

Φύλλο εφαρμογής QIAasymphony® RGQ

Εφαρμογή QIAasymphony RGQ artus® HCV QS-RGQ Kit (τύπος δείγματος: πλάσμα)

IVD

CE
0197



Ελέγξτε τη διαθεσιμότητα νέων ηλεκτρονικών αναθεωρήσεων επισήμανσης στη διεύθυνση www.qiagen.com/products/artushcvsrgqcrkitce.aspx προτού εκτελέσετε τη δοκιμασία. Η τρέχουσα κατάσταση αναθεώρησης υποδεικνύεται από την ημερομηνία έκδοσης (μορφή: μήνας/έτος).

Γενικές πληροφορίες

| | |
|--|--|
| Κιτ | artus HCV QS-RGQ Kit, Έκδοση 1, REF 4518363, 4518366 |
| Επικυρωμένο υλικό δείγματος | Ανθρώπινο πλάσμα EDTA |
| Καθαρισμός Front-end | QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (αρ. καταλ. 937055) |
| Όγκος δείγματος (συμπεριλαμβανομένου πλεονάζοντος όγκου) | 1.200 μl |
| Σετ παραμέτρων προσδιορισμού | artus_HCV_plasma1000_V4 |
| Προκαθορισμένο σετ μαρτύρων προσδιορισμού | Cellfree1000_V6_DSP_artus_HCV |
| Όγκος έκλουσης | 60 μl |
| Απαιτούμενη έκδοση λογισμικού | Έκδοση 4.0 ή μεταγενέστερη |
| Όγκος κύριου μείγματος | 30 μl |
| Όγκος προτύπου | 20 μl |
| Αριθμός αντιδράσεων | 6–24 ή 6–72* |
| Χρόνος εκτέλεσης στη μονάδα AS | Για 6 αντιδράσεις: περίπου 9 λεπτά Για 72 αντιδράσεις: περίπου 35 λεπτά |

* Κατά τη διενέργεια πολλαπλών εκτελέσεων προσδιορισμού, βεβαιωθείτε πως δεν υπερβαίνετε το όριο των 72 αντιδράσεων και 1 προσαρμογέα θήκης προσδιορισμού. Αποφύγετε τον παρατεταμένο χρόνο επώασης (>30 λεπτά) μεταξύ ολοκλήρωσης της εκτέλεσης προσδιορισμού και μεταφοράς στο Rotor-Gene® Q.



Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται

| | | |
|--|---|--|
| Κιτ καθαρισμού | ■ | QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (αρ. καταλ. 937055) |
| Προσαρμογείς για το QIAsymphony SP | ■ | Elution Microtube Rack QS (θήκη μικροσωληναρίων έκλουσης QS) (προσαρμογέας ψύξης, EMT, v2, Qsym, αρ. καταλ. 9020730) |
| | ■ | Tube Insert 3B (ένθετο σωληναρίου 3B) (ένθετο, 2,0 ml v2, samplecarr. (24), Qsym, αρ. καταλ. 9242083) |
| Αναλώσιμα για το QIAsymphony SP | ■ | Sample Prep Cartridges (φύσιγγες προετοιμασίας δείγματος), 8 φρεατίων (αρ. καταλ. 997002) |
| | ■ | 8-Rod Covers (καλύμματα 8 ράβδων) (κωδ. προϊόντος 997004) |
| | ■ | Filter-Tips (ρύγχη φίλτρου), 1.500 μl (αρ. καταλ. 997024) |
| | ■ | Filter-Tips (ρύγχη φίλτρου), 200 μl (αρ. καταλ. 990332) |
| | ■ | Elution Microtubes CL (μικροσωληνάρια έκλουσης CL) (αρ. καταλ. 19588) |
| | ■ | Tip disposal bags (σακούλες απόρριψης ρυγχών) (αρ. καταλ. 9013395) |
| | ■ | Micro tubes (μικροσωληνάρια) 2,0 ml τύπου H ή Micro tubes (μικροσωληνάρια) 2,0 ml τύπου I (Sarstedt, αρ. καταλ. 72.693 και 72.694, www.sarstedt.com) για χρήση με δείγματα και εσωτερικούς μάρτυρες |
| Προσαρμογείς και υποδοχές αντιδραστηρίων για το QIAsymphony AS | ■ | Reagent holder 1 QS (υποδοχή αντιδραστηρίου 1 QS) (προσαρμογέας ψύξης, υποδοχή αντιδραστηρίου 1, Qsym, αρ. καταλ. 9018090) |
| | ■ | Reagent holder 2 QS (υποδοχή αντιδραστηρίου 2 QS) (προσαρμογέας ψύξης, υποδοχή αντιδραστηρίου 2, Qsym, αρ. καταλ. 9018089) |
| | ■ | RG Strip Tubes 72 QS (σωληνάρια ταινιών RG 72 QS) (προσαρμογέας ψύξης, σωληνάρια ταινιών RG 72, Qsym, αρ. καταλ. 9018092) |
| Αναλώσιμα για το QIAsymphony AS | ■ | Strip Tubes and Caps (σωληνάρια και καπάκια ταινιών), 0,1 ml (αρ. καταλ. 981103) |
| | ■ | Tubes, conical (σωληνάρια, κωνικά), 2 ml, Qsym AS (αρ. καταλ. 997102)* ή Micro tubes (μικροσωληνάρια) 2,0 ml τύπου I (Sarstedt, αρ. καταλ. 72.694.005) |
| | ■ | Tube, conical (σωληνάρια, κωνικά), 5 ml, Qsym AS (αρ. καταλ. 997104)* ή Tubes with flat base from PP (σωληνάρια με επίπεδη βάση από PP) (Sarstedt, αρ. καταλ. 60.558.001) |
| | ■ | Reagent Bottles (φιάλες αντιδραστηρίων), 30 ml, Qsym AS (αρ. καταλ. 997108) |
| | ■ | Elution Microtubes CL (μικροσωληνάρια έκλουσης CL) (αρ. καταλ. 19588) |
| | ■ | Filter-Tips (ρύγχη φίλτρου), 1.500 μl (αρ. καταλ. 997024) |
| | ■ | Filter-Tips (ρύγχη φίλτρου), 200 μl (αρ. καταλ. 990332) |
| | ■ | Filter-Tips (ρύγχη φίλτρου), 50 μl (αρ. καταλ. 997120) |
| | ■ | Tip disposal bags (σακούλες απόρριψης ρυγχών) (αρ. καταλ. 9013395) |

* Ρωτήστε για διαθεσιμότητα.

