

2017 metų rugsėjis

QIAAsymphony[®] RGQ naudojimo lapas

artus[®] EBV QS-RGQ rinkinys (mėginio tipas:
plazma)

IVD

CE

REF

4501363*artus* EBV QS-RGQ rinkinys, 1 versija



Prieš atlikdami testą, patikrinkite naujo elektroninio žymėjimo peržiūrų
prieinamumą adresu www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx.

Bendroji informacija

Rinkinys	<i>artus</i> EBV QS-RGQ rinkinys, 1 versija (katalogo Nr. 4501363)
Patvirtinta mėginio medžiaga	Žmogaus EDTA plazma
Priekinis-galinis išgryninimas	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi rinkinys (katalogo Nr. 937055)
Mėginio kiekis (įskaitant perteklinį kiekį)	1200 µl
Tyrimo parametrų lapas	<i>artus</i> _EBV_plasma1000_V5 MA_ <i>artus</i> _EBV_plasma1000_V5*
Numatytasis tyrimo kontrolių rinkinys	Cellfree1000_V7_DSP_ <i>artus</i> _EBV
Išplovimo kiekis	60 µl
Reikalinga programinės įrangos versija	4.0 arba aukštesnė versija
Pagrindinio mišinio kiekis	30 µl
Šablono kiekis	20 µl
Reakijų skaičius	6–24
Veikimo laikas su AS moduliu	6 reakcijoms: maždaug 9 minutės 72 reakcijoms: maždaug 35 minutės

* Daugelio tyrimų procedūrų protokolais *artus* CMV QS-RGQ rinkiniui, įkeliant CMV RG IC išgryninimo procesui ir tyrimo nustatymui.

Reikalingos, bet netiekiamos medžiagos

Išgryninimo rinkinys

- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi rinkinys (katalogo Nr. 937055)

QIASymphony SP adapteriai

- Išplovimo mikromėgintuvėlio stovas QS (aušinimo adapteris, EMT, v2, Qsym, katalogo Nr. 9020730)

- Perkėlimo rėmas
- Mėgintuvėlių intarpas 3B (intarpas, 2.0ml v2, mėginių lai. (24), Qsym, katalogo Nr. 9242083)

QIASymphony SP vartojimo reikmenys

- Mėginių ruošinių kasetės, 8 šulinėlių (katalogo Nr. 997002)
- 8 strypų dangos (katalogo Nr. 997004)
- Filtrų antgaliai, 1500 µl (katalogo Nr. 997024)
- Filtrų antgaliai, 200 µl (katalogo Nr. 990332)
- Išplovimo mikromėgintuvėliai, CL (katalogo Nr. 19588)
- Antgalių išmetimo maišeliai (katalogo Nr. 9013395)
- Mikromėgintuvėliai, 2.0 ml, H tipo, arba mikromėgintuvėliai, 2.0 ml, I tipo (Sarstedt®, katalogo Nr. 72.693 ir 72.694, www.sarstedt.com), skirti naudojimui su mėginiais ir vidinėmis kontrolėmis

QIASymphony AS adapteriai ir reagentų laikikliai

- Reagento laikiklis, 1 QS (aušinimo adapteris, reagento laikiklis 1, Qsym, katalogo Nr. 9018090)
- RG juostelių mėgintuvėliai, 72 QS (aušinimo adapteris, RG juostelių mėgintuvėliai, 72, Qsym, katalogo Nr. 9018092)

QIASymphony AS vartojimo reikmenys

- Juostelių mėgintuvėliai ir kamšteliai, 0.1 ml (katalogo Nr. 981103)
- Kūginiai mėgintuvėliai, 2 ml, Qsym AS (katalogo Nr. 997102) arba mikromėgintuvėliai, 2.0 ml, I tipo (Sarstedt, katalogo Nr. 72.694.005)
- Variantas: kūginiai mėgintuvėliai, 5 ml, Qsym AS (katalogo Nr. 997104) arba mėgintuvėliai plokščiu pagrindu PP (Sarstedt, katalogo Nr. 60.558.001)
- Filtrų antgaliai, 1500 µl (katalogo Nr. 997024)
- Filtrų antgaliai, 200 µl (katalogo Nr. 990332)
- Filtrų antgaliai, 50 µl (katalogo Nr. 997120)
- Antgalių išmetimo maišeliai (katalogo Nr. 9013395)

Mėginių tvarkymas ir laikymas

Mėginių paėmimas	Kraujo mėginys 5–10 ml EDTA kraujas 8x maišykite iškėlę rankas — nesukite! Negalima naudoti žmogaus mėginių su heparinu.
Mėginių laikymas	Atskyrimas: 20 minučių centrifugavimo, 800–1600 x g per 24 valandas nuo paėmimo Perkelkite izoliuotą plazmą į sterilų polipropileno mėgintuvėlį. Tyrimo jautrumas gali sumažėti, jeigu įprastai užšaldysite mėginius arba laikysite juos ilgiau.
Mėginių pervežimas	Pervežkite nuo dužimo apsaugančiose pakuotėse. Pervežkite per 24 valandas. Pervežkite laikydamiesi įstatyminių reikalavimų patogeninės medžiagos pervežimui*. Kraujo mėginius reikia vežti vėsumoje (2 - 8°C)
Sąveikaujančios medžiagos	Heparinas (≥ 10 IU/ml) paveikia PGR. Negalima naudoti mėginių, paimtų į mėgintuvėlius su heparinu kaip antikoaguliantu, arba mėginių, paimtų iš pacientų, kurie vartoja hepariną.
Mėginių paruošimas	Neleiskite mėginiuose ar ant jų susiformuoti putoms. Prieš pradėdant procedūrą, mėginiai turi pasiekti kambario temperatūrą (15–25°C).

