

Februar 2018

# QIASymphony<sup>®</sup> RGQ Anwendungsblatt

*artus*<sup>®</sup> HSV-1/2 QS-RGQ Kit (Probentyp: Plasma)

R2

IVD

CE

REF

4500363

*artus* HSV-1/2 QS-RGQ Kit, Version 1



Prüfen Sie vor einer Testausführung die Verfügbarkeit neuer elektronischer Etikettierungsrevisionen im Internet unter [www.qiagen.com/products/artushsv-12pckitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushsv-12pckitce.aspx).

## Allgemeine Informationen

|                                     |  |
|-------------------------------------|--|
| Kit                                 | <i>artus</i> HSV-1/2 QS-RGQ Kit, Version 1<br>(Kat.-Nr. 4500363)     |
| Validiertes Probenmaterial          | EDTA-Humanplasma   |
| Aufreinigung im Vorfeld             | QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit<br>(Kat.-Nr. 937055)        |
| Probenvolumen (inkl. Zusatzvolumen) | 1200 µl  |
| Assay-Parameter-Set                 | <i>artus</i> _HSV_plasma1000QL_V5                                    |
| Standard-Assay-Kontroll-Set         | Cellfree1000_V7_DSP_ <i>artus</i> _HSV                               |
| Elutionsvolumen                     | 60 µl  |
| Erforderliche Softwareversion       | Version 4.0 oder höher   |
| Volumen Master-Mix                  | 30 µl  |
| Volumen Template                    | 20 µl  |
| Anzahl der Reaktionen               | 4–24   |
| Laufzeit auf AS-Modul               | Für 4 Reaktionen: ca. 9 Minuten<br>Für 72 Reaktionen: ca. 35 Minuten |

# 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, Kat.-Nr. 9020730)
- Transfer-Rahmen
- Tube Insert 3B (Insert, 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym, Kat.-Nr. 9242083)

## Verbrauchsmaterialien für QIASymphony SP

- Sample Prep Cartridges, 8-well (Kat.-Nr. 997002)
- 8-Rod Covers (Kat.-Nr. 997004)
- Filter-Tips, 1500 µl (Kat.-Nr. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (Kat.-Nr. 990332)
- Elution Microtubes CL (Kat.-Nr. 19588)
- Tip disposal bags (Kat.-Nr. 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Type H oder Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt®, Kat.-Nr. 72.693 und 72.694, [www.sarstedt.com](http://www.sarstedt.com)) zur Verwendung mit Proben und internen Kontrollen

## Adapter und Reagenzienhalter für den QIASymphony AS

- Reagent holder 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, Kat.-Nr. 9018090)
- RG Strip Tubes 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, Kat.-Nr. 9018092)

## Verbrauchsmaterialien für QIASymphony AS

- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (Kat.-Nr. 981103)
- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (Kat.-Nr. 997102) oder Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, Kat.-Nr. 72.694.005)
- Ersatzweise: Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (Kat.-Nr. 997104) oder Tubes with flat base from PP (Sarstedt, Kat.-Nr. 60.558.001)
- Filter-Tips, 1500 µl (Kat.-Nr. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (Kat.-Nr. 990332)
- Filter-Tips, 50 µl (Kat.-Nr. 997120)
- Tip disposal bags (Kat.-Nr. 9013395)

## Lagerung und Handhabung der Proben

|                    |  |
|--------------------|--|
| Probennahme        | Blutprobe<br>5 bis 10 ml EDTA-Blut<br>8x im Überkopfmischer – nicht schütteln!<br><br>Es dürfen keine heparinisierten Humanproben verwendet werden.  |
| Probenlagerung     | Trennung: 20 Minuten zentrifugieren bei 800 bis 1600 x g innerhalb von 24 Stunden nach Probenahme<br>Isoliertes Plasma in ein steriles Polypropylen-Röhrchen überführen<br>Die Sensitivität des Assays kann durch routinemäßiges Einfrieren oder durch eine längere Lagerung der Proben verringert werden. |
| Probentransport    | Bruchsicher transportieren<br>Lieferung innerhalb von 24 Stunden<br>Postversand entsprechend den gesetzlichen Vorgaben für den Transport von pathogenem Material*<br>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.  |
| Probenvorbereitung | Vermeiden Sie Schaumbildung in und auf den Proben<br>Die Proben<br>vor dem Beginn des Laufs auf Raumtemperatur (15–25 °C) bringen.   |

