

artus[®] VanR QS-RGQ Kit Handbuch



Version 1

IVD

Qualitatives In-vitro-Diagnostikum

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



REF 4573366



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

Hergestellt von **IMD** für QIAGEN

R3 **MAT** 1075392DE



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 bahnbrechende, neue Erkenntnisse bei Ihrer Forschung zu ermöglichen. Weitere Informationen finden Sie auf der Website www.qiagen.com.

Inhaltsverzeichnis

Vorgesehener Verwendungszweck	4
Zusammenfassung und Hintergrundinformationen	4
Informationen zu den Erregern	4
Prinzip des Testverfahrens und seine Anwendung	5
Mit dem Kit gelieferte Materialien	5
Kit-Inhalt	5
Vom Anwender bereitzustellende Ausrüstung und Reagenzien	6
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	8
Sicherheitsinformationen	8
Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen	9
Lagerung und Handhabung der Reagenzien	10
Handhabung und Lagerung der Proben	10
Verfahren	12
Kontrollen	13
Vorbereitung von Carrier-RNA (CARRIER) und interner Kontrolle ("VanR Internal Control")	13
Assay-Control-Sets und Assay-Parameter-Sets	15
Protokolle	
■ DNA-Isolierung und Assay-Set-up mit QIAasympy SP/AS	16
■ PCR mit dem Rotor-Gene Q Thermocycler	31
Interpretation der Ergebnisse	35
Hilfe zur Fehlerbehebung	41
Qualitätskontrolle	47
Beschränkungen des Tests	47
Leistungscharakteristik	48
Literatur	48
Symbole	49
Kontaktinformationen	49
Bestellinformationen	51

Vorgesehener Verwendungszweck

Der *artus* VanR QS-RGQ Kit ist ein In-vitro-Test für die Verwendung mit der Gerätekombination QIA Symphony SP/AS und Rotor-Gene Q zum qualitativen direkten Nachweis der Nukleinsäuren, die für die Vancomycin-Resistenzgene *vanA* und *vanB* codieren, in humanen Perianal- oder Rektalabstrichen von Patienten mit bestehendem Risiko für eine Besiedelung mit vancomycinresistentem *Enterococcus* (VRE). Der Test basiert auf der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und ist für die direkte Verwendung mit Patientenproben vorgesehen.

Der *artus* VanR QS-RGQ Kit dient als Hilfsmittel bei der Identifikation, Prävention und Bekämpfung einer Besiedelung mit vancomycinresistenten Enterokokken. Der *artus* VanR QS-RGQ Kit ist weder für die Diagnose einer VRE-Infektion noch als Orientierungshilfe oder zur Therapieüberwachung bei einer Infektion vorgesehen. Es sind Kulturmethoden erforderlich, um die Mikroorganismen für eine epidemiologische Typisierung und für Bestätigungstests wiederzugewinnen.

Zusammenfassung und Hintergrundinformationen

Der *artus* VanR QS-RGQ Kit ist ein gebrauchsfertiges System für den Nachweis der *vanA*- und *vanB*-DNA 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.

Informationen zu den Erregern

Enterokokken sind Bakterien, die häufig im menschlichen Verdauungstrakt sowie im Genitaltrakt bei Frauen vorkommen. Diese Bakterien können leicht eine Antibiotikaresistenz erwerben und stellen daher eine Bedrohung dar für Personen nach überstandener längerem Krankenhausaufenthalt mit längerer Anwendung einer Antibiotikatherapie (1). Die Vancomycin-Resistenzgene *vanA* und *vanB* sind häufig erworbene Resistenzgene und treten am häufigsten bei Infektionen mit vancomycinresistenten Enterokokken (VREs) auf (2). Die Prävalenz der Vancomycinresistenz in klinischen Isolaten von *Enterococcus faecium* erreicht Studien zufolge in Europa bis zu 40 % (3). Die zunehmende Prävalenz kann zu einer erhöhten Einnahme von Antibiotika führen, was wiederum die Entstehung weiterer Antibiotikaresistenzen fördert. Aus diesem Grund ist es wichtig, im Rahmen von aktiven Überwachungsprogrammen frühzeitig Patienten zu identifizieren, die mit Vancomycin-Resistenzgenen kolonisiert sind, um Infektionen ordnungsgemäß zu isolieren und ihre Ausbreitung zu verhindern (3, 4).

Prinzip des Testverfahrens und seine Anwendung

Die Reagenziengemische "VanR Master A" und "VanR Master B" enthalten jeweils die erforderlichen Reagenzien und Enzyme für die spezifische Amplifikation der Targetabschnitte des *vanA*- und *vanB*-Gens, die mit vancomycin-resistenten Enterokokken assoziiert sind, sowie für den direkten Nachweis des spezifischen Amplikons in den Fluoreszenz-Kanälen "Cycling Green" und "Cycling Orange" der Rotor-Gene Q Thermocycler.

Außerdem enthält der *artus* VanR QS-RGQ Kit ein zweites heterologes Kontrollsystem, um potenzielle Fehlerquellen während des gesamten Assay-Verfahrens identifizieren zu können. Dieses wird als interne Kontrolle (IC) im Fluoreszenz-Kanal "Cycling Crimson" der Rotor-Gene Q Thermocycler detektiert.

Mit dem Kit gelieferte Materialien

Der Inhalt des *artus* VanR QS-RGQ Kits reicht für die Durchführung von 72 Tests in einer bis drei Chargen zu je 24 Reaktionen mit dem QIA Symphony RGQ. Der Rotor des Rotor-Gene Q Thermocyclers kann bis zu 72 Reaktionsgefäße aufnehmen.

Kit-Inhalt

<i>artus</i> VanR QS-RGQ Kit			(72)
Katalog-Nr.			4573366
Anzahl Reaktionen			72
Blau	VanR Master A	MASTER A	3 x 330 µl
Violett	VanR Master B	MASTER B	3 x 600 µl
Grün	VanR Internal Control (interne Kontrolle)	IC	3 x 540 µl
Rot	VanR Positive Control (Positivkontrolle)	CONTROL +	3 x 330 µl
Weiß	VanR Negative Control (Negativkontrolle)	CONTROL -	3 x 330 µl
<i>artus</i> VanR QS-RGQ Kit Handbook (Englisch)			1

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.

Verbrauchsartikel und Reagenzien für die Probennahme

- BD™ ESwab Collection Kit (Fa. Becton Dickinson, Kat.-Nr. 220245)

Adapter für den QIAasympphony SP

- Elution-Microtube-Rack QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym; Kat.-Nr. 9020730), in Kombination mit dem QIAasympphony SP/AS Transfer-Rahmen
- Röhrchen-Einsatz 3B (Tube Insert 3B, 2.0ml v2, sample carrier (24), Qsym, Kat.-Nr. 9242083)

Verbrauchsartikel und Reagenzien für den QIAasympphony SP

- QIAasympphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit (Kat.-Nr. 937036)
- Puffer ATL, 4 x 50 ml (Kat.-Nr. 939016)
- 8-Well-Probenverarbeitungs-Einsätze (Sample Prep Cartridges, 8-well; Kat.-Nr. 997002)
- 8-Magnetstab-Schutzhülsen (8-Rod Covers; Kat.-Nr. 997004)
- 1500-µl-Filter-Pipettenspitzen (Filter-Tips, 1500 µl; Kat.-Nr. 997024)
- 200-µl-Filter-Pipettenspitzen (Filter-Tips, 200 µl; Kat.-Nr. 990332)
- Elutions-Röhrchen (Elution Microtubes CL (EMTR); Kat.-Nr. 19588)
- Pipettenspitzen-Abfallbeutel (Tip Disposal Bags; Kat.-Nr. 9013395)
- 2-ml-Reaktionsgefäße Typ H, ohne Stehrand (Fa. Sarstedt, Kat.-Nr. 72.693), oder 2-ml-Reaktionsgefäße Typ I, mit Stehrand (Fa. Sarstedt, Kat.-Nr. 72.694; www.sarstedt.com), zur Verwendung für die Proben und internen Kontrollen
- 14-ml-Rundboden-Röhrchen, 17 x 100 mm, aus Polystyrol (Fa. Becton Dickinson, Kat.-Nr. 352051) zur Verwendung für interne Kontrollen

Adapter und Reagenziengefäß-Halter für den QIAsymphony AS

- Reagenziengefäß-Halter 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym; Kat.-Nr. 9018090)
- RG-Röhrchen-Streifen 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym; Kat.-Nr. 9018092)

Verbrauchsartikel für den QIAsymphony AS

- 0,1-ml-PCR-Reaktionsgefäße mit Deckel, als 4er-Röhrchen-Streifen (Strip Tubes and Caps, 0.1 ml; Kat.-Nr. 981103)
- Konische 2-ml-Röhrchen (Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS; Kat.-Nr. 997102)
- Konische 5-ml-Röhrchen (Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS; Kat.-Nr. 997104)
- 1500-µl-Filter-Pipettenspitzen (Filter-Tips, 1500 µl; Kat.-Nr. 997024)
- 200-µl-Filter-Pipettenspitzen (Filter-Tips, 200 µl; Kat.-Nr. 990332)
- 50-µl-Filter-Pipettenspitzen (Filter-Tips, 50 µl; Kat.-Nr. 997120)
- Pipettenspitzen-Abfallbeutel (Tip Disposal Bags; Kat.-Nr. 9013395)

Allgemeine Laborausrüstung und -materialien

- Pipetten (verstellbar)* und sterile Pipettenspitzen mit Filter
- Laborschüttler (Vortex)*
- Tischzentrifuge* mit Rotor für 2-ml-Reaktionsgefäße

Geräte für die Probenverarbeitung und das Assay-Set-up

- QIAsymphony SP (Kat.-Nr. 9001297),* inklusive Software in der Version 4.0 oder höher
- QIAsymphony AS (Kat.-Nr. 9001301),* inklusive Software in der Version 4.0 oder höher

Gerät für die PCR

- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Thermocycler*†

* 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 Geräteerkennung angeben.

