

artus[®] BK Virus QS-RGQ Kit Handbuch

Quantitative In-vitro-Diagnostik

Zur Verwendung mit den Geräten QIASymphony[®] SP/AS
und Rotor-Gene[®] Q

Version 1

IVD

CE

REF

4514363



QIAGEN GmbH, QIAGEN-Straße 1, D-40724 Hilden

R7 MAT

1062622

Inhaltsverzeichnis

Vorgesehener Verwendungszweck.....	4
Zusammenfassung und Erklärung.....	5
Informationen zu den Erregern	5
Verfahrensprinzip	6
Assay-Kontroll-Sets und Assay-Parameter-Sets	6
Mitgelieferte Materialien.....	8
Kitinhalt.....	8
Erforderliche, nicht mitgelieferte Materialien	9
Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen	10
Sicherheitshinweise.....	10
Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen	10
Lagerung und Handhabung der Reagenzien	11
Lagerung und Handhabung der Proben	11
Virale DNA-Aufreinigung.....	12
DNA-Aufreinigung und Assay-Konfiguration auf dem QIA Symphony SP/AS	13
PCR auf dem Rotor-Gene Q	19
Interpretation der Ergebnisse.....	20
Hilfe zur Fehlerbehebung	20
Qualitätskontrolle.....	27
Anwendungseinschränkungen	27
Leistungsmerkmale	27
Symbole	28

Bestellinformationen	30
----------------------------	----

Vorgesehener Verwendungszweck

Der *artus* BK Virus QS-RGQ Kit ist ein In-vitro-Test zur Quantifizierung der DNA des BK-Virus in biologischen Humanproben mittels Nukleinsäure-Amplifikation. Dieser diagnostische Testkit verwendet die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und wurde für die Verwendung mit den Geräten QIASymphony SP/AS und Rotor-Gene Q konfiguriert. Weitere Informationen zu spezifischen humanbiologischen Proben, für die der Kit validiert wurde, finden Sie in den Application Sheets (Anwendungsblättern) im Internet unter www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx.

QIAGEN treibt die Entwicklung und Validierung weiterer Anwendungen für *artus* QS-RGQ Kits, wie beispielsweise die Verwendung mit zusätzlichen Probentypen, aktiv voran.

Die aktuellste Version dieses Handbuchs und der dazu gehörenden Application Sheets (Anwendungsblätter) finden Sie im Internet unter www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx.

Der *artus* BK Virus QS-RGQ Kit ist für die Verwendung in Verbindung mit dem klinischen Bild sowie anderen Labormarkern zur Krankheitsprognose bestimmt.

QIAGEN überwacht die Leistung des Assays ständig und validiert neue Anwendungen, so dass die Nutzer darauf achten müssen, dass sie immer mit der aktuellsten Ausgabe der Gebrauchsanweisung arbeiten.

Hinweis: Prüfen Sie vor einer Testausführung die Verfügbarkeit neuer elektronischer Etikettierungsrevisionen im Internet unter www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx.

Alle Kits können mit den jeweiligen Anleitungen verwendet werden, wenn die Versionsnummer des Handbuchs und der weiteren Dokumentationsunterlagen mit der Versionsnummer des Kits übereinstimmt. Die Versionsnummer ist auf dem Etikett des Kartons

jedes Kits angegeben. QIAGEN gewährleistet die Kompatibilität aller Chargen des Testkits mit der gleichen Versionsnummer.

Zusammenfassung und Erklärung

Der *artus* BK Virus QS-RGQ Kit ist ein gebrauchsfertiges System zum Nachweis von BK-Virus-DNA mittels der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) im Gerät Rotor-Gene Q, nach Probenvorbereitung und Assay-Konfiguration mit den Geräten QIA Symphony SP/AS.

Informationen zu den Erregern

Das BK-Virus (BKV) ist ein DNA-Virus, das zur Familie der Polyomaviren gehört. Die Erstinfektion erfolgt meistens in der Kindheit und bleibt normalerweise symptomlos. Die Seroprävalenz beträgt bei Erwachsenen bis zu 90 %. Nach der Erstinfektion verbleibt das BKV latent in den Nierenzellen und kann bei einer Schwächung des Immunsystems, beispielsweise bei einer Transplantation, reaktiviert werden.

BKV-Infektionen wurden bei Nieren-Transplantatempfängern mit tubulointerstitieller Nephritis und Harnleiterstenose in Verbindung gebracht und bei Knochenmark-Transplantatempfängern mit hämorrhagischer Zystitis. Außerdem wurden sie mit Krankheitsmustern wie Gefäßerkrankungen, Lungenentzündung, Gehirnentzündung, Retinitis und sogar Multiorganversagen in Verbindung gebracht.

Eine anhaltende BKV-Replikation auf hohem Niveau ist das typische Anzeichen einer Polyomavirus-assoziierten Nephropathie (PVAN) bei Nierentransplantatempfängern. Klinisch relevante Infektionen sind meist auf immungeschwächte Patienten beschränkt.

Verfahrensprinzip

Der BK Virus RG Master enthält die Reagenzien und Enzyme zur spezifischen Amplifikation eines 274 bp langen Abschnitts des BK-Virus-Genoms sowie für die direkte Detektion dieses Amplifikats im Fluoreszenzkanal Cycling Green des Rotor-Gene Q.

Zusätzlich enthält der *artus* BK Virus QS-RGQ Kit ein zweites, heterologes Amplifikationssystem zum Nachweis einer möglichen PCR-Inhibition. Diese wird als interne Kontrolle (IC) im Fluoreszenzkanal Cycling Orange des Rotor-Gene Q nachgewiesen. Die Nachweisgrenze der analytischen BK-Virus-PCR wird dadurch nicht beeinträchtigt.

