

septembar 2017

# QIAAsymphony<sup>®</sup> RGQ aplikacioni list

*artus*<sup>®</sup> EBV QS-RGQ komplet (tip uzorka:  
plazma)

IVD



REF

4501363SR *artus* EBV QS-RGQ Kit, Version 1.



Proverite dostupnost novih elektronskih revizija označavanja na  
[www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx) pre izvođenja testa.

## Opšte informacije

Komplet	<i>artus</i> EBV QS-RGQ Kit, Version 1 (kat. br. 4501363)
Validirani materijal uzorka	Ljudska EDTA plazma
Početno prečišćavanje	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat. br. 937055)
Zapremina uzorka (uključujući volumen viška)	1200 µl
Set parametara testa	<i>artus</i> _EBV_plasma1000_V5 MA_ <i>artus</i> _EBV_plasma1000_V5*
Podrazumevani set kontrola testa	Cellfree1000_V7_DSP_ <i>artus</i> _EBV
Zapremina eluata	60 µl
Potrebna verzija softvera	Verzija 4.0 ili viša
Zapremina master smeše	30 µl
Zapremina predloška	20 µl
Broj reakcija	6-24
Vreme izvođenja na AS modulu	Za 6 reakcije: približno 9 minuta Za 72 reakcije: približno 35 minuta

\* Protokol za izvođenje više testova sa *artus* CMV QS-RGQ kompletom za unošenje CMV RG IC za proces prečišćavanja i postavljanje testa.

## Potreban materijal koji se ne isporučuje

### Komplet za prečišćavanje

- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (QIASymphony DSP virus/patogen midi komplet) (kat. br. 937055)

### Adapteri za QIASymphony SP

- Elution Microtube Rack QS (Stalak za mikroeprovete za eluiranje QS) (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, kat. br. 9020730)
- Okvir za prenos

- Tube Insert 3B (Umetak za epruvete 3B) (Insert, 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym, kat. br. 9242083)

#### Potrošni materijal za QIASymphony SP

- Sample Prep Cartridges, 8-well (Kasete za pripremu uzoraka, 8 bunarčića) (kat. br. 997002)
- 8-Rod Covers (Poklopci sa 8 štapića) (kat. br. 997004)
- Filter-Tips (Nastavci sa filterima), 1500 µl (kat. br. 997024)
- Filter-Tips (Nastavci sa filterima), 200 µl (kat. br. 990332)
- Elution Microtubes CL (Mikroeprovete za eluiranje CL) (kat. br. 19588)
- Tip disposal bags (Kese za odlaganje nastavaka) (kat. br. 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Type H or Micro tubes 2.0 ml Type I (Mikroeprovete 2.0 ml Tip H ili Mikroeprovete 2.0 ml Tip I) (Sarstedt®, kat. br. 72.693 i 72.694, [www.sarstedt.com](http://www.sarstedt.com)) za upotrebu sa uzorcima i unutrašnjim kontrolama

#### Adapter i držači reagensa za QIASymphony AS

- Reagent holder 1 QS (Držać reagensa 1 QS) (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, kat. br. 9018090)
- RG Strip Tubes 72 QS (RG epruvete u stripu 72 QS) (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, kat. br. 9018092)

#### Potrošni materijal za QIASymphony AS

- Strip Tubes and Caps (Epruvete i poklopci u stripu), 0.1 ml (kat. br. 981103)
- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (Epruvete, konusne, 2 ml, Qsym AS) (kat. br. 997102)\* ili Micro tubes 2.0 ml Type I (Mikroeprovete 2.0 ml Tip I) (Sarstedt, kat. br. 72.694.005)
- Moguće: Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (Epruvete, konusne, 5 ml, Qsym AS) (kat. br. 997104) ili Epruvete sa ravnim dnom od PP (Sarstedt, kat. br. 60.558.001)
- Filter-Tips (Nastavci sa filterima), 1500 µl (kat. br. 997024)
- Filter-Tips (Nastavci sa filterima), 200 µl (kat. br. 990332)
- Filter-Tips (Nastavci sa filterima), 50 µl (kat. br. 997120)
- Tip disposal bags (Kese za odlaganje nastavaka) (kat. br. 9013395)

## Rukovanje uzorcima i njihovo čuvanje

Prikupljanje uzoraka	Uzorak krvi 5–10 ml EDTA krvi 8x mešanje okretanjem — bez mućkanja! Ne smeju se koristiti heparinizirani ljudski uzorci.
Čuvanje uzoraka	Razdvajanje: centrifugiranjem 20 minuta, 800–1600 x g unutar 24 sata nakon prikupljanja Prebaciti izoliranu plazmu u sterilnu polipropilensku epruvetu Osetljivost testa može biti smanjena ako su uzorci rutinski zamrznuti ili čuvani duži vremenski period.
Transport uzoraka	Transport zaštićen od razbijanja Isporuka unutar 24 sata Slanje poštom u skladu sa zakonskim uputstvima za transport patogenih materijala* Uzorke krvi treba transportovati na hladnom (2 do 8°C)
Ometajuće supstance	Heparin ( $\geq 10$ IU/ml) utiče na PCR. Ne smeju se koristiti uzorci prikupljeni u epruvete sa heparinom ili uzorci hepariniziranih bolesnika.
Priprema uzoraka	Sprečite stvaranje pene u ili na uzorcima Uzorci trebaju biti sobne temperature (15–25°C) pre početka izvođenja.

