

September 2017

Navodila za uporabo sistema QIAAsymphony[®] RGQ

Komplet *artus*[®] EBV QS-RGQ
(vrsta vzorca: plazma)

IVD



REF

4501363SL Komplet *artus* EBV QS-RGQ, različica 1.



Preden izvedete teste, preverite, ali so na voljo nove spremembe elektronskega označevanja na www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx.

Splošne informacije

| | |
|--|--|
| Komplet | Komplet <i>artus</i> EBV QS-RGQ, različica 1 (kat. št. 4501363) |
| Validiran vzorčni material | Človeška plazma z EDTA |
| Predhodno (»front-end«) čiščenje | Srednji komplet QIASymphony DSP Virus/Pathogen (kat. št. 937055) |
| Volumen vzorca (vključno s presežnim volumnom) | 1200 µl |
| Niz parametrov za test | artus_EBV_plasma1000_V5 MA_artus_EBV_plasma1000_V5* |
| Privzete nastavitve za kontrolo testa | Cellfree1000_V7_DSP_artus_EBV |
| Elucijski volumen | 60 µl |
| Potrebna različica programske opreme | Različica 4.0 ali novejša |
| Volumen osnovne zmesi | 30 µl |
| Volumen matrice | 20 µl |
| Število reakcij | 6–24 |
| Čas izvajanja na modulu AS | Za 6 reakcij: približno 9 minut Za 72 reakcij: približno 35 minut |

* Protokol za sočasno izvajanje več testov s kompletom *artus* CMV QS-RGQ, ki se uporablja za nalaganje notranje kontrole CMV RG IC za postopek čiščenja in pripravo testa.

Potrebna oprema, ki ni vključena v dobavo

Komplet za čiščenje

- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (srednji komplet QIASymphony DSP Virus/Pathogen) (kat. št. 937055)

Adapterji za QIASymphony SP

- Elution Microtube Rack QS (Stojalo za mikroeprovete za elucijo QS) (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym (hladilni adapter za stojala za mikroeprovete za elucijo, v2, Qsym), kat. št. 9020730)
- Okvir za prenašanje

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

Potrošni materiali za QIASymphony SP

- Sample Prep Cartridges, 8-well (kartuše za pripravo vzorcev z 8 vdolbinicami) (kat. št. 997002)
- 8-Rod Covers (pokrovi z 8 palčkami) (kat. št. 997004)
- Filter-Tips, 1500 µl (konice s filtrom, 1500 µl) (kat. št. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (konice s filtrom, 200 µl) (kat. št. 990332)
- Elution Microtubes CL (mikroepruvete za elucijo CL) (kat. št. 19588)
- Tip disposal bags (vrečke za odpadne konice) (kat. št. 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Type H in Micro tubes 2.0 ml Type I (2,0-ml mikroepruvete tipa H ali 2,0-ml mikroepruvete tipa I (Sarstedt®, kat. št. 72.693 in 72.694, www.sarstedt.com) za uporabo z vzorci in notranjimi kontrolami

Adapterji in držala za reagente za QIASymphony AS

- Reagent holder 1 QS (Držalo za reagente 1 QS) (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym (adapter za hlajenje, držalo za reagente 1, Qsym), kat. št. 9018090)
- RG Strip Tubes 72 QS (Epruvete na traku RG 72 QS) (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym (adapter za hlajenje, epruvete na traku RG 72, Qsym), kat. št. 9018092)

Potrošni materiali za QIASymphony AS

- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (0,1-ml epruvete in pokrovčki na traku) (kat. št. 981103)
- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (2-ml konične epruvete, Qsym AS) (kat. št. 997102) ali Micro tubes 2.0 ml Type I (2,0-ml mikroepruvete tipa I) (Sarstedt, kat. št. 72.694.005)
- Morda: Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (5-ml konične epruvete, Qsym AS) (kat. št. 997104) ali Tubes with flat base from PP (epruvete z ravnim dnom iz PP) (Sarstedt, kat. št. 60.558.001)
- Filter-Tips, 1500 µl (konice s filtrom, 1500 µl) (kat. št. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (konice s filtrom, 200 µl) (kat. št. 990332)
- Filter-Tips, 50 µl (konice s filtrom, 50 µl) (kat. št. 997120)
- Tip disposal bags (vrečke za odpadne konice) (kat. št. 9013395)

Ravnanje z vzorci in njihovo shranjevanje

| | |
|----------------------|---|
| Odvzem vzorcev | Vzorec krvi 5–10 ml krvi z EDTA 8-krat premešajte z obračanjem na glavo – brez stresanja! Hepariniziranih človeških vzorcev ne smete uporabiti. |
| Shranjevanje vzorcev | Ločevanje: 20 minut centrifugiranja, 800–1600 × g v 24 urah po odvzemu vzorca Prenesite izolirano plazmo v sterilno polipropilensko epruveto Občutljivost testa se lahko zmanjša, če vzorce rutinsko zamrzujete ali shranite za dlje časa. |
| Transport vzorcev | Preprečiti je treba zdrobitev med transportom Pošiljanje v 24 urah Pošiljanje po pošti v skladu z zakonskimi predpisi za transport patogenih materialov* Vzorci krvi se lahko pošiljajo le hlajeni (2 do 8 °C) |
| Moteče snovi | Heparin (≥ 10 IU/ml) vpliva na verižno reakcijo s polimerazo (polymerase chain reaction, PCR). Vzorcev v epruveh, ki vsebujejo antikoagulant heparin, ali vzorcev, odvzetih bolnikom, zdravljenim s heparinom, ne smete uporabiti. |
| Priprava vzorca | Preprečite nastanek pene v vzorcih ali na njih Vzorci morajo biti sobne temperature (15–25 °C), preden lahko izvedete test. |

* Mednarodno združenje letalskih prevoznikov (IATA). Predpisi o nevarnem blagu.