* Tarptautinė oro transporto asociacija (IATA). Reikalavimai pavojingoms prekėms.

Procedūra

Sukėlėjo RNR paruošimas ir vidinės kontrolės įlašinimas į mėginius

Naudojant QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi rinkinį kartu su *artus* EBV QS-RGQ rinkiniu, į išgryninimo procedūrą reikia įtraukti vidinę kontrolę (EBV RG IC), kad būtų kontroliuojamas mėginio paruošimo ir pasrovinio tyrimo efektyvumas.

Kai atliekate daugelio tyrimų procedūrą, kurios metu EBV ir CMV bus tiriami per tą pačią PGR, įsitikinkite, kad CMV RG IC iš *artus* CMV QS-RGQ rinkinio bus naudojama per išgryninimo procesą. Naudokite CMV RG IC iš tos pačios partijos tiek ruošdami mėginius, tiek atlikdami PGR kontrolių tyrimo nustatymą. Nenaudokite CMV RG IC su skirtingais partijų numeriais.

Vidinės kontrolės reikia lašinti su sukėlėjo RNR (CARRIER)–Buffer AVE (AVE) mišiniu ir visas vidinės kontrolės-sukėlėjo RNR (CARRIER)–Buffer AVE (AVE) mišinio kiekis lieka 120 µl.

Lentelėje parodytas vidinės kontrolės lašinimas į išskyrimą santykiu 0.1 µl su 1 µl išplovimo kiekiu. Mes rekomenduojame paruošti šviežius mišinius kiekvienai procedūrai prieš pat naudojimą.

Alternatyviai galima naudoti “IC Calculator” įrankį su QIASymphony valdymo konsole.

Komponentas	Kiekis (µl) (Sarstedt mėgintuvėliai)*	Kiekis (µl) (Corning mėgintuvėliai)
Sukėlėjo RNR (CARRIER)	5	5
Vidinė kontrolė [†]	9	9
Buffer ATE	106	106
Galutinis mėginio kiekis (neskaitant nejudamo kiekio)	120	120
Visas kiekis, skirtas n mėginiams	$(n \times 120) + 360^{\S}$	$(n \times 120) + 600^{\ddagger}$

* Mikromėgintuvėliai, 2.0 ml, H tipo, ir mikromėgintuvėliai, 2.0 ml, I tipo, Sarstedt katalogo Nr. 72.693 ir 72.694.

[†] Mėgintuvėliai, 14 ml, 17 x 100 mm polistireno, apvaliu dugnu (Corning® Inc., katalogo Nr. 352051; Becton Dickinson buvo ankstesnis šių mėgintuvėlių tiekėjas, o naujasis tiekėjas yra Corning Inc.).

[‡] Vidinės kontrolės kiekio apskaičiavimas yra paremtas pirminio išplovimo kiekiais (90 µl). Papildomas tuščias kiekis priklauso nuo naudojamo mėginio mėgintuvėlio tipo.

[§] Reikalingas vidinės kontrolės mišinys, atitinkantis 6 papildomus mėginius (t.y., 360 µl). Nepilkite daugiau kaip 1.92 ml viso kiekio (atitinkančio daugiausiai 13 mėginių). Šie kiekiai būdingi mikromėgintuvėliams, 2.0 ml, H tipo, ir mikromėgintuvėliams, 2.0 ml, I tipo, Sarstedt katalogo Nr. 72.693 ir 72.694).

[†] Reikalingas vidinės kontrolės mišinys, atitinkantis 5 papildomus mėginius (t.y., 600 µl). Nepilkite daugiau kaip 13.92 ml viso kiekio (atitinkančio daugiausiai 111 mėginių. Šie kiekiai būdingi mėgintuvėliams, 14 ml, 17 x 100 mm, polistireno, apvaliu dugnu, Corning Inc., katalogo Nr. 352051; Becton Dickinson buvo ankstesnis šių mėgintuvėlių tiekėjas, o naujasis tiekėjas yra Corning Inc.).

QIASymphony SP nustatymas

“Waste” stalčius

Įrenginių dėžės laikiklis, 1–4	Ištuštinkite įrenginių dėžes
Atliekų maišelio laikiklis	Atliekų maišelis
Skystų atliekų butelio laikiklis	Ištuštinkite ir instaliuokite skystų atliekų butelį

“Eluate” stalčius

Išplovimo stovas	Išplovimo mikromėgintuvėliai CL su išplovimo mikromėgintuvėlių stovu QS ir perkėlimo rėmu Naudokite 1 angą, aušinimo padėtį
Išplovimo kiekis*	Pasirinktas išplovimo kiekis: 60 µl Pirminis išplovimo kiekis: 90 µl

* Išplovimo kiekis protokolui yra pasirinktas iš anksto. Tai yra minimalus galimas išplovų kiekis galutiniame išplovimo mėgintuvėlyje. Pirminis išplovimo tirpalo kiekis yra reikalingas norint užtikrinti, kad faktinis išplovų kiekis bus tas pats kaip pasirinktas kiekis.

