

artus[®] HCV RG RT-PCR Kit El Kitabı



24 (katalog no. 4518263)



96 (katalog no. 4518265)

Versiyon 1



Kantitasyon in vitro diagnostik

Rotor-Gene[®] Q Aletleriyle kullanılmak üzere



4518263, 4518265



1049309TR



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,

ALMANYA

R5



1049309TR



QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN her biyolojik örneğin içeriğinin saptanması ve izolasyonunu mümkün kılacak şekilde yenilikçi örnek ve analiz teknolojilerinin önde gelen sağlayıcısıdır. Gelişmiş ve yüksek kalitede ürünlerimiz ve hizmetlerimiz örnekten sonuca kadar başarıyı garanti eder.

QIAGEN şunlarda standartları belirler:


- DNA, RNA ve protein saflaştırma
- Nükleik asit ve protein analizleri
- mikroRNA araştırmaları ve RNAi
- Analiz ve örnek teknolojilerinin otomasyonu

Misyonumuz olağanüstü başarılar elde etmenizi ve yeni buluşlar yapmanızı sağlamaktır. Daha fazla bilgi için, www.qiagen.com adresini ziyaret ediniz.

İçindekiler

Kit İÇeriği	4
Semboller	4
Saklama	5
Kullanım Amacı	5
Ürün Kullanımı Sınırlamaları	6
Kalite Kontrol	6
Uyarılar ve önlemler	6
Giriş	7
Prensip	7
Patojen bilgisi	7
Performans özellikleri	8
Kullanıcı Tarafından Sağlanacak Ekipman ve Reaktifler	17
Önemli Notlar	18
Genel önlemler	18
Numune toplama, saklama ve nakli	18
RNA izolasyonu	20
Dahili kontrol	20
Kantitasyon	21
Protokol: PCR ve Veri Analizi	22
Sorun Giderme Kılavuzu	32
Referanslar	35
Sipariş Bilgisi	36

Kit İçeriği

artus HCV RG RT-PCR Kit		(24)	(96)
Katalog no.		4518263	4518265
Reaksiyon sayısı		24	96
Mavi	Hep. C Virus RG Master A	2 x 12 reaksiyon	8 x 12 reaksiyon
Eflatun	Hep. C Virus RG Master B	2 x 12 reaksiyon	8 x 12 reaksiyon
Kırmızı	Hep. C Virus RG QS 1* (10 ⁴ IU/μl)	QS 200 μl	200 μl
Kırmızı	Hep. C Virus RG QS 2* (10 ³ IU/μl)	QS 200 μl	200 μl
Kırmızı	Hep. C Virus RG QS 3* (10 ² IU/μl)	QS 200 μl	200 μl
Kırmızı	Hep. C Virus RG QS 4* (10 ¹ IU/μl)	QS 200 μl	200 μl
Yeşil	Hep. C Virus RG IC [†]	IC 1000 μl	2 x 1000 μl
Beyaz	Su (PCR sınıfı)	1000 μl	1000 μl
	El Kitabı	 1	1

* Kantitasyon standardı.

† Dahili kontrol.

Semboller



<N>

<N> test için yeterli reaktif içermektedir



Son kullanma tarihi



İn vitro diagnostik tıbbi cihaz



Katalog numarası



Lot numarası



Materyal numarası

COMP

Bileşenler

CONT

İçindekiler

NUM

Numara

GTIN

Global Ticaret Madde Numarası



Sıcaklık sınırlaması



Üretici



Kullanma talimatına başvurun



Önemli not

Saklama

artus HCV RG RT-PCR Kiti bileşenleri -30°C - -15°C 'de saklanmalıdır ve etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir. Tekrarlanan dondurma ve çözmeden (>2 x) kaçınılmalıdır çünkü analiz hassasiyetini azaltabilir. Reaktifler sadece arada kullanılacaksa alikotlar halinde dondurulmaları gerekir. $2-8^{\circ}\text{C}$ 'de saklama 5 saatlik bir dönemi geçmemelidir.

Kullanım Amacı

artus HCV RG RT-PCR Kiti insan plazmasında hepatit C virüsü (HCV) RNA'sının kantitasyonu için bir in vitro nükleik asit amplifikasyonu testidir. Bu diagnostik test revers transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonunu (RT-PCR) kullanır ve Rotor-Gene Q Aletleriyle kullanılmak üzere konfigüre edilmiştir. Test $65 - 1 \times 10^6$ HCV IU/ml aralığında HCV RNA kantitasyonu yapabilir.



artus HCV RG RT-PCR Kiti Rotor-Gene Q 2plex Aletleriyle kullanılmamalıdır.

artus HCV RG RT-PCR Kitinin hastalık tanısı için klinik sunum ve diğer laboratuvar işaretleriyle birlikte kullanılması ve EDTA plazma HCV RNA düzeylerindeki değişiklikler yoluyla ölçüldüğü şekilde antiretroviral tedaviye viral cevabın değerlendirilmesine yardımcı olarak kullanılması amaçlanmıştır. *artus* HCV RG RT-PCR Kitinin HCV için bir tarama testi olarak kullanılması veya HCV

enfeksiyonu varlığını doğrulamak için diagnostik bir test olarak kullanılması amaçlanmamıştır.

Ürün Kullanımı Sınırlamaları

Tüm reaktifler sadece in vitro diagnostik için kullanılabilir.

Ürün sadece in vitro diagnostik işlemler konusunda özel talimat almış ve eğitilmiş personel tarafından kullanılmalıdır.

Optimum PCR sonuçları için kullanıcı el kitabına katı olarak uymak gerekir.

Tüm bileşenlerin etiketleri ve kutusunda basılı son kullanma tarihlerine dikkat edilmelidir. Son kullanma tarihi geçmiş bileşenleri kullanmayın.

Nadir olsa da kitin primerleri ve/veya probun kapsadığı viral genomun yüksek ölçüde korunmuş bölgelerinde mutasyonlar olması bu vakalarda virüs varlığının saptanmaması veya miktarının eksik gösterilmesiyle sonuçlanabilir. Analiz tasarımının geçerliliği ve performansı düzenli aralıklarla revize edilmektedir.

Kalite Kontrol

QIAGEN'in ISO sertifikalı Kalite Yönetim Sistemi uyarınca her *artus* HCV RG RT-PCR Kiti tutarlı ürün kalitesini sağlamak üzere önceden belirlenmiş spesifikasyonlara göre test edilir.

Uyarılar ve önlemler

Kimyasallarla çalışırken daima uygun bir laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldivenler ve koruyucu gözlükler kullanın. Daha fazla bilgi için lütfen uygun güvenlik veri sayfalarına (SDS'ler) başvurun. Bunlar çevrim içi olarak PDF halinde www.qiagen.com/safety adresinde yer almaktadır ve kullanıcılar burada her QIAGEN® kiti ve kit bileşeni için SDS'yi bulabilir, okuyabilir ve yazdırabilir.

Örnek ve analiz atığını yerel güvenlik düzenlemelerinize uygun olarak atın.

Giriş

artus HCV RG RT-PCR Kiti Rotor-Gene Q aletlerinde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak HCV RNA saptanması için bir kullanıma hazır sistem oluşturur. Hep. C Virus RG Master A ve B HCV genomunun bir 240 bp bölgesinin revers transkripsiyonunu ve spesifik amplifikasyonu için ve Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q, veya Rotor-Gene 6000 veya Rotor-Gene 3000 Cycling A.FAM™ (kaynak 470 nm, detektör 510 nm) Cycling Green floresans kanalında spesifik amplikonun doğrudan saptanması için reaktifler ve enzimler içerir.

Ayrıca, *artus* HCV RG RT-PCR Kiti olası PCR inhibisyonunu tanımlamak için ikinci bir heterolog amplifikasyon sistemi içerir. Bu Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q veya Rotor-Gene 6000 veya Rotor-Gene 3000 A.ROX™ (kaynak 585 nm, detektör 610 nm) Cycling Green floresans kanalında bir dahili kontrol (IC) olarak saptanır. Analitik HCV RT-PCR (bakınız "Analitik hassasiyet", sayfa 8) saptama limiti azalmaz. Harici pozitif kontroller (Hep. C Virus RG QS 1–4) sağlanır ve bunlar viral RNA miktarının saptanmasını mümkün kılar. Daha fazla bilgi için bakınız "Kantitasyon", sayfa 21.

Prensip

Polimeraz zincir reaksiyonuyla (PCR) patojen saptama, patojen genomunun spesifik bölgelerinin amplifikasyonunu temel alır. Gerçek zamanlı PCR'de amplifiye edilen ürün floresan boyalar yoluyla saptanır. Bunlar genellikle amplifiye edilen ürüne spesifik olarak bağlanan oligonükleotid problemleriyle bağlantılıdır. PCR çalışması sırasında (yani, gerçek zamanlı olarak) floresans şiddetlerinin izlenmesi PCR çalışması sonrasında reaksiyon tüplerinin tekrar açılmasına gerek kalmadan biriken ürünün saptanması ve kantitasyonunu mümkün kılar.*

Patojen bilgisi

Hepatit C, aynı isimli virüs nedeniyle oluşan bir karaciğer enflamasyonudur. A, B, D veya E şeklindeki diğer hepatit virüslerinin aksine hepatit C virüsüyle (HCV) enfeksiyon birçok vakada kronik karaciğer hastalığına neden olur. HCV enfeksiyonu sıklıkla nispeten uzun süreler bir belirtiye yol açmaz. Bu nedenle çoğu hasta HCV enfeksiyonunun farkında değildir. Ancak tedavinin en etkili olduğu zaman hastalığın erken dönemleridir. Şu anda tek ispatlanmış ve etkili tedavi interferon α 'dir (Ribavirin ile kombinasyon halinde). Ancak sadece bazı kronik hepatit C hastalarının interferon tedavisine cevap verdiği de bilinmektedir. Bu nedenle belirli durumlar altında bu pahalı hasta tedavisi istenmeyebilir ve

* Mackay, I.M. (2004) Real-time PCR in the microbiology laboratory. Clin. Microbiol. Infect. **10**, 190

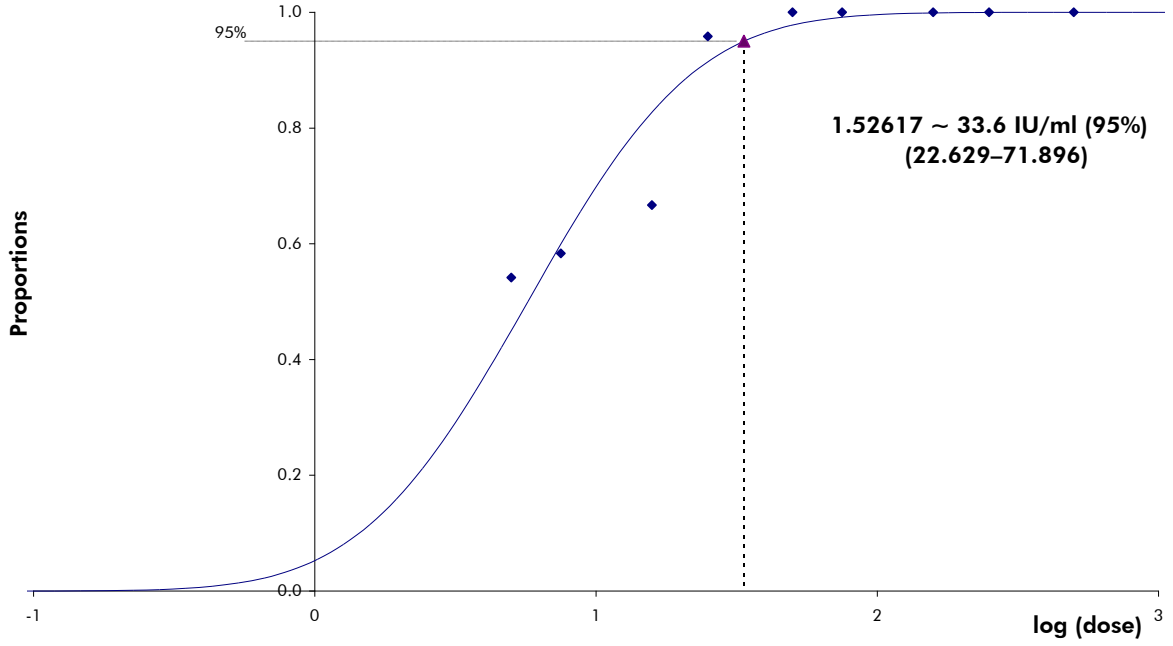
immün sistemin bozulması ve sonuçta alevlenmeler oluşması (örn. dudakta herpes, zona) gibi ciddi yan etkileri olabilir.