Postopek

Priprava prenašalne RNA in dodajanje notranje kontrole v vzorce

Pri uporabi srednjega kompleta QIASymphony DSP Virus/Pathogen v kombinaciji s kompletom *artus* EBV QS-RGQ je treba med postopkom čiščenja dodati notranjo kontrolo (EBV RG IC) za nadzor učinkovitosti priprave vzorca in zaključnega testa.

Pri sočasnem izvajanju več testov, pri katerih boste testirali virus Epstein-Barr (Epstein-Barr virus, EBV) in citomegalovirus (CMV) v isti reakciji PCR, morate med postopkom čiščenja uporabiti kontrolo CMV RG IC iz kompleta *artus* CMV QS-RGQ. Za pripravo vzorca in pripravo kontrol PCR za testiranje uporabite kontrolo CMV RG IC iz iste serije. Ne uporabite kontrol CMV RG IC z različnimi serijskimi številkami.

Notranje kontrole morate dodati z mešanico prenašalne RNA (CARRIER) in pufra AVE (AVE), pri čemer mora skupni volumen mešanice notranje kontrole, prenašalne RNA (CARRIER) in pufra AVE (AVE) ostati 120 µl.

Preglednica prikazuje dodajanje notranje kontrole pri izolaciji v razmerju 0,1 µl na 1 µl elucijskega volumna. Priporočamo, da za vsak test pripravite svežo mešanico tik pred uporabo. Uporabite lahko tudi orodje »IC Calculator« (računalo za izračun notranje kontrole) v programski opremi QIASymphony Management Console.

| Komponenta | Volumen (µl) (epruvete Sarstedt)* | Volumen (µl) (epruvete Corning)† |
|---|--------------------------------------|-------------------------------------|
| Založna prenašalna RNA (CARRIER) | 5 | 5 |
| Notranja kontrola‡ | 9 | 9 |
| Pufer AVE | 106 | 106 |
| Končni volumen na vzorec (brez mrtvega volumna) | 120 | 120 |
| Skupni volumen za n vzorcev | $(n \times 120) + 360^{\S}$ | $(n \times 120) + 600^{\P}$ |

* 2,0-ml mikroepruvete tipa H in 2,0-ml mikroepruvete tipa I, Sarstedt, kat. št. 72.693 in 72.694.

† 14-ml epruvete s 17 x 100-mm polistirenskim ravnim dnom (Corning® Inc., kat. št. 352051 – prejšnji dobavitelj teh epruvet je bil Becton Dickinson, novi dobavitelj pa je Corning Inc.).

‡ Izračun količine notranje kontrole temelji na začetnih elucijskih volumnih (90 µl). Dodatni prosti volumen je odvisen od vrste uporabljene epruvete za vzorce.

§ Potrebna je mešanica notranje kontrole, ki ustreza 3 dodatnim vzorcem (tj. 360 µl). Skupni volumen ne sme preseči 1,92 ml (kar ustreza največ 13 vzorcem. Ti volumni so posebej prilagojeni za 2,0-ml mikroepruvete tipa H in 2,0-ml mikroepruvete tipa I, Sarstedt, kat. št. 72.693 in 72.694).

¶ Potrebna je mešanica notranje kontrole, ki ustreza 5 dodatnim vzorcem (tj. 600 µl). Skupni volumen ne sme preseči 13,92 ml (kar ustreza največ 111 vzorcem. Ti volumni so posebej prilagojeni za 14-ml epruvete s 17 x 100-mm polistirenskim ravnim dnom, Corning Inc., kat. št. 352051 – prejšnji dobavitelj teh epruvet je bil Becton Dickinson, novi dobavitelj pa je Corning Inc.).

Priprava QIASymphony SP

Predal »Waste« (odpadki)

| | |
|---------------------------------------|--|
| Držalo za škatle za pribor 1–4 | Prazne škatle za pribor |
| Držalo za vrečo za odpadke | Vreča za odpadke |
| Držalo za odpadne vsebnike s tekočino | Izpraznite in namestite odpadni vsebnik s tekočino |

Predal »Eluate« (eluat)

| | |
|--------------------|---|
| Stojalo za elucijo | Mikroeprovete za elucijo CL na stojalu za mikroeprovete za elucijo QS in okvir za prenašanje Uporabite režo 1, mesto za hlajenje |
| Elucijski volumen* | Predizbrani elucijski volumen: 60 µl Začetni elucijski volumen: 90 µl |

* Elucijski volumen se za protokol izbere vnaprej. To je najmanjši dostopni volumen eluata v končni epruveti za elucijo. Začetni volumen elucijske raztopine je potreben, da se zagotovi, da je dejanski volumen eluata enak kot predizbrani volumen.