■ Rotor-Gene AssayManager® in der Version 1.0 oder höher

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.

Sicherheitsinformationen zum QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit finden Sie in der zugehörigen Gebrauchsanweisung bzw. im Kit-Handbuch *QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit Instructions for Use (Handbook)*, das mit dem Kit geliefert wird. Relevante Sicherheitsinformationen zu den Geräten können Sie folgenden zugehörigen Geräte-Handbüchern entnehmen: *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“), *QIASymphony Management Console User Manual*, *Rotor-Gene AssayManager Core Application User Manual* („Rotor-Gene AssayManager Core Application Handbuch“), *artus Basic Plug-in User Manual* („artus Basic Plug-in User Manual Handbuch“) und dem Handbuch zum verwendeten Rotor-Gene Q Thermocycler.

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

Die folgenden Gefahren- und Sicherheitshinweise gelten für einzelne Komponenten des *artus* VanR QS-RGQ Kits zu:

artus VanR IC



Enthält: Gemisch aus 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). Achtung! Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz / Gesichtsschutz tragen.

VanR Positive Control



Enthält: Gemisch aus 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). Achtung! Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz / Gesichtsschutz tragen.

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.
- Halten Sie die allgemeingültigen Vorsichtsmaßnahmen ein. Alle Patientenproben sind als potenziell infektiös zu betrachten und mit entsprechender Vorsicht zu behandeln.
- 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 (von QIAasympphony AS zum Rotor-Gene Q) nicht überschritten wird.
- Vergewissern Sie sich, dass die regelmäßigen Wartungsarbeiten durchgeführt wurden und sämtliche Austauschteile (z. B. die Tip-Guards) wieder montiert wurden.

Lagerung und Handhabung der Reagenzien

Die Komponenten des *artus* VanR QS-RGQ Kits sollten bei –30 °C bis –10 °C gelagert werden; sie sind bei diesen Temperaturen bis zu dem auf der Kit-Verpackung angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. Wiederholtes Einfrieren und Wiederauftauen (mehr als 3-mal) sollte vermieden werden, da dies die Assay-Leistungsfähigkeit beeinträchtigen könnte. Alle Reagenzien, die in den QIASymphony AS 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 humaner Rektal- oder Perianalabstriche sind in Tabelle 1 zusammengefasst.



Alle Proben müssen als potenziell infektiöses Material gehandhabt werden.

Tabelle 1. Handhabung, Lagerung und Vorbereitung humaner rektaler oder perianaler Abstrichproben

Probennahme	Humane Rektal- oder Perianalabstriche werden mithilfe des BD ESwab Collection Kits (Fa. Becton Dickinson, Kat.-Nr. 220245) genommen und in Liquid Amies Transportmedium überführt.
Proben-transport	Bruchsicherer Transport Versand innerhalb von 24 Stunden nach Probennahme Versand als Postsendung gemäß den gesetzlichen Vorschriften für den Transport von pathogenem Material* Proben sind gekühlt zu versenden, d. h. bei 2–8 °C.
Proben-lagerung (inklusive der Zeit für den Transport)	Bei 2 °C bis 8 °C: bis zu 7 Tage Bei –10 °C bis –30 °C: bis zu 30 Tage
Proben-vorbereitung	Überführen Sie 300 µl der Flüssigkeit der Abstrichprobe, die mithilfe eines BD ESwab Collection Kits (Fa. Becton Dickinson, Kat.-Nr. 220245) entnommen und in Liquid Amies Transportmedium aufgenommen wurde, in ein Sarstedt® 2,0-ml-Röhrchen Typ H (ohne Stehrand; Kat.-Nr. 72.693) oder ein Sarstedt 2,0-ml-Röhrchen Typ I (mit Stehrand; Kat.-Nr. 72.694) und führen Sie es dem QIA-symphony SP zu.

*International Air Transport Association (IATA). Gefahrgutvorschriften (DGR).

Verfahren

Tabelle 2. Allgemeine Informationen

Kit	artus VanR QS-RGQ Kit, REF 4573366
Probenmaterial	Humane Rektal- oder Perianalabstriche
Nukleinsäure-Reinigung	QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit (Kat.-Nr. 937036)
Probenvolumen (inkl. Überschuss-Volumen)	300 µl
Assay-Parameter-Set	artus_VanR_rec-swab200_V1
Standard-Assay-Kontroll-Set	Complex200_V6_DSP_artus_VanR
Elutionsvolumen	110 µl
Erforderliche QIAasymphony Software-Version	Version 4.0 (oder höher)
Erforderliches QIAasymphony SP/AS Konfigurationsprofil	„Default Profile 1“ („Standard-Profil 1“)
Volumen Master-Mix	25 µl
Volumen Template	15 µl
Anzahl Reaktionen	24–72* (inklusive aller Kontrollen, die beim Lauf des QIAasymphony SP und QIAasymphony AS mitgeführt werden müssen)
Laufzeit QIAasymphony SP/AS	Für 24 Reaktionen: ca. 90 Minuten Für 72 Reaktionen: ca. 280 bis 290 Minuten
Laufzeit Rotor-Gene Q Thermocycler	ca. 120 Minuten

* Stellen Sie sicher, dass die maximale Zahl von 72 Reaktionsansätzen (ein Assay-Rack-Adapter) nicht überschritten wird. Vermeiden Sie verlängerte Inkubationszeiten (> 30 Minuten) zwischen dem Ende des Assay-Set-up-Laufs und dem Proben-Transfer in den Rotor-Gene Q Thermocycler.

Kontrollen

Positivkontrolle

Die Positivkontrolle "VanR Positive Control" (Bestandteil des *artus* VanR QS-RGQ Kits) dient dazu, die Effizienz der Probenverarbeitung und des daran anschließenden Assays zu überwachen. Diese Positivkontrolle wird dem QIASymphony SP vor Beginn der DNA-Isolierung zugeführt (weitere Details zum Laden der Positivkontrolle siehe Seite 22).

Negativkontrolle

Die Negativkontrolle "VanR Negative Control" (Bestandteil des *artus* VanR QS-RGQ Kits) wird dem QIASymphony SP vor Beginn der DNA-Isolierung anstelle einer Patientenprobe zugeführt und dient dazu, eine Kontamination während der Probenverarbeitung und/oder beim anschließenden Assay zu identifizieren (weitere Details zum Laden der Negativkontrolle siehe Seite 22).

Vorbereitung von Carrier-RNA (CARRIER) und interner Kontrolle ("VanR Internal Control")

Bei Verwendung der QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits in Kombination mit dem *artus* VanR QS-RGQ Kit ist die Mitführung der internen Kontrolle ("VanR Internal Control") während der Nukleinsäure-Isolierung erforderlich. Sie besteht aus inaktivierten, intakten Bakterien der Spezies *Geobacillus stearothermophilus* und dient dazu, die Effizienz der Probenverarbeitung und des anschließenden Assays zu überwachen.

Die mit dem *artus* VanR QS-RGQ Kit gelieferte interne Kontrolle ("VanR Internal Control") muss zusammen mit dem Gemisch aus Carrier-RNA (CARRIER) und AVE-Puffer (AVE) zugegeben werden. Das Gesamtvolumen des Gemischs aus interner Kontrolle und Carrier-RNA (CARRIER) in AVE-Puffer (AVE) beträgt 120 µl pro Probe.

Zum Ansetzen des Carrier-RNA-AVE-Puffer-Gemischs resuspendieren Sie die lyophilisierte Carrier-RNA in 1350 µl AVE-Puffer, der mit dem QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit geliefert wird. Mischen Sie durch mehrmaliges Umdrehen des Röhrchens.

Für die Berechnung der internen Kontrolle (IC) sollte der "IC Calculator" in der QIASymphony Management Console (QMC) verwendet werden.

Die folgende Tabelle 3 gilt für die Zugabe der internen Kontrolle zur Probe im Verhältnis von 0,1 µl pro 1 µl Elutionsvolumen. Wir empfehlen, für jeden Lauf das Gemisch frisch, unmittelbar vor Gebrauch anzusetzen.

Tabelle 3. Ansetzen des Gemischs aus Carrier-RNA (CARRIER) und interner Kontrolle ("VanR Internal Control")

Komponente	n = Anzahl Proben und Kontrollen	
	n ≤ 13 Volumen (µl) (Sarstedt Röhrchen)*	n ≥ 13 Volumen (µl) (BD Röhrchen)†
Carrier-RNA-Stammlösung (CARRIER)	$(n + 3) \times 3$	$(n + 5) \times 3$
Interne Kontrolle ("VanR Internal Control")	$(n + 3) \times 14$	$(n + 5) \times 14$
Puffer AVE (AVE)	$(n + 3) \times 103$	$(n + 5) \times 103$
Endvolumen pro Probe (ohne Totvolumen)	120	120
Gesamtvolumen für n Proben	$(n + 3) \times 120$	$(n + 5) \times 120$

* 2,0-ml-Röhrchen Typ H oder 2,0-ml-Röhrchen Typ I (Fa. Sarstedt, Kat.-Nr. 72.693 bzw. 72.694). Falls die interne Kontrolle als Stammlösung in einem größeren Röhrchen angesetzt wird, multiplizieren Sie das Gesamtvolumen jeder Komponente mit der Anzahl der verwendeten Röhrchen der internen Kontrolle. Das erforderliche Volumen des Gemischs der internen Kontrolle entspricht drei zusätzlichen Proben (d. h. 360 µl). Füllen Sie nicht mehr als 1,92 ml Gesamtvolumen ein (entsprechend einer maximalen Anzahl von 13 Proben).

