

artus[®] CT/NG QS-RGQ Kit

Handbuch



Version 1

IVD

Qualitatives In-vitro-Diagnostikum

Zum Gebrauch mit den QIASymphony[®] SP/AS und Rotor-Gene[®] Q Geräten

CE
0197

REF 4569365

 QIAGEN GmbH, QIAGEN-Straße 1, 40724 Hilden, DEUTSCHLAND

R4 **MAT** 1074252DE



QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN ist der führende Anbieter von innovativen Probenvorbereitungs- und Testtechnologien, die die Isolierung und die Analyse von Nukleinsäuren und Proteinen aus jedem biologischen Probenmaterial ermöglichen. Unsere fortschrittlichen, qualitativ hochwertigen Produkte und Dienstleistungen stellen den Erfolg von der Probe bis zum Ergebnis sicher.

QIAGEN setzt Standards in:

- der Reinigung von DNA, RNA und Proteinen,
- Nukleinsäure- und Protein-Assays,
- microRNA-Forschung und RNAi sowie
- der Automatisierung von Probenvorbereitungs- und Testtechnologien.

Unsere Mission ist es, Ihnen herausragende Erfolge und bahnbrechend neue Erkenntnisse bei Ihrer Forschung zu ermöglichen. Weitere Informationen finden Sie auf der Website www.qiagen.com.

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|-----------|
| Vorgesehener Verwendungszweck | 5 |
| Zusammenfassung und Hintergrundinformationen | 5 |
| Informationen zu den Erregern | 6 |
| Mit dem Kit gelieferte Materialien | 8 |
| Kit-Inhalt | 8 |
| Vom Anwender bereitzustellende Ausrüstung und Reagenzien | 8 |
| Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen | 9 |
| Sicherheitsinformationen | 9 |
| Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen | 10 |
| Lagerung und Handhabung der Reagenzien | 10 |
| Handhabung und Lagerung der Proben | 11 |
| Sammeln von Urinproben | 11 |
| Abstrich-Probennahme | 11 |
| Weitere Hinweise zur Handhabung der Proben | 11 |
| Verfahren | 13 |
| Hinweise zum Starten der QIASymphony SP/AS Geräte | 13 |
| DNA-Isolierung aus den Bakterien | 13 |
| Verwendung von interner Kontrolle und Carrier-RNA (CARRIER) | 13 |
| Assay-Control-Sets und Assay-Parameter-Sets | 13 |
| Protokolle | |
| ■ DNA-Isolierung und Assay-Set-up mit QIASymphony SP/AS | 15 |
| ■ PCR mit dem Rotor-Gene Q | 21 |
| Interpretation der Ergebnisse | 22 |
| Hilfe zur Fehlerbehebung | 22 |
| Qualitätskontrolle | 28 |
| Beschränkungen des Tests | 28 |
| Hinweis auf besonderes Risiko | 29 |
| Leistungscharakteristik | 29 |
| Literatur | 29 |
| Symbole | 29 |
| Kontaktinformationen | 30 |

Vorgesehener Verwendungszweck

Der *artus* CT/NG QS-RGQ Kit ist ein In-vitro-Test zum direkten qualitativen Nachweis der Plasmid- und genomischen DNA von *Chlamydia trachomatis* sowie der genomischen DNA von *Neisseria gonorrhoeae*. Er basiert auf der Real-Time-Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und dient als Hilfsmittel bei der Diagnose einer durch Chlamydien- und/oder Gonokokken verursachten Erkrankung des Urogenitalsystems. Dieser diagnostische Test wurde für die Verwendung mit den QIA Symphony SP/AS Geräten und dem Rotor-Gene Q Thermocycler für die Amplifikation und Detektion der Target-DNA konfiguriert.

Der *artus* CT/NG QS-RGQ Kit ist – in Verbindung mit dem klinischen Erscheinungsbild und anderen im Labor bestimmten Markern – für die Verwendung bei der Krankheitsprognose vorgesehen.

QIAGEN entwickelt und validiert kontinuierlich weitere Applikationen für die *artus* QS-RGQ Kits, beispielsweise die Verwendung mit weiteren Probenotypen. Die jeweils aktuellste Version dieses Handbuchs und der zugehörigen Applikationsblätter stehen online unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgqkitce zur Verfügung.

 Weitere Informationen zu den spezifischen humanbiologischen Probenotypen, für die der Kit validiert wurde, finden Sie in den Applikationsblättern, die online unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgqkitce verfügbar sind.

Da QIAGEN kontinuierlich die Leistungsfähigkeit des Assays überwacht und neue Ansprüche validiert, liegt es in der Verantwortung der Anwender, sicherzustellen, dass sie mit der jeweils aktuellsten Revision der Gebrauchsanweisung arbeiten.



Kontrollieren Sie daher, ob unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgqkitce neue elektronische Revisionen der Gebrauchsanweisung vorliegen, bevor Sie mit der Testdurchführung beginnen.

Alle Kits können mit den jeweiligen Elementen der Gebrauchsanweisung verwendet werden, solange gewährleistet ist, dass die Versionsnummer des Handbuchs und anderer Gebrauchsinformationen mit der Kit-Versionsnummer übereinstimmt. Die Versionsnummer befindet sich auf jedem Etikett der Kit-Verpackung. QIAGEN gewährleistet die Kompatibilität aller Kit-Chargen des Tests, die dieselbe Versionsnummer tragen.

Zusammenfassung und Hintergrundinformationen

Der *artus* CT/NG QS-RGQ Kit ist ein gebrauchsfertiges System für den Nachweis der DNA von *C. trachomatis* (CT) und/oder *N. gonorrhoeae* (NG) mithilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und den Rotor-Gene Q Thermocyclern, nachdem Probenvorbereitung und Assay-Set-up mit den QIA Symphony SP/AS Geräten durchgeführt wurden. Der CT/NG RG Master-Mix enthält die erforder-

lichen Reagenzien und Enzyme für die spezifische Amplifikation einer 86 bp großen Region des kryptischen *C.-trachomatis*-Plasmids, einer 66 bp großen Region des *C.-trachomatis*-Genoms sowie einer 74 bp großen Target-Sequenz des *N.-gonorrhoeae*-Genoms für den direkten Nachweis des spezifischen Amplikons im Fluoreszenz-Kanal "Cycling Green" bzw. "Cycling Orange" des Rotor-Gene Q.

Darüber hinaus enthält der *artus* CT/NG QS-RGQ Kit ein viertes heterologes Amplifikationssystem, um eine mögliche PCR-Inhibition feststellen zu können. Dieses wird als interne Kontrolle (IC) im Fluoreszenz-Kanal "Cycling Yellow" des Rotor-Gene Q detektiert. Die Nachweisgrenze der analytischen CT/NG-PCR wird durch diese Kontrolle nicht reduziert. Außerdem werden eine externe Positiv- und Negativkontrolle ("Control CT+/NG-" und "Control NG+/CT-") sowie eine Kontrolle ohne Template ("No Template Control", kurz NTC) im Kit mitgeliefert.

Weitere Informationen finden Sie im entsprechenden Applikationsblatt unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgqkitce.

Informationen zu den Erregern

***Chlamydia trachomatis* (CT)**

Bakterien der Gattung *Chlamydia* (C.) besitzen eine große epidemiologische Bedeutung und die 16 Serotypen von *C. trachomatis* lösen verschiedene Erkrankungen aus. *Chlamydia trachomatis* (Serotypen D bis L) gehört weltweit zu den häufigsten Erregern sexuell übertragbarer Erkrankungen (STD; engl. *sexually transmitted diseases*). Die Serotypen A bis C verursachen das Trachom, eine in den Tropen verbreitete chronische, rezidivierende Erkrankung der Bindehaut und der Hornhaut. Die Serotypen D bis K verursachen sexuell übertragbare Infektionen des Urogenitalsystems und Augeninfektionen sowie Neugeborenen-Infektionen nach perinataler Übertragung. Die Serotypen LGV I bis III verursachen das Lymphogranuloma venereum (LGV), eine Geschlechtskrankheit, die vorwiegend in den Tropen vorkommt (1).

