

QIASymphony® RGQ Anwendungsblatt

QIASymphony RGQ Anwendung artus® HCV QS-RGQ Kit (Probentyp: Plasma)

IVD

CE
0197



Prüfen Sie vor einer Testausführung die Verfügbarkeit neuer elektronischer Etikettierungsrevisionen im Internet unter www.qiagen.com/products/artushcvgpckitce.aspx. Der aktuelle Revisionsstand wird durch das Veröffentlichungsdatum angegeben (Format: Monat/Jahr).

Allgemeine Informationen

Kit	artus HCV QS-RGQ Kit, Version 1, REF 4518363, 4518366
Validiertes Probenmaterial	EDTA-Humanplasma
Aufreinigung im Vorfeld	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (Kat.-Nr. 937055)
Probenvolumen (inkl. Zusatzvolumen)	1.200 µl
Assay-Parameter-Set	artus_HCV_plasma1000_V4
Standard-Assay-Kontroll-Set	Cellfree1000_V6_DSP_artus_HCV
Elutionsvolumen	60 µl
Erforderliche Softwareversion	Version 4.0 oder höher
Volumen Master-Mix	30 µl
Volumen Template	20 µl
Anzahl der Reaktionen	6 bis 24 oder 6 bis 72*
Laufzeit auf AS-Modul	Für 6 Reaktionen: ca. 9 Minuten Für 72 Reaktionen: ca. 35 Minuten

* Achten Sie darauf, dass die Begrenzung auf 72 Reaktionen und 1 Assay-Rack-Adapter eingehalten wird, wenn Sie mehrere Assay-Läufe durchführen. Vermeiden Sie eine längere Inkubationszeit (>30 Minuten) zwischen dem Abschluss des Assay-Laufs und dem Transfer zum Rotor-Gene® Q.



Februar 2013

Sample & Assay Technologies

Nicht mitgelieferte aber erforderliche Materialien

Aufreinigungs-Kit	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (Kat.-Nr. 937055)
Adapter für QIASymphony SP	■	Elution Microtube Rack QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, Katalog-Nr. 9020730)
	■	Röhrcheneinsatz 3B (Insert, 2,0 ml v2, samplecarr. (24), Qsym, Kat.-Nr. 9242083)
Verbrauchsmaterialien für QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges, 8-well (Probenvorbereitungskartuschen, 8-Well) (Kat.-Nr. 997002)
	■	8-Rod Covers (8-Magnetstab-Schutzhülsen) (Kat.-Nr. 997004)
	■	Filter-Tips, 1500 µl (Filterspitzen, 1500 µl) (Kat.-Nr. 997024)
	■	Filter-Tips, 200 µl (Filterspitzen, 200 µl) (Kat.-Nr. 990332)
	■	Elution Microtubes CL (Elutionsgefäße CL) (Kat.-Nr. 19588)
	■	Tip disposal bags (Abfallbeutel für Pipettenspitzen) (Kat.-Nr. 9013395)
	■	Micro tubes 2,0 ml Type H oder Micro tubes 2,0 ml Type I (2-ml-Mikro-Schraubröhrchen vom Typ H oder Typ I) (Sarstedt, Katalog-Nr. 72.693 bzw. 72.694, www.sarstedt.com) für Proben und interne Kontrollen
Adapter und Reagenzienhalter für den QIASymphony AS	■	Reagenzienhalter 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, Katalog-Nr. 9018090)
	■	Reagenzienhalter 2 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 2, Qsym, Katalog-Nr. 9018089)
	■	Strip-Röhrchen 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, Kat.-Nr. 9018092)
Verbrauchsmaterialien für QIASymphony AS	■	Strip Tubes and Caps, 0,1 ml (Strip-Röhrchen und Deckel, 0.1 ml, Kat.-Nr. 981103)
	■	Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (konische Röhrchen, 2 ml Qsym AS) (Katalog-Nr. 997102)* oder Micro tubes 2,0 ml Type I (2-ml-Mikro-Schraubröhrchen vom Typ I) (Sarstedt, Katalog-Nr. 72.694.005)
	■	Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (konische Röhrchen 5 ml, Qsym AS) (Katalog-Nr. 997104)* oder Tubes with flat base from PP (Schraubröhrchen mit flachem Boden aus PP) (Sarstedt, Katalog-Nr. 60.558.001)
	■	Reagent Bottles, 30 ml, Qsym AS (Reagenzienflaschen, 30 ml, QSym AS) (Katalog-Nr. 997108)
	■	Elution Microtubes CL (Elutionsgefäße CL, Kat.-Nr. 19588)
	■	Filter-Tips, 1500 µl (Filterspitzen, 1500 µl) (Kat.-Nr. 997024)
	■	Filter-Tips, 200 µl (Filterspitzen, 200 µl) (Kat.-Nr. 990332)
	■	Filter-Tips, 50 µl (Filterspitzen, 50 µl) (Kat.-Nr. 997120)
	■	Tip disposal bags (Abfallbeutel für Pipettenspitzen) (Kat.-Nr. 9013395)

* Bitte erfragen Sie die Verfügbarkeit.