\* Međunarodno udruženje za vazdušni prevoz (International Air Transport Association, IATA).  
Propisi o opasnim materijama.

# Procedura

## Priprema RNA nosača i dodavanje unutrašnje kontrole u uzorke

Korišćenje QIASymphony DSP virus/patogen midi kompleta u kombinaciji sa *artus* EBV QS-RGQ kompletom zahtjeva uvođenje unutrašnje kontrole (EBV RG IC) u proces prečišćavanja zbog praćenja efikasnosti pripreme uzorka i testova koji slede.

Za izvođenje više testova gde će i CMV i EBV biti testirani u istom PCR-u, pobrinite se da je u procesu prečišćavanja korišćen CMV IC, iz *artus* CMV QS-RGQ kompleta. Koristite CMV RG IC iz iste serije za pripremu uzoraka i za postavljanje testa PCR kontrola. Nemojte koristiti CMV RG IC sa drugačijim brojem serije.

Unutrašnje kontrole se moraju dodati sa smešom RNA nosača (CARRIER) – pufera AVE (AVE), a ukupna zapremina smeše unutrašnje kontrole – RNA nosača (CARRIER) – pufera AVE (AVE) ostaje 120 µl.

Tabela predstavlja dodavanje unutrašnje kontrole u izolaciju u odnosu od 0,1 µl po 1 µl zapremine eluata. Preporučujemo pripremu svežih smeša za svaki postupak neposredno pre upotrebe. Alternativno se može koristiti alatka „IC Calculator“ u QIASymphony Management Console.

Komponenta	Zapremina (µl) (Sarstedt epruvete)*	Zapremina (µl) (Corning epruvete) <sup>†</sup>
Matični rastvor RNA nosača (CARRIER)	5	5
Unutrašnja kontrola <sup>‡</sup>	9	9
Pufer AVE	106	106
Konačna zapremina po uzorku (isključujući mrtvu zapreminu)	120	120
Ukupna zapremina za n uzoraka	$(n \times 120) + 360^{\S}$	$(n \times 120) + 600^{\P}$

\* Mikroeprovete 2.0 ml Tip H i Mikroeprovete 2.0 ml Tip I, Sarstedt kat. br. 72.693 i 72.694.

<sup>†</sup> Epruvete 14 ml, 17 x 100 mm polistirenske sa zaobljenim dnom (Corning® Inc., kat. br. 352051; Becton Dickinson je bio prethodni dobavljač ovih epruveta i Corning Inc. je sada novi dobavljač).

<sup>‡</sup> Izračunavanje unutrašnje kontrole se bazira na početnim zapreminama eluata (90 µl). Dodatna mrtva zapremina zavisi od tipa korišćene epruvete za uzorak.

<sup>§</sup> Potrebna je smeša unutrašnje kontrole koja odgovara za 3 dodatnih uzoraka (tj. 360 µl). Nemojte puniti više od 1,92 ml ukupne zapremine (odgovara za najviše 13 uzoraka). Ove zapremine su specifične za Mikroeprovete od 2.0 ml Tip H i Mikroeprovete od 2.0 ml Tip I, Sarstedt kat. br. 72.693 i 72.694).

<sup>¶</sup> Potrebna je smeša unutrašnje kontrole koja odgovara za 5 dodatnih uzoraka (tj. 600 µl). Nemojte puniti više od 13,92 ml ukupne zapremine (odgovara za najviše 111 uzoraka). Ove zapremine su specifične za Epruvete 14 ml, 17 x 100 mm polistirenske sa zaobljenim dnom, Corning Inc., kat. br. 352051; Becton Dickinson je bio prethodni dobavljač ovih epruveta i Corning Inc. je sada novi dobavljač.

## Postavljanje QIASymphony SP

### Fioka za otpad „Waste“

Držač bloka kutije 1–4	Prazni blokovi kutija
Držač kese za otpad	Kesa za otpad
Držač boce za tečni otpad	Pražnjenje i postavljanje boce za tečni otpad

### Fioka za eluat „Eluate“

Stalak za eluat	Mikroeprovete za eluat CL na stalku za mikroeprovete za eluat QS i okviru za prenos Koristiti prorez 1, pozicija hlađenja
Zapremina eluata*	Prethodno izabrana zapremina eluata: 60 µl Početna zapremina eluata: 90 µl

\* Zapremina eluata prethodno izabrana u protokolu. Ovo je najmanja dostupna zapremina eluata u konačnoj epruveti za eluiranje. Početna zapremina rastvora za eluiranje je potrebna za osiguranje da je stvarna zapremina eluata ista kao prethodno izabrana zapremina.

