

2017. szeptember

QIAAsymphony[®] RGQ alkalmazási adatlap

artus[®] EBV QS-RGQ kit (mintatípus: plazma)

IVD



REF

4501363HU *artus* EBV QS-RGQ kit, 1. verzió.



A teszt elvégzése előtt a www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx címen ellenőrizze, nincs-e új, átdolgozott elektronikus dokumentáció.

Általános információk

Kit	<i>artus</i> EBV QS-RGQ kit, 1. verzió, (katalógusszám: 4501363)
Validált mintaanyagok	EDTA-s humán plazma
Előtisztítás	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi kit (katalógusszám: 937055)
Mintatérfogat (térfogattöbblettel együtt)	1200 µl
Tesztparaméter-készlet	<i>artus</i> _EBV_plasma1000_V5 MA_ <i>artus</i> _EBV_plasma1000_V5*
Alapértelmezett tesztkontroll-készlet	Cellfree1000_V7_DSP_ <i>artus</i> _EBV
Elúciós térfogat	60 µl
Szükséges szoftververzió	4.0-s vagy későbbi verzió
Mesterkeverék-térfogat	30 µl
Templáttérfogat	20 µl
Reakciók száma	6–24
Futási idő az AS modulon	6 reakció esetén: körülbelül 9 perc 72 reakció esetén: körülbelül 35 perc

* Az *artus* CMV QS-RGQ kittel végzett, több vizsgálatot magába foglaló futtatás esetén alkalmazandó protokoll, amely a CMV RG IC tisztítási folyamathoz való betöltésére és a tesztbeállításra szolgál.

Szükséges, de nem biztosított anyagok

Tisztító kit

- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi kit (katalógusszám: 937055)

Adapterek a QIASymphony SP készülékhez

- Elution Microtube Rack QS (QS elúciós mikrocső-állvány) (hűtőadapter, elúciós mikrocső [Elution Microtube, EMT], v2, Qsym, katalógusszám: 9020730)
- Szállítókeret
- Tube Insert 3B (3B csőtartó) (csőtartó, 2,0 ml v2, mintatartó (24), Qsym, katalógusszám: 9242083)

Fogyóeszközök QIA Symphony SP készülékhez

- Sample Prep Cartridges, 8-well (8 cellás minta-előkészítő kazetták) (katalógusszám: 997002)
- 8-Rod Covers (8 pálcás védőborítás) (katalógusszám: 997004)
- Filter-Tips, 1500 µl (1500 µl-es, szűrővel rendelkező hegyek) (katalógusszám: 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (200 µl-es, szűrővel rendelkező hegyek) (katalógusszám: 990332)
- Elution Microtubes CL (CL elúciós mikrocsovek) (katalógusszám: 19588)
- Tip disposal bags (Heggyűjtő hulladékzsákok) (katalógusszám: 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml (2 ml-es mikrocsovek), H vagy I típus (Sarstedt®, katalógusszám: 72.693 és 72.694, www.sarstedt.com) a mintákhoz és a belső kontrollokhoz

Adapterek és reagenstartók a QIA Symphony AS készülékhez

- Reagent holder 1 QS (1 QS reagenstartó) (hűtőadapter, 1-es reagenstartó, Qsym, katalógusszám: 9018090)
- RG Strip Tubes 72 QS (72 QS RG cső strip) (hűtőadapter, 72 RG cső strip, Qsym, katalógusszám: 9018092)

Fogyóeszközök QIA Symphony AS készülékhez

- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (0,1 ml-es cső strip és kupakok) (katalógusszám: 981103)
- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (2 ml-es, kúpos aljú Qsym AS csövek) (katalógusszám: 997102) vagy Micro tubes 2.0 ml Type I (2 ml-es, I típusú mikrocsovek) (Sarstedt, katalógusszám: 72.694.005)
- Használható még: Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (5 ml-es, kúpos aljú Qsym AS csövek) (katalógusszám: 997104) vagy Tubes with flat base from PP (Lapos aljú polipropilén csövek) (Sarstedt, katalógusszám: 60.558.001)
- Filter-Tips, 1500 µl (1500 µl-es, szűrővel rendelkező hegyek) (katalógusszám: 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (200 µl-es, szűrővel rendelkező hegyek) (katalógusszám: 990332)
- Filter-Tips, 50 µl (50 µl-es, szűrővel rendelkező hegyek) (katalógusszám: 997120)
- Tip disposal bags (Heggyűjtő hulladékzsákok) (katalógusszám: 9013395)

A minták kezelése és tárolása

Mintavétel	Vérminta 5–10 ml EDTA-s vér 8x keverés átfordítással — ne rázza! Heparinos humán minták nem használhatók.
Mintatárolás	Elválasztás: 20 perces centrifugálás 800–1600 x g sebességen, a mintavételt követő 24 órán belül Mérje az izolált plazmát egy steril polipropilén csőbe A minták rutinszerű vagy hosszabb ideig való tárolás céljából történő fagyasztása csökkentheti a vizsgálat érzékenységét.
Mintaszállítás	Szállítás törhetetlen csomagolásban Szállítás 24 órán belül A szállítandó csomagot a patogén anyagokra vonatkozó jogszabályok betartásával postázza el* A vérmintákat hűtve (2–8 °C-on) kell szállítani
Zavaró anyagok	A heparin (≥ 10 NE/ml) befolyásolja a PCR-reakciót. Nem használhatók olyan mintavételi csövek, amelyek alvadásgátlás céljából heparint tartalmaznak, vagy olyan minták, amelyeket heparinnal kezelt betegekből vettek le.
Minta-előkészítés	Kerülje a habképződést a mintákban vagy a minták felszínén. A mintákat hagyni kell szoba-hőmérsékletűre (15–25 °C-ra) melegedni a futtatás indítása előtt.

