

Karta zastosowania QIASymphony® RGQ

Zastosowanie QIASymphony RGQ

artus® HCV QS-RGQ Kit

(typ próbki: osocze)



Przed wykonaniem testu należy sprawdzić dostępność nowych elektronicznych wersji oznakowania pod adresem www.qiagen.com/products/artushcsvgpckitce.aspx. Status aktualnej wersji jest wskazywany przez datę wydania (format: miesiąc/rok).

Informacje ogólne

Zestaw	REF artus HCV QS-RGQ Kit, wersja 1, 4518363, 4518366
Zatwierdzony materiał próbki	Ludzkie osocze z EDTA
Oczyszczanie początkowe	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (nr kat. 937055)
Objętość próbki (wliczając w to nadwyżkę)	1200 µl
Zestaw parametrów badania	artus_HCV_plasma1000_V4
Domyślny zestaw ustawień kontrolnych badania	Cellfree1000_V6_DSP_artus_HCV
Objętość elucji	60 µl
Wymagana wersja oprogramowania	Wersja 4.0 lub wyższa
Objętość mieszaniny Master mix	30 µl
Objętość matrycy	20 µl
Liczba reakcji	6–24 lub 6–72*
Czas trwania programu w module AS	W przypadku 6 reakcji: około 9 minut W przypadku 72 reakcji: około 35 minut

* W przypadku wykonywania wielu cykli badań należy upewnić się, że nie przekroczono limitu: 72 reakcje i 1 adapter statywu badań. Unikać przedłużonego czasu inkubacji (>30 minut) między zakończeniem cyklu a przenoszeniem do aparatu Rotor-Gene® Q.



Luty 2013

Sample & Assay Technologies

Materiały wymagane, ale niedostarczone

Zestaw do oczyszczania	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (nr kat. 937055)
Adaptory do aparatu QIASymphony SP	■	Elution Microtube Rack QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, nr kat. 9020730)
	■	Tube Insert 3B (Insert, 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym, nr kat. 9242083)
Materiały eksploatacyjne dla aparatu QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges, 8-well (nr kat. 997002)
	■	8-Rod Covers (nr kat. 997004)
	■	Filter-Tips, 1500 µl (nr kat. 997024)
	■	Filter-Tips, 200 µl (nr kat. 990332)
	■	Elution Microtubes CL (nr kat. 19588)
	■	Tip disposal bags (nr kat. 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H lub Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, nr kat. 72.693 i 72.694, www.sarstedt.com) do użytku z próbkami i kontrolami wewnętrznymi
Adaptory i uchwyty na odczynniki dla QIASymphony AS	■	Reagent holder 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, nr kat. 9018090)
	■	Reagent holder 2 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 2, Qsym, nr kat. 9018089)
	■	RG Strip Tubes 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, nr kat. 9018092)
Materiały eksploatacyjne dla aparatu QIASymphony AS	■	Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (nr kat. 981103)
	■	Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (nr kat. 997102)* lub Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, nr kat. 72.694.005)
	■	Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (nr kat. 997104)* lub Tubes with flat base from PP (Sarstedt, nr kat. 60.558.001)
	■	Reagent Bottles, 30 ml, Qsym AS (nr kat. 997108)
	■	Elution Microtubes CL (nr kat. 19588)
	■	Filter-Tips, 1500 µl (nr kat. 997024)
	■	Filter-Tips, 200 µl (nr kat. 990332)
	■	Filter-Tips, 50 µl (nr kat. 997120)
	■	Tip disposal bags (nr kat. 9013395)

* Proszę sprawdzić dostępność.

Przechowywanie i sposób postępowania z próbkami

Pobieranie próbek	Próbka krwi 5–10 ml krwi z EDTA Wymieszać, odwracając 8x — nie wstrząsać! Nie należy używać ludzkich próbek heparynizowanych
Przechowywanie próbek	Rozdzielenie: wirowanie przez 20 minut, 800–1600 x g w ciągu 24 godzin od pobrania Przenieść oddzielone osocze do jałowej próbki z polipropylenu Stabilność wirusowego RNA w otoczce w temperaturze*: 4°C dni –20°C tygodnie –70°C miesiące
Transport próbek	Transport w pojemniku odpornym na rozbitcie Dostawa w ciągu 24 godzin Wysyłka pocztą zgodnie z przepisami prawa dotyczącymi transportu materiału zakaźnego† Próbki krwi należy transportować w warunkach chłodniczych (od 2 do 8°C)
Substancje zakłócające	Heparyna (≥ 10 IU/ml) ma wpływ na reakcję PCR. Nie należy używać próbek pobranych do probówek zawierających heparynę jako antykoagulant oraz próbek pobranych od pacjentów leczonych heparyną. Podwyższony poziom albumin (≤ 6 g/dl), bilirubiny (≤ 30 mg/dl), lipidów (≤ 1 g/dl trójglicerydów) oraz próbki zhemolizowane (≤ 2 g/dl hemoglobiny) nie zakłócają działania systemu.