Χειρισμός και φύλαξη δειγμάτων

| | |
|------------------------|---|
| Δειγματοληψία | Δείγμα αίματος 5–10 ml αίμα EDTA 8x μείγμα κορυφής — χωρίς ανάδευση! Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ηπαρινισμένα ανθρώπινα δείγματα |
| Αποθήκευση δειγμάτων | Διαχωρισμός: 20 λεπτά φυγοκέντριση, 800–1.600 x g εντός 24 ωρών μετά τη συλλογή Μεταφέρετε το απομονωμένο πλάσμα σε αποστειρωμένο σωληνάριο από πολυπροπυλένιο Ενθυλακωμένο RNA του ιού σταθερό στους:* 4°C ημέρες –20°C εβδομάδες –70°C μήνες |
| Μεταφορά δειγμάτων | Μεταφορά σε άθραυστο δοχείο Αποστολή εντός 24 ωρών Αποστολή με το ταχυδρομείο σύμφωνα με τις νόμιμες οδηγίες για τη μεταφορά παθογόνου υλικού† Τα δείγματα αίματος πρέπει να αποστέλλονται ψυχόμενα (2 έως 8°C) |
| Παρεμβαλλόμενες ουσίες | Η ηπαρίνη (≥ 10 IU/ml) επηρεάζει την PCR. Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται δείγματα που συλλέγονται σε σωληνάρια που περιέχουν ηπαρίνη ως αντιπηκτικό ή δείγματα από ηπαρινισμένους ασθενείς. Τα αυξημένα επίπεδα λευκωματίνης (≤ 6 g/dl), χολερυθρίνης (≤ 30 mg/dl), λιπιδίων (τριγλυκερίδια ≤ 1 g/dl) και αιμολυτικών δειγμάτων (αιμοσφαιρίνη ≤ 2 g/dl) δεν επηρεάζουν το σύστημα. |

* Arbeitskreis Blut, V17 (09.1997), Bundesgesundheitsblatt 11/1997, σελ. 452–456.

† International Air Transport Association (Διεθνής Ένωση Αεροπορικών Μεταφορών, IATA). Dangerous Goods Regulations (κανονισμοί για τα επικίνδυνα εμπορεύματα).

Διαδικασία

Προετοιμασία του RNA-φορέα και προσθήκη του εσωτερικού μάρτυρα στα δείγματα

Η χρήση του kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi σε συνδυασμό με το kit *artus* HCV QS-RGQ απαιτεί εισαγωγή του εσωτερικού μάρτυρα (Hep. C Virus RG IC) στη διαδικασία καθαρισμού για την παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας της προετοιμασίας των δειγμάτων και του καθοδικού προσδιορισμού.

Οι εσωτερικοί μάρτυρες πρέπει να προστίθενται στο μείγμα φορέα RNA (CARRIER) – ρυθμιστικού διαλύματος AVE (AVE). Ο συνολικός όγκος του μείγματος εσωτερικού μάρτυρα – φορέα RNA (CARRIER) – ρυθμιστικού διαλύματος AVE (AVE) παραμένει 120 μl.

Ο πίνακας δείχνει την προσθήκη του εσωτερικού μάρτυρα στην απομόνωση, σε αναλογία 0,1 μl ανά 1 μl όγκου έκλουσης. Συνιστούμε την προετοιμασία φρέσκων μειγμάτων για κάθε εκτέλεση αμέσως πριν από τη χρήση.

| Συστατικό | Όγκος (μl) (σωληνάρια Sarstedt®)* | Όγκος (μl) (σωληνάρια BD™)† |
|--|-----------------------------------|-----------------------------|
| Βασικό διάλυμα φορέα RNA (CARRIER) | 5 | 5 |
| Εσωτερικός μάρτυρας‡ | 9 | 9 |
| Ρυθμιστικό διάλυμα AVE | 106 | 106 |
| Τελικός όγκος ανά δείγμα (αποκλείοντας το νεκρό όγκο) | 120 | 120 |
| Συνολικός όγκος για n δείγματα | (n x 120) + 360§ | (n x 120) + 600¶ |

* Μικροσωληνάρια 2,0 ml τύπου H και μικροσωληνάρια 2,0 ml τύπου I Sarstedt, αρ. καταλ. 72.693 και 72.694.

† Σωληνάρια των 14 ml, 17 x 100 mm πολυστερενίου, με στρογγυλό πυθμένα (Becton Dickinson, αρ. καταλ. 352051).

‡ Ο υπολογισμός της ποσότητας του εσωτερικού μάρτυρα βασίζεται στους αρχικούς όγκους έκλουσης (90 μl). Ο πρόσθετος νεκρός όγκος εξαρτάται από τον τύπο του χρησιμοποιούμενου σωληναρίου δείγματος.

§ Απαιτείται μείγμα εσωτερικών μαρτύρων που αντιστοιχεί σε 3 πρόσθετα δείγματα (δηλ. 360 μl). Μη γεμίζετε πάνω από 1,92 ml συνολικού όγκου (που αντιστοιχεί σε μέγιστο αριθμό 13 δειγμάτων. Αυτοί οι όγκοι είναι ειδικοί για μικροσωληνάρια 2,0 ml τύπου H και μικροσωληνάρια 2,0 ml τύπου I, Sarstedt αρ. καταλ. 72.693 και 72.694).

¶ Απαιτείται μείγμα εσωτερικών μαρτύρων που αντιστοιχεί σε 5 πρόσθετα δείγματα (δηλ. 600 μl). Μη γεμίζετε πάνω από 13,92 ml συνολικού όγκου (που αντιστοιχεί σε μέγιστο αριθμό 111

δειγμάτων. Αυτοί οι όγκοι είναι ειδικοί για σωληνάρια των 14 ml, 17 x 100 mm πολυστυρενίου, με στρογγυλό πυθμένα, Becton Dickinson, αρ. καταλ. 352051).