* International Air Transport Association (Nemzetközi Légi Szállítási Szövetség, IATA). Dangerous Goods Regulations (veszélyes árukkal kapcsolatos előírások).

Az eljárás

A hordozó RNS előkészítése és a belső kontrollok hozzáadása a mintákhoz

Ha a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi kitet az *artus* EBV QS-RGQ kittel együtt használják, akkor a minta-előkészítés és az ezt követő teszt hatásosságának ellenőrzésére belső kontrollt (EBV RG IC) kell alkalmazni a tisztítási eljárás során.

Olyan több vizsgálatot magába foglaló futtatás esetén, ahol az EBV és a CMV tesztet is elvégzik ugyanazon PCR-reakció során, ügyeljen rá, hogy az *artus* CMV QS-RGQ kitben található CMV RG IC kontrollt használja a tisztítási eljáráshoz. Ugyanabból a sarzsból származó CMV RG IC kontrollt használjon a minta-előkészítéshez és a PCR-kontrollok tesztbeállításához. Ne használjon eltérő sarzsszámú CMV RG IC kontrollt.

A belső kontrollt a hordozó RNS (CARRIER) és az AVE puffer (AVE) keverékéhez kell hozzáadni úgy, hogy a belső kontroll, a hordozó RNS (CARRIER) és az AVE puffer (AVE) keverékének térfogata 120 µl legyen.

Az alábbi táblázat a belső kontrollok izolátumhoz való hozzáadását mutatja be – az alkalmazott arány 0,1 µl/1 µl elúciós térfogat. Javasoljuk, hogy minden futtatáshoz készítsen friss keveréket közvetlenül a felhasználás előtt. Használható továbbá a QIASymphony Management Console szoftver „IC Calculator” (Kalkulátor a belső kontrollokhoz) eszköze is.

Komponens	Térfogat (µl) (Sarstedt csövek)*	Térfogat (µl) (Corning csövek)†
Hordozó RNS (CARRIER) törzsoldata	5	5
Belső kontroll‡	9	9
AVE puffer	106	106
Végső térfogat mintánként (kivéve holttérfogat)	120	120
Teljes térfogat n számú minta esetén	$(n \times 120) + 360^{\S}$	$(n \times 120) + 600^{\parallel}$

* H és I típusú, 2 ml-es Sarstedt mikrocövek, katalógusszám: 72.693 és 72.694.

† 14 ml-es, 17 x 100 mm méretű, lekerekített aljú polisztirol csövek (Corning® Inc., katalógusszám: 352051; ezt a típusú csövet korábban a Becton Dickinson szállította, jelenlegi szállítója a Corning Inc.).

‡ A belső kontroll mennyiségének kiszámítása a kezdeti elúciós térfogat (90 µl) alapján történik. A további holttérfogat a használt mintacső típusától függ.

§ 3 további mintának megfelelő (azaz 360 µl) belsőkontroll-keverék szükséges. Ne töltsön bele több mint 1,92 ml teljes térfogatot (a maximális mintaszám tehát 13). A megadott térfogatok a H és I típusú, 2 ml-es Sarstedt mikrocövek (katalógusszám: 72.693 és 72.694) esetén alkalmazandók.

¶ 5 további mintának megfelelő (azaz 600 µl) belsőkontroll-keverék szükséges. Ne töltsön bele több mint 13,92 ml teljes térfogatot (a maximális mintaszám tehát 111). A megadott térfogatok a 14 ml-es, 17 x 100 mm méretű, lekerekített aljú polisztirol csövek (Corning Inc., katalógusszám: 352051; ezt a típusú csövet korábban a Becton Dickinson szállította, jelenlegi szállítója a Corning Inc.) esetében alkalmazandók.

A QIASymphony SP készülék beállítása

Hulladéktartály-fiók

1–4. számú egységdoboz-tartó	Ürítse ki az egységdobozokat
A hulladékgyűjtő zsák tartója	Hulladékgyűjtő zsák
A folyékonyhulladék-palack tartója	Ürítse ki, majd helyezze be a folyékonyhulladék-gyűjtő palackot

Eluátumfiók

Elúciós állvány	CL elúciós mikrocsovek QS elúciós mikrocso-állványon és szállítókeret
	Használja az 1. nyílást, hűtő pozíciót
Elúciós térfogat*	Előre kiválasztott elúciós térfogat: 60 µl Kezdeti elúciós térfogat: 90 µl

* Az elúciós térfogat előre ki van választva az adott protokollhoz. Ez a minimálisan hozzáférhető eluátumtérfogat a végleges elúciós csőben. Az elúciós oldat kezdeti térfogatának elegendőnek kell lennie ahhoz, hogy az eluátum tényleges térfogata megegyezzen az előre megválasztott térfogattal.