Lagerung und Handhabung der Untersuchungsproben

Probennahme	Blutprobe 5 bis 10 ml EDTA-Blut 8x im Überkopfmischer — nicht schütteln! Heparinisierte Humanproben dürfen nicht verwendet werden
Probenlagerung	Trennung: 20 Minuten zentrifugieren bei 800 bis 1600 x g innerhalb von 24 Stunden nach Probennahme Isoliertes Plasma in ein steriles Polypropylen-Röhrchen überführen Im Virus eingeschlossene RNA ist stabil bei: * 4 °C Tage -20 °C Wochen -70 °C Monate
Probentransport	Bruchsicher transportieren Lieferung innerhalb von 24 Stunden Postversand entsprechend den gesetzlichen Vorgaben für den Transport von pathogenem Material† Blutproben müssen gekühlt verschickt werden (2 bis 8 °C)
Störsubstanzen	Heparin (ab 10 IU/ml) beeinträchtigt die PCR. Proben in Röhrchen mit Heparin als Antikoagulans oder Proben von heparinisierten Patienten dürfen nicht verwendet werden. Erhöhte Werte von Albumin (≤ 6 g/dl), Bilirubin (≤ 30 mg/dl), Lipiden (Triglycerid ≤ 1 g/dl) und hämolytische Proben (Hämoglobin ≤ 2 g/dl) führen zu keiner Beeinträchtigung des Systems.

* Arbeitskreis Blut, V17 (09.1997), Bundesgesundheitsblatt 11/1997, Seiten 452 bis 456.

† International Air Transport Association (IATA) (internationaler Luftverkehrsverband). Dangerous Goods Regulations (Regelungen zum Transport gefährlicher Güter).

Durchführung

Vorbereitung der Carrier-RNA und Zugabe der internen Kontrolle zu den Proben

Bei Verwendung der QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kits zusammen mit dem *artus* HCV QS-RGQ Kit muss die interne Kontrolle (Hep. C Virus RG IC) im Aufreinigungsverfahren mitgeführt werden, um die Überwachung der Effizienz der Probenvorbereitung und des nachfolgenden Assays zu ermöglichen.

Interne Kontrollen müssen zusammen mit der Carrier-RNA-Lösung zugegeben werden, wobei das Gesamtvolumen des Gemischs aus interner Kontrolle und Carrier-RNA-Lösung ebenfalls 120 µl beträgt.

Die Tabelle gibt die Zugabe von interner Kontrolle zu der Isolation in einem Verhältnis von 0,1 µl pro 1 µl Elutionsvolumen wieder. Wir empfehlen, unmittelbar vor jedem Lauf frische Mischungen herzustellen.

Komponente	Volumen (µl) (Sarstedt® Röhrrchen)*	Volumen (µl) (BD™ Röhrrchen) ^{††}
Carrier-RNA-Vorratslösung (CARRIER)	5	5
Interne Kontrolle [‡]	9	9
Puffer AVE	106	106
Endvolumen pro Probe (ohne Totvolumen)	120	120
Gesamtvolumen für n Proben	(n x 120) + 360[§]	(n x 120) + 600[¶]

* 2-ml-Mikro-Schraubröhrrchen vom Typ H oder Typ I, Sarstedt Katalog-Nr. 72.693 bzw. 72.694.

† 14-ml-Rundbodenröhrrchen, 17 x 100 mm, aus Polystyrol, Becton Dickinson, Katalog-Nr. 352051.

‡ Die Berechnung der Menge der internen Kontrolle basiert auf dem ursprünglichen Elutionsvolumen (90 µl). Das zusätzliche Totvolumen hängt von der Art des verwendeten Probenröhrrchens ab.

§ Interne Kontrollmischung ausreichend für 3 zusätzliche Proben (d. h. 360 µl) ist erforderlich. Füllen Sie nicht mehr als 1,92 ml Gesamtvolumen ein (entsprechend von maximal 13 Proben. Diese Volumen sind spezifisch für 2-ml-Mikro-Schraubröhrrchen vom Typ H oder Typ I, Sarstedt Katalog-Nr. 72,693 und 72,694).

¶ Interne Kontrollmischung ausreichend für 5 zusätzliche Proben (d. h. 600 µl) ist erforderlich. Füllen Sie nicht mehr als 13,92 ml Gesamtvolumen ein (entsprechend von maximal 111 Proben. Diese Volumen sind spezifisch für 14-ml-Rundbodenröhrrchen, 17 x 100 mm, aus Polystyrol, Becton Dickinson, Katalog-Nr. 352051).

