

Syyskuu 2017

# QIAsymphony® RGQ -sovelluslomake

*artus*® EBV QS-RGQ -sarja (näytetyyppi: veri)

IVD



REF

4501363FI *artus* EBV QS-RGQ -sarja, versio 1.



Tarkista ennen kokeen suorittamista uusien elektronisten etikettiversioiden saatavuus osoitteesta [www.qiagen.com/products/artusebvprkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusebvprkitce.aspx).

## Yleistä

Sarja	<i>artus</i> EBV QS-RGQ -sarja, versio 1 (tuotenro 4501363)
Validoitu näytemateriaali	Ihmisen EDTA-kokoveri
Alkuvaiheen puhdistus	QIASymphony DSP DNA Mini -sarja (tuotenro 937236)
Näytetilavuus (ml. liikamäärä)	300 µl
Analyysin parametriasetus	<i>artus</i> _EBV_blood200_V4 MA_ <i>artus</i> _EBV_blood200_V4*
Analyysin kontrollin oletusasetus	VirusBlood200_V5_DSP_ <i>artus</i> _EBV
Eluaattitilavuus	60 µl
Tarvittava ohjelmistoversio	Versio 4.0 tai uudempi
Master-seoksen tilavuus	30 µl
Mallitilavuus	20 µl
Reaktioiden määrä	6–24
Ajoaika AS-moduulissa	6 reaktiota: noin 9 minuuttia 72 reaktiota: noin 35 minuuttia

\* Protokolla usean analyysin ajoon *artus* CMV QS-RGQ -sarjalla, jotta CMV RG IC voidaan ladata puhdistusprosessia ja analysointiasetuksia varten.

## Tarvittavat materiaalit, jotka eivät kuulu toimitukseen

### Puhdistussarja

- QIASymphony DSP DNA Mini -sarja (tuotenro 937236)

### Sovittimet QIASymphony SP -laitteeseen

- Elution Microtube Rack QS (elutiomikroputkiteline QS) (Cooling Adapter EMT, v2, Qsym, tuotenro 9020730)
- Siirtokehys
- Tube Insert 3B (putkituki 3B) (Insert, 2.0 ml v2, näytealusta (24), Qsym, tuotenro 9242083)

### Tarvikkeet QIASymphony SP -laitteeseen

- Sample Prep Cartridges, 8-well (näytteen valmistelukasetit, 8-kuoppainen) (tuotenumero 997002)
- 8-Rod Covers (8-sauvaiset kannet) (tuotenumero 997004)
- Filter-Tips, 1500 µl (suodatinkärjet) (tuotenumero 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (suodatinkärjet) (tuotenumero 990332)
- Elution Microtubes CL (CL-eluutiomikroputket) (tuotenro. 19588)
- Tip disposal bags (kärkien hävityspussit) (tuotenumero 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Type H (mikroputket, tyyppi H) ja Micro tubes 2.0 ml Type I (mikroputket, tyyppi I) (Sarstedt®, tuotenumerot 72.693 ja 72.694, [www.sarstedt.com](http://www.sarstedt.com)) käyttöön näytteille ja sisäisille kontroleille

### Sovittimet ja reagenssipidikkeet QIASymphony AS -laitteelle

- Reagent holder 1 QS (reagenssipidike 1 QS) (Cooling Adapter -jäähdytyssovitin, Reagent Holder 1 -reagenssipidike, Qsym, tuotenumero 9018090)
- RG Strip Tubes 72 QS (RG-liuskaputket 72 QS) (Cooling Adapter -jäähdytyssovitin, RG Strip Tubes -liuskaputket 72, Qsym, tuotenumero 9018092)

### Tarvikkeet QIASymphony AS -laitteeseen

- Strip Tubes ja Caps, 0.1 ml (liuskaputket ja korkit) (tuotenumero 981103)
- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (putket, kartiomaiset) (tuotenro 997102) tai Micro tubes 2.0 ml Type I (mikroputket, tyyppi I) (Sarstedt, tuotenro 72.694.005)
- Mahdollisesti: Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (putket, kartiomaiset) (tuotenro 997104) tai Tubes with flat base from PP (putket, joissa on tasainen PP-pohja)(Sarstedt, tuotenro 60.558.001)
- Filter-Tips (suodatinkärjet), 1500 µl (tuotenumero 997024)
- Filter-Tips (suodatinkärjet), 200 µl (tuotenumero 990332)
- Filter-Tips (suodatinkärjet), 50 µl (tuotenumero 997120)
- Tip disposal bags (kärkien hävityspussit) (tuotenumero 9013395)

## Näytteen käsittely ja säilytys

Näytteenotto	Verinäyte 5–10 ml EDTA-verta 8 x sekoitus – ei ravistamista! Heparinisoituja ihmisnäytteitä ei saa käyttää.
Näytevarasto	Siirrä steriiliin polypropeeniputkeen Analyysin herkkyys voi heikentyä, jos näytteet pakastetaan tai jos niitä säilytetään kauemmin kuin 24 tuntia.
Näytteen kuljetus	Särkymätön kuljetus Kuljetus 24 tunnin kuluessa Postikuljetus patogeenisten materiaalien kuljetusta koskevan lainsäädännön mukaisesti* Verinäytteet on kuljetettava viileässä (2–8 °C)
Häiritsevät aineet	Hepariini ( $\geq 10$ IU/ml) vaikuttaa PCR:ään. Näytteitä, jotka kerätään hepariinia antikoagulanttina sisältäviin, tai näytteitä, jotka on otettu heparinoiduilta potilailta, ei saa käyttää.
Näytteen valmistelu	Vältä vaahdon muodostumista näytteisiin tai niiden pinnalle Näytteet on tasapainotettava huoneenlämpöön (15–25 °C) ennen ajon aloittamista.