### Fioka za reagense i potrošni materijal „Reagents and Consumables“

RC pozicija 1 i 2	Postavite 1 kasetu sa reagensima (RC) za do 48 uzoraka ili 2 nove kasete sa reagensima (RC) za do 96 uzoraka
Pozicije držača stalka sa nastavcima 1–18	Postavite dovoljno stalaka sa nastavcima sa filterima za jednokratnu upotrebu, 200 µl i 1500 µl (pogledati „Potreban plastični pribor za 1–4 serije uzoraka“, strana 7)
Pozicija držača bloka kutije 1–4	Postavite kutije koje sadrže kadete za pripremu uzoraka i poklopce sa 8 štapića (pogledati „Potreban plastični pribor za 1–4 serije uzoraka“, strana 7)

Fioka za uzorke „Sample“

Tip uzorka	Ljudska EDTA plazma
Zapremina uzorka (uključujući volumen viška)	1200 µl
Epruvete za uzorke	Mikroepuvete 2.0 ml Tip H ili Mikroepuvete 2.0 ml Tip I, Sarstedt kat. br. 72.693 i 72.694)
Umetak	Umetak za epruvete 3B (kat. br. 9242083)

Potreban plastični pribor za 1–4 serije uzoraka

Komponenta	Jedna serija, 24 uzoraka*	Dve serije, 48 uzoraka*	Tri serije, 72 uzoraka*	Četiri serije, 96 uzoraka*
Nastavcima sa filterima za jednokratnu upotrebu, 200 µl <sup>†</sup>	28	52	76	100
Nastavcima sa filterima za jednokratnu upotrebu, 1500 µl <sup>†</sup>	113	206	309	402
Kasete za pripremu uzorka <sup>§</sup>	21	42	54	72
Poklopci sa 8 štapića <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* Korišćenje više od jedne epruvete sa unutrašnjom kontrolom i izvođenje više od jednog pregleda inventara zahteva dodatne nastavke sa filterima za jednokratnu upotrebu.

<sup>†</sup> Na jednom stalku ima 32 nastavka sa filterima.

<sup>‡</sup> Broj potrebnih nastavaka sa filterima uključuje nastavke sa filterima za 1 pregled inventara po kaseti sa reagensima.

<sup>§</sup> U jednom bloku kutije ima 28 kaseti za pripremu uzorka.

<sup>¶</sup> U jednom bloku kutije ima 12 poklopaca sa 8 štapića.

## Postavljanje QIASymphony AS

### Potrošni materijal

Tokom postavljanja, odgovarajuće pozicije za sve potrošne materijale na QIASymphony AS modulu su označene na ekranu uređaja osjetljivom na dodir.

Potrošni materijal	Naziv na ekranu	Za upotrebu sa adapterom/ držačem reagensa
Epruvete i poklopci u stripu, 0.1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG epruvete u stripu 72 QS
Epruvete, konusne, 2 ml, Qsym AS (500) <sup>†‡</sup>	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt <sup>§</sup>	Držač reagensa 1 QS
Epruvete, konusne, 5 ml, Qsym AS (500) <sup>†‡</sup>	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt <sup>§</sup>	Držač reagensa 1 QS

\* Označava laboratorijski pribor koji se može hladiti pomoću adaptera za hlađenje sa bar kodom.

<sup>†</sup> Za komponente master smeše, master smešu pripremljenu za sistem, standarde testova i kontrole testova.

<sup>‡</sup> Alternativno se mogu koristiti Sarstedt epruvete opisane u „Potreban materijal koji se ne isporučuje“, strana 2.

<sup>§</sup> Sufiks „(m)“ na ekranu osjetljivom na dodir pokazuje da je izračunavanje nivoa tečnosti za odgovarajuću epruvetu optimizovan za reagense koji tvore konkavni meniskus.

### Adapteri i držači reagensa

Stalak/držač reagensa	Naziv	Potreban broj <sup>¶</sup>
Držači reagensa	Držač reagensa 1 QS	1
Stalci za uzorke	RG epruvete u stripu 72 QS	1

<sup>¶</sup> Izračunato za testiranje sa 72 reakcije.



## Nastavci sa filterima

Postavite stalke sa nastavcima počevši od proreza za nastavke 1, 2 i 3 u fioci „Eluate and reagents“(target?), a zatim postavite stalke sa nastavcima u proreze za nastavke 7, 8 i 9 u fioci „Assays“(target?).

Potrošni materijal	Naziv na ekranu	Najmanji broj za 24 reakcije	Najmanji broj za 72 reakcije
Nastavci sa filterima, 1500 µl (1024)	1500 µl	4	5
Nastavci sa filterima, 200 µl (1024)	200 µl	9	8
Nastavci sa filterima, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Kese za odlaganje nastavaka	–	1	1

## PCR na Rotor-Gene Q\*

Pogledajte list protokola specifičan za softver „Postavke za pokretanje *artus* QS-RGQ kompleta“ (*Settings to run artus QS-RGQ Kits*) na [www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx).