Προετοιμασία του QIAAsymphony SP

Συρτάρι «Waste» (απόβλητα)

| | |
|---------------------------------|---|
| Στήριγμα κουτιού μονάδων 1–4 | Κενά κουτιά μονάδων |
| Στήριγμα σακούλας αποβλήτων | Σακούλα αποβλήτων |
| Στήριγμα φιάλης υγρών αποβλήτων | Εκκένωση και εγκατάσταση της φιάλης υγρών αποβλήτων |

Συρτάρι «Eluate» (έκλουσμα)

| | |
|-----------------|---|
| Θήκη έκλουσης | Χρησιμοποιήστε την υποδοχή 1, θέση ψύξης |
| Όγκος έκλουσης* | Προεπιλεγμένος όγκος έκλουσης: 60 μl Αρχικός όγκος έκλουσης: 90 μl |

* Ο όγκος έκλουσης είναι προεπιλεγμένος για το πρωτόκολλο. Αυτός ο όγκος είναι ο ελάχιστος διαθέσιμος όγκος εκλούσματος για το τελικό σωληνάριο έκλουσης. Ο αρχικός όγκος του διαλύματος έκλουσης απαιτείται προκειμένου να διασφαλισθεί ότι ο πραγματικός όγκος του εκλούσματος είναι ίδιος με τον προεπιλεγμένο.

Συρτάρι «Reagents and Consumables» (αντιδραστήρια και αναλώσιμα)

| | |
|--------------------------------------|--|
| Θέση RC 1 και 2 | Φορτώστε 1 φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) για έως 48 δείγματα ή 2 καινούργιες φύσιγγες αντιδραστηρίων (RC) για έως 96 δείγματα |
| Θέση στηρίγματος θήκης ρυγχών 1–4 | Φορτώστε επαρκή αριθμό υποδοχών για τα αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 μl (βλ. «Απαιτούμενα πλαστικά υλικά για 1–4 παρτίδες δειγμάτων», σελ. 7) |
| Θέση στηρίγματος θήκης ρυγχών 5–18 | Φορτώστε επαρκή αριθμό υποδοχών για τα αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 1.500 μl (βλ. «Απαιτούμενα πλαστικά υλικά για 1–4 παρτίδες δειγμάτων», σελ. 7) |
| Θέση στηρίγματος κουτιού μονάδων 1–3 | Φορτώστε 3 κουτιά μονάδων που περιέχουν φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων |
| Θέση στηρίγματος κουτιού μονάδων 4 | Φορτώστε 1 κουτί μονάδων που περιέχει περιβλήματα 8 ράβδων |

Συρτάρι «Sample» (δείγμα)

| | |
|--|--|
| Τύπος δείγματος | Πλάσμα |
| Όγκος δείγματος (συμπεριλαμβανομένου πλεονάζοντος όγκου) | 1.200 μl |
| Σωληνάρια δειγμάτων | Μικροσωληνάρια 2,0 ml τύπου H ή μικροσωληνάρια 2,0 ml τύπου I (Sarstedt, αρ. καταλ. 72.693 και 72.694) |
| Ένθετο | Ένθετο σωληναρίου 3B (αρ. καταλ. 9242083) |

Απαιτούμενα πλαστικά υλικά για 1–4 παρτίδες δειγμάτων

| | Μία παρτίδα, 24 δείγματα* | Δύο παρτίδες, 48 δείγματα* | Τρεις παρτίδες, 72 δείγματα* | Τέσσερις παρτίδες, 96 δείγματα* |
|---|---------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|
| Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 μί ^{†‡} | 28 | 52 | 76 | 100 |
| Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 1.500 μί ^{†‡} | 113 | 206 | 309 | 402 |
| Φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων [§] | 21 | 42 | 54 | 72 |
| Περιβλήματα 8 ράβδων [¶] | 3 | 6 | 9 | 12 |

* Η χρήση περισσότερων από ενός σωληναρίου εσωτερικού μάρτυρα ανά παρτίδα και η εκτέλεση περισσότερων από μίας σάρωσης υλικών απαιτεί πρόσθετα αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου.

† Υπάρχουν 32 ρύγχη φίλτρου/θήκη ρυγχών.

‡ Ο αριθμός των απαιτούμενων ρυγχών φίλτρου περιλαμβάνει ρύγχη φίλτρου για 1 σάρωση υλικού ανά φύσιγγα αντιδραστηρίων.

§ Κάθε κουτί μονάδων περιέχει 28 φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων.

¶ Κάθε κουτί μονάδων περιέχει δώδεκα περιβλήματα 8 ράβδων.

Προετοιμασία του QIA Symphony AS

Αναλώσιμα

Κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας, οι κατάλληλες θέσεις για κάθε αναλώσιμο στη μονάδα QIA Symphony AS υποδεικνύονται στην οθόνη αφής του οργάνου.

| Αναλώσιμα | Όνομα στην οθόνη αφής | Για χρήση με προσαρμογέα/υποδοχή αντιδραστηρίου |
|---|--|--|
| Σωληνάκια και καπάκια ταινιών, 0,1 ml (250) | QIA#981103 *StripTubes 0.1 | Σωληνάκια ταινιών RG 72 QS |
| Σωληνάκια, κωνικά, 2 ml, Qsym AS (500) ^{†‡} | QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt [§] | Υποδοχή αντιδραστηρίου 1 QS Υποδοχή αντιδραστηρίου 2 QS |
| Σωληνάριο, κωνικό, 5 ml, Qsym AS (500) ^{†‡} | QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt [§] | Υποδοχή αντιδραστηρίου 1 QS Υποδοχή αντιδραστηρίου 2 QS |
| Φιάλες αντιδραστηρίων, 30 ml, Qsym AS (50) [†] | QIA#997108 *Bottle 30ml [§] | Υποδοχή αντιδραστηρίου 2 QS |
| Μικροσωληνάκια έκλουσης CL (24 x 96) | QIA#19588 * EMTR | Θήκη μικροσωληναρίων έκλουσης QS |

* Υποδεικνύει εργαστηριακό εξοπλισμό που μπορεί να ψυχθεί με χρήση προσαρμογέα ψύξης με γραμμωτό κώδικα.