\* International Air Transport Association (IATA) (Kansainvälinen ilmakuljetusliitto). Vaarallisia aineita koskevat määräykset.

## Toimenpide

### Sisäisen kontrollin lisääminen näytteisiin

QIASymphony DSP DNA Mini -sarjan käyttäminen yhdessä *artus* EBV QS-RGQ -sarjan kanssa edellyttää sisäisen kontrollin (EBV RG IC) lisäämistä puhdistustoimenpiteeseen näytteen valmistelun ja sen jälkeisen analyysin tehon valvontaa varten.

Varmista usean analyysin ajossa, jossa sekä EBV ja CMV analysoidaan samalla PCR:llä, että *artus* CMV QS-RGQ -sarjan CMV RG IC:tä käytetään puhdistusprosessissa. Käytä saman erän CMV RG IC:tä sekä näytteen valmisteluun että PCR-kontrolleiden analyysiasetukseen. Älä käytä CMV RG IC:tä, jossa on eri eränumero.

Sisäisiä kontrolleja on lisättävä puskuri-ATE:n (ATE) kanssa, ja sisäisen kontrollin puskuri-ATE:n (ATE) seoksen kokonaistilavuus säilyy 60 µl:ssa.

Taulukossa esitetään sisäisen kontrollin lisääminen isolaattiin suhteessa 0,1 µl per 1 µl eluutiotilavuutta. Suosittelemme valmistamaan uuden seoksen jokaiseen analyysiajoon juuri ennen käyttöä.

Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää IC Calculator (IC-laskin) -työkalua QIASymphony Management Consolessa.

Osa	Tilavuus (µl) (Sarstedt-putket)*	Tilavuus (µl) (Corning-putket)†
Sisäinen kontrolli‡	9	9
Puskuri-ATE	51	51
Näytteen lopullinen tilavuus (kuollut tilavuus poislukien)	120	120
Kokonaistilavuus n näytteelle	$(n \times 60) + 360^{\S}$	$(n \times 60) + 600^{\P}$

\* Micro tubes 2.0 ml Type H -mikroputket ja Micro tubes 2.0 ml Type I -mikroputket, Sarstedt, tuotenumerot 72.693 ja 72.694.

† Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (putket 14 ml, 17 x 100 mm polystyreeni, pyöreäpohjainen) (Corning® Inc., tuotenumero 352051; Becton Dickinson oli putkien aiempi toimittaja, mutta Corning, Inc. on nykyään näiden putkien uusi toimittaja).

‡ Sisäisen kontrollin määrän laskelma perustuu alkueluutiotilavuuksiin (90 µl). Lisäyhjöttilavuus on käytetyn näyteputken tyyppin mukainen.

§ Tarvitaan kuutta lisänäytettä vastaava sisäisen kontrollin seos (ts. 360 µl). Älä ylitä 1,92 ml:n kokonaistilavuutta (vastaa enintään 13 näytettä. Nämä tilavuudet koskevat erityisesti tuotteita Micro tubes 2.0 ml Type H -mikroputket ja Micro tubes 2.0 ml Type I -mikroputket, Sarstedt, tuotenumerot 72.693 ja 72.694).

¶ Tarvitaan kymmentä lisänäytettä vastaava sisäisen kontrollin seos (ts. 600 µl). Älä ylitä 13,92 ml:n kokonaistilavuutta (vastaa enintään 111 näytettä. Nämä tilavuudet koskevat erityisesti tuotteita Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (putket 14 ml, 17 x 100 mm polystyreeni, pyöreäpohjainen), Corning Inc., tuotenumero 352051; Becton Dickinson oli putkien aiempi toimittaja, mutta Corning, Inc. on nykyään näiden putkien uusi toimittaja).

## QIASymphony SP:n asetus

### "Waste" (Jäte) -lokero

Yksikkölaatikon pidike 1–4	Tyhjät yksikkölaatikot
Jätepussin pidike	Jätepussi
Nestejätepullon pidike	Tyhjennä nestejätepullo ja aseta takaisin paikalleen

### "Eluate" (Eluaatti) -lokero

Eluutioteline	Eluutiomikroputket CL Eluutiomikroputkiteline QS:ssä ja siirtokehys Käytä uurretta 1, jäähdytysasento
Eluutiotilavuus*	Esivalittu eluutiotilavuus: 60 µl Eluution alkutilavuus: 90 µl

\* Eluutiotilavuus on esivalittuna protokollalle. Tämä on käytettävissä oleva vähimmäiseluaattitilavuus lopullisessa eluutioputkessa. Eluutioliuoksen alkutilavuus tarvitaan, jotta voidaan varmistaa, että eluaatin todellinen tilavuus on sama kuin esivalittu tilavuus.