Predal »Reagents and Consumables« (reagenti in potrošni material)

| | |
|---|---|
| Mesti 1 in 2 za kartuše z reagentom | Namestite 1 kartušo z reagentom (reagent cartridge, RC) za do 48 vzorcev ali 2 novi kartuši z reagentom (RC) za do 96 vzorcev |
| Mesta 1–18 na držalu za stojala za konice | Namestite dovolj stojal za konice s filtrom za enkratno uporabo, 200 µl in 1500 µl (glejte »Potreben plastični pribor za 1–4 serije vzorcev« na strani 7) |
| Mesta 1–4 na držalu za škatle za pribor | Namestite škatle za pribor, ki vsebujejo kartuše za pripravo vzorcev in pokrove z 8 palčkami (glejte »Potreben plastični pribor za 1–4 serije vzorcev« na strani 7) |

Predal »Sample« (vzorec)

| | |
|--|---|
| Vrsta vzorca | Človeška plazma z EDTA |
| Volumen vzorca (vključno s presežnim volumnom) | 1200 µl |
| Epruvete za vzorce | 2,0-ml mikroeprovete tipa H ali 2,0-ml mikroeprovete tipa I (Sarstedt, kat. št. 72.693 in 72.694) |
| Vstavek | Vstavek za epruvete 3B (kat. št. 9242083) |

Potreben plastični pribor za 1–4 serije vzorcev

| Komponenta | Ena serija, 24 vzorcev* | Dve seriji, 48 vzorcev* | Tri serije, 72 vzorcev* | Štiri serije, 96 vzorcev* |
|---|----------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|
| Konice s filtrom za enkratno uporabo, 200 µl ^{†‡} | 28 | 52 | 76 | 100 |
| Konice s filtrom za enkratno uporabo, 1500 µl ^{†‡} | 113 | 206 | 309 | 402 |
| Kartuše za pripravo vzorcev [§] | 21 | 42 | 54 | 72 |
| Pokrovi z 8 palčkami [¶] | 3 | 6 | 9 | 12 |

* Če boste uporabili več kot eno epruveto z notranjo kontrolo na serijo in izvedli več kot en pregled materialov, boste potrebovali dodatne konice s filtrom za enkratno uporabo.

[†] Na enem stojalu za konice je 32 konic s filtrom.

[‡] Število potrebnih konic s filtrom zajema konice s filtrom za 1 pregled materialov na kartušo z reagentom.

[§] V eni škatli za pribor je 28 kartuš za pripravo vzorcev.

[¶] V eni škatli za pribor je dvanajst pokrovov z 8 palčkami.

Priprava QIASymphony AS

Potrošni material

Med pripravo se ustrezna mesta za vsak potrošni material na modulu QIASymphony AS prikažejo na zaslonu za dotik.

| Potrošni material | Ime na zaslonu na dotik | Za uporabo z adapterjem/ držalom za reagente |
|--|---|---|
| Epruvete in pokrovčki na traku, 0,1 ml (250) | QIA#981103 *StripTubes 0.1 | Epruvete na traku RG 72 QS |
| 2-ml konične epruvete, Qsym AS (500) ^{†‡} | QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt [§] | Držalo za reagente 1 QS |
| 5-ml konične epruvete, Qsym AS (500) ^{†‡} | QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt [§] | Držalo za reagente 1 QS |

* Označuje laboratorijski pribor, ki ga je mogoče hladiti z adapterjem za hlajenje s črtno kodo.

[†] Za komponente osnovne zmesi, osnovno zmes, ki jo pripravi sistem, standarde za teste in kontrole testov.

[‡] Namesto teh lahko uporabite epruvete Sarstedt, opisane v razdelku »Potrebna oprema, ki ni vključena v dobavo« na strani 2.

[§] Pripona »(m)« na zaslonu na dotik pomeni, da so bili izračuni ravni tekočine za zadevno epruveto optimizirani za reagente, ki tvorijo konkavni meniskus.

Adapterji in držala za reagente

| Stojalo/držalo za reagente | Ime | Potrebno število [¶] |
|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| Držala za reagente | Držalo za reagente 1 QS | 1 |
| Stojala za vzorce | Epruvete na traku RG 72 QS | 1 |

[¶] Izračunano za izvedbo testa z 72 reakcijami.

Konice s filtrom

Namestite konice na stojala, in sicer najprej v reže 1, 2 in 3 v predalu »Eluate and Reagents«, nato pa še v reže 7, 8 in 9 v predalu »Assays« (testi).

| Potrošni material | Ime na zaslonu na dotik | Minimalno število za 24 reakcij | Minimalno število za 72 reakcij |
|----------------------------------|--------------------------------|--|--|
| Konice s filtrom, 1500 µl (1024) | 1500 µl | 4 | 5 |
| Konice s filtrom, 200 µl (1024) | 200 µl | 9 | 8 |
| Konice s filtrom, 50 µl (1024) | 50 µl | 25 | 73 |
| Vreče za odpadne konice | – | 1 | 1 |

PCR na Rotor-Gene Q*

Za podrobnosti o protokolu glejte protokolni list za to programsko opremo *Settings to run artus QS-RGQ Kits* (nastavitve za izvajanje testov s kompleti *artus QS-RGQ*) na spletni strani www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx.