“Reagents and Consumables” stalčius

RC 1 ir 2 padėtis	Įdėkite 1 reagento kasetę (RC), skirtą iki 96 mėginių, arba 2 naujas reagentų kasetes (RC), skirtas iki 192 mėginių
Antgalių stovo laikiklio padėtys, 1–18	Įdėkite pakankamai stovų, skirtų vienkartiniams filtrų antgaliams, 200 µl ir 1500 µl (žr. “1–4 mėginių partijoms reikalingi plastikiniai indai”, psl. 8)
Įrenginių dėžės laikiklio padėtys, 1–4	Įdėkite įrenginių dėžes su mėginių paruošimo kasetėmis ir 8 strypų dangomis (žr. “1–4 mėginių partijoms reikalingi plastikiniai indai”, psl. 8)

“Sample” stalčius

Mėginio tipas	Žmogaus EDTA plazma
Mėginio kiekis (įskaitant perteklinį kiekį)	1200 µl
Mėginių mėgintuvėliai	Mikromėgintuvėliai, 2.0 ml, H tipo, arba mikromėgintuvėliai, 2.0 ml, I tipo (Sarstedt, katalogo Nr. 72.693 ir 72.694)
Intarpas	Mėgintuvėlių intarpas 3B (katalogo Nr. 9242083)

1–4 mėginių partijoms reikalingi plastikiniai indai

Komponentas	Viena partija, 24 mėginiai*	Dvi partijos, 48 mėginiai*	Trys partijos, 72 mėginiai*	Ketrios partijos, 96 mėginiai*
Vienkartiniai filtrų antgaliai, 200 µl [†]	28	52	76	100
Vienkartiniai filtrų antgaliai, 1500 µl [†]	113	206	309	402
Mėginių paruošimo kasetės [§]	21	42	54	72
8 strypų dangos [¶]	3	6	9	12

* Naudojant daugiau kaip vieną vidinės kontrolės mėgintuvėlį vienai partijai ir atliekant daugiau kaip vieną inventoriaus skenavimą, reikalingi papildomi vienkartiniai filtrų antgaliai.

[†] Antgalių stovė yra po 32 filtrų antgalius.

[‡] Į reikalingų filtrų antgalių skaičių įeina filtrų antgaliai, skirti 1 inventoriaus skenavimui su viena reagentų kasete.

[§] Įrenginių dėžėje yra po 28 mėginių paruošimo kasetes.

[¶] Įrenginių dėžėje yra po dvylika 8 strypų dangų.

QIASymphony AS nustatymas

Vartojimo reikmenys

Nustatymo metu atitinkamos kiekvieno vartojimo reikmens padėrys QIASymphony AS modulyje yra rodomos instrumento liečiamame ekrane.

Vartojimo reikmuo	Pavadinimas liečiamame ekrane	Naudojimui su adapteriu/reagentų laikikliu
Juostelių mėgintuvėliai ir kamšteliai, 0.1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG juostelių mėgintuvėliai, 72 QS
Mėgintuvėliai, kūginiai, 2 ml, Qsym AS (500) ^{†‡}	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt [§]	Reagentų laikiklis, 1 QS
Mėgintuvėliai, kūginiai, 5 ml, Qsym AS (500) ^{†‡}	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt [§]	Reagentų laikiklis, 1 QS

* Rodo laboratorinius indus, kuriuos galima ataušinti su aušinimo adapteriu su brūkšniniu kodu.

[†] Pagrindinio mišinio komponentams, sistemos paruošiamam pagrindiniam mišiniui, tyrimo standartams ir tyrimo kontrolėms.

[‡] Alternatyviai galima naudoti Sarstedt mėgintuvėlius, aprašytus "Material Required but Not Provided", psl. 4.

[§] Liečiamame ekrane rodoma priesaga "(m)" reiškia, kad skysčio lygio apskaičiavimai atitinkamam mėgintuvėliui buvo optimizuoti su reagentais, sudarančiais išgaubtą meniską.

Adapteriai ir reagentų laikikliai

Stovas/reagentų laikiklis	Pavadinimas	Reikalingas skaičius [†]
Reagentų laikikliai	Reagentų laikiklis, 1 QS	1
Mėginių stovai	RG juostelių mėgintuvėliai, 72 QS	1

[†] Apskaičiuota tyrimo procedūrai su 72 reakcijomis.

Filtrų antgaliai

Sudėkite antgalių stovus, pradėdami nuo antgalių 1, 2 ir 3 angų, į “Eluate and Reagents” stalčių, o po to sudėkite antgalių stovus į antgalių 7, 8 ir 9 angas “Assays” stalčiuje.