### "Reagents and Consumables" (Reagenssit ja tarvikkeet) -lokero

RC-asetnot 1 ja 2	Lataa 1 reagenssikasetti (RC) enintään 96 näytteellä tai 2 uutta reagenssikasettia (RC) enintään 192 näytteellä.
Kärkitelineen pidikkeen asetnot 1–18	Lataa riittävä määrä telineitä kertakäyttöisillä suodatinkärjillä, 200 µl ja 1 500 µl (katso "Tarvittavat muovivälineet 1-4 näyte-erää varten", sivu 7)
Yksikkölaatikon pidike, asetnot 1–4	Lataa yksikkölaatikot, joissa on näytteenvalmistelukasetit ja 8-sauvaiset kannet (katso "Tarvittavat muovivälineet 1-4 näyte-erää varten", sivu 7)

“Sample” (Näyte) -lokero

Näytetyyppi	Ihmisen EDTA-kokoveri
Näytetilavuus (ml. liikamäärä)	300 µl
Näyteputket	Micro tubes 2.0 ml Type H -mikroputket tai Micro tubes 2.0 ml Type I -mikroputket (Sarstedt, tuotenumerot 72.693 ja 72.694)
Tuki	Tube Insert 3B (putkituki) (luettelonro. 9242083)

Tarvitavat muovivälineet 1-4 näyte-erää varten

Osa	Yksi erä, 24 näytettä *	Kaksi erää, 48 näytettä *	Kolme erää, 72 näytettä *	Neljä erää, 96 näytettä *
Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 200 µl <sup>†</sup>	26	50	74	98
Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 1500 µl <sup>†</sup>	98	188	278	368
Kasetit näytteen valmisteluun <sup>§</sup>	21	42	63	84
8-sauvaiset kannet <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* Useamman kuin yhden sisäisen kontrollin putken käyttämiseen erää kohden ja useamman kuin yhden inventointiskannauksen tekemiseen tarvitaan useampia kertakäyttöisiä suodatinkärkiä.

<sup>†</sup> Suodatinkärkiä on 32/kärkiteline.

<sup>‡</sup> Tarvittavien suodatinkärkien määrä käsittää suodatinkärjet yhteen skannaukseen reagenssikasettia kohden.

<sup>§</sup> Näytteen valmistelukasetteja on 28 yksikkölaatikkoa kohden.

<sup>¶</sup> 8-sauvaisia kansia on 12 yksikkölaatikkoa kohden.

## QIASymphony AS:n asetus

### Tarvikkeet

Asetuksen aikana sopivat sijainnit kullekin tarvikkeelle QIASymphony AS -moduulissa osoitetaan laitteen kosketusnäytöllä.

Tarvike	Nimi kosketusnäytöllä	Käyttöön sovittimen/ reagenssipidikkeen kanssa
Liuskaputket ja korkit, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG-liuskaputket 72 QS
Putket, kartiomaiset, 2 ml Qsym AS (500) <sup>†‡</sup>	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt <sup>§</sup>	Reagenssipidike 1 QS
Putket, kartiomaiset, 5 ml Qsym AS (500) <sup>†‡</sup>	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt <sup>§</sup>	Reagenssipidike 1 QS

\* Tarkoittaa, että laboratoriovälineet voidaan jäähdyttää eräkoodilla varustetulla jäähdytyssovittimella.

<sup>†</sup> Pääsekoituskomponenteille, järjestelmällä valmistetuille pääsekoituksille, analysointistandardeille ja analysointikontrolleille.

<sup>‡</sup> Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää Sarstedt-putkia, jotka on kuvattu kohdassa "Tarvittavat materiaalit, jotka eivät kuulu toimitukseen" sivulla 2.

<sup>§</sup> Loppuliite (m) kosketusnäytössä tarkoittaa sitä, että putken nestetasolaskelmat on optimoitu reagensseille, jotka muodostavat koveran meniskuksen.

### Sovittimet ja reagenssipidikkeet

Teline/reagenssipidike	Nimi	Vaadittu määrä <sup>¶</sup>
Reagenssipidikkeet	Reagenssipidike 1 QS	1
Näytetelineet	RG-liuskaputket 72 QS	1

<sup>¶</sup> Laskettu analyysiajolle, jossa on 72 reaktiota.



## Suodatinkärjet

Lataa kärkitelineet aloittaen kärkiurista 1, 2 ja 3 "Eluate and Reagent" (Eluaatti ja reagenssit) -lokerosta ja lataa sitten kärkitelineet kärkiuriin 7, 8 ja 9 "Assays" (Analyysit) -lokerossa.