A reagensek és fogyóeszközök fiókja

1. és 2. RC pozíció	Legfeljebb 48 minta vizsgálatához helyezzen be 1 darab reagenskazettát (reagent cartridge, RC), vagy legfeljebb 96 minta vizsgálatához 2 darab reagenskazettát (RC)
Hegyállvány-tartó, 1–18. pozíció	Helyezzen be elegendő állványt az egyszer használatos, 200 µl-es és 1500 µl-es, szűrővel rendelkező hegyek számára (lásd „Szükséges műanyag eszközök 1–4 mintasorozathoz”, 7. oldal)
Egységdoboz-tartó, 1–4. pozíció	Helyezze be a minta-előkészítő kazettákat és a 8 pácás védőborításokat tartalmazó egységdobozokat (lásd „Szükséges műanyag eszközök 1–4 mintasorozathoz”, 7. oldal)

A minták fiókja

A minta típusa	EDTA-s humán plazma
Mintatérfogat (térfogattöbblettel együtt)	1200 µl
Mintacsövek	H vagy I típusú, 2 ml-es mikrocövek (Sarstedt, katalógusszám: 72.693 és 72.694)
Betét	3B csőtartó (katalógusszám: 9242083)

Szükséges műanyag eszközök 1–4 mintasorozathoz

Komponens	Egy mintasorozat, 24 minta*	Két mintasorozat, 48 minta*	Három mintasorozat, 72 minta*	Négy mintasorozat, 96 minta*
Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 200 µl ^{†‡}	28	52	76	100
Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 1500 µl ^{†‡}	113	206	309	402
Minta-előkészítő kazetták [§]	21	42	54	72
8 pálcás védőborítások [¶]	3	6	9	12

* Mintasorozatanként egynél több belsőkontroll-cső használata, illetve egynél több készletellenőrzés esetén további egyszer használatos, szűrővel ellátott hegyek szükségesek.

[†] Egy hegyállványon 32 darab, szűrővel rendelkező hegy van.

[‡] Szűrővel ellátott hegyek száma reagenskazettánként, az 1 készletellenőrzéshez szükséges, szűrővel ellátott hegyeket is beleszámítva.

[§] Egy egységdobozban 28 minta-előkészítő kazetta van.

[¶] Egy egységdoboz tizenkét 8 pálcás védőborítást tartalmaz.

A QIASymphony AS készülék beállítása

Fogyóeszközök

A beállítás alatt a QIASymphony AS modul egyes fogyóeszközeinek megfelelő pozíciója megjelenik a készülék érintőképernyőjén.

Fogyóeszköz	Az érintőképernyőn megjelenő név	Adapterrel/reagenstartóval való használatra
Cső strip és kupakok, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG cső strip, 72 QS
2 ml-es, kúpos aljú Qsym AS csövek (500) ^{††}	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt [§]	1 QS reagenstartó
5 ml-es, kúpos aljú Qsym AS csövek (500) ^{††}	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt [§]	1 QS reagenstartó

* Olyan laboreszközt jelöl, amely a vonalkóddal jelölt hűtőadapter használatával lehűthető.

[†] Mesterkeverék-komponensekhez, rendszer által készített mesterkeverékhez, tesztstandardokhoz és tesztkontrollokhoz.

^{††} Alternatívaként használhatók a „Szükséges, de nem biztosított anyagok” című részben (2. oldal) ismertetett Sarstedt csövek is.

[§] Az érintőképernyőn megjelenő „(m)” utótag azt jelzi, hogy a konkrét meniszkusszal rendelkező reagensek esetén a folyadékszint-számítást optimalizálta a rendszer.

Adapterek és reagenstartók

Állvány/reagenstartó	Név	Szükséges mennyiség [¶]
Reagenstartók	1 QS reagenstartó	1
Mintaállvány	RG cső strip, 72 QS	1

[¶] 72 reakciós tesztfuttatáshoz számítva.

Szűrővel rendelkező hegyek

Töltse be a hegytartó állványokat az eluátum és reagensek fiókjába az 1., 2. és 3. nyílással kezdve, majd a tesztek fiókjába a 7., 8. és 9. nyílásba.

Fogyóeszköz	Az érintőképernyőn megjelenő név	Legkisebb mennyiség 24 reakció esetén	Legkisebb mennyiség 72 reakció esetén
Szűrővel rendelkező hegy, 1500 µl (1024)	1500 µl	4	5
Szűrővel rendelkező hegy, 200 µl (1024)	200 µl	9	8
Szűrővel rendelkező hegy, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Hegygyűjtő hulladékzsákok	–	1	1

PCR a Rotor-Gene Q készüléken*

A protokoll részletes leírását a www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx honlapon elérhető *Settings to run artus QS-RGQ Kits* szoftverspecifikus protokolladatlapon találja.