Performans özellikleri

Analitik hassasiyet

artus HCV RG RT-PCR Kitinin analitik hassasiyetini belirlemek için in vitro transkripsiyon yapılmış RNA kopyalarıyla 10 IU/ μ l değerinden nominal 0,0316 IU/ μ l değerine standart bir dilüsyon serisi oluşturulmuş ve *artus* HCV RG RT-PCR Kitiyle analiz edilmiştir. Testler 8 replikatta 3 farklı günde yapılmıştır. Sonuçlar probit analiziyle belirlenmiştir. *artus* HCV RG RT-PCR Kitinin analitik saptama limiti 0,19 IU/ μ l'dir ($p = 0,05$). Bu durum 0,19 IU/ μ l'nin saptanması olasılığının %95 olduğunu göstermektedir.

Rotor-Gene Aletleri üzerinde *artus* HCV RG RT-PCR Kitinin saflaştırılması (QIAamp® DSP Virüs Kiti) dikkate alınarak analitik hassasiyet, klinik plazma numunelerine eklenen 500 ile nominal 5 HCV IU/ml arasında DSÖ Uluslararası HCV RNA Standardı dilüsyon serisi kullanılarak belirlenmiştir. Bunlar QIAamp DSP Virüs Kiti (ekstraksiyon hacmi: 0,5 ml, elüsyon hacmi: 25 μ l) kullanılarak RNA ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur. 9 dilüsyonun her biri *artus* HCV RG RT-PCR Kitinde 3 farklı günde 8 replikat ile analiz edilmiştir. Sonuçlar probit analiziyle belirlenmiştir. Probit analizinin grafik bir temsili Şekil 1'de verilmiştir. Rotor-Gene Aletleriyle kombinasyon halinde *artus* HCV RG RT-PCR Kitinin saflaştırılması dikkate alınarak analitik saptama limiti 33,6 IU/ml'dir ($p = 0,05$). Bu durum 33,6 IU/ μ l'nin saptanması olasılığının %95 olduğunu göstermektedir.



Şekil 1. Probit analizi: HCV (Rotor-Gene 3000). 3000 Rotor-Gene 3000 üzerinde *artus* HCV RG RT-PCR Kitinin saflaştırılması (QIAamp DSP Virüs Kiti, QIAGEN) dikkate alınarak analitik hassasiyet.

Özgüllük

artus HCV RG RT-PCR Kitinin özgüllüğü öncelikle primer ve probaların seçilmesi ve ayrıca katı reaksiyon koşullarının seçilmesiyle sağlanır. Primerler ve probalar gen bankalarında yayımlanmış tüm dizilere olası homolojiler açısından sekans karşılaştırma analiziyle kontrol edilmiştir. Tüm ilgili alt tipler ve genotiplerin saptanabilirliği böylece garanti edilmiştir.

Ayrıca özgüllük 100 farklı HCV negatif plazma örneğiyle doğrulanmıştır. Bunlar Hep. C Virus RG Master'lerinde bulunan HCV'ye spesifik primerler ve probalarla herhangi bir sinyal vermemiştir.

artus HCV RG RT-PCR Kitinin olası çapraz reaktivitesi Tablo 2'de liste halinde verilen kontrol grubu kullanılarak test edilmiştir. Test edilen patojenlerin hiçbiri reaktif bulunmamıştır. Karışık enfeksiyonlarla çapraz reaktivite görülmemiştir.

Tablo 1. İlgili genotiplerin özgüllüğünün test edilmesi

Virüs	Genotip	Kaynak	HCV (Cycling Green/ A.FAM)	Dahili kontrol (Cycling Orange/ A.ROX)
Hepatit C virüsü	1	NIBSC, HemaCare, Essen Üniversitesi	+	+
Hepatit C virüsü	2	NIBSC, HemaCare, Essen Üniversitesi	+	+
Hepatit C virüsü	3	NIBSC, HemaCare, Essen Üniversitesi	+	+
Hepatit C virüsü	4	NIBSC, HemaCare, Essen Üniversitesi	+	+
Hepatit C virüsü	5	NIBSC, HemaCare, Essen Üniversitesi	+	+
Hepatit C virüsü	6	NIBSC, HemaCare, Essen Üniversitesi	+	+

Tablo 2. Kitin özgüllüğünün potansiyel çapraz reaktif patojenlerle test edilmesi

Kontrol grubu	HCV (Cycling Green/ A.FAM)	Dahili kontrol (Cycling Orange/ A.ROX)
İnsan immünyetmezlik virüsü 1	-	+
Hepatit A virüsü	-	+
Hepatit B virüsü	-	+
İnsan herpes virüsü 1 (herpes simpleks virüsü 1)	-	+
İnsan herpes virüsü 2 (herpes simpleks virüsü 2)	-	+
İnsan herpes virüsü 3 (varisella-zoster virüsü)	-	+
İnsan herpes virüsü 5 (sitomegalovirüs)	-	+

Tablo bir sonraki sayfada devam ediyor

Tablo 2. Devam

Kontrol grubu	HCV (Cycling Green/ A.FAM)	Dahili kontrol (Cycling Orange/ A.ROX)
İnsan T hücreli lösemi virüsü tip 1 ve tip 2	-	+
İnsan herpes virüsü 6A	-	+
İnsan herpes virüsü 6B	-	+
İnsan herpes virüsü 8 (Kaposi sarkomu herpes virüsü)	-	+
Enterovirüs	-	+
Parvovirüs B19	-	+
Dang humması	-	+
Sarı humma	-	+
<i>Aspergillus flavus</i>	-	+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	+
<i>Candida albicans</i>	-	+
<i>Chlamydia trachomatis</i>	-	+
<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	+
<i>Filobasidiella neoformans</i>	-	+
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-	+
<i>Pneumocystis carinii</i>	-	+
<i>Staphylococcus sp.</i>	-	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	-	+

Lineer Aralık

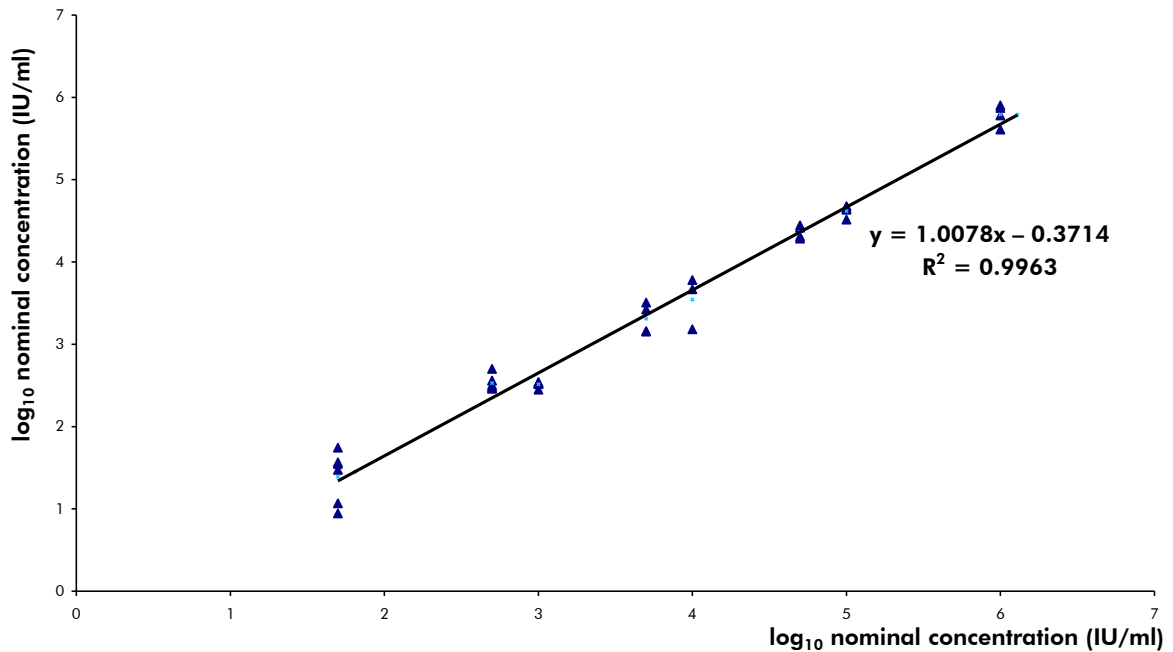
artus HCV RG RT-PCR Kitinin lineer aralığı (analitik ölçüm) 1×10^7 IU/ μ l ile 1 IU/ μ l arasında bir HCV in vitro transkripti dilüsyon serisinin analiz edilmesiyle

belirlenmiştir. Dilüsyon serisi DSÖ Uluslararası HCV RNA Standardına göre kalibre edilmiştir.

Her dilüsyon Rotor-Gene Aletleri üzerinde *artus* HCV RG RT-PCR Kiti kullanılarak replikatlar (n = 8) halinde test edilmiştir.

artus HCV RG RT-PCR Kitinin lineer aralığı 1 IU/μl değerinden en az 1 x 10⁷ IU/μl değerine kadar konsantrasyonları kapsayacak şekilde belirlenmiştir.

artus HCV RG RT-PCR Kitinin saflaştırılması dikkate alınarak lineer aralık Acrometrix'ten örnekler analiz edilerek belirlenmiştir. Saflaştırma 50 IU/ml ile 10³ IU/ml arasında replikatlar (n = 6) ve 5 x 10³ IU/ml ile 10⁶ IU/ml arasında replikatlar (n = 4) üzerinde QIAamp DSP Virüs Kiti (ekstraksiyon hacmi: 0,5 ml, elüsyon hacmi: 25 μl) kullanılarak yapılmıştır. Örneklerin her biri Rotor-Gene aletleri üzerinde *artus* HCV RG RT-PCR Kiti kullanılarak analiz edilmiştir. *artus* HCV RG RT-PCR Kitinin saflaştırılması dikkate alınarak lineer aralık 65 IU/ml değerinden en az 10⁶ IU/ml değerine kadar konsantrasyonları kapsayacak şekilde belirlenmiştir (bakınız Şekil 2).



Şekil 2. *artus* HCV RG RT-PCR Kitinin lineer aralığı. Saflaştırma dikkate alınarak lineer aralığın hesaplanması. Düz çizgi log₁₀ nominal konsantrasyonlarla log₁₀ hesaplanmış konsantrasyonların lineer regresyonuyla belirlenmiştir. Regresyon çizgisinin denklemi şekle dahil edilmiştir.