Tarvike	Nimi kosketusnäytöllä	Vähimmäismäärä 24 reaktiolle	Vähimmäismäärä 72 reaktiolle
Filter-Tips, 1500 µl (suodatinkärjet) (1024)	1500 µl	4	6
Filter-Tips, 200 µl (suodatinkärjet) (1024)	200 µl	10	9
Filter-Tips, 50 µl (suodatinkärjet) (1024)	50 µl	25	73
Kärkien hävityspussit	–	1	1

## PCR Rotor-Gene Q \*-laitteessa

Katso ohjelmistokohtaiset protokollatiedot protokollalomakkeesta *Settings to run artus QS-RGQ Kits* (asetukset *artus QS-RGQ* -sarjojen ajoon) osoitteessa [www.qiagen.com/products/artusebvpcrkite.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusebvpcrkite.aspx)

Eriyisasetukset *artus EBV QS-RGQ* -sarjalle

Eriyisasetukset Rotor-Gene® -ohjelmistoversiolle 2.1 tai uudemmalle ovat alla.

Reaktiotilavuus (µl)	50
Pito	Pitolämpötila: 95 astetta Pitoaika: 10 minuuttia
Jakso	45 kertaa 95 asteessa 15 sekunnin ajan 65 asteessa 30 sekunnin ajan (ota Vihreän ja Keltaisen aikana ja aktivoi kosketustoiminto 10 jakson ajaksi) 72 asteessa 20 sekunnin ajan
Automaattisen poiminnan optimointiasetukset	65 astetta (näytteet: Vihreä; IC; Keltainen)

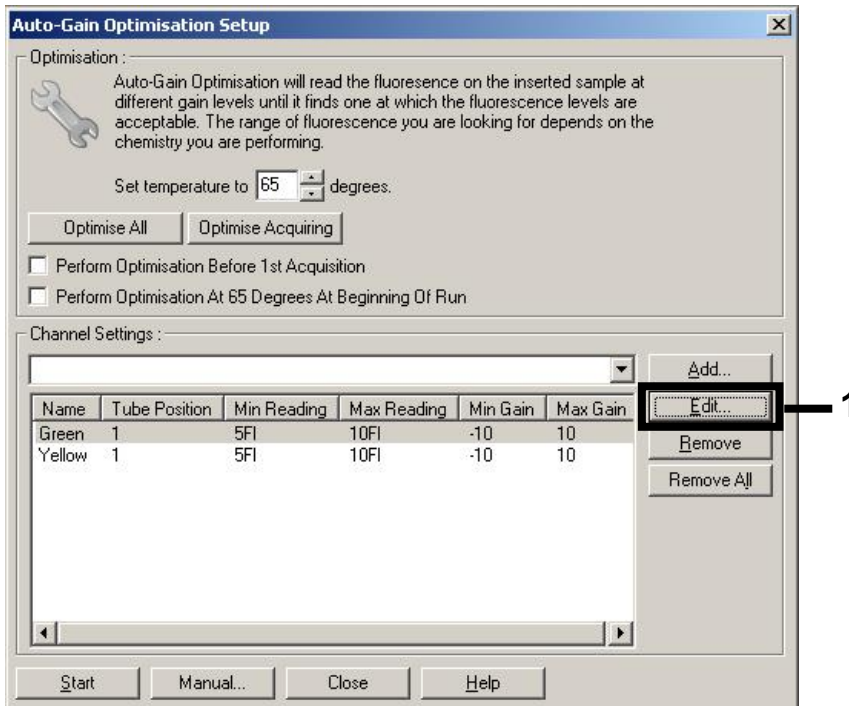
### Usean analyysin ajo

Fluoresenssikanavien havainnointialue on määritettävä PCR-putkien fluoresenssin voimakkuuden mukaan. Valitse **Gain Optimisation** (Poiminnan optimointi) **New Run Wizard** (Uuden ajon ohjattu toiminto) -valintaikkunassa, ja **Auto-Gain Optimisation Setup** (Automaattisen poiminnan optimointiasetukset) -valintaikkuna avautuu (katso vaihe 6 ja kuva 7 protokollalomakkeessa *Settings to run artus QS-RGQ Kits*).

Aseta yhtä analyysiajoo varten kalibrointilämpötila **65** asteeseen, jotta se täsmää vahvistusohjelman lämpökäsittelylämpötilaan. Säädä fluoresenssikanavan voimakkuuksia manuaalisesti usean analyysin ajossa, jossa sekä EBV että CMV analysoidaan samassa PCR:ssä.

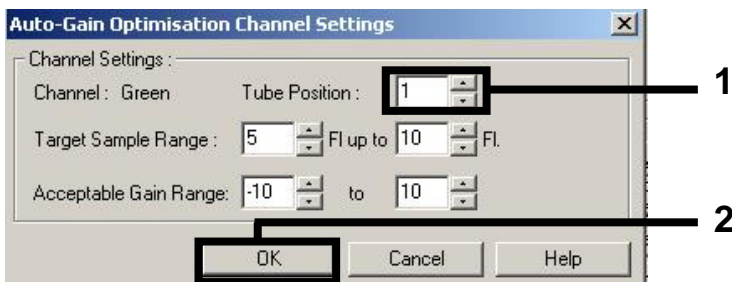
\* Mahdollisuuksien mukaan Rotor-Gene Q 5plex HRM -laite, joka on valmistettu tammikuussa 2010 tai myöhemmin. Valmistuspäivä on nähtävissä laitteen taustapuolella olevasta sarjanumerosta. Sarjanumero on muodossa "kkvnnn", jossa "kk" on valmistuskuukausi, "vv" on valmistusvuoden kaksi viimeistä numeroa ja "nnn" on laitteen tunnistenumero.