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

† Międzynarodowe Zrzeszenie Przewoźników Powietrznych (International Air Transport Association, IATA). Przepisy dotyczące transportu materiałów niebezpiecznych w międzynarodowym transporcie lotniczym (Dangerous Goods Regulations).

Procedura

Przygotowanie nośnika RNA i dodanie kontroli wewnętrznej do próbek

Stosowanie zestawu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit w połączeniu z zestawem *artus* HCV QS-RGQ Kit wymaga wprowadzenia kontroli wewnętrznej (IC RG wirusa zapalenia wątroby typu C) do procedury oczyszczania w celu monitorowania wydajności przygotowania próbek i dalszych testów.

Kontrole wewnętrzne należy dodać wraz z mieszaniną nośnik RNA (CARRIER)–bufor Buffer AVE (AVE). Całkowita objętość mieszaniny kontrola wewnętrzna–nośnik RNA (CARRIER)–bufor Buffer AVE (AVE) nadal wynosi 120 µl.

Tabela przedstawia dodawanie kontroli wewnętrznej do procedury izolacji w stosunku 0,1 µl na 1 µl objętości elucji. Zaleca się przygotowanie świeżych mieszanin dla każdego cyklu bezpośrednio przed użyciem.

Składnik	Objętość (µl) (próbówki Sarstedt®)*	Objętość (µl) (próbówki BD™)†
Roztwór podstawowy nośnika RNA (CARRIER)	5	5
Kontrola wewnętrzna‡	9	9
Buffer AVE	106	106
Objętość końcowa na próbkę (wyłączając objętość martwą)	120	120
Całkowita objętość dla n próbek	(n x 120) + 360§	(n x 120) + 600¶

* Micro tubes 2.0 ml Type H i Micro tubes 2.0 ml Type I, Sarstedt, nr kat. 72.693 i 72.694.

† Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Becton Dickinson, nr kat. 352051).

‡ Obliczenie ilości kontroli wewnętrznej opiera się na początkowych objętościach elucji (90 µl). Dodatkowa objętość nieużyteczna zależy od typu użytej próbki.

§ Wymagana jest objętość mieszaniny kontroli wewnętrznej odpowiadająca 3 dodatkowym próbkom (tj. 360 µl). Nie napełniać do więcej niż 1,92 ml całkowitej objętości (co odpowiada maksymalnej liczbie 13 próbek). Objętości te są charakterystyczne dla mikropróbówek Micro tubes 2.0 ml Type H i Micro tubes 2.0 ml Type I, Sarstedt, nr kat. 72.693 i 72.694).

¶ Wymagana jest objętość mieszaniny kontroli wewnętrznej odpowiadająca 5 dodatkowym próbkom (tj. 600 µl). Nie napełniać do więcej niż 13,92 ml całkowitej objętości (co odpowiada maksymalnej liczbie 111 próbek). Objętości te są charakterystyczne dla próbek Tube 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom, Becton Dickinson, nr kat. 352051).

Konfiguracja aparatu QIASymphony SP

Szuflada „Waste” (Odpady)

Uchwyt na opakowanie jednostkowe 1–4	Opróżnić opakowania jednostkowe
Uchwyt na worek na odpady	Worek na odpady
Uchwyt na butlę na odpady płynne	Opróżnić i zainstalować butlę na odpady płynne

Szuflada „Eluate” (Eluat)

Statyw elucji	Użyć gniazda 1, pozycja chłodzenia
Objętość elucji*	Wstępnie wybrana objętość elucji: 60 µl Początkowa objętość elucji: 90 µl

* Objętość elucji jest wybrana wstępnie dla danego protokołu. Jest to minimalna dostępna objętość eluatu w końcowej próbce elucji. Początkowa objętość roztworu elucji jest wymagana do zapewnienia właściwej rzeczywistej objętości eluatu, równej wcześniej zdefiniowanej wartości.

Szuflada „Reagents and Consumables” (Odczynniki i materiały eksploatacyjne)

Kartridż z odczynnikiem (reagent cartridge, RC), pozycja 1 i 2	Załadować 1 kartridż z odczynnikiem (RC) na maksymalnie 48 próbek lub 2 nowe kartridże z odczynnikiem (RC) na maksymalnie 96 próbek
Uchwyt statywu na końcówki, pozycja 1–4	Załadować wystarczającą liczbę statywów na jednorazowe końcówki z filtrem, 200 µl (patrz „Wymagany sprzęt z tworzywa sztucznego dla 1–4 partii próbek”, strona 6)
Uchwyt statywu na końcówki, pozycja 5–18	Załadować wystarczającą liczbę statywów na jednorazowe końcówki z filtrem, 1500 µl (patrz „Wymagany sprzęt z tworzywa sztucznego dla 1–4 partii próbek”, strona 6)
Uchwyt na opakowanie jednostkowe, pozycja 1–3	Załadować 3 opakowania jednostkowe zawierające kartridże sample prep
Uchwyt na opakowanie jednostkowe, pozycja 4	Załadować 1 opakowanie jednostkowe zawierające zamknięcia 8-Rod Covers