Das Trachom tritt nahezu ausschließlich in tropischen Ländern mit mangelhaften hygienischen Verhältnissen auf. Es ist die weltweit häufigste Augenkrankheit und ist nach dem Katarakt die zweithäufigste Ursache für Erblindung. Es wird angenommen, dass etwa 150 Millionen Menschen infiziert sind; bei etwa sechs Millionen davon ist es zur Erblindung gekommen (1).

In den Industriestaaten sind Chlamydien die häufigsten bakteriellen Erreger von Infektionen des Urogenitalsystems. In Deutschland wird die Zahl der genitalen Neuinfektionen auf etwa 300.000 pro Jahr geschätzt. Die Inzidenz von Lymphogranuloma venereum (Lymphogranuloma inguinale, Durand-Nicolas-Favre-Krankheit) nimmt weltweit ab. Allerdings ist diese sexuell übertragbare

Krankheit in Asien, Afrika, Südamerika und Teilen der Karibik immer noch endemisch (1).

***Neisseria gonorrhoeae* (NG)**

Neisseria gonorrhoeae ist ein humanpathogenes Bakterium, das ausschließlich durch Sexualverkehr übertragen wird: Außerhalb des menschlichen Körpers ist dieser Organismus nicht überlebensfähig, da er sehr empfindlich gegenüber Austrocknung ist. Die Haupt-Infektionsquelle sind asymptomatisch infizierte Frauen. Die Symptome entwickeln sich innerhalb von 2–7 Tagen nach der Infektion und gehen mit einem Fluor vaginalis (Scheidenausfluss) einher. Immerhin ca. 50 % der infizierten Frauen haben nur milde Symptome oder sind asymptomatisch. Bei männlichen Patienten verursacht eine Infektion mit *N. gonorrhoeae* eine Harnröhrenentzündung (Urethritis) mit eitrigem Ausfluss und Schmerzen beim Urinieren (1).

In den Vereinigten Staaten ist die Gonorrhö die zweithäufigste gemeldete Geschlechtskrankheit. Die Infektionsrate lag im Jahr 2010 bei 100,8 pro 100.000 Einwohner bei insgesamt 309.341 gemeldeten Fällen in den Vereinigten Staaten (2).

Mit dem Kit gelieferte Materialien

Kit-Inhalt

| | | | |
|--|-----------------------|-----------------------|-----------------|
| artus CT/NG QS-RGQ Kit | | | (2 x 48) |
| Katalog-Nr. | | | 4569365 |
| Anzahl Reaktionen | | | 96 |
| Blau | CT/NG RG Master | RG MASTER | 2 x 660 µl |
| Gelb | CT/NG RG Mg-Sol* | RG MG-SOL | 4 x 200 µl |
| Rot | CT/NG Control CT+/NG- | CONTROL CT+NG- | 4 x 500 µl |
| Braun | CT/NG Control NG+/CT- | CONTROL NG+CT- | 4 x 500 µl |
| Grün | CT/NG RG IC† | RG IC | 2 x 1000 µl |
| Schwarz | CT/NG RG NTC‡ | RG NTC | 4 x 100 µl |
| artus CT/NG QS-RGQ Kit Handbook (Englisch) | | | 1 |

* Magnesium-Lösung.

† Interne Kontrolle.

‡ Kontrolle ohne Template ("No Template Control").

Vom Anwender bereitzustellende Ausrüstung und Reagenzien

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Schutzhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheits-Datenblättern (*Safety Data Sheets, SDSs*) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

- Pipetten (Volumen einstellbar)* und sterile Filter-Pipettenspitzen
- Laborschüttler (Vortex)*
- Tischzentrifuge* mit Rotor für 2-ml-Reaktionsgefäße, fähig zur Zentrifugation bei 6800 x g

Für die Handhabung und Lagerung der Proben

- Behälter für Urinproben

* Stellen Sie sicher, dass die Geräte regelmäßig und gemäß den Herstellerangaben überprüft und kalibriert werden.

- Abstrich-Tupfer für die Entnahme von Vaginal- oder Zervikal-Abstrichproben (z. B. der Fa. Copan, Kat.-Nr. 502CS01, siehe www.copaninnovation.com)
- Abstrich-Tupfer für die Entnahme von Urethral-Abstrichproben (z. B. der Copan, Kat.-Nr. 525CS01)
- Transportröhrchen (z. B. der Fa. Copan, Kat.-Nr. 606C 2ml)

Für die Probenvorbereitung

- QIASymphony SP Gerät (Kat.-Nr. 9001297),* mit der Software-Version 4.0.1 oder höher
- QIASymphony AS Gerät (Kat.-Nr. 9001301)*, mit der Software-Version 4.0.1 oder höher

Für die PCR

- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Thermocycler*†
- Rotor-Gene Q Software-Version 2.1 oder höher

Hinweis: Weitere Angaben zu Materialien, die für spezifische Applikationen erforderlich sind, sind ggf. den entsprechenden Applikationsblättern unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgkitce zu entnehmen.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Für in-vitro-diagnostische Anwendungen.

Sicherheitsinformationen

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Schutzhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheits-Datenblättern entnehmen (*Safety Data Sheets, SDSs*). In unserer Online-Sammlung der Sicherheits-Datenblätter unter www.qiagen.com/safety finden Sie zu jedem QIAGEN® Kit und zu jeder Kit-Komponente das jeweilige SDS als PDF-Datei, die Sie einsehen und ausdrucken können.

* Stellen Sie sicher, dass die Geräte regelmäßig und gemäß den Herstellerangaben überprüft und kalibriert werden.

† Sofern zutreffend, ein Rotor-Gene Q 5plex HRM Thermocycler mit einem Herstellungsdatum Januar 2010 oder später. Das Herstellungsdatum kann aus der Seriennummer auf der Rückseite des Geräts abgeleitet werden. Die Seriennummer hat das Format „MMJJnnn“, worin „MM“ den Monat der Herstellung (in zwei Ziffern), „JJ“ die letzten beiden Ziffern des Herstellungsjahres und „nnn“ die individuelle Gerätekennung angeben.

Sicherheitsinformationen zum verwendeten Nukleinsäure-Reinigungs-Kit finden Sie im zugehörigen Kit-Handbuch. Relevante Sicherheitsinformationen zu den Geräten können Sie dem zugehörigen Geräte-Handbuch entnehmen.

Entsorgen Sie die Proben sowie den bei Probenvorbereitung und beim Test anfallenden (Flüssig-)Abfall gemäß den geltenden Sicherheitsbestimmungen.

Klicken Sie hier, um Text einzugeben.

Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

Folgende Punkte sollten vom Anwender immer beachtet werden:

- Verwenden Sie sterile Pipettenspitzen mit Filter.
- Halten Sie alle Reaktionsgefäße/Röhrchen bei manuellen Arbeitsschritten, sofern möglich, geschlossen und vermeiden Sie Kontaminationen.
- Lassen Sie alle Komponenten vor Testbeginn vollständig bei Raumtemperatur (15–25 °C) auftauen.
- Mischen Sie die Komponenten nach dem Auftauen (jeweils durch Auf- und Abpipettieren oder kurzes Mischen auf einem Vortex-Schüttler) und zentrifugieren Sie anschließend kurz. Stellen Sie sicher, dass weder Schaum noch Blasen in den Reagenzien-Röhrchen vorhanden sind.
- Tauschen Sie keine Komponenten eines Kits gegen Komponenten aus Kits mit anderer Chargennummer aus.
- Vergewissern Sie sich, dass die erforderlichen Adapter auf 2–8 °C vorgekühlt sind.
- Arbeiten Sie zügig arbeiten und halten Sie PCR-Reagenzien vor dem Beschicken der Geräte auf Eis oder stellen Sie sie in den Kühlblock.
- Fahren Sie ohne Unterbrechung von einem Teil des Protokolls bzw. Arbeitsablaufs zum nächsten fort. Achten Sie darauf, dass die Transfer-Frist von 30 Minuten zwischen den Geräte-Modulen (QIASymphony SP zum QIASymphony AS zum Rotor-Gene Q) nicht überschritten wird.

