

Tekniske spørsmål og svar om SAVD

A. TRANSPORT, LAGRING OG HOLDBARHET AV SAVD

1. Hvordan skal SAVD-testen transporteres?

Alle elementer som brukes i SAVD, er frysetørket og ferdigpreparert. Dette gjør transport veldig enkelt.

2. Hvilken temperatur skal komponentene lagres ved?

Temperatur ved lagring av SAVD-komponenter er følgende; for langtidslagring opptil 6 måneder er temperatur for lagring +5 til +12 grader C. For lagring opptil 3 måneder er vanlig romtemperatur tilfredsstillende. Vær imidlertid oppmerksom på at SAVD-komponentene skal lagres mørkt og ikke bli eksponert for sterkt sollys. RNA er et ustabilt molekyl og er sensitiv for nedbryting som kan være forårsaket av bla. feil oppbevaring, temperatur, direkte sollys eller bakterievekst. I henhold til SAVD brukermanual anbefales analyse av testen samme dag som prøvetaking.

3. Hvor lang er holdbarheten til de ulike komponentene?

Holdbarheten til de ulike komponentene av SAVD sitt testsett:

8-brønners SAVD-stripe – 6 måneder fra produksjonsdato.

Positivt kontrollrør – 6 måneder fra produksjonsdato.

SAVD buffer - 6 måneder fra produksjonsdato.

Kontrollbufferrør – 6 måneder fra produksjonsdato.

Normaliseringsbufferrør – 6 måneder fra produksjonsdato.

Steril vattpinne – 3 år fra produksjonsdato.

Steril pensel – 3 år fra produksjonsdato.

4. Hva gjør man ved avvik i buffere og reagenser?

[Fyll ut reklamasjonsskjemaet.](#)

B. PIPETTERING OG BRØNNER

1. Hvor lang tid kan det gå fra pipetteringen er ferdig til PCR-maskinen kjøres?

Produsenten GeneMe har kun gjort analyser der PCR kjøres direkte etter pipettering og senest 30 min etter første rør ble pipettert, men antakeligvis vil det også fungere å vente lengre. Anbefalingen er derfor å pipettere alle prøvene for så å kjøre PCR direkte.

2. Kan jeg bruke SAVD-stripene dersom strukturen ser annerledes ut?

Ja, under transport og/eller produksjon kan strukturen kollapse, dette vil endre utseende, men innhold og funksjon er uendret og rørene kan brukes som vanlig. Gjør en test ved bruk

av rør med endret utseende til forberedelse av positiv kontroll, du vil da se at signalet er uendret.



C. KONTROLLPRØVER

1. Hva gjør man dersom den positive kontrollen ikke gir signal?

Sjekk «No baseline subtraction». Vises den positive kontrollen uten stigning i RFU, så er testen ugyldig og må kjøres på nytt ved bruk av de samme pasientprøvene (i.e. man trenger ikke å swabe på nytt). Husk at normalisering buffer skal brukes til å lage positiv kontroll, videre skal løsningen overføres til ett av rørene i en 8-brønns SAVD-stipe. Løsningen skal bli blå til slutt (enten blå med en gang i normaliseringsbufferen, eller først gul i normaliseringsbuffer for så å bli blå når den blandes med reagensene i SAVD – stripsene).

2. Må vi bruke to positive og to negative kontroller ved bruk av to forskjellige LOTnummer?

Ja. Alternativt kan du kun bruke kontroller og SAVD-striper fra et nytt LOT-nummer og kjøre restene fra gammelt LOT-nummer ved en senere anledning når færre tester skal kjøres.

D. MASKINKJØRING

1. Hvordan skal rørene plasseres i brønnene for å unngå deformering (crushing) av rørene?

Det er meget viktig med balansert plassering og å få et jevnt trykk når lokket på maskinen legges på. For å få maksimalt utjevnet trykk, anbefales det å benytte støttestriper. Rør som er plassert i ytterkanten på maskinen, har større sannsynlighet for å bli deformert, sammenlignet med rørene plassert lengre inne i brønnblokken. Enhver endring av tilstand i plasten vil påvirke fluorescenssignalene, fordi den er basert på refleksjon inne i hvert rør. Fylling av termosyklusblokken skal være i henhold til maskinprodusentens veiledning. Visuell inspeksjon av striper etter reaksjon for å kontrollere form og væsknivå (hvis ingen fordampning har skjedd), tillater å eliminere ikke pålitelige resultater i henhold til håndtering med plast og maskin. 5 (5) Plasser alle striper parallelt vertikalt, like mange på hver side, og unngå kantene. Fyll opp alle resterende brønner med tomme rør levert av GeneMe. I eksempel fra maskinprodusent Bio-Rad sin brukermanual side 9 står følgende:

WARNING! When running the CFX96 system, always balance the tube strips or cut microplates in the wells (Figure 7). For example, if you run one tube strip on the left side of the block, run an empty tube strip (with caps) on the right side of the block to balance the pressure applied by the heated lid.

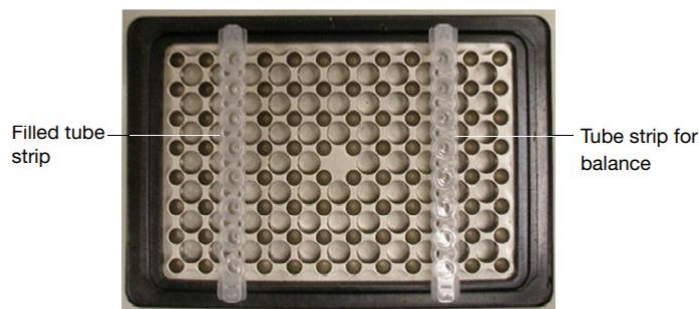


Figure 7. Balance the tube strips or cut microplates in the block.

WARNING! Be sure that nothing is blocking the lid when it closes. Although there is a safety mechanism to prevent the lid from closing if it senses an obstruction, do not place anything in the way of the closing lid.

2. Hvordan justeres og beregnes threshold?

E. RESULTATER

1. Hva er grunnen til ugyldige resultat?

Ugyldig resultat oppstår kun hvis det er et positivt signal i den negative kontrollen eller ingen signal i den positive kontrollen. Dette skjer kun ved direkte skade som ved ekstrem varmeeksponering, metning gjennom veldig høy fuktighet eller at utstyret er feilhåndtert, f.eks. at plastikkbrønnene er berørt uten hansker og belysningen gjennom disse for analyse blir feillest pga. smuss.

2. [Veiledning for analyse av prøver, se eget dokument.](#)