Einrichten des QIASymphony SP

Schublade „Waste“ (Abfall)

Einheitsboxhalter 1–4	Leere Einheitsboxen
Halter für Abfallbeutel	Abfallbeutel
Halter für Flüssigabfallbehälter	Flüssigabfallbehälter leeren und einsetzen

Schublade „Eluate“ (Eluat)

Elutions-Rack	Stellplatz 1, Kühlposition, verwenden
Elutionsvolumen*	Vorausgewähltes Elutionsvolumen: 60 μ l Anfängliches Elutionsvolumen: 90 μ l

* Das für das Protokoll Elutionsvolumen ist vorausgewählt. Es handelt sich um das mindestens verfügbare Eluatvolumen im abschließenden Elutionsgefäß. Das anfängliche Volumen der Elutionslösung ist erforderlich, um sicherzustellen, dass das tatsächlich erhaltene Eluatvolumen dem vorausgewählten Volumen entspricht.

Schublade „Reagents and Consumables“ (Reagenzien und Verbrauchsartikel)

RC Position 1 und 2	1 Reagenzienkartusche (RC) bei bis zu 48 Proben oder 2 neue Reagenzienkartuschen (RC) bei bis zu 96 Proben einsetzen
Halter für Tip-Racks, Position 1–4	Laden Sie ausreichend Racks mit Einmalfilterspitzen, 200 μ l, (siehe „Erforderliches Plastikzubehör für 1 bis 4 Probenchargen“ auf Seite 6)
Halter für Tip-Racks, Position 5–18	Laden Sie ausreichend Racks mit Einmalfilterspitzen, 1.500 μ l, (siehe „Erforderliches Plastikzubehör für 1 bis 4 Probenchargen“ auf Seite 6)
Halter für Einheitsboxen, Position 1–3	3 Einheitsboxen mit Probenvorbereitungskartuschen einsetzen
Halter für Einheitsboxen, Position 4	1 Einheitsbox mit 8-Magnetstab-Schutzhülsen einsetzen

Schublade „Sample“ (Probe)

Probentyp	Plasma
Probenvolumen (inkl. Zusatzvolumen)	1.200 μ l
Probenröhrchen	2-ml-Mikro-Schraubröhrchen vom Typ H oder Typ I (Sarstedt, Katalog-Nr. 72.693 bzw. 72.694)
Einsatz	Röhrcheneinsatz 3B (Kat.-Nr. 9242083)

Erforderliches Plastikzubehör für 1 bis 4 Probenchargen

	Eine Charge, 24 Proben*	Zwei Chargen, 48 Proben*	Drei Chargen, 72 Proben*	Vier Chargen, 96 Proben*
Einmal-Filterspitzen, 200 μl[†]	28	52	76	100
Einmal-Filterspitzen, 1.500 μl[†]	113	206	309	402
Probenvorbereitungskartuschen[§]	21	42	54	72
8-Magnetstab-Schutzhülsen[¶]	3	6	9	12

* Bei mehr als einem Röhrchen mit internen Kontrollen pro Charge oder mehr als einem Inventar-Scan sind zusätzliche Einmalfilterspitzen erforderlich.

† Jedes Spitzen-Rack enthält 32 Filterspitzen.

‡ Bei der Zahl der erforderlichen Filterspitzen sind die für 1 Inventar-Scan pro Reagenzienkartusche benötigten Filterspitzen mit berücksichtigt.

§ Ein Verbrauchsartikel-Container enthält 28 Probenvorbereitungskartuschen.

¶ Ein Verbrauchsartikel-Container enthält zwölf 8-Magnetstab-Schutzhülsen.

Einrichten des QIASymphony AS

Verbrauchsartikel

Beim Einrichten werden die passenden Positionen für jeden Verbrauchsartikel auf dem QIASymphony AS Modul auf dem Touchscreen des Geräts angezeigt.

Verbrauchsartikel	Name auf Touchscreen	Verwendung mit Adapter/Reagenzienhalter
Strip-Röhrchen und Deckel, 0.1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	Strip-Röhrchen 72 QS
Röhrchen, konisch, 2 ml, Qsym AS, 500*†‡	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt§	Reagenzienhalter 1 QS Reagenzienhalter 2 QS
Röhrchen, konisch, 5 ml, Qsym AS, 500*†‡	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt§	Reagenzienhalter 1 QS Reagenzienhalter 2 QS
Reagenzienflaschen, 30 ml, Qsym AS, 50†	QIA#997108 *Bottle 30ml§	Reagenzienhalter 2 QS
Elutionsgefäße CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Elution Microtube Rack QS

* Bezeichnet Labormaterial, das mit einem Kühladapter mit Barcode gekühlt werden kann.

† Für Komponenten des Master-Mix, vom System angesetzten Master-Mix, Assay-Standards und Assay-Kontrollen.