Kesinlik

Rotor-Gene Aletleri üzerinde *artus* HCV RG RT-PCR Kitinin kesinlik verileri tahlilin toplam varyansının belirlenmesini mümkün kılar. Toplam varyans analiz içi değişkenlik (bir deneyde aynı konsantrasyondan örneklerin birden fazla

sonucunun değişkenliği), analizler arası değişkenlik (bir laboratuvarıda farklı kullanıcılar tarafından aynı tipte farklı aletlerde oluşturulan birden fazla tahlil sonucunun değişkenliği) ve partiler arası değişkenlikten (çeşitli partiler kullanılarak tahlilin birden fazla sonucunun değişkenliği) oluşur. Elde edilen veriler patojene spesifik ve dahili kontrol PCR için varyasyon katsayısını, varyansı ve standart sapmayı belirlemek için kullanılmıştır.

artus HCV RG RT-PCR Kitinin kesinlik verileri en düşük konsantrasyonun (QS 4; 10 IU/ μ l) kantitasyon standardı kullanılarak toplanmıştır. Testler 8 replikatla yapılmıştır. Kesinlik verileri amplifikasyon eğrilerinin C_T değerleri temelinde hesaplanmıştır (C_T : eşik döngüsü, bakınız Tablo 3). Ayrıca, IU/ μ l olarak kantitatif sonuçlar için kesinlik verileri karşılık gelen C_T değerleri kullanılarak belirlenmiştir (bakınız Tablo 4). Bu sonuçlar temelinde belirtilen konsantrasyona sahip herhangi bir belirli örneğin genel istatistiksel dağılımı %1,52 (C_T) veya %25,71 (konsantrasyon) şeklindedir ve dahili kontrolün saptanması için %0,75'tir (C_T) Bu değerler belirlenmiş değişkenliklerin tüm tek değerlerinin toplamı temelindedir.

Tablo 3. C_T değerleri temelinde kesinlik verileri

	C_T deęeri	Standart sapma	Varyasyon katsayısı (%)
Tahlil içi değişkenlik: Hep. C Virus RG QS 4	32,81	0,09	0,28
Tahlil içi değişkenlik: Hep. C Virus RG IC	30,04	0,08	0,27
Analizler arası değişkenlik: Hep. C Virus RG QS 4	32,14	0,5	1,57
Analizler arası değişkenlik: Hep. C Virus RG IC	30,23	0,22	0,71
Partiler arası değişkenlik: Hep. C Virus RG QS 4	32,56	0,48	1,46
Partiler arası değişkenlik: Hep. C Virus RG IC	30,28	0,24	0,78
Toplam varyans: Hep. C Virus RG QS 4	32,41	0,49	1,52

Toplam varyans: Hep. C Virus RG IC	30,29	0,29	0,75
---------------------------------------	-------	------	------

Tablo 4. Kantitatif sonuçlar (IU/ μ l olarak) temelinde kesinlik verileri

	Standart sapma	Varyans	Varyasyon katsayısı (%)
Tahlil içi değişkenlik: Hep. C Virus RG QS 4	0,64	0,41	6,34
Analizler arası değişkenlik: Hep. C Virus RG QS 4	1,00	1,00	9,93
Partiler arası değişkenlik: Hep. C Virus RG QS 4	3,92	15,34	37,35
Toplam varyans: Hep. C Virus RG QS 4	2,63	6,93	25,71

Güçlülük

Güçlülüğün doğrulanması *artus* HCV RG RT-PCR Kitinin toplam başarısızlık oranının belirlenmesini mümkün kılar. 100 HCV negatif plazma örneğine 2 IU/ μ l elüsyon hacminde HCV kontrol RNA eklenmiştir (analitik hassasiyet limitinin yaklaşık üç katı konsantrasyon). QIAamp DSP Virüs Kiti ekstraksiyonundan sonra bu örnekler *artus* HCV RG RT-PCR Kiti ile analiz edilmiştir. Tüm HCV örnekleri için başarısızlık oranı %0'dır. Ayrıca dahili kontrolün güçlülüğü 100 HCV negatif plazma örneğinin saflaştırılması ve analizi ile değerlendirilmiştir. Toplam başarısızlık oranı %0'dır. İnhibisyonlar gözlenmemiştir. Böylece *artus* HCV RG RT-PCR Kitinin güçlülüğü \geq %99'dur.

Tekrar Üretilirlik

Tekrar üretilebilirlik verileri *artus* HCV RG RT-PCR Kitinin normal performansının değerlendirilmesini ve ayrıca başka ürünlerle etkinliğinin karşılaştırılmasını mümkün kılar. Bu veriler belirlenmiş verimlilik programlarına katılımı elde edilir.

Diagnostik değerlendirme

artus HCV RG RT-PCR Kiti bir çalışmada değerlendirilmiştir. *artus* HCV RG RT-PCR Kitinin COBAS® TaqMan® HCV Testiyle karşılaştırılması için 276 plazma

numunesi retrospektif olarak analiz edilmiştir. Tüm plazma numuneleri daha önce rutin diagnostik için COBAS TaqMan HCV Testi kullanılarak pozitif veya negatif olarak analiz edilmiştir.

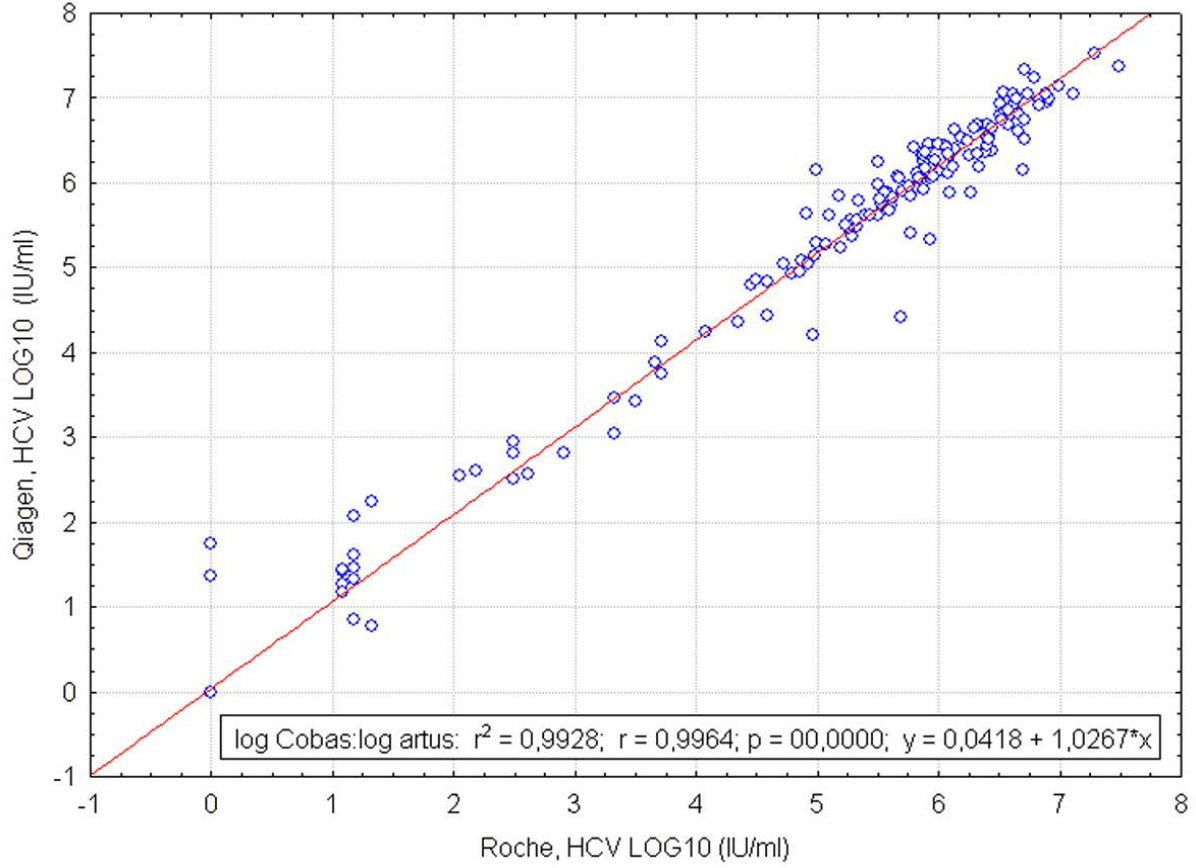
artus HCV RG RT-PCR Kitinin test edilmesi için HCV RNA, QIAamp DSP Virüs Kiti kullanılarak izole edilmiştir ve analiz Rotor-Gene 6000 Aleti üzerinde yapılmıştır. COBAS TaqMan HCV Testi ile karşılaştırmalı test için HCV RNA prospektüste sağlanan üretici talimatına göre analiz edilmiştir. *artus* HCV RG PCR Kiti kullanılarak elde edilen sonuçlar COBAS TaqMan HCV Testininkilerle karşılaştırılmıştır (bakınız Tablo 5 ve Şekil 3).

COBAS TaqMan HCV Testiyle pozitif test sonucu veren 139 örneğin 137'si aynı zamanda *artus* HCV RG RT-PCR Kiti ile pozitif test sonucu vermiştir. COBAS TaqMan HCV Testiyle negatif test sonucu veren 137 örnek *artus* HCV RG RT-PCR Kiti ile de negatif sonuç vermiştir.

COBAS TaqMan HCV Testi sonuçları referans olarak alınırca, diagnostik hassasiyet %100 ve diagnostik özgüllük %98,6'dır.

Tablo 5. Retrospektif olarak analiz edilen 276 EDTA plazma örneğinin sonuçları

		COBAS TaqMan HCV Testi		
		+	-	Toplam
<i>artus</i> HCV RG RT-PCR Kiti	+	137	2	139
	-	0	137	137



Şekil 3. COBAS TaqMan HCV Testinin (Roche, HCV; COBAS AmpliPrep sistemi kullanılarak örnek saflaştırılmalı) artus HCV RG RT-PCR Kitiyle (QIAGEN, HCV; QIAamp DSP Virüs Kiti kullanılarak örnek saflaştırılmalı) karşılaştırması. Her iki test sisteminden kantitatif sonuçların korelasyonu (Tablo 5) lineer regresyonla analiz edilmiştir. Her iki kitten sonuçlar bir XY (saçılım) plotunda log-log ölçeğiyle gösterilmiştir.

Kullanıcı Tarafından Sağlanacak Ekipman ve Reaktifler

Kimyasallarla çalışırken daima uygun bir laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldivenler ve koruyucu gözlükler kullanın. Daha fazla bilgi için ürün tedarikçisinden elde edilebilecek uygun güvenlik veri sayfalarına (SDS'ler) başvurun.

- RNA izolasyon kiti (bakınız "RNA izolasyonu", sayfa 20)
- Pipetler (ayarlanabilir)*
- Filtreli steril pipet uçları
- Vorteks karıştırıcı*
- 2 ml reaksiyon tüpleri için rotorlu tezgah santrifüjü*
- Cycling Green ve Cycling Orange için floresans kanallı veya Cycling A.FAM ve Cycling A.ROX için floresans kanallı Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q veya Rotor-Gene Aleti*†
- Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q yazılım versiyonu 1.7.94 veya üstü (Rotor-Gene 6000 yazılım versiyonu 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94; Rotor-Gene 3000 yazılım versiyonu 6.0.23)
- Strip Tüpler ve Kapakları, 0,1 ml, 72 kuyulu rotor ile kullanım için (kat. no. 981103 veya 981106)
- Alternatif olarak: PCR Tüpleri, 0,2 ml, 36 kuyulu rotor ile kullanım için (kat. no. 981005 veya 981008)
- Soğutma bloğu (Yükleme Bloğu 72 x 0,1 ml Tüp, kat. no. 9018901 veya Yükleme Bloğu 96 x 0,2 ml Tüp, kat. no. 9018905)

* Aletlerin üreticinin önerilerine göre kontrol edildiği ve kalibre edildiğinden emin olun.

† *artus* HCV RG RT-PCR Kiti Rotor-Gene Q 2plex Aletleriyle kullanılamaz.