Falls mehr als 13 Reaktionsansätze in 2,0-ml-Röhrchen verarbeitet werden sollen, dann setzen Sie sie in größeren Röhrchen an und führen Sie dementsprechend mehrere Röhrchen zu. Stellen Sie sicher, dass für jedes Röhrchen das erforderliche Überschuss-Volumen von drei zusätzlichen Reaktionen zugegeben wird.

† 14-ml-Rundboden-Röhrchen, 17 x 100 mm, aus Polystyrol (Fa. Becton Dickinson, Kat.-Nr. 352051). Das erforderliche Volumen des Gemischs der internen Kontrolle entspricht fünf zusätzlichen Proben (d. h. 600 µl).

Berechnung des Gemischs mit dem "IC Calculator"

1. Öffnen Sie die QIAasympyphony Management Console (QMC).
2. Wählen Sie das "IC Calculator"-Symbol („IC-Kalkulator“).
3. Wählen Sie die Option "Complex200_V6_DSP_artus_VanR" aus dem ACS-Drop-down-Menü.
4. Geben Sie die erforderliche Anzahl an Proben ein.
5. Wählen Sie den Röhrchentyp, der für die interne Kontrolle verwendet wird.
6. Wählen Sie ein Elutionsvolumen von 110 µl.

7. Wählen Sie die Option "Internal Control/Eluat" („Interne Kontrolle / Eluat") und „0,1 µl" für den Modus „interne Kontrolle".
8. Drücken Sie auf "Calculate", um die Berechnung des Interne-Kontrolle-Gemischs zu starten.

Der IC-Kalkulator zeigt auf der rechten Bildschirmseite die verschiedenen Volumina der zu mischenden Reagenzien sowie den zu verwendenden Röhrchentyp an.

Assay-Control-Sets und Assay-Parameter-Sets

Assay-Control-Sets sind Kombinationen aus einem Protokoll und zusätzlichen Parametern, wie zum Beispiel interne Kontrolle, die für die 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 dem integrierten Lauf mit der QIASymphony SP/AS Gerätekombination wird das Assay-Parameter-Set „artus_VanR_rec-swab200_V1" vorab direkt mit dem Assay-Control-Set „Complex200_V6_DSP_artus_VanR", in dem der zugehörige Nukleinsäure-Reinigungsprozess für die Probe festgelegt ist, verknüpft.

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

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.
- Laden Sie das Applikationspaket ("Application Package") von der Web-Katalogseite des *artus* VanR QS-RGQ Kits (www.qiagen.com/p/artus-VanR-QS-RGQ-Kit-CE) herunter; dort finden Sie es auf der "Resources"-Registerkarte unter "Protocol Files" („Protokolldateien“).
- Vergewissern Sie sich vor der ersten Verwendung einer Reagenzienkartusche (RC), dass in den Puffern QSL2 und QSB1 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 Dichtungstreifen verschlossen sind und inkubieren Sie die komplette Reagenzienkartusche unter gelegentlichem Schütteln für 30 Minuten bei 37 °C in einem Wasserbad.* Lassen Sie die Reagenzien anschließend auf Raumtemperatur (15–25 °C) abkühlen.
- 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 und halten Sie PCR-Reagenzien vor dem Beschicken der Geräte auf Eis oder stellen Sie sie in den Kühlblock.
- Die Reagenzienvolumina sind für drei Chargen zu je 24 Reaktionen pro Kit und Lauf optimiert.

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

- Stellen Sie sicher, dass die nach Probenverarbeitung erhaltenen DNA-Eluat und alle Komponenten des *artus* VanR QS-RGQ Kits nicht länger als die Zeit, die normalerweise für die DNA-Isolierung und das Set-up von 72 Assays erforderlich ist – einschließlich der 30 Minuten Transferzeit vom QIAasymphony AS zum Rotor-Gene Q Thermocycler –, in der SP/AS-Gerätekombination verbleiben.

Vor Beginn durchzuführende Arbeiten

- Tauen Sie vor jedem Gebrauch alle Reagenzien des *artus* VanR QS-RGQ Kits vollständig auf, mischen Sie sie (durch mehrfaches Auf- und Abpipetieren oder kurzes Schütteln auf einem Vortex-Laborschüttler) und zentrifugieren Sie sie für mindestens 3 Sekunden. Vermeiden Sie Blasen- oder Schaumbildung bei den Reagenzien.
- Setzen Sie alle erforderlichen Gemische an. Sofern erforderlich, setzen Sie Gemische mit Carrier-RNA (CARRIER) und internen Kontrollen erst unmittelbar vor Beginn der Prozedur an. Weitere Informationen finden Sie im Abschnitt „Vorbereitung von Carrier-RNA (CARRIER) und interner Kontrolle (‘VanR Internal Control’)“ auf Seite 13.
- 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 *QIAasymphony SP/AS User Manual – General Description* („QIAasymphony SP/AS Handbuch – Allgemeine Systembeschreibung“), *QIAasymphony SP/AS User Manual – Operating the QIAasymphony SP* („QIAasymphony SP/AS Handbuch – Bedienung des QIAasymphony SP“), *QIAasymphony SP/AS User Manual – Operating the QIAasymphony AS* („QIAasymphony SP/AS Handbuch – Bedienung des QIAasymphony AS“) und *QIAasymphony Management Console User Manual* beschrieben ist. Stellen Sie sicher, dass die Wartungsarbeiten regelmäßig durchgeführt werden, um das Risiko von Kreuzkontaminationen zu minimieren.
- Stellen Sie sicher, dass das QIAasymphony Prozessprofil ‘Default Profile 1’ („Standard-Profil 1“) aktiviert ist. Das gewählte Profil wird unten rechts im Touchscreen angezeigt. Das Profil kann von einem als ‘Supervisor’ angemeldeten Benutzer in dem ‘Configuration’-Menü der ‘Tools’-Registerkarte geändert werden.

Durchführung

1. **Schließen Sie alle Schubladen und die Gerätehauben des QIAsymphony SP/AS.**
2. **Schalten Sie das Gerät 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 der Geräte-Software ein.**
4. **Bestücken Sie die „Waste“-Schublade des QIAsymphony SP.**

- Öffnen Sie die „Waste“-Schublade.
- Entleeren Sie den Flüssigabfall-Behälter und setzen Sie ihn wieder ein. Achten Sie darauf, den Deckel abzunehmen, bevor Sie den Flüssigabfall-Behälter in die Schublade stellen.
- Setzen Sie die Pipettenspitzen-Rutsche ein.

Hinweis: Je nachdem, ob der QIAsymphony SP/AS auf einem Labortisch oder in Kombination mit dem QIAsymphony Cabinet SP/AS betrieben wird, sind unterschiedliche Pipettenspitzen-Rutschen zu verwenden.

- Setzen Sie die Pipettenspitzen-Parkstation ein.
- Setzen Sie leere Verbrauchsartikel-Container ("Unit Boxes") ein (siehe Tab. 4 und Abb. 1). Stellen Sie sicher, dass sich in Stellplatz 4 (am nächsten zur Geräte-Vorderseite) ein leerer Container befindet.
- Installieren Sie einen leeren Pipettenspitzen-Abfallbeutel (unter der „Waste“-Schublade bzw. im Abfallbehälter bei Verwendung des QIAsymphony Cabinet SP/AS).
- Schließen Sie die „Waste“-Schublade und führen Sie einen Inventar-Scan durch.

Tabelle 4. Benötigte Kunststoff-Verbrauchsartikel für 1–3 Proben-Chargen

	Eine Charge, 24 Proben	Zwei Chargen, 48 Proben	Drei Chargen, 72 Proben
Leere Verbrauchs- artikel-Container	2	3	4



Abbildung 1. Position der Verbrauchsartikel-Container („Unit Boxes“).

5. Bestücken Sie die „Eluat“-Schublade.

- Setzen Sie den passenden Adapter (Elution Microtubes Rack QS) auf den Transfer-Rahmen.
- Öffnen Sie die „Eluat“-Schublade.
- Platzieren Sie Transfer-Rahmen mit Adapter auf den Stellplatz 1 der „Eluat“-Schublade.
- Wählen Sie „Elution Slot 1“ („Elutions-Stellplatz 1“) auf dem Touchscreen.
- Entfernen Sie das Unterteil des Elution-Microtubes-CL-Racks, indem Sie das Rack drehen, bis das Unterteil herauskommt.
- Lesen Sie den Barcode auf dem Elutions-Röhrchen-Rack mithilfe des Barcode-Handscanners ein.
- Setzen Sie das Rack in den Adapter auf Elutions-Stellplatz 1 („Elution Slot 1“).
- Nehmen Sie den Deckel von dem Elutions-Röhrchen-Rack ab.
- Schließen Sie die „Eluat“-Schublade.
- Drücken Sie auf „OK“.
- Warten Sie, bis der (Inventar-)Scan beendet ist.

6. Bestücken Sie die „Reagenzien und Verbrauchsartikel“-Schublade (siehe Abb. 2).

- Öffnen Sie die „Reagenzien und Verbrauchsartikel“-Schublade.
- Vergewissern Sie sich vor dem ersten Gebrauch einer Reagenzienkartusche (RC), dass in den Puffern QSL2 und QSB1 kein Präzipitat enthalten ist. Falls die Puffer QSL2 und QSB1 ein Präzipitat enthalten, befolgen Sie die Anweisungen auf Seite 16.

Hinweis: Vermeiden Sie zu kräftiges Schütteln der Reagenzienkartusche (RC); andernfalls könnte Schaum entstehen, der zu Problemen bei der Flüssigkeitsstand-Detektion führen könnte.

- Stellen Sie die Kartusche in den grauen Reagenzienkartuschen-Halter.
- Stellen Sie sicher, dass die Magnet-Partikel vollständig resuspendiert sind. Schütteln Sie den Trog mit den Magnet-Partikeln vor Gebrauch gründlich, für mindestens 3 Minuten auf einem Vortex-Schüttler. Setzen Sie den Trog mit den Magnet-Partikeln wieder zurück in die Reagenzienkartusche (RC).
- Nehmen Sie den Deckel von dem Magnet-Partikel-Trog ab, bevor Sie die Reagenzienkartusche (RC) laden.
- Öffnen Sie die Enzym-Röhrchen. Legen Sie die Deckel der Enzym-Röhrchen auf den Ablageflächen auf dem grauen Reagenzienkartuschen-Halter ab.

