

2018. február

QIASymphony[®] RGQ alkalmazási lap

artus[®] HSV-1/2 QS-RGQ Kit
(a minta típusa: plazma)

R2



4500363

artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit, 1. verzió



A teszt elvégzése előtt ellenőrizze a www.qiagen.com/products/artushsv-12pcrkitce.aspx címen, hogy nincs-e új, átdolgozott elektronikus dokumentáció.

Általános információk

Kit	<i>artus</i> HSV-1/2 QS-RGQ Kit, 1. verzió (katalógusszám: 4500363)
Validált mintaanyagok	Humán EDTA-s plazma
Előtisztítás	QIA [®] symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (katalógusszám: 937055)
Mintatérfogat (térfogattöbblettel együtt)	1200 µl
Tesztparaméter-készlet	<i>artus</i> _HSV_plasma1000QL_V5
Alapértelmezett tesztkontroll-készlet	Cellfree1000_V7_DSP_ <i>artus</i> _HSV
Elúciós térfogat	60 µl
Szükséges szoftververzió	4.0-s vagy későbbi verzió
Mesterkeverék-térfogat	30 µl
Templáttérfogat	20 µl
Reakciók száma	4–24
Futási idő az AS modulon	4 reakció esetén: körülbelül 9 perc 72 reakció esetén: körülbelül 35 perc

Szükséges, de nem biztosított anyagok

Tisztító kit

- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (katalógusszám: 937055)

Adapterek a QIASymphony SP készülékhez

- Elution Microtube Rack QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, katalógusszám: 9020730)
- Átviteli keret
- 3B csőtartó (csőtartó, 2,0 ml v2, mintatartó (24), Qsym, katalógusszám: 9242083)

Fogyóeszközök QIASymphony SP készülékhez

- Sample Prep Cartridges, 8-well (katalógusszám: 997002)
- 8-Rod Covers (katalógusszám: 997004)
- Filter-Tips, 1500 µl (katalógusszám: 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (katalógusszám: 990332)
- Elution Microtubes CL (katalógusszám: 19588)
- Tip disposal bags (katalógusszám: 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Type H vagy Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt®, katalógusszám: 72.693 és 72.694, www.sarstedt.com) a mintákkal és belső kontrollokkal történő alkalmazáshoz

Adapterek és reagenstartók a QIASymphony AS készülékhez

- Reagent holder 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, katalógusszám: 9018090)
- RG Strip Tubes 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, katalógusszám: 9018092)

Fogyóeszközök a QIASymphony AS készülékhez

- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (katalógusszám: 981103)
- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (cat. no. 997102) vagy Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, katalógusszám: 72.694.005)
- Vagy: Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (katalógusszám: 997104) vagy Tubes with flat base from PP (Sarstedt, katalógusszám: 60.558.001)
- Filter-Tips, 1500 µl (katalógusszám: 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (katalógusszám: 990332)
- Filter-Tips, 50 µl (katalógusszám: 997120)
- Tip disposal bags (katalógusszám: 9013395)

A minták kezelése és tárolása

Mintavétel	Vérminta 5–10 ml EDTA-s vér 8-szor fel-le forgatva végzett keverés – rázni tilos! Heparinizált humán minták nem használhatók.
Mintatárolás	Szeparálás: 20 perc centrifugálás, 800–1600 x g a levételt követő 24 órán belül Mérje át az izolált plazmát egy steril polipropilén csőbe A minták rutinszerű fagyasztása és hosszabb tárolása csökkentheti a vizsgálat érzékenységét.
Mintaszállítás	Szállítás törhetetlen csomagolásban 24 órán belüli szállítás A szállítandó csomagot a patogén anyagokra vonatkozó jogszabályok betartásával postázza el! A vérmintákat hidegen (2–8 °C) kell szállítani
Zavaró anyagok	A heparin (≥ 10 NE/ml) befolyásolja a PCR-reakciót. Tilos az alvadásgátlóként heparint tartalmazó csövekbe levett, illetve heparinizált betegektől származó minták alkalmazása.
Minta-előkészítés	Kerülje a habképződést a mintákban vagy a mintákon A mintákat a futtatás elindítása előtt szobahőmérsékletre (15–25 °C) kell hozni.