‡ Alternativ können die in „Nicht mitgelieferte aber erforderliche Materialien“ auf Seite 2 beschriebenen Röhrchen von Sarstedt verwendet werden.

§ Der auf dem Touchscreen für das betreffende Röhrchen angezeigte angehängte Buchstabe „(m)“ bedeutet, dass die Berechnungen des Flüssigkeitsstands für Reagenzien, die einen konkaven Meniskus ausbilden, optimiert wurden.

Adapter und Reagenzienhalter

Rack/Reagenzien-halter	Name	Erforderliche Anzahl [¶]
Proben-Rack	Elution Microtube Rack QS	1
Reagenzienhalter	Reagenzienhalter 1 QS	1
Assay-Racks	Strip-Röhrchen 72 QS	1

¶ Für einen Assay-Lauf mit 72 Reaktionen berechnet.

Filterspitzen

Stellen Sie zunächst Tip-Racks in die Tip-Rack-Stellplätze 1, 2 und 3 der Schublade „Eluate and Reagents“ (Eluat und Reagenzien) und dann die Tip-Racks in die Tip-Rack-Stellplätze 7, 8 und 9 der Schublade „Assays“.

Verbrauchsmaterial	Name auf Touchscreen	Minimale Anzahl für 24 Reaktionen	Minimale Anzahl für 72 Reaktionen
Filterspitzen, 1.500 μ l (1024)	1.500 μ l	5	6
Filterspitzen, 200 μ l (1024)	200 μ l	10	10
Filterspitzen, 50 μ l (1024)	50 μ l	25	73
Pipettenspitzen- Abfallbeutel	–	1	1

RT-PCR auf dem Rotor-Gene Q

Der *artus* HCV QS-RGQ Kit kann auf dem Rotor-Gene Q laufen, wobei eine manuelle Analyse mit der Rotor-Gene Q Software ab 2.1 oder eine automatische Analyse mit dem Rotor-Gene AssayManager® verwendet wird. Die folgenden Abschnitte beschreiben die Einstellungen und das Einrichten unter Verwendung der 2 verschiedenen Software-Programme.

RT-PCR mit Rotor-Gene Q Software ab 2.1

Stellen Sie die folgenden Parameter für den Lauf ein.

Reaktionsvolumen (µl)	50
Halten	Haltetemperatur: 50 Grad Haltedauer: 30 min
Halten 2	Haltetemperatur: 95 Grad Haltedauer: 15 min
Zyklen	50 Mal 95 Grad für 30 s 50 Grad für 60 s 72 Grad für 30 s
Einrichten der automatischen Verstärkungsoptimierung	50 Grad (Proben: Grün; IC: Orange)

Schlagen Sie bitte im Protokollblatt „Settings to run *artus* QS-RGQ Kits“ (Einstellungen für *artus* QS-RGQ Kits) unter www.qiagen.com/products/artushcvgpckitce.aspx ausführlichere Anweisungen nach.

RT-PCR mit Rotor-Gene AssayManager

Zur automatischen Analyse bei einer Verwendung des *artus* HCV QS-RGQ Kits mit dem Rotor-Gene AssayManager müssen die folgenden Dateien in Ihrer Rotor-Gene AssayManager Datenbank installiert sein.

- *artus* basic Plug-in (zum Download verfügbar unter www.qiagen.com/Products/Rotor-GeneAssayManager.aspx)
- *artus* HCV QS-RGQ AssayProfile für Plasmaproben (AP_artus_HCV_plasma1000_QS_V1.iap) (zum Download verfügbar unter www.qiagen.com/products/artushcvgpckitce.aspx)

Schlagen Sie im *Rotor-Gene AssayManager Core Application User Manual* eine Anleitung zum Installieren dieser Dateien nach.

Nach der Installation der Dateien, kann der Rotor-Gene AssayManager die Informationen verwenden, die in der QIASymphony AS Ergebnisdatei enthalten sind, um einen Lauf zur Echtzeit-PCR-Amplifikation und nachfolgenden automatischen Analyse einzurichten. Schlagen Sie im *Rotor-Gene AssayManager Core Application User Manual* eine Anleitung zum Importieren der QIASymphony AS Ergebnisdateien in den Rotor-Gene AssayManager nach. Beachten Sie bitte, dass bei dem Rotor-Gene AssayManager kein Export von Cyclex-Dateien erforderlich ist.

Interpretation der Ergebnisse

Dieser Abschnitt beschreibt eine Interpretation der Ergebnisse auf dem Rotor-Gene Q. Prüfen Sie für eine Analyse des gesamten Arbeitsablaufs von der Probe bis zum Ergebnis auch die Probenstatusinformationen aus den QIASymphony SP/AS Ergebnisdateien. Nur Proben mit einem gültigen Status dürfen verwendet werden.