1. Muokkaa fluoresenssikanavia valitsemalla **Edit** (Muokkaa) (kuva 1).



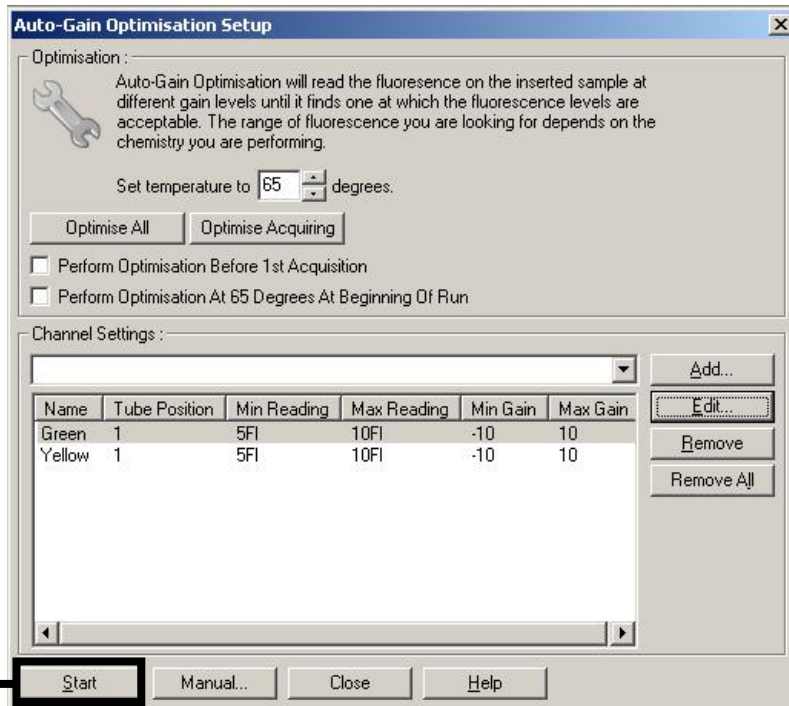
**Kuva 1. Fluoresenssikanavan voimakkuuden säätäminen manuaalisesti.** Säädä jokaisen fluoresenssikanavan voimakkuutta eri putken asennoissa eri analyyseille (CMV ja EBV).

2. Aseta putken asento ensimmäiseen *artus*-analyysiin (esim. EBV). Aseta putken asento kaikille fluoresenssikanaville ja valitse sitten **OK** (kuva 2).



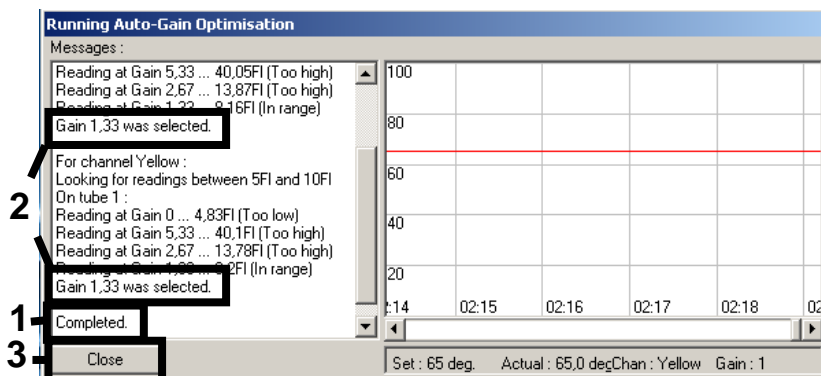
**Kuva 2. Putken asennon asettaminen.**

- Aloita poiminnan optimointi ensimmäiselle *artus*-analyysille valitsemalla **Start** (Aloita) (kuva 3).



Kuva 3. Poiminnan optimoinnin aloittaminen.

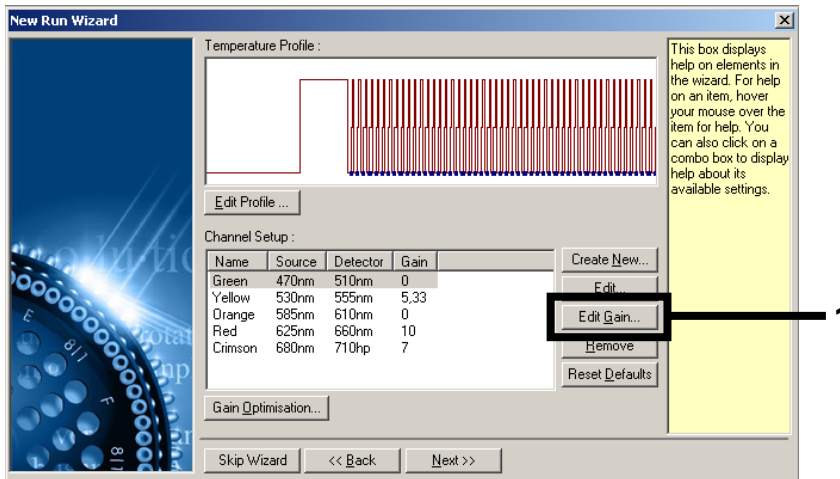
- Uusi **Running Auto-Gain Optimisation** (Automaattisen poiminnan optimoinnin ajaminen) -ikkuna avautuu. Odota, kunnes **Completed** (Suoritettu) näkyy tässä ikkunassa (kuva 4). Kirjaa valitut poiminta-arvot molemmille kanaville ja valitse sitten **Close** (Sulje) (kuva 4).



