

Eylül 2017

# QIAsymphony® RGQ Uygulama Sayfası

*artus*® EBV QS-RGQ Kit (örnek tipi: plazma)

IVD



REF

4501363TR *artus* EBV QS-RGQ Kiti, Versiyon 1.



Testi gerçekleştirmeden önce [www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx) adresinde yeni elektronik etiketleme revizyonlarının varlığını kontrol edin.

## Genel Bilgi

Kit	<i>artus</i> EBV QS-RGQ Kiti, Versiyon 1 (kat. no. 4501363)
Geçerli örnek materyali	İnsan EDTA plazma
Ön uç saflaştırma	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kiti (kat. no. 937055)
Örnek hacmi (fazla hacim dahil)	1200 µl
Analiz Parametre Seti	<i>artus</i> _EBV_plasma1000_V5 MA_ <i>artus</i> _EBV_plasma1000_V5*
Varsayılan Analiz Kontrol Seti	Cellfree1000_V7_DSP_ <i>artus</i> _EBV
Elüsyon hacmi	60 µl
Gereken yazılım versiyonu	Versiyon 4.0 veya üstü
Master karışım hacmi	30 µl
Şablon hacmi	20 µl
Reaksiyon sayısı	6–24
AS modülünde çalışma süresi	6 reaksiyon için: yaklaşık 9 dakika 72 reaksiyon için: yaklaşık 35 dakika

\* Saflaştırma süreci ve test ayarı için CMV RG IC yüklemek amacıyla *artus* CMV QS-RGQ Kitiyle çoklu test çalışması protokolü.

## Gereken Ama Sağlanmayan Materyal

### Saflaştırma kiti

- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kiti (kat. no. 937055)

### QIASymphony SP için adaptörler

- Elution Microtube Rack QS (Elüsyon Mikrotüp Askısı QS) (Soğutma Adaptörü, EMT, v2, Qsym, kat. no. 9020730)
- Transfer çerçevesi
- Tube Insert 3B (Tüp İnserti 3B) (İnsert, 2,0 ml v2, örnek taşıma (24), Qsym, kat. no. 9242083)

### QIASymphony SP için sarf malzemesi

- Sample Prep Cartridges (Örnek Hazırlama Kartuşları), 8 kuyulu (kat. no. 997002)
- 8-Rod Covers (8 Çubuk Kapağı) (kat. no. 997004)
- Filter-Tips (Filtre Uçları), 1500 µl (kat. no. 997024)
- Filter-Tips (Filtre Uçları), 200 µl (kat. no. 990332)
- Elution Microtubes CL (Elüsyon Mikrotüpleri CL) (kat. no. 19588)
- Tip disposal bags (Uç atık torbaları) (kat. no. 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Type H (Mikro tüpler 2,0 ml Tip H) veya Micro tubes 2.0 ml Type I (Mikro tüpler 2,0 ml Tip I) (Sarstedt® kat. no. 72.693 ve 72.694, [www.sarstedt.com](http://www.sarstedt.com)), örnekler ve dahili kontrollerle kullanmak üzere

### QIASymphony AS için adaptörler ve reaktif tutucular

- Reagent holder 1 QS (Reaktif tutucu 1 QS) (Soğutma Adaptörü, Reaktif Tutucu 1, Qsym, kat. no. 9018090)
- RG Strip Tubes 72 QS (RG Strip Tüpleri 72 QS) (Soğutma Adaptörü, RG Strip Tüpleri 72, Qsym, kat. no. 9018092)