Az *artus* EBV QS-RGQ kit specifikus beállításai

A Rotor-Gene® szoftver 2.1-es vagy későbbi verziójánál szükséges specifikus beállítások az alábbiakban láthatók.

Reakció-térfogat (µl)	50
Hőntartás	Hőntartási hőmérséklet: 95 fok Hőntartási idő: 10 perc
Ciklusok futtatása	45-ször 95 fok 15 másodpercig 65 fok 30 másodpercig (zöld és sárga jel mérése, és a „touchdown” funkció aktiválása 10 cikluson keresztül) 72 fok 20 másodpercig
Automatikus erősítés optimalizációs beállítás	65 fok (minták: zöld, IC: sárga)

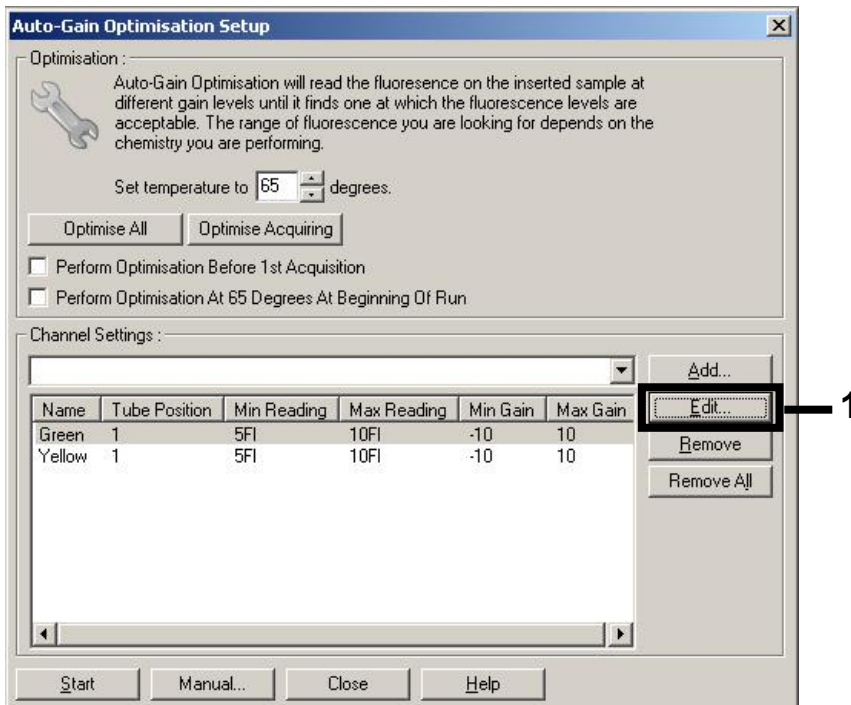
Több vizsgálatot magába foglaló futtatás

A fluoreszcens csatornák érzékelési tartományát a PCR-csőekben észlelhető fluoreszcencia intenzitása alapján kell meghatározni. Az „**Auto-Gain Optimisation Setup**” (Automatikus erősítés optimalizációs beállítás) párbeszédpanel megnyitásához kattintson a „**New Run Wizard**” (Új futtatás varázsló) párbeszédpanelen található „**Gain Optimisation**” (Erősítés optimalizálás) lehetőségre (lásd *Settings to run artus QS-RGQ Kits* protokolladatlap, 6. lépés és 7. ábra).

Egyetlen vizsgálatot magába foglaló futtatás esetén állítsa a kalibrálási hőmérsékletet **65**-re az amplifikációs program anneálási hőmérsékletének megfelelően. Olyan több vizsgálatot magába foglaló futtatás esetén, ahol az EBV és a CMV tesztet is elvégzik ugyanazon PCR-reakció során, manuálisan állítsa be a fluoreszcens csatornák intenzitását.

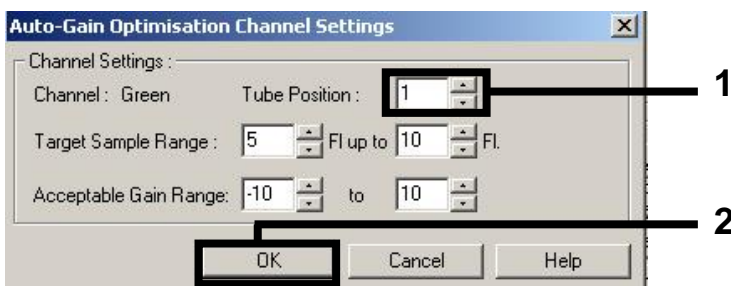
* Lehetőség szerint Rotor-Gene Q 5plex HRM készülék, amelynek gyártási dátuma 2010. január vagy annál későbbi. A gyártási dátum a készülék hátoldalán található sorozatszámról olvasható le. A sorozatszám formátuma „hhéésszsz”, ahol a „hh” a számjegyekkel jelölt gyártási hónapot jelzi, az „éé” a gyártás évének utolsó két számjegyét jelzi, az „szszsz” pedig egy egyedi készülékazonosító.