Kuva 4. Poiminnan optimointi on suoritettu. Kirjaa poiminta-arvot (tässä tapauksessa 1,33 molemmille fluoresenssikanaville).

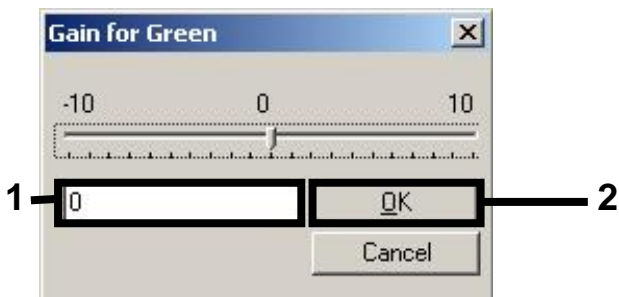
- Toista vaiheet 1–4 putken asennolle toisesta *artus*-analyysia varten (esim. CMV).

6. Muokkaa poiminta-arvoja manuaalisesti valitsemalla **Edit Gain** (Muokkaa poimintaa) (kuva 5).



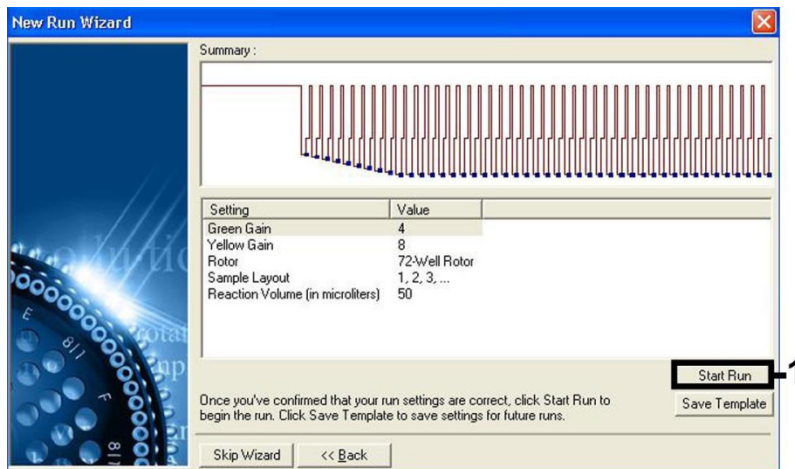
Kuva 5. Poiminta-arvojen muokkaaminen manuaalisesti.

7. Valitse matalin poiminta-arvo vaiheen 4 vihreälle jaksolle ja anna tämä arvo manuaalisesti **Gain for Green** (Poiminta vihreälle) -ikkunassa (kuva 6). Valitse matalin poiminta-arvo vaiheen 4 keltaiselle jaksolle ja anna tämä arvo manuaalisesti **Gain for Yellow** (Poiminta keltaiselle) -ikkunassa (kuva 6).



Kuva 6. Matalinten poiminta-arvojen antaminen manuaalisesti.

8. Kanavan kalibroinnilla määritetyt (tai manuaalisesti osoitetut) poiminta-arvot tallennetaan automaattisesti, ja ne luetaan ohjelmointitoimenpiteen viimeisessä valikkoikkunassa (kuva 7). Valitse **Start Run** (Aloita ajo).



**Kuva 7. Ajon aloittaminen.**

## Tulosten tulkinta

Tämä osio kuvaa tulosten tulkitsemista Rotor-Gene Q:ssa. Katso myös näytteen tilatiedot QIASymphony SP/AS -tulostiedostoista analysoidessasi koko työnkulkua näytteestä tulokseen. Käytä vain näytteitä, joiden tila on kelvollinen.

*artus* EBV QS-RGQ -sarjan voi ajaa Rotor-Gene Q:lla käyttäen manuaalista analyysia Rotor-Gene Q -ohjelmistoversiossa 2.1 tai uudemmassa. Seuraavat osiot kuvaavat tulosten tulkintaa käyttäen Rotor-Gene Q -ohjelmiston versiota 2.1 tai uudemmaa.