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

# Verfahren

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

Bei der Verwendung des QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit zusammen mit dem *artus* HSV-1/2 QS-RGQ Kit muss die interne Kontrolle (HSV-1/2 RG IC) im Aufreinigungsverfahren mitgeführt werden, um die Überwachung der Effizienz der Probenvorbereitung und des folgenden Assays zu ermöglichen.

Interne Kontrollen müssen zusammen mit dem (CARRIER-)RNA-Puffer AVE (AVE)-Gemisch zugegeben werden, wobei das Gesamtvolumen des Gemischs aus interner Kontrolle und (CARRIER-)RNA-Puffer AVE (AVE)-Gemisch 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.

Alternativ kann das „IC Calculator“-Tool der QIAasymphony Management Console verwendet werden.

| Komponente                                | Volumen (µl)<br>(Sarstedt-Röhrchen)* | Volumen (µl)<br>(Corning-Röhrchen)† |
|---|--------------------------------------|-------------------------------------|
| Carrier-RNA-Vorratslösung<br>(CARRIER)    | 5                                    | 5                                   |
| Interne Kontrolle‡                        | 9                                    | 9                                   |
| Puffer AVE                                | 106                                  | 106                                 |
| Endvolumen pro Probe (ohne<br>Totvolumen) | 120                                  | 120                                 |
| Gesamtvolumen für n Proben                | $(n \times 120) + 360^{\S}$          | $(n \times 120) + 600^{\P}$         |

\* Micro tubes 2.0 ml Type H und Micro tubes 2.0 ml Type I, Sarstedt Kat.-Nr. 72.693 und 72.694.

† Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Corning® Inc., Kat.-Nr. 352051; dieses Röhrchen wurde früher von Becton Dickinson und wird jetzt von Corning Inc. angeboten).

‡ Die Berechnung der Menge der internen Kontrolle basiert auf dem ursprünglichen Elutionsvolumen (90 µl). Das zusätzliche Totvolumen hängt von der Art des verwendeten Probenröhrchens 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 Micro tubes 2.0 ml Type H und Micro tubes 2.0 ml Type I, Sarstedt Kat.-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 Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Corning Inc., Kat.-Nr. 352051; dieses Röhrchen wurde früher von Becton Dickinson und wird jetzt von Corning Inc. angeboten).

## Konfiguration des QIASymphony SP

### Schublade „Waste“ (Abfall)

|  |  |
|--|--|
| Halter für Verbrauchsartikel-Container, Positionen 1–4 | Leercontainer für Verbrauchsmaterial       |
| Halter für Abfallbeutel                                | Abfallbeutel                               |
| Halter für Flüssigabfallbehälter                       | Flüssigabfallbehälter leeren und einsetzen |

### Schublade „Eluate“ (Eluat)

|                  |  |
|------------------|--|
| Elutions-Rack    | Elution Microtubes CL in Elution Microtube Rack QS und Transfer Frame<br>Stellplatz 1, Kühlposition, verwenden |
| Elutionsvolumen* | Vorausgewähltes Elutionsvolumen: 60 µl<br>Anfängliches Elutionsvolumen: 90 µl                                  |