Externe Positivkontrollen (BK Virus RG QS 1 – 4) werden mitgeliefert, mit denen die Menge der viralen DNA bestimmt werden kann. Weitere Informationen finden Sie im entsprechenden Application Sheet (Anwendungsblatt) im Internet unter www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx.

Die Negativkontrolle (Wasser in PCR-Qualität) überwacht die PCR auf Kontaminierung und wird in der QIASymphony Software als **NTC** (No Template Control, Kontrolle ohne Template) bezeichnet.

Assay-Kontroll-Sets und Assay-Parameter-Sets

Assay-Kontroll-Sets bestehen aus einem Protokoll und zusätzlichen Parametern, wie beispielsweise der internen Kontrolle, für die Probenaufreinigung auf dem QIASymphony SP. Ein standardmäßiges Assay-Kontroll-Set ist für jedes Protokoll vorinstalliert.

Assay-Parameter-Sets bestehen aus einer Assay-Definition und zusätzlichen Parametern, wie Anzahl der Mehrfachbestimmungen und Anzahl der Assay-Standards, für die Assay-Konfiguration auf dem QIASymphony AS.

Für integrierte Läufe auf dem QIASymphony SP/AS ist das Assay-Parameter-Set unmittelbar mit einem vorbereitenden Assay-Kontroll-Set verknüpft, das den zugeordneten Probenaufräinigungsprozess spezifiziert.

Mitgelieferte Materialien

Kitinhalt

artus BK Virus QS-RGQ Kit			(24)
Katalognummer			4514363
Anzahl der Reaktionen			24
Farbe der	Name des Bestandteils	Symbol	Menge
Blau	BK Virus RG Master	MASTER _s	4 x 84 µl
Gelb	BK Virus Mg-Sol*	MG-SOL _s	400 µl
Rot	BK Virus QS 1 † (1 x 10 ⁴ Kopien/µl)	QS _s	200 µl
Rot	BK Virus QS 2 † (1 x 10 ³ Kopien/µl)	QS _s	200 µl
Rot	BK Virus QS 3 † (1 x 10 ² Kopien/µl)	QS _s	200 µl
Rot	BK Virus QS 4 † (1 x 10 ¹ Kopien/µl)	QS _s	200 µl
Grün	BK Virus RG IC‡	IC _s	1.000 µl
Weiß	Wasser (PCR-Qualität)		1.000 µl
Handbuch			1

* Magnesiumlösung.

† Quantifizierungsstandard.

‡ Interne Kontrolle.

§ Siehe Symbolliste und Definitionen auf Seite 28.

Erforderliche, nicht mitgelieferte Materialien

Wichtig: Stellen Sie sicher, dass die für dieses Verfahren verwendeten Geräte gemäß den Herstellerempfehlungen geprüft und kalibriert wurden.

Allgemeine Laborausrüstung

- Einstellbare Pipetten und sterile Pipettenspitzen mit Filter
- Vortex-Mischer
- Wasserbad, das zur Inkubation auf 37 °C temperiert werden kann
- Tischzentrifuge mit Rotor für 2-ml-Reaktionsröhrchen, mit der bei 6.800 x g zentrifugiert werden kann.

Zusätzliche Ausrüstung und Materialien zur Probenvorbereitung

- QIASymphony SP (Modul von QIASymphony RGQ) (Katalognr. 9001297)
- QIASymphony AS (Modul von QIASymphony RGQ) (Katalognr. 9001301)
- QIASymphony Software Version 4.0
- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit (Katalognr. 937036 oder 937055)

Zusätzliche Ausrüstung für PCR

- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM oder Rotor-Gene Q 5plex HRM (Modul von QIASymphony RGQ)
- Rotor-Gene Q Software ab Version 2.1

Hinweis: Zusätzliche Informationen zu Materialien, die für spezifische Anwendungen erforderlich sind, finden Sie in den entsprechenden Application Sheets (Anwendungsblättern) im Internet unter www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

Für in-vitro-diagnostische Anwendungen

Sicherheitshinweise

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen finden Sie in den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern (MSDS). Zu jedem QIAGEN Kit und zu jeder Kitkomponente können Sie das jeweilige Sicherheitsdatenblatt im PDF-Format im Internet unter www.qiagen.com/safety abrufen, einsehen und ausdrucken.

Sicherheitsinformationen zum verwendeten Aufreinigungskit finden Sie im Handbuch des entsprechenden Kits. Sicherheitsinformationen zu den Gerätemodulen finden Sie im Handbuch des entsprechenden Geräts.

Entsorgen Sie Proben, Flüssigkeiten und Assay-Abfall gemäß Ihren nationalen und örtlichen Sicherheits- und Umweltvorschriften.

Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

Beachten Sie stets Folgendes:

- Verwenden Sie sterile Pipettenspitzen mit Filter.
- Halten Sie die Röhren bei manuellen Arbeitsschritten möglichst geschlossen und vermeiden Sie Kontaminationen.
- Lassen Sie alle Komponenten vor Assay-Beginn bei Raumtemperatur (15 bis 25 °C) vollständig auftauen.
- Mischen Sie die Komponenten nach dem Auftauen (durch wiederholtes Auf- und Abpipettieren oder stoßweises Mischen auf dem Laborschüttler [Vortex]) und

zentrifugieren Sie dann kurz. Die Reagenzröhrchen müssen frei von Schaum und Luftblasen sein.

- Mischen Sie niemals Kitkomponenten aus Kits mit unterschiedlichen Chargennummern.
- Die benötigten Adapter müssen auf 2 bis 8 °C vorgekühlt sein.
- Arbeiten Sie zügig und halten Sie die PCR-Reagenzien bis zum Beladen der Geräte auf Eis oder im Kühlblock.
- Fahren Sie nach Abschluss eines Teils des Arbeitsablaufs zügig mit dem nächsten Arbeitsschritt fort. Der Transfer zwischen den Modulen (QIA Symphony SP zu QIA Symphony AS zu Rotor-Gene Q) muss jeweils innerhalb von 30 Minuten nach Abschluss des vorherigen Moduls vorgenommen werden.