## Signaalin havaitseminen ja päätelmät – veri

Signaali kanavassa Vihreä jakso	Signaali kanavassa Keltainen jakso	Kvantitatiivinen tulos (kopiota/ml)	Tulkinta
Kyllä	Kyllä	<288,3	Kelvollinen tulos: EBV DNA havaittu, <1000 kopiota/ml. Laskenta ei ole mahdollinen, sillä kvantitatiivinen tulos on havaitsemisrajan alapuolella. Positiivisen tuloksen toistettavuutta ei voi taata.
Kyllä	Kyllä	≥288,3 ja <1000	Kelvollinen tulos: EBV DNA havaittu, <1000 kopiota/ml. Laskenta ei ole mahdollinen, sillä kvantitatiivinen tulos on analyysin lineaarisen alueen alapuolella.
Kyllä	Kyllä/Ei**	≥1000 ja ≤5 x 10 <sup>7</sup>	Kelvollinen tulos: EBV DNA havaittu lasketulla pitoisuudella. Kvantitatiivinen tulos on analyysin lineaarisen alueen sisällä.
Kyllä	Kyllä/Ei**	>5 x 10 <sup>7</sup>	Kelvollinen tulos: EBV DNA havaittu, >5 x 10 <sup>7</sup> kopiota/ml. Laskenta ei ole mahdollinen, sillä kvantitatiivinen tulos on analyysin lineaarisen alueen yläpuolella.*
Ei	Kyllä	–	Kelvollinen tulos: EBV DNA:ta ei ole havaittavissa.†
Ei	Ei	–	Virheellinen tulos: Tulosta ei voi päätellä.‡

\* Jos kvantitointi halutaan, näyte voidaan laimentaa EBV-vapaalla verellä ja käsitellä uudelleen. Kerro toistetun näytteen kvantitatiivinen tulos laimennuskertoimella.

† Jos negatiivisen näytteen sisäisen kontrollin C<sub>T</sub>-arvo on 3 jaksoa korkeampi kuin ei-templaattikontrollin sisäisen kontrollin C<sub>T</sub>-arvo ajossa (C<sub>T</sub> IC Sample – C<sub>T</sub> IC NTC >3), näytettä on pidettävä virheellisenä. Tulosta ei voi päätellä.

‡ Tiedot virheellisistä lähteistä ja niiden ratkaisut ovat artus EBV QS-RGQ -sarjan käyttöoppaan vianetsintäoppaassa.

\*\* Tässä tapauksessa keltaisen jakson kanavassa havaittu signaali on tarpeeton, sillä korkeat EBV DNA (positiivinen signaali vihreän jakson kanavassa) -alkupitoisuudet voivat johtaa heikentyneeseen tai puuttuvaan sisäisen kontrollin fluoresenssisignaaliin keltaisen jakson kanavassa (kilpailu).

## Kynnysasetus PCR-analyysille

Optimaaliset kynnysasetukset Rotor-Gene Q -instrumentin ja artus QS-RGQ -sarjan yhdistelmälle on asetettava empiirisesti testaamalla kutakin yksittäistä yhdistelmää, sillä se on suhteellinen arvo,

joka on diagnostisen kokonaistyönkulun mukainen. Kynnys voidaan asettaa alkuarvoon 0,04 ensimmäisen PCR-ajon analyysille, mutta tätä arvoa on säädettävä seuraavien työnkulun ajojen vertailevassa analyysissa. Kynnys on asetettava manuaalisesti juuri negatiivisten kontrollien ja negatiivisten näytteiden taustasignaalin yläpuolelle. Näistä kokeiluista laskettu kynnyksen keskiarvo sopii todennäköisesti suurimpaan osaan tulevista ajoista, mutta käyttäjän on siitä huolimatta tarkistettava tuotettu kynnysarvo säännöllisesti. Kynnysarvo on yleensä välillä 0,03–0,05 ja se on pyöristettävä enintään kolmen desimaalin tarkkuudella.

## Kvantitointi

*artus* EBV QS-RGQ -sarjan kvantitointistandardeja (EBV QS 1–4) käsitellään aiemmin puhdistettuina näytteinä ja niihin käytetään samaa tilavuutta (20 µl). Jotta vakiokäyrän voi tuottaa Rotor-Gene Q -instrumenteilla, kaikki 4 kvantitointistandardia on käytettävä ja määriteltävä Rotor-Gene Q -instrumentin **Edit Samples** (Muokkaa näytteitä) -valintaruudussa standardeina, joille on määritelty pitoisuudet (katso laitteen käyttöopas).

**Huomautus:** Kvantitointistandardit määritellään kopioina/µl elutiiossa. Seuraavaa yhtälöä on käytettävä, kun standardikäyrää käyttäen määritellyt arvot muutetaan näyttemateriaalin kopioiksi/ml.

$$\text{Tulos näyttemateriaalissa (kopioita/ml)} = \frac{\text{Tulos eluatissa (kopioita/µl)} \times \text{eluution alkutilavuus (90 µl)}^*}{\text{Näytetilavuus (ml)}}$$

Periaatteen vuoksi näytteen alkutilavuus on annettava yllä olevaan yhtälöön. Tämä on otettava huomioon, kun näytetilavuutta on muutettu ennen nukleiinihapon uuttamista (esim. tilavuuden pienentäminen sentrifugoimalla tai tilavuuden lisääminen lisäämällä eristämiseen tarvittavaa tilavuutta).

Varmista usean analyysin ajossa, jossa sekä CMV että EBV analysoitiin samassa PCR:ssä, että CMV- ja EBV-näytteet analysoidaan erikseen niitä vastaavilla kvantitointistandardeilla.