\* Das Elutionsvolumen für das Protokoll 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 Verbrauchsmaterialien)

|  |  |
|--|--|
| RC Position 1 und 2                      | 1 Reagenzienkartusche (Reagent Cartridge, RC) bei bis zu 48 Proben oder 2 neue Reagenzienkartuschen (RC) bei bis zu 96 Proben einsetzen                                |
| Tip-Rack-Halter, Positionen 1-18         | Laden Sie ausreichend Racks mit Einmal-Filterspitzen, 200 µl und 1500 µl (siehe „Erforderliches Plastikzubehör für 1 bis 4 Probenchargen“ auf Seite 7)                 |
| Halter für Einheitsboxen, Positionen 1-4 | Laden Sie Verbrauchsartikel-Container mit Probenvorbereitungskartuschen und 8-Rod Covers (siehe „Erforderliches Plastikzubehör für 1 bis 4 Probenchargen“ auf Seite 7) |

## Schublade „Sample“ (Probe)

|                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| Probenart                           | EDTA-Humanplasma  |
| Probenvolumen (inkl. Zusatzvolumen) | 1200 µl   |
| Probenröhrchen                      | Micro tubes 2.0 ml Type H oder Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, Kat.-Nr. 72.693 und 72.694) |
| Einsatz                             | Tube Insert 3B (Kat.-Nr. 9242083)   |

## Erforderliches Plastikzubehör für 1 bis 4 Probenchargen

| Komponente                                     | Eine Charge,<br>24 Proben* | Zwei Chargen,<br>48 Proben* | Drei Chargen,<br>72 Proben* | Vier Chargen,<br>96 Proben* |
|--|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Einmal-Filterspitzen,<br>200 µl <sup>†‡</sup>  | 30                         | 54                          | 78                          | 102                         |
| Einmal-Filterspitzen,<br>1500 µl <sup>†‡</sup> | 101                        | 182                         | 271                         | 354                         |
| Sample Prep<br>Cartridges <sup>§</sup>         | 21                         | 42                          | 63                          | 84                          |
| 8-Rod Covers <sup>¶</sup>                      | 3                          | 6                           | 9                           | 12                          |

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

† Jedes Spitzenrack enthält 32 Filterspitzen.

‡ Bei der Anzahl der erforderlichen Filterspitzen sind die für 1 Inventar-Scan pro Reagenzienkartusche benötigten Filterspitzen eingerechnet.

§ Ein Verbrauchsartikel-Container enthält 28 Probenvorbereitungskartuschen.

¶ Ein Verbrauchsartikel-Container enthält zwölf 8-Rod Covers.

## Konfiguration des QIASymphony AS

### Verbrauchsmaterial

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

| Verbrauchsmaterial                                   | Name auf Touchscreen                         | Verwendung mit Adapter/<br>Reagenzienhalter |
|--|--|---|
| Strip Tubes and Caps,<br>0.1 ml (250)                | QIA#981103<br>*StripTubes 0.1                | RG Strip Tubes 72 QS                        |
| Tubes, conical, 2 ml,<br>Qsym AS (500) <sup>†‡</sup> | QIA#997102<br>*T2.0 ScrewSkirt <sup>‡§</sup> | Reagent holder 1 QS                         |
| Tubes, conical, 5 ml,<br>Qsym AS (500) <sup>†‡</sup> | QIA#997104<br>*T5.0 ScrewSkirt <sup>§</sup>  | Reagent holder 1 QS                         |

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

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

<sup>‡</sup> Alternativ können die in „Nicht mitgelieferte, aber erforderliche Materialien“ auf Seite 3 beschriebenen Röhrchen von Sarstedt verwendet werden.

<sup>§</sup> 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-/Reagenzienhalter | Name                 | Erforderliche Anzahl <sup>¶</sup> |
|------------------------|----------------------|-----------------------------------|
| Reagenzienhalter       | Reagent holder 1 QS  | 1                                 |
| Proben-Racks           | RG Strip Tubes 72 QS | 1                                 |

<sup>¶</sup> Für einen Assay-Lauf mit 72 Reaktionen berechnet.