Posebne nastavitve za komplet *artus EBV QS-RGQ*

Posebne nastavitve pri programski opremi Rotor-Gene® različice 2.1 ali novejša so prikazane spodaj.

| | |
|--|---|
| Reakcijski volumen (µl) | 50 |
| Čakanje | Temperatura med čakanjem: 95 stopinj Čas čakanja: 10 minut |
| Ciklično termostatiranje | 45-krat 95 stopinj za 15 sekund 65 stopinj za 30 sekund (pridobivanje na zelenem, rumenem in aktiviranje funkcije znižanja temperature za 10 ciklusov) 72 stopinj za 20 sekund |
| Nastavitev optimizacije samodejnega ojačanja | 65 stopinj (vzorci: zeleni, notranja kontrola: rumeni) |

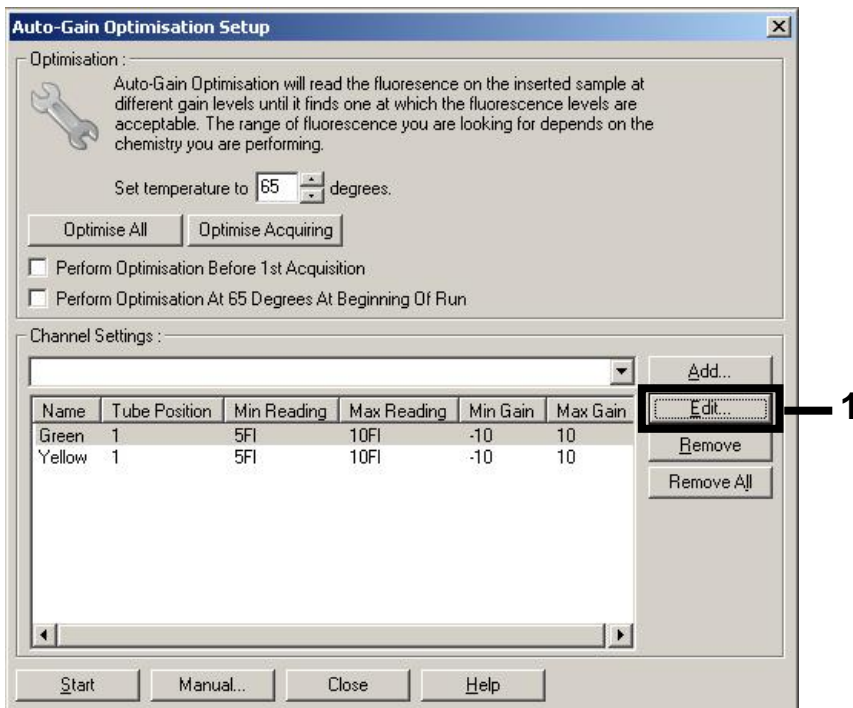
Sočasno izvajanje več testov

Razpon zaznavanja fluorescenčnih kanalov mora biti določen glede na jakosti fluorescence v epruveh za PCR. Kliknite »**Gain Optimisation**« (optimizacija ojačanja) v pogovornem oknu »**New Run Wizard**« (čarovnik za novo izvajanje), da odprete pogovorno okno »**Auto-Gain Optimisation Setup**« (nastavitev optimizacije samodejnega ojačanja) (glejte 6. korak in Sliko 7 na protokolnem listu *Settings to run artus QS-RGQ Kits*).

Če boste izvedli en sam test, nastavite temperaturo umerjanja na **65**, tako da se bo ujemala s temperaturo prileganja v programu za pomnoževanje. Če boste sočasno izvedli več testov, tako da boste EBV in CMV testirali v isti PCR, jakost fluorescenčnih kanalov prilagodite ročno.

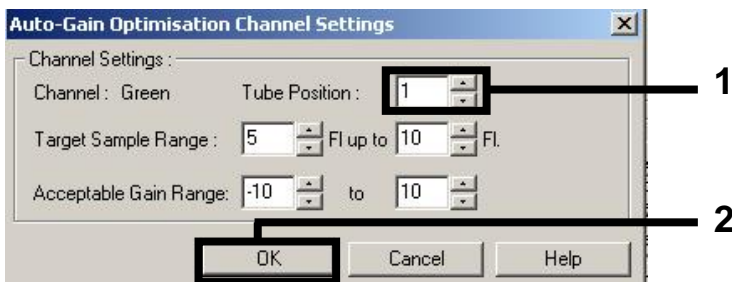
* Če je relevantno, instrument Rotor-Gene Q 5plex HRM z datumom proizvodnje januarja 2010 ali kasneje. Datum proizvodnje lahko razberete iz serijske številke na zadnji strani instrumenta. Serijska številka je zapisana v obliki »mmlInnn«, kjer »mm« označuje mesec proizvodnje, »ll« zadnji dve številki leta proizvodnje in »nnn« edinstveno identifikacijsko številko instrumenta.