### Specifične postavke za *artus* EBV QS-RGQ komplet

Sa Rotor-Gene® softverom 2.1 ili više, specifične postavke su prikazane ispod.

Reakciona zapremina (µl)	50
Čuvanje	Temperatura čuvanja: 95 stepeni Vreme čuvanja: 10 minuta
Ciklusi	45 puta 95 stepeni na 15 sekundi 65 stepeni na 30 sekundi (prikupite za zeleno, žuto i aktivirajte funkciju „touchdown“ za 10 ciklusa) 72 stepeni na 20 sekundi
Postavljanje automatske optimizacije pojačanja	65 stepeni (uzorci: zeleno; IC: žuto)

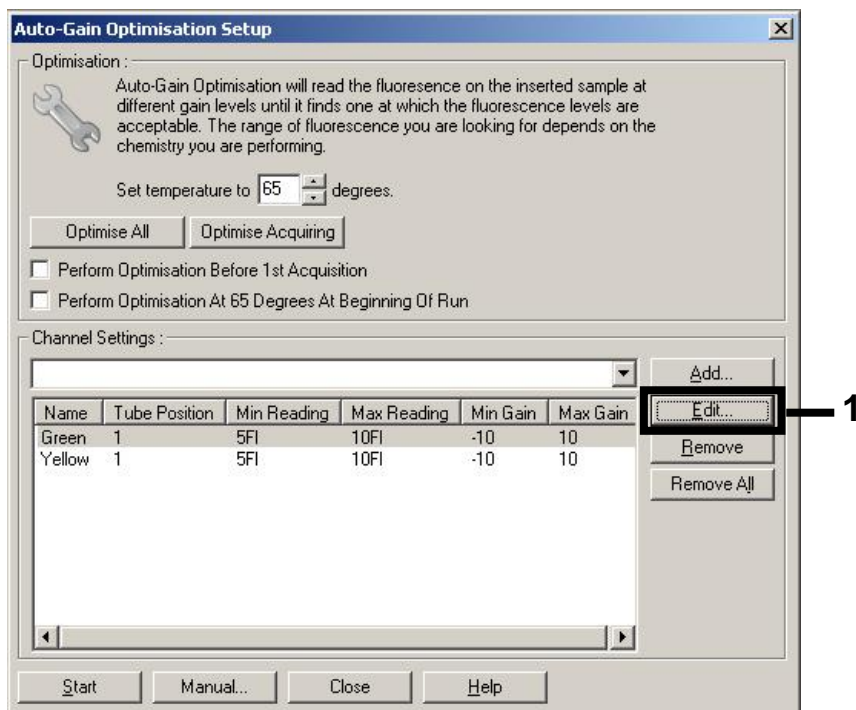
### Izvođenje više testova

Opseg detekcije fluorescentnih kanala mora se odrediti prema intenzitetu fluorescencije u PCR epruvetama. Kliknite na „**Gain Optimisation**“ (Optimizacija pojačanja) u dijalogu „**New Run Wizard**“ (Čarobnjak za novo izvođenje) da biste otvorili dijalog „**Auto-Gain Optimisation Setup**“ (Podešavanje optimizacije automatskog pojačanja) (pogledajte Korak 6 i Sliku 7 u listu protokola „Postavke za pokretanje *artus* QS-RGQ kompleta“ (*Settings to run artus QS-RGQ Kits*)).

Za jedno izvođenje testa, postavite temperaturu kalibracije na **65** kako biste uskladili temperature vezanja programa za pojačanje. Za izvođenje više testova gde će se i EBV i CMV istovremeno testirati u istom PCR-u, ručno podesite intenzitete fluorescentnih kanala.

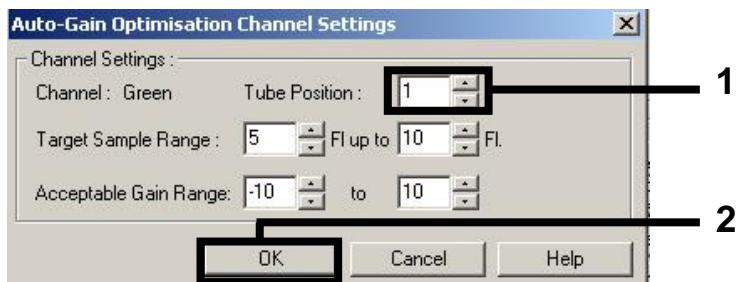
\* Ukoliko je primenljivo, Rotor-Gene Q 5plex HRM instrument proizveden u januaru 2010. godine ili kasnije. Datum proizvodnje se može pronaći u okviru serijskog broja na zadnjoj strani instrumenta. Serijski broj je naveden u obliku „mmggnnn“, gde „mm“ označava mesec proizvodnje u ciframa, „gg“ označava poslednje dve cifre godine proizvodnje, a „nnn“ predstavlja jedinstvenu identifikaciju instrumenta.