## Filterspitzen

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

| <b>Verbrauchsmaterial</b>   | <b>Name auf Touchscreen</b> | <b>Minimale Anzahl für 24 Reaktionen</b> | <b>Minimale Anzahl für 72 Reaktionen</b> |
|-----------------------------|-----------------------------|--|--|
| Filter-Tips, 1500 µl (1024) | 1500 µl                     | 4  | 6  |
| Filter-Tips, 200 µl (1024)  | 200 µl                      | 9  | 8  |
| Filter-Tips, 50 µl (1024)   | 50 µl                       | 25                                       | 73                                       |
| Tip Disposal Bags           | –                           | 1  | 1  |

## PCR auf dem Rotor-Gene Q\*

Protokolldetails schlagen Sie bitte im Software-spezifische Protokollblatt „Settings to run artus QS-RGQ Kits“ unter [www.qiagen.com/products/artushsv-12pcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushsv-12pcrkitce.aspx) nach.

### Spezifische Einstellungen für den artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit

Die spezifischen Einstellungen für die Rotor-Gene® Q Software ab Version 2.1 werden nachfolgend aufgeführt.

|   |  |
|---|--|
| „Reaction Volume (µl)“<br>Reaktionsvolumen (µl)   | 50   |
| „Hold“ (Halten)   | „Hold Temperature“ (Haltetemperatur): 95 Grad<br>„Hold Time“ (Haltedauer): 10 Minuten  |
| „Cycling“ (Zyklen)  | 45-mal<br>15 Sekunden lang 95 Grad<br>30 Sekunden lang 65 Grad „Acquire“<br>[Datenerfassung] über „Green“ [grünen],<br>„Yellow“ [gelben] und „Orange“<br>[orangefarbenen] Kanal, Touchdown-Funktion<br>für 10 Zyklen aktivieren)<br>20 Sekunden lang 72 Grad |
| „Auto-Gain Optimisation Setup“<br>(Einrichten der automatischen<br>Verstärkungsoptimierung) | 65 Grad („Samples“ [Proben]: „Green“<br>[grün], „Orange“ [orange]; IC: „Yellow“<br>[gelb])   |

## 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.

Das artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit kann auf dem Rotor-Gene Q laufen, wobei eine manuelle Analyse mit der Rotor-Gene Q Software ab 2.1 verwendet wird. Die folgenden Abschnitte beschreiben eine Interpretation der Ergebnisse mit der Rotor-Gene Q Software ab Version 2.1.

\* Ggf. Rotor-Gene Q 5plex HRM Instrument mit Produktionsdatum ab Januar 2010. Das Herstellungsdatum kann aus der Seriennummer auf der Rückseite des Geräts abgeleitet werden. Die Seriennummer hat das Format „MMJJNNN“, wobei „MM“ für den Produktionsmonat in Ziffern, „JJ“ für die letzten beiden Ziffern des Produktionsjahres und „NNN“ für die eindeutige Instrumentenkennung steht.

## Signalnachweis und Schlussfolgerungen

| Signal im Kanal Cycling Green | Signal im Kanal Cycling Orange | Signal im Kanal Cycling Yellow | Ergebnis        | Interpretation   |
|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-----------------|--|
| Ja                            | Nein                           | Ja*                            | Positiv         | Die Probe enthält HSV-1-DNA. Keine nachweisbare HSV-2-DNA.†† |
| Nein                          | Ja                             | Ja*                            | Positiv         | Die Probe enthält HSV-2-DNA. Keine nachweisbare HSV-1-DNA.†† |
| Ja                            | Ja                             | Ja*                            | Positiv         | Die Probe enthält HSV-1-DNA und HSV-2-DNA.                   |
| Nein                          | Nein                           | Ja                             | Negativ         | Keine nachweisbare HSV-1/2-DNA.††                            |
| Nein                          | Nein                           | Nein                           | Nicht eindeutig | Eine Aussage zum Ergebnis ist nicht möglich.‡                |

\* Signal ist unmaßgeblich, da hohe Ausgangskonzentrationen von HSV-1- und/oder HSV-2-DNA zu einem abgeschwächten oder ausbleibenden Fluoreszenzsignal im Kanal Cycling Yellow führen können (Kompetition).