Szuflada „Sample” (Próbka)

Typ próbki	Osocze
Objętość próbki (wliczając w to nadwyżkę)	1200 µl
Probówki	Micro tubes 2.0 ml Type H lub Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, nr kat. 72.693 i 72.694)
Wkład	Tube Insert 3B (nr kat. 9242083)

Wymagany sprzęt z tworzywa sztucznego dla 1–4 partii próbek

	Jedna partia, 24 próbki*	Dwie partie, 48 próbek*	Trzy partie, 72 próbki*	Cztery partie, 96 próbek*
Jednorazowe końcówki z filtrem, 200 µl†‡	28	52	76	100
Jednorazowe końcówki z filtrem, 1500 µl†‡	113	206	309	402
Kartridże sample prep§	21	42	54	72
Zamknięcia 8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Użycie więcej niż jednej próbki z kontrolą wewnętrzną na partię oraz przeprowadzenie więcej niż jednego skanowania inwentaryzującego wymaga dodatkowych jednorazowych końcówek z filtrem.

† Statyw na końcówki zawiera 32 końcówki z filtrem.

‡ Liczba wymaganych końcówek z filtrem obejmuje końcówki z filtrem dla 1 skanowania inwentaryzującego na kartridż z odczynnikami.

§ Opakowanie jednostkowe zawiera 28 kartridży sample prep.

¶ Opakowanie jednostkowe zawiera dwanaście zamknięć 8-Rod Covers.

Konfiguracja aparatu QIASymphony AS

Materiały eksploatacyjne

Podczas konfiguracji pozycje odpowiednie dla każdego materiału eksploatacyjnego w module QIASymphony AS są wyświetlane na ekranie dodatkowym aparatu.

Materiały eksploatacyjne	Nazwa wyświetlona na ekranie dotykowym	Do użytku z adapterem/uchwytem na odczynniki
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 ScrewSkirt [§]	Reagent holder 1 QS Reagent holder 2 QS
Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (500) ^{†‡}	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt [§]	Reagent holder 1 QS Reagent holder 2 QS
Reagent Bottles, 30ml, Qsym AS (50) [†]	QIA#997108 *Bottle 30ml [§]	Reagent holder 2 QS
Elution Microtubes CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Elution Microtube Rack QS

* Oznacza sprzęt laboratoryjny, który można schłodzić za pomocą adaptera chłodzącego z kodem kreskowym.

† Dla odczynników wchodzących w skład mieszaniny Master mix, mieszaniny master mix przygotowanej w systemie, wzorców oznaczenia i kontroli oznaczenia.

‡ Zamiennie można użyć probówek Sarstedt opisanych w części „Materiały wymagane, ale niedostarczone”, strona 2.

§ Przyrostek „(m)” widoczny na ekranie dotykowym oznacza, że obliczenia dotyczące poziomu płynu dla stosownej próbki zoptymalizowano pod kątem odczynników tworzących menisk wklęsły.

Adaptory i uchwyty na odczynniki

Statyw/uchwyt na odczynniki	Nazwa	Wymagana liczba[¶]
Statyw próbek	Elution Microtube Rack QS	1
Uchwyty na odczynniki	Reagent holder 1 QS	1
Statwy badań	RG Strip Tubes 72 QS	1

[¶] Ilość obliczona dla cyklu oznaczeń z 72 reakcjami.

Końcówki z filtrem

Załadować statywy na końcówki, zaczynając od gniazd na końcówki 1, 2 i 3 w szufladzie „Eluate and Reagents” (Eluat i odczynniki), a następnie załadować statywy na końcówki do gniazd na końcówki 7, 8 i 9 w szufladzie „Assays” (Badania).

Rodzaj materiału eksploatacyjnego	Nazwa wyświetlona na ekranie dotykowym	Minimalna liczba dla 24 reakcji	Minimalna liczba dla 72 reakcji
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	1500 µl	5	6
Filter-Tips, 200 µl (1024)	200 µl	10	10
Filter-Tips, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Tip Disposal Bags	–	1	1

Reakcja RT-PCR w aparacie Rotor-Gene Q

Zestaw *artus* HCV QS-RGQ Kit można uruchomić na aparacie Rotor-Gene Q, korzystając z ręcznej analizy za pomocą oprogramowania Rotor-Gene Q w wersji 2.1 lub wyższej lub korzystając ze zautomatyzowanej analizy realizowanej przy użyciu oprogramowania Rotor-Gene AssayManager®. W poniższych sekcjach opisano ustawienia i sposób konfiguracji przy użyciu 2 różnych oprogramowań.

