty są regularnie odkażane.

Kontrola jakości

Zgodnie z poświadczonym certyfikatem ISO systemem zarządzania jakością firmy QIAGEN każda seria zestawu *artus* CMV QS-RGQ Kit jest testowana pod kątem wstępnie ustalonych specyfikacji w celu zapewnienia spójnej jakości produktu.

Ograniczenia

Wszystkie odczynniki są przeznaczone wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.

Z produktu może korzystać jedynie personel odpowiednio poinstruowany i przeszkolony w zakresie procedur diagnostycznych *in vitro*.

W celu osiągnięcia optymalnych wyników reakcji PCR należy ściśle przestrzegać instrukcji obsługi.

Należy zwracać uwagę na daty ważności wydrukowane na pudełku i etykietach wszystkich składników zestawu. Nie używać przeterminowanych składników.

Choć występują rzadko, mutacje w obrębie wysoce konserwatywnych rejonów genu wirusowego, do których przyłączają się startery i/lub sonda zestawu, mogą w takich przypadkach być przyczyną niedoszacowania miana wirusa lub niewykrycia obecności wirusa. Wiarygodność i skuteczność oznaczenia są regularnie weryfikowane.

Charakterystyka działania testu

Charakterystykę działania zestawu *artus* CMV QS-RGQ Kit można znaleźć pod adresem www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.

Symbole

Poniższa tabela zawiera opisy symboli, które mogą znajdować się na etykietach lub w niniejszym dokumencie.



<N>

Zawiera odczynniki wystarczające do wykonania <N> reakcji



Termin ważności



Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro



Numer katalogowy



Numer serii



Numer materiału



Składniki



Zawiera



Numer

GTIN

Globalny Numer Jednostki Handlowej

Rn

R oznacza wydanie instrukcji obsługi, a n oznacza numer wersji



Zakres temperatury



Producent



Zapoznać się z instrukcją użycia



Przeostoga

MASTER

Mieszanina Master

MG-SOL

Roztwór magnezu

QS

Wzorzec ilościowy

IC

Kontrola wewnętrzna

Informacje dotyczące zamawiania

Produkt	Spis treści	Nr kat.
<i>artus</i> CMV QS-RGQ Kit (24)	Na 24 reakcje: Mieszanina Master, roztwór magnezu, 4 wzorce ilościowe, kontrola wewnętrzna, woda (odpowiednia do PCR)	4503363
QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit	Na 96 przygotowań (po 1000 µl): zawiera 2 kartridże z odczynnikami, statywy na enzymy i akcesoria	937055
QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit	Na 192 przygotowania (po 200 µl): zawiera 2 kartridże z odczynnikami, statywy na enzymy i akcesoria	937036
QIASymphony DSP DNA Mini Kit	Na 192 przygotowania po 200 µl: zawiera 2 kartridże z odczynnikami, statywy na enzymy i akcesoria	937236
QIASymphony RGQ System	Aparaty QIASymphony SP, QIASymphony AS, Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM, wymagane akcesoria i materiały eksploatacyjne, obejmuje instalację i przeszkolenie	9001850

Aktualne informacje licencyjne oraz dotyczące wyłączenia odpowiedzialności dla poszczególnych produktów znajdują się w odpowiedniej instrukcji obsługi lub podręczniku użytkownika zestawu QIAGEN. Instrukcje obsługi lub podręczniki użytkownika zestawu QIAGEN są dostępne w witrynie **www.qiagen.com**. Można je także zamówić w serwisie lub u lokalnego dystrybutora firmy QIAGEN.

Strona celowo pozostawiona pusta

Nabycie tego produktu umożliwia nabywcę stosowanie go na potrzeby usług diagnostycznych in vitro świadczonych dla pacjentów. Niniejszym nie udziela się praw patentowych ani innych licencji żadnego typu poza powyższym prawem użytkownika wynikającym z nabycia produktu.

Znaki towarowe: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAAsymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).
Zastrzeżonych nazw, znaków towarowych itd. wykorzystywanych w niniejszym dokumencie, nawet jeżeli nie zostały oznaczone jako zastrzeżone, nie można uważać za niechronione przepisami prawa.

Zestaw *artus* CMV QS-RGQ Kit to zestaw diagnostyczny oznaczony znakiem CE zgodny z dyrektywą 98/79/WE Parlamentu Europejskiego i Rady w sprawie wyrobów medycznych używanych do diagnostyki in vitro. Produkt niedostępny w niektórych krajach.

Ograniczona umowa licencyjna dla zestawu *artus* CMV QS-RGQ Kit

Korzystanie z tego produktu oznacza zgodę nabywcy lub użytkownika produktu na następujące warunki:

1. Niniejszy produkt może być użytkowany wyłącznie zgodnie z protokołem dołączonym do produktu oraz niniejszą instrukcją i wyłącznie ze składnikami znajdującymi się w tym zestawie. Firma QIAGEN nie udziela żadnej licencji w zakresie praw własności intelektualnej do użytkowania składników niniejszego zestawu ze składnikami nienależącymi do zestawu z wyjątkiem przypadków opisanych w protokołach dołączonych do produktu, niniejszej instrukcji oraz dodatkowych protokołach dostępnych pod adresem www.qiagen.com. Niektóre dodatkowe protokoły zostały sformułowane przez użytkowników rozwiązań QIAGEN z myślą o innych użytkownikach rozwiązań QIAGEN. Takie protokoły nie zostały dokładnie przetestowane ani poddane procesowi optymalizacji przez firmę QIAGEN. Firma QIAGEN nie gwarantuje, że nie naruszają one praw osób trzecich.
2. Z wyjątkiem wyraźnie określonych licencji, firma QIAGEN nie udziela gwarancji, że ten zestaw i/lub jego stosowanie nie narusza praw stron trzecich.
3. Zestaw oraz jego składniki są przeznaczone do jednorazowego użytku, nie można ich ponownie używać, regenerować ani odsprzedawać.
4. Firma QIAGEN nie udziela żadnych innych licencji wyrażonych lub dorozumianych poza tymi, które są wyraźnie określone.
5. Nabywca i użytkownik zestawu zobowiązuje się nie podejmować działań, ani nie zezwalać innym osobom na podejmowanie działań, które mogą doprowadzić do wykonania lub umożliwić wykonanie zabronionych czynności wymienionych powyżej. Firma QIAGEN może wyegzekwować przestrzeganie zakazów niniejszej Umowy ograniczonej licencji i wnieść sprawę do dowolnego sądu, a także ma prawo zażądać zwrotu kosztów wszelkich postępowań i kosztów sądowych, w tym wynagrodzeń prawników, związanych z egzekwowaniem postanowień Umowy ograniczonej licencji lub wszelkich przysługujących jej praw własności intelektualnej w odniesieniu do zestawu i/lub jego składników.

Aktualne warunki licencyjne dostępne są na stronie www.qiagen.com.

HB-0356-006 1060926PL 154023595 05/2016

© 2010-2016 QIAGEN. Wszelkie prawa zastrzeżone.