Lagerung und Handhabung der Reagenzien

Die Komponenten des *artus* CT/NG QS-RGQ Kits sollten bei –15 °C bis –30 °C gelagert werden; sie sind bis zu dem auf der Kit-Verpackung angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. Wiederholtes Einfrieren und Wiederauftauen (mehr als 2-mal) sollte vermieden werden, da dies die Assay-Leistungsfähigkeit beeinträchtigen könnte. Falls die Reagenzien nur sporadisch verwendet werden, sollten sie in Aliquots eingefroren werden. Eine Lagerung bei 2–8 °C sollte nicht länger als 5 Stunden erfolgen. Alle Reagenzien, die in das QIASymphony Assay-Set-up-Modul geladen werden, dürfen nur in dem betreffenden Lauf verwendet

werden. Entnehmen Sie restliche Komponenten nicht, um sie für eine zweite PCR einzusetzen.

Handhabung und Lagerung der Proben

Informationen über die Handhabung und Lagerung der Proben für spezifische Applikationen finden Sie in dem entsprechenden Applikationsblatt, das unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgqkitce verfügbar ist.

Sammeln von Urinproben

Der Patient sollte 20 ml des Erststrahlurins in einem sauberen Urinproben-Becher auffangen. Überführen Sie 4 ml dieser Urinprobe mithilfe einer sterilen Einmal-Transferpipette in ein steriles eNAT™ Sammelröhrchen. Drehen Sie das Röhrchen auf den Kopf, um eine einheitliche Durchmischung sicherzustellen. Mischen Sie nicht auf einem Laborschüttler (Vortex) bzw. schütteln Sie das Röhrchen nicht heftig, um Schaumbildung zu vermeiden.

Abstrich-Probennahme

Der *artus* CT/NG QS-RGQ Kit wurde unter Verwendung von Vaginal-, Zervikal- und – bei männlichen Probanden genommenen – Urethralabstrichen, die von einem Arzt mithilfe der in Abschnitt „Vom Anwender bereitzustellende Ausrüstung und Reagenzien“ auf Seite 8 beschriebenen Abstrich-Tupfer genommen wurden, validiert.

Den Abstrich-Tupfer nach der Probennahme in ein 2-ml-eNAT-Röhrchen überführen und den Schaft an der Sollbruchstelle durchbrechen. Das Röhrchen verschließen und ggf. gemäß den Anweisungen zum Probentransport verschicken (siehe das betreffende Applikationsblatt unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgqkitce).

Weitere Hinweise zur Handhabung der Proben

Der *artus* CT/NG QS-RGQ Kit wurde für die Verwendung mit dem QIASymphony RGQ System für die automatisierte Probenvorbereitung und das automatisierte Assay-Set-up entwickelt. Die Proben können entweder in den eNAT-Primärröhrchen oder in Sekundärröhrchen verarbeitet werden. Die Abstrich-Tupfer sollten aus den eNAT-Röhrchen entnommen werden bzw. die Proben müssen in Sekundärröhrchen (2,0-ml-Röhrchen Typ I, mit Stehrand (Fa. Sarstedt, Kat.-Nr. 72.694, www.sarstedt.com)) überführt werden, bevor Sie dem QIASymphony SP-Modul zugeführt werden können.

Stellen Sie vor diesem Probentransfer in die Sekundärröhrchen sicher, dass zur Vorbereitung die Urinproben vorsichtig (durch Umdrehen) gemischt bzw. Abstrichproben gründlich auf einem Laborschüttler (Vortex) für ca. 15 Sekunden geschüttelt werden.

Verfahren

Hinweise zum Starten der QIASymphony SP/AS Geräte

Schließen Sie alle Schubladen und die Gerätehauben.

Schalten Sie die QIASymphony SP/AS Geräte ein und warten Sie, bis der "Sample Preparation"-Bildschirm (Probenverarbeitung) erscheint und die Initialisierungsprozedur abgeschlossen ist.

Melden Sie sich bei der Geräte-Software an (die Schubladen werden daraufhin entsperrt).

DNA-Isolierung aus den Bakterien

Der *artus* CT/NG QS-RGQ Kit wurde zusammen mit der Isolierung der bakteriellen DNA, die mithilfe des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kits auf dem QIASymphony SP durchgeführt wurde, validiert. Detaillierte Informationen, wie Sie die Reagenzienkartusche für diesen Schritt der DNA-Isolierung aus den Proben unter Verwendung des QIASymphony SP vorbereiten, finden Sie im zugehörigen Kit-Handbuch (*QIASymphony DSP Virus/Pathogen Handbook*).

Verwendung von interner Kontrolle und Carrier-RNA (CARRIER)

Die Verwendung des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kits in Kombination mit dem *artus* CT/NG QS-RGQ Kit erfordert das Mitführen der internen Kontrolle (CT/NG RG IC) während der Nukleinsäure-Reinigung, um die Effizienz der Probenverarbeitung und des nachfolgenden Assays zu überwachen. Darüber hinaus kann bei Verwendung der QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits das Ansetzen einer Carrier-RNA-Lösung (CARRIER) erforderlich sein. Spezifische Informationen hinsichtlich der internen Kontrolle und der Verwendung von Carrier-RNA (CARRIER) finden Sie in dem entsprechenden Applikationsblatt, das unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgqkitce verfügbar ist.

Assay-Control-Sets und Assay-Parameter-Sets

Assay-Control-Sets sind Kombinationen aus einem Protokoll und zusätzlichen Parametern, wie zum Beispiel interne Kontrolle, die bei der Nukleinsäure-Isolierung aus der Probe mithilfe des QIASymphony SP angewandt werden. Ein Standard-Assay-Kontroll-Set ist für jedes Protokoll vorinstalliert.

Assay-Parameter-Sets sind Kombinationen aus einer Assay-Definition und zusätzlichen definierten Parametern, wie z. B. der Zahl der Wiederholungen pro Probe und die Anzahl der Assay-Standards, die beim Assay-Set-up mit dem QIASymphony AS angewandt werden.

Bei einem integrierten Lauf mit der QIASymphony SP/AS Gerätekombination wird das Assay-Parameter-Set vorab direkt mit einem Assay-Control-Set verknüpft, in dem der zugehörige Nukleinsäure-Reinigungsprozess für die Probe festgelegt ist.

Protokoll: DNA-Isolierung und Assay-Set-up mit QIASymphony SP/AS

Bei dem folgenden Protokoll handelt es sich um ein allgemeines Protokoll zur Verwendung mit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits. Detaillierte Angaben für eine spezifische Applikation, einschließlich Volumina und zu verwendender Röhren, finden sich in dem entsprechenden Applikationsblatt, das unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgkitce verfügbar ist.