1. Kliknite na „Edit“ (Uredi) (Slika 1) da biste uredili fluorescentne kanale.



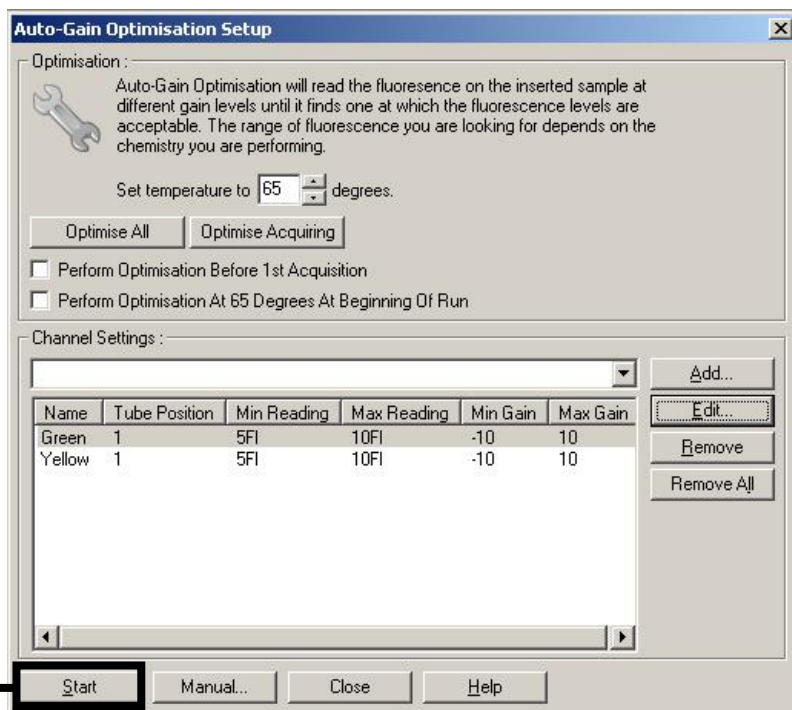
**Slika 1. Ručno podešavanje intenziteta fluorescentnog kanala.** Podesite intenzitet za svaki fluorescentni kanal na različitoj poziciji epruvete za različite testove (CMV i EBV).

2. Podesite poziciju epruvete za prvi *artus* test (npr. EBV). Podesite poziciju epruvete za sve fluorescentne kanale i kliknite na „OK“ (U redu) (Slika 2).



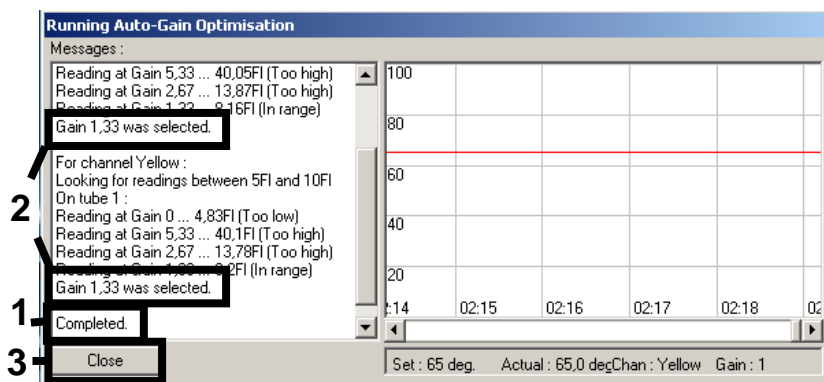
**Slika 2. Podešavanje pozicije epruvete.**

- Kliknite na „**Start**“ (Pokreni) da biste započeli optimizaciju pojačanja za prvi *artus* test (Slika 3).



**Slika 3. Pokretanje optimizacije pojačanja.**

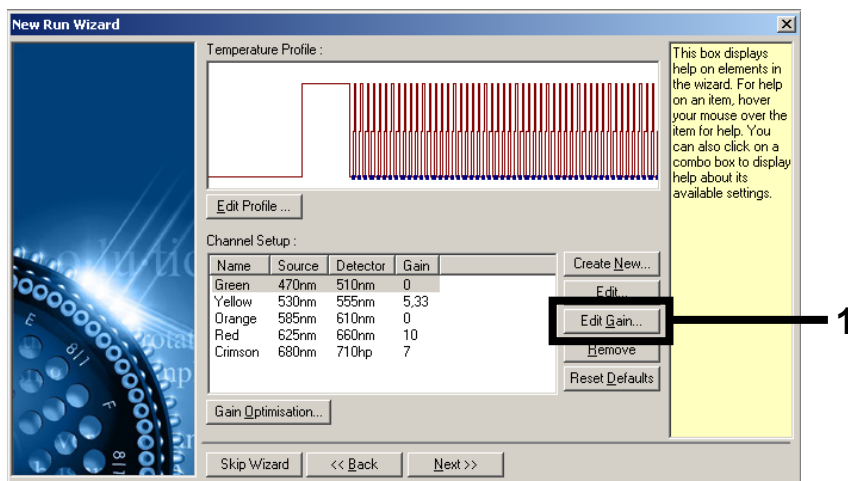
- Otvora se novi prozor „**Running Auto-Gain Optimisation**“ (Izvođenje optimizacije automatskoj pojačanja). Sačekajte da se u ovom prozoru prikaže „**Completed**“ (Završeno) (Slika 4). Zapišite izabrane vrednosti pojačanja za oba kanala, a zatim kliknite na „**Close**“ (Zatvori) (Slika 4).