1. A fluoreszcens csatornák módosításához kattintson az „Edit” (Szerkesztés) lehetőségre (1. ábra).



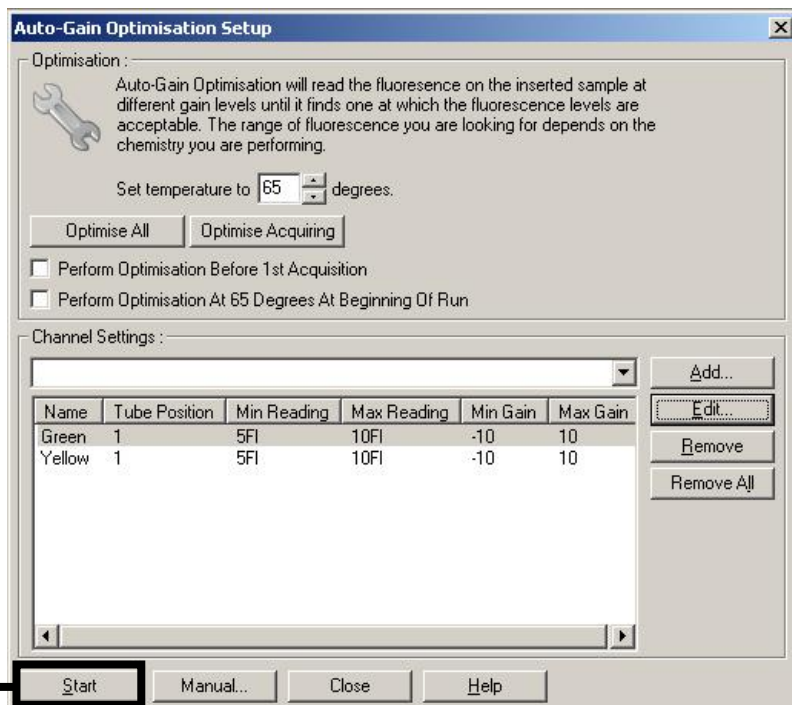
1. ábra: A fluoreszcens csatorna intenzitásának manuális beállítása. Állítsa be az összes fluoreszcens csatorna intenzitását a különböző csőpozíciókban minden tesztre (CMV és EBV) vonatkozóan.

2. Jelöljön ki egy csőpozíciót az első *artus* teszt (pl. EBV) csöve számára. Állítsa be az adott csőpozíció esetében az összes fluoreszcens csatornát, majd kattintson az „OK” (Rendben) gombra (2. ábra).



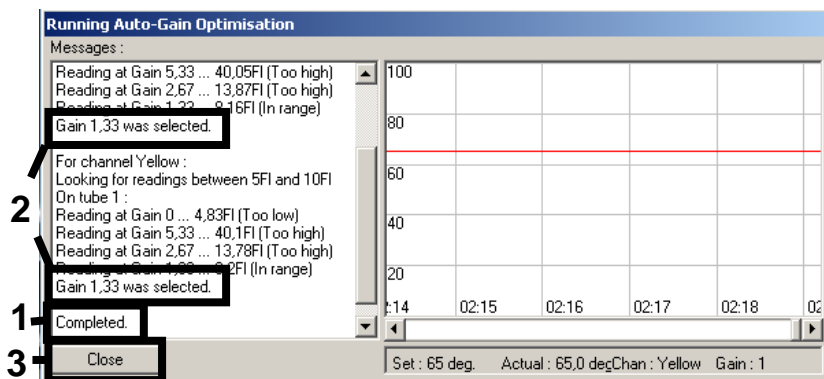
2. ábra: A csőpozíció beállítása.

3. Az első *artus* tesztre vonatkozó erősítésoptimalizálás indításához kattintson a „Start” (Indítás) gombra (3. ábra).



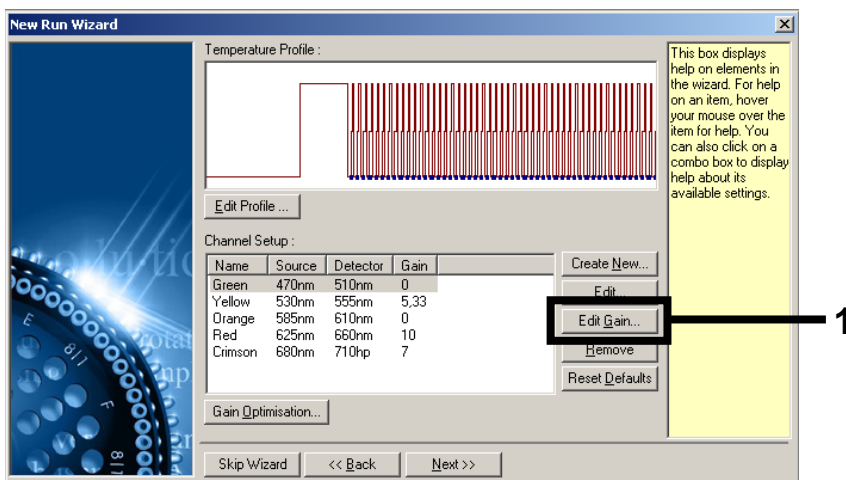
3. ábra: Az erősítésoptimalizálás indítása.