Vartojimo reikmuo	Pavadinimas liečiamame ekrane	Minimalus skaičius 24 reakcijoms	Minimalus skaičius 72 reakcijoms
Filtrų antgaliai, 1500 µl (1024)	1500 µl	4	5
Filtrų antgaliai, 200 µl (1024)	200 µl	9	8
Filtrų antgaliai, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Antgalių išmetimo maišeliai	–	1	1

PCR su Rotor-Gene Q*

Protokolo detales rasite programinei įrangai būdingame protokolo lape *Settings to run* artus QS-RGQ Kits adresu www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx.

artus EBV QS-RGQ rinkiniui būdingi nustatymai

Su Rotor-Gene® 2.1 ar aukštesnės versijos programine įranga; specifiniai nustatymai parodyti žemiau.

Reakcijos kiekis (µl)	50
Laikymas	Laikymo temperatūra: 95 laipsniai Laikymo laikas: 10 minučių
Ciklo atlikimas	45 kartai 95 laipsniai 15 sekundžių 65 laipsniai 30 sekundžių (gavimas su Green, Yellow ir nuleidimo funkcijos aktyvavimas 10 ciklų) 72 laipsniai 20 sekundžių
Automatinio gavimo optimizavimo nustatymas	65 laipsniai (mėginiai: Green; IC: Yellow)

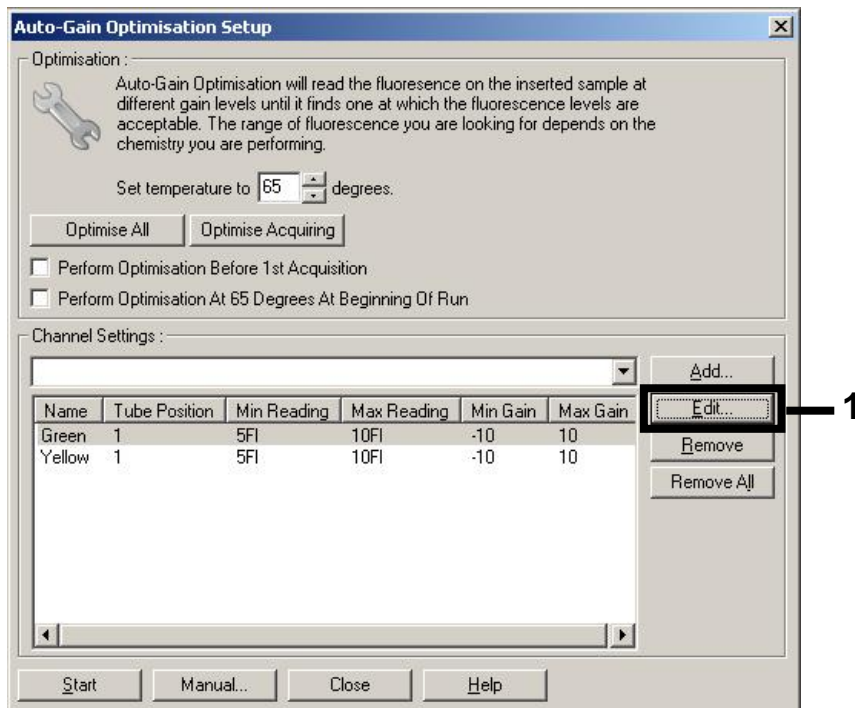
Daugelio tyrimų procedūra

Fluorescencijos kanalų aptikimo intervalą reikia nustatyti pagal fluorescencijos intensyvumą PGR mėgintuvėliuose. Spustelkite **Gain Optimisation** dialogo lange **New Run Wizard** ir atsidarys dialogo langas **Auto-Gain Optimisation Setup** (žr. 6 veiksma ir 7 pav. protokolo lape *Settings to run artus QS-RGQ Kits*).

Atlikdami vieną tyrimo procedūrą, nustatykite kalibravimo temperatūrą ant **65**, kad ji derėtų prie amplifikacijos programos atkaitinimo temperatūros. Atlikdami daugelio tyrimų procedūrą, kai EBV ir CMV bus tiriami per tą pačią PGR, pritaikykite fluorescencijos kanalų intensyvumą rankiniu būdu.

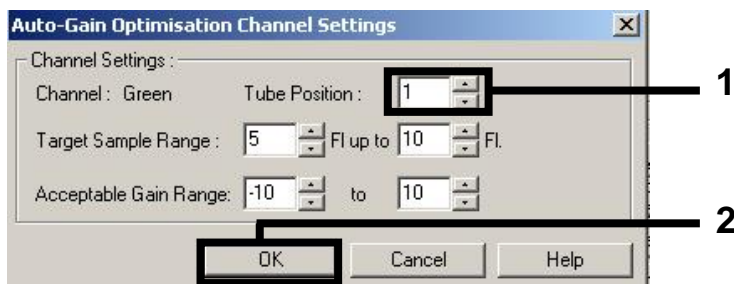
* Jeigu tai taikoma, naudokite Rotor-Gene Q 5plex HRM instrumentą, pagamintą 2010 metų sausį arba vėliau. Pagaminimo datą sužinosite iš serijos numerio instrumento užpakalyje. Serijos numeris rašomas formatu "mmyyynn", kur "mm" rodo pagaminimo mėnesį skaičiais, "yy" rodo paskutinius du pagaminimo metų skaičius, o "nnn" – unikalų instrumento identifikatorių.