Lagerung und Handhabung der Reagenzien

Die Komponenten des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits sollten bei -15 °C bis -30 °C gelagert werden – unter diesen Lagerbedingungen sind sie bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren (mehr als 2 mal) sollte vermieden werden, da dadurch die Leistungsfähigkeit des Assays verringert werden kann. Bei unregelmäßigem Gebrauch sollten deshalb die Reagenzien aliquotiert werden. Die Reagenzien sollten nicht länger als 5 Stunden bei 2 bis 8 °C gelagert werden.

Lagerung und Handhabung der Proben

Informationen zur Lagerung und Handhabung der Untersuchungsproben für spezifische Anwendungen finden Sie im entsprechenden Application Sheet (Anwendungsblatt) im Internet unter www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx.

Virale DNA-Aufreinigung

Der *artus* BK Virus QS-RGQ Kit wurde mit einem viralen DNA-Aufreinigungsschritt validiert, der auf dem QIASymphony SP mit einem QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit durchgeführt wurde. Alle Informationen zur Vorbereitung der Reagenzienkartusche für die Probenaufreinigung auf dem QIASymphony SP finden Sie im *QIASymphony DSP Virus-/Pathogen Kit Handbuch*.

Verwendung einer internen Kontrolle und Carrier-RNA (CARRIER)

Bei der Verwendung der QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits zusammen mit dem *artus* BK Virus QS-RGQ Kit muss die interne Kontrolle (BK Virus RG IC) im Aufreinigungsverfahren mitgeführt werden, um die Überwachung der Effizienz der Probenvorbereitung und des folgenden Assays zu ermöglichen. Außerdem kann für QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits die Vorbereitung von Carrier-RNA (CARRIER) erforderlich sein.

Genauere Informationen über die interne Kontrolle und die Verwendung der Carrier-RNA (CARRIER) finden Sie im entsprechenden Application Sheet (Anwendungsblatt) im Internet unter www.qiagen.com/products/artusbkvirusgpcrkitce.aspx.

Nukleinsäure-Ausbeute

Euate, die unter Verwendung von Carrier-RNA (CARRIER) hergestellt wurden, können deutlich mehr Carrier-RNA als gewünschte Nukleinsäuren enthalten. Wir empfehlen, die Ausbeute mithilfe von quantitativen Amplifikationsverfahren zu bestimmen.

Lagerung der Nukleinsäuren

Für die kurzfristige Lagerung von aufgereinigten Nukleinsäuren bis zu 24 Stunden empfehlen wir eine Lagertemperatur von 2 bis 8 °C. Für einen längeren Zeitraum als 24 Stunden empfehlen wir die Lagerung bei -20 °C.

Erste Schritte mit den Geräten QIASymphony SP/AS

1. Schließen Sie alle Schubladen und Abdeckungen.
2. Schalten Sie die Geräte QIASymphony SP/AS ein und warten Sie, bis die Bildschirmanzeige **Sample Preparation** (Probenvorbereitung) angezeigt wird und die Initialisierung abgeschlossen ist.
3. Melden Sie sich am Gerät an (die Schubladen werden daraufhin entsperrt).

DNA-Aufreinigung und Assay-Konfiguration auf dem QIASymphony SP/AS

Die folgende Beschreibung ist ein allgemeines Protokoll zur Verwendung der QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits. Detaillierte Informationen für eine spezifische Anwendung, die Angaben zu Volumen und Röhrchen umfassen, finden Sie im entsprechenden Application Sheet (Anwendungsblatt) im Internet unter www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx.

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Machen Sie sich mit der Bedienung der Geräte QIASymphony SP/AS vertraut. Die Gebrauchsanweisungen finden Sie in den mitgelieferten Handbüchern und in den aktualisierten Versionen im Internet unter www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx.
- Überprüfen Sie vor der ersten Verwendung einer Reagenzienkartusche (RC), dass die in der Kartusche (RC) enthaltenen Puffer QSL2 und QSB1 keinen Niederschlag enthalten. Falls erforderlich, entnehmen Sie die Tröge mit den Puffern QSL2 und QSB1 aus der Reagenzienkartusche (RC) und inkubieren Sie diese unter gelegentlichem Schütteln für 30 Minuten bei 37 °C, um den Niederschlag aufzulösen. Achten Sie darauf, die Tröge anschließend wieder in die korrekten Positionen zurückzustellen. Falls die Reagenzienkartusche (RC) schon angestochen wurde, verschließen Sie alle Tröge gut mit den Verschlussstreifen (Reuse Seal Strips) und inkubieren Sie die gesamte

Reagenzienkartusche (RC) für 30 Minuten bei 37 °C unter gelegentlichem Schütteln in einem Wasserbad.

- Vermeiden Sie zu kräftiges Schütteln der Reagenzienkartusche (RC); andernfalls könnte Schaum entstehen, der zu Problemen bei der Detektion des Flüssigkeitsstands führen könnte.
- Arbeiten Sie zügig und halten Sie die PCR-Reagenzien bis zum Beladen der Geräte auf Eis oder im Kühlblock.
- Die Reagenzienvolumen sind bei beiden Kits für 24 Reaktionen pro Lauf optimiert.
- Alle Reagenzien müssen vor der Verwendung vollständig aufgetaut, gemischt (durch wiederholtes Auf- und Abpipettieren oder durch schnelles Mischen auf einem Laborschüttler [Vortex]) und anschließend für mindestens 3 Sekunden bei 6.800 x g zentrifugiert worden sein. Vermeiden Sie Schaumbildung.
- Die Eluate aus der Probenvorbereitung und alle Komponenten des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits sind im Gerät mindestens so lange stabil, wie die Aufreinigung von 96 Proben und die Vorbereitung von 72 Assay-Reaktionen normalerweise dauert, einschließlich einer Transferzeit vom QIASymphony SP zum QIASymphony AS von bis zu 30 Minuten und einer Transferzeit vom QIASymphony AS zum Rotor-Gene Q von bis zu 30 Minuten.