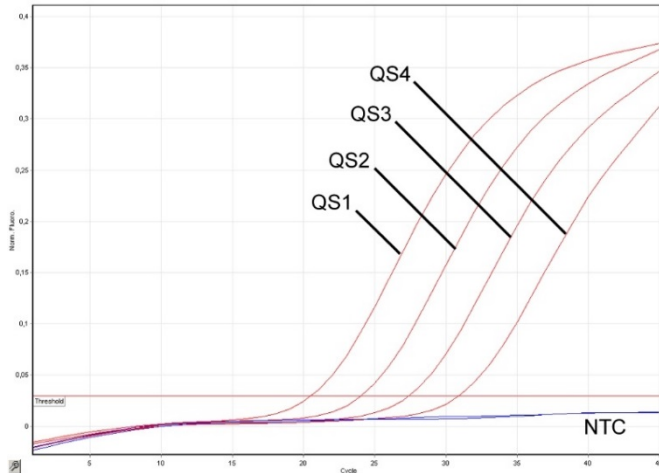
## Muuntokerroin

1 kopio/ml vastaa 0,140 IU:ta/ml EBV DNA:n tunnistamiseen ihmisen EDTA-kokoverestä Rotor Gene Q:lla. Tämä muuntokerroin on käytössä, kun tässä sovelluslomakkeessa kuvattua vahvistettua työnkulkua noudatetaan. Muuntokerroin on arvio, joka perustuu keskimääräiseen kertoimeen analyysin dynaamisella alueella.

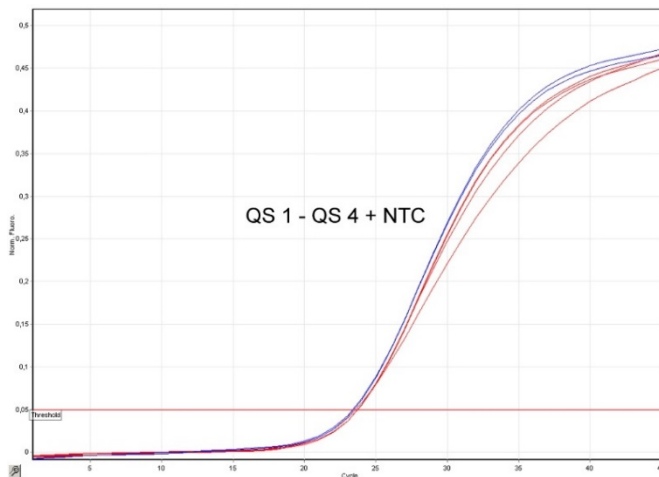
\* Laskelma perustuu eluution alkutilavuuksiin (90 µl).



## Esimerkkejä positiivisista ja negatiivisista PCR-reaktioista



**Kvantitointistandardien tunnistus (EBV QS 1–4) fluoresenssikanavassa, vihreä jakso** NTC: Ei templaattikontrollia (negatiivinen kontrolli).



**Sisäisen kontrollin (IC) tunnistus keltaisen jakson fluoresenssikanavassa samanaikaisella kvantitointistandardien vahvistuksella (EBV QS 1–4).** NTC: Ei templaattikontrollia (negatiivinen kontrolli).

## Asiakirjan muutoshistoria

Syyskuu 2017

Lisätty tietoja muutokertoimesta (kopioita IU:hin/ml). Poistettu alaviite, jossa ilmoitetaan, että enintään 216 analyysia voidaan asettaa yhdessä AS-ajossa. Muutettu vaadittuja materiaaleja siten, että vain materiaalit, joita vaaditaan enintään 72 reaktion integroituun ajoasetukseen QS-SP/AS:lla, on sisällytetty. Lisätty yksityiskohtaisempia tietoja materiaalien käytöstä usean analyysin ajoon EBV:llä (CMV IC:n käyttö). Lisätty tietoja QIASymphony Management Console -ohjelmiston käytöstä carrierRNA:lle ja IC-valmisteluun Toimenpide-osiassa. Laboratoriovälineiden valmistaja muutettu BD:stä Corning labwareen. Selvennetty RGGQ:n ajoasetuksia (kosketustoiminnon käyttäminen, poiminnat). Lisätty tietoja tulosten tulkitsemisesta niin, että mukana ovat positiivisen patogeenin ja negatiivisen IC:n tapaukset. Poistettu Rotor-Gene AssayManagerin käyttöä koskevia ohjeita. Muutettu kvantitatiiviset tulosrajat täsmäämään päivitettyjen lineaaristen aluearvojen. Selvennetty eluaatin ja näytepitoisuuden eroa kvantitointilaskennassa. Mukautettu etuosan puhdistusluettelointia.

Voimassa olevat lisenssitiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet ovat saatavilla tuotekohtaisista QIAGEN-sarjojen käyttöoppaista tai käsikirjoista. QIAGEN-sarjojen käsikirjat ja käyttöoppaat löytyvät osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), tai niitä voi tiedustella QIAGENin teknisestä huollosta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

Tavaramerkit: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); BD™ (Becton, Dickinson and Company); Corning® (Corning Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Tässä asiakirjassa mainittuja rekisteröityjä nimiä, tavaramerkkejä jne. on pidettävä lain suojaamina, vaikkei niitä olisi erityisesti sellaisiksi merkitty. 09/2017 HB-0357-S01-002  
© 2012–2017 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään

---

Tilaukset [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Tekninen tuki [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Verkkosivusto [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)