### QIASymphony AS için sarf malzemesi

- Strip Tubes and Caps (Strip Tüpleri ve Kapakları), 0,1 ml (kat. no. 981103)
- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (Tüpler, konik, 2 ml, Qsym AS) (kat. no. 997102) veya Micro tubes 2.0 ml Type I (Mikro tüpler 2,0 ml Tip I) (Sarstedt, kat. no. 72.694.005)
- Muhtemelen: Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (Tüpler, konik, 5 ml, Qsym AS) (kat. no. 997104) veya Tubes with flat base from PP (PP'den yassı tabanlı Tüpler) (Sarstedt, kat. no. 60.558.001)
- Filter-Tips (Filtre Uçları), 1500 µl (kat. no. 997024)
- Filter-Tips (Filtre Uçları), 200 µl (kat. no. 990332)
- Filter-Tips (Filtre Uçları), 50 µl (kat. no. 997120)
- Tip disposal bags (Uç atık torbaları) (kat. no. 9013395)

## Numune Kullanımı ve Saklanması

Örnek alma	Kan örneği 5–10 ml EDTA'lı kan 8x genel kullanım karışımı — ajitasyon yok! Heparinize insan örnekleri kullanılmamalıdır.
Örnek saklama	Ayırma: 20 dakika santrifügasyon, 800–1600 x g, topladıktan sonraki 24 saat içinde İzole edilmiş plazmayı steril bir polipropilen tüpe aktarın Testin hassasiyeti eğer örnekler rutin olarak dondurulursa veya daha uzun bir süre saklanırsa azalabilir.
Örnek taşıma	Kırılmaz nakil kabı 24 saat içinde sevkıyat Sevkıyatı patojenik materyal nakli için yasal talimatla birlikte gönderin* Kan örnekleri soğuk (2–8°C) olarak gönderilmelidir
Engelleyici maddeler	Heparin ( $\geq 10$ IU/ml) PCR'ı etkiler. Antikoagülan olarak heparin içeren tüplerde toplanan örnekler veya heparinize hastalardan örnekler kullanılmamalıdır.
Örnek hazırlama	Örnekler içinde veya üzerinde köpük oluşmasını engelleyin Çalışma başlatılmadan önce örneklerin sıcaklığı oda sıcaklığına (15–25°C) getirilmelidir.

\* International Air Transport Association (Uluslararası Hava Taşımacılığı Derneği) (IATA). Dangerous Goods Regulations (Tehlikeli Mallar Düzenlemesi).

# Prosedür

## Taşıyıcı RNA'nın hazırlanması ve örneklere dahili kontrolün eklenmesi

QIASymphony DSP Virüs/Patojen Midi Kitinin *artus* EBV QS-RGQ Kitiyle kombinasyon halinde kullanılması örnek hazırlama etkinliği ve aşağı doğru testi izlemek için saflaştırma işlemine inaktive edilmiş sağlam dahili kontrol (EBV RG IC) eklenmesini gerektirir.

Hem EBV hem de CMV'nin aynı PCR'de test edileceği bir çoklu test çalışması için, saflaştırma sürecinde *artus* CMV QS-RGQ Kitinden elde edilen CMV RG IC'nin kullanıldığından emin olun. Her iki örnek hazırlama işlemi için ve PCR kontrollerinin test ayarı için aynı lottan elde edilen bir CMV RG IC kullanın. Farklı bir lot numarasına sahip CMV RG IC kullanmayın.

Dahili kontroller taşıyıcı RNA (CARRIER)–Tampon AVE (AVE) karışımıyla eklenmelidir ve dahili kontrol–taşıyıcı RNA (CARRIER)–Tampon AVE (AVE) karışımının toplam hacmi 120 µl olarak kalır.

Tablo 1 µl elüsyon hacmi başına 0,1 µl oranıyla izolasyona dahili kontrol eklenmesini temsil etmektedir. Her çalışma için kullanımdan hemen önce taze karışımların hazırlanmasını öneriyoruz. Alternatif olarak QIASymphony Management Console'daki (QIASymphony Yönetim Konsolu) "IC Calculator" (IC Hesaplama) Aracı kullanılabilir.