* Nemzetközi Légi Szállítási Szövetség (International Air Transport Association, IATA). Dangerous Goods Regulations (veszélyes árukkal kapcsolatos előírások).

Eljárás

A hordozó RNS előkészítése és a belső kontrollok hozzáadása a mintákhoz

Ha a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit és az *artus* HSV-1/2 QS-RGQ Kit együttes használatára kerül sor, akkor a minta-előkészítés és az ezt követő teszt hatásosságának ellenőrzésére belső kontrollt (HSV-1/2 RG IC) kell alkalmazni a tisztítási eljárás során.

A belső kontrollt a hordozó RNS (CARRIER) és az AVE puffer (AVE) keverékéhez kell hozzáadni úgy, hogy a belső kontroll, a hordozó RNS (CARRIER) és az AVE puffer (AVE) keverékének térfogata 120 µl legyen.

Az alábbi táblázat a belső kontrollok izolátumhoz való hozzáadását mutatja be – az alkalmazott arány 0,1 µl/1 µl elúciós térfogat. Javasoljuk, hogy minden futtatáshoz készítsen friss keveréket közvetlenül a felhasználás előtt.

Másik lehetőségként a QIASymphony Management Console „IC Calculator” eszköze is alkalmazható.

Komponens	Térfogat (µl) (Sarstedt csövek)*	Térfogat (µl) (Corning csövek)†
Hordozó RNS (CARRIER) törzsoldata	5	5
Belső kontroll‡	9	9
AVE puffer	106	106
Végső térfogat mintánként (kivéve holttérfogat)	120	120
Teljes térfogat n számú minta esetén	$(n \times 120) + 360^{\S}$	$(n \times 120) + 600^{\P}$

* Micro tubes 2.0 ml Type H és Micro tubes 2.0 ml Type I, Sarstedt, katalógusszám: 72.693 és 72.694.

† Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Corning® Inc., katalógusszám: 352051; ezt a csövet korábban a Becton Dickinson szállította, a jelenlegi beszállító a Corning Inc.).

‡ A belső kontroll mennyiségének kiszámítása a kezdeti elúciós térfogat (90 µl) alapján történik. A további holttérfogat a használt mintacső típusától függ.

§ 3 további mintának megfelelő (azaz 360 µl) belsőkontroll-keverék szükséges. Ne töltsön bele több mint 1,92 ml teljes térfogatot (a maximális mintaszám tehát 13). Ezek a térfogatok a 2,0 ml-es H-típusú mikrocövekre és 2,0 ml-es I-típusú mikrocövekre specifikusak (Sarstedt, katalógusszám: 72.693 és 72.694).

¶ 5 további mintának megfelelő (azaz 600 µl) belsőkontroll-keverék szükséges. Ne töltsön bele több mint 13,92 ml teljes térfogatot (a maximális mintaszám tehát 111). Ezek a térfogatok a Micro tubes 2.0 ml Type H és Micro tubes 2.0 ml Type I mikrocövekre specifikusak (Corning Inc., katalógusszám: 352051; ezt a csövet korábban a Becton Dickinson szállította, a jelenlegi beszállító a Corning Inc.).

A QIASymphony SP készülék beállítása

„Waste” (Hulladéktartály) fiók

1–4. számú egységdoboz-tartó	Ürítse ki az egységdobozokat
A hulladékgyűjtő zsák tartója	Hulladékgyűjtő zsák
A folyékonyhulladék-palack tartója	Ürítse ki, majd helyezze be a folyékonyhulladék-gyűjtő palackot

„Eluate” (Eluátum) fiók

Elúciós állvány	Elution Microtubes CL mikroszövek Elution Microtube Rack QS állványon és átviteli kereten Használja az 1. nyílást, hűtő pozíciót
Elúciós térfogat*	Előre kiválasztott elúciós térfogat: 60 µl Kezdeti elúciós térfogat: 90 µl

* Az elúciós térfogat előre ki van választva az adott protokollhoz. Ez a minimálisan hozzáférhető eluátumtérfogat a végleges elúciós csőben. Az elúciós oldat kezdeti térfogatának elegendőnek kell lennie ahhoz, hogy az eluátum tényleges térfogata megegyezzen az előre megválasztott térfogattal.

„Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiók

RC 1-es és 2-es pozíció	Legfeljebb 48 minta vizsgálatához helyezzen be 1 darab reagenskazettát (reagent cartridge, RC), vagy legfeljebb 96 minta vizsgálatához 2 darab reagenskazettát (RC)
Hegyállvány-tartó, 1–18. pozíció	Helyezzen be elegendő állványt az egyszer használatos, 200 µl-es és 1500 µl-es, szűrővel rendelkező hegyek számára (lásd „Szükséges műanyag eszközök az 1–4 mintasorozathoz”, 7. oldal)
Egységdoboz-tartó, 1–4. pozíció	Helyezze be a minta-előkészítő kazettákat tartalmazó egységdobozokat és a 8-Rod Covers borításokat (lásd „Szükséges műanyag eszközök az 1–4 mintasorozathoz”, 7. oldal)

„Sample” (Minták) fiók

A minta típusa	Humán EDTA-s plazma
Mintatérfogat (térfogattöbbslettel együtt)	1200 µl
Mintacsövek	Micro tubes 2.0 ml Type H vagy Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, katalógusszám: 72.693 és 72.694)
Inzert	Tube Insert 3B (katalógusszám: 9242083)

Szükséges műanyag eszközök az 1–4 mintasorozathoz

Komponens	Egy mintasorozat, 24 minta*	Két mintasorozat, 48 minta*	Három mintasorozat, 72 minta*	Négy mintasorozat, 96 minta*
Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 200 µl†‡	30	54	78	102
Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 1500 µl†‡	101	182	271	354
Minta-előkészítő kazetták§	21	42	63	84
8-Rod Covers ¶	3	6	9	12

* Mintasorozatonként egynél több belsőkontroll-cső használata, illetve egynél több készletellenőrzés esetén további egyszer használatos, szűrővel ellátott hegyek szükségesek.

† Egy hegyállványon 32 darab, szűrővel rendelkező hegy van.

‡ Szűrővel ellátott hegyek száma reagenskazettánként, az 1 készletellenőrzéshez szükséges, szűrővel ellátott hegyeket is beleszámítva.

§ Egy egységdobozban 28 minta-előkészítő kazetta van.

¶ Egy egységdoboz tizenkét 8 pálcás védőborítást tartalmaz.

A QIASymphony AS készülék beállítása

Fogyóeszközök

A beállítás alatt a QIASymphony AS modul egyes fogyóeszközeinek megfelelő pozíciója megjelenik a készülék érintőképernyőjén.

Fogyóeszköz	Az érintőképernyőn megjelenő név	Adapterrel/ reagenstartóval való használatra
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG Strip Tubes 72 QS
Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (500) ^{†‡}	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkir [§]	Reagent holder 1 QS
Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (500) ^{†‡}	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkir [§]	Reagent holder 1 QS

* Olyan laboreszközt jelöl, amely a vonalkóddal jelölt hűtőadapter használatával lehűthető.

[†] Mesterkeverék-komponensek, rendszer által készített mesterkeverék, tesztstandardok és tesztkontrollok esetén.

[‡] Másik lehetőségként a „Szükséges, de nem biztosított anyagok” részben (3. oldal) szereplő Sarstedt csövek is használhatók.

[§] Az érintőképernyőn megjelenő „(m)” utótag azt jelzi, hogy a konkrét meniskusszal rendelkező reagensek esetén a folyadékszint-számítást optimalizálta a rendszer.

Adapterek és reagenstartók

Állvány/reagenstartó	Név	Szükséges szám [¶]
Reagenstartók	Reagent holder 1 QS	1
Mintaállványok	RG Strip Tubes 72 QS	1

[¶] 72 reakciós tesztfutathoz számítva.