4. Megnyílik egy új „Running Auto-Gain Optimisation” (Automatikus erősítésoptimalizálás futtatása) ablak. Várjon, amíg a „Completed” (Befejeződött) felirat megjelenik az ablakban (4. ábra). Írja le a kiválasztott erősítési értéket mindkét csatorna esetében, majd kattintson a „Close” (Bezárás) gombra (4. ábra).



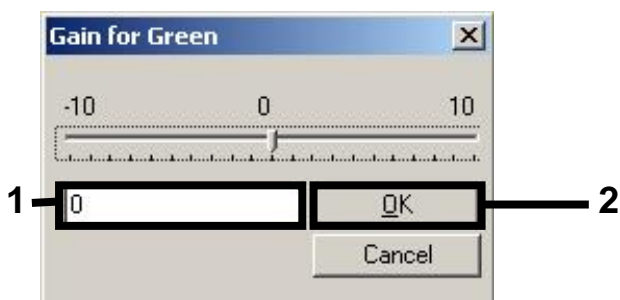
4. ábra: Az erősítésoptimalizálás befejeződött. Jegyezze fel az erősítési értéket (ebben az esetben 1,33 mindkét fluoreszcens csatorna esetében).

5. Végezze el az 1–4. lépést a második *artus* teszt (pl. CMV) csőpozíciójára vonatkozóan is.
6. Az erősítési értékek manuális módosításához kattintson az **„Edit Gain”** (Erősítés módosítása) gombra (5. ábra).



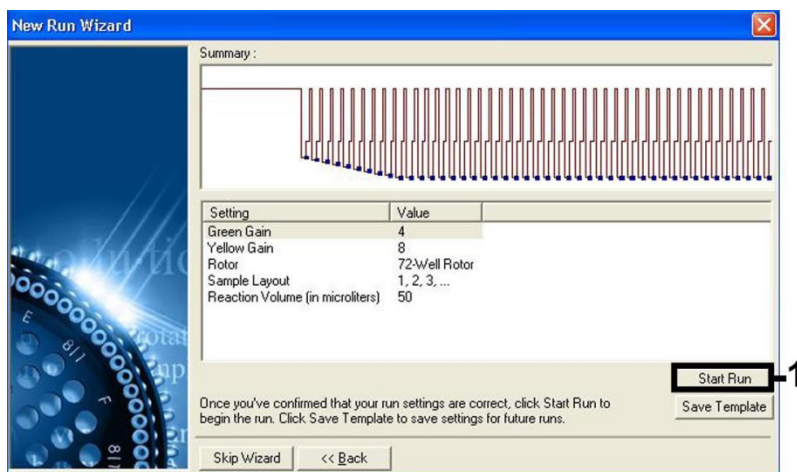
5. ábra: Az erősítési értékek manuális módosítása.

7. Válassza ki a Cycling Green fluoreszcens csatorna 4. lépésben feljegyzett legkisebb erősítési értékét, és írja be manuálisan a **„Gain for Green”** (Zöld csatorna erősítése) ablakba (6. ábra). Válassza ki a Cycling Yellow fluoreszcens csatorna 4. lépésben feljegyzett legkisebb erősítési értékét, és írja be manuálisan a **„Gain for Yellow”** (Sárga csatorna erősítése) ablakba (6. ábra).



6. ábra: A legkisebb erősítési értékek manuális beírása.

8. A csatornkalibrálás (vagy a manuális hozzárendelés) által meghatározott erősítési értékek automatikusan mentésre kerülnek, és megjelennek a programozási eljárás utolsó menüablakában (7. ábra). Kattintson a „Start Run” (Futtatás indítása) gombra.



7. ábra: A futtatás indítása.

Az eredmények értelmezése

A következő rész a Rotor-Gene Q használatával kapott eredmények értelmezését ismerteti. A mintavételtől az eredmények értelmezéséig tartó teljes munkafolyamat elemzéséhez tekintse át a mintaállapot-információkat is a QIASymphony SP/AS eredményfájlokban. Kizárólag az érvényes státuszú minták használhatók.

Az *artus* EBV QS-RGQ kit a Rotor-Gene Q készüléken a RotorGene Q szoftver 2.1-es vagy későbbi verziójával végzett kézi elemzéssel futtatható. A következő részek a Rotor-Gene Q szoftver 2.1-es vagy későbbi verziójának használatára vonatkozóan ismertetik az eredmények értelmezését.