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Sie sollten mit der Bedienung der QIASymphony SP/AS Geräte vertraut sein. Weitere Bedienungsanweisungen finden Sie in den mit Ihren Geräten gelieferten Handbüchern und in deren aktuellsten Versionen, die online unter www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx verfügbar sind.
- Vergewissern Sie sich vor der ersten Verwendung einer Reagenzienkartusche (RC) des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kits, dass in den Puffern QSL2 und QSB1 in der Kartusche kein Präzipitat enthalten ist. Falls erforderlich, entnehmen Sie die Tröge mit den Puffern QSL2 und QSB1 aus der Reagenzienkartusche und inkubieren Sie sie unter gelegentlichem Schütteln für 30 Minuten bei 37 °C, um das Präzipitat aufzulösen. Achten Sie darauf, die Tröge anschließend wieder in die korrekten Positionen zurückzustellen. Falls die Folie der Reagenzienkartusche bereits durchstoßen ist: Stellen Sie sicher, dass die Tröge dicht mit den wiederverwendbaren Dichtungsstreifen verschlossen sind und inkubieren Sie die komplette Reagenzienkartusche unter gelegentlichem Schütteln für 30 Minuten bei 37 °C in einem Wasserbad.*
- Überprüfen Sie, dass der ATL-Puffer (ATL) kein Präzipitat enthält. Sollte sich ein Präzipitat gebildet haben, lösen Sie es durch Erwärmen des Puffers unter leichtem Schütteln bei 70 °C in einem Wasserbad.* Saugen Sie Blasen von der Oberfläche ab und lassen Sie den Puffer auf Raumtemperatur (15–25 °C) abkühlen.
- Vermeiden Sie zu kräftiges Schütteln der Reagenzienkartusche (RC); andernfalls könnte Schaum entstehen, der zu Problemen bei der Flüssigkeitsstand-Detektion führen könnte.
- Arbeiten Sie zügig arbeiten und halten Sie PCR-Reagenzien vor dem Beschicken der Geräte auf Eis oder stellen Sie sie in den Kühlblock.
- Die CT/NG-PCR-Reagenzienvolumina sind für 2 x 48 Reaktionen pro Kit und Lauf optimiert.

* Stellen Sie sicher, dass die Geräte regelmäßig und gemäß den Herstellerangaben überprüft, gewartet und kalibriert werden.

- Bei Verwendung des QIASymphony AS-Moduls müssen sowohl der CT/NG-RG-Master-Mix als auch die CT/NG-RG-Magnesium-Lösung (Mg-Sol) je nach Anzahl der anzusetzenden Reaktionen in 2-ml-Röhrchen (QIAGEN, Kat.-Nr. 997102) bzw. 5-ml-Röhrchen (QIAGEN, Kat.-Nr. 997104) bereitgestellt werden.
- Der *artus* CT/NG QS-RGQ Kit enthält jeweils vier Gefäße mit Kontrollen (à 500 µl). Dies reicht für vier separate PCR-Läufe.
- Die nach Probenverarbeitung mit dem SP-Modul erhaltenen DNA-Eluat und alle Komponenten des *artus* CT/NG QS-RGQ Kits haben sich beim Verbleib in der QIASymphony SP/AS-Gerätekombination für die Zeit, die normalerweise für die DNA-Isolierung aus 96 Proben und das Set-up von 72 Assays erforderlich ist – einschließlich der Zeit für den Transfer vom QIASymphony SP zum QIASymphony AS sowie 30 Minuten Transferzeit vom QIASymphony AS zum Rotor-Gene Q Thermocycler –, als stabil erwiesen.

Vor Beginn durchzuführende Arbeiten

- Tauen Sie vor jeder Verwendung alle benötigten Reagenzien vollständig (bei Raumtemperatur) auf, mischen Sie sie (durch mehrfaches Auf- und Abpipettieren oder kurzes Mischen auf einem Laborschüttler) und zentrifugieren Sie sie für mindestens 3 Sekunden bei 6800 x g. Vermeiden Sie Schaumbildung bei den Reagenzien.
- Setzen Sie alle erforderlichen Gemische an. Sofern erforderlich, setzen Sie Gemische aus Carrier-RNA (CARRIER) und internen Kontrollen erst unmittelbar vor Beginn der Prozedur an. Weitere Informationen finden Sie im entsprechenden Applikationsblatt unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrgqkitce.
- Bevor Sie einen integrierten Lauf starten, vergewissern Sie sich, dass alle Geräte sauber und die Austauschteile (z. B. die Tip-Guards) montiert sind, wie dies in den Wartungsvorschriften (Kapitel "Maintenance" bzw. „Wartungsarbeiten“) in den zugehörigen Handbüchern *QIASymphony SP/AS User Manual — General Description* (QIASymphony SP/AS Handbuch – Allgemeine Systembeschreibung), *QIASymphony SP/AS User Manual — Operating the QIASymphony SP* (QIASymphony SP/AS Handbuch – Bedienung des QIASymphony SP), *QIASymphony SP/AS User Manual — Operating the QIASymphony AS* (QIASymphony SP/AS Handbuch – Bedienung des QIASymphony AS) und *QIASymphony Management Console User Manual* (Management Console Handbuch) beschrieben ist. Stellen Sie sicher, dass die Wartungsarbeiten regelmäßig durchgeführt werden, um das Risiko von Kreuzkontaminationen zu minimieren.

- Vergewissern Sie sich vor Start des Protokolllaufs, dass die Magnet-Partikel vollständig resuspendiert sind. Schütteln Sie den Trog mit den Magnet-Partikeln gründlich, für mindestens 3 Minuten auf einem Vortex-Schüttler, bevor Sie ihn zum ersten Mal verwenden.
- Nehmen Sie den Deckel von dem Magnet-Partikel-Trog ab und öffnen Sie die Enzym-Röhrchen, bevor Sie die Reagenzienkartusche (RC) laden. Vergewissern Sie sich, dass das Rack mit der Enzymlösung auf Raumtemperatur (15–25 °C) äquilibriert ist.
- Stellen Sie sicher, dass die Durchstech-Platte (PL) richtig auf der Reagenzienkartusche positioniert ist und der Deckel des Magnet-Partikel-Trogs entfernt ist, oder – falls Sie eine bereits gebrauchte Reagenzienkartusche verwenden –, dass die wiederverwendbaren Dichtungstreifen entfernt sind.
- Stellen Sie mit Barcode versehene Proben so in das Proben-Rack, dass die Barcodes zum Barcode-Reader (befindet sich in der Proben-Schublade ("Sample")) auf der linken Seite des QIASymphony SP) weisen.

Durchführung

Isolierung der Bakterien-DNA mit dem QIASymphony SP

1. **Schließen Sie alle Schubladen und die Gerätehauben der QIASymphony SP/AS Geräte.**
2. **Schalten Sie die Geräte ein und warten Sie, bis der "Sample Preparation"-Bildschirm (Probenverarbeitung) erscheint und die Initialisierungsprozedur abgeschlossen ist.**

Der Netzschalter befindet sich unten links auf der Vorderseite des QIASymphony SP.

3. **Loggen Sie sich in die Geräte-Software ein.**
4. **Bereiten Sie die folgenden Schubladen vor, indem Sie sie gemäß den Angaben im entsprechenden Applikationsblatt, das unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgkitce verfügbar ist, bestücken.**
 - „Waste“-Schublade (Abfall); führen Sie einen Inventar-Scan durch, wenn sie bestückt ist.
 - „Eluate“-Schublade (Eluat); führen Sie einen Inventar-Scan durch, wenn sie bestückt ist.
 - „Reagents and Consumables“-Schublade (Reagenzien und Verbrauchsartikel); führen Sie einen Inventar-Scan durch, wenn sie bestückt ist.
 - „Sample“-Schublade (Proben).

- 5. Geben Sie im “Integrated Run”-Modus (Integrierter Lauf) über den Touchscreen des QIASymphony SP die erforderlichen Informationen zu jeder Proben-Charge ein, die verarbeitet werden soll, ein. Wählen Sie das *artus* CT/NG Assay-Parameter-Set für den Lauf und weisen Sie es – sowie die zugehörige AS-Charge – den Proben zu.**

Informationen zum Assay-Parameter-Set und dem vorausgewählten Elutionsvolumen finden Sie im entsprechenden Applikationsblatt.

Weitere Informationen zu integrierten Läufen mit den QIASymphony SP/AS Geräten finden Sie in den Geräte-Handbüchern.