Arbeiten vor Beginn

- Stellen Sie alle benötigten Mischungen her. Stellen Sie bei Bedarf Mischungen mit Carrier-RNA (CARRIER) und internen Kontrollen unmittelbar vor Beginn her. Weitere Informationen finden Sie im entsprechenden Application Sheet (Anwendungsblatt) im Internet unter www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgqpcrkite.aspx.
- Vergewissern Sie sich vor Start des Protokolllaufs, dass die Magnetpartikel vollständig resuspendiert sind. Schütteln Sie den Trog mit den Magnetpartikeln vor dem erstem Gebrauch für mindestens 3 Minuten kräftig auf einem Laborschüttler (Vortex).
- Nehmen Sie den Deckel von dem Magnetpartikeltrug ab und öffnen Sie die Enzym-Röhrchen, bevor Sie die Reagenzienkartusche (RC) laden. Achten Sie darauf, dass das Enzym-Rack auf Raumtemperatur (15 bis 25 °C) äquilibriert wurde.

- Stellen Sie sicher, dass der Durchstechdeckel (PL) richtig auf der Reagenzienkartusche (RC) positioniert ist und der Deckel des Magnetpartikeltrags entfernt ist, oder – falls Sie eine bereits gebrauchte Reagenzienkartusche (RC) verwenden –, dass die Verschlussstreifen (Reuse Seal Strips) entfernt sind.
- Wenn die Proben mit Barcodes markiert sind, stellen Sie diese so in den Röhrchenträger, dass die Barcodes in Richtung des Barcode-Lesers auf der linken Seite der Schublade „Sample“ (Probe) im QIASymphony SP zeigen.

Konfiguration des QIASymphony SP

1. Schließen Sie alle Schubladen und die Abdeckungen der Geräte QIASymphony SP/AS.
2. Schalten Sie die Geräte ein und warten Sie, bis die Bildschirmanzeige **Sample Preparation** angezeigt wird und die Initialisierung abgeschlossen ist.

Der Netzschalter befindet sich unten links an dem Gerät QIASymphony SP.

3. Melden Sie sich an den Geräten an.
4. Bereiten Sie die folgenden Schubladen nach dem entsprechenden Application Sheet (Anwendungsblatt) im Internet unter

www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx vor.

- Schublade „Waste“ (Abfall);
Führen Sie nach der Vorbereitung einen Inventar-Scan durch.
 - Schublade „Eluate“ (Eluat);
Führen Sie nach der Vorbereitung einen Inventar-Scan durch.
 - Schublade „Reagents and Consumables“ (Reagenzien und Verbrauchsartikel);
Führen Sie nach der Vorbereitung einen Inventar-Scan durch.
 - Schublade „Sample“
5. Wählen Sie auf dem Touchscreen des QIASymphony die Konfiguration **Integrated run** (integrierter Lauf) aus und geben Sie die erforderlichen Informationen zu jeder Probencharge ein, die verarbeitet werden soll.

6. Wählen Sie ein Assay-Parameter-Set für den Lauf aus, und ordnen Sie dieses und die entsprechende AS-Charge den Proben zu.

Informationen über das Assay-Parameter-Set und das vorgewählte Elutionsvolumen finden Sie im entsprechenden Application Sheet (Anwendungsblatt).

Weitere Informationen zu integrierten Läufen auf dem QIASymphony SP/AS finden Sie in den Handbüchern der Geräte.

7. Beim Konfigurieren eines integrierten Laufs prüfen Sie die korrekte Zuordnung des Labormaterials für die Proben, des Probentyps (Probe, EC+ und EC-) und der Volumen. Informationen über Verbrauchsartikel und Komponenten für die einzelnen Schubladen finden Sie im entsprechenden Application Sheet (Anwendungsblatt).
8. Nachdem alle Informationen über alle Probenchargen des integrierten Laufs eingegeben sind, klicken Sie auf die Schaltfläche **OK**, um die Konfiguration **Integrated run** zu verlassen.
9. Der Status aller Chargen in der Übersicht des integrierten Laufs wechselt von **LOADED** (Beladen) zu **QUEUED** (Verarbeitungsbereit). Sobald eine Charge verarbeitungsbereit ist, wird die Schaltfläche **Run** (Ausführen) angezeigt. Drücken Sie auf die Schaltfläche **Run**, um das Protokoll zu starten.

Alle Verarbeitungsschritte werden vollautomatisch durchgeführt.

Konfiguration des QIASymphony AS

1. Öffnen Sie die Schubladen des QIASymphony AS, nachdem ein integrierter Lauf verarbeitungsbereit ist. Die zum Beladen erforderlichen Komponenten werden auf dem Touchscreen angezeigt.
2. Führen Sie stets folgende Schritte vor einem integrierten Lauf aus:
 - Setzen Sie den Spitzenauswurfschacht ein
 - Entsorgen Sie den Spitzenabfallbeutel
 - Setzen Sie einen leeren Spitzenabfallbeutel ein

3. Definieren und beladen Sie das(die) Assay-Rack(s).

Das(Die) Assay-Rack(s) in vorgekühltem(n) Adapter(n) ist(sind) auf den(die) „Assay“-Stellplatz(plätze) geladen.

Informationen über die Assay-Racks finden Sie im entsprechenden Application Sheet (Anwendungsblatt) im Internet unter www.qiagen.com/products/artushcvrgpcrkite.aspx.

4. Überprüfen Sie die Temperatur in den Kühlpositionen.