Szűrővel rendelkező hegyek

Töltse be a hegytartó állványokat az Eluate and Reagents „Eluátum és reagensek” fiókjába az 1., 2. és 3. nyílással kezdve, majd az Assays „Tesztek” fiókjába a 7., 8. és 9. nyílásba.

Fogyóeszköz	Az érintőképernyőn megjelenő név	Legkisebb mennyiség 24 reakció esetén	Legkisebb mennyiség 72 reakció esetén
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	1500 µl	4	6
Filter-Tips, 200 µl (1024)	200 µl	9	8
Filter-Tips, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Tip Disposal Bags	–	1	1

PCR a Rotor*-Gene Q készüléken

A protokoll részletei a *Settings to run artus QS-RGQ Kits* szoftverspecifikus protokoll lapon olvashatók a www.qiagen.com/products/artushsv-12pcrkitce.aspx címen.

Az *artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit* specifikus beállításai

A Rotor-Gene® szoftver 2.1-es verziójának specifikus beállításai az alábbiakban láthatók.

Reaction Volume (µl) (Reakció-térfogat (µl))	50
Hold (Hőntartás)	Hőntartási hőmérséklet: 95 fok Hőntartási idő: 10 perc
Cycling (Ciklusok futtatása)	45-ször 95 fok 15 másodpercen keresztül 65 fok 30 másodpercen keresztül (végezzen akvizíciót a zöld, narancssárga és sárga csatornán, és aktiválja a touchdown funkciót 10 cikluson keresztül) 72 fok 20 másodpercen keresztül
Auto-Gain Optimisation Setup (Automatikus jelerősség-optimalizációs beállítás)	65 fok (minták: zöld, narancssárga; IC: sárga)

Az eredmények értelmezése

Ez a fejezet a Rotor-Gene Q készüléken kapott eredmények értelmezését ismerteti. A teljes minta-eredmény munkafolyamat elemzéséhez tekintse át a mintaállapot-információkat is a QIAasymphony SP/AS eredményfájlokban. Kizárólag az érvényes státuszú minták használhatók.

Az *artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit* a Rotor-Gene Q készüléken a Rotor-Gene Q szoftver 2.1-es vagy későbbi verziójával végzett kézi elemzéssel is futtatható. Az alábbi bekezdésekben ismertetjük az eredmények értelmezését a Rotor-Gene Q szoftver 2.1-es vagy későbbi verziójának használatával.

*Lehetőség szerint Rotor-Gene Q 5plex HRM készülék, amelynek gyártási dátuma 2010. január vagy annál későbbi. A gyártási dátum a készülék hátoldalán található sorozatszámról olvasható le. A sorozatszám formátuma „hhéésszsz”, ahol a „hh” a számjegyekkel jelölt gyártási hónapot jelzi, az „éé” a gyártás évének utolsó két számjegyét jelzi, az „szszsz” pedig egy egyedi készülékazonosító.

Jelészlelés és következtetések

Jel a Cycling Green csatornában	Jel a Cycling Orange csatornában	Jel a Cycling Yellow csatornában	Eredmény	Értelmezés
Igen	Nem	Igen*	Pozitív	A minta HSV-1 DNS-t tartalmaz. Nem mutatható ki HSV-2 DNS.†
Nem	Igen	Igen*	Pozitív	A minta HSV-2 DNS-t tartalmaz. Nem mutatható ki HSV-1 DNS.†
Igen	Igen	Igen*	Pozitív	A minta HSV-1 és HSV-2 DNS-t tartalmaz.
Nem	Nem	Igen	Negatív	Nem mutatható ki HSV-1/2 DNS.†
Nem	Nem	Nem	Nem egyértelmű	Nem határozható meg eredmény.‡

* A jel nem feltétlenül szükséges, mivel a kezdeti magas HSV-1 és/vagy HSV-2 DNS-koncentráció gyenge vagy hiányzó fluoreszcens jelet eredményezhet a Cycling Yellow csatornában (kompetíció).