**Slika 4. Optimizacija pojačanja je završena.** Zapišite vrednosti pojačanja (u ovom slučaju, 1,33 za oba fluorescentna kanala).

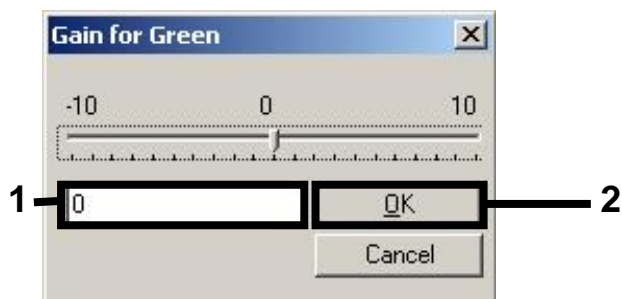
- Ponovite korake 1–4 za poziciju epruvete za drugi *artus* test (npr. CMV).

6. Kliknite na „**Edit Gain**“ (Uredi pojačanje) da biste ručno uredili vrednosti pojačanja (Slika 5).



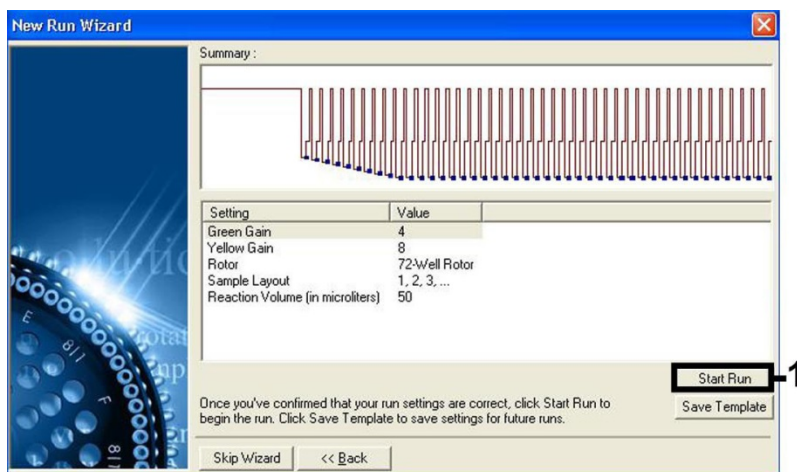
**Slika 5. Ručno uređivanje vrednosti pojačanja.**

7. Izaberite najnižu vrednost pojačanja za zeleni ciklus iz koraka 4 i ručno unesite ovu vrednost u prozor „**Gain for Green**“ (Pojačanje za zeleno) (Slika 6). Izaberite najnižu vrednost pojačanja za žuti ciklus iz koraka 4 i ručno unesite ovu vrednost u prozor „**Gain for Yellow**“ (Pojačanje za žuto) (Slika 6).



**Slika 6. Ručno unošenje najnižih vrednosti pojačanja.**

8. Vrednosti pojačanja određene kalibracijom kanala (ili dodeljene ručno) se automatski čuvaju i prikazuju se u zadnjem prozoru menija procedure programiranja (Slika 7). Kliknite na „**Start Run**“ (Pokreni ciklus).



Slika 7. Pokretanje ciklusa.

## Tumačenje rezultata

U ovom odeljku se opisuje tumačenje rezultata na Rotor-Gene Q. Takođe pregledajte informacije statusa uzoraka iz QIASymphony SP/AS datoteka sa rezultatima radi analiziranja potpunog radnog procesa od uzorka do rezultata. Treba koristiti samo uzorke sa važećim statusom.

*artus* EBV QS-RGQ komplet se može izvoditi na Rotor-Gene Q sa ručnom analizom sa Rotor-Gene Q softver 2.1 ili više. U sledećim odeljcima se opisuje tumačenje rezultata sa Rotor-Gene Q softverom 2.1 ili više.

Detekcija signala i zaključci — plazma

Signal na kanalu Cycling Green	Signal na kanalu Cycling Yellow	Kvantitativni rezultat (kopija/ml)	Interpretacija
Da	Da	<157	Važeći rezultat: EBV DNA detektovana, <157 kopija/ml. Kvantifikacija nije moguća jer je kvantitativni rezultat ispod granice detekcije. Ponovljivost pozitivnog rezultata nije osigurana.
Da	Da	≥157 i <631	Važeći rezultat: EBV DNA detektovana, <631 kopija/ml. Kvantifikacija nije moguća jer je kvantitativni rezultat ispod linearnog opsega testa.
Da	Da/Ne**	≥631 i ≤1 x 10 <sup>7</sup>	Važeći rezultat: EBV DNA detektovana uz izračunatu koncentraciju. Kvantitativni rezultat je unutar linearnog opsega testa.
Da	Da/Ne**	>1 x 10 <sup>7</sup>	Važeći rezultat: EBV DNA detektovana, >1 x 10 <sup>7</sup> kopija/ml. Kvantifikacija nije moguća jer je kvantitativni rezultat iznad linearnog opsega testa.*
Ne	Da	–	Važeći rezultat: Nije moguće detektovati EBV DNA.†
Ne	Ne	–	Nevažeći rezultat: Ne može se zaključiti o rezultatu.‡