Hinweis: Der QIASymphony SP/AS ermöglicht es dem Benutzer, die Anzahl der Kontrollen und Proben (d. h. der Wiederholproben) im Menü “Specifications” (Spezifikationen) festzulegen. Für das CT/NG-Protokoll ist der maximal zulässige Wert für Wiederholproben 2.

- 6. Kontrollieren Sie beim Einrichten eines integrierten Laufs die richtige Zuweisung der Proben-Verbrauchsartikel und des Probentyps (“Sample” bzw. “EC+” für die Kontrolle “CT/NG Control CT+/NG–” und “EC+” für die Kontrolle “CT/NG Control NG+/CT–”).**

Die Informationen zu den Verbrauchsartikeln und Komponenten, mit denen jede Schublade zu bestücken ist, findet sich in dem entsprechenden Applikationsblatt.

- 7. Vergewissern Sie sich, dass die interne Kontrolle (CT/NG RG IC), wie im zugehörigen Handbuch zum Nukleinsäure-Reinigungs-Kit angegeben, angesetzt und dem System zugeführt wurde.**
- 8. Wenn die Daten zu allen Chargen des integrierten Laufs eingegeben sind, klicken Sie auf die “OK”, um die “Integrated Run”-Set-up-Registerkarte zu verlassen. Im Übersichtsfenster (“Overview”) ändert sich der Status aller Chargen des integrierten Laufs von “LOADED” (ZUGEFÜHRT) zu “QUEUED” (BEREIT FÜR PROBENVERARBEITUNG). Sobald eine Proben-Charge bereit ist für die Verarbeitung (“queued”), erscheint die Schaltfläche “Run” (Ausführen). Drücken Sie auf die “Run”-Schaltfläche, um das Nukleinsäure-Reinigungsprotokoll zu starten.**

Hinweis: Vergessen Sie nicht, eine AS-Charge der/den betreffenden SP-Charge(n) zuzuweisen.

Alle Verarbeitungsschritte werden vollautomatisch durchgeführt.

Bestücken der QIASymphony AS-Schubladen für das Assay-Set-up

- 9. Sobald ein integrierter Lauf für die Abarbeitung bereit ist (Status “queued”), öffnen Sie die Schubladen des QIASymphony AS. Die erforderlichen Komponenten, die dem Gerät zuzuführen sind, werden auf dem Touchscreen angezeigt.**

- 10. Vergewissern Sie sich vor jedem integrierten Lauf, dass die folgenden Vorarbeiten durchgeführt wurden.**
 - Setzen Sie die Pipettenspitzen-Rutsche ein.
 - Verwerfen Sie den Pipettenspitzen-Abfallbeutel.
 - Installieren Sie einen leeren Pipettenspitzen-Abfallbeutel.
- 11. Definieren und laden Sie das/die Assay-Rack(s). Assay-Racks werden in vorgekühlten Adaptern auf die „Assay“-Stellplätze gestellt, um sie dem System zuzuführen. Informationen über die Assay-Racks finden Sie im entsprechenden Applikationsblatt, das unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgkitce verfügbar ist.**
- 12. Überprüfen Sie die Temperatur in den Kühlpositionen.**

Sobald die Ziel-Kühltemperaturen erreicht sind, wird das kleine Sternchen neben jedem Stellplatz grün dargestellt.
- 13. Stellen Sie das vom QIASymphony AS-Modul benötigte Volumen des CT/NG-RG-Master-Mix vor Gebrauch in einem Röhrchen bereit. Ein Röhrchen reicht für 48 Reaktionen.**

Hinweis: Viskose Reagenzien können mit manuellen Pipetten eventuell schwierig zu pipettieren sein. Vergewissern Sie sich, dass das erforderliche Volumen des Master-Mix in das betreffende Röhrchen transferiert wird.
- 14. Befüllen Sie gemäß den Beschickungsinformationen, die von der Geräte-Software angezeigt werden, jedes Reagenzien-Röhrchen mit dem erforderlichen Volumen des jeweiligen Reagenzes.**

Hinweis: Tauen Sie vor jeder Verwendung alle benötigten Reagenzien vollständig (bei Raumtemperatur) auf, mischen Sie sie (durch mehrfaches Auf- und Abpipettieren oder kurzes Mischen auf einem Laborschüttler) und zentrifugieren Sie sie für mindestens 3 Sekunden bei 6800 x g. Vermeiden Sie Blasen- oder Schaumbildung; dies könnte Fehler bei der Flüssigkeitsstand-Detektion verursachen. Arbeiten Sie zügig arbeiten und halten Sie PCR-Reagenzien vor dem Beschicken der Geräte auf Eis oder stellen Sie sie in den Kühlblock.
- 15. Bestücken Sie gemäß dem entsprechenden Applikationsblatt das Reagenzien-Rack und platzieren Sie die Reagenzien-Röhrchen ohne Deckel in die entsprechenden Positionen der vorgekühlten Reagenzien-Adapter.**
- 16. Scannen Sie den Kit-Barcode auf der Oberseite des *artus* CT/NG QS-RGQ Kits, indem Sie auf die “Scan Kit Barcode“-Schaltfläche im “Loading Reagents“-Bildschirm (Reagenzien laden) drücken.**
- 17. Bestücken Sie, gemäß den Angaben zur erforderlichen Anzahl für jeden Pipettenspitzen-Typ im entsprechenden Applikationsblatt, die „Elate and Reagents“- und die „Assays“-Schublade mit Einmal-Filterpipettenspitzen.**

Hinweis: Es wird empfohlen, für jede Spitzengröße mehr als die angeforderte Menge an Pipettenspitzen zu laden.

- 18. Schließen Sie die „Eluat und Reagenzien“- und die „Assays“-Schublade.**
- 19. Drücken Sie nach Schließen der Schubladen jeweils auf “Scan”, um den Inventar-Scan für jede Schublade zu starten.**

Beim Inventar-Scan werden die Stellplätze, Adapter, Filter-Pipettenspitzen und die Pipettenspitzen-Rutsche sowie das Bereitstellen der richtigen Volumina der spezifischen Reagenzien kontrolliert. Korrigieren Sie ggf. festgestellte Fehler.

Das Assay-Set-up startet automatisch, nachdem die Nukleinsäure-Reinigung durch den QIASymphony SP abgeschlossen ist und die Eluat-Racks zum QIASymphony AS transferiert wurden.

- 20.  Öffnen Sie nach Abschluss des Laufs die „Assays“-Schublade und entnehmen Sie das/die Assay-Rack(s). Drücken Sie anschließend auf “Scan”, um zu bestätigen, dass das Assay-Rack entnommen wurde. Drücken Sie dann im “Overview“-Bildschirm (Übersicht) des Assay-Set-up auf “Remove”, um den Assay-Set-up-Lauf endgültig zu entfernen. Übertragen Sie mithilfe der QIASymphony Management Console oder eines USB-Speichersticks die Ergebnis- und Thermocycler-Dateien.**
- 21. Falls mehrere Chargen in einem integrierten Lauf auf dem QIASymphony AS konfiguriert wurden, beschicken Sie die Schubladen des QIASymphony AS erneut, beginnend bei Schritt 9.**
- 22. Fahren Sie mit dem „Protokoll: PCR mit dem Rotor-Gene Q“ ab Seite 21 fort.**
- 23. Wenn alle integrierten Läufe beendet sind, entfernen Sie sie durch Drücken der Schaltfläche “Integrated Batch” (Integrierte Charge) im “Integrated Run/Overview“-Bildschirm.**
- 24. Führen Sie während des PCR-Laufs mit dem Rotor-Gene Q (oder später) die regelmäßige Wartung von QIASymphony SP und AS durch.**

Da dieser Arbeitsablauf im integrierten Betriebsmodus erfolgt, sind nach Ende des Arbeitsablaufs alle Geräte zu reinigen.