Reakcja RT-PCR wykonywana za pomocą oprogramowania Rotor-Gene Q w wersji 2.1 lub wyższej

Ustawić poniższe parametry dla reakcji.

Reaction Volume (Objętość reakcyjna) (µl)	50
Hold (Wstrzymanie)	Hold Temperature (Temperatura wstrzymania): 50 stopni Hold Time (Czas wstrzymania): 30 min
Hold 2 (Wstrzymanie 2)	Hold Temperature (Temperatura wstrzymania): 95 stopni Hold Time (Czas wstrzymania): 15 min
Cycling (Wykonywanie cykli)	50 razy 95 stopni przez 30 sekund 50 stopni przez 60 sekund 72 stopnie przez 30 sekund
Auto-Gain Optimisation Setup (Konfiguracja optymalizacji wzmocnienia automatycznego)	50 stopni (Próbki: kanał zielony; IC: kanał pomarańczowy)

Szczegółowe instrukcje znajdują się w karcie protokołu „Konfiguracja w celu uruchomienia zestawów *artus* QS-RGQ Kit” (Settings to run *artus* QS-RGQ Kits) pod adresem www.qiagen.com/products/artushcvgpckitce.aspx.

Reakcja RT-PCR wykonywana za pomocą oprogramowania Rotor-Gene AssayManager

W celu przeprowadzenia automatycznej analizy przy użyciu zestawu *artus* HCV QS-RGQ Kit za pomocą oprogramowania Rotor-Gene AssayManager w bazie danych oprogramowania Rotor-Gene AssayManager muszą być zainstalowane wymienione poniżej pliki.

- Narzędzie *artus* w wersji basic (dostępne do pobrania ze strony www.qiagen.com/Products/Rotor-GeneAssayManager.aspx)
- Profil oznaczenia *artus* HCV QS-RGQ dla próbek osocza (AP_artus_HCV_plasma1000_QS_V1.iap) (dostępny do pobrania ze strony www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx)

Opis instalacji tych plików zawiera dokument *Podręcznik użytkownika aplikacji podstawowej oprogramowania Rotor-Gene AssayManager* (Rotor-Gene AssayManager Core Application User Manual).

Po zainstalowaniu tych plików oprogramowanie Rotor-Gene AssayManager może wykorzystać informacje podane w pliku wynikowym aparatu QIASymphony AS do skonfigurowania programu amplifikacji podczas reakcji PCR w czasie rzeczywistym i późniejszej automatycznej analizy. Opis importowania plików wynikowych aparatu QIASymphony AS do oprogramowania Rotor-Gene AssayManager zawiera dokument *Podręcznik użytkownika aplikacji podstawowej oprogramowania Rotor-Gene AssayManager*. Należy zauważyć, że w przypadku oprogramowania Rotor-Gene AssayManager nie jest konieczne wyeksportowanie plików cyklera.

Interpretacja wyników

W niniejszej sekcji opisano sposób interpretacji wyników uzyskanych za pomocą aparatu Rotor-Gene Q. W celu analizy pełnego przebiegu pracy, „od próbki do uzyskania wyniku”, należy również przejrzeć informacje dotyczące statusu próbki, które znajdują się w plikach wynikowych aparatów QIASymphony SP/AS. Należy używać wyłącznie próbek, które mają ważny status.

Zestaw *artus* HCV QS-RGQ Kit można uruchomić na aparacie Rotor-Gene Q, wykorzystując ręczną analizę realizowaną przy użyciu oprogramowania Rotor-Gene Q w wersji 2.1 lub wyższej lub automatyczną analizę realizowaną przy użyciu oprogramowania Rotor-Gene AssayManager. W poniższych sekcjach opisano interpretację wyników przy użyciu 2 różnych oprogramowań.

Interpretacja wyników za pomocą oprogramowania Rotor-Gene Q w wersji 2.1 lub wyższej

Detekcja sygnału i wnioski

Sygnal w zielonym kanale fluorescencyjnym (Cycling Green)	Sygnal w pomarańczowym kanale fluorescencyjnym (Cycling Orange)	Wynik ilościowy (IU/ml)	Interpretacja
Tak	Tak	<21	Wynik ważny: wykryto RNA wirusa HCV, <35 IU/ml, oznaczenie ilościowe nie jest możliwe, gdyż wynik ilościowy znajduje się poniżej granicy wykrywalności. Nie można zapewnić odtwarzalności pozytywnych wyników.
Tak	Tak	≥21 i <35	Wynik ważny: wykryto RNA wirusa HCV, <35 IU/ml, oznaczenie ilościowe nie jest możliwe, gdyż wynik ilościowy znajduje się poniżej zakresu liniowego oznaczenia.
Tak	Tak/Nie*	≥35 i ≤1,77 x 10 ⁷	Wynik ważny: wykryto RNA wirusa HCV w obliczonym stężeniu, wynik ilościowy mieści się w zakresie liniowym oznaczenia.
Tak	Tak/Nie*	>1,77 x 10 ⁷	Wynik ważny: wykryto RNA wirusa HCV, >1,77 x 10 ⁷ IU/ml; oznaczenie ilościowe nie jest możliwe, gdyż wynik ilościowy znajduje się powyżej zakresu liniowego oznaczenia [†] .