[†] Για συστατικά κύριου μείγματος, προετοιμαζόμενο από το σύστημα κύριο μείγμα, πρότυπα διαλύματα προσδιορισμού και μάρτυρες προσδιορισμού.

[‡] Εναλλακτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν τα σωληνάκια Sarstedt που περιγράφονται στην ενότητα «Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται», σελ. 2.

[§] Το πρόθεμα «(m)» στην οθόνη αφής υποδεικνύει ότι οι υπολογισμοί στάθμης υγρού για το αντίστοιχο σωληνάριο έχουν βελτιστοποιηθεί για αντιδραστήρια που σχηματίζουν κοίλο μηνίσκο.

Προσαρμογείς και υποδοχές αντιδραστηρίων

| Θήκη/υποδοχή αντιδραστηρίου | Όνομα | Απαιτούμενος αριθμός [†] |
|-----------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| Θήκη δειγμάτων | Θήκη μικροσωληναρίων έκλουσης QS | 1 |
| Υποδοχές αντιδραστηρίων | Υποδοχή αντιδραστηρίου 1 QS | 1 |
| Θήκες προσδιορισμού | Σωληνάρια ταινιών RG 72 QS | 1 |

[†] Υπολογίζεται για μία εκτέλεση προσδιορισμού με 72 αντιδράσεις.

Ρύγχη φίλτρου

Φορτώστε θήκες ρυγμών αρχίζοντας με τις υποδοχές ρύγχους 1, 2 και 3 στο συρτάρι «Eluate and Reagents» (έκλουσμα και αντιδραστήρια) και στη συνέχεια φορτώστε θήκες ρυγμών στις υποδοχές ρύγχους 7, 8 και 9 στο συρτάρι «Assays» (προσδιορισμοί).

| Αναλώσιμο | Όνομα στην οθόνη αφής | Ελάχιστος αριθμός για 24 αντιδράσεις | Ελάχιστος αριθμός για 72 αντιδράσεις |
|--------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Ρύγχη φίλτρου, 1.500 μl (1024) | 1500 μl | 5 | 6 |
| Ρύγχη φίλτρου, 200 μl (1024) | 200 μl | 10 | 10 |
| Ρύγχη φίλτρου, 50 μl (1024) | 50 μl | 25 | 73 |
| Σακούλες απόρριψης ρυγμών | – | 1 | 1 |

RT-PCR στο Rotor-Gene Q

Το κιτ *artus* HCV QS-RGQ μπορεί να εκτελείται στο Rotor-Gene Q χρησιμοποιώντας χειροκίνητη ανάλυση με το Rotor-Gene Q με λογισμικό 2.1 ή υψηλότερο ή χρησιμοποιώντας αυτόματη ανάλυση με το Rotor-Gene AssayManager®. Οι ακόλουθες ενότητες περιγράφουν τις ρυθμίσεις και την προετοιμασία με χρήση των 2 διαφορετικών λογισμικών.

RT-PCR με χρήση του Rotor-Gene Q με λογισμικό 2.1 ή υψηλότερο

Ρυθμίστε τις ακόλουθες παραμέτρους για την εκτέλεση.

| | |
|--|---|
| Όγκος αντίδρασης (μl) | 50 |
| Διατήρηση | Θερμοκρασία διατήρησης: 50 βαθμοί Χρόνος διατήρησης: 30 λεπτά |
| Διατήρηση 2 | Θερμοκρασία διατήρησης: 95 βαθμοί Χρόνος διατήρησης: 15 λεπτά |
| Κυκλοποίηση | 50 φορές 95 βαθμοί για 30 δευτερόλεπτα 50 βαθμοί για 60 δευτερόλεπτα 72 βαθμοί για 30 δευτερόλεπτα |
| Ρύθμιση παραμέτρων αυτόματης βελτιστοποίησης απολαβής | 50 βαθμοί (Δείγματα: Πράσινο, IC: Πορτοκαλί) |

Για λεπτομερέστερες οδηγίες, ανατρέξτε στο φύλλο πρωτοκόλλου «Settings to run *artus* QS-RGQ Kits» (ρυθμίσεις για την εκτέλεση των κιτ *artus* QS-RGQ) στη διεύθυνση www.qiagen.com/products/artushcvgpcrkitce.aspx.

RT-PCR με χρήση του Rotor-Gene AssayManager

Για αυτόματη ανάλυση με χρήση του κιτ *artus* HCV QS-RGQ με το Rotor-Gene AssayManager, τα ακόλουθα αρχεία πρέπει να εγκατασταθούν στη βάση δεδομένων του Rotor-Gene AssayManager.

- *artus* basic plug-in (βασικές πρόσθετες λειτουργίες *artus*) (διαθέσιμο για λήψη από τη διεύθυνση www.qiagen.com/Products/Rotor-GeneAssayManager.aspx)
- *artus* HCV QS-RGQ AssayProfile (προφίλ προσδιορισμού *artus* HCV QS-RGQ) για δείγματα πλάσματος (AP_artus_HCV_plasma1000_QS_V1.iap) (διαθέσιμο για λήψη από τη διεύθυνση www.qiagen.com/products/artushcvgpcrkitce.aspx)

Για μια περιγραφή της διαδικασίας εγκατάστασης αυτών των αρχείων, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήστη της εφαρμογής *Rotor-Gene AssayManager Core Application*.

Αφού εγκατασταθούν αυτά τα αρχεία, το Rotor-Gene AssayManager μπορεί να χρησιμοποιήσει τις πληροφορίες που δίνονται στο αρχείο αποτελεσμάτων QIASymphony AS για να προετοιμάσει μια εκτέλεση για ενίσχυση PCR πραγματικού χρόνου και επακόλουθη αυτόματη ανάλυση. Για μια περιγραφή της διαδικασίας εισαγωγής των αρχείων αποτελεσμάτων QIASymphony AS στο Rotor-Gene AssayManager, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήστη της εφαρμογής *Rotor-Gene AssayManager Core Application*. Παρακαλούμε σημειώστε ότι η εξαγωγή αρχείων κυκλοποιητή δεν απαιτείται με το Rotor-Gene AssayManager.