Hinweis: Falls die Enzym-Röhrchen Luftblasen enthalten, saugen Sie die Blasen von der Oberfläche ab.

- Stellen Sie das Enzym-Rack (ER) auf die Reagenzienkartusche (RC).
- Setzen Sie dann die Durchstech-Platte (PL) auf die Reagenzienkartusche, sodass sie einrastet (Klickgeräusch).
- Stellen Sie die vorbereitete(n) Reagenzienkartusche(n) (RC) auf Position RC 1 und/oder RC 2. Eine neue Reagenzienkartusche (RC) enthält Reagenzien für die Verarbeitung von bis zu 96 Proben.
- Drücken Sie auf die „R+C“-Schaltfläche auf dem Touchscreen.
- Drücken Sie auf die Schaltfläche „Bottle ID“ („Flaschen-Kennung“).
- Drücken Sie auf das Textfeld und scannen Sie den Barcode der ATL-Pufferflasche (ATL) mithilfe des Barcode-Handscanners ein.

- Drücken Sie in dem Verbrauchsartikel-Bildschirm ("Consumables") auf "OK".
- Schließen Sie die „Reagenzien und Verbrauchsartikel“-Schublade und führen Sie einen Inventar-Scan durch.

Tabelle 5. Benötigte Kunststoff-Verbrauchsartikel für 1–3 Proben-Chargen

	Eine Charge, 24 Proben*	Zwei Chargen, 48 Proben*	Drei Chargen, 72 Proben*
Einmal-Filter- pipettenspitzen, 200 µl^{†‡}	34 (1 Rack)	60 (2 Racks)	86 (3 Racks)
Einmal-Filter- pipettenspitzen, 1500 µl^{†‡}	123 (4 Racks)	205 (7 Racks)	295 (10 Racks)
Probenverarbei- tungs-Einsätze	18	36	54
8-Magnetstab- Schutzhülsen	3	6	9

*Bei Durchführung von mehr als einem Inventar-Scan werden zusätzliche Einmal-Filterpipettenspitzen benötigt.

† Ein Tip-Rack enthält 32 Filter-Pipettenspitzen, und ein Verbrauchsartikel-Container ("Unit Box") enthält 28 Probenverarbeitungs-Einsätze bzw. 8-Magnetstab-Schutzhülsen.

‡ Bei der Anzahl der benötigten Filter-Pipettenspitzen sind die Spitzen für einen Inventar-Scan pro Reagenzienkartusche berücksichtigt.

7. Bestücken Sie die „Proben“-Schublade (bzw. das Röhrchen-Gestell) mit den Positiv- und Negativkontrollen.

- Stellen Sie das Röhrchen mit der Positivkontrolle "VanR Positive Control" (im *artus* VanR QS-RGQ Kit geliefert) in Position 1 des ersten Proben-Racks (verwenden Sie Röhrchen-Einsatz 3B bei einem 2-ml-Röhrchen).
- Stellen Sie das Röhrchen mit der Negativkontrolle "VanR Negative Control" (im *artus* VanR QS-RGQ Kit geliefert) in Position 2 des ersten Proben-Racks (verwenden Sie Röhrchen-Einsatz 3B bei einem 2-ml-Röhrchen).

Hinweis: Vergewissern Sie sich, dass sich die Positiv- und Negativkontrolle in der richtigen Position befinden. Der Rotor-Gene AssayManager führt keinen Import der (AS-)Ergebnisdatei durch, wenn die Positiv- und Negativ-

kontrolle sich in einer anderen Position befinden. Stellen Sie die Kontrollen nicht in weitere Gestelle für dieselbe AS-Charge.

8. Bestücken Sie die „Proben“-Schublade (das Röhrchen-Gestell) mit den Proben.

- Laden Sie die vorbereiteten Proben (siehe Seite 11) in 2-ml-Röhrchen in das Probenröhrchen-Gestell, das bereits die Kontrollen enthält (verwenden Sie Röhrchen-Einsatz 3B für die 2-ml-Röhrchen).
- Falls erforderlich, bereiten Sie auf diese Weise weitere Probenröhrchen-Gestelle vor, jedoch ohne die Kontrollen.

Hinweis: Falls die Proben mit Barcodes versehen sind, stellen Sie die Proben so in das Gestell, dass die Barcodes vollständig sichtbar sind und gelesen werden können.

- Kontrollieren Sie, dass die Röhrchen mit den Proben und Kontrollen korrekt geladen und in ihrer Position eingerastet sind (Klickgeräusch).
- Schieben Sie die Proben-Gestelle in die Stellplätze 1 bis 4 der „Proben“-Schublade. Bei korrekter Zufuhr leuchtet die Leuchtdiode orange.

9. Geben Sie im “Integrated Run“-Modus („Integrierter Lauf“) über den Touchscreen des QIAasympy SP die erforderlichen Informationen zu jeder Proben-Charge ein, die verarbeitet werden soll.

- Drücken Sie auf dem Touchscreen auf die “Integrated Run“-Registerkarte.
- Drücken Sie auf “Define Run” („Lauf definieren“).
- Wählen Sie “SP Batch 1” („SP-Charge 1“); bzw. die entsprechende Chargen-Nummer des Proben-Gestells, zusammen mit “Full Process Controls” („Vollständige Prozesskontrollen“) bei kontinuierlicher Probenzufuhr).
- Drücken Sie auf “Edit Samples” („Proben bearbeiten“).
- Vergewissern Sie sich, dass die korrekten Verbrauchsmaterialien den Proben zugewiesen sind. Falls erforderlich, korrigieren Sie die Zuweisung der Verbrauchsmaterialien.
- Drücken Sie auf “ID/Type” („Kennung/Typ“).
- Markieren Sie die erste Position und drücken Sie dann auf “Sample ID” („Probenkennung“).
- Drücken Sie auf das Textfeld und geben Sie die Positivkontrolle “VanR Positive Control” ein; drücken Sie anschließend auf “OK”.
- Markieren Sie die erste Position und drücken Sie auf “EC+” (positive Extraktionskontrolle).

- Markieren Sie die zweite Position und drücken Sie dann auf "Sample ID" („Probenkennung“).
- Drücken Sie auf das Textfeld und geben Sie die Negativkontrolle "VanR Negative Control" ein; drücken Sie anschließend auf "OK".
- Markieren Sie die zweite Position und drücken Sie auf "EC–" (negative Extraktionskontrolle).
- Berichtigen Sie, falls erforderlich, Barcode-Fehler bei den Kennungen (IDs) der Proben und Einsätze.
- Drücken Sie auf "OK".

Hinweis: Weisen Sie den Probentyp "EC+" oder "EC–" nicht anderen Röhrchen als der Positiv- bzw. Negativkontrolle zu, die beide mit dem *artus* VanR QS-RGQ Kit geliefert werden. Die Rotor-Gene AssayManager Software wird Läufe mit falschen Zuweisungen der Kontrollen als „ungültig“ ("invalid") kennzeichnen. Für den Fall, dass Sie zusammen mit den zu testenden Proben zusätzliche Proben verarbeiten, die in früheren Läufen bereits analysiert wurden, achten Sie darauf, diesen Proben den Probentyp "sample" („Probe“) zuzuweisen.

10. Definieren Sie den/die durchzuführenden Assay(s).

- Drücken Sie auf die entsprechende "SP Batch"-Schaltfläche der jeweiligen SP-Charge.
- Drücken Sie auf "Define assays" („Assays definieren“).
- Wählen Sie die Proben, die bei dem Assay verarbeitet werden sollen.
- Wählen Sie unter der Kategorie "artus QS-RGQ" den Assay "artus_VanR rec-swab200_V1" aus.
- Drücken Sie auf "OK".
- Wiederholen Sie Schritt 10 für alle zu verarbeitenden Chargen und Proben.

11. Definieren Sie die QIAasympphony AS-Charge.

- Wählen Sie alle Chargen, die in einem integrierten Lauf mit dem QIAasympphony RGQ verarbeitet werden sollen.
- Drücken Sie auf "Create AS batch" („AS-Charge erstellen“).

Hinweis: Alle QIAasympphony SP-Chargen, die derselben QIAasympphony AS-Charge zugewiesen sind (im integrierten Laufmodus des QIAasympphony RGQ) werden in demselben Assay-Set-up-Lauf verarbeitet.

- Drücken Sie auf "OK", um den Lauf in die Warteschlange aufzunehmen.

12. Bestücken Sie die „Proben“-Schublade mit dem Interne-Kontrolle-Gemisch.

- Stellen Sie das/die Röhrchen mit dem zuvor angesetzten Interne-Kontrolle-Gemisch (siehe Seite 13) in das Proben-Rack (verwenden Sie Röhrchen-Einsatz 3B für 2-ml-Röhrchen).
- Schieben Sie das Proben-Rack in Stellplatz A der „Proben“-Schublade („Sample“; „S“).

13. Definieren Sie die Positionen der internen Kontrolle.

- Drücken Sie auf die Schaltfläche „Define ICs“ („Interne Kontrollen definieren“).
- Markieren Sie die Positionen für das Interne-Kontrolle-Gemisch.
- Wählen Sie aus dem Ordner „Required“ („Erforderlich“) die zugehörige interne Kontrolle „Complex200_V6_DSP_artus_VanR“.
- Kontrollieren Sie, dass die richtigen Verbrauchsmaterialien zugewiesen sind. Ist dies nicht der Fall, berichtigen Sie die Zuweisung der Verbrauchsmaterialien nach Drücken der Schaltfläche „IC Tubes“ („Interne-Kontrolle-Röhrchen“).
- Drücken Sie auf „OK“.