Wenn die festgelegte Kühltemperatur erreicht ist, wird das Sternchen neben jedem Stellplatz grün angezeigt.

5. Vereinigen Sie den Inhalt aller Rörchen mit BK Virus RG Master eines Kits vor Verwendung in einem einzigen Rörchen.

Hinweis: Viskose Reagenzien können mit manuellen Pipetten eventuell schwierig zu pipettieren sein. Stellen Sie sicher, dass das gesamte Volumen des BK Virus RG Master in das Rörchen transferiert wird.

6. Füllen Sie jedes Reagenzrörchen mit der notwendigen Menge des passenden Reagenzes gemäß den Ladeinformationen der Geräte-Software.

Hinweis: Alle Reagenzien müssen vor der Verwendung vollständig aufgetaut, gemischt (durch mehrmaliges Auf- und Abpipettieren oder durch schnelles Mischen auf einem Laborschüttler [Vortex]) und anschließend für mindestens 3 Sekunden bei $6.800 \times g$ zentrifugiert worden sein. Vermeiden Sie Schaum und Luftblasen, da diese zu Fehlern bei der Detektion führen können. Arbeiten Sie zügig und halten Sie die PCR-Reagenzien bis zum Beladen der Geräte auf Eis oder im Kühlblock.

7. Beladen Sie das Reagenzien-Rack und stellen Sie die Reagenzrörchen ohne Deckel in die jeweilige Position des vorgekühlten Adapters für Reagenzien gemäß dem entsprechenden Application Sheet (Anwendungsblatt).

8. Beladen Sie die Schubladen „Eluate and Reagents“ (Eluat und Reagenzien) und „Assays“ mit Einmal-Filterspitzen. Die erforderliche Anzahl des jeweiligen Filterspitzentyps finden Sie im entsprechenden Application Sheet (Anwendungsblatt).

9. Schließen Sie die Schubladen „Eluate and Reagents“ und „Assays“.

10. Drücken Sie nach dem Schließen jeder Schublade auf **Scan**, um den Inventar-Scan der jeweiligen Schublade zu starten.

Der Inventar-Scan prüft die Stellplätze, Adapter, Filterspitzen und den Spitzenauswurfschacht sowie das korrekte Laden der spezifischen Reagenzvolumen. Beheben Sie, falls erforderlich, etwaige Fehler.

Die Assay-Konfiguration beginnt automatisch, nachdem der Aufreinigungsschritt auf dem QIASymphony SP beendet ist und die Eluat-Racks in das QIASymphony AS überführt wurden.
11. Drücken Sie nach Ende des Laufs auf der Bildschirmanzeige **Overview** (Übersicht) der Assay-Konfiguration auf die Schaltfläche **Remove** (Entfernen). Öffnen Sie die Schublade „Assays“ und entnehmen Sie die Assay-Racks.
12. Laden Sie die Ergebnis- und die Cyclor-Datei herunter.
13. Wenn auf dem QIASymphony AS mehrere Chargen in einem integrierten Lauf konfiguriert sind, beladen Sie die Schubladen des QIASymphony AS erneut, beginnend bei Schritt 1.
14. Fahren Sie fort mit Abschnitt „PCR auf dem Rotor-Gene Q Thermocycler“ auf Seite 19.
15. Führen Sie die regelmäßig durchzuführenden Wartungsarbeiten am QIASymphony AS während des PCR-Laufs auf dem Rotor-Gene Q oder später durch.

Reinigen Sie bei integriertem Betrieb alle Geräte nach Abschluss des gesamten Arbeitsablaufs.

Beachten Sie die Wartungsanweisungen im *QIASymphony SP/AS User Manual – General Description*. Führen Sie die Wartungsarbeiten unbedingt regelmäßig durch, um die Gefahr von Kreuzkontaminationen so gering wie möglich zu halten.

PCR auf dem Rotor-Gene Q

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Machen Sie sich vor Beginn des Protokolls mit dem Thermocycler Rotor-Gene Q vertraut. Siehe Anwenderhandbuch des Geräts.
 - Achten Sie darauf, dass bei jedem PCR-Lauf alle 4 Quantifizierungsstandards und mindestens eine Negativkontrolle (Wasser in PCR-Qualität) mitgeführt werden. Zur Erstellung einer Standardkurve verwenden Sie bei jedem PCR-Lauf alle 4 mitgelieferten Quantifizierungsstandards (BK Virus QS 1 – 4).
1. Schließen Sie die PCR-Röhrchen und setzen Sie diese in den 72-Well-Rotor des Rotor-Gene Q ein.
 2. Achten Sie darauf, die Rotor-Gene Q 4-Strip-Tubes in der richtigen Orientierung einzusetzen, damit die Positionsnummern von Kühladapter und Rotor übereinstimmen.
 3. Setzen Sie unbedingt den Schließring (locking ring, Zubehör des Rotor-Gene Q Thermocyclers) auf den Rotor, um ein unbeabsichtigtes Öffnen der Röhrchen während des Laufs zu verhindern.
 4. Übertragen Sie die Cyclex-Datei vom QIASymphony AS auf den Rotor-Gene Q Computer.
 5. Erstellen Sie für den Nachweis der BK-Virus-DNA ein Temperaturprofil und starten Sie den Lauf nach dem entsprechenden Anwendungsblatt im Internet unter **www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx**.
Software-spezifische Informationen zum Programmieren des Rotor-Gene Q Thermocyclers finden Sie im entsprechenden Protokollblatt *Settings to run artus QS RGQ Kits* im Internet unter **www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx**.

Interpretation der Ergebnisse

Detaillierte Informationen zur Interpretation der Ergebnisse finden Sie im entsprechenden Application Sheet (Anwendungsblatt) im Internet unter www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx.