1. Norėdami redaguoti fluorescencijos kanalus, spustelkite **Edit** (1 pav.).



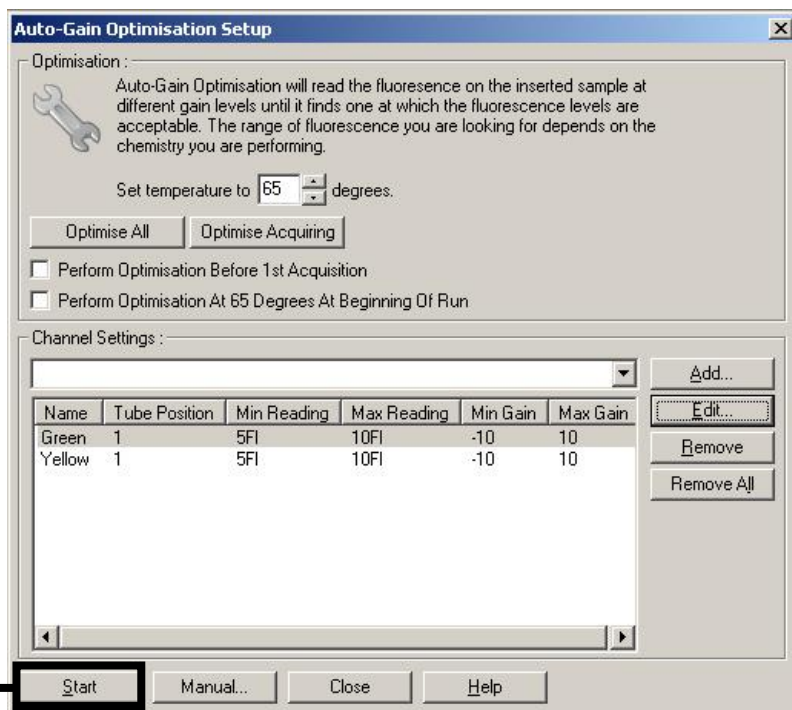
1 pav. Fluorescencijos kanalų intensyvumo reguliavimas rankiniu būdu. Sureguliuokite kiekvieno fluorescencijos kanalo intensyvumą skirtingose mėgintuvėlių padėtyse su skirtingais tyrimais (CMV ir EBV).

2. Nustatykite mėgintuvėlio padėtį pirmajam *artus* tyrimui (pvz., EBV). Nustatykite mėgintuvėlio padėtį visiems fluorescencijos kanalams ir spustelkite **OK** (2 pav.).



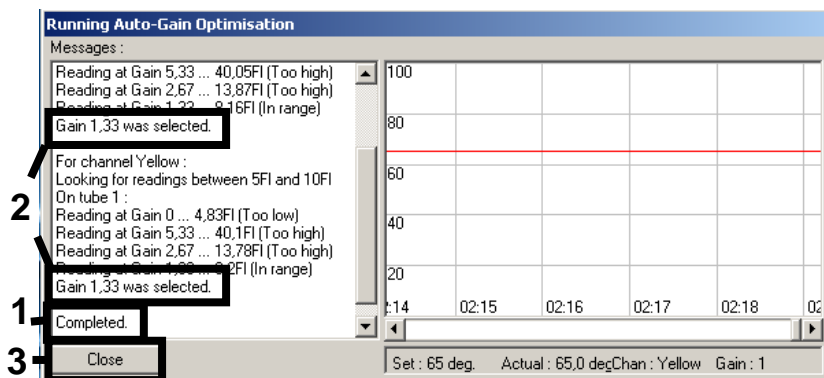
2 pav. Mėgintuvėlio padėties nustatymas.

- Spustelkite **Start** ir pradėkite gauti optimizavimą pirmajam *artus* tyrimui (3 pav.).



3 pav. Gavimo optimizavimo pradžia.

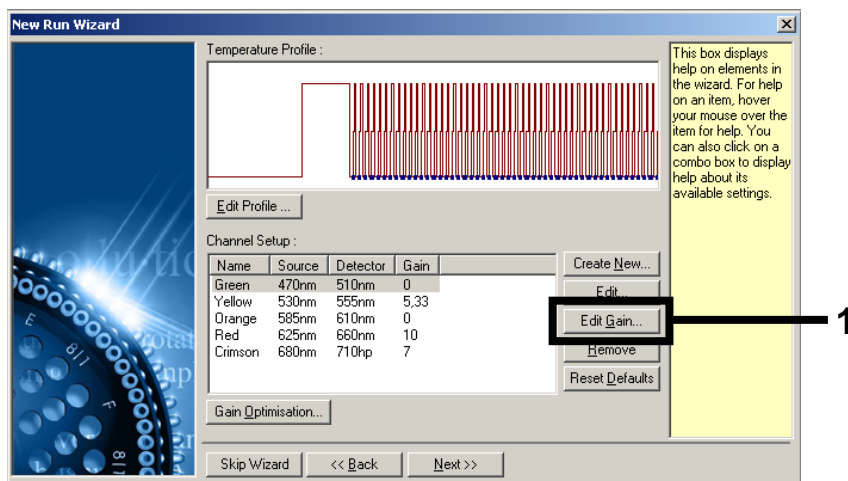
- Atsidaro naujas langas **Running Auto-Gain Optimisation**. Palaukite, kol šiame lange pasirodys **Completed** (4 pav.). Nusirašykite pasirinktas abiejų kanalų gavimo vertes ir spustelkite **Close** (4 pav.).