Nie	Tak	–	Wynik ważny: Nie wykryto RNA wirusa HCV [†] .
Nie	Nie	–	Wynik nieważny: Wynik jest niejednoznaczny [§] .

* W takim przypadku detekcja sygnału z kanału pomarańczowego (Cycling Orange) nie ma znaczenia, ponieważ wysokie wyjściowe stężenie RNA wirusa HCV (pozytywny sygnał w kanale zielonym (Cycling Green)) może prowadzić do obniżenia sygnału fluorescencyjnego lub jego braku dla kontroli wewnętrznej w kanale pomarańczowym (Cycling Orange) (w mechanizmie kompetycyjnym).

† Jeśli pożądane jest oznaczenie ilościowe, należy rozcieńczyć próbkę osoczem wolnym od wirusa HCV i ponownie przetworzyć próbkę. Wynik ilościowy uzyskany dla ponownie przetworzonej próbki należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

‡ Jeśli w reakcji wartość C_T dla kontroli wewnętrznej negatywnej próbki przekracza o ponad 3 cykle wartość C_T dla kontroli wewnętrznej kontroli bez matrycy (no template control, NTC) ($C_{T \text{ próbki IC}} - C_{T \text{ IC NTC}} > 3$), wówczas taką próbkę należy traktować jako nieważną. Wynik jest niejednoznaczny.

§ Informacje dotyczące przyczyn błędów oraz ich rozwiązywania można znaleźć w części „Rozwiązywanie problemów” dokumentu *HCV QS-RGQ Kit — Instrukcja obsługi* (HCV QS-RGQ Kit Handbook).

Konfiguracja wartości progu dla analizy PCR

Doboru optymalnych ustawień wartości progu dla danej kombinacji aparatu Rotor-Gene Q i zestawu *artus* QS-RGQ Kit należy dokonać empirycznie, sprawdzając każdą kombinację oddzielnie, ponieważ jest to wartość względna, zależna od całościowego przebiegu pracy diagnostycznej. Dla pierwszego cyklu PCR wartość progu można ustawić na wstępnym poziomie 0,04. Jednakże wartość tę należy precyzyjnie dostosować poprzez analizę porównawczą kolejnych cykli przebiegu pracy. Wartość progu należy ustawić ręcznie tuż powyżej wartości sygnału tła negatywnych kontroli i negatywnych próbek. Średnia wartość progu obliczona na podstawie tych eksperymentów najprawdopodobniej będzie odpowiednia dla większości przyszłych oznaczeń. Jednakże pomimo tego użytkownik powinien regularnie sprawdzać tę wyznaczoną wartość. Wartość progu zwykle mieści się w zakresie 0,03–0,05 i należy ją zaokrąglić do co najwyżej trzech miejsc po przecinku.

Oznaczenie ilościowe

Wzorce ilościowe (Hep. C Virus RG QS 1–4) z zestawu *artus* HCV QS-RGQ Kit są traktowane jak wcześniej oczyszczone próbki i stosowana jest ta sama objętość (20 µl). Aby wyznaczyć krzywą wzorcową w aparatach Rotor-Gene Q, należy użyć wszystkich 4 wzorców ilościowych i zdefiniować je w oknie dialogowym „Edit Samples” (Edytuj próbki) w aparacie Rotor-Gene Q jako wzorce o określonych stężeniach (patrz instrukcja obsługi aparatu).

Uwaga: Standardy ilościowe są zdefiniowane w IU/ μ l**. Aby przekształcić wartości wyznaczone z krzywej wzorcowej na IU/ml materiału próbki, należy skorzystać z poniższego wzoru

$$\text{Wynik (IU/ml)} = \frac{\text{Wynik (IU/}\mu\text{l)} \times \text{początkowa objętość elucji (90 }\mu\text{l)}^\dagger}{\text{Objętość próbki (ml)}}$$

Zasadą jest wstawienie początkowej objętości próbki do powyższego wzoru. Należy tak postąpić, jeśli przed izolacją kwasu nukleinowego zmiana uległa objętość próbki (np. zmniejszyła się w wyniku odwirowania lub zwiększyła się przez dodanie objętości wymaganej do izolacji).