Önemli Notlar

Genel önlemler

Kullanıcı daima şunlara dikkat etmelidir:

- Filtreli steril pipet uçları kullanın.
- Pozitif materyalleri (numuneler, pozitif kontroller ve amplikonlar) tüm diğer reaktiflerden ayrı saklayın ve ekstrakte edin ve bunları reaksiyon karışımına konumsal olarak ayrılmış bir yerde ekleyin.
- Bir analize başlamadan önce tüm bileşenleri oda sıcaklığında (15–25°C) iyice çözün.
- Çözüldüğünde, bileşenleri karıştırın (tekrar tekrar yukarı ve aşağı pipetleyerek veya puls vortekslemeyle ve kısa süre santrifüje edin.
- Hızlı çalışın ve bileşenleri buz üzerinde veya soğutma bloğunda tutun (72/96 kuyulu yükleme bloğu).

Numune toplama, saklama ve nakli

❗ Tüm örneklerle enfeksiyöz olabilecek materyal gibi muamele edilmelidir.

Sadece aşağıdaki örnek materyalleri kabul edilebilir ve bunlar için taşıma, nakil ve saklamayla ilgili aşağıdaki kurallar ve belirli talimat katı şekilde izlenmelidir:

❗ Güncel çalışmalar HCV saptama için en uygun örnek materyalleri olarak EDTA veya sitratlı plazmadan bahsetmektedir. Bu nedenle *artus* HCV RG RT-PCR Kiti ile bu materyallerin kullanılmasını öneririz.

artus HCV RG RT-PCR Kitinin dahili doğrulaması insan EDTA plazma örnekleri kullanılarak yapılmıştır. Başka örnek materyalleri doğrulanmamıştır. Lütfen örnek hazırlama için sadece önerilen RNA izolasyon kitini (bakınız “RNA izolasyonu”, sayfa 20) kullanın.

Bazı örnek materyalleri kullanılırken taşıma, nakil ve saklamayla ilgili belirli talimata katı şekilde uyulması gerekir.

Numune toplama

Her kan alınması kan damarlarında (arterler, venler, kapillerler) hasara neden olur. Sadece zararsız ve steril materyal kullanılmalıdır. Kan alma için uygun tek kullanımlık malzeme mevcuttur. Ven ponksiyonu için çok ince kapiller iğneler kullanılmamalıdır. Venöz kan alınması dirsek eklemi, ön kol ve elin arkasının uygun kısımlarında yapılmalıdır. Kanın standart numune toplama tüplerine (kırmızı kapak, Sarstedt veya başka üreticinin eşdeğer tüpü) alınması gerekir. 5–10 ml hacminde EDTA'lı kan alınmalıdır. Tüpler örnek alındıktan hemen sonra ters çevrilerek karıştırılmalıdır (8 x, sallamayın).

i Heparinize kişilerden alınan örnekler kullanılmamalıdır (bakınız “Olumsuz etkileyen maddeler”, sayfa 19).

Örnek saklama

Tam kan 6 saat içinde 20 dakika 800–1600 x g hızında santrifügasyon ile plazma ve hücresel bileşenlerine ayrılmalıdır. İzole edilen plazmanın steril polipropilen tüplere aktarılması gerekir. Örnekleri rutin olarak dondurursanız veya daha uzun süre saklarsanız analiz hassasiyeti azalabilir. Virüs kapsüllü RNA'sı 4°C'de saklanırsa günlerce, –20°C'de saklanırsa haftalarca ve hatta –70°C'de saklanırsa aylarca ve yıllarca stabildir.*

Örnek nakli

Örnek materyali prensip olarak kırılmaz bir taşıma kabında nakledilmelidir. Bu şekilde örnek sızması nedeniyle olası enfeksiyon tehlikesinden kaçınılabilir. Örnekler, patojenik materyalin taşınması için yerel ve ulusal talimat izlenerek taşınmalıdır.†

Örnekler 6 saat içinde sevk edilmelidir. Örnekleri alındıkları yerde saklamak önerilmez. Örnekleri patojenik materyalin taşınması için yasal talimat izlenerek postayla göndermek mümkündür. Örneklerin bir kuryeyle gönderilmesini öneriyoruz. Kan örnekleri soğutulmuş (2–8°C) olarak ve ayrılmış plazma derin dondurulmuş (–15 - –30°C) olarak gönderilmelidir.

Olumsuz etkileyen maddeler

Artmış bilirubin (≤ 15 mg/dl) ve lipid (≤ 800 mg/dl) seviyeleri ve hemolitik örnekler sistemi etkilemez. Heparin (≤ 10 IU/ml) PCR'ı etkiler. Antikoagülan olarak heparin içeren tüplere toplanmış örnekler kullanılmamalıdır. Ayrıca heparinize hastaların örnekleri kullanılmamalıdır.

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

† Uluslararası Hava Taşımacılığı Derneği (IATA). Dangerous Goods Regulations (Tehlikeli Mallar Düzenlemesi).

RNA izolasyonu

QIAamp DSP Virüs Kiti (QIAGEN, kat. no. 60704), *artus* HCV RG RT-PCR Kitiyle kullanılmak üzere insan plazmasından viral RNA saflaştırma için doğrulanmıştır. Viral RNA saflaştırmayı *QIAamp DSP Virüs Kiti El Kitabındaki* talimata göre yapın.

i Ekstraksiyon etkinliği ve sonuçta DNA/RNA verimi için taşıyıcı RNA kullanılması çok önemlidir. QIAamp DSP Virüs Kiti ile sağlanan taşıyıcı RNA'nın stabilitesini arttırmak için talimat el kitabında verilen taşıyıcı RNA tekrar oluşturma ve saklamayla ilgili bilgilere göre ilerlemenizi öneririz ("Reaktifler ve tamponları hazırlama").

i *artus* HCV RG RT-PCR Kitinin dahili kontrolü izolasyon işleminde doğrudan kullanılabilir (bakınız aşağıda "Dahili kontrol"). Saflaştırma sırasında negatif bir plazma örneğini birlikte işlediğinizden emin olun. Karşılık gelen dahili kontrol sinyali saflaştırmayı değerlendirme için temel olarak görev yapar

Dahili kontrol

Bir dahili kontrol (Hep. C Virus RG IC) sağlanmıştır. Bu hem kullanıcının RNA izolasyon işlemini kontrol etmesine hem de olası PCR inhibisyonunu kontrol etmesine izin verir. Bu uygulama için dahili kontrolü 1 µl elüsyon hacmi başına 0,1 µl oranında izolasyona ekleyin. Örneğin QIAamp DSP Virüs Kiti kullanıldığında, RNA elüsyonu 60 µl Elüsyon Tamponu (AVE) içinde yapılır. Bu nedenle başlangıçta 6 µl dahili kontrol eklenmelidir.

i Dahili kontrol ve taşıyıcı RNA (bakınız yukarıda "RNA izolasyonu") sadece lizis tamponu ve örnek materyali karışımına veya doğrudan lizis tamponuna eklenmelidir.

Dahili kontrol doğrudan örnek materyaline eklenmemelidir. Lizis tamponuna eklenirse, lütfen dahili kontrol ve lizis tamponu-taşıyıcı RNA karışımının taze olarak hazırlanıp hemen kullanılması gerektiğine dikkat edin (karışımın sadece birkaç saat bile oda sıcaklığı veya buzdolabında saklanması dahili kontrol başarısızlığı ve azalmış ekstraksiyon etkinliğine neden olabilir).

i Dahili kontrol ve taşıyıcı RNA'yı doğrudan örnek materyaline eklemeyin.

Dahili kontrol isteğe bağlı olarak sadece olası PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanılabilir. Bu uygulama için dahili kontrolü Hep. C Virus RG Master A ve Hep. C Virus RG Master B karışımına protokolde adım 2b içinde tanımlandığı şekilde doğrudan ekleyin (sayfa 23).

Kantitasyon

Ekteki kantitasyon standartları (Hep. C Virus RG QS 1–4) önceki saflaştırılmış örnekler gibi muamele görür ve aynı hacim kullanılır (20 µl). Rotor-Gene Q Aletleri üzerinde bir standart eğri oluşturmak için 4 kantitasyon standardının hepsi kullanılmalı ve “Edit Samples” (Örnekleri Düzenle) diyalog kutusunda belirtilen konsantrasyonlarda standartlar olarak tanımlanmalıdır (alet kullanıcı el kitabına bakınız).

i Kantitasyon standartları IU/µl olarak tanımlanır.* Aşağıdaki denklemin, standart eğri kullanılarak belirlenen değerleri örnek materyalinden IU/ml değerine dönüştürmek için uygulanması gerekir.

$$\text{Sonuç (IU/ml)} = \frac{\text{Sonuç (IU/µl)} \times \text{Elüsyon Hacmi (µl)}}{\text{Örnek Hacmi (ml)}}$$

Prensip olarak yukarıdaki denkleme başlangıç örnek hacmi girilmelidir. Örnek hacmi nükleik asit ekstraksiyonu öncesinde değiştirildiğinde bunun dikkate alınması gerekir (örn. hacmin santrifügasyonla azaltılması veya izolasyon için gerekli hacme ekleme yapılarak hacmin arttırılması).

* Standart, 1. Uluslararası HCV standardı (DSÖ) kullanılarak kalibre edilmiştir.

Protokol: PCR ve Veri Analizi

i Başlamadan önce önemli noktalar

- İşleme başlamadan önce "Önemli Notlar" kısmı, sayfa 18–21 okuyun.
- Protokole başlamadan önce Rotor-Gene Q Aletine aşına hale gelmek için zaman ayırın. Alet kullanıcı el kitabına bakın.
- En az bir kantitasyon standardı ve bir negatif kontrolün (Su, PCR sınıfı) her PCR çalışmasına eklendiğinden emin olun. Bir standart eğri oluşturmak için her PCR çalışmasında sağlanan 4 kantitasyon standardının (Hep. C Virus RG QS 1–4) hepsini kullanın.

Başlamadan önce yapılacaklar

- Soğutma bloğunun (Rotor-Gene Q Aletinin aksesuarı) 2–8°C'ye önceden soğutulduğundan emin olun.
- Her kullanımdan önce tüm reaktiflerin tamamen çözülmesi, karıştırılması (tekrarlanan yukarı - aşağı pipetleme veya hızlı vorteksleme ile) ve kısa süre santrifüje edilmesi gerekir.

İşlem

1. İstenen sayıda PCR tüpünü soğutma bloğunun adaptörlerine yerleştirin.
2. Dahili kontrolü RNA izolasyon işlemini izlemek ve olası PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanıyorsanız adım 2a'yı izleyin. Dahili kontrolü sadece PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanıyorsanız adım 2b'yi izleyin.
- 2a. Dahili kontrol izolasyona zaten eklenmiştir (bakınız "Dahili kontrol", sayfa 20). Bu durumda Tablo 6 uyarınca bir master karışımı hazırlayın.

Reaksiyon karışımı tipik olarak örnek dışında PCR için gerekli tüm bileşenleri içerir.

Tablo 6. Master karışımın hazırlanması (dahili kontrol RNA izolasyonunu izlemek ve PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanılıyor)

Örnek sayısı	1	12
Hep. C Virus RG Master A	12 μ l	144 μ l
Hep. C Virus RG Master B	18 μ l	216 μ l
Hep. C Virus RG IC	0 μ l	0 μ l
Toplam hacim	30 μl	360 μl

2b. Dahili kontrol Hep. C Virus Master A ve Hep. C Virus Master B karışımına doğrudan eklenmelidir. Bu durumda Tablo 7 uyarınca bir master karışım hazırlayın.

Reaksiyon karışımı tipik olarak örnek dışında PCR için gerekli tüm bileşenleri içerir.

Tablo 7. Master karışımın hazırlanması (dahili kontrol sadece PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanılıyor)

Örnek sayısı	1	12
Hep. C Virus RG Master A	12 μ l	144 μ l
Hep. C Virus RG Master B	18 μ l	216 μ l
Hep. C Virus RG IC	2 μ l	24 μ l
Toplam hacim	32 μl	384 μl

* Dahili kontrolü eklemenin neden olduğu hacim artışı, PCR analizi hazırlanırken dikkate alınmaz. Saptama sisteminin hassasiyeti etkilenmez.