14. Starten Sie den Lauf.

- Drücken Sie auf die „Run“-Schaltfläche, um den Lauf zu starten.
- Lesen und bestätigen Sie die angezeigte Meldung.
- Wir empfehlen, solange beim Gerät zu bleiben, bis es die Flüssigkeitsstand-Detektion bei den Interne-Kontrolle-Röhrchen durchgeführt hat (der Status der QIASymphony SP-Gestelle ändert sich zu „running“ („Abarbeitung läuft“)).

Hinweis: Unterbrechen oder beenden Sie den Lauf während der Probenverarbeitung (außer im Notfall) nicht; andernfalls werden die betreffenden Proben und Assay-Reaktionen als „unclear“ („unklar“) gekennzeichnet. Der Rotor-Gene AssayManager bewertet „unklare“ Assay-Reaktionen als „invalid“ („ungültig“).

Hinweis: Sie können Proben kontinuierlich zuführen und sie zum aktuellen Lauf (bis die Reagenzien zugeführt werden) oder einem neuen QIASymphony RGQ Lauf hinzufügen.

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

15. Installieren Sie einen leeren Pipettenspitzen-Abfallbeutel und die Pipettenspitzen-Rutschen.

- Installieren Sie einen leeren Pipettenspitzen-Abfallbeutel unter der „Waste“-Schublade bzw. im Abfallbehälter bei Verwendung des QIASymphony Cabinet SP/AS.
- Öffnen Sie die „Eluat und Reagenzien“- und die „Assays“-Schublade.
- Öffnen Sie die Haube und setzen Sie die Pipettenspitzen-Rutsche in das Gerät ein.

Hinweis: Je nachdem, ob der QIASymphony SP/AS auf einem Labortisch oder in Kombination mit dem QIASymphony Cabinet SP/AS betrieben wird, sind unterschiedliche Pipettenspitzen-Rutschen zu verwenden.

- Schließen Sie die Gerätehaube, und lesen und bestätigen Sie die angezeigte Meldung.

16. Bestücken Sie die „Assays“-Schublade mit dem Assay-Rack.

- Drücken Sie auf die Schaltfläche des Stellplatzes 5 „Assay“ (gelb).
- Füllen Sie die erforderliche Anzahl an Röhrchen-Streifen (4 Röhrchen = 1 Segment), wie auf dem Touchscreen angezeigt, in einen vorgekühlten Kühladapter („Rotor-Gene Strip Tubes 72 QS Cooling Adapter“).

Hinweis: Laden Sie immer vollständige Röhrchen-Streifen. Trennen Sie nicht einzelne oder mehrere Röhrchen vom Streifen ab.

- Schieben Sie den Adapter mit den Röhrchen-Streifen auf Stellplatz 5 der „Assays“-Schublade.
- Drücken Sie auf „Rack ID“ auf dem Touchscreen, geben Sie eine benutzerdefinierte Rack-Kennung ein und drücken Sie dann auf „OK“.

Hinweis: Sie können auch die automatische ID-Funktion verwenden.

- Drücken Sie auf „Load“ („Laden“).

17. Bestücken Sie die „Assays“-Schublade mit Filter-Pipettenspitzen.

- Laden Sie jeweils mindestens die Anzahl an Filter-Pipettenspitzen, die im Bildschirm „Assay Setup | Loading Information“ („Assay-Set-up | Beschickungsinformationen“) angezeigt wird.

Hinweis: Beginnen Sie das Bestücken mit Tip-Racks von den hinteren Positionen (nahe an den Kühladaptern). In seltenen Fällen ist der Pipettierkopf eventuell nicht in der Lage, einige Positionen in Richtung auf die Haube zu erreichen, was eine automatische Laufunterbrechung verursachen könnte. Wir empfehlen, für jede Größe mehr als die erforderliche Anzahl an Filter-

Pipettenspitzen zu laden, damit genügend Pipettenspitzen für eine ggf. durchzuführende automatisierte Fehlerbehebung zur Verfügung stehen.

18. Bestücken Sie die „Eluat und Reagenzien“-Schublade mit Reagenzien.

- Vor jedem Gebrauch müssen alle Assay-Reagenzien jeweils vollständig aufgetaut, gemischt und für mindestens 3 Sekunden zentrifugiert werden. Vermeiden Sie Blasen- oder Schaumbildung bei den Reagenzien (Hinweise zur Vorgehensweise finden Sie im Abschnitt „Wichtige Hinweise vor Beginn“ auf Seite 16).
- Drücken Sie auf die gelbe Stellplatz-3-Schaltfläche mit der Bezeichnung „Reagent“ („Reagenz“) auf dem Touchscreen.
- Bereiten Sie einen vorgekühlten Reagenziengefäß-Halter vor, wie auf dem Touchscreen angegeben.
- Markieren Sie die Röhrchenpositionen auf dem Touchscreen, stellen Sie ein leeres Röhrchen für den Master-Mix in den Halter und füllen Sie mindestens das erforderliche Volumen der richtigen Reagenzien in die vorgesehenen Röhrchen in den entsprechenden Positionen, so wie auf dem Touchscreen angezeigt.

Hinweis: Eventuell kann es notwendig sein, ein Reagenz desselben Typs („VanR Master A“ oder „VanR Master B“) kombiniert in ein Röhrchen zu geben, falls das erforderliche Volumen das Füllvolumen der entsprechenden Reagenzien übersteigt. Ein Röhrchen „VanR Master A“ bzw. „VanR Master B“ reicht jeweils für 24 QIAasympphony SP-Eluate (inklusive Kontrollen).

Hinweis: Viskose Reagenzien können mit manuellen Pipetten eventuell schwierig zu pipettieren sein. Stellen Sie sicher, dass jeweils das gesamte Volumen „VanR Master A“ bzw. „VanR Master B“ in die entsprechenden Röhrchen überführt wird.

Hinweis: Wählen Sie alternativ die Option „List View“ („Listen-Ansicht“) auf dem Touchscreen und bereiten Sie den Reagenzien-Adapter wie angegeben vor. Sie können über die QMC oder den USB-Anschluss auch eine „Loading Information File“ („Datei mit Beschickungsinformationen“) herunterladen (und ausdrucken), nachdem die QIAasympphony AS-Charge definiert ist und in die Warteschlange überführt wurde.

- Drücken Sie die „Scan Kit Barcode“-Schaltfläche („Kit-Barcode scannen“) auf dem Touchscreen und dann auf die hellblaue Kit-Barcode-Zeile.
- Drücken Sie auf das Textfeld und scannen Sie den Kit-Barcode auf der Oberseite des *artus* VanR QS-RGQ Kits mithilfe des Barcode-Handscanners ein.

- Schieben Sie den Reagenzien-Adapter auf Stellplatz 3 in die „Eluat und Reagenzien“-Schublade.
- Drücken Sie auf die „Load“-Schaltfläche („Laden“).
- Schließen Sie beide Schubladen.
- Drücken Sie auf „Scan“, um das Scan-Dialogfenster zu öffnen.
- Drücken Sie auf „Scan“, um einen Inventar-Scan aller Komponenten des QIASymphony AS durchzuführen.

Hinweis: Wir empfehlen, beim Gerät zu warten, bis der Scan abgeschlossen ist.

- Das Ansetzen der Assay-Reaktionen (das Assay-Set-up) startet automatisch, nachdem die Probenverarbeitung im QIASymphony SP beendet ist.

19. Kontrollieren Sie die Endzeit der QIASymphony AS-Charge, zu der das Assay-Rack entnommen werden kann.

- Nach Abschluss des Inventar-Scans durch den QIASymphony AS wird die berechnete Laufzeit des integrierten Laufs in dem Bildschirm „Integrated Run Overview“ („Integrierter Lauf / Übersicht“) angezeigt. Die maximal zulässige Zeitspanne ab dem Ende des QIASymphony AS-Laufs bis zum Beginn der PCR mit dem Rotor-Gene Q Thermocycler beträgt 30 Minuten. Stellen Sie sicher, dass das Assay-Rack innerhalb dieser 30 Minuten nach Ende des Assay-Set-up-Laufs in den Rotor-Gene Q Thermocycler überführt wird.

Entnahme des Assay-Racks und Übertragung der (AS-)Ergebnisdatei

20. Entnehmen Sie die QIASymphony AS-Charge und das Assay-Rack.

- Öffnen Sie die „Assays“- und die „Eluat und Reagenzien“-Schublade.
- Entnehmen Sie den Adapter mit den Röhrchen-Streifen und verschließen Sie die Röhrchen mit den zugehörigen Deckeln.
- Drücken Sie auf die Schaltfläche des Stellplatzes 5 – „Assay“.
- Drücken Sie auf die „Remove“-Schaltfläche.
- Entnehmen Sie den Reagenzien-Adapter und werfen Sie die Reagenzien unter Beachtung der einzuhaltenden Sicherheitsbestimmungen.
- Drücken Sie auf die Stellplatz-3-Schaltfläche „Reagents“ („Reagenzien“).
- Drücken Sie auf die „Remove“-Schaltfläche.

- Schließen Sie die „Assays“- und die „Eluat und Reagenzien“-Schublade.
- Drücken Sie auf „Scan“, um das Scan-Dialogfenster zu öffnen.
- Drücken Sie auf „Scan“, um einen Inventar-Scan der Adapter auf der linken und rechten Seite durchzuführen (ist in der Regel vorausgewählt).
- Drücken Sie die grüne „Integrated Batch“-Schaltfläche, um den integrierten Lauf zu entfernen.
- Lesen und bestätigen Sie die angezeigte Meldung.
- Die endgültige QIASymphony AS-Ergebnisdatei wird erstellt und kann dann entweder auf einen USB-Stick oder via QMC in ein zuvor festgelegtes Verzeichnis (\log\Results\AS) übertragen werden.