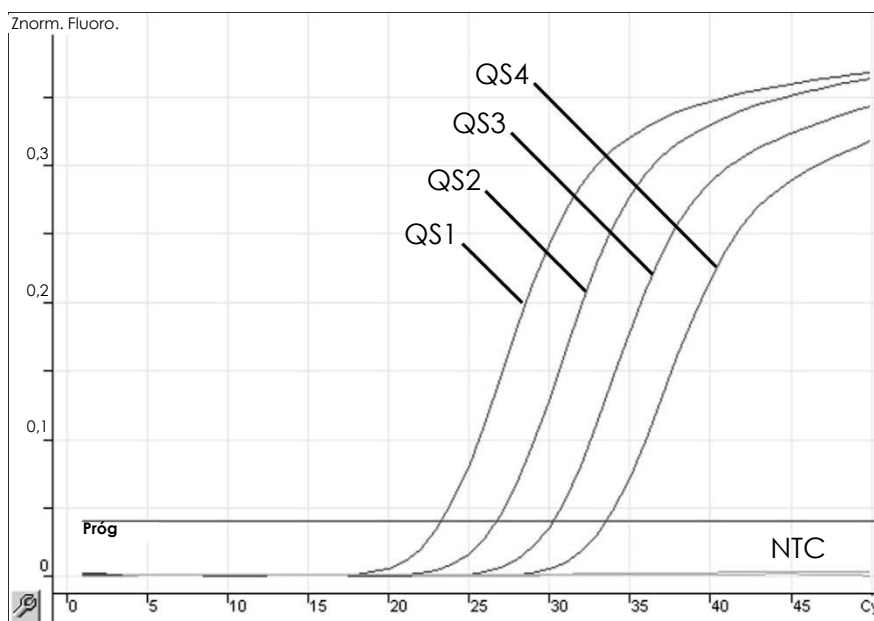
Przelicznik

W przypadku detekcji RNA wirusa HCV za pomocą aparatu Rotor-Gene Q 1 IU/ml odpowiada 1,21 kopii/ml. Przelicznik stanowi wartość przybliżoną wyznaczoną na podstawie średniej wartości przelicznika w obrębie dynamicznego zakresu oznaczenia.

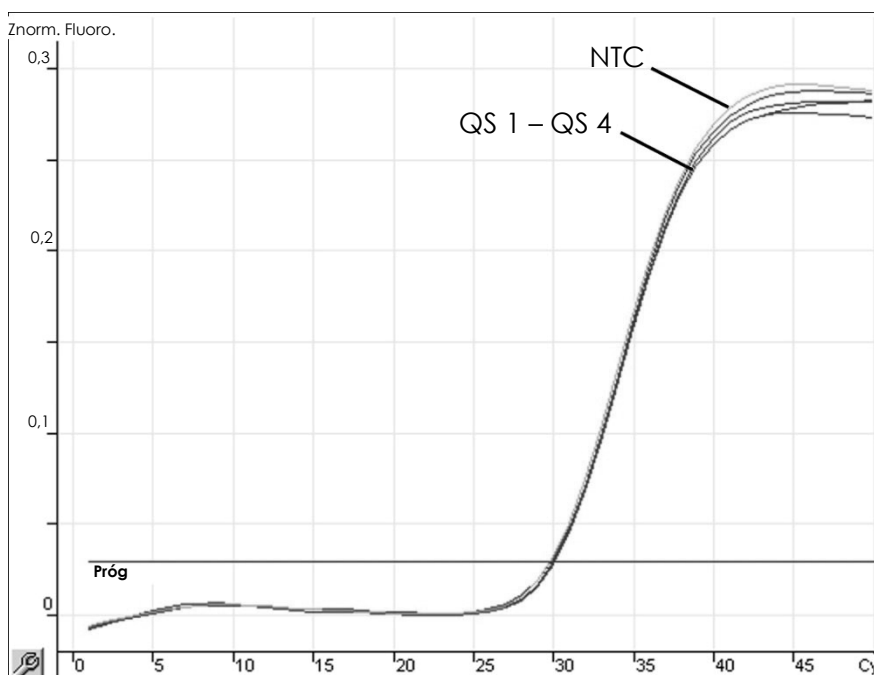
* Wzorzec skalibrowano względem międzynarodowego standardu dla wirusa HCV określonego przez Światową Organizację Zdrowia (World Health Organization, WHO).

† Obliczenie jest oparte na początkowych objętościach elucji (90 μ l).

Przykłady pozytywnych i negatywnych reakcji PCR



Detekcja wzorców ilościowych (Hep. C Virus QS 1–4) w zielonym kanale fluorescencyjnym (Cycling Green). NTC: No template control (kontrola bez matrycy) (kontrola negatywna).