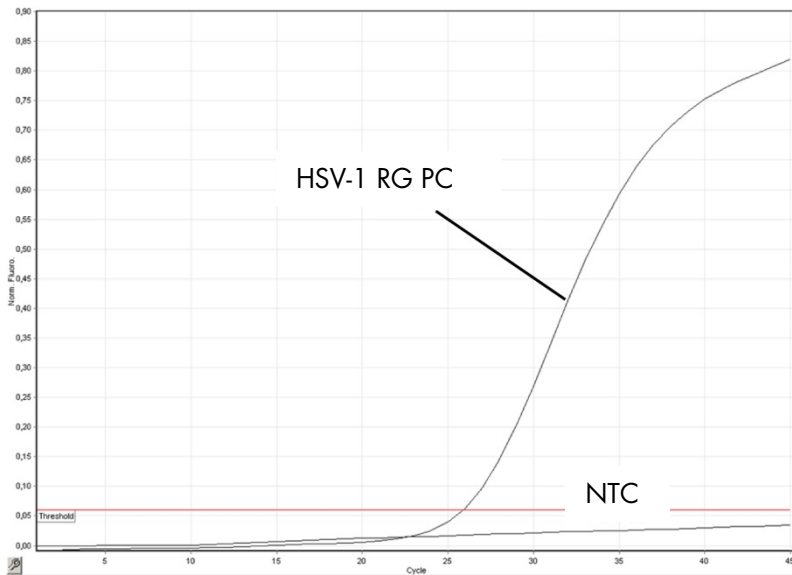
† Wenn bei einer negativen Probe der  $C_T$ -Wert für die interne Kontrolle bei diesem Lauf mehr als 3 Zyklen über dem  $C_T$ -Wert für die interne Kontrolle der Kontrolle ohne Template liegt ( $C_{T\text{ IC Probe}} - C_{T\text{ IC NTC}} > 3$ ), muss diese Probe als ungültig behandelt werden. Eine Aussage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

†† Informationen über Fehlerquellen und ihre Behebung finden Sie in der Hilfe zur Fehlersuche („Troubleshooting Guide“) des *artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit Handbuchs (artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit Handbook)*.

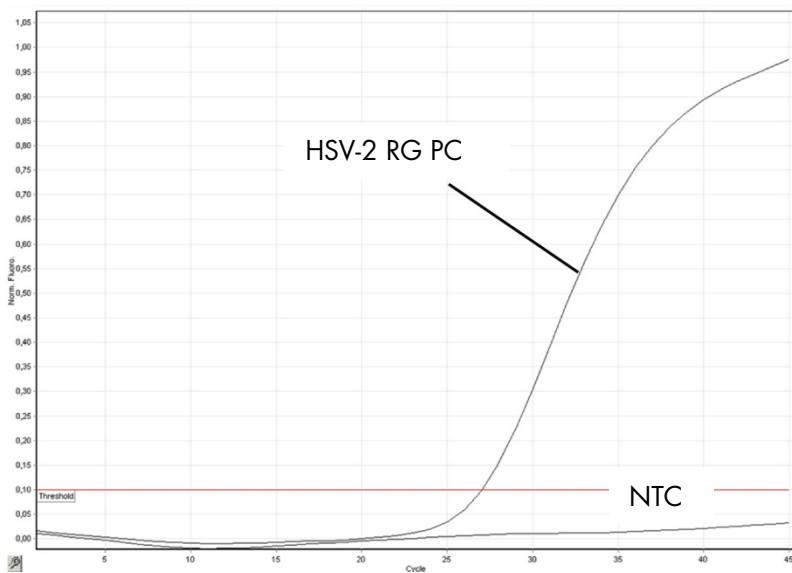
## Einrichten eines Schwellenwertes für die PCR-Analyse

Die optimalen Einstellungen für einen Schwellenwert bei einer gegebenen Kombination aus Rotor-Gene Q Instrument 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 der negativen 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.