4 pav. Gavimo optimizavimo pabaiga. Įsidėmėkite gavimo vertes (šiuo atveju abiem fluorescencijos kanalams bus 1.33).

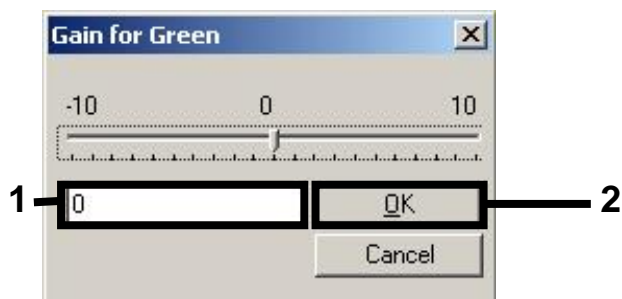
- Pakartokite 1–4 veiksmus su mėgintuvėlio padėtimi, skirta antrajam *artus* tyrimui (pvz., CMV)

6. Spustelkite **Edit Gain** ir redaguokite gavimo vertes rankiniu būdu (5 pav.).



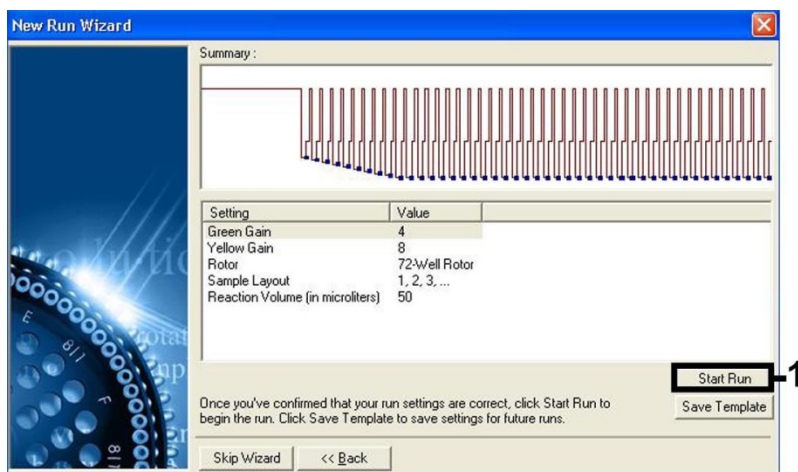
5 pav. Gavimo verčių redagavimas rankiniu būdu.

7. Pasirinkite žemiausią Cycling Green gavimo vertę, pažymėtą 4 veiksmė, ir rankiniu būdu įveskite šią vertę į langą **Gain for Green** (6 pav.). Pasirinkite žemiausią Cycling Yellow gavimo vertę, pažymėtą 4 veiksmė, ir rankiniu būdu įveskite šią vertę į langą **Gain for Yellow** (6 pav.).



6 pav. Žemiausių gavimo verčių įvedimas rankiniu būdu.

8. Gavimo vertės, nustatytos per kanalo kalibravimą (arba priskirtos rankiniu būdu), išsaugomos automatiškai ir išvardinamos paskutiniame programavimo procedūros meniu lange (7 pav.). Spustelkite **Start Run**.



7 pav. Procedūros pradžia

Rezultatų interpretavimas

Šiame skyriuje aprašytas Rotor-Gene Q rezultatų interpretavimas. Peržiūrėkite ir mėginių būsenos informaciją iš QIASymphony SP/AS rezultatų failų, skirtų visos mėginio-rezultato darbo eigos analizei. Reikia naudoti tik tokius mėginius, kurių būseną galioja.

artus EBV QS-RGQ rinkinį galima panaudoti su Rotor-Gene Q, naudojant rankinę analizę su 2.1 ar aukštesnės versijos Rotor-Gene Q programine įranga. Tolesniuose skyriuose aprašytas rezultatų interpretavimas, naudojant 2.1 ar aukštesnės versijos Rotor-Gene Q programinę įrangą.

Signalų aptikimas ir išvados – plazma

Signalas kanale Cycling Green	Signalas kanale Cycling Yellow	Kiekybinis rezultatas (kopijos/ml)	Interpretavimas
Taip	Taip	<157	Galiojantis rezultatas: aptikta EBV DNR, <157 kopijos/ml. Kiečio apskaičiavimas neįmanomas, nes kiekybinis rezultatas nesiekia aptikimo ribos. Teigiamo rezultato atkuriamumas neužtikrintas.
Taip	Taip	≥157 ir <631	Galiojantis rezultatas: aptikta EBV DNR, <631 kopija/ml. Kiečio apskaičiavimas neįmanomas, nes kiekybinis rezultatas nesiekia linijinio tyrimo intervalo.
Taip	Taip/Ne**	≥631 ir ≤1 x 10 ⁷	Galiojantis rezultatas: aptikta apskaičiuotos koncentracijos EBV DNR. Kiekybinis rezultatas įeina į linijinį tyrimo intervalą.
Taip	Taip/Ne**	>1 x 10 ⁷	Galiojantis rezultatas: aptikta EBV DNR, >1 x 10 ⁷ kopijų/ml. Kiečio apskaičiavimas neįmanomas, nes kiekybinis rezultatas viršija linijinį tyrimo intervalą.*
Ne	Taip	–	Galiojantis rezultatas: neaptinkama EBV DNR.†
Ne	Ne	–	Negaliojantis rezultatas: rezultato neįmanoma apskaičiuoti.‡

* Norėdami apskaičiuoti kieki, atskieskite mėginį su krauju be EBV ir peranalizuokite. Padauginkite peranalizuoto mėginio kiekybinį rezultatą iš skiedimo koeficiento.