Detekcja kontroli wewnętrznej (internal control, IC) w pomarańczowym kanale fluorescencyjnym (Cycling Orange) z równoczesną amplifikacją wzorców ilościowych (Hep. C Virus QS 1–4). NTC: No template control (kontrola bez matrycy) (kontrola negatywna).

Interpretacja wyników za pomocą oprogramowania Rotor-Gene AssayManager

Profil oznaczenia *artus* HCV QS-RGQ dla próbek osocza zawiera wszystkie zasady automatycznej interpretacji wyników oznaczenia. Na podstawie tych zasad oprogramowanie oceni ważność lub brak ważności próbek i kontroli. W wyniku automatycznej analizy mogą zostać wygenerowane poniższe flagi.

Flaga	Znaczenie	Opis
ASSAY_INVALID	Brak ważności	Oznaczenie jest nieważne, ponieważ co najmniej jedna kontrola zewnętrzna jest nieważna.
CORRESPONDING_ CONTROL_INVALID	Brak ważności	Wynik otrzymany dla sekwencji docelowej jest nieważny, ponieważ co najmniej jedna odpowiadająca jej kontrola zewnętrzna jest nieważna.
CORRESPONDING_ POSITIVE_CONTROL_ TARGET_INVALID	Brak ważności	Wynik otrzymany dla sekwencji docelowej jest nieważny, ponieważ odpowiadająca jej kontrola pozytywna jest nieważna.
CT_ABOVE_ ACCEPTED_RANGE	Brak ważności	Wykryta wartość C_T jest wyższa niż zdefiniowany punkt odcięcia wartości C_T .
CT_BELOW_ ACCEPTED_RANGE	Brak ważności	Wykryta wartość C_T jest niższa niż zdefiniowany punkt odcięcia wartości C_T .
CURVE_SHAPE_ ANOMALY	Brak ważności	Krzywa amplifikacji danych surowych ma kształt odbiegający od kształtu oczekiwanego dla tego oznaczenia. Istnieje wysokie prawdopodobieństwo uzyskania nieprawidłowych wyników lub błędnej interpretacji wyników.
FLAT_BUMP	Brak ważności	Krzywa amplifikacji ma kształt „równego wybrzuszenia”, który odbiega od kształtu oczekiwanego dla tego oznaczenia. Istnieje wysokie prawdopodobieństwo uzyskania nieprawidłowych wyników lub błędnej interpretacji wyników (określenie nieprawidłowej wartości C_T).
FLUORESCENCE_ TOO_LOW	Brak ważności	Sygnal fluorescencyjny jest niższy niż zdefiniowany punkt odcięcia fluorescencji.

Flaga	Znaczenie	Opis
IC_INVALID	Brak ważności	Kontrola wewnętrzna, która znajduje się w tej samej próbce, jest nieważna.
IC_NO_SIGNAL	Brak ważności	Nie wykryto sygnału dla kontroli wewnętrznej, która znajduje się w tej samej próbce.
INHIBITION_BY_CT	Ostrzeżenie	Przekroczono zdefiniowany maksymalny zakres wartości C_T między wartością C_T dla kontroli wewnętrznej danej próbki a wartością C_T dla kontroli wewnętrznej próbki NTC.
INHIBITION_BY_FLUORESCENCE	Ostrzeżenie	Przekroczono zdefiniowaną maksymalną różnicę między wartością fluorescencji kontroli wewnętrznej próbki NTC a wartością fluorescencji kontroli wewnętrznej danej próbki dla ostatniego cyklu.
MULTI_THRESHOLD_CROSSING	Brak ważności	Krzywa amplifikacji przekracza próg więcej niż jeden raz. Nie można wyznaczyć jednoznacznej wartości C_T . Ta flaga odpowiada fadze „NEG (Multi Ct)” oprogramowania Rotor-Gene. Szczegółowe informacje zawiera <i>Podręcznik użytkownika aparatu Rotor-Gene Q</i> (Rotor-Gene Q User Manual).
NO_CT_DETECTED	Brak ważności	Nie wykryto wartości C_T dla danej sekwencji docelowej.
NORM_FACTOR_ALTERATION	Ostrzeżenie	Niepowodzenie normalizacji. Wyświetlana jest nieznormalizowana krzywa amplifikacji. Należy ręcznie sprawdzić poprawność wyników.
OUT_OF_COMPUTATION_RANGE	Brak ważności	Stężenie obliczone dla danej próbki wykracza poza limit techniczny.
SATURATION	Brak ważności	Dane surowe fluorescencji są silnie nasycone przed punktem przegięcia krzywej amplifikacji.
SATURATION_IN_PLATEAU	Ostrzeżenie	Dane surowe fluorescencji są nasycone w fazie plateau krzywej amplifikacji.