3. Her PCR tüpüne ana karışımdan 30 μ l pipetleyin. Sonra elüsyon yapılmış örnek RNA'sından 20 μ l ekleyin (bakınız Tablo 8). Buna karşılık olarak, kantitasyon standartlarının 20 μ l (Hep. C Virus RG QS 1–4) en az biri pozitif kontrol olarak ve 20 μ l su (Su, PCR sınıfı) negatif kontrol olarak kullanılmalıdır.

Tablo 8. PCR analizini hazırlama

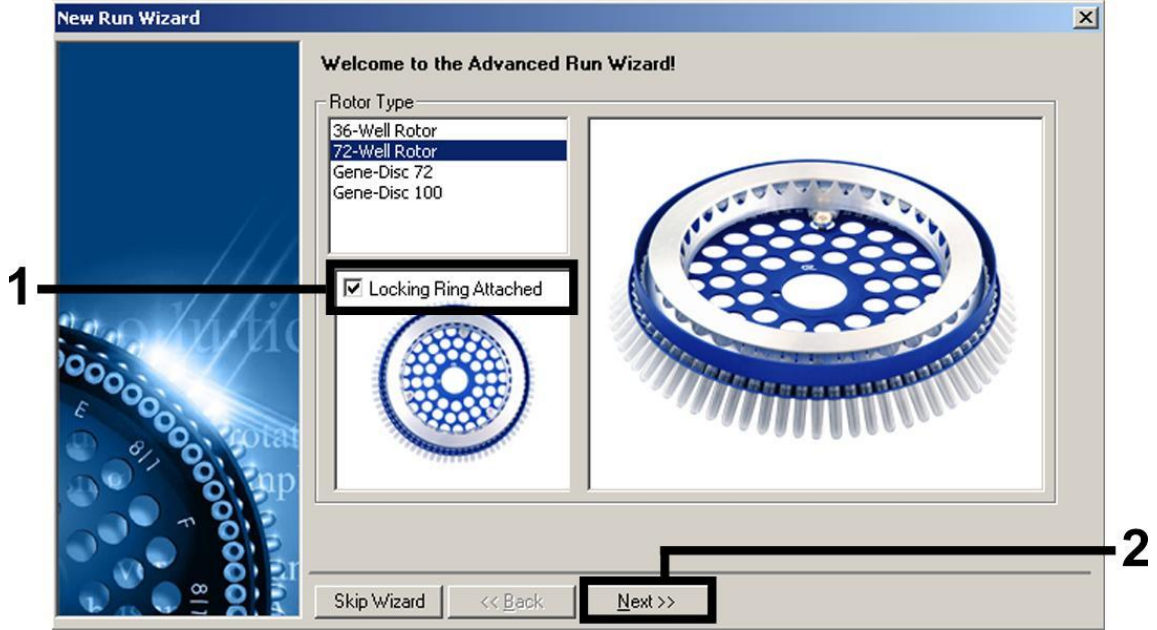
Örnek sayısı	1	12
Master karışım hacmi	30 µl	her birinden 30 µl
Örnek	20 µl	her birinden 20 µl
Toplam hacim	50 µl	her birinden 50 µl

4. PCR tüplerini kapatın. Tüplerin çalışma sırasında yanlışlıkla açılmasını önlemek üzere Kilitleme halkasının (Rotor-Gene Aleti aksesuarı) rotorun en üstüne yerleştirildiğinden emin olun.
5. HCV RNA saptamak için aşağıdaki adımlara göre bir sıcaklık profili oluşturun.

Genel analiz parametrelerini kurma	Şekil 4, 5, 6
RNA revers transkripsiyonu	Şekil 7
Hot-start enziminin başlangıç aktivasyonu	Şekil 8
cDNA amplifikasyonu	Şekil 9
Floresans kanalı hassasiyetini ayarlama	Şekil 10
Çalışmayı başlatma	Şekil 11

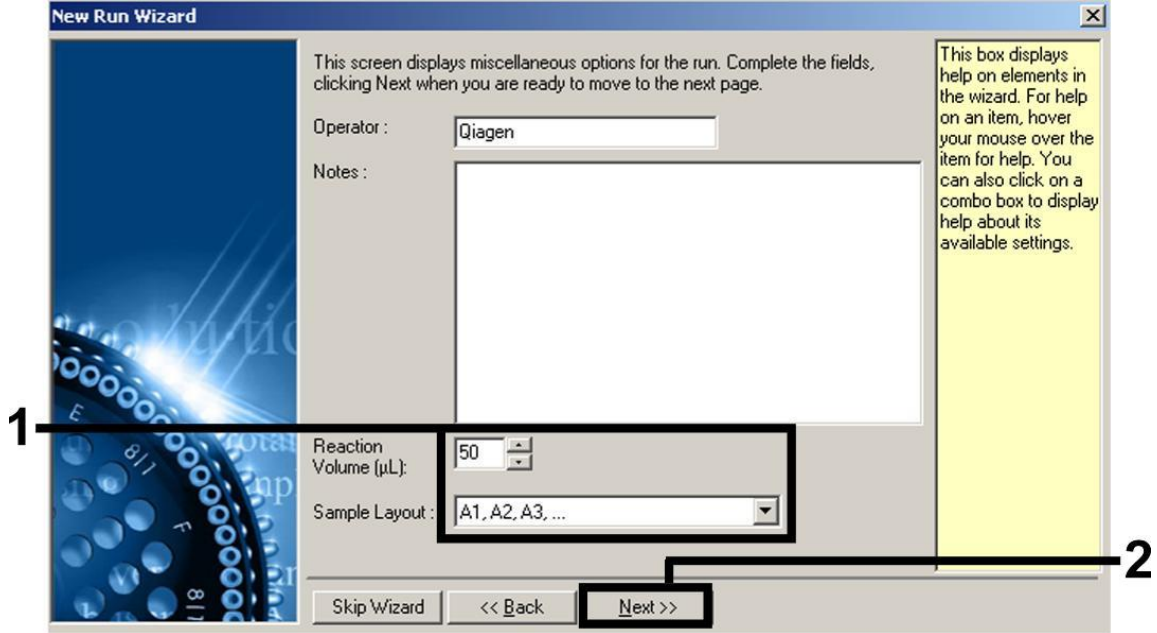
Tüm spesifikasyonlar Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q yazılım versiyonu 1.7.94, Rotor-Gene 6000 yazılım versiyonları 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94 ve Rotor-Gene 3000 yazılım versiyonu 6.0.23 ile ilişkilidir. Rotor-Gene Aletlerini programlamak ile ilgili ek bilgiyi alet kullanıcı el kitabında bulabilirsiniz. Şekillerde bu ayarlar kalın siyah çerçeveye gösterilmiştir. Rotor-Gene Q Aletleri için şekiller dahil edilmiştir. Rotor-Gene 3000 için farklı değerler gerektiğinde bu farklar metin içinde tanımlanmıştır.

6. Önce “New Run Wizard” (Yeni Çalışma Sihirbazı) diyalog kutusunu açın (Şekil 4). “Locking Ring Attached” (Kilitleme Halkası Tutturulmuş) kutusunu seçin ve “Next” (Sonraki) kısmına tıklayın.



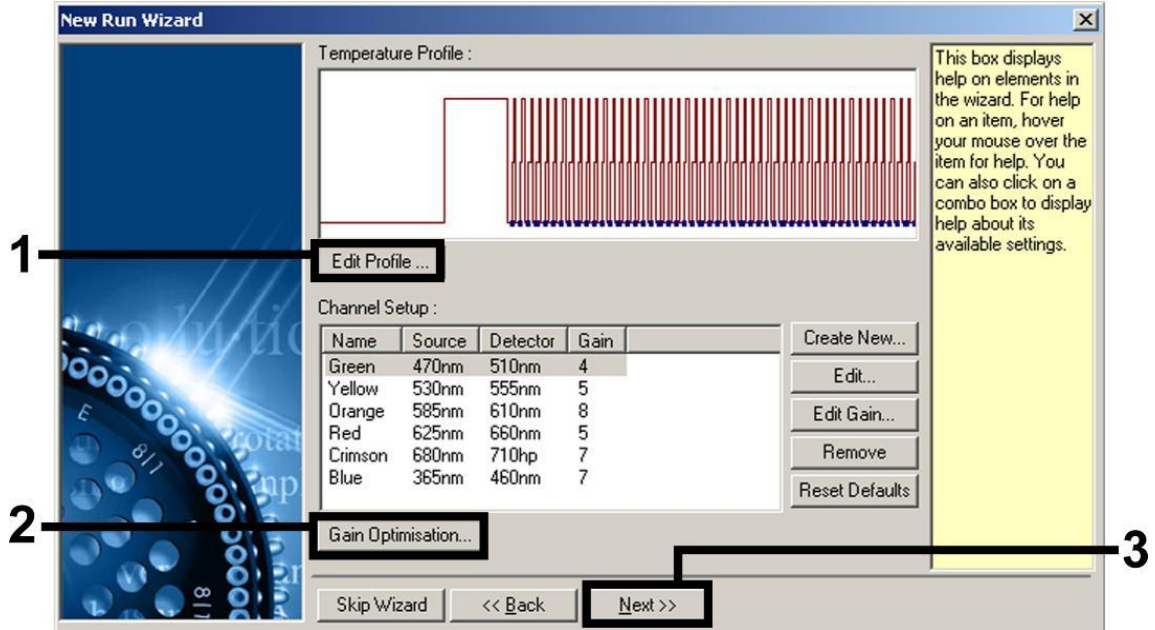
Şekil 4. “New Run Wizard” diyalog kutusu.

7. PCR reaksiyon hacmi için 50 seçin ve “Next” kısmına tıklayın (Şekil 5).

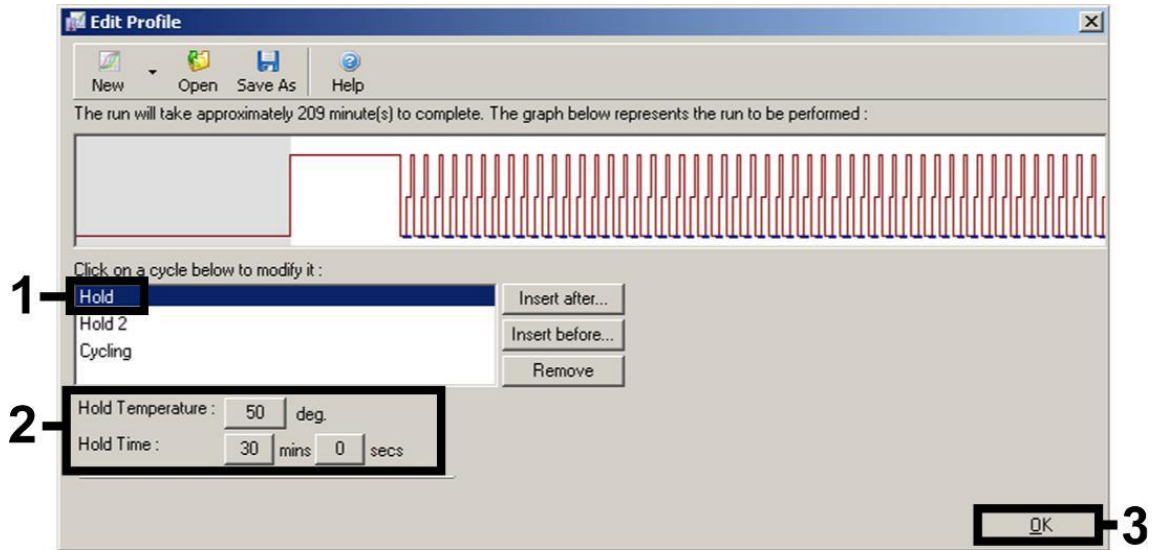


Şekil 5. Genel analiz parametrelerini kurma.