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Αυτή η ενότητα περιγράφει την ερμηνεία των αποτελεσμάτων στο Rotor-Gene Q. Ανασκοπήστε επίσης τις πληροφορίες κατάστασης δείγματος από τα αρχεία αποτελεσμάτων του QIASymphony SP/AS για ανάλυση της πλήρους ροής εργασίας από το δείγμα έως το αποτέλεσμα. Πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο δείγματα με έγκυρη κατάσταση.

Το κιτ *artus HCV QS-RGQ* μπορεί να εκτελείται στο Rotor-Gene Q χρησιμοποιώντας χειροκίνητη ανάλυση με το Rotor-Gene Q με λογισμικό 2.1 ή υψηλότερο ή χρησιμοποιώντας αυτόματη ανάλυση με το Rotor-Gene AssayManager. Οι ακόλουθες ενότητες περιγράφουν την ερμηνεία των αποτελεσμάτων με χρήση των 2 διαφορετικών λογισμικών.

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων με χρήση του Rotor-Gene Q με λογισμικό 2.1 ή υψηλότερο

Ανίχνευση σήματος και συμπεράσματα

| Σήμα στο κανάλι Cycling Green | Σήμα στο κανάλι Cycling Orange | Ποσοτικό αποτέλεσμα (IU/ml) | Ερμηνεία |
|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--|
| Ναι | Ναι | <21 | Έγκυρο αποτέλεσμα: Ανιχνεύθηκε RNA από HCV, <35 IU/ml Η ποσοτικοποίηση δεν είναι δυνατή εφόσον το ποσοτικό αποτέλεσμα βρίσκεται κάτω από το όριο ανίχνευσης. Η αναπαραγωγιμότητα του θετικού αποτελέσματος δεν είναι διασφαλισμένη. |
| Ναι | Ναι | ≥21 και <35 | Έγκυρο αποτέλεσμα: Ανιχνεύθηκε RNA από HCV, <35 IU/ml Η ποσοτικοποίηση δεν είναι δυνατή εφόσον το ποσοτικό αποτέλεσμα βρίσκεται κάτω από το γραμμικό εύρος του προσδιορισμού. |
| Ναι | Ναι/Όχι* | ≥35 και ≤1,77 x 10 ⁷ | Έγκυρο αποτέλεσμα: Ανιχνεύθηκε RNA από HCV στην υπολογισμένη συγκέντρωση Το ποσοτικό αποτέλεσμα βρίσκεται εντός του γραμμικού εύρους του προσδιορισμού. |
| Ναι | Ναι/Όχι* | >1,77 x 10 ⁷ | Έγκυρο αποτέλεσμα: Ανιχνεύθηκε RNA από HCV, >1,77 x 10 ⁷ IU/ml Η ποσοτικοποίηση δεν είναι δυνατή εφόσον το ποσοτικό αποτέλεσμα βρίσκεται πάνω από το γραμμικό εύρος του προσδιορισμού. [†] |
| Όχι | Ναι | – | Έγκυρο αποτέλεσμα: Δεν είναι ανιχνεύσιμο RNA από HCV. [‡] |
| Όχι | Όχι | – | Μη έγκυρο αποτέλεσμα: Η λήψη αποτελέσματος δεν είναι δυνατή. [§] |

* Σε αυτήν την περίπτωση, η ανίχνευση ενός σήματος στο κανάλι Cycling Orange μπορεί να αγνοηθεί, και αυτό διότι υψηλές αρχικές συγκεντρώσεις RNA από HCV (θετικό σήμα στο κανάλι Cycling Green) μπορούν να οδηγήσουν σε μείωση ή απώλεια σήματος φθορισμού του εσωτερικού μάρτυρα στο κανάλι Cycling Orange (ανταγωνισμός).

[†] Εάν είναι επιθυμητή ποσοτικοποίηση, αραιώστε το δείγμα με πλάσμα ελεύθερο από HCV και επαναλάβετε την επεξεργασία. Πολλαπλασιάστε το ποσοτικό αποτέλεσμα από το επανεπεξεργασμένο δείγμα επί το συντελεστή αραιώσης.

[‡] Εάν η τιμή C_T για τον εσωτερικό μάρτυρα ενός αρνητικού δείγματος είναι για περισσότερους από 3 κύκλους μεγαλύτερη από την τιμή C_T για τον εσωτερικό μάρτυρα του μάρτυρα χωρίς μήτρα στην εκτέλεση (C_T IC Sample – C_T IC NTC >3), τότε το δείγμα πρέπει να θεωρηθεί ως μη έγκυρο. Η λήψη αποτελέσματος δεν είναι δυνατή.

‡ Πληροφορίες σχετικά με τις πηγές σφαλμάτων και την επίλυσή τους παρέχονται στον «Troubleshooting guide» (οδηγό αντιμετώπισης προβλημάτων) του εγχειριδίου kit artus HCV QS-RGQ.

Ρυθμίσεις κατωφλίου για την ανάλυση PCR

Οι βέλτιστες ρυθμίσεις κατωφλίου για ένα δεδομένο συνδυασμό του οργάνου Rotor-Gene Q και του kit artus QS-RGQ πρέπει να καθορίζονται εμπειρικά δοκιμάζοντας κάθε επιμέρους συνδυασμό, εφόσον πρόκειται για σχετική τιμή ανάλογα με τη συνολική διαγνωστική ροή εργασίας. Το κατώφλι μπορεί να ρυθμιστεί σε μια προκαταρκτική τιμή 0,04 για την ανάλυση της πρώτης εκτέλεσης PCR, αλλά αυτή η τιμή θα πρέπει να ρυθμιστεί περαιτέρω σε μια συγκριτική ανάλυση των επόμενων εκτελέσεων της ροής εργασίας. Το κατώφλι πρέπει να ρυθμιστεί χειροκίνητα μόλις πάνω από το σήμα υποβάθρου των αρνητικών μαρτύρων και αρνητικών δειγμάτων. Η μέση τιμή κατωφλίου που υπολογίζεται από αυτά τα πειράματα το πιθανότερο είναι ότι θα λειτουργεί για την πλειονότητα των μελλοντικών εκτελέσεων, αλλά ο χρήστης θα πρέπει παρόλ' αυτά να πραγματοποιεί ανασκόπηση της παραγόμενης τιμής κατωφλίου σε τακτικά διαστήματα. Η τιμή κατωφλίου θα βρίσκεται συνήθως στο εύρος από 0,03–0,05 και πρέπει να στρογγυλοποιείται σε έως και τρία δεκαδικά ψηφία.