Jelészlelés és következtetések – plazma

Jel a Cycling Green csatornában	Jel a Cycling Yellow csatornában	Mennyiségi eredmény (kópia/ml)	Értelmezés
Igen	Igen	< 157	Érvényes eredmény: Mért EBV DNS, <157 kópia/ml. Nincs lehetőség mennyiségi meghatározásra, mert a mennyiségi eredmény a kimutatási határérték alatt van. A pozitív eredmény reprodukálhatósága nem biztosított.
Igen	Igen	≥157 és <631	Érvényes eredmény: Mért EBV DNS, <631 kópia/ml. Nincs lehetőség mennyiségi meghatározásra, mert a mennyiségi eredmény a teszt lineáris tartománya alatt van.
Igen	Igen/Nem**	≥631 és ≤1 x 10 ⁷	Érvényes eredmény: A mért EBV DNS mennyisége megegyezik a számított koncentrációval. A mennyiségi eredmény a teszt lineáris tartományán belül van.
Igen	Igen/Nem**	>1 x 10 ⁷	Érvényes eredmény: Mért EBV DNS, >1 x 10 ⁷ kópia/ml. Nincs lehetőség mennyiségi meghatározásra, mert a mennyiségi eredmény a teszt lineáris tartománya felett van.*
Nem	Igen	–	Érvényes eredmény: Nem mutatható ki EBV DNS.†
Nem	Nem	–	Érvénytelen eredmény: Nem határozható meg eredmény.‡

* Ha mennyiségi meghatározásra van szükség, hígítsa a mintát EBV-mentes plazmával, és ismételje meg az eljárást. Szorozza meg az újrafuttatott minta mennyiségi eredményét a hígítási faktoral.

† Ha egy negatív minta belső kontrolljának C_T-értéke több mint 3 ciklussal nagyobb, mint a futtatásban a templát nélküli kontroll belső kontrolljának C_T-értéke (C_{T IC minta} – C_{T IC NTC} > 3), a minta eredményét érvénytelennek kell tekinteni. Nem határozható meg eredmény.

‡ A hibaforrásokkal és a hibák megoldásával kapcsolatos információk az artus *EBV QS-RGQ kit kézikönyv* „Hibaelhárítási útmutató” című részében található.

** Ilyen esetben a Cycling Yellow fluoreszcens csatorna jelétől el lehet tekinteni, mivel az EBV DNS kezdeti magas koncentrációja (pozitív jel a Cycling Green fluoreszcens csatornában) a belső kontroll jelének csökkenéséhez vagy hiányához vezethet a Cycling Yellow fluoreszcens csatornában (kompetíció).

Küszöbérték-beállítások PCR-elemzéshez

A Rotor-Gene Q készülék és az *artus* QS-RGQ kit adott kombinációjának optimális küszöbértékeit empirikus úton, az adott kombinációt tesztelve kell meghatározni, mivel a küszöbértékek relatív értékek, amelyek a teljes diagnosztikai munkafolyamat függvényében változnak. Az első PCR futtatás alkalmával a küszöbérték beállítható 0,04 értékre, azonban ezt az értéket a munkafolyamat további futtatásainak összehasonlító analízise alapján módosítani kell. A küszöbértéket manuálisan kell beállítani, közvetlenül a negatív kontrollok és a negatív minták háttérjelének értéke fölé. Az ezekből a kísérleti futtatásokból számolt átlagos küszöbérték valószínűleg alkalmazható a későbbi futtatások többségénél, azonban a felhasználónak rendszeres időközönként ajánlott ellenőriznie a kapott küszöbértéket. A küszöbérték általában a 0,03–0,05 tartományba esik, és legfeljebb három tizedesjegyre kerekíthető.

Mennyiségi meghatározás

Az *artus* EBV QS-RGQ kit kvantifikálási standardjai (EBV QS 1–4) a korábban már megtisztított mintáknak megfelelően kezelendők, térfogatuk is azonos (20 µl). A standard görbe Rotor-Gene Q készüléken történő létrehozásához mind a 4 kvantifikálási standardot használni kell; ehhez a Rotor-Gene Q készülék „**Edit Samples**” (Minták szerkesztése) párbeszédpanelén standardként, a megadott koncentrációval együtt kell őket definiálni (lásd felhasználói útmutató).

Megjegyzés: A kvantifikálási standardok mértékegysége az eluátum kópiaszámában (kópia/µl) van megadva. A standard görbe által meghatározott értékeket az alábbi egyenlet segítségével lehet átszámolni a minták kópia/ml értékeire.

$$\text{Mintaanyag eredménye (kópia/ml)} = \frac{\text{Eluátum eredménye (kópia/}\mu\text{l)} \times \text{kezdeti elúciós térfogat (90 }\mu\text{l)}^*}{\text{Mintatérfogat (ml)}}$$

A fenti egyenletbe alapvetően a kezdeti mintatérfogatot kell beírni. Ezt akkor kell felülvizsgálni, ha a minta térfogata a nukleinsav-extrakció előtt változott (pl. csökkenés centrifugálás miatt, vagy növekedés az izoláció miatt hozzáadott térfogat következtében).