Befolgen Sie die Wartungsanweisungen im Handbuch *QIASymphony SP/AS User Manual — General Description* (QIASymphony SP/AS Handbuch – Allgemeine Systembeschreibung). Stellen Sie sicher, dass die Wartungsarbeiten regelmäßig durchgeführt werden, um das Risiko von Kreuzkontaminationen zu minimieren.

Protokoll: PCR mit dem Rotor-Gene Q

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Machen Sie sich vor dem Beginn des Protokolls mit dem Rotor-Gene Q Thermocycler vertraut. Lesen Sie das Geräte-Handbuch.
- Für die automatische Interpretation der PCR-Ergebnisse können Sie die Rotor-Gene AssayManager[®] Software statt der Rotor-Gene Q Software verwenden.

Durchführung

1. **Schließen Sie die PCR-Reaktionsgefäße und setzen Sie sie in den 72-Well-Rotor des Rotor-Gene Q. Vergewissern Sie sich, dass Sie die 4-Röhrchen-Streifen für den Rotor-Gene Q in der richtigen Orientierung transferieren, sodass die Positionsmarkierungen von Kühladapter und Rotor übereinstimmen. Achten Sie darauf, dass der Sicherungsring (Locking Ring; Zubehör des Rotor-Gene Thermocyclers) auf den Rotor aufgesetzt wird, um ein unbeabsichtigtes Öffnen der Reaktionsgefäße während des Laufs zu verhindern.**
2. **Laden Sie die Thermocycler-Datei vom QIASymphony AS herunter und übertragen Sie sie auf den Rotor-Gene Q Computer.**
3. **Erstellen Sie ein Temperaturprofil für den Nachweis der CT-/NG-DNA und starten Sie den Lauf gemäß den Angaben im betreffenden Applikationsblatt, das unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgqkitce verfügbar ist. Softwarespezifische Informationen zur Programmierung des Rotor-Gene Q finden Sie in dem zugehörigen Protokollblatt "Settings to run artus QS-RGQ Kits" (Einstellungen für Läufe mit QS-RGQ-Kits), das unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgqkitce zur Verfügung steht.**

Interpretation der Ergebnisse

Detaillierte Informationen zur Interpretation der Ergebnisse finden Sie im entsprechenden Applikationsblatt unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrgqkitce.

Hilfe zur Fehlerbehebung

Diese Anleitung zur Fehlerbehebung soll Ihnen eine Hilfe geben, falls einmal Probleme auftreten sollten. Weitere Informationen finden Sie auch auf der „Frequently Asked Questions“-Seite unseres Support-Centers unter: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Außerdem beantwortet das Team vom Technischen Service bei QIAGEN gerne Ihre Fragen zu den Angaben und zu den Protokollen in diesem Handbuch bzw. zu Proben- und Testtechnologien allgemein (Möglichkeiten der Kontaktaufnahme, siehe hintere Umschlagseite oder unter www.qiagen.com).

Kommentare und Vorschläge

Allgemeine Hinweise zur Handhabung

| | |
|--------------------------------------|---|
| Fehlermeldung in Touchscreen-Anzeige | Falls während eines integrierten Laufs eine Fehlermeldung angezeigt wird, lesen Sie in den entsprechenden Abschnitten der Handbücher zu Ihren Geräten nach. |
|--------------------------------------|---|

Präzipitat in Reagenzientrog einer geöffneten Kartusche des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits

- a) Verdunstung von Puffer Übermäßige Verdunstung kann zu erhöhter Salzkonzentration oder verringerten Alkoholkonzentrationen in den Puffern führen. Verwerfen Sie die Reagenzienkartusche (RC). Stellen Sie sicher, dass die Puffertröge von teilweise aufgebrauchten Reagenzienkartuschen mit wiederverwendbaren Dichtungstreifen dicht verschlossen sind, wenn sie nicht für eine Nukleinsäure-Reinigung verwendet werden.

Kommentare und Vorschläge

- b) Lagerung der Reagenzienkartusche (RC) Die Lagerung von Reagenzienkartuschen bei Temperaturen unter 15 °C kann zur Bildung eines Präzipitats führen. Falls erforderlich, entnehmen Sie die Tröge mit den Puffern QSL2 und QSB1 aus der Reagenzienkartusche (RC) und inkubieren Sie sie unter gelegentlichem Schütteln für 30 Minuten in einem Wasserbad* bei 37 °C, um das Präzipitat aufzulösen. Achten Sie darauf, die Tröge anschließend wieder in die korrekten Positionen zurückzustellen. Falls die Folie der Reagenzienkartusche bereits durchstoßen ist: Stellen Sie sicher, dass die Tröge mit wiederverwendbaren Dichtungstreifen dicht verschlossen sind und inkubieren Sie die komplette Reagenzienkartusche unter gelegentlichem Schütteln für 30 Minuten in einem Wasserbad* bei 37 °C.

Niedrige Ausbeute an Nukleinsäuren

- a) Magnet-Partikel nicht vollständig resuspendiert Vergewissern Sie sich vor Start des Protokolllaufs, dass die Magnet-Partikel vollständig resuspendiert sind. Schütteln Sie vor Gebrauch für mindestens 3 Minuten auf einem Laborschüttler (Vortex).
- b) Gefrorene Blutproben nach Auftauen nicht gründlich gemischt Tauen Sie gefrorene Proben unter leichtem Schütteln auf, sodass eine gründliche Durchmischung gewährleistet ist.
- c) Keine Carrier-RNA (CARRIER) zugegeben Rekonstituieren Sie die Carrier-RNA in einem geeigneten Volumen Puffer AVE und mischen Sie gründlich, wie im entsprechenden Applikationsblatt unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgqkitce beschrieben. Wiederholen Sie die Nukleinsäure-Reinigung mit neuen Proben.
- d) Nukleinsäuren abgebaut Die Proben waren eventuell nicht ordnungsgemäß gelagert oder wurden zu oft eingefroren und wieder aufgetaut. Wiederholen Sie die Nukleinsäure-Reinigung mit neuen Proben.

* Stellen Sie sicher, dass die Geräte regelmäßig und gemäß den Herstellerangaben überprüft, gewartet und kalibriert werden.

Kommentare und Vorschläge

- e) Unvollständige Lyse der Proben
Überprüfen Sie vor Gebrauch, dass die Puffer QSL2 und QSB1 keine Präzipitate enthalten. Falls erforderlich, entnehmen Sie die Tröge mit den Puffern QSL2 und QSB1 aus der Reagenzienkartusche (RC) und inkubieren Sie sie unter gelegentlichem Schütteln für 30 Minuten in einem Wasserbad bei 37 °C, um das Präzipitat aufzulösen. Falls die Folie der Reagenzienkartusche bereits durchstoßen ist: Stellen Sie sicher, dass die Tröge mit wiederverwendbaren Dichtungstreifen dicht verschlossen sind und inkubieren Sie die komplette Reagenzienkartusche unter gelegentlichem Schütteln für 30 Minuten in einem Wasserbad bei 37 °C.*
- f) Pipettenspitze mit unlöslichem Material verstopft
Vor Durchführung des Nukleinsäure-Reinigungsprotokolls des QIASymphony SP wurde in der Probe vorhandenes unlösliches Material nicht entfernt. Um unlösliches Material für Anwendungen mit bakterieller Nukleinsäure zu entfernen, zentrifugieren Sie die Probe für 1 Minute bei 3000 x g; überführen Sie danach den Überstand in ein neues Probenröhrchen.

* Stellen Sie sicher, dass die Geräte regelmäßig und gemäß den Herstellerangaben überprüft, gewartet und kalibriert werden.