Der *artus HCV QS-RGQ Kit* kann auf dem Rotor-Gene Q laufen, wobei eine manuelle Analyse mit der Rotor-Gene Q Software ab 2.1 oder eine automatische Analyse mit dem Rotor-Gene AssayManager verwendet wird. Die folgenden Abschnitte beschreiben eine Interpretation der Ergebnisse unter Verwendung der 2 verschiedenen Software-Programme.

Interpretation der Ergebnisse mit Rotor-Gene Q Software ab 2.1

Signalnachweis und Schlussfolgerungen

Signal im Kanal Cycling Green	Signal im Kanal Cycling Orange	Quantitatives Ergebnis (IU/ml)	Interpretation
Ja	Ja	<21	Gültiges Ergebnis: HCV-RNA nachgewiesen, <35 IU/ml Quantifizierung nicht möglich, da das quantitative Ergebnis unterhalb der Nachweisgrenze liegt. Die Reproduzierbarkeit des positiven Ergebnisses ist nicht gesichert.
Ja	Ja	≥21 und <35	Gültiges Ergebnis: HCV-RNA nachgewiesen, <35 IU/ml Quantifizierung nicht möglich, da das quantitative Ergebnis unterhalb des linearen Bereichs des Assays liegt.
Ja	Ja/Nein*	≥35 und ≤1,77 x 10 ⁷	Gültiges Ergebnis: HCV-RNA in der berechneten Konzentration nachgewiesen Das quantitative Ergebnis liegt innerhalb des linearen Bereichs des Assays.
Ja	Ja/Nein*	>1,77 x 10 ⁷	Gültiges Ergebnis: HCV-RNA nachgewiesen, >1,77 x 10 ⁷ IU/ml Quantifizierung nicht möglich, da das quantitative Ergebnis oberhalb des linearen Bereichs des Assays liegt.†
Nein	Ja	–	Gültiges Ergebnis: Keine HCV-RNA nachweisbar.‡
Nein	Nein	–	Ungültiges Ergebnis: Eine Aussage ist nicht möglich.§

* In diesem Fall ist die Detektion eines Signals im Kanal Cycling Orange unmaßgeblich, da eine hohe Ausgangskonzentration von HCV-RNA (positives Signal im Kanal Cycling Green) zu einem abgeschwächten oder ausbleibenden Fluoreszenzsignal der internen Kontrolle im Kanal Cycling Orange führen kann (Kompetition).

† Wenn eine Quantifizierung erwünscht ist, verdünnen Sie die Probe mit HCV-freiem Plasma und verarbeiten Sie diese erneut. Multiplizieren Sie das quantitative Ergebnis der erneut verarbeiteten Probe mit dem Verdünnungsfaktor.

‡ Wenn bei einer negativen Probe der C_T-Wert für die interne Kontrolle mehr als 3 Zyklen über dem C_T-Wert für die interne Kontrolle der Kontrolle ohne Template bei diesem Lauf liegt (C_{T IC Probe} – C_{T IC NTC} > 3), muss diese Probe als ungültig behandelt werden. Eine Aussage ist nicht möglich.

§ Informationen über Fehlerquellen und ihre Behebung finden Sie in der „Troubleshooting guide“ (Hilfe zur Fehlersuche) des *artus HCV QS-RGQ Kit Handbuchs* (*artus HCV QS-RGQ Kit Handbook*).

Einrichten eines Schwellenwertes für die PCR-Analyse

Die optimalen Einstellungen für einen Schwellenwert bei einer gegebenen Kombination aus Rotor-Gene Q Thermocycler und *artus* QS-RGQ Kit müssen empirisch durch Testen jeder einzelnen Kombination ermittelt werden, da es sich um einen relativen Wert handelt, der vom diagnostischen Arbeitsablauf insgesamt abhängt. Der Schwellenwert kann auf einen vorläufigen Wert von 0,04 bei der Analyse des ersten PCR-Laufs eingestellt werden, aber dieser Wert muss in einer vergleichenden Analyse der nächsten Läufe des Arbeitsablaufes feinjustiert werden. Der Schwellenwert sollte manuell auf einen Wert gerade oberhalb des Hintergrundsignals der Negativkontrollen und negativer Proben eingestellt werden. Der aus diesen Experimenten berechnete mittlere Schwellenwert kann sehr wahrscheinlich für die Mehrzahl zukünftiger Läufe verwendet werden; dennoch sollte der Anwender den gewonnenen Schwellenwert in regelmäßigen Zeitabständen überprüfen. Der Schwellenwert liegt üblicherweise im Bereich von 0,03–0,05 und sollte nach Rundung nicht mehr als drei Dezimalstellen aufweisen.