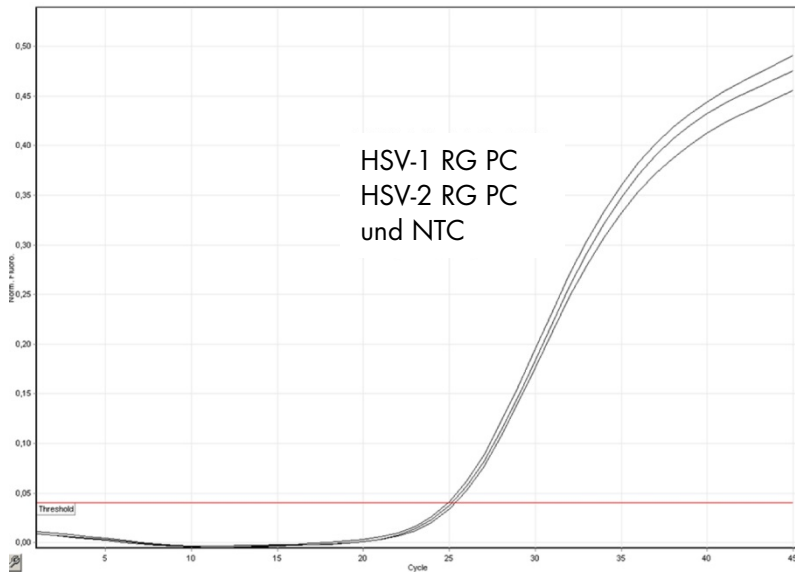
## Beispiele positiver und negativer PCR-Reaktionen



**Nachweis der HSV-1-Positivkontrolle (HSV-1 RG PC) im Fluoreszenzkanal Cycling Green.** NTC: No template control (Kontrolle ohne Template) (Negativkontrolle).



**Nachweis der HSV-2-Positivkontrolle (HSV-2 RG PC) im Fluoreszenzkanal Cycling Orange.** NTC: No template control (Kontrolle ohne Template) (Negativkontrolle).



**Nachweis der internen Kontrolle (IC) im Fluoreszenzkanal Cycling Yellow bei gleichzeitiger Amplifikation der Positivkontrollen (HSV-1 RG PC und HSV-2 RG PC). NTC: No Template Control (Kontrolle ohne Template).**

### Bearbeitungsverlauf des Dokuments

R2, Februar 2018      Fußnote zur Konfiguration von 216 Assays wurde entfernt. Änderung in neue QIASymphony-Protokollversionen. Aktualisierte erforderliche Materialien für eine Konfiguration von maximal 72 Reaktionen. Informationen zur Nutzung des QMC „IC Calculator“-Tools wurden hinzugefügt. Aktualisierte Benennung von Corning Labware (zuvor Becton Dickinson). Es wurden spezielle Laufeinstellungen für Rotor-Gene Q hinzugefügt (Verwendung der Touchdown-Funktion, Datenerfassungen). Der Verweis auf den Rotor-Gene AssayManager® wurde entfernt.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische rechtliche Hinweise finden Sie im Handbuch oder der Gebrauchsanweisung des jeweiligen QIAGEN-Kits. Handbücher und Gebrauchsanweisungen zu QIAGEN Kits finden Sie im Internet unter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder bei Ihrem örtlichen Händler angefordert werden.

Marken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN Group); Corning® (Corning Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Bei registrierten Namen, Marken usw., die in diesem Dokument genannt werden, ist nicht davon auszugehen, dass sie gesetzlich nicht geschützt sind, auch wenn sie nicht ausdrücklich als registrierter Name bzw. registrierte Marke gekennzeichnet sind.  
02/2018 HB-0403-S02-002 © 2012–2018 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