\* Ako je potrebna kvantifikacija, razblažite uzorak sa plazmom bez EBV-a i ponovite postupak. Pomnožite kvantitativni rezultat ponovljenog uzorka sa faktorom razblaženja.

† Ako je C<sub>T</sub> vrednost za unutrašnju kontrolu negativnog uzorka više od 3 ciklusa veća od C<sub>T</sub> vrednosti za unutrašnju kontrolu za kontrolu bez predloška (C<sub>T</sub> u. k. uzorka – C<sub>T</sub> u. k. bez predloška >3), uzorak treba smatrati nevažecim. Ne može se zaključiti o rezultatu.

‡ Informacije o izvorima grešaka i njihova rešenja možete pronaći u „Vodiču za rešavanje problema“ (Troubleshooting Guide) u Priručniku za *artus* EBV QS-RGQ komplet (*artus EBV QS-RGQ Kit Handbook*).

\*\* U ovom slučaju, detekcija signala na kanalu Cycling Yellow je opciona, pošto visoke početne koncentracije EBV DNA (pozitivni signal na kanalu Cycling Green) mogu dovesti do smanjenog ili odsutnog fluorescentnog signala unutrašnje kontrole u kanalu Cycling Yellow (konkurencija).

## Postavljanje praga za PCR analiziranje

Optimalne postavke praga za određenu kombinaciju instrumenta Rotor-Gene Q i *artus* QS-RGQ kompleta treba postaviti empirijski testiranjem svake pojedinačne kombinacije jer je to relativna vrednost zavisna od čitavog dijagnostičkog radnog procesa. Prag se može postaviti na početnu vrednost od 0,04 za analiziranje prvog PCR testa, ali ovu vrednost treba podesiti u komparativnoj analizi sledećih testova u radnom procesu. Prag treba postaviti ručno odmah iznad signala pozadine negativnih kontrola i negativnih uzoraka. Srednja vrednost praga izračunata iz ovih eksperimenata će najverovatnije raditi u većini budućih testova, ali korisnik ipak treba da pregleda dobijenu vrednost praga u redovnim intervalima. Vrednost praga će obično biti u opsegu od 0,03–0,05 i treba je zaokružiti na najviše tri decimalna mesta.

## Kvantifikacija

Standardi za kvantifikaciju (EBV QS 1–4) u *artus* EBV QS-RGQ kompletu se tretiraju kao prethodno prečišćeni uzorci i koristi se ista zapremina (20 µl). Za generisanje standardne krive na Rotor-Gene Q instrumentima, treba koristiti sva 4 standarda za kvantifikaciju i definisati ih u dijalogu „**Edit Samples**“ (Uredi uzorke) na Rotor-Gene Q instrumentu kao standard sa specifičnim koncentracijama (pogledati priručnik za korisnika instrumenta).

**Napomena:** Standardi za kvantifikaciju su definisani kao kopije/µl u eluatu. Potrebno je primeniti sledeću jednačinu za konverziju vrednosti utvrđenih pomoću standardne krive u kopije/ml materijala uzorka.

$$\text{Rezultat u materijalu uzorka (kopije/ml)} = \frac{\text{Rezultat u eluatu (kopije/}\mu\text{l)} \times \text{Početna zapremina eluata (90 }\mu\text{l)}^*}{\text{Zapremina uzorka (ml)}}$$

Početnu zapreminu uzorka treba uneti u gornju jednačinu kao stvar principa. Ovo treba uzeti u obzir kada je zapremina uzorka promenjena pre ekstrakcije nukleinske kiseline (npr. smanjenje zapremine centrifugiranjem ili povećanje zapremine dodavanjem količine potrebne za izolaciju).

Za izvođenje više testova gde su i CMV i EBV testirani istovremeno u PCR-u, uverite se da su uzorci analizirani zasebno za CMV i EBV, uz odgovarajuće standarde kvantifikacije.