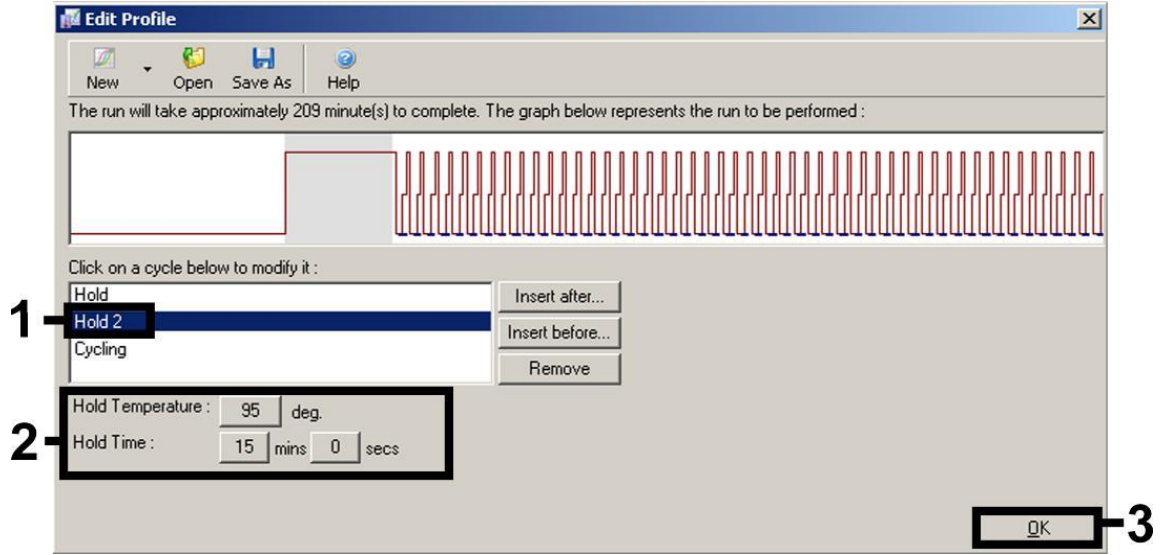
8. Sonraki "New Run Wizard" diyalog kutusunda "Edit Profile" (Profil Düzenle) düğmesine tıklayın (Şekil 6) ve sıcaklık profilini Şekil 6-9'da gösterildiği gibi programlayın.



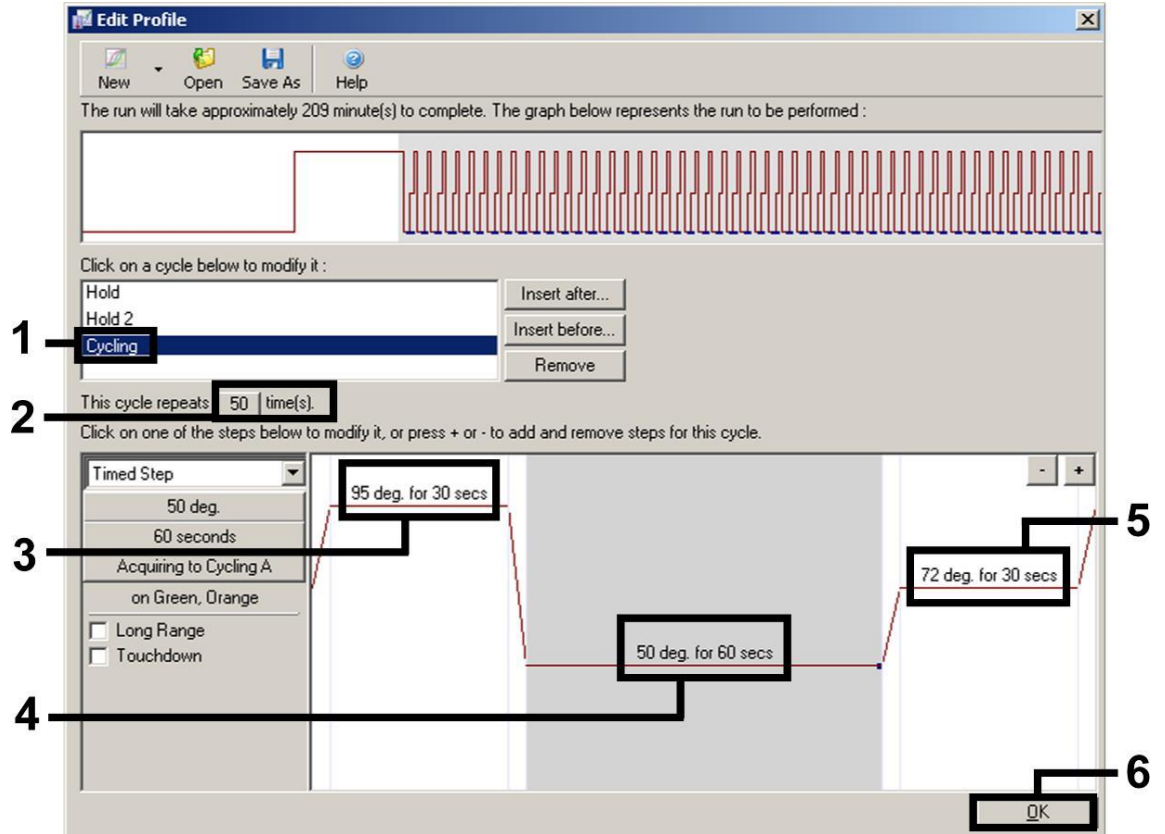
Şekil 6. Profili düzenleme.



Şekil 7. RNA revers transkripsiyonu.

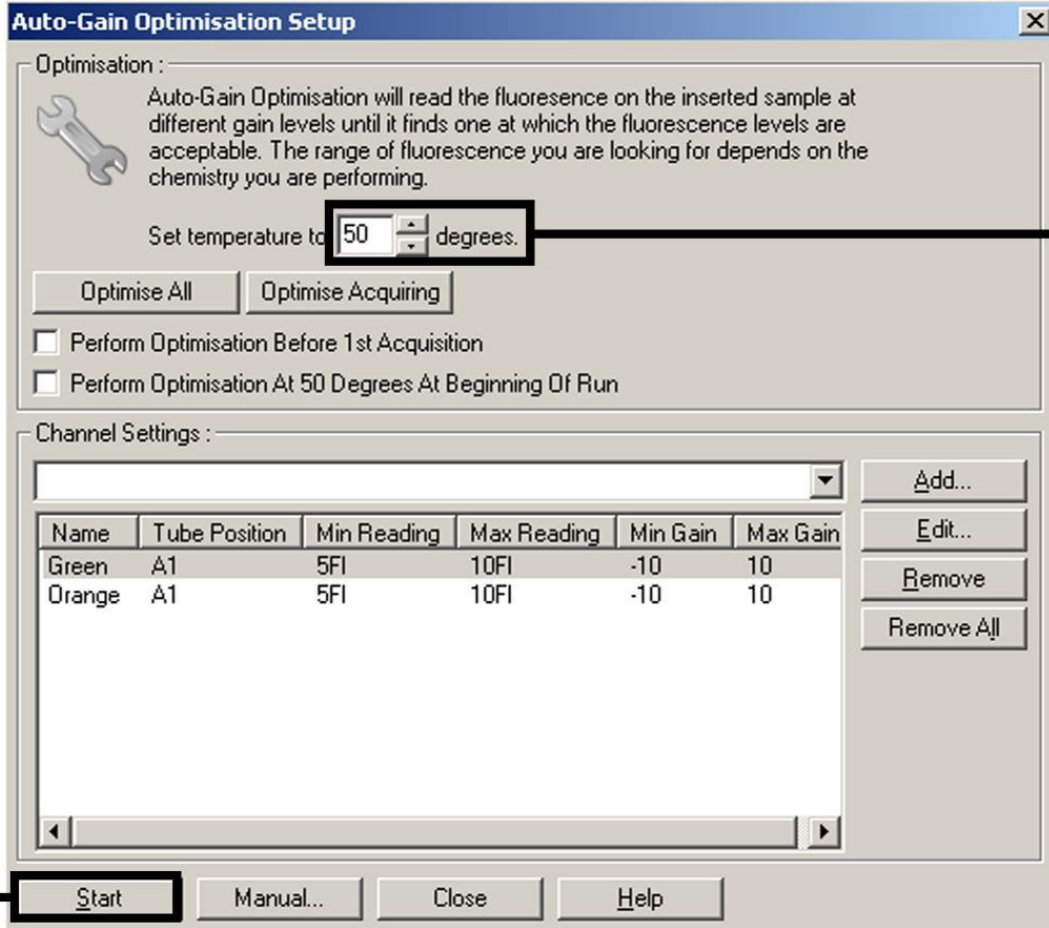


Şekil 8. Hot-start enziminin başlangıç aktivasyonu.



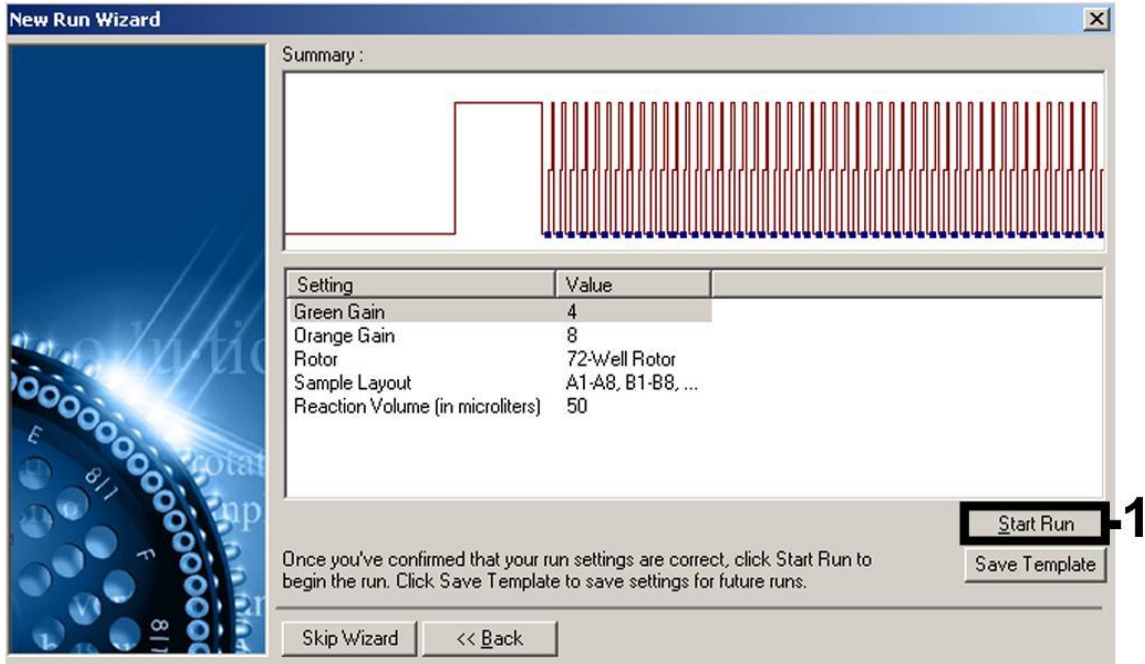
Şekil 9. cDNA amplifikasyonu. Rotor-Gene 3000 üzerinde yazılımın floresans boyalarını "FAM/Sybr, ROX" olarak tanımlayacağını dikkat edin.