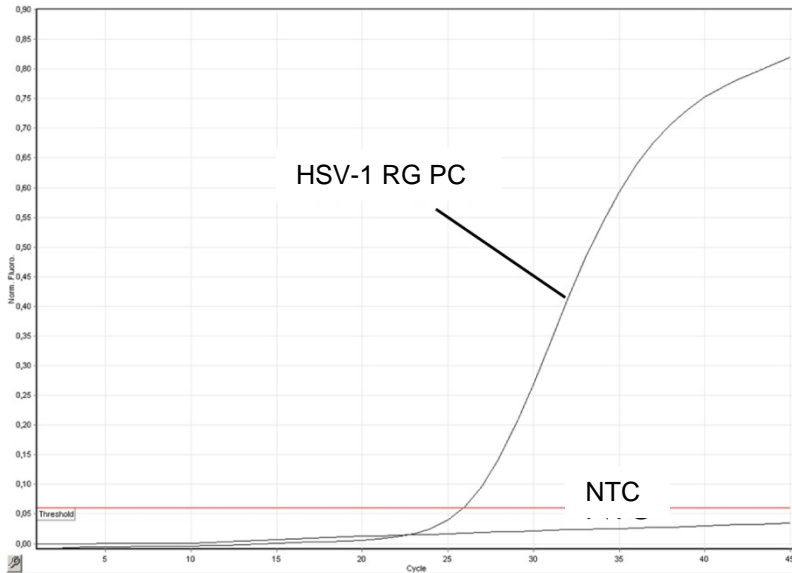
† Ha egy negatív minta belső kontrolljának C_T -értéke több mint 3 ciklussal nagyobb, mint a futtatásban a templát nélküli kontroll belső kontrolljának C_T -értéke ($C_{T,IC\text{ minta}} - C_{T,IC\text{ NTC}} > 3$), a mintát érvénytelennek kell tekinteni. Nem határozható meg eredmény.

‡ A hibaforrásokkal és ezek megoldásával kapcsolatos információk az *artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit Kézikönyv* „Troubleshooting guide” (hibaelhárítási útmutató) részében található.

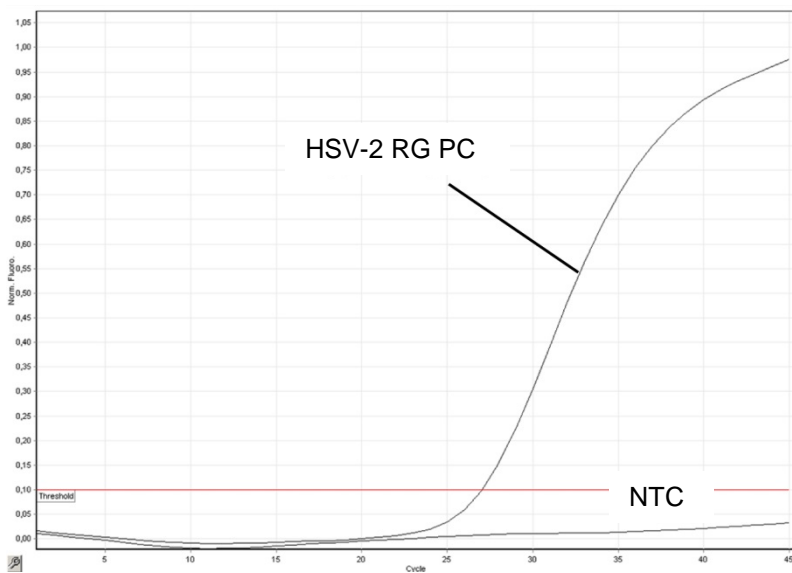
Küszöbérték-beállítások PCR-elemzéshez

A Rotor-Gene Q készülék és az *artus QS-RGQ Kit* egy adott kombinációjára vonatkozó optimális küszöbérték-beállításokat az egyes kombinációk tesztelésével, tapasztalati úton kell meghatározni, mivel ez a teljes diagnosztikai munkafolyamattól függő relatív érték. A küszöbérték az első PCR-futtatás elemzéséhez előzetesen 0,04 értékre állítható be, ez az érték a munkafolyamat későbbi futtatásai során azonban finomhangolással módosítható. A küszöbértéket manuálisan éppen a negatív kontrollok és negatív minták háttérjele feletti értékre kell beállítani. A fenti tesztekben számított átlagos küszöbérték nagy valószínűséggel a jövőbeli futtatások többségénél jól alkalmazható, a felhasználónak mindazonáltal rendszeres időközönként felül kell vizsgálnia a generált küszöbértéket. A küszöbérték általában 0,03 és 0,05 között lesz, és legfeljebb három tizedesjegyre kell kerekíteni.