Hilfe zur Fehlerbehebung

In diesem Kapitel finden Sie nützliche Hinweise, die Ihnen bei der Lösung eventuell auftretender Probleme helfen können. Kontaktinformationen finden Sie auf der Rückseite dieses Handbuchs oder im Internet unter www.qiagen.com.

Kommentare und Vorschläge

Allgemeine Handhabung

Auf dem Touchscreen angezeigte Fehlermeldung	Informationen zu einer während eines integrierten Laufs angezeigten Fehlermeldung finden Sie in den mit den Geräten gelieferten Benutzerhandbüchern.
--	--

Niederschlag im Reagenzientrog einer geöffneten Kartusche des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits

- | | |
|---------------------------|--|
| a) Verdunstung von Puffer | Übermäßige Verdunstung kann zu erhöhter Salzkonzentration oder verringerten Alkoholkonzentrationen in den Puffern führen. Verwerfen Sie die Reagenzienkartusche (RC). Stellen Sie sicher, dass die Puffertröge von teilweise aufgebrauchten Reagenzienkartuschen (RC) mit wiederverwendbaren Dichtungstreifen dicht verschlossen sind, wenn sie nicht für eine Nukleinsäure-Aufreinigung verwendet werden. |
|---------------------------|--|

Kommentare und Vorschläge

- b) Lagerung der Reagenzienkartusche (RC)
- Die Lagerung von Reagenzienkartuschen (RC) bei Temperaturen unter 15 °C kann zur Bildung von Niederschlägen führen. Falls nötig, entnehmen Sie die Tröge mit Puffer QSL2 und QSB1 aus der Reagenzienkartusche (RC) und inkubieren Sie diese für 30 Minuten bei 37 °C unter gelegentlichem Schütteln in einem Wasserbad, um den Niederschlag zu lösen. Achten Sie darauf, die Tröge anschließend wieder in die korrekten Positionen zurückzustellen. Wenn die Reagenzienkartusche (RC) schon angestochen wurde, stellen Sie sicher, dass die Tröge mit den Verschlussstreifen (Reuse Seal Strips) dicht verschlossen sind und inkubieren Sie die komplette Reagenzienkartusche (RC) unter gelegentlichem Schütteln für 30 Minuten in einem Wasserbad bei 37 °C.

Geringe Nukleinsäure-Ausbeute

- a) Magnetpartikel nicht vollständig resuspendiert
- Vergewissern Sie sich vor Start des Protokolllaufs, dass die Magnetpartikel vollständig resuspendiert sind. Schütteln Sie vor Gebrauch für mindestens 3 Minuten auf einem Laborschüttler (Vortex).
- b) Gefrorene Proben nach Auftauen nicht gründlich gemischt
- Tauen Sie gefrorene Proben unter leichtem Schütteln auf, so dass eine gründliche Durchmischung gewährleistet ist.
- c) Keine Carrier-RNA (CARRIER) zugegeben
- Rekonstituieren Sie die Carrier-RNA (CARRIER) in Puffer AVE (AVE) oder ATE (ATE) und mischen Sie diese mit dem geeigneten Volumen Puffer AVE (AVE) oder ATE (ATE), wie im entsprechenden Application Sheet

Kommentare und Vorschläge

- (Anwendungsblatt) im Internet unter www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx beschrieben. Wiederholen Sie die Aufreinigung mit neuen Proben.
- d) Nukleinsäuren abgebaut Die Proben wurden nicht ordnungsgemäß gelagert oder zu oft eingefroren und wieder aufgetaut. Wiederholen Sie die Aufreinigung mit neuen Proben.
- e) Unvollständige Lyse der Proben Überprüfen Sie vor Gebrauch, dass die Puffer QSL2 und QSB1 keine Niederschläge enthalten. Falls erforderlich, entnehmen Sie die Tröge mit den Puffern QSL1 und QSB1 aus der Reagenzienkartusche (RC) und inkubieren Sie sie unter gelegentlichem Schütteln für 30 Minuten bei 37 °C, um den Niederschlag aufzulösen. Wenn die Reagenzienkartusche (RC) schon angestochen wurde, verschließen Sie alle Tröge gut mit den Verschlussstreifen (Reuse Seal Strips) und inkubieren Sie die gesamte Reagenzienkartusche (RC) für 30 Minuten bei 37 °C unter gelegentlichem Schütteln in einem Wasserbad.
- f) Pipettenspitze mit unlöslichem Material verstopft Vor Durchführung des QIA Symphony Nukleinsäure-Aufreinigungsprotokolls wurde in der Probe vorhandenes unlösliches Material nicht entfernt. Zum Entfernen unlöslichen Materials bei Anwendungen zum Nachweis viraler Nukleinsäuren zentrifugieren Sie die Probe für 1 Minute bei 3.000 x g und überführen den Überstand in ein neues Probenröhrchen.

Kommentare und Vorschläge

QIASymphony AS detektiert unzureichende Menge an Master-Mix

Master wurde nicht vollständig in das Röhrchen überführt

Vereinigen Sie den Inhalt aller Röhrchen mit BK Virus RG Master eines Kits vor Verwendung in einem einzigen Röhrchen. Viskose Reagenzien können mit manuellen Pipetten eventuell schwierig zu pipettieren sein. Stellen Sie sicher, dass das gesamte Volumen des Masters in das Röhrchen transferiert wird.

Bei viskosen Reagenzien empfehlen wir, ein um 5 % größeres Volumen anzusaugen, wenn mit manuellen Pipetten gearbeitet wird (stellen Sie z. B. bei einem Volumen von 800 µl die Pipette auf 840 µl ein).