21. Übertragen Sie die AS-Ergebnisdatei in ein festgelegtes Verzeichnis. Um die Ergebnisdatei mit dem USB-Stick zu übertragen, befolgen Sie Schritt 21a. Um die Ergebnisdatei mithilfe der QMC zu übertragen, befolgen Sie Schritt 21b.

21a. Transfer der (AS-)Ergebnisdatei mithilfe des USB-Sticks.

- Stecken Sie den USB-Stick in den Anschluss.
- Wählen Sie die Option „Tools“ („Werkzeuge“).
- Wählen Sie dann „File Transfer“ („Dateitransfer“).
- Wählen Sie in der Spalte „Save to USB Stick“ („Auf USB-Stick speichern“) die Option „Result Files“ („Ergebnisdateien“).
- Drücken Sie auf die „Transfer“-Schaltfläche.
- Lesen und bestätigen Sie die angezeigte Meldung.
- Drücken Sie nach erfolgreicher Übertragung auf „OK“ und entnehmen Sie den USB-Stick.
- Fahren Sie mit dem „Protokoll: PCR mit dem Rotor-Gene Q “ ab Seite 31 fort.

21b. Transfer der (AS-)Ergebnisdatei mithilfe der QMC.

- Melden Sie sich an dem richtigen QIASymphony SP/AS Gerät an.
- Drücken Sie dann auf das Dateitransfer-Symbol.
- Wählen Sie das Dateiformat „Result File AS“ („AS-Ergebnisdatei“).
- Wählen Sie die Ergebnisdatei mit dem richtigen Zeitstempel und der richtigen Chargenkennung aus der Liste der Dateien des Remote-Standorts („Remote Site“; rechte Spalte) aus.

- Übertragen Sie die Ergebnisdatei auf den Local-Standort ("Local Site"); die Datei wird unter dem Pfad, der im Menü "Tools", Untermenü "Options" in der Funktion "File Transfer" („Dateitransfer“) festgelegt ist, gespeichert (unter \log\Results\AS).

Hinweis: Falls mehrere Chargen in einem integrierten Lauf auf dem QIASymphony AS konfiguriert wurden, beschicken Sie die Schubladen des QIASymphony AS erneut, beginnend bei Schritt 15.

- Fahren Sie mit dem „Protokoll: PCR mit dem Rotor-Gene Q “ ab Seite 31 fort.

Hinweis: Wir empfehlen, die Deckel der Röhrchen-Streifen zu markieren, um eine korrekte Positionierung sicherzustellen. Außerdem sollten Sie einen gekühlten Transportrahmen verwenden, um eine Kontamination zu vermeiden.

Protokoll: PCR mit dem Rotor-Gene Q Thermocycler

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Machen Sie sich vor dem Beginn des Protokolls mit dem Rotor-Gene Q Thermocycler vertraut. Lesen Sie das Geräte-Handbuch.
- Die Software – der Rotor-Gene AssayManager – ermöglicht eine automatisierte Interpretation der PCR-Ergebnisse.
- Der *artus* VanR QS-RGQ Kit muss mit dem Rotor-Gene Q Thermocycler unter Verwendung der automatisierten Ergebnis-Interpretation des Rotor-Gene AssayManager verwendet werden. Die Parameter des zyklischen Temperaturprogramms sind für den Lauf gesperrt.
- Laden Sie das Applikationspaket ("Application Package") von der Web-Katalogseite des *artus* VanR QS-RGQ Kits (www.qiagen.com/p/artus-VanR-QS-RGQ-Kit-CE) herunter; dort finden Sie es auf der "Resources"-Registerkarte unter "Protocol Files" („Protokolldateien“).
- Nach Installation des Plug-ins und Import des Assay-Profiles (siehe folgenden Abschnitt „Vor Beginn durchzuführende Arbeiten“) kann der Rotor-Gene AssayManager die in der QIASymphony AS-Ergebnisdatei enthaltenen Daten nutzen, um einen Real-Time-PCR-Amplifikationslauf mit nachfolgender automatisierter Interpretation der Ergebnisse einzurichten.
- Um die Prozesssicherheit des Gesamtsystems sicherzustellen, ist es erforderlich, die folgenden Einstellungen für den geschlossenen Modus zu aktivieren: "Material number required" („Materialnummer erforderlich“), "Valid expiry date required" („Gültiges Haltbarkeitsdatum erforderlich“) und "Lot number required" („Chargennummer erforderlich“).

Vor Beginn durchzuführende Arbeiten

- Um bei Verwendung des *artus* VanR QS-RGQ Kits mit dem Rotor-Gene AssayManager die automatisierte Interpretation der Ergebnisse nutzen zu können, muss das aktuellste *artus* Basic-Plug-in in Ihrer Rotor-Gene AssayManager Software installiert sein.
Starten Sie den Installationsvorgang durch Doppelklick auf die Datei **ArtusBasic.Installation.msi** und befolgen Sie die Installationsanweisungen. Eine detaillierte Beschreibung finden Sie im Abschnitt "Installing Plug-ins" („Installation von Plug-ins“; siehe im zugehörigen Software-Handbuch *Rotor-Gene AssayManager Core Application User Manual*).
- Um den *artus* VanR QS-RGQ Kit mit humanen Rektal- oder Perianal-Abstrichproben benutzen zu können, muss die Datei **AP_artus_VanR_rec-**

swab200_QS_V1_0_0.iap in den Rotor-Gene AssayManager importiert werden.

Um das Assay-Profil in den Rotor-Gene AssayManager zu importieren, wechseln Sie in die „Konfigurations-Umgebung“ („Configuration Environment“) und gehen dort auf die „Assay Profile“-Registerkarte. Klicken Sie auf „Import“ und wählen Sie im „Open file“-Dialogfenster die Datei **AP_artus_VanR_rec-swab200_QS_V1_0_0.iap** aus. Klicken Sie auf „Open“ („Öffnen“), um das Assay-Profil zu laden und zur Liste der verfügbaren Assay-Profile hinzuzufügen.

Hinweis: Dieselbe Version eines Assay-Profiles kann nicht ein zweites Mal importiert werden.

Durchführung

1. Bereiten Sie den Rotor vor und starten Sie den PCR-Lauf mit dem Rotor-Gene Q Thermocycler.

- Setzen Sie einen 72-Well-Rotor auf den Rotorhalter.
- Bestücken Sie den Rotor mit Röhrchen-Streifen. Achten Sie darauf, bei Position 1 zu beginnen und die Röhrchen-Streifen in der richtigen Orientierung einzusetzen.
- Füllen Sie nicht belegte Positionen mit leeren Röhrchen-Streifen mitsamt Deckel auf.
- Setzen Sie den Sicherungsring auf und machen Sie ihn fest.
- Setzen Sie den Rotor (mit Sicherungsring) in den Rotor-Gene Q Thermocycler.
- Falls Sie einen USB-Stick für den direkten Datentransfer vom QIAsymphony SP/AS benutzen, entpacken Sie die Ergebnisdatei des QIAsymphony AS. Die Ergebnisdateien sind im Verzeichnis \log\Results\AS gespeichert.

Hinweis: Bei den meisten Computern lassen sich die Dateien durch Anklicken mit der rechten Maustaste und anschließendem Klick auf die Funktion „Extract“ („Extrahieren“) in dem sich öffnenden Menü entpacken.

- Starten Sie den Rotor-Gene AssayManager.
- Loggen Sie sich im geschlossenen Modus ein.
- Falls nicht vorausgewählt, wählen Sie die „Setup“-Umgebung („Einrichtung“).

- Importieren Sie über die Schaltfläche am unteren Bildschirmrand die QIASymphony AS-Ergebnisdatei. Wählen Sie als "Import type" („Import-Typ“) den „QIASymphony“ als Herkunftsquelle aus.
- Öffnen Sie in dem "Select file"-Dialogfenster („Datei auswählen“) die entsprechende QIASymphony AS-Ergebnisdatei und klicken Sie dann auf "Open" („Öffnen“).
- Lesen und bestätigen Sie die angezeigte Meldung.
- Nach erfolgreichem Import wählen Sie die entsprechende Arbeitsliste aus der Liste im Arbeitslisten-Manager aus und klicken dann auf die Schaltfläche "Apply" („Anwenden“).
- Geben Sie einen Namen für das Experiment ein.
- Wählen Sie im "Cycler selection"-Dialogfenster den Thermocycler aus, der verwendet werden soll.
- Kontrollieren Sie den korrekten, festen Sitz des Sicherungsrings und bestätigen Sie im Bildschirm, dass der Sicherungsring angebracht ist.
- Schließen Sie den Deckel des Rotor-Gene Q Thermocyclers.
- Klicken Sie auf die "Start Run"-Schaltfläche, um den Lauf zu starten.

Hinweis: Wechseln Sie bei einem Lauf mit mehreren Thermocyclern in die jeweilige Thermocycler-Umgebung, um den Fortschritt des Laufs zu verfolgen.

- Wenn der Lauf beendet ist, klicken Sie auf "Finish run..." („Lauf abschließen“).
- Für Benutzer, die in der "Operator"-Rolle eingeloggt sind: Klicken Sie auf "Release" („Freigeben“).
- Für Benutzer, die in der "Approver"-Rolle eingeloggt sind: Klicken Sie auf "Release and goto approval" („Freigeben und mit Genehmigung weitermachen“).

2. Freigabe und Ausgabe der Ergebnisse.

- Falls Sie zuvor die "Release"-Funktion ausgewählt haben, wählen Sie nun die "Approval"-Umgebung („Genehmigung“).
- Drücken Sie auf "Apply filter" („Filter anwenden“) (oder wählen Sie vorab eigene Filteroptionen).
- Wählen Sie das Experiment aus.
- Klicken Sie auf "Start approval", um den Genehmigungsvorgang zu starten.