1. Za urejanje fluorescenčnih kanalov kliknite »Edit« (urejanje) (Slika 1).



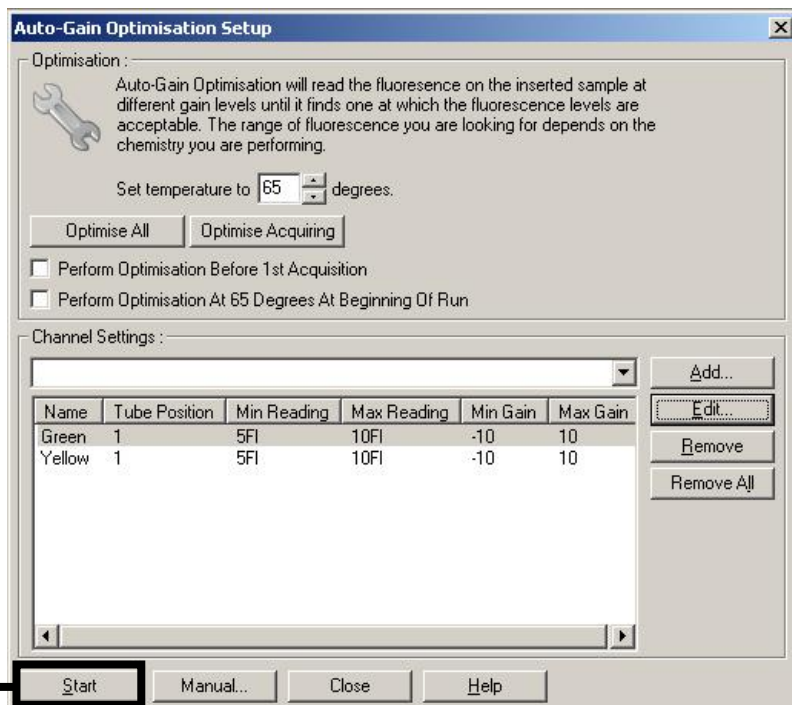
Slika 1. Ročno prilagajanje jakosti fluorescenčnih kanalov. Prilagodite jakost za vsak fluorescenčni kanal na mestih različnih epruvet za oba testa (CMV in EBV).

2. Določite mesto epruvete za epruveto za prvi test s kompletom *artus* (npr. EBV). Določite mesto epruvete za vse fluorescenčne kanale in kliknite »OK« (v redu) (Slika 2).



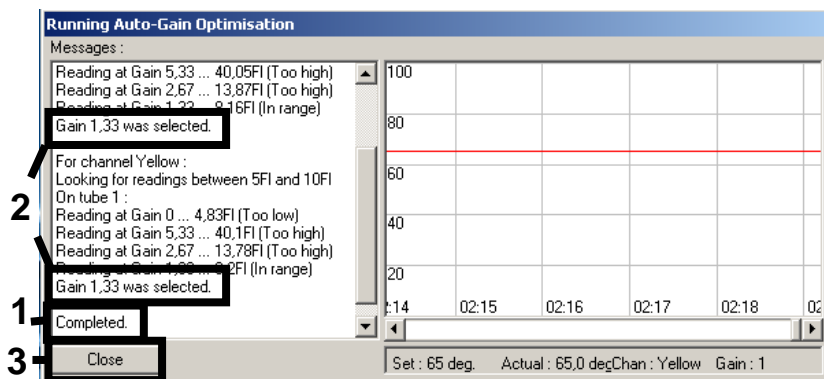
Slika 2. Nastavitev mesta epruvete.

3. Kliknite »Start« (začni) za začetek optimizacije ojačanja za prvi test s kompletom *artus* (Slika 3).



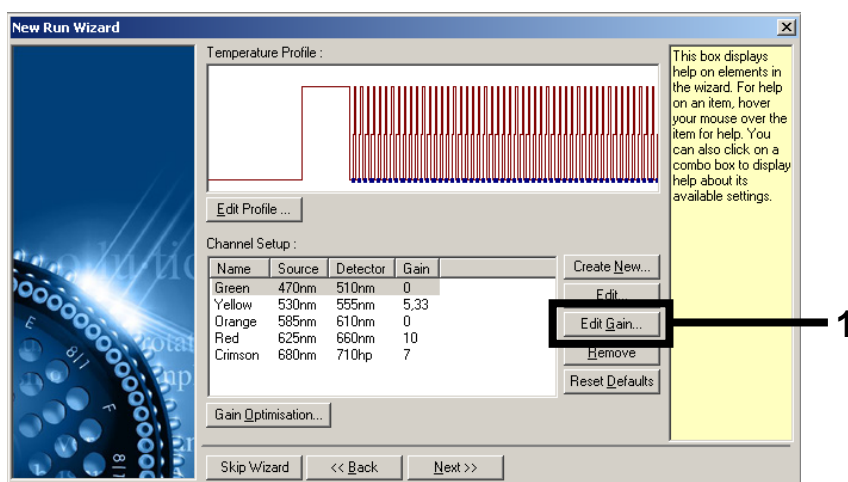
Slika 3. Začetek optimizacije ojačanja.