9. Floresans kanalları için saptama aralığının PCR tüplerindeki floresans şiddetlerine göre belirlenmesi gerekir. "Auto-Gain Optimisation Setup" (Otomatik Kazanç Optimizasyon Kurulumu) diyalog kutusunu açmak için "New Run Wizard" diyalog kutusunda "Gain Optimisation" (Kazanç Optimizasyonu) kısmına tıklayın (bakınız Şekil 6). Kalibrasyon sıcaklığını, amplifikasyon programının birleştirme sıcaklığıyla eşleştirmek için 50 olarak ayarlayın (Şekil 10).



Şekil 10. Floresans kanalı hassasiyetini ayarlama. Rotor-Gene 3000 üzerinde yazılımın floresans boya larını "FAM/Sybr" ve "ROX" olarak tanımlayacağına dikkat edin.

10. Kanal kalibrasyonu tarafından belirlenen kazanç değerleri otomatik olarak kaydedilir ve programlama işleminin son menü penceresinde liste halinde verilir (Şekil 11). "Start Run" (Çalışmayı Başlat) kısmına tıklayın.



Şekil 11. Çalışmayı başlatma. Rotor-Gene 3000 üzerinde yazılımın floresans boyalarını "FAM/Sybr" ve "ROX" olarak tanımlayacağına dikkat edin.

11. Çalışma bittiğinde verileri analiz edin. Aşağıdaki sonuçlar (11a, 11b ve 11c) mümkündür.

Pozitif ve negatif PCR reaksiyonları örnekleri Şekil 12 ve Şekil 13'te verilmiştir.

Tablo 9 kantitatif sonuçların yorumlanması için kılavuz ilkeleri göstermektedir.

- 11a. Cycling Green floresans kanalında sinyal saptandı.
Analiz sonucu pozitifdir: örnek HCV RNA içermektedir.

Bu durumda Cycling Orange kanalında sinyal saptanması dikkate alınmayabilir çünkü başlangıçta yüksek HCV RNA konsantrasyonları (Cycling Green kanalında pozitif sinyal) Cycling Orange kanalında dahili kontrolün azalmış veya eksik floresans sinyaline yol açabilir (rekabet).



Rotor-Gene 3000 üzerinde ilgili kanalların pozitif sinyal için Cycling A.FAM ve dahili kontrol için Cycling A.ROX olduğuna dikkat edin.

- 11b. Cycling Green floresans kanalında sinyal saptanmadı. Aynı zamanda Cycling Orange kanalında dahili kontrolden bir sinyal mevcut.

Bu örnekte HCV RNA saptanamaz. Negatif kabul edilebilir.

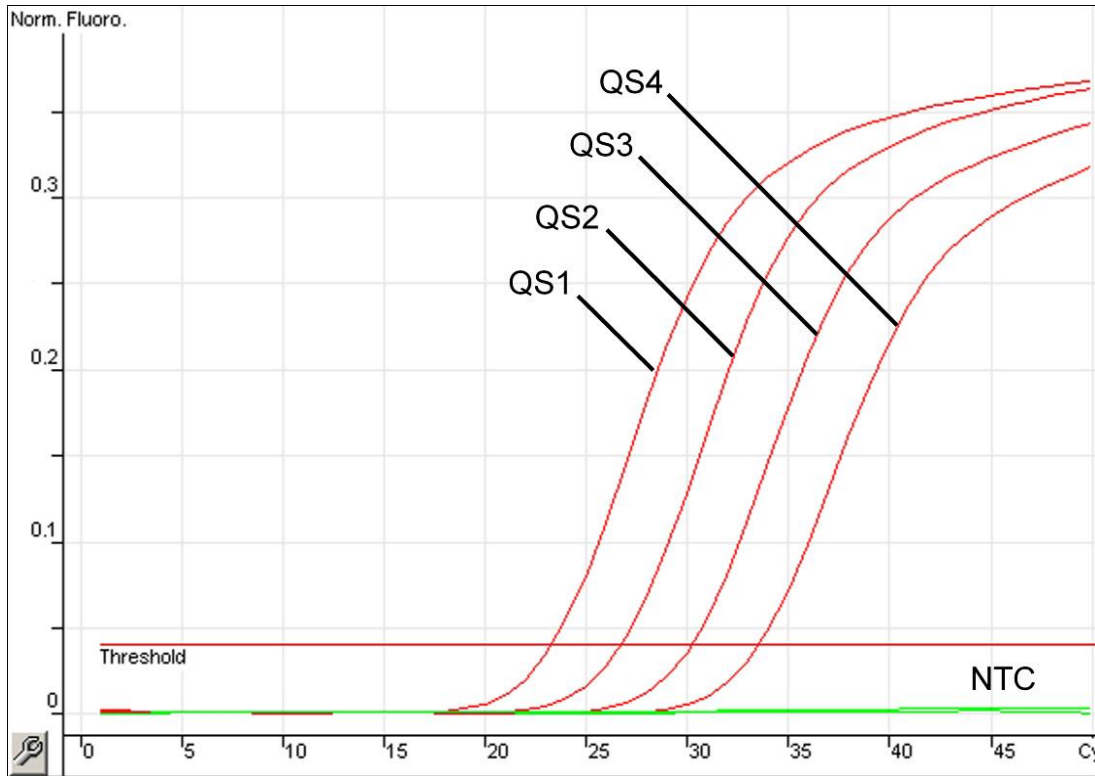
Negatif HCV RT-PCR durumunda dahili kontrolün saptanan sinyali RT-PCR inhibisyonu olasılığını ortadan kaldırır.

❗ Rotor-Gene 3000 üzerinde ilgili kanalların dahili kontrol için Cycling A.ROX olduğuna ve Cycling A.FAM için sinyal bulunmaması olduğuna dikkat edin.

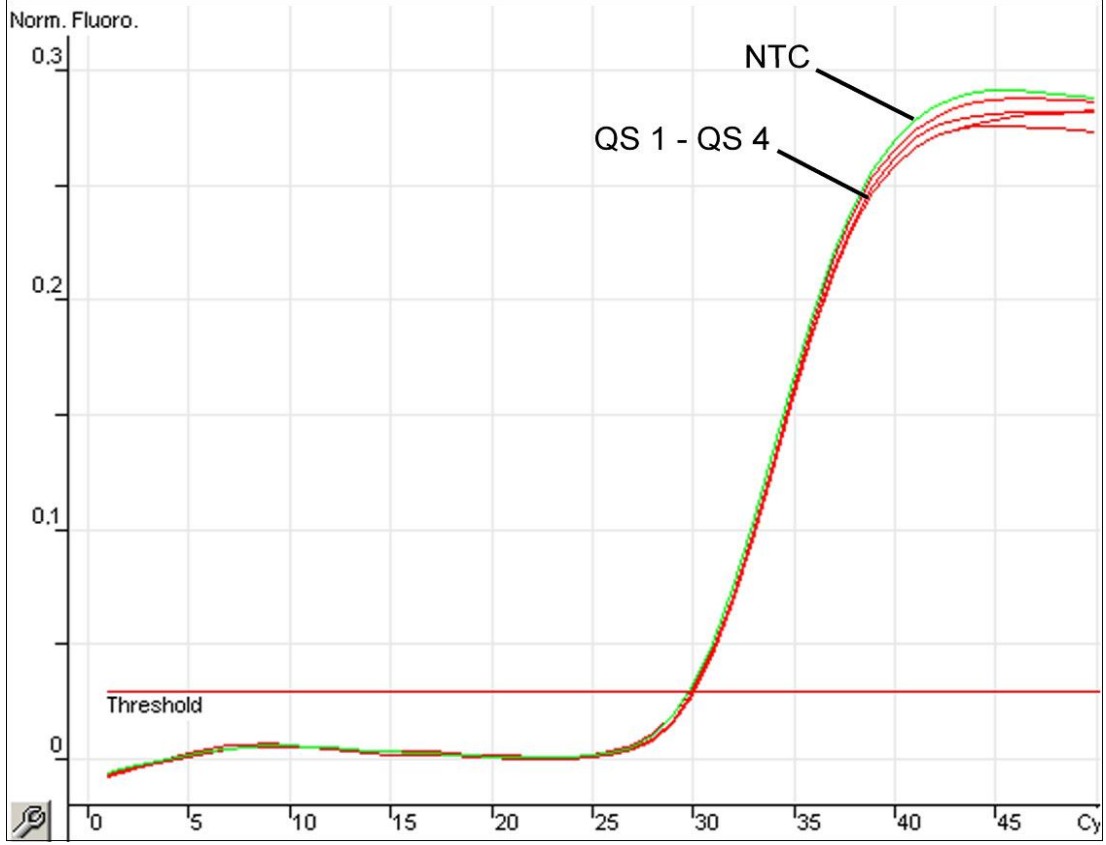
11c.Cycling Green veya Cycling Orange kanallarında sinyal saptanmadı. Bir sonuca varılamaz.

Hata kaynakları ve çözümü hakkında bilgi "Sorun Giderme Kılavuzu", sayfa 32 içinde bulunabilir.

❗ Rotor-Gene 3000 üzerinde ilgili kanalların Cycling A.FAM ve Cycling A.ROX olduğuna dikkat edin.



Şekil 12. Kantitasyon standartlarının (Hep. C Virus RG QS 1–4) floresans kanalı Cycling Green içinde saptanması. NTC: Şablon kontrolü (negatif kontrol) yok.



Şekil 13. Kantitasyon standartlarının eş zamanlı amplifikasyonu ile dahili kontrolün (IC) floresans kanalı Cycling Orange içinde saptanması. (Hep. C Virus RG QS 1–4). NTC: Şablon kontrolü (negatif kontrol) yok.

Tablo 9. Kantitatif sonuçların yorumlanması

Sonuç	Yorumlama
HCV RNA >34 IU/ml	Sonuç belirlenen test aralığı dahilindedir. HCV RNA saptama olasılığı >%95'tir. Pozitif test sonucu istatistiksel olarak garanti edilmiştir.
HCV RNA <34 IU/ml	Sonuç belirlenen test aralığının dışındadır. Pozitif sonucun tekrar üretilebilirliği garanti değildir.
HCV RNA negatif	HCV RNA saptanmadı.

Sorun Giderme Kılavuzu

Bu sorun giderme kılavuzu çıkabilecek herhangi bir problemi çözmekte faydalı olabilir. Daha fazla bilgi için Teknik Destek Merkezimizde Sık Sorulan Sorular sayfasına da bakınız: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. QIAGEN Teknik Servisindeki bilim insanları bu el kitabındaki bilgi ve protokollerle ya da örnek ve analiz teknolojileriyle ilgili herhangi bir sorunuzu cevaplandırmaktan daima mutlu olacaktır (irtibat bilgileri için arka kapağa bakınız veya www.qiagen.com adresini ziyaret ediniz).

Açıklama ve öneriler

Pozitif kontrollü (Hep. C Virus RG QS 1–4) sinyal floresans kanalı Cycling Green veya Cycling A.FAM içinde yok

- a) PCR veri analizi için seçilen floresans kanalı protokole uymamaktadır
- ❗ Veri analizi açısından analitik HCV RT-PCR için floresans kanalı Cycling Green veya Cycling A.FAM seçin ve dahili kontrol RT-PCR için floresans kanalı Cycling Orange veya Cycling A.ROX seçin.
- b) Rotor-Gene Aletinin sıcaklık profilinin hatalı programlanması
- ❗ Sıcaklık profilini protokolle karşılaştırın. Bakınız "Protokol: PCR ve Veri Analizi", sayfa 22.
- c) Hatalı PCR konfigürasyonu
- ❗ Çalışma adımlarınızı pipetleme şeması yoluyla kontrol edin ve gerekirse PCR işlemini tekrarlayın. Bakınız "Protokol: PCR ve Veri Analizi", sayfa 22.
- d) Bir veya birkaç kit bileşeninin saklama koşulları "Saklama" (sayfa 5) içinde verilen talimatla uyumlu değildir.
- ❗ Reaktiflerin saklama koşulları ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakınız) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın.
- e) *artus* HCV RG RT-PCR Kitinin son kullanma tarihi geçmiştir
- ❗ Reaktiflerin saklama koşulları ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakınız) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın.