Ποσοτικοποίηση

Τα πρότυπα ποσοτικοποίησης (Hep. C Virus RG QS 1–4) στο kit artus HCV QS-RGQ αντιμετωπίζονται ως προηγουμένως καθαρισμένα δείγματα και χρησιμοποιείται ο ίδιος όγκος (20 μl). Για να δημιουργήσετε μία πρότυπη καμπύλη σε όργανα Rotor-Gene Q θα πρέπει να χρησιμοποιήσετε και τα 4 πρότυπα ποσοτικοποίησης και να τα ορίσετε στο πλαίσιο διαλόγου «Edit Samples» (επεξεργασία δειγμάτων) στο όργανο Rotor-Gene Q ως πρότυπα με τις συγκεκριμένες συγκεντρώσεις (βλέπε εγχειρίδιο χρήσης του οργάνου).

Σημείωση: Τα πρότυπα ποσοτικοποίησης ορίζονται ως IU/μl.* Η παρακάτω εξίσωση πρέπει να χρησιμοποιηθεί για τη μετατροπή των τιμών που προσδιορίζονται με χρήση της πρότυπης καμπύλης σε IU/ml του υλικού δείγματος.

$$\text{Αποτέλεσμα (IU/ml)} = \frac{\text{Αποτέλεσμα (IU/μl)} \times \text{Αρχικός όγκος έκλουσης (90 μl)}^\dagger}{\text{Όγκος δείγματος (ml)}}$$

Κατ' αρχήν, ο αρχικός όγκος δείγματος πρέπει να καταχωρηθεί στην παραπάνω εξίσωση. Αυτό πρέπει να ληφθεί υπόψη σε περίπτωση τροποποίησης του όγκου δείγματος πριν από την εκχύλιση του νουκλεϊκού οξέος (π.χ., μείωση του όγκου με φυγοκέντρηση ή αύξηση του όγκου με προσθήκη του απαιτούμενου για την απομόνωση όγκου).

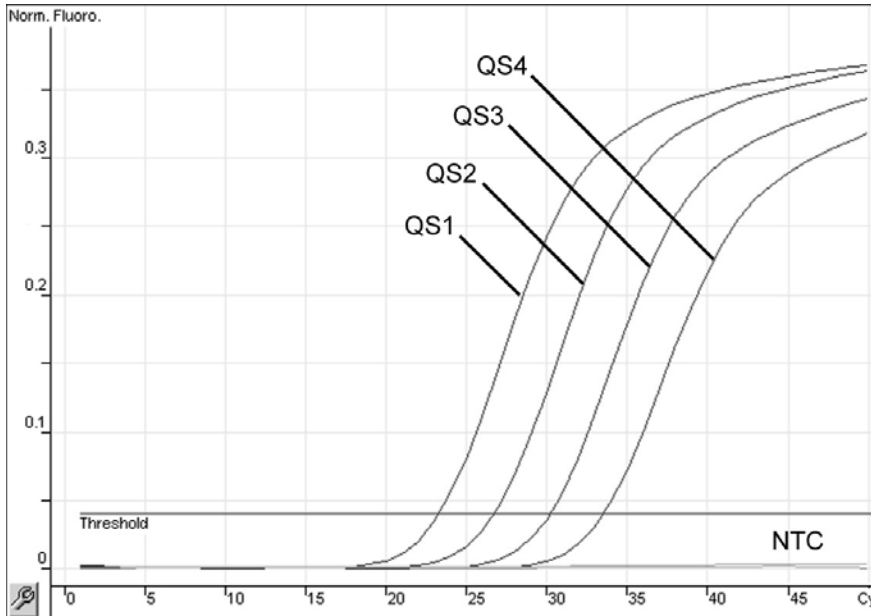
* Το πρότυπο έχει βαθμονομηθεί με χρήση του διεθνούς προτύπου HCV (Π.Ο.Υ.).

† Ο υπολογισμός βασίζεται στους αρχικούς όγκους έκλουσης (90 μl).

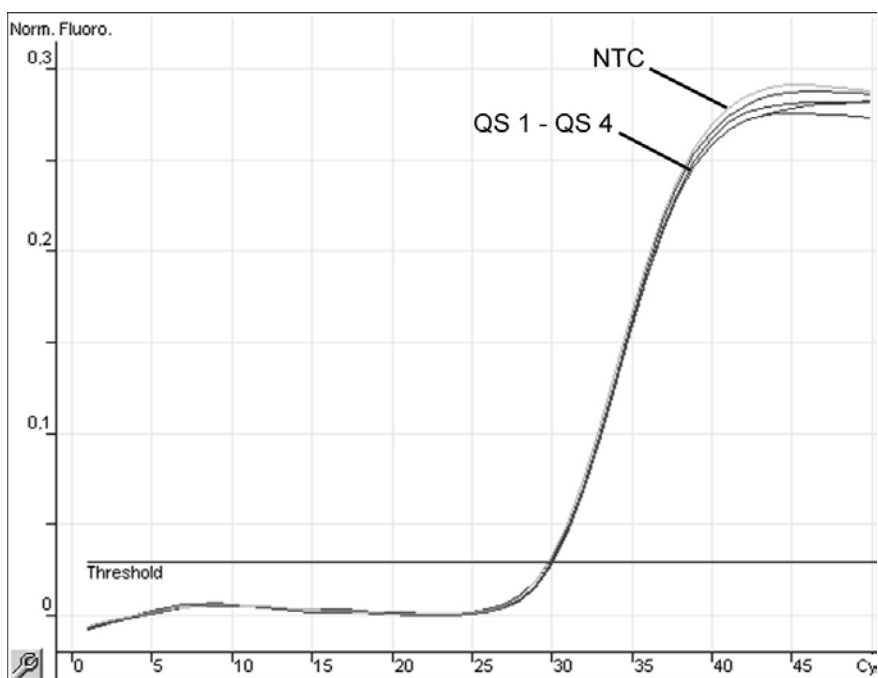
Συντελεστής μετατροπής

1 IU/ml αντιστοιχεί σε 1,21 αντίγραφα/ml για την ανίχνευση RNA από HCV στο Rotor-Gene Q. Ο συντελεστής μετατροπής αποτελεί μια προσέγγιση με βάση ένα μέσο συντελεστή στο δυναμικό εύρος του προσδιορισμού.