- Akzeptieren Sie die Ergebnisse für jede zu analysierende Probe. Verwenden Sie die "Accepted"-Schaltfläche („Akzeptiert“) für die zu testenden Proben, deren Ergebnisse vom Rotor-Gene AssayManager ausgewertet wurden und die Sie akzeptieren wollen. Verwenden Sie die "Rejected"-Schaltfläche („Abgelehnt“), falls das Ergebnis der zu testenden Probe nach Evaluierung durch den Rotor-Gene AssayManager aus irgendeinem Grund nicht akzeptabel erscheint.

Hinweis: Ein Ergebnis, das vom Rotor-Gene AssayManager automatisch mit „ungültig“ bewertet wurde, kann nicht mehr in ein gültiges Ergebnis umgewandelt werden, auch wenn das Ergebnis abgelehnt wird.

- Optional: Geben Sie Kommentare ein.
- Klicken Sie auf "Release /report data..." („Daten freigeben/ausgeben ...").
- Wählen Sie ein Bericht-Profil und klicken Sie auf "OK". Der Bericht wird erstellt und automatisch gespeichert.

Hinweis: Der Benutzer muss über Genehmigungsrechte verfügen, um einen Assay freizugeben.

- Entnehmen Sie den Rotor aus dem Rotor-Gene Q Thermocycler und werfen Sie die Röhrchen-Streifen unter Beachtung der einzuhaltenden Sicherheitsbestimmungen.

3. Führen Sie die Wartungsarbeiten durch.

- Wenn die Verarbeitung aller QIASymphony AS-Chargen des integrierten Laufs mit dem QIASymphony SP/AS abgeschlossen ist, führen Sie die regelmäßige Wartung durch, so wie sie im *QIASymphony SP/AS Handbuch – Allgemeine Systembeschreibung* dargelegt ist.

Hinweis: Diese Wartung kann zu einem beliebigen Zeitpunkt vor Beginn des nächsten integrierten Laufs erfolgen, gemäß lokaler Vorschriften oder je nach Priorität.

- Führen Sie die tägliche, wöchentliche und jährliche vorbeugende Wartung gemäß den Anweisungen im *QIASymphony SP/AS Handbuch – Allgemeine Systembeschreibung* durch.

Interpretation der Ergebnisse

Dieser Abschnitt beschreibt die Interpretation der mit dem Rotor-Gene Q Thermocycler erhaltenen Ergebnisse. Kontrollieren Sie auch die Angaben zum Probenstatus in den Report-Dateien des QIAasympphony SP/AS bei der Auswertung des vollständigen Workflows von der Probe bis zum Endergebnis. Es sollten nur Proben mit dem Status „gültig“ („valid“) ausgewertet werden.

Das Assay-Profil des *artus* VanR QS-RGQ Kits für humane Rektal- oder Perianalabstriche enthält Regeln für die automatische Interpretation der Assay-Ergebnisse.

Bei jeder Probe und Kontrolle wird für jedes Target separat ein Ergebnis angezeigt: für *vanA*, *vanB* und die interne Kontrolle. Die Ausgabe des Ergebnisses erfolgt jeweils als „Signal detected“ („Signal detektiert“), „No signal“ („Kein Signal“) oder „INVALID“ („UNGÜLTIG“).

Ergebnisse bei Positiv-/Negativkontrolle:

- Alle Targets müssen bei der Positivkontrolle („Positive Control“) und der Negativkontrolle („Negative Control“) gültig sein, damit der Assay-Status als erfolgreich bestätigt wird und die Testergebnisse ausgegeben werden dürfen. Falls eines der Targets bei der Positiv- oder Negativkontrolle ungültig ist, werden die Ergebnisse für jede Probe in dem Lauf als „INVALID“ („UNGÜLTIG“) angezeigt. Der gesamte Assay-Lauf muss wiederholt werden.
- Bei der Positivkontrolle muss das Ergebnis „Signal detected“ („Signal detektiert“) für *vanA*, *vanB* und die interne Kontrolle ausgegeben werden.
- Bei der Negativkontrolle muss das Ergebnis „Signal detected“ („Signal detektiert“) für die interne Kontrolle und das Ergebnis „No signal“ („Kein Signal“) für die spezifischen Targets ausgegeben werden.

Ergebnisse bei den Proben:

- Eine Zusammenfassung der Ergebnis-Interpretation ist in Tabelle 6 (auf Seite 36 f.) wiedergegeben.
- Da die Ergebnisse für die Targets *vanA* und *vanB* separat ausgegeben werden, gilt eine Probe als positiv für Vancomycinresistenz, falls eines der Targets detektiert wird.
- Das Signal für die interne Kontrolle muss in den Proben detektiert werden, in denen kein Signal für *vanA* und/oder *vanB* detektiert wird. Wird kein Signal bei der internen Kontrolle detektiert oder ist das Ergebnis „INVALID“ („UNGÜLTIG“), dann werden alle Targets bei der betreffenden Probe ebenfalls als „INVALID“ angezeigt. Die Probe muss dann erneut getestet werden.

- Als Ergebnis für das Target der internen Kontrolle kann in Proben, in denen ein Signal für *vanA* und/oder *vanB* detektiert wird, entweder "No Signal" („Kein Signal“) oder "INVALID" („UNGÜLTIG“) ausgegeben werden. In diesen Fällen werden die Ergebnisse für *vanA* und *vanB* ausgegeben. Eine Test-Wiederholung ist nicht erforderlich.
- **Hinweis:** In der einen oder anderen positiven vancomycinresistenten Probe könnte die PCR der internen Kontrolle inhibiert sein; als Ergebnis für die interne Kontrolle wird dann "No signal" („Kein Signal“) oder "INVALID" („UNGÜLTIG“) ausgegeben.
- Bei einigen Proben könnte als Ergebnis für *vanA* oder *vanB* "INVALID" („UNGÜLTIG“) ausgegeben werden. In diesen Fällen empfehlen wir, den Test mit der betreffenden Probe zu wiederholen.
- Falls für *vanA* oder *vanB* das Ergebnis "INVALID" („UNGÜLTIG“) zusammen mit dem Flag "CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE" ausgegeben wird, muss der Test für diese Probe nicht wiederholt werden und sie gilt als negativ, falls die interne Kontrolle gültig ist.

Tabelle 6. Zusammenfassung der Ergebnis-Interpretation

Ergebnis für Target			Vancomycin-Resistenzgen in Probe detektiert
<i>vanA</i>	<i>vanB</i>	Interne Kontrolle	
Signal detektiert	Signal detektiert	Signal detektiert / Kein Signal / UNGÜLTIG	Ja
Signal detektiert	Kein Signal	Signal detektiert / Kein Signal / UNGÜLTIG	Ja
Kein Signal	Signal detektiert	Signal detektiert / Kein Signal / UNGÜLTIG	Ja
Kein Signal	Kein Signal	Signal detektiert	Nein

Forts. Tabelle auf nächster Seite

Tabelle 6. Fortsetzung

Ergebnis für Target			Vancomycin-Resistenzgen in Probe detektiert
<i>vanA</i>	<i>vanB</i>	Interne Kontrolle	
Kein Signal	Kein Signal	Kein Signal / UNGÜLTIG	Fehler, Test mit Probe wiederholen
Signal detektiert / Kein Signal	UNGÜLTIG*	Signal detektiert / Kein Signal / UNGÜLTIG	Fehler, Test mit Probe wiederholen
UNGÜLTIG*	Signal detektiert / Kein Signal	Signal detektiert / Kein Signal / UNGÜLTIG	Fehler, Test mit Probe wiederholen

* Falls für *vanA* oder *vanB* das Ergebnis „ungültig“ („invalid“) zusammen mit dem Flag „CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE“ ausgegeben wird, gilt das Target als gültig, aber negativ.

Bei dieser automatisierten Auswertung können die folgenden entsprechenden Flags (Statusindikatoren) ausgegeben werden.

Flag	Status	Beschreibung
ASSAY_INVALID	ungültig	Der Assay wird als ungültig gekennzeichnet, weil mindestens eine der externen Kontrollen ungültig ist.
CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE	ungültig	Der detektierte C _T -Wert ist höher als der definierte Cut-off-C _T -Wert.
CT_BELOW_ACCEPTED_RANGE	ungültig	Der detektierte C _T -Wert ist niedriger als der definierte Cut-off-C _T -Wert.
CURVE_SHAPE_ANOMALY	ungültig	Die anhand der Rohdaten erstellte Amplifikationskurve weist eine Form auf, die von dem etablierten Verhalten für diesen Assay abweicht. Es besteht eine hohe Wahrscheinlichkeit für falsche Ergebnisse oder eine Fehlinterpretation des Ergebnisses.

Flag	Status	Beschreibung
FLAT_BUMP	ungültig	Die Amplifikationskurve weist die Form einer flachen Welle auf, die von dem etablierten Verhalten für diesen Assay abweicht. Es besteht eine hohe Wahrscheinlichkeit für falsche Ergebnisse oder eine Fehlinterpretation des Ergebnisses (falsche C _T -Wertbestimmung).
IC_INVALID	ungültig	Die interne Kontrolle ist ungültig. Röhrchen enthält sowohl Target als auch interne Kontrolle.
IC_NO_SIGNAL	ungültig	Kein Signal bei interner Kontrolle detektiert. Röhrchen enthält sowohl Target als auch interne Kontrolle.
MULTI_THRESHOLD_CROSSING	ungültig	Die Amplifikationskurve schneidet die Schwellenwert-Gerade an mehreren Stellen. Ein eindeutiger C _T -Wert kann nicht bestimmt werden.
NO_CT_DETECTED	ungültig	Kein C _T -Wert für diese Target-DNA bestimmt.
NORM_FACTOR_ALTERATION	Warnung	<p>Kurve aufgrund zu niedrigen Signals nicht ordnungsgemäß normalisiert.</p> <p>Hinweis: Falls eine gültige Probe mit diesem Flag gekennzeichnet ist, wird die genehmigende Person gebeten, die mit dem Flag bereitgestellten Informationen besonders zu beachten, bevor die Entscheidung getroffen wird, ob das Ergebnis zu akzeptieren oder abzulehnen ist.</p>
OTHER_TARGET_INVALID	ungültig	Ein anderes Target in derselben Probe ist ungültig.