4. Odpre se novo okno »Running Auto-Gain Optimisation« (optimizacija samodejnega ojačanja je v teku). Počakajte, dokler se v tem oknu ne prikaže napis »Completed« (dokončano) (Slika 4). Zapišite si izbrane vrednosti ojačanja za oba kanala in nato kliknite »Close« (zapri) (Slika 4).



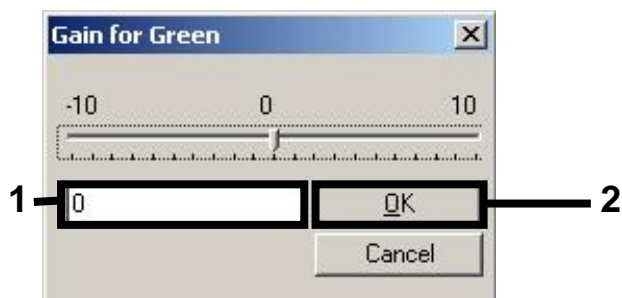
Slika 4. Optimizacija ojačanja je dokončana. Zapišite si vrednosti ojačanja (v tem primeru 1,33 za oba fluorescenčna kanala).

5. Ponovite korake 1–4 za mesto epruvete za drugi test s kompletom *artus* (npr. CMV).
6. Za ročno urejanje vrednosti ojačanja kliknite »**Edit Gain**« (uredi ojačanje) (Slika 5).



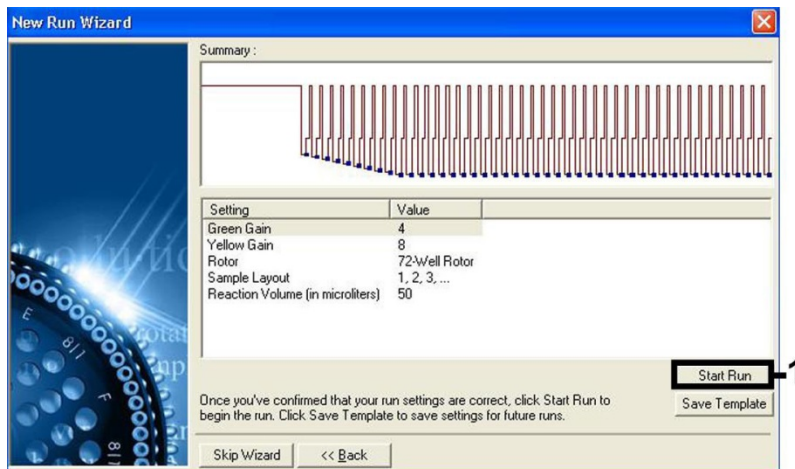
Slika 5. Ročno urejanje vrednosti ojačanja.

7. Izberite najnižjo vrednost ojačanja za »Cycling Green« (ciklično termostatiranje – zeleni kanal), ki ste si jo zabeležili v 4. koraku, in jo ročno vnesite v okno »**Gain for Green**« (ojačanje za zeleni kanal) (Slika 6). Izberite najnižjo vrednost ojačanja za Cycling Yellow (ciklično termostatiranje – rumeni), ki ste si jo zabeležili v 4. koraku, in jo ročno vnesite v okno »**Gain for Yellow**« (ojačanje za rumeni kanal) (Slika 6).



Slika 6. Ročno vnašanje najnižjih vrednosti ojačanja.

8. Vrednosti ojačanja, določene z umerjanjem kanala (ali dodeljene ročno), se samodejno shranijo in prikažejo v zadnjem menijskem oknu v postopku programiranja (Slika 7). Kliknite »Start Run« (začni izvajanje testa).



Slika 7. Začetek izvajanja testa.

Interpretacija rezultatov

V tem razdelku je opisana interpretacija rezultatov na Rotor-Gene Q. Preglejte tudi informacije o stanju vzorcev v datoteki rezultatov QIASymphony SP/AS za analizo celotnega poteka dela od vzorca do rezultatov. Uporabite lahko le vzorce z veljavnim statusom.

Testiranje s kompletom *artus* EBV QS-RGQ lahko izvajate na Rotor-Gene Q z ročno analizo s programsko opremo Rotor-Gene Q različice 2.1 ali novejše. V spodnjih razdelkih je opisana interpretacija rezultatov pri uporabi programske opreme Rotor-Gene Q različice 2.1 ali novejše.

Zaznavanje signalov in zaključki – plazma

| Signal v kanalu Cycling Green | Signal v kanalu Cycling Yellow | Kvantitativni rezultat (kopije/ml) | Interpretacija |
|----------------------------------|-----------------------------------|--|---|
| Da | Da | < 157 | Veljaven rezultat: zaznana DNA EBV, < 157 kopij/ml. Kvantifikacija ni mogoča, ker je kvantitativni rezultat pod mejo zaznavanja. Ponovljivost pozitivnega rezultata ni zagotovljena. |
| Da | Da | ≥ 157 in < 631 | Veljaven rezultat: zaznana DNA EBV, < 631 kopij/ml. Kvantifikacija ni mogoča, ker je kvantitativni rezultat pod linearnim razponom testa. |
| Da | Da/ne** | ≥ 631 in ≤ 1 × 10 ⁷ | Veljaven rezultat: DNA EBV je zaznana v izračunani koncentraciji. Kvantitativni rezultat je znotraj linearnega razpona testa. |
| Da | Da/Ne** | > 1 × 10 ⁷ | Veljaven rezultat: zaznana DNA EBV, > 1 × 10 ⁷ kopij/ml. Kvantifikacija ni mogoča, ker je kvantitativni rezultat nad linearnim razponom testa.* |
| Ne | Da | – | Veljaven rezultat: DNA EBV ni mogoče zaznati.† |
| Ne | Ne | – | Neveljaven rezultat: rezultata ni mogoče podati.‡ |