Παραδείγματα θετικών και αρνητικών αντιδράσεων PCR



Ανίχνευση των προτύπων ποσοτικοποίησης (Hep. C Virus QS 1–4) στο κανάλι φθορισμού Cycling Green. NTC: No template control (αρνητικός μάρτυρας).



Ανίχνευση του εσωτερικού μάρτυρα (IC) στο κανάλι φθορισμού Cycling Orange με ταυτόχρονη ενίσχυση των προτύπων ποσοτικοποίησης (Hep. C Virus QS 1–4). NTC: No template control (αρνητικός μάρτυρας).

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων με χρήση του Rotor-Gene AssayManager

Το *artus* HCV QS-RGQ AssayProfile για δείγματα πλάσματος περιέχει όλους τους κανόνες για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού αυτόματα. Με βάση αυτούς, το λογισμικό θα αξιολογεί την εγκυρότητα ή μη εγκυρότητα των δειγμάτων και των μαρτύρων. Αυτή η αυτόματη ανάλυση μπορεί να παρέχει τις ακόλουθες αντίστοιχες επισημάνσεις.

| Επισήμανση | Συμπεριφορά | Περιγραφή |
|---|---------------|---|
| ASSAY_INVALID | Μη έγκυρο | Ο προσδιορισμός καθορίζεται ως μη έγκυρος διότι τουλάχιστον ένας εξωτερικός μάρτυρας είναι μη έγκυρος. |
| CORRESPONDING_CONTROL_INVALID | Μη έγκυρο | Ο προσδιορισμός ορίζεται ως μη έγκυρος διότι τουλάχιστον ένας εξωτερικός μάρτυρας είναι μη έγκυρος. |
| CORRESPONDING_POSITIVE_CONTROL_TARGET_INVALID | Μη έγκυρο | Το αποτέλεσμα-στόχος ορίζεται ως μη έγκυρο διότι ο αντίστοιχος θετικός μάρτυρας είναι μη έγκυρος. |
| CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE | Μη έγκυρο | Η ανιχνευθείσα τιμή C _T είναι υψηλότερη από την καθορισμένη τιμή αποκοπής C _T . |
| CT_BELOW_ACCEPTED_RANGE | Μη έγκυρο | Η ανιχνευθείσα τιμή C _T είναι χαμηλότερη από την καθορισμένη τιμή αποκοπής C _T . |
| CURVE_SHAPE_ANOMALY | Μη έγκυρο | Η καμπύλη ενίσχυσης ακατέργαστων δεδομένων παρουσιάζει ένα σχήμα το οποίο παρεκκλίνει από την καθιερωμένη συμπεριφορά για το συγκεκριμένο προσδιορισμό. Υπάρχει υψηλή πιθανότητα για εσφαλμένα αποτελέσματα ή σφάλμα ερμηνείας των αποτελεσμάτων. |
| FLAT_BUMP | Μη έγκυρο | Η καμπύλη ενίσχυσης παρουσιάζει σχήμα επίπεδης κυμάτωσης, παρεκκλίνοντας από την καθιερωμένη συμπεριφορά για το συγκεκριμένο προσδιορισμό. Υπάρχει υψηλή πιθανότητα για εσφαλμένα αποτελέσματα ή σφάλμα ερμηνείας των αποτελεσμάτων (εσφαλμένος προσδιορισμός της τιμής C _T). |
| FLUORESCENCE_TOO_LOW | Μη έγκυρο | Το σήμα φθορισμού είναι χαμηλότερο από την καθορισμένη τιμή αποκοπής φθορισμού. |
| IC_INVALID | Μη έγκυρο | Ένας εσωτερικός μάρτυρας στο ίδιο σωληνάριο είναι μη έγκυρος. |
| IC_NO_SIGNAL | Μη έγκυρο | Δεν ανιχνεύεται σήμα για εσωτερικό μάρτυρα στο ίδιο σωληνάριο. |
| INHIBITION_BY_CT | Προειδοποίηση | Συνέβη υπέρβαση του καθορισμένου μέγιστου εύρους C _T μεταξύ του C _T για τον εσωτερικό μάρτυρα του συγκεκριμένου δείγματος και του C _T για τον εσωτερικό μάρτυρα του NTC. |