Açıklama ve öneriler

Cycling Orange veya Cycling A.ROX floresans kanalında dahili kontrol sinyali zayıf veya yok ve aynı anda Cycling Green veya Cycling A.FAM kanalında sinyal yok

- a) PCR koşulları protokole uymamaktadır
- ① PCR koşullarını kontrol edin (yukarıya bakınız) ve gerekirse PCR'ı düzeltilmiş ayarlarla tekrarlayın.
- b) PCR inhibe olmuştur
- ① Önerilen izolasyon yöntemini kullandığınızdan emin olun ve üreticinin talimatını yakından izleyin.
- ① RNA izolasyonu sırasında herhangi bir rezidüel etanolü gidermek üzere önerilen ek santrifügasyon adımının elüsyondan önce yapıldığından emin olun (bakınız "RNA izolasyonu", sayfa 20).
- c) Ekstraksiyon sırasında RNA kaybolmuştur
- ① Dahili kontrol eğer ekstraksiyona eklendiyse dahili kontrol sinyalinin olmaması ekstraksiyon sırasında RNA kaybına işaret edebilir. Önerilen izolasyon yöntemini (bakınız "RNA izolasyonu", sayfa 20) kullandığınızdan emin olun ve üreticinin talimatını yakından izleyin.
- d) Bir veya birkaç kit bileşeninin saklama koşulları "Saklama" (sayfa 5) içinde verilen talimatla uyumlu değildir.
- ① Reaktiflerin saklama koşulları ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakınız) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın.
- e) *artus* HCV RG RT-PCR Kitinin son kullanma tarihi geçmiştir
- ① Reaktiflerin saklama koşulları ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakınız) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın.

Açıklama ve öneriler

Analitik PCR'da floresans kanalı Cycling Green veya Cycling A.FAM içinde negatif kontrollü sinyaller

- a) PCR hazırlama sırasında kontaminasyon oluşmuştur
- ① PCR'ı replikatlarda yeni reaktiflerle tekrarlayın.
 - ① Mümkünse PCR tüplerini test edilecek örneğin eklenmesinden hemen sonra kapatın.
 - ① Pozitif kontrolleri en son pipetlediğinizden emin olun.
 - ① Çalışma alanı ve aletlerin düzenli aralıklarla dekontamine edildiğinden emin olun.
- b) Ekstraksiyon sırasında kontaminasyon oluşması
- ① Test edilecek örneğin ekstraksiyonu ve PCR'ını yeni reaktifler kullanarak tekrarlayın.
 - ① Çalışma alanı ve aletlerin düzenli aralıklarla dekontamine edildiğinden emin olun.

Referanslar

QIAGEN, QIAGEN ürünlerini kullanan bilimsel yayınların büyük ve güncel bir çevrim içi veri tabanını tutmaktadır. Kapsamlı araştırma seçenekleri gereksinim duyduğunuz makaleleri basit bir anahtar kelime arama veya uygulama, araştırma alanı, başlık, vs. belirterek bulmanızı mümkün kılar.

Eksiksiz bir referans listesi için www.qiagen.com/RefDB/search.asp adresindeki çevrim içi QIAGEN Referans Veri Tabanını ziyaret edin veya QIAGEN Teknik Servis ya da yerel distribütörünüzle irtibat kurun.

Sipariş Bilgisi

Ürün	İçindekiler	Kat. no.
<i>artus</i> HCV RG RT-PCR Kit (24)	24 reaksiyon için: 2 Master, 4 Kantitasyon Standardı, Dahili Kontrol, Su (PCR sınıfı)	4518263
<i>artus</i> HCV RG RT-PCR Kit (96)	96 reaksiyon için: 2 Master, 4 Kantitasyon Standardı, Dahili Kontrol, Su (PCR sınıfı)	4518265
QIAamp DSP Virüs Kiti — in vitro diagnostik amaçlarla insan plazmasından viral nükleik asitlerin saflaştırılması için		
QIAamp DSP Virus Kit	50 işlem için: QIAamp MinElute® Çevirme Kolonları, Tamponlar, Reaktifler, Tüpler, Sütun Uzaticıları ve VacConnector'lar	60704
Rotor-Gene Q MDx ve aksesuarları		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	5 kanallı (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) gerçek zamanlı PCR döngüleyici, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar; parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti; kurulum ve eğitim dahil değildir	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	5 kanallı (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) gerçek zamanlı PCR döngüleyici, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar; parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti; kurulum ve eğitim dahildir	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	5 kanal (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) artı HRM kanallı gerçek zamanlı PCR döngüleyici ve Yüksek Çözünürlüklü Eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar; parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti; kurulum ve eğitim dahil değildir	9002032

Ürün	İçindekiler	Kat. no.
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	5 kanal (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) artı HRM kanallı gerçek zamanlı PCR döngüleyici ve Yüksek Çözünürlüklü Eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar; parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti, kurulum ve eğitim dahil değildir	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	6 kanallı (mavi, yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) gerçek zamanlı PCR aleti, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar; parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti; kurulum ve eğitim dahil değildir	9002042
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	6 kanallı (mavi, yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) gerçek zamanlı PCR aleti, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar; parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti; kurulum ve eğitim dahildir	9002043
Yükleme Bloğu 72 x 0,1 ml Tüp	72 x 0,1 ml tüplerde tek kanallı pipetle manuel reaksiyon kurulumu için alüminyum blok	9018901
Yükleme Bloğu 96 x 0,2 ml Tüp	96 x 0,2 ml tüp kullanılarak standart 8 x 12 diziyle manuel reaksiyon kurulumu için alüminyum blok	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	1000 reaksiyon için 4 tüp ve kapaklı 250 strip	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10.000 reaksiyon için 4 tüp ve kapaklı 10 x 250 strip	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 reaksiyon için 1000 ince duvarlı tüp	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	1000 reaksiyon için 10 x 1000 ince duvarlı tüp	981008

Güncel lisanslama bilgisi ve ürüne spesifik red beyanları için ilgili QIAGEN kiti el kitabı veya kullanıcı el kitabına bakınız. QIAGEN kit el kitapları ve kullanıcı el kitapları www.qiagen.com adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Servis veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır

Bu ürünün satın alınması, satın alanın insan in vitro diagnostiği için diagnostik hizmetler yapılmasında kullanmasına izin verir. Burada satın alma ile bu spesifik kullanım hakkı dışında herhangi bir türde herhangi bir genel patent veya başka lisans verilmemektedir.

Ticari markalar: QIAGEN®, QIAamp®, artus®, MinElute®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); COBAS®, TaqMan® (Roche Group); FAM™, ROX™ (Life Technologies Corporation); SYBR® (Molecular Probes, Inc.).

Sınırlı Lisans Sözleşmesi

Bu ürünün kullanılması *artus* HCV RG RT-PCR Kitini herhangi bir satın alanın veya kullanıcısının şu şartları kabul ettiğini belirtir:

- 1 *artus* HCV RG RT-PCR Kiti sadece *artus HCV RG RT-PCR Kiti El Kitabında* sağlanan bilgilerle uyumlu olarak ve Kit içindeki bileşenlerle kullanım içindir. QIAGEN, *artus HCV RG RT-PCR Kiti El Kitabında* ve www.qiagen.com adresinde bulunan ek protokollerde tanımlananlar dışında bu Kite dahil edilmemiş herhangi bir bileşen ile Kitin içindeki bileşenleri kullanma veya birleştirme açısından herhangi bir fikri mülkiyet altında bir lisans vermez.
- 2 Açık olarak belirtilen lisanslar dışında QIAGEN bu Kitin ve/veya kullanımının/kullanımlarının üçüncü tarafların haklarını ihlal etmediği konusunda garanti vermez.
- 3 Bu kit ve bileşenleri tek kullanım için lisanslanmıştır ve tekrar kullanılamaz, yenilenemez veya tekrar satılamaz.
- 4 QIAGEN açık olarak belirtilenler dışında açık veya zımni herhangi bir başka lisansı özellikle reddeder.
- 5 Kitin satın alıcısı ve kullanıcısı yukarıda yasaklanan herhangi bir eyleme neden olabilecek veya bunları kolaylaştırabilecek herhangi bir adım atmamayı veya başkasının atmasına izin vermemeyi kabul eder. QIAGEN bu Sınırlı Lisans Sözleşmesinin yasaklarını herhangi bir mahkemede yürürlüğe koyabilir ve Kit ve/veya bileşenleriyle ilişkili herhangi bir fikri mülkiyet hakkı veya bu Sınırlı Lisans Sözleşmesini yürürlüğe koymak için tüm araştırma ve mahkeme masraflarını avukat masrafları dahil olmak üzere geri alacaktır.

Güncellenmiş lisans şartları için bakınız www.qiagen.com.

© 2015 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

www.qiagen.com

Australia ■ Orders 1-800-243-800 ■ Fax 03-9840-9888 ■ Technical 1-800-243-066

Austria ■ Orders 0800-28-10-10 ■ Fax 0800-28-10-19 ■ Technical 0800-28-10-11

Belgium ■ Orders 0800-79612 ■ Fax 0800-79611 ■ Technical 0800-79556

Brazil ■ Orders 0800-557779 ■ Fax 55-11-5079-4001 ■ Technical 0800-557779

Canada ■ Orders 800-572-9613 ■ Fax 800-713-5951 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

China ■ Orders 86-21-3865-3865 ■ Fax 86-21-3865-3965 ■ Technical 800-988-0325

Denmark ■ Orders 80-885945 ■ Fax 80-885944 ■ Technical 80-885942

Finland ■ Orders 0800-914416 ■ Fax 0800-914415 ■ Technical 0800-914413

France ■ Orders 01-60-920-926 ■ Fax 01-60-920-925 ■ Technical 01-60-920-930 ■ Offers 01-60-920-928

Germany ■ Orders 02103-29-12000 ■ Fax 02103-29-22000 ■ Technical 02103-29-12400

Hong Kong ■ Orders 800 933 965 ■ Fax 800 930 439 ■ Technical 800 930 425

Ireland ■ Orders 1800 555 049 ■ Fax 1800 555 048 ■ Technical 1800 555 061

Italy ■ Orders 800-789-544 ■ Fax 02-334304-826 ■ Technical 800-787980

Japan ■ Telephone 03-6890-7300 ■ Fax 03-5547-0818 ■ Technical 03-6890-7300

Korea (South) ■ Orders 080-000-7146 ■ Fax 02-2626-5703 ■ Technical 080-000-7145

Luxembourg ■ Orders 8002-2076 ■ Fax 8002-2073 ■ Technical 8002-2067

Mexico ■ Orders 01-800-7742-639 ■ Fax 01-800-1122-330 ■ Technical 01-800-7742-436

The Netherlands ■ Orders 0800-0229592 ■ Fax 0800-0229593 ■ Technical 0800-0229602

Norway ■ Orders 800-18859 ■ Fax 800-18817 ■ Technical 800-18712

Singapore ■ Orders 1800-742-4362 ■ Fax 65-6854-8184 ■ Technical 1800-742-4368

Spain ■ Orders 91-630-7050 ■ Fax 91-630-5145 ■ Technical 91-630-7050

Sweden ■ Orders 020-790282 ■ Fax 020-790582 ■ Technical 020-798328

Switzerland ■ Orders 055-254-22-11 ■ Fax 055-254-22-13 ■ Technical 055-254-22-12

UK ■ Orders 01293-422-911 ■ Fax 01293-422-922 ■ Technical 01293-422-999

USA ■ Orders 800-426-8157 ■ Fax 800-718-2056 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