* Če želite kvantifikacijo, razredčite vzorec s plazmo, ki ne vsebuje EBV, in ga ponovno obdelajte. Pomnožite kvantitativni rezultat, dobljen s ponovno obdelanim vzorcem, s faktorjem redčenja.

† Če je vrednost C_T za notranjo kontrolo negativnega vzorca več kot 3 cikle višja od vrednosti C_T za notranjo kontrolo kontrole reagenta za pomnoževanje pri izvajanju testa (C_{T IC Sample} – C_{T IC NTC} > 3), vzorec štejte za neveljaven. Rezultata ni mogoče podati.

‡ Informacije o vzrokih za napake in njihovi odpravi so na voljo v poglavju »Troubleshooting Guide« (odpravljanje težav) v *priročniku za uporabo kompleta artus EBV QS-RGQ*.

** V tem primeru zaznanje signala v kanalu Cycling Yellow ni potrebno, saj višje začetne koncentracije DNA EBV (pozitivni signal v kanalu Cycling Green) lahko povzročijo, da je fluorescentni signal notranje kontrole v kanalu Cycling Yellow šibkejši ali ga sploh ni (kompeticija).

Nastavitev mejnih vrednosti za analizo PCR

Optimalne mejne vrednosti za zadevno kombinacijo instrumenta Rotor-Gene Q in kompleta *artus* QS-RGQ je treba nastaviti empirično s testiranjem vsake posamezne kombinacije, saj je relativna vrednost odvisna od celotnega diagnostičnega poteka dela. Mejno vrednost lahko uvodoma nastavite na vrednost 0,04 za analizo prvega testa s PCR, vendar morate to vrednost prilagoditi pri primerjalni analizi naslednjih testov v poteku dela. Mejno vrednost morate ročno nastaviti tik nad vrednost signala ozadja negativnih kontrol in negativnih vzorcev. Povprečna mejna vrednost, izračunana na podlagi teh poskusov, bo najverjetneje primerna za večino prihodnjih testov, vendar pa mora uporabnik kljub temu redno preverjati ustvarjene mejne vrednosti. Mejna vrednost bo običajno v razponu 0,03–0,05 in lahko ima največ tri decimalna mesta.

Kvantifikacija

Standardi za kvantifikacijo (EBV QS 1–4) v kompletu *artus* EBV QS-RGQ se obravnavajo kot predhodno očiščeni vzorci, uporabljen pa je tudi enak volumen (20 µl). Za ustvarjanje standardne krivulje na instrumentih Rotor-Gene Q morate uporabiti vse 4 standarde za kvantifikacijo in jih v pogovornem oknu »**Edit Samples**« (urejanje vzorcev) na instrumentu Rotor-Gene Q opredeliti kot standarde z določenimi koncentracijami (glejte navodila za uporabo instrumenta).

Opomba: Standardi za kvantifikacijo so opredeljeni kot kopije/µl eluata. Za pretvorbo vrednosti, določenih s standardno krivuljo, v kopije/ml vzorčnega materiala je treba uporabiti spodnjo enačbo.

$$\text{Rezultat v vzorčnem materialu (kopije/ml)} = \frac{\text{rezultat v eluatu (kopije/}\mu\text{l)} \times \text{začetni elucijski volumen (90 }\mu\text{l)}^*}{\text{Volumen vzorca (ml)}}$$

Načeloma je v zgornjo enačbo treba vnesti začetni volumen vzorca. To morate upoštevati, če ste volumen vzorca spremenili pred ekstrakcijo nukleinske kisline (npr. zmanjšali s centrifugiranjem ali povečali z dodajanjem volumna, potrebnega za izolacijo).

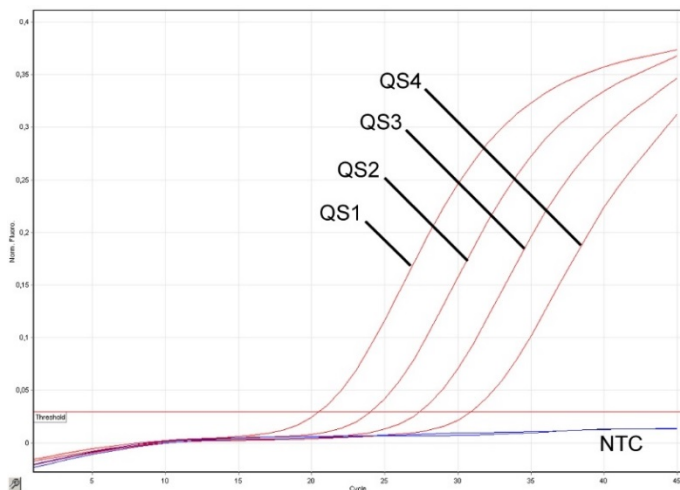
Če ste sočasno izvedli več testov, tako da ste CMV in EBV testirali v isti PCR, vzorce obvezno analizirajte ločeno za CMV in EBV z ustreznimi standardi za kvantifikacijo.