| Επισήμανση | Συμπεριφορά | Περιγραφή |
|------------------------------|---------------|---|
| INHIBITION_BY_FLUORESCENCE | Προειδοποίηση | Συνέβη υπέρβαση της καθορισμένης μέγιστης διαφοράς φθορισμού μεταξύ του φθορισμού εσωτερικού μάρτυρα του NTC και του φθορισμού εσωτερικού μάρτυρα του συγκεκριμένου δείγματος για τον τελευταίο κύκλο. |
| MULTI_THRESHOLD_CROSSING | Μη έγκυρο | Η καμπύλη ενίσχυσης υπερβαίνει το κατώφλι πάνω από μία φορά. Δεν μπορεί να προσδιοριστεί ένα αδιαμφισβήτητο C _T . Αυτή η επισήμανση αντιστοιχεί στην επισήμανση «NEG (Multi Ct)» του λογισμικού Rotor-Gene. Για περισσότερες πληροφορίες ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήστη <i>Rotor-Gene Q</i> . |
| NO_CT_DETECTED | Μη έγκυρο | Δεν ανιχνεύθηκε C _T για το συγκεκριμένο στόχο. |
| NORM_FACTOR_ALTERATION | Προειδοποίηση | Η κανονικοποίηση απέτυχε. Η καμπύλη ενίσχυσης εμφανίζεται χωρίς κανονικοποίηση. Τα αποτελέσματα πρέπει να ελεγχθούν χειροκίνητα για ορθότητα. |
| OUT_OF_COMPUTATION_RANGE | Μη έγκυρο | Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης για το συγκεκριμένο δείγμα υπερβαίνει το τεχνικό όριο. |
| SATURATION | Μη έγκυρο | Τα ακατέργαστα δεδομένα φθορισμού παρουσιάζουν κορεσμό πριν το σημείο καμπής της καμπύλης ενίσχυσης. |
| SATURATION_IN_PLATEAU | Προειδοποίηση | Τα ακατέργαστα δεδομένα φθορισμού παρουσιάζουν κορεσμό στη φάση plateau της καμπύλης ενίσχυσης. |
| SPIKE | Προειδοποίηση | Ανιχνεύθηκε αιχμή στα ακατέργαστα δεδομένα κορεσμού στην καμπύλη ενίσχυσης, αλλά εκτός της περιοχής όπου προσδιορίζεται το C _T . |
| SPIKE_CLOSE_TO_CT | Μη έγκυρο | Ανιχνεύθηκε αιχμή στην καμπύλη ενίσχυσης εγγύς του C _T . |
| STEEP_BASELINE | Μη έγκυρο | Ανιχνεύθηκε μια απότομα ανοδική γραμμή βάσης για τα ακατέργαστα δεδομένα φθορισμού στην καμπύλη ενίσχυσης. |
| STRONG_BASELINE_DIP | Μη έγκυρο | Ανιχνεύθηκε έντονη βύθιση στη γραμμή βάσης για τα ακατέργαστα δεδομένα φθορισμού στην καμπύλη ενίσχυσης. |
| STRONG_NOISE | Μη έγκυρο | Ανιχνεύθηκε έντονος θόρυβος εκτός της φάσης αύξησης (εκθετική) της καμπύλης ενίσχυσης. |
| STRONG_NOISE_IN_GROWTH_PHASE | Μη έγκυρο | Ανιχνεύθηκε έντονος θόρυβος στη φάση αύξησης (εκθετική) της καμπύλης ενίσχυσης. |

| Επισήμανση | Συμπεριφορά | Περιγραφή |
|--|---------------|---|
| TOO_LESS_ CORRELATION_IN_ STANDARD_CURVE | Μη έγκυρο | Δεν επετεύχθη είτε ένα χαμηλό όριο για την τιμή R ² είτε ένα χαμηλό όριο για την τιμή R. |
| UNCERTAIN | Προειδοποίηση | Τα αποτελέσματα από την αυτόματη σάρωση δεδομένων (AUDAS) συγκρούονται με τα αποτελέσματα από την ανάλυση πυρήνα. Δεν είναι δυνατή μια αδιαμφισβήτητη αξιολόγηση της εγκυρότητας των δεδομένων. |
| UPSTREAM | Μεταβλητό | <p>Η κατάσταση δείγματος τέθηκε σε μη έγκυρη ή ακαθόριστη μέσω μιας ανάντη διαδικασίας (π.χ. προετοιμασία προσδιορισμού QIASymphony).</p> <p>Σημείωση: Για επισημάνσεις «unclear» (ακαθόριστο) από ανάντη διαδικασίες, η συμπεριφορά του Rotor-Gene AssayManager καθορίζεται στο περιβάλλον «Configuration» (διαμόρφωση).</p> <p>Για επισημάνσεις «invalid» (μη έγκυρο) από ανάντη διαδικασίες, το Rotor-Gene AssayManager πάντα ακυρώνει τέτοια δείγματα.</p> |
| WAVY_BASE_ FLUORESCENCE | Μη έγκυρο | Ανιχνεύθηκε μια κυματοειδής γραμμή βάσης για τα ακατέργαστα δεδομένα φθορισμού στην καμπύλη ενίσχυσης. |

Τα αποτελέσματα του Rotor-Gene AssayManager απαιτούν έγκριση/απόρριψη από ένα χρήστη με ρόλο χρήστη «Approver» (εγκρίνων). Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τη διαδικασία έγκρισης, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήστη βασικών πρόσθετων λειτουργιών *artus* του Rotor-Gene AssayManager (*artus Basic Plug-in User Manual*).

Ρύθμιση κατωφλίου για την ανάλυση PCR

Το *artus* HCV QS-RGQ AssayProfile για δείγματα πλάσματος ορίζει αυτόματα ένα κατώφλι.

Ποσοτικοποίηση

Το *artus* HCV QS-RGQ AssayProfile για δείγματα πλάσματος περιέχει όλες τις πληροφορίες στα πρότυπα ποσοτικοποίησης που απαιτούνται για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης του στόχου στο δείγμα ή το έκλουσμα. Το Rotor-Gene AssayManager επιτρέπει επίσης την άμεση μετατροπή σε άλλες μονάδες συγκέντρωσης. Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήστη βασικών πρόσθετων λειτουργιών *artus* για περισσότερες πληροφορίες (*artus Basic Plug-in User Manual*).

Για τις τρέχουσες πληροφορίες άδειας και αποποιήσεις σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στο σχετικό εγχειρίδιο ή οδηγίες χρήσης του κιτ QIAGEN. Τα εγχειρίδια και οι οδηγίες χρήσης των κιτ QIAGEN είναι διαθέσιμα στη διεύθυνση www.qiagen.com. Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από το Τμήμα τεχνικής εξυπηρέτησης της QIAGEN ή τον τοπικό σας αντιπρόσωπο.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (Όμιλος QIAGEN), BD™ (Becton, Dickinson and Company), Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.).

© 2013 QIAGEN, με την επιφύλαξη κάθε δικαιώματος.

www.qiagen.com

Australia = 1-800-243-800

Austria = 0800-281011

Belgium = 0800-79612

Brazil = 0800-557779

Canada = 800-572-9613

China = 800-988-0325

Denmark = 80-885945

Finland = 0800-914416

France = 01-60-920-930

Germany = 02103-29-12000

Hong Kong = 800 933 965

India = 1-800-102-4114

Ireland = 1800 555 049

Italy = 800-787980

Japan = 03-6890-7300

Korea (South) = 080-000-7145

Luxembourg = 8002 2076

Mexico = 01-800-7742-436

The Netherlands = 0800 0229592

Norway = 800-18859

Singapore = 1800-742-4368

Spain = 91-630-7050

Sweden = 020-790282

Switzerland = 055-254-22-11

Taiwan = 0080-665-1947

UK = 0808-2343665

USA = 800-426-8157



Sample & Assay Technologies