† Jeigu neigiamo mėginio vidinės kontrolės C_T vertė yra daugiau kaip 3 ciklais didesnė negu nešabloninės kontrolės vidinės kontrolės C_T vertė procedūroje (C_{T IC Sample} – C_{T IC NTC} >3), mėginį reikia laikyti negaliojančiu. Rezultato negalima gauti.

‡ Informaciją apie klaidų šaltinius ir jų sprendimo būdus rasite artus *EBV QS-RGQ rinkinio vadovo* „Trikčių šalinimo vadove“.

** Šiuo atveju signalo aptikimas Cycling Yellow kanale yra nebūtinai, nes dėl aukštų pirminių EBV DNR koncentracijų (teigiamo signalo Cycling Green kanale) gali sumažėti fluorescencinis vidinės kontrolės signalas Cycling Yellow kanale arba jo gali visai nelikti (konkurencija).

PGR analizės ribos nustatymas

Optimalūs tam tikros Rotor-Gene Q instrumento ir *artus* QS-RGQ rinkinio kombinacijos ribos nustatymai turi būti atliekami, pratestuojant kiekvieną individualią kombinaciją, nes tai yra santykinė vertė, priklausanti nuo bendros diagnostinės darbo eigos. Riba gali būti nustatyta su preliminaria verte 0.04 pirmosios PGR procedūros analizei, bet ši vertė turi būti smulkiai sureguliuota per kitų darbo eigos procedūros lyginamąją analizę. Ribą reikia nustatyti rankiniu būdu tiesiai virš foninio neigiamų kontrolių ir neigiamų mėginių signalo. Labai tikėtina, kad vidutinė ribinė vertė, apskaičiuota per šiuos eksperimentus, tiks daugeliui būsimų procedūrų, bet vartotojas vis tiek turi reguliariai peržiūrėti generuotą ribinę vertę. Ribinė vertė paprastai įeina į intervalą 0.03–0.05 ir ji turi būti suapvalinta iki ne daugiau kaip trijų dešimtųjų.

Kiekio nustatymas

Kiekio nustatymo standartai (EBV QS 1–4) su *artus* EBV QS-RGQ rinkiniu yra laikomi prieš tai išgrynintais mėginiais ir naudojamas tas pats kiekis (20 µl). Norint generuoti standartinę kreivę su Rotor-Gene Q instrumentais, visus 4 kiekio nustatymo standartus reikia naudoti ir apibūdinti dialogo lange **Edit Samples** su Rotor-Gene Q instrumentu kaip standartus su specifikuotomis koncentracijomis (žr. instrumento naudojimo instrukcijas).

Pastaba: Kiekio nustatymo standartai yra apibūdinami kaip kopijos/µl išplovose. Šią lygtį reikia panaudoti tam, kad pagal standartinę kreivę nustatomos vertės būtų konvertuotos į mėginio medžiagos kopijas/ml.

$$\begin{array}{l} \text{Mėginio medžiagos} \\ \text{rezultatas} \\ \text{(kopijos/ml)} \end{array} = \frac{\text{Išplovų rezultatas (kopijos/µl) x pirminis išplovimo} \\ \text{kiekis (90 µl)*}}{\text{Mėginio kiekis (ml)}}$$

Iš principo pirminį mėginio kiekį reikia įvesti į aukščiau pateiktą lygtį. Į tai reikia atsižvelgti, kai mėginio kiekis buvo pakeistas prieš nukleino rūgšties ištraukimą (pvz., kiekis buvo sumažintas centrifuguojant ar padidinant kiekį, pridėdant išskyrimui reikalingą kiekį).

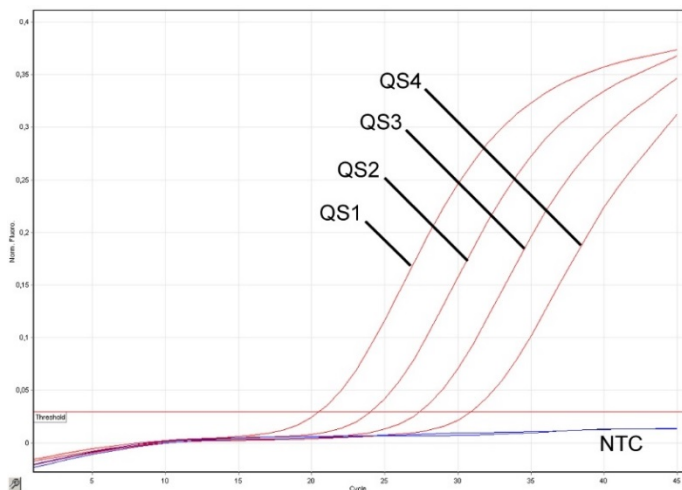
Atlikdami daugelio tyrimų procedūrą, kai per tą pačią PGR tiriami CMV ir EBV, įsitinkite, kad atskirai analizuojami CMV ir EBV mėginiai su atitinkamais kiekio nustatymo standartais.