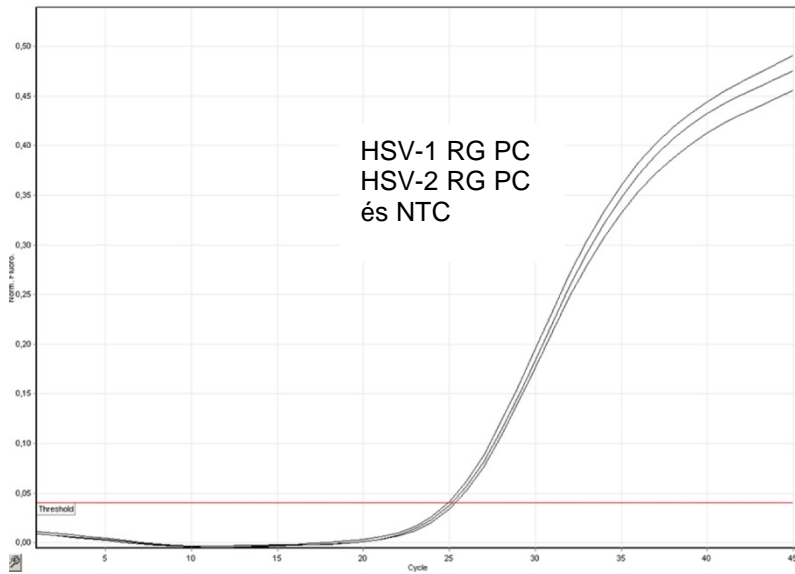
Példák pozitív és negatív PCR-reakciókra



A HSV-1 pozitív kontrollok (HSV-1 RG PC) kimutatása a Cycling Green fluoreszcencia-csatornában. NTC: No template control (Templát nélküli kontroll (negatív kontroll)).



A HSV-2 pozitív kontrollok (HSV-2 RG PC) kimutatása a Cycling Orange fluoreszcencia-csatornában. NTC: No template control (Templát nélküli kontroll (negatív kontroll)).



A belső kontroll (IC) detekciója a Cycling Yellow fluoreszcencia-csatornában a pozitív kontrollok (HSV-1 RG PC és HSV-2 RG PC) amplifikációja mellett. NTC: No template control (Templát nélküli kontroll).

Dokumentum átdolgozási előzményei

R2, 2018. február 216 teszt beállítására vonatkozó lábjegyzet eltávolítva. A QIASymphony protokollok új verzióinak beemelése. A legfeljebb 72 reakció beállításához szükséges anyagok frissítése. A QMC „IC Calculator” eszközének alkalmazására vonatkozó frissített információ. A Corning laboratóriumi eszközök elnevezésének frissítése (korábban Becton Dickinson). A Rotor-Gene Q specifikus futtatási beállításainak hozzáadása (a touchdown funkció alkalmazása, akvizíciók). Rotor-Gene AssayManager® hivatkozásának törlése.

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN kit kézikönyvében vagy felhasználói útmutatójában található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói útmutatói a www.qiagen.com webhelyen érhetők el, vagy a QIAGEN Műszaki ügyfélszolgálattól vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

Védjegyek: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN csoport); Corning® (Corning Inc.); Sarsted® (Sarstedt AG and Co.). A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvényi védelem kivétel esőnek, ha nem rendelkeznek külön jelöléssel. 02/2018 HB-0403-S02-002 © 2012–2018 QIAGEN, minden jog fenntartva.

Rendelés: www.qiagen.com/shop | Műszaki támogatás: support.qiagen.com |
Webhely: www.qiagen.com