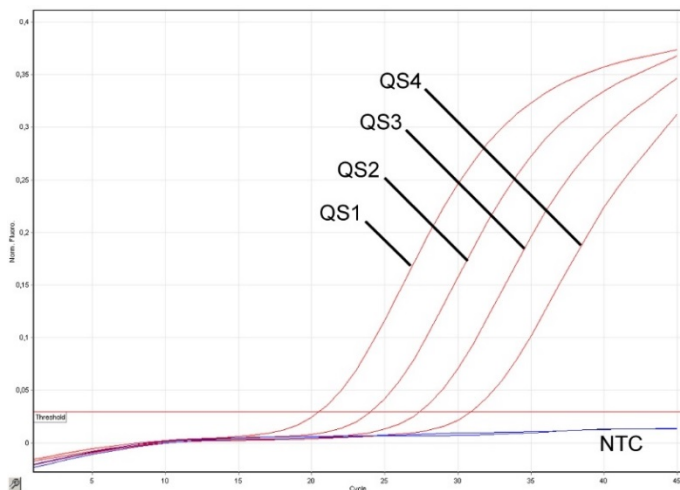
\* Izračunavanje se bazira na početnim zapreminama eluata (90 µl).



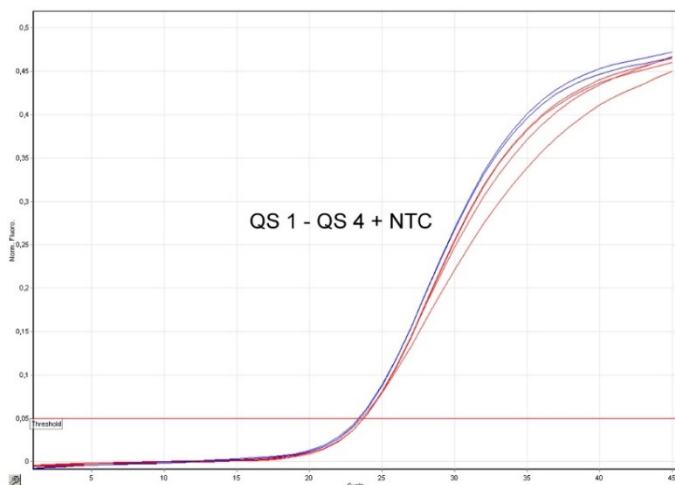
## Faktor konverzije

1 kopija/ml odgovara 0,142 IU/ml za detekciju EBV DNA dobijene iz ljudske EDTA plazme na Rotor-Gene Q. Ovaj faktor konverzije se primenjuje tokom pridržavanja validiranog radnog procesa kako je navedeno u ovom aplikacionom listu. Faktor konverzije je približna vrednost bazirana na prosečnom faktoru u dinamičkom opsegu testa.

## Primeri pozitivnih i negativnih PCR reakcija



**Detekcija standarda za kvantifikaciju (EBV QS 1–4) na fluorescentnom kanalu Cycling Green.** NTC: Kontrola bez predloška (negativna kontrola).



**Detekcija unutrašnje kontrole (IC) u fluorescentnom kanalu Cycling Yellow uz istovremeno pojačanje standarda kvantifikacije (EBV QS 1–4).** NTC: Kontrola bez predloška (negativna kontrola).

#### Istorija revizija dokumenta

septembar 2017

Dodate informacije o faktoru konverzije (kopije u IU/ml). Uklonjena fusnota da se do 216 testova može postaviti za jedan AS ciklus. Promenjen je potrebn materijal tako da su uključeni samo materijali potrebni za integrisano podešavanje izvođenja maks. 72 reakcije na QS-SP/AS. Dodato je više informacija o upotrebi materijala za izvođenje više testova sa EBV (upotreba CMV IC). Dodate su informacije o upotrebi softvera QIASymphony Management Console za pripremu RNA nosača i IC u odeljku „Procedura“. Promenjen je proizvođač laboratorijskog pribora iz BD u Corning. Razjašnjene su postavke RGQ ciklusa (upotreba funkcije „touchdown“, akvizicija). Pod tumačenje rezultata su dodate informacije o „patogen pozitivnim i IC negativnim“ rezultatima. Uklonjena su uputstva za upotrebu Rotor-Gene AssayManager. Promenjene su granice kvantitativnog rezultata tako da odgovaraju ažuriranim vrednostima linearnog opsega. Razjašnjena je razlika između eluata i koncentracije uzoraka u kvantitativnom proračunu. Prilagođena je lista početnog prečišćavanja. Ažurirane verzije protokola QIASymphony: povećanje broja verzije za „Set parametara testa“ sa V4 na V5 i „Podrazumevani set kontrola testa“ sa V6 na V7.

Najnovije informacije o licenciranju i odricanjima od odgovornosti specifičnim za proizvod potražite u odgovarajućem priručniku za QIAGEN komplet ili korisničkom priručniku. Priručnici za QIAGEN komplet i korisnička uputstva dostupni su na veb-adresi **[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)**, a možete da ih zatražite i od QIAGEN tehničkog servisa ili svog lokalnog distributera.

Zaštićeni znakovi: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); BD™ (Becton, Dickinson and Company); Corning® (Corning Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Registrovani nazivi, robne marke itd., koji se koriste u ovom dokumentu, čak i ako nisu posebno naznačeni kao takvi, zaštićeni su zakonom.  
09/2017 HB-0357-S02-002  
© 2012–2017 QIAGEN, sva prava zadržana

---

Porudžbine [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Tehnička podrška [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Veb-lokacija [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)