* Apskaičiavimas yra paremtas pirminiais išplovimo kiekiais (90 µl).

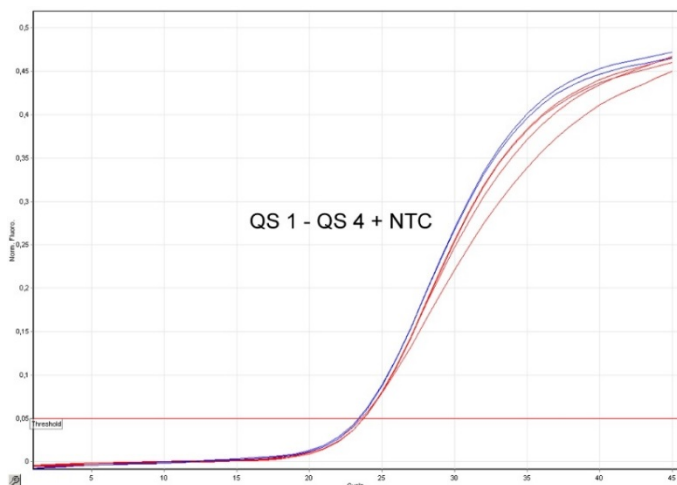
Konversijos koeficientas

1 kopija/ml atitinka 0.142 IU/ml, kai aptinkama EBV DNR, gauta iš žmogaus EDTA plazmos, su Rotor-Gene Q. Šis konversijos koeficientas taikomas tada, kai laikomasi patvirtintos darbo eigos, aprašytos šiame Naudojimo lape. Konversijos koeficientas yra aproksimacija, pagrįsta vidutiniu koeficientu visame tyrimo dinaminiame intervale.

Teigiamų ir neigiamų PGR reakcijų pavyzdžiai



Kiekio nustatymo standartų (EBV QS 1–4) aptikimas fluorescencijos kanale Cycling Green. NTC: nėra šabloninės kontrolės (neigiamos kontrolės).



Vidinės kontrolės (IC) aptikimas fluorescencijos kanale Cycling Yellow su vienu metu vykdoma kiekio nustatymo standartų amplifikacija (EBV QS 1–4). NTC: nėra šabloninės kontrolės (neigiamos kontrolės).

Dokumentų peržiūros istorija

2017 metų rugsėjis Pridėta informacija apie konversijos koeficientą (kopijas IU/ml). Pašalinta išnaša, kad per vieną AS procedūrą galima nustatyti iki 216 tyrimų. Pakeistos reikalingos medžiagos ir įtrauktos tik tos medžiagos, kurios yra reikalingos integruotam procedūros nustatymui iš daugiausiai 72 reakcijų su QS-SP/AS. Įtraukta detalesnė informacija apie medžiagų naudojimą daugelio tyrimų procedūrai su EBV (CMV IC naudojimą). Įtraukta informacija apie QIASymphony valdymo konsolės programinės įrangos naudojimą sukėlėjo RNR ir IC paruošimui skyriuje "Procedure". Laboratorinių indų gamintojas pakeistas iš BD į Corning labware. Paaiškinti RGQ procedūros nustatymai (nuleidimo funkcijos naudojimas, gavimai). Įtraukta informacija apie rezultatų interpretavimą, įtraukiant „teigiamų patogenų ir neigiamos IC“ atvejus. Pašalintos Rotor-Gene AssayManager naudojimo instrukcijos. Pakeistos kiekybinių rezultatų ribos, kad sutaptų su atnaujintomis linijinio intervalo vertėmis. Išaiškintas skirtumas tarp išplovų ir mėginio koncentracijos kiekio nustatymo apskaičiavime. Adaptuotas priekinio-galinio išgryninimo sąrašas. Atnaujintos QIASymphony protokolo versijos: „Tyrimo parametrų rinkinio“ versijos numeris padidintas iš V4 į V5, o „Numatytojo tyrimo kontrolės rinkinio“ – iš V6 į V7.

Naujausią licencijavimo informaciją ir su produktais susijusius atsakomybės atsisakymus rasite atitinkamame QIAGEN® rinkinio vadove arba naudojimo instrukcijose. QIAGEN rinkinių vadovus ir naudojimo instrukcijas rasite adresu www.qiagen.com arba galite užsisakyti iš QIAGEN techninės pagalbos arba savo vietinio platintojo.

Prekės ženklai: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); BD™ (Becton, Dickinson and Company); Corning® (Corning Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Net jeigu to nėra specialiai nurodyta, šiame dokumente naudojami registruoti prekės ženklai, prekės ženklai ir kt. laikomi saugomais įstatymo 09/2017 HB-0357-S02-002
© 2012–2017 QIAGEN, visos teisės saugomos

Užsakymai www.qiagen.com/shop | Techninė pagalba support.qiagen.com | Tinklalapis www.qiagen.com