Quantifizierung

Die Quantifizierungsstandards (Hep. C Virus-1 RG QS 1–4) des *artus* HCV QS-RGQ Kits werden wie bereits aufgereinigte Proben behandelt und im gleichen Volumen eingesetzt (20 µl). Um eine Standardkurve auf dem Rotor-Gene Q zu erstellen, setzen Sie bitte alle 4 Quantifizierungsstandards ein und definieren Sie diese im Dialogfeld „Edit Samples“ (Proben bearbeiten) des Rotor-Gene Q als Standards mit den angegebenen Konzentrationen (siehe Gerätehandbuch).

Hinweis: Die Quantifizierungsstandards sind in IU/µl definiert.* Zur Umrechnung der anhand der Standardkurve ermittelten Werte in IU/ml Probenmaterial muss die folgende Gleichung angewendet werden

$$\text{Ergebnis (IU/ml)} = \frac{\text{Ergebnis (IU/}\mu\text{l)} \times \text{ursprüngl. Elutionsvol. (90 }\mu\text{l)}^\dagger}{\text{Probenvolumen (ml)}}$$

Es sollte grundsätzlich das ursprüngliche Probenvolumen in die obige Formel eingesetzt werden. Darauf ist zu achten, falls das Probenvolumen vor der Nukleinsäureaufreinigung noch verändert wurde (z. B. Volumenverringerung durch Zentrifugation oder Volumenerhöhung durch Auffüllen auf das zur Isolierung erforderliche Volumen).

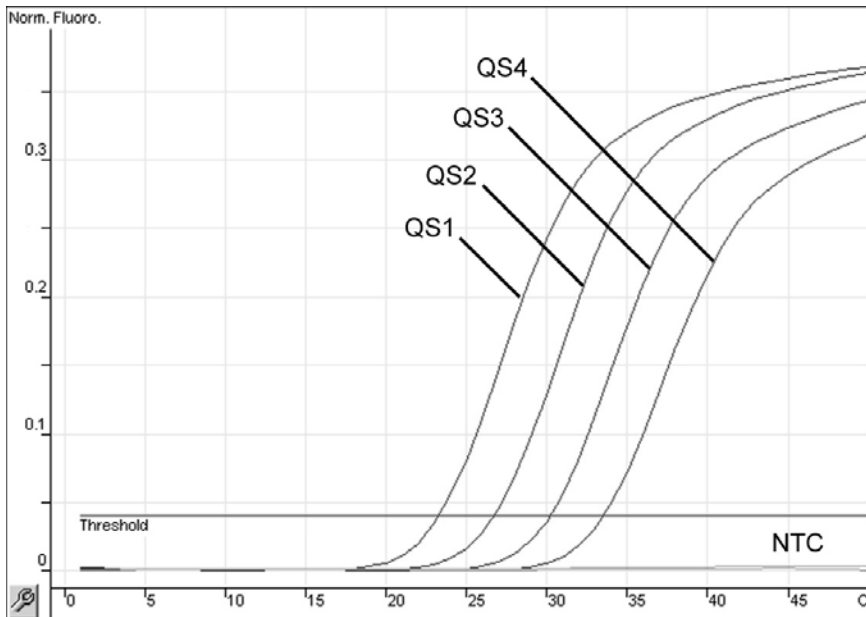
Umrechnungsfaktor

1 IU/ml entspricht 1,21 Kopien/ml für den Nachweis von HCV-RNA auf dem Rotor-Gene Q. Der Umrechnungsfaktor ist eine Annäherung auf der Grundlage eines über den dynamischen Bereich des Assays gemittelten Faktors.

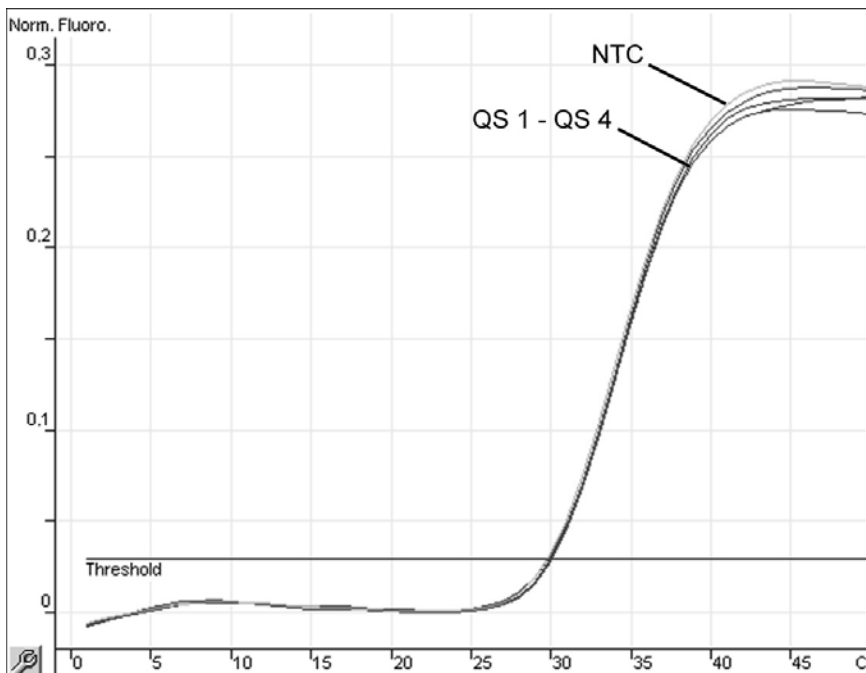
* Der Standard wurde mit dem International HCV Standard der WHO kalibriert.