Kommentare und Vorschläge

QIASymphony AS detektiert unzureichenden Master-Mix

Unzureichendes
Volumen Master-Mix in
Röhrchen transferiert

Vergewissern Sie sich, dass das erforderliche Volumen CT/NG-RG-Master-Mix bereitsteht. Kombinieren Sie, falls erforderlich, die Inhalte der beiden CT/NG-RG-Master-Röhrchen des Kits (der Inhalt jedes Röhrchens reicht für 45 Proben und drei Kontrollen). Viskose Reagenzien können mit manuellen Pipetten eventuell schwierig zu pipettieren sein. Vergewissern Sie sich, dass das erforderliche Volumen des Master-Mix in das Röhrchen transferiert wird.

Bei viskosen Reagenzien empfehlen wir, ein um 5 % größeres Volumen anzusaugen, wenn eine manuelle Pipette verwendet wird (stellen Sie die Pipette z. B. für ein Volumen von 800 μ l auf 840 μ l ein).

Gehen Sie beim Pipettieren alternativ wie folgt vor: Nachdem Sie die Flüssigkeit langsam dispensiert und die Pipettenspitze an der Wandung des Ziel-Röhrchens entleert haben, ziehen Sie die Spitze aus der Flüssigkeit, entlasten den Kolben der Pipette und warten für ca. weitere 10 Sekunden. Die verbliebene Restflüssigkeit wird dann in der Spitze nach unten fließen und kann durch erneutes Drücken des Pipettenkolbens nach unten vollständig entleert werden. Durch Verwendung von Filter-Pipettenspitzen für PCR-Zwecke, die als "low retention" (geringe Rückhaltung) gekennzeichnet sind, kann die Wiedergewinnung der Flüssigkeit verbessert werden.

Kein Signal bei Positivkontrollen (CT/NG) im Fluoreszenz-Kanal "Cycling Green" und/oder "Cycling Orange"

a) Wahl des Fluoreszenz-Kanals für die PCR-Datenauswertung entspricht nicht den Angaben im Protokoll

Wählen Sie für die Datenauswertung den Fluoreszenz-Kanal "Cycling Green" für die analytische CT-PCR und "Cycling Orange" für die analytische NG-PCR.

Kommentare und Vorschläge

- b) Programmierung des Temperaturprofils des Rotor-Gene Thermocyclers ist fehlerhaft Vergleichen Sie das Temperaturprofil mit den Angaben im Protokoll (siehe das entsprechende Applikationsblatt und Protokollblatt unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrgqkitce).
- c) Fehlerhaftes Ansetzen der PCR-Reaktion Vergewissern Sie sich, dass das Assay-Set-up korrekt durchgeführt und das richtige Assay-Parameter-Set verwendet wurde. Wiederholen Sie die PCR, falls erforderlich (siehe auch das entsprechende Applikationsblatt unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrgqkitce).
- d) Lagerungsbedingungen für eine oder mehrere Kit-Komponenten entsprachen nicht den Angaben im Abschnitt „Lagerung und Handhabung der Reagenzien“ (siehe Seite 10) Überprüfen Sie Lagerungsbedingungen und Haltbarkeitsdatum (siehe Kit-Etikett) der Reagenzien und verwenden Sie ggf. einen neuen Kit.
- e) Haltbarkeitsdatum des *artus* CT/NG QS-RGQ Kits ist abgelaufen Überprüfen Sie Lagerungsbedingungen und Haltbarkeitsdatum (siehe Kit-Etikett) der Reagenzien und verwenden Sie ggf. einen neuen Kit.

Schwaches oder ausbleibendes Signal der internen Kontrolle einer negativen Probe, bei der die DNA unter Verwendung des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits isoliert wurde, im Fluoreszenz-Kanal “Cycling Orange” bzw. “Cycling Green”, bei gleichzeitiger Abwesenheit eines Signals im Kanal “Cycling Yellow”

- a) PCR-Bedingungen entsprechen nicht den Angaben im Protokoll Überprüfen Sie die PCR-Bedingungen (siehe oben) und wiederholen Sie, falls erforderlich, die PCR mit korrigierten Einstellungen.
- b) PCR wurde inhibiert Stellen Sie sicher, dass die validierte Methode der DNA-Isolierung benutzt wird (siehe den Abschnitt „Protokoll: DNA-Isolierung und Assay-Set-up mit QIASymphony SP/AS“ auf Seite 15) und halten Sie sich exakt an die Anweisungen.

Kommentare und Vorschläge

- c) DNA-Verluste während der DNA-Isolierung
- Ein Ausbleiben des Signals bei der internen Kontrolle kann bedeuten, dass es während der Extraktionsprozedur zu DNA-Verlusten gekommen ist. Stellen Sie sicher, dass die validierte Methode der DNA-Isolierung benutzt wird (siehe den Abschnitt „Protokoll: DNA-Isolierung und Assay-Set-up mit QIA Symphony SP/AS“ auf Seite 15) und halten Sie sich exakt an die Anweisungen.
- Siehe auch „Niedrige Ausbeute an Nukleinsäuren“ weiter oben
- d) Lagerungsbedingungen für eine oder mehrere Kit-Komponenten entsprechen nicht den Angaben im Abschnitt „Lagerung und Handhabung der Reagenzien“ (siehe Seite 10)
- Überprüfen Sie Lagerungsbedingungen und Haltbarkeitsdatum (siehe Kit-Etikett) der Reagenzien und verwenden Sie ggf. einen neuen Kit.
- e) Haltbarkeitsdatum des *artus* CT/NG QS-RGQ Kits ist abgelaufen
- Überprüfen Sie Lagerungsbedingungen und Haltbarkeitsdatum (siehe Kit-Etikett) der Reagenzien und verwenden Sie ggf. einen neuen Kit.

Kommentare und Vorschläge

Signale bei den Negativkontrollen im Fluoreszenz-Kanal "Cycling Green" der analytischen PCR

- | | |
|---|--|
| a) Kontamination beim Ansetzen der PCR | Wiederholen Sie die PCR mit noch unbenutzten Reagenzien (Mehrfachbestimmung). Verschließen Sie die einzelnen PCR-Reaktionsgefäße nach Möglichkeit jeweils unmittelbar nach Zugabe der zu analysierenden Probe. Stellen Sie sicher, dass Arbeitsflächen und -geräte regelmäßig dekontaminiert werden. |
| b) Kontamination während der DNA-Isolierung | Wiederholen Sie die DNA-Isolierung und PCR der zu analysierenden Proben unter Verwendung noch unbenutzter Reagenzien. Stellen Sie sicher, dass Arbeitsflächen und -geräte regelmäßig dekontaminiert werden. |

Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagement-System von QIAGEN wird jede Charge des *artus* CT/NG QS-RGQ Kits nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

Beschränkungen des Tests

Alle Reagenzien dürfen ausschließlich als In-vitro-Diagnostika verwendet werden.

Das Produkt darf nur von speziell unterwiesenem Personal verwendet werden, das in der Anwendung in-vitro-diagnostischer Verfahren geschult ist.  Es ist wichtig, dass der Gerätebediener vor Benutzung des Systems die Gebrauchsanweisung gründlich durchliest. Der *artus* CT/NG QS-RGQ Kit ist für die ausschließliche Benutzung durch sachkundiges Laborpersonal, das in der Bedienung des QIAGEN QIASymphony RGQ Systems sowie in der Anwendung der Rotor-Gene AssayManager Software und des *artus* CT/NG-Systems geschult ist, vorgesehen.

Um optimale PCR-Ergebnisse zu erzielen, ist es erforderlich, dass die Gebrauchsanweisungen genau eingehalten werden.

Achten Sie auf die Haltbarkeitsdaten, die auf der Kit-Verpackung und den Etiketten der einzelnen Komponenten des Kits aufgedruckt sind. Verwenden Sie keine Kit-Komponenten, deren Haltbarkeitsdatum abgelaufen ist.

In seltenen Fällen kann es durch Mutationen innerhalb der stark konservierten Regionen des Bakteriengenoms, die von den Primern und/oder der Sonde des Kits abgedeckt werden, dazu kommen, dass das Vorhandensein der Bakterien nicht detektiert werden kann. Validität und Leistungsfähigkeit des Assay-Designs werden nach regelmäßigen Intervallen überprüft.