Bileşen	Hacim (µl) (Sarstedt tüpleri)*	Hacim (µl) (Corning tüpleri)†
Stok taşıyıcı RNA (CARRIER)	5	5
Dahili kontrol‡	9	9
AVE Tamponu	106	106
Örnek başına son hacim (ölü hacim hariç)	120	120
n örnek için toplam hacim	$(n \times 120) + 360^{\S}$	$(n \times 120) + 600^{\parallel}$

\* Mikro tüpler 2,0 ml Tip H ve Mikro tüpler 2,0 ml Tip I Sarstedt kat. no.'ları 72,693 ve 72,694.

† Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Tüpler 14 ml, 17 x 100 mm polistren yuvarlak altlı) (Corning® Inc., kat. no. 352051; Becton Dickinson bu tüpün daha önceki tedarikçisiydi ve şu anda tedarikçi Corning Inc.dir).

‡ Dahili kontrol miktarı hesaplaması başlangıç elüsyon hacimlerini (90 µl) temel alır. Ek boşluk hacmi kullanılan örnek tüpü tipine bağlıdır.

§ 3 ek örneğe karşılık gelen dahili kontrol karışımı (yani, 360 µl) gereklidir. 1,92 ml toplam hacimden daha fazla doldurmayın (maksimum 13 örneğe karşılık gelir). Bu hacimler Mikro tüpler 2,0 ml Tip H ve Mikro tüpler 2,0 ml Tip I için spesifiktir (Sarstedt kat. no.'ları 72.693 ve 72.694).

¶ 5 ek örneğe (yani, 600 µl) karşılık gelen dahili kontrol karışımı gereklidir. 13,92 ml toplam hacimden daha fazla doldurmayın (maksimum 111 örneğe karşılık gelir). Bu hacimler şunlara özeldir: Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Tüpler 14 ml, 17 x 100 mm polistren yuvarlak altlı) (Corning Inc., kat. no. 352051; Becton Dickinson bu tüpün daha önceki tedarikçisiydi ve şu anda tedarikçi Corning Inc.dir).

## QIAsymphony SP kurulumu

### “Waste” (Atık) çekmecesi

Ünite kutusu tutucu 1–4	Boş ünite kutuları
Atık torbası tutucu	Atık torbası
Sıvı atık şişesi tutucu	Sıvı atık şişesini boşaltın ve kurun

### “Eluate” (Elüt) çekmecesi

Elüsyon askısı	Transfer çerçevesi ve Elüsyon Mikrotüp Askısı QS'deki Elüsyon Mikrotüpleri CL Yuva 1, soğutma pozisyonu kullanın
Elüsyon hacmi*	Önceden seçili elüsyon hacmi: 60 µl Başlangıç elüsyon hacmi: 90 µl

\* Protokol için elüsyon hacmi önceden seçilir. Bu son elüsyon tüpünde minimum erişilebilir elüt hacmidir. Elüsyon solüsyonunun başlangıç hacmi fiili elüt hacminin önceden seçili hacimle aynı olmasını sağlamak için gereklidir.

### “Reagents and Consumables” (Reaktifler ve Sarflar) çekmecesi

RC Pozisyonu 1 ve 2	48 örneğe kadar için 1 reaktif kartuşu (RC) veya 96 örneğe kadar için 2 yeni reaktif kartuşu (RC) yükleyin
Uç askı tutucu konumları 1-18	Yeterli sayıda tek kullanımlık filtre ucu 200 µl ve 1500 µl askı yükleyin (bkz. “1-4 örnek grubu için gereken plastik malzeme”, sayfa 7)
Ünite kutusu tutucu pozisyonu 1–4	Örnek hazırlama kartuşları ve 8 Rod Kılıflarını içeren ünite kutularını yükleyin (bkz. “1-4 örnek grubu için gereken plastik malzeme”, sayfa 7)