† Die Berechnung beruht auf dem anfänglichen Elutionsvolumen (90 µl).

Beispiele positiver und negativer PCR-Reaktionen



Detektion der Quantifizierungsstandards (Hep. C Virus QS 1–4) im Fluoreszenzkanal Cycling Green. NTC: Kontrolle ohne Template (Negativkontrolle).



Detektion der internen Kontrolle (IC) im Fluoreszenzkanal Cycling Orange bei gleichzeitiger Amplifikation der Quantifizierungsstandards (Hep. C Virus QS 1–4). NTC: Kontrolle ohne Template (Negativkontrolle).

Interpretation der Ergebnisse mit Rotor-Gene AssayManager

Das *artus* HCV QS-RGQ AssayProfile für Plasmaproben enthält alle Regeln zum automatischen Interpretieren der Assay-Ergebnisse. Auf dieser Grundlage bewertet die Software die Gültigkeit oder Ungültigkeit von Proben und Kontrollen. Die automatische Analyse kann die folgenden entsprechenden Markierungen bereitstellen.

Markierung	Verhalten	Beschreibung
ASSAY_INVALID	Ungültig	Assay wird auf ungültig gesetzt, da mindestens eine externe Kontrolle ungültig ist.
CORRESPONDING_CONTROL_INVALID	Ungültig	Ziel wird auf ungültig gesetzt, da mindestens eine entsprechende externe Kontrolle ungültig ist.
CORRESPONDING_POSITIVE_CONTROL_TARGET_INVALID	Ungültig	Das Zielergebnis wird auf ungültig gesetzt, da die entsprechende positive Kontrolle ungültig ist.
CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE	Ungültig	Der detektierte C_T -Wert ist größer als der definierte Grenz- C_T .
CT_BELOW_ACCEPTED_RANGE	Ungültig	Der detektierte C_T -Wert ist kleiner als der definierte Grenz- C_T .
CURVE_SHAPE_ANOMALY	Ungültig	Die Amplifikationskurve der Rohdaten weist eine Gestalt auf, die von dem festgelegten Verhalten dieses Assays abweicht. Dies bedeutet eine hohe Wahrscheinlichkeit falscher Ergebnisse oder einer Fehlinterpretation der Ergebnisse.
FLAT_BUMP	Ungültig	Die Amplifikationskurve weist eine Gestalt wie ein flacher Buckel auf, die von dem festgelegten Verhalten dieses Assays abweicht. Dies bedeutet eine hohe Wahrscheinlichkeit falscher Ergebnisse oder einer Fehlinterpretation der Ergebnisse (falsche Bestimmung des C_T -Wertes).
FLUORESCENCE_TOO_LOW	Ungültig	Das Fluoreszenzsignal ist geringer als der definierte Fluoreszenz-Schwellenwert.
IC_INVALID	Ungültig	Eine interne Kontrolle in dem gleichen Röhrchen ist ungültig.
IC_NO_SIGNAL	Ungültig	In dem gleichen Röhrchen wird kein Signal für eine interne Kontrolle detektiert.
INHIBITION_BY_CT	Warnmeldung	Der definierte maximale C_T -Bereich zwischen dem C_T für die interne Kontrolle dieser Probe und dem C_T für die interne NTC-Kontrolle ist überschritten.