Alle mit dem System erhaltenen diagnostischen Ergebnisse sollten nur im Zusammenhang mit anderen klinischen und/oder labormedizinischen Untersuchungsergebnissen interpretiert werden.

Informationen über eventuelle weitere Einschränkungen finden Sie in den spezifischen Applikationsblättern, die online unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgqkitce verfügbar sind.

Hinweis auf besonderes Risiko

Im Falle einer Infektion mit *Chlamydia trachomatis* besteht nicht nur eine Gesundheitsgefahr für falsch-negativ getestete Personen, sondern auch für einen ungeborenen Fötus oder ein neugeborenes Kind, falls die getestete Frau schwanger ist.

Leistungscharakteristik

Die Leistungscharakteristik des *artus* CT/NG QS-RGQ Kits kann unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgqkitce abgerufen werden.

Literatur

1. Mims, C.A., Playfair, J.H.L., Roitt, I., Wakelin, D., and Williams, R. (1998) *Medical Microbiology*, 2nd ed. London: Mosby.
2. CDC, 2010 Sexually Transmitted Diseases Surveillance www.cdc.gov/std/stats10/gonorrhoea.htm (Zugriff: 15. April 2013)

Symbole

Folgende Symbole werden auf der Verpackung und den Etiketten verwendet:



<N>

Kit enthält Reagenzien für <N> Reaktionen



Zur Verwendung bis



In-vitro-diagnostisches Medizinprodukt

| | |
|---|--|
| REF | Katalognummer |
| LOT | Chargennummer |
| MAT | Materialnummer |
| COMP | Komponenten |
| CONT | Enthält |
| NUM | Anzahl |
| GTIN | Global Trade Item Number (Globale Artikelnummer) |
|  | Zulässiger Temperaturbereich |
|  | Hersteller |
|  | Beachten Sie die Anwendungshinweise |
|  | Achtung |

Kontaktinformationen

Technische Hinweise und zusätzliche nützliche Informationen finden Sie in unserem Technischen Support-Center unter www.qiagen.com/Support oder erhalten Sie unter der Rufnummer 00800-22-44-6000. Darüber hinaus ist Ihnen das Team vom Technischen Service gerne behilflich, falls Sie Rat oder weitere Informationen zu QIAGEN Produkten benötigen (Kontaktinformationen siehe hintere Umschlagseite oder unter www.qiagen.com).

Bestellinformationen

| Produkt | Inhalt | Kat.-Nr. |
|--|---|----------|
| <i>artus</i> CT/NG QS-RGQ Kit (2 x 48) | Für 96 Reaktionen: Master-Mix, Magnesium-Lösung, Positiv-/Negativkontrollen, interne Kontrolle, Kontrolle ohne Template (NTC) | 4569365 |
| QIASymphony RGQ System | | |
| QIASymphony RGQ, System | QIASymphony SP, QIASymphony AS, Rotor-Gene Q 5plex HRM, erforderliches Zubehör und Verbrauchsartikel, Installation und Unterweisung | 9001850 |

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Anwendungseinschränkungen finden Sie im jeweiligen QIAGEN Kit- oder Geräte-Handbuch. QIAGEN Kit- und Geräte-Handbücher stehen unter www.qiagen.com zur Verfügung oder können Sie vom QIAGEN Technischen Service oder dem für Sie zuständigen Außendienstmitarbeiter oder Distributor anfordern.

Frei bleibende Seite

Frei bleibende Seite

Der Kauf dieses Produkts berechtigt den Käufer zu dessen Nutzung in der humanen In-vitro-Diagnostik. Hiermit wird kein allgemeines Patent oder eine andere Lizenz jedweder Art als das durch den Kauf erworbene spezifische Nutzungsrecht gewährt.

Warenzeichen/Markennamen: QIAGEN®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN-Gruppe); Copan®, eNAT™ (Copan Italia SpA).

Eingeschränkte Nutzungsvereinbarung für den artus CT/NG QS-RGQ Kit

Mit der Nutzung dieses Produkts erkennen Käufer und Anwender des Produkts die folgenden Bedingungen an:

1. Das Produkt darf nur gemäß den Angaben in den Protokollen und in diesem Handbuch zu diesem Produkt und ausschließlich mit den Komponenten, die im Kit geliefert werden, verwendet werden. QIAGEN gewährt im Rahmen seiner Eigentumsrechte keinerlei Lizenz, die zu diesem Kit gehörenden Komponenten mit anderen Komponenten, die nicht zu diesem Kit gehören, zu verwenden oder zu kombinieren, mit Ausnahme der in den mitgelieferten Protokollen, in diesem Handbuch und in zusätzlichen, unter www.qiagen.com verfügbaren Protokollen beschriebenen Anwendungen. Einige dieser zusätzlichen Protokolle wurden von Anwendern von QIAGEN Produkten für andere Anwender zur Verfügung gestellt. Diese Anwender-Protokolle wurden von QIAGEN weder gründlich getestet noch optimiert. QIAGEN übernimmt für sie keinerlei Garantie; auch nicht dafür, dass dadurch die Rechte Dritter nicht verletzt werden.
2. Über die ausdrücklich erwähnten Lizenzanwendungen hinaus übernimmt QIAGEN keinerlei Garantie dafür, dass dieser Kit und/oder die mit ihm durchgeführte(n) Anwendung(en) die Rechte Dritter nicht verletzt.
3. Dieser Kit und seine Komponenten sind für die einmalige Verwendung lizenziert und dürfen nicht wiederverwendet, wiederaufgearbeitet oder weiterverkauft werden.
4. QIAGEN lehnt außer der ausdrücklich genannten Lizenzgewährung jede weitere Lizenzgewährung ab, sowohl ausdrücklich als auch konkludent.
5. Käufer und Anwender des Kits stimmen zu, keinerlei Schritte zu unternehmen oder anderen die Einleitung von Schritten zu gestatten, die zu unerlaubten Handlungen im obigen Sinne führen könnten oder solche erleichtern könnten. QIAGEN kann die Verbote dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung an jedem Ort gerichtlich geltend machen und wird sämtliche Ermittlungs- und Gerichtskosten, inklusive Anwaltsgebühren, zurückfordern, die ihr bei der Geltendmachung dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung oder irgendeines ihrer geistigen Eigentumsrechte im Zusammenhang mit dem Kit und/oder dessen Komponenten entstehen.

Aktualisierte Nutzungs- und Lizenzbedingungen können unter www.qiagen.com nachgelesen werden.

© 2013–2014 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

www.qiagen.com

Australien ■ techservice-au@qiagen.com

Belgien ■ techservice-bnl@qiagen.com

Brasilien ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

China ■ techservice-cn@qiagen.com

Dänemark ■ techservice-nordic@qiagen.com

Deutschland ■ techservice-de@qiagen.com

Finnland ■ techservice-nordic@qiagen.com

Frankreich ■ techservice-fr@qiagen.com

Hongkong ■ techservice-hk@qiagen.com

Indien ■ techservice-india@qiagen.com

Irland ■ techservice-uk@qiagen.com

Italien ■ techservice-it@qiagen.com

Japan ■ techservice-jp@qiagen.com

Kanada ■ techservice-ca@qiagen.com

Luxemburg ■ techservice-bnl@qiagen.com

Mexiko ■ techservice-mx@qiagen.com

Niederlande ■ techservice-bnl@qiagen.com

Norwegen ■ techservice-nordic@qiagen.com

Österreich ■ techservice-at@qiagen.com

Schweden ■ techservice-nordic@qiagen.com

Schweiz ■ techservice-ch@qiagen.com

Singapur ■ techservice-sg@qiagen.com

Südkorea ■ techservice-kr@qiagen.com

UK ■ techservice-uk@qiagen.com

USA ■ techservice-us@qiagen.com