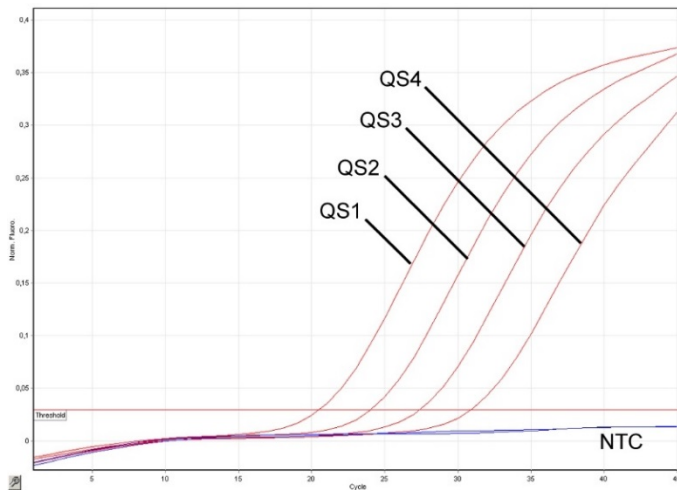
Olyan több vizsgálatot magába foglaló futtatás esetén, ahol az EBV és a CMV tesztet is elvégzik ugyanazon PCR-reakció során, ügyeljen rá, hogy a mintákat külön-külön, a megfelelő kvantifikálási standardok használatával vizsgálja a CMV és az EBV tesztek esetében.

* A számítás a kezdeti elúciós térfogat (90 µl) alapján történik.

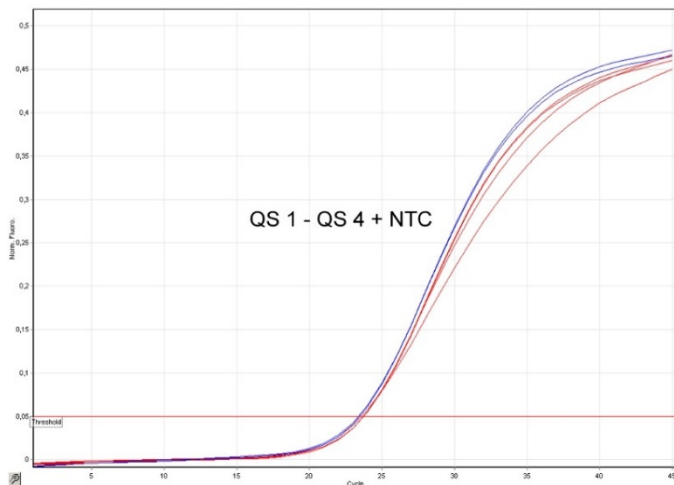
Átváltási tényező

Az EDTA-s humán plazmából származó EBV DNS Rotor-Gene Q készülékkel történő kvantifikálása esetében 1 kópia/ml = 0,142 NE/ml. Ez az átváltási tényező az alkalmazási adatlap által ismertetett, jóváhagyott munkafolyamat alkalmazása esetén használható. Az átváltási tényező egy közelítő értéket ad a teszt dinamikus tartományának átlagtényezője alapján.

Példák pozitív és negatív PCR-reakciókra



A kvantifikálási standardok (EBV QS 1–4) detekciója a Cycling Green fluoreszcens csatornában. NTC: Templát nélküli kontroll (No template control, negatív kontroll).



A belső kontroll (IC) detekciója a Cycling Yellow fluoreszcens csatornában a kvantifikálási standardok (EBV QS 1–4) amplifikációja mellett. NTC: Templát nélküli kontroll (No template control, negatív kontroll).

A dokumentum átdolgozási előzményei

2017. szeptember Az átváltási tényezőre vonatkozó információk hozzáadása (kópiaszám kifejezése NE/ml-ben). Annak a lábjegyzetnek az eltávolítása, amely szerint az AS futtatás során akár 216 teszt is elvégezhető. A szükséges anyagok/eszközök módosítása úgy, hogy csak azok az anyagok/eszközök szerepeljenek, amelyek a QS-SP/AS saját futtatási beállításai alapján maximum 72 reakcióhoz szükségesek. Az EBV mellett más vizsgálatot is magába foglaló futtatásokhoz szükséges anyagokra (CMV IC használatára) vonatkozó részletesebb információk hozzáadása. A hordozó RNS és a belső kontroll QIASymphony Management Console szoftverrel történő előkészítésére vonatkozó információk hozzáadása az „Eljárás” című részhez. A laboreszköz gyártójának módosítása BD-ről Corningra. Az RGQ futtatás beállításainak tisztázása (a „touchdown” funkció használata és adatgyűjtés). Az eredmények értelmezésére vonatkozó adatok bővítése, hogy tartalmazza a „patogén pozitív és IC negatív” eseteket is. A Rotor-Gene AssayManager használatára vonatkozó utasítások eltávolítása. A kvantifikálási küszöbértékek módosítása úgy, hogy igazodjanak a frissített lineáris tartomány értékeihez. A kvantifikálási számításban szereplő eluátum- és mintakonzentráció fogalmának tisztázása. A feltüntetett előtisztítási adatok módosítása. A QIASymphony protokoll verzióinak frissítése: a „Tesztparaméter-készlet” verziószámának módosítása V4-ről V5-re, és az „Alapértelmezett tesztkontroll-készlet” verziószámának módosítása V6-ról V7-re.

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN kit kézikönyvében vagy felhasználói útmutatójában található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói útmutatói a www.qiagen.com webhelyen érhetők el, vagy a QIAGEN Műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

Rendelés: www.qiagen.com/shop | Műszaki támogatás: support.qiagen.com | Webhely: www.qiagen.com