Markierung	Verhalten	Beschreibung
INHIBITION_BY_FLUORESCENCE	Warnmeldung	Die definierte maximale Fluoreszenzdifferenz zwischen der Fluoreszenz der internen NTC-Kontrolle und der Fluoreszenz der internen Kontrolle für diese Probe wurde für den letzten Zyklus überschritten.
MULTI_THRESHOLD_CROSSING	Ungültig	Die Amplifikationskurve kreuzt den Schwellenwert mehr als einmal. Kein unzweideutiger C_T kann bestimmt werden. Diese Markierung entspricht der Markierung „NEG (Multi Ct)“ der Rotor-Gene Software. Schlagen Sie im <i>Rotor-Gene Q User Manual</i> weitere Einzelheiten nach.
NO_CT_DETECTED	Ungültig	Für dieses Ziel konnte kein C_T detektiert werden.
NORM_FACTOR_ALTERATION	Warnmeldung	Normalisierung ist fehlgeschlagen. Die Amplifikationskurve wird ohne Normalisierung angezeigt. Die Ergebnisse müssen auf Richtigkeit geprüft werden.
OUT_OF_COMPUTATION_RANGE	Ungültig	Die Berechnung der Konzentration für diese Probe überschreitet die technische Grenze.
SATURATION	Ungültig	Vor dem Wendepunkt der Amplifikationskurve ist die Rohdaten-Fluoreszenz deutlich gesättigt.
SATURATION_IN_PLATEAU	Warnmeldung	In dem Plateaubereich der Amplifikationskurve ist die Rohdaten-Fluoreszenz gesättigt.
SPIKE	Warnmeldung	Eine Spitze in der Rohdaten-Fluoreszenz wird in der Amplifikationskurve detektiert, jedoch außerhalb der Region, für die der C_T -Wert bestimmt wird.
SPIKE_CLOSE_TO_CT	Ungültig	In der Amplifikationskurve wird eine Spitze nahe von C_T detektiert.
STEEP_BASELINE	Ungültig	In der Amplifikationskurve wird eine steil ansteigende Basislinie für die Rohdaten-Fluoreszenz detektiert.
STRONG_BASELINE_DIP	Ungültig	In der Amplifikationskurve wird ein starker Abfall in der Basislinie für die Rohdaten-Fluoreszenz detektiert.
STRONG_NOISE	Ungültig	Außerhalb der Wachstums-(exponentiellen)-Phase der Amplifikationskurve wird starkes Rauschen detektiert.
STRONG_NOISE_IN_GROWTH_PHASE	Ungültig	In der Wachstums-(exponentiellen)-Phase der Amplifikationskurve wird starkes Rauschen detektiert.

Markierung	Verhalten	Beschreibung
TOO_LESS_ CORRELATION_IN_ STANDARD_CURVE	Ungültig	Entweder wurde eine untere Grenze für den R ² -Wert oder eine untere Grenze für den R-Wert nicht erreicht.
UNCERTAIN	Warnmeldung	Ergebnisse aus den automatischen Daten-Scan (AUDAS) stehen im Widerspruch zu Ergebnissen aus der Kernanalyse. Eine unzweideutige Bewertung der Datengültigkeit ist nicht möglich.
UPSTREAM	Variabel	Der Probenstatus wurde von einem vorlaufenden Prozess (z. B., QIASymphony Assay-Setup) auf ungültig oder unklar gesetzt. Hinweis: Für Markierungen „unclear“ (unklar) von vorlaufenden Prozessen ist das Verhalten des Rotor-Gene AssayManager unter „Configuration“ (Konfiguration) definiert. Für Markierungen „invalid“ (ungültig) von vorlaufenden Prozessen setzt der Rotor-Gene AssayManager derartige Proben stets auf ungültig.
WAVY_BASE_ FLUORESCENCE	Ungültig	In der Amplifikationskurve wird eine wellige Basislinie für die Rohdaten-Fluoreszenz detektiert.

Die Ergebnisse des Rotor-Gene AssayManagers erfordern eine Annahme/Ablehnung von einem Benutzer mit der Benutzerrolle „Approver“ (Genehmiger). Schlagen Sie im Rotor-Gene AssayManager *artus Basic Plug-in User Manual* weitere Informationen zum Genehmigungsprozess nach.

Einrichten eines Schwellenwertes für die PCR-Analyse

Das *artus* HCV QS-RGQ AssayProfile für Plasmaproben stellt den Schwellenwert automatisch ein.

Quantifizierung

Das *artus* HCV QS-RGQ AssayProfile für Plasmaproben enthält alle Informationen über die Quantifizierungsstandards, die zum Berechnen der Konzentration des Ziels in der Probe oder in dem Eluat benötigt werden. Der Rotor-Gene AssayManager ermöglicht auch eine unmittelbare Umwandlung in andere Konzentrationseinheiten. Schlagen Sie im Rotor-Gene AssayManager *artus Basic Plug-in User Manual* weitere Informationen nach.

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

Marken: QIAGEN®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN Gruppe); BD™ (Becton, Dickinson und Company); Sarstedt® (Sarstedt AG und Co.).

© 2013 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

www.qiagen.com

Canada = 800-572-9613

Ireland = 1800 555 049

Norway = 800-18859

China = 021-3865-3865

Italy = 800-787980

Singapore = 65-67775366

Denmark = 80-885945

Japan = 03-6890-7300

Spain = 91-630-7050

Australia = 1-800-243-800

Finland = 0800-914416

Korea (South) = 1544 7145

Sweden = 020-790282

Austria = 0800/281010

France = 01-60-920-930

Luxembourg = 8002 2076

Switzerland = 055-254-22-11

Belgium = 0800-79612

Germany = 02103-29-12000

Mexico = 01-800-7742-639

UK = 01293-422-911

Brazil = 0800-557779

Hong Kong = 800 933 965

The Netherlands = 0800 0229592

USA = 800-426-8157



Sample & Assay Technologies