Flaga	Znaczenie	Opis
SPIKE	Ostrzeżenie	W surowych danych fluorescencji wykryto wzrost na krzywej amplifikacji, ale jest on poza regionem, w którym określono wartość C_T .
SPIKE_CLOSE_TO_CT	Brak ważności	Wykryto wzrost na krzywej amplifikacji blisko wartości C_T .
STEEP_BASELINE	Brak ważności	Na krzywej amplifikacji wykryto stromo rosnącą linię podstawową dla surowych danych fluorescencji.
STRONG_BASELINE_DIP	Brak ważności	Na krzywej amplifikacji wykryto silny spadek linii podstawowej dla surowych danych fluorescencji.
STRONG_NOISE	Brak ważności	Poza fazą wzrostu (fazą wykładniczą) krzywej amplifikacji wykryto silny szum.
STRONG_NOISE_IN_GROWTH_PHASE	Brak ważności	W fazie wzrostu (fazie wykładniczej) krzywej amplifikacji wykryto silny szum.
TOO_LESS_CORRELATION_IN_STANDARD_CURVE	Brak ważności	Nie osiągnięto dolnej granicy dla wartości R^2 lub dolnej granicy dla wartości R .
UNCERTAIN	Ostrzeżenie	Wyniki z automatycznego skanowania danych (Automatic Data Scan, AUDAS) są sprzeczne z wynikami z podstawowej analizy. Nie jest możliwe przeprowadzenie jednoznacznej automatycznej oceny ważności danych.
UPSTREAM	Zmienna	Status próbki został ustawiony na nieważny lub niejasny we wcześniejszym procesie (np. ustawienie badania w aparacie QIASymphony). Uwaga: W przypadku flag „unclear” (niejasna) ustawionych we wcześniejszych procesach działanie programu Rotor-Gene AssayManager jest definiowane w środowisku „Configuration” (Konfiguracja). W przypadku flag „invalid” (nieważna) ustawionych we wcześniejszych procesach oprogramowanie Rotor-Gene AssayManager zawsze unieważnia takie próbki.
WAVY_BASE_FLUORESCENCE	Brak ważności	Na krzywej amplifikacji wykryto pofalowaną linię podstawową dla surowych danych fluorescencji.

Wyniki wygenerowane przez oprogramowanie Rotor-Gene AssayManager wymagają zatwierdzenia/odrzućenia przez użytkownika o roli „Approver” (Osoba zatwierdzająca). Więcej informacji o procesie zatwierdzania zawiera *Podręcznik użytkownika narzędzia artus Basic Plug-in* oprogramowania Rotor-Gene AssayManager (Rotor-Gene AssayManager artus Basic Plug-in User Manual).

Konfiguracja wartości progu dla analizy PCR

Profil oznaczenia *artus* HCV QS-RGQ dla próbek osocza automatycznie ustawia wartość progu.

Oznaczenie ilościowe

Profil oznaczenia *artus* HCV QS-RGQ dla próbek osocza zawiera wszystkie informacje o wzorcach ilościowych wymaganych do obliczenia stężenia organizmu docelowego w próbce lub eluacie. Oprogramowanie Rotor-Gene AssayManager umożliwia również bezpośrednie przeliczenie wyniku na inne jednostki stężenia. Więcej informacji zawiera *Podręcznik użytkownika narzędzia artus Basic Plug-in* oprogramowania Rotor-Gene AssayManager.

Aktualne informacje licencyjne oraz dotyczące wyłączenia odpowiedzialności dla poszczególnych produktów znajdują się w odpowiedniej instrukcji obsługi lub podręczniku użytkownika zestawu QIAGEN. Instrukcje obsługi lub podręczniki użytkownika zestawu QIAGEN są dostępne w witrynie www.qiagen.com. Można je także zamówić w serwisie lub u lokalnego dystrybutora firmy QIAGEN.

Znaki towarowe: QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN Group); BD™ (Becton, Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.).

© 2013 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.

www.qiagen.com

Australia = 1-800-243-800

Austria = 0800-281011

Belgium = 0800-79612

Brazil = 0800-557779

Canada = 800-572-9613

China = 800-988-0325

Denmark = 80-885945

Finland = 0800-914416

France = 01-60-920-930

Germany = 02103-29-12000

Hong Kong = 800 933 965

India = 1-800-102-4114

Ireland = 1800 555 049

Italy = 800-787980

Japan = 03-6890-7300

Korea (South) = 080-000-7145

Luxembourg = 8002 2076

Mexico = 01-800-7742-436

The Netherlands = 0800 0229592

Norway = 800-18859

Singapore = 1800-742-4368

Spain = 91-630-7050

Sweden = 020-790282

Switzerland = 055-254-22-11

Taiwan = 0080-665-1947

UK = 0808-2343665

USA = 800-426-8157



Sample & Assay Technologies