Alternativ können Sie, nachdem Sie die Flüssigkeit langsam dispensiert und einen „Blowout“ an der Wandung des Zielröhrchens durchgeführt haben, die Pipettenspitze aus der Flüssigkeit herausziehen, den Pipettenkolben loslassen und weitere 10 Sekunden warten. Dabei läuft die restliche Flüssigkeit die Spitze hinunter und kann anschließend durch ein zweites Drücken des Pipettenkolbens ausgeblasen werden. Durch Verwendung spezieller PCR-geeigneter „Low-Retention“-Filterpipettenspitzen kann die Wiedergewinnung der Flüssigkeit verbessert werden.

Kein Signal bei den Positivkontrollen (BK Virus RG QS 1 - 4) im Fluoreszenzkanal Cycling Green

a) Der ausgewählte Fluoreszenzkanal für die PCR-Auswertung

Wählen Sie für die Auswertung den Fluoreszenzkanal Cycling Green für die analytische BK-Virus-PCR und den Fluoreszenzkanal Cycling Orange für die PCR der

Kommentare und Vorschläge

- entspricht nicht dem Protokoll internen Kontrolle aus.
- b) Programmierung des Temperaturprofils für den Rotor-Gene Q ist nicht korrekt Vergleichen Sie das Temperaturprofil mit dem Protokoll. Siehe entsprechendes Application Sheet (Anwendungsblatt) und Protocol Sheet (Protokollblatt) im Internet unter **www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx**.
- c) Fehlerhafte Konfiguration der PCR Überprüfen Sie, ob die Assay-Konfiguration korrekt ausgeführt wurde und ob das korrekte Assay-Parameter-Set verwendet wurde. Wiederholen Sie gegebenenfalls die PCR.
Siehe entsprechendes Application Sheet (Anwendungsblatt) im Internet unter **www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx**.
- d) Die Lagerbedingungen einer oder mehrerer Komponenten des Kits entsprachen nicht den Anweisungen in „Lagerung und Handhabung der Reagenzien“ auf Seite 11. Überprüfen Sie sowohl die Lagerbedingungen als auch das Verfallsdatum der Reagenzien auf dem Etikett des Kits und verwenden Sie gegebenenfalls einen neuen Kit.
- e) Das Verfallsdatum des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits ist Überprüfen Sie sowohl die Lagerbedingungen als auch das Verfallsdatum der Reagenzien auf dem Etikett des Kits und verwenden Sie gegebenenfalls einen neuen Kit.

Kommentare und Vorschläge

abgelaufen

Schwaches oder ausbleibendes Signal der internen Kontrolle einer negativen Plasmaprobe, die mit dem QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit aufgereinigt wurde, im Fluoreszenzkanal Cycling Orange bei gleichzeitiger Abwesenheit eines Signals im Kanal Cycling Green

- | | |
|--|---|
| a) Die PCR-Bedingungen entsprechen nicht dem Protokoll | Überprüfen Sie die Bedingungen der PCR (siehe oben) und wiederholen Sie gegebenenfalls die PCR mit korrigierten Einstellungen. |
| b) Die PCR wurde inhibiert | Verwenden Sie unbedingt das validierte Aufreinigungsverfahren (siehe „DNA-Aufreinigung und Assay-Konfiguration auf dem QIASymphony SP/AS“ auf Seite 13) und halten Sie sich exakt an die Anweisungen. |
| c) DNA ging bei der Aufreinigung verloren | Ein fehlendes Signal der internen Kontrolle kann auf einen Verlust der DNA bei der Nukleinsäure-Aufreinigung hindeuten. Verwenden Sie unbedingt das validierte Aufreinigungsverfahren (siehe „DNA-Aufreinigung und Assay-Konfiguration auf dem QIASymphony SP/AS“ auf Seite 13) und halten Sie sich exakt an die Anweisungen.

Siehe auch „Geringe Nukleinsäure-Ausbeute“ oben. |
| d) Die Lagerbedingungen einer oder mehrerer Komponenten des Kits entsprachen nicht den Anweisungen in „Lagerung und Handhabung der | Überprüfen Sie sowohl die Lagerbedingungen als auch das Verfallsdatum der Reagenzien auf dem Etikett des Kits und verwenden Sie gegebenenfalls einen neuen Kit. |

Kommentare und Vorschläge

Reagenzien“ auf Seite
11

- e) Das Verfallsdatum des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits ist abgelaufen
- Überprüfen Sie sowohl die Lagerbedingungen als auch das Verfallsdatum der Reagenzien auf dem Etikett des Kits und verwenden Sie gegebenenfalls einen neuen Kit.

Signale bei den Negativkontrollen im Fluoreszenzkanal Cycling Green der analytischen PCR

- a) Kontamination bei Vorbereitung der PCR
- Wiederholen Sie die PCR mit Replikaten mit noch unbenutzten Reagenzien.
- Verschließen Sie die einzelnen PCR-Röhrchen nach Möglichkeit jeweils direkt nach Zugabe der zu untersuchenden Probe.
- Stellen Sie sicher, dass Arbeitsflächen und Geräte regelmäßig dekontaminiert werden.
- b) Kontamination bei der Aufreinigung
- Wiederholen Sie Aufreinigung und PCR der zu untersuchenden Proben unter Verwendung neuer Reagenzien.
- Stellen Sie sicher, dass Arbeitsflächen und Geräte regelmäßig dekontaminiert werden.

Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagementsystem von QIAGEN wird jede Charge des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

Anwendungseinschränkungen

Alle Reagenzien dürfen ausschließlich zur In-vitro-Diagnostik verwendet werden.

Die Anwendung muss durch Personal erfolgen, das speziell in In-vitro-Diagnostika-Verfahren unterrichtet und ausgebildet wurde.

Die genaue Einhaltung der Anweisungen des Benutzerhandbuchs ist erforderlich, um optimale PCR-Ergebnisse zu erhalten.

Die auf der Verpackung und den Etiketten der einzelnen Komponenten angegebenen Verfallsdaten sind zu beachten. Abgelaufene Reagenzien dürfen nicht benutzt werden.