“Sample” (Örnek) çekmecesi

Örnek tipi	İnsan EDTA Plazma
Örnek hacmi (fazla hacim dahil)	1200 µl
Örnek tüpleri	Mikro tüpler 2,0 ml Tip H veya Mikro tüpler 2,0 ml Tip I (Sarstedt kat. no.'ları 72,693 ve 72,694)
İnsert	Tüp İnserti 3B (kat. no. 9242083)

1-4 örnek grubu için gereken plastik malzeme

Bileşen	Bir grup, 24 örnek*	İki grup, 48 örnek*	Üç grup, 72 örnek*	Dört grup, 96 örnek*
Tek kullanımlık filtre uçları, 200 µl <sup>†‡</sup>	28	52	76	100
Tek kullanımlık filtre uçları, 1500 µl <sup>†‡</sup>	113	206	309	402
Örnek hazırlama kartuşları <sup>§</sup>	21	42	54	72
8 Rod Kılıfı <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* Grup başına birden fazla dahili kontrol tüpü kullanılması ve birden fazla envanter taraması yapılması ek tek kullanımlık filtre uçları gerektirir.

† Uç askısı başına 32 filtre ucu vardır.

‡ Gereken filtre ucu sayısına reaktif kartuşu başına 1 envanter taraması için filtre uçları dahildir.

§ Ünite kutusu başına 28 örnek hazırlama kartuşu vardır.

¶ Ünite kutusu başına on iki 8 Rod Kılıfı vardır.

## QIASymphony AS kurulumu

### Sarf Malzemeleri

Kurulum sırasında her sarf malzemesi için QIASymphony AS modülü üzerinde uygun pozisyonlar aletin dokunmatik ekranı üzerinde belirtilir.

Sarf Malzemesi	Dokunmalı ekranda isim	Adaptör/reaktif tutucuyla kullanılmak üzere
Şerit Tüpleri ve Kapakları, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG Strip Tüpleri 72 QS
Tüpler, konik, 2 ml, Qsym AS (500) <sup>†‡</sup>	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt <sup>§</sup>	Reaktif tutucu 1 QS
Tüpler, konik, 5 ml, Qsym AS (500) <sup>†‡</sup>	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt <sup>§</sup>	Reaktif tutucu 1 QS

\* Barkodlu bir soğutma adaptörü kullanılarak soğutulabilecek laboratuvar gereçlerine işaret eder.

<sup>†</sup> Master karışım bileşenleri, sistem tarafından hazırlanan master karışım, test standartları ve test kontrolleri için.

<sup>‡</sup> Alternatif olarak "Gereken Ama Sağlanmayan Materyal", sayfa 2 içinde tanımlanan Sarstedt tüpleri kullanılabilir.

<sup>§</sup> Dokunmalı ekranda "(m)" ön eki ilgili tüp için sıvı seviyesi hesaplamalarını konkav bir menisküs oluşturan reaktifler için optimize edildiğine işaret eder.

### Adaptörler ve reaktif tutucular

Askı/reaktif tutucu	Ad	Gereken sayı <sup>¶</sup>
Reaktif tutucular	Reaktif tutucu 1 QS	1
Örnek askıları	RG Strip Tüpleri 72 QS	1

<sup>¶</sup> 72 reaksiyonlu bir test çalışması için hesaplanmıştır.



## Filtre uçları

Uç lotları 1, 2 ve 3 ile başlayarak “Eluate and Reagents” (Elüt ve Reaktifler) çekmecesine uç askılarını yükleyin ve sonra uç askılarını “Assays” (Testler) çekmecesinde uç yuvaları 7, 8 ve 9'a yükleyin.

<b>Sarf Malzemesi</b>	<b>Dokunmalı ekranda isim</b>	<b>24 reaksiyon için minimum sayı</b>	<b>72 reaksiyon için minimum sayı</b>
Filtre Uçları, 1500 µl (1024)	1500 µl	4	5
Filtre Uçları, 200 µl (1024)	200 µl	9	8
Filtre Uçları, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Uç Atık Torbaları	–	1	1

## Rotor-Gene Q üzerinde