Flag	Status	Beschreibung
SATURATION	ungültig	Die Rohdaten-Fluoreszenz erreicht schnell eine Sättigung vor dem Wendepunkt der Amplifikationskurve.
SATURATION_IN_PLATEAU	Warnung	<p>Die Rohdaten-Fluoreszenz erreicht eine Sättigung in der Plateauphase der Amplifikationskurve.</p> <p>Hinweis: Falls eine gültige Probe mit diesem Flag gekennzeichnet ist, wird die genehmigende Person gebeten, die mit dem Flag bereitgestellten Informationen besonders zu beachten, bevor die Entscheidung getroffen wird, ob das Ergebnis zu akzeptieren oder abzulehnen ist.</p>
SPIKE	variabel	Ein Ausreißer („Spike“) in der Rohdaten-Fluoreszenz wurde in der Amplifikationskurve detektiert; er liegt jedoch außerhalb des Bereichs, in dem der C _T -Wert bestimmt wird.
SPIKE_CLOSE_TO_CT	ungültig	In der Amplifikationskurve wurde ein Ausreißer („Spike“) nahe am C _T -Wert detektiert.
STEEP_BASELINE	ungültig	In der Amplifikationskurve wurde eine stetig ansteigende Basislinie bei der Rohdaten-Fluoreszenz detektiert.
STRONG_BASELINE_DIP	ungültig	In der Amplifikationskurve wurde eine starke Abnahme der Basislinie bei der Rohdaten-Fluoreszenz detektiert.

Flag	Status	Beschreibung
STRONG_NOISE	ungültig	Ein starkes Hintergrundrauschen wurde außerhalb der exponentiellen Phase der Amplifikationskurve detektiert.
STRONG_NOISE_IN_GROWTH_PHASE	ungültig	Ein starkes Hintergrundrauschen wurde in der exponentiellen Phase der Amplifikationskurve detektiert.
UNCERTAIN	ungültig	Die Ergebnisse des automatischen Daten-Scans (AUDAS) widersprechen den Kernergebnissen der Auswertung. Eine eindeutige automatische Bewertung der Datenvalidität ist nicht möglich.
UPSTREAM	ungültig	<p>Probenstatus wurde von einem vorgelagerten Prozess (z. B. Assay-Set-up durch QIAsymphony AS) auf „ungültig“ („invalid“) oder „unklar“ („unclear“) gesetzt.</p> <p>Hinweis: Für die Flags des Status „unklar“ („unclear“), die von vorgelagerten Prozessen vergeben werden, wird das Verhalten der Rotor-Gene AssayManager Software in der Konfigurations-Umgebung („Configuration“) definiert.</p> <p>Im Falle der Flags „ungültig“ („invalid“) aus vorgelagerten Prozessen werden derartige Proben vom Rotor-Gene AssayManager immer als ungültig gekennzeichnet.</p>
WAVY_BASE_FLUORESCENCE	ungültig	In der Amplifikationskurve wurde ein wellenförmiger Verlauf der Basislinie bei der Rohdaten-Fluoreszenz detektiert.

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 QIA Symphony 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 Dichtungsstreifen 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 kräftig auf einem Vortex-Schüttler. |
| 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 Abschnitt „Vorbereitung von Carrier-RNA (CARRIER) und interner Kontrolle (‘VanR Internal Control’)“ auf Seite 13 beschrieben. 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

- | | |
|--|---|
| 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. |
| 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 und inkubieren Sie sie unter gelegentlichem Schütteln für 30 Minuten 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 QIAasympy Nukleinsäure-Reinigungsprotokolls 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.

QIAasymphony AS detektiert unzureichenden Master-Mix

Unzureichendes
Volumen Master-Mix in
Röhrchen transferiert

Geben Sie die Inhalte einer ausreichenden Anzahl an Röhrchen "VanR Master A" vor Gebrauch in ein Röhrchen zusammen. Geben Sie die Inhalte einer ausreichenden Anzahl an Röhrchen "VanR Master B" vor Gebrauch in ein Röhrchen zusammen. Viskose Reagenzien können mit manuellen Pipetten eventuell schwierig zu pipettieren sein. Vergewissern Sie sich, dass das gesamte 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 µl auf 840 µl 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 der Positivkontrolle ("VanR Positive Control") in den Fluoreszenz-Kanälen "Cycling Orange" und "Cycling Green"

- | | |
|--|--|
| a) 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 den Abschnitt „Assay-Control-Sets und Assay-Parameter-Sets“ auf Seite 15. |
| b) 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. |
| c) Haltbarkeitsdatum des <i>artus</i> VanR 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 QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Kits isoliert wurde, im Fluoreszenz-Kanal "Cycling Crimson" bei gleichzeitigem Ausbleiben eines Signals im Kanal "Cycling Orange" oder "Cycling Green"

- | | |
|---|--|
| 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 QIA Symphony SP/AS“ auf Seite 16) 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-Setup mit QIAsymphony SP/AS“ auf Seite 16) und halten Sie sich exakt an die Anweisungen.

Siehe auch „Niedrige Ausbeute an Nukleinsäuren“ weiter oben. |
| 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 <i>artus</i> VanR QS-RGQ Kits ist abgelaufen | Überprüfen Sie Lagerungsbedingungen und Haltbarkeitsdatum (siehe Kit-Etikett) der Reagenzien und verwenden Sie ggf. einen neuen Kit. |

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. |
|--|--|

Kommentare und Vorschläge

- 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* VanR 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.

Der *artus* VanR QS-RGQ Kit ist für die Benutzung durch sachkundiges Laborpersonal, das in der Bedienung des QIASymphony SP/AS und der Rotor-Gene Q Thermocycler sowie in der Anwendung der Rotor-Gene AssayManager Software geschult ist, vorgesehen.

Das Produkt darf nur von speziell unterwiesenem Personal verwendet werden, das in der Anwendung in-vitro-diagnostischer Verfahren geschult ist. Alle mit dem System erhaltenen diagnostischen Ergebnisse sollten nur im Zusammenhang mit anderen klinischen und/oder labormedizinischen Untersuchungsergebnissen interpretiert werden.

Um optimale PCR-Ergebnisse zu erzielen, ist es erforderlich, dass Sie die Angaben im Handbuch genau einhalten.

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.

Leistungscharakteristik

Die Leistungscharakteristik des *artus* VanR QS-RGQ Kits kann unter www.qiagen.com/p/artus-VanR-QS-RGQ-Kit-CE abgerufen werden.

Literatur

Zitierte Referenzen

1. US Department of Health and Human Services. National Institute of Allergy and Infectious Diseases. Vancomycin-resistant enterococci (VRE). www.niaid.nih.gov/topics/antimicrobialresistance/examples/vre/Pages/default.aspx (Zugriff: 10. September 2013)
2. Centers for Disease Control and Prevention (USA). Vancomycin-resistant enterococci (VRE) and the clinical laboratory. www.cdc.gov/HAI/settings/lab/VREClinical-Laboratory.html (Zugriff: 10. September 2013)
3. Werner, G. et al. (2008) Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Euro Surveill.* **13**, 19046.
4. Escaut, L. et al. (2013) Eradication of an outbreak of vancomycin-resistant *Enterococcus* (VRE): the cost of a failure in the systematic screening, *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* **2**, 18.

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



Katalognummer



Chargennummer



Materialnummer



Komponenten



Enthält



Anzahl



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> VanR QS-RGQ Kit (72)	Für 72 Reaktionen: 2 Master-Mixe, Positivkontrolle, interne Kontrolle, Negativkontrolle	4573366
QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit		
QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit	Für 192 DNA-Präparationen (à 200 µl): enthält 2 Reagenzienkartuschen und Enzym-Racks sowie Zubehör	937036
QIAasymphony SP/AS Geräte		
QIAasymphony SP	QIAasymphony Modul für die Proben- verarbeitung: inklusive 1 Jahr Garantie auf alle Teile sowie Arbeitskosten	9001297
QIAasymphony AS	QIAasymphony Modul für das Assay-Set- up: inklusive 1 Jahr Garantie auf alle Teile sowie Arbeitskosten	9001301
Rotor-Gene Q		
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM	Real-Time-PCR-Thermocycler und Analyzer für hochauflösende Schmelz- kurvenanalysen (HRM) mit fünf Fluo- reszenz-Kanälen (grün, gelb, orange, rot, purpur) und einem HRM-Kanal, mit Laptop, Software und Zubehör: inklusive 1 Jahr Garantie auf alle Teile sowie Arbeitskosten; Installation und Unterweisung nicht inbegriffen	9002032
Rotor-Gene AssayManager – für die Routineanalytik mit Rotor- Gene Q Thermocyclern und den QIAasymphony RGQ Geräten		
Rotor-Gene AssayManager	Software für die Routineanalytik in Kombination mit dem Rotor-Gene Q und den QIAasymphony RGQ Geräten; Software-Einzellizenz für die Installation auf einem Computer	9022737

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
Rotor-Gene AssayManager (10)	Software für die Routineanalytik in Kombination mit dem Rotor-Gene Q und den QIAsymphony RGQ Geräten; Software-Mehrfachlizenz für die Installation auf bis zu 10 Computern	9022739

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

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); BD™ (Becton Dickinson); Sarstedt® (Sarstedt AG und Co.).

Der *artus* VanR QS-RGQ Kit ist ein CE-markierter diagnostischer Kit gemäß der Europäischen Richtlinie 98/79/EG über In-vitro-Diagnostika. Nicht in allen Ländern erhältlich.

Eingeschränkte Nutzungsvereinbarung für den *artus* VanR 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.

© 2015 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