* Izračun temelji na začetnih elucijskih volumnih (90 µl).

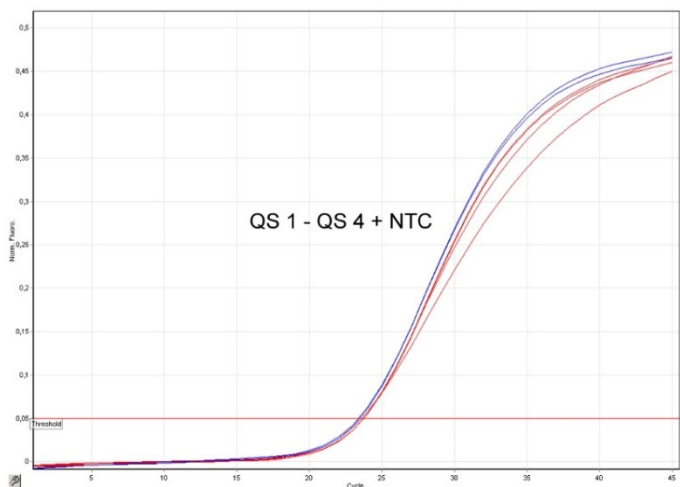
Faktor pretvorbe

1 kopija/ml ustreza 0,142 IU/ml za zaznavanje DNA EBV iz človeške plazme z EDTA na instrumentu Rotor-Gene Q. Ta faktor pretvorbe se uporablja pri validiranem poteku dela, ki je skladen s temi navodili za uporabo. Faktor pretvorbe je približna vrednost, ki temelji na povprečni vrednosti faktorjev iz dinamičnega razpona testa.

Primeri pozitivnih in negativnih reakcij PCR



Zaznavanje standardov za kvantifikacijo (EBV QS 1–4) v fluorescenčnem kanalu Cycling Green. NTC: kontrola reagenta za pomnoževanje (negativna kontrola).



Zaznavanje notranje kontrole (IC) v fluorescenčnem kanalu Cycling Yellow s sočasnim pomnoževanjem standardov za kvantifikacijo (EBV QS 1–4). NTC: kontrola reagenta za pomnoževanje (negativna kontrola).

Zgodovina revizij dokumenta

September 2017 Dodane so bile informacije o faktorju pretvorbe (kopij v IU/ml). Odstranjena je bila sprotna opomba, da je v eni seriji priprave testov mogoče pripraviti do 216 testov. Spremenjeni so bili potrebni materiali, tako da so vključeni le materiali, potrebni za pripravo integriranih testov z največ 72 reakcijami na QS-SP/AS. Dodane so bile podrobnejše informacije o uporabi materialov za sočasno izvajanje več testov z EBV (uporaba CMV IC). V razdelek »Postopek« so bile vključene informacije o uporabi programske opreme QIASymphony za prenašalno RNA in pripravo notranje kontrole. Proizvajalec laboratorijskega pribora BD je bil nadomeščen s proizvajalcem Corning. Pojasnjene so bile nastavitve za izvajanje testov na RGQ (uporaba funkcije za znižanje temperature, pridobivanja). Dodane so bile informacije o interpretaciji rezultatov, tako da so bili vključeni primeri »pozitivnih patogenov in negativne notranje kontrole«. Odstranjena so bila navodila v zvezi z uporabo Rotor-Gene AssayManager. Spremenjene so bile mejne vrednosti kvantitativnih rezultatov v skladu s posodobljenimi vrednostmi linearnega razpona. Pojasnjena je bila razlika med eluatom in koncentracijo vzorca pri izračunu kvantifikacije. Prilagojen je bil seznam za predhodno (»front end«) čiščenje. Posodobljeni sta bili različici protokolov QIASymphony: zvišana je bila številka različice »nizov parametrov za test« z V4 na V5 in številka različice »privzetih nastavitvev za kontrolo testa« z V6 na V7.

Posodobljene informacije o licenciranju in zavrnitve odgovornosti za izdelek so na voljo v priročniku ali navodilih za uporabo zadevnega kompleta znamke QIAGEN. Priročniki in navodila za uporabo kompletov znamke QIAGEN so na voljo na spletni strani www.qiagen.com, lahko pa jih tudi naročite pri Oddelku za tehnične storitve družbe QIAGEN ali lokalnem distributerju.

Blagovne znamke: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); BD™ (Becton, Dickinson and Company); Corning® (Corning Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). V tem dokumentu uporabljena registrirana imena, blagovne znamke itd. se ne smejo šteti kot nezaščiteni z zakonom, čeprav niso izrecno označena kot takšna. September 2017 HB-0357-S02-002
© 2012–2017 QIAGEN, vse pravice pridržane.

Naročila www.qiagen.com/shop | Tehnična podpora support.qiagen.com | Spletno mesto www.qiagen.com