Selten auftretende Mutationen innerhalb der von den Primern und/oder der Sonde des Kits abgedeckten hochkonservierten Bereichen des Virengenoms können, wenn sie vorliegen, zu einer Unterbestimmung führen oder dazu, dass die Anwesenheit des Virus nicht detektiert wird. Validität und Leistung des Assays werden regelmäßig überprüft, um bei Bedarf Veränderungen vornehmen zu können.

Leistungsmerkmale

Die Leistungsmerkmale des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits finden Sie im Internet unter www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx.

Symbole

Die folgende Tabelle beschreibt die Symbole, die auf Etiketten oder in diesem Handbuch vorkommen können.



<N>

Inhalt ausreichend für <N> Reaktionen



Verfallsdatum



In-vitro-Diagnostikum



Katalognummer



Chargennummer



Materialnummer



Komponenten



Enthält



Anzahl

GTIN

Internationale Artikelnummer

Rn

R steht für Revision des Handbuchs, und n ist die Revisionsnummer



Zulässiger Temperaturbereich



Hersteller



Beachten Sie die Anwendungshinweise



Achtung

MASTER

Master

MG-SOL

Magnesiumlösung

QS

Quantifizierungsstandard

IC

Interne Kontrolle

Bestellinformationen

Produkt	Inhalt	Katalognr.
<i>artus</i> BK Virus QS-RGQ Kit (24)	Für 24 Reaktionen: Master, Magnesiumlösung, 4 Quantifizierungsstandards, interne Kontrolle, Wasser (PCR-Qualität)	4514363
QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit	Für 96 Präparationen (jeweils 1.000 µl): enthält 2 Reagenzienkartuschen und Enzym-Racks sowie Zubehör	937055
QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit	Für 192 Präparationen (jeweils 200 µl): enthält 2 Reagenzienkartuschen und Enzym-Racks sowie Zubehör	937036
QIASymphony RGQ System	QIASymphony SP, QIASymphony AS, Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM, erforderliches Zubehör und Verbrauchsmaterial, Installation und Schulung	9001850

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische rechtliche Hinweise finden Sie im Handbuch des jeweiligen QIAGEN Kits. Handbücher und Gebrauchsanweisungen zu QIAGEN Kits finden Sie im Internet unter www.qiagen.com oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder bei Ihrem örtlichen Händler angefordert werden.

Notizen

Notizen

Der Kauf dieses Produkts berechtigt den Käufer zu dessen Nutzung in der humanmedizinischen In-vitro-Diagnostik. Eine allgemeine Patent- oder sonstige Lizenz, welche über vorgenanntes Nutzungsrecht des Käufers dieses Produkts hinausgeht, wird nicht gewährt.

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

Eingetragene Marken, Warenzeichen usw., die in diesem Dokument verwendet werden, auch wenn sie nicht ausdrücklich als solche gekennzeichnet sind, gelten als gesetzlich geschützt.

Der *artus* BK Virus QS-RGQ Kit ist ein Diagnostikkit mit CE-Kennzeichnung entsprechend der europäischen Richtlinie 98/79/EG über In-vitro-Diagnostika. Nicht in allen Ländern erhältlich.

Eingeschränkte Nutzungsvereinbarung für den *artus* BK Virus QS-RGQ Kit

Mit der Nutzung dieses Produkts erkennen Käufer und Nutzer des Produkts die folgenden Bedingungen an:

1. Das Produkt darf nur gemäß den Angaben in den Protokollen und in diesem Handbuch zu diesem Produkt und ausschließlich mit den Komponenten, die im Kit geliefert werden, verwendet werden. QIAGEN gewährt im Rahmen Ihrer Eigentumsrechte keinerlei Lizenz, die zum Kit gehörenden Komponenten mit anderen Komponenten, die nicht zum Kit gehören, zu verwenden oder zu kombinieren, mit Ausnahme der in den Protokollen, die mit dem Produkt bereitgestellt werden, in diesem Handbuch und in zusätzlichen, im Internet unter www.qiagen.com verfügbaren Protokollen beschriebenen Anwendungen. Einige dieser Zusatzprotokolle wurden von Nutzern für Nutzer von QIAGEN Produkten bereitgestellt. Diese Protokolle sind nicht durch QIAGEN gründlich getestet oder optimiert. Weder garantiert QIAGEN für sie noch garantiert QIAGEN, dass sie keine Rechte Dritter verletzen.
2. Über die ausdrücklich erwähnten Lizenzanwendungen hinaus übernimmt QIAGEN keinerlei Garantie dafür, dass dieser Kit und/oder die mit ihm durchgeführten Anwendungen die Rechte Dritter nicht verletzen.
3. Dieser Kit und seine Komponenten sind für den einmaligen Gebrauch lizenziert und dürfen nicht wiederverwendet, aufgearbeitet oder weiterverkauft werden.
4. QIAGEN lehnt außer der ausdrücklich gewährten Lizenzgewährung jede weitere Lizenzgewährung ab, sowohl ausdrücklich als auch konkludent.
5. Käufer und Nutzer des Kits stimmen zu, keinerlei Schritte zu unternehmen oder anderen die Einleitung von Schritten zu gestatten, die zu unerlaubten Handlungen im obigen Sinne führen könnten oder solche erleichtern könnten. QIAGEN kann die Verbote dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung an jedem Ort gerichtlich geltend machen und wird sämtliche Ermittlungs- und Gerichtskosten, inklusive Anwaltsgebühren, zurückfordern, die ihr bei der Geltendmachung dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung oder irgendeines ihrer geistigen Eigentumsrechte im Zusammenhang mit dem Kit und/oder dessen Komponenten entstehen.

Aktualisierte Nutzungs- und Lizenzbedingungen finden Sie im Internet unter www.qiagen.com.

HB-0399-007 1062622 154023597 05/2016

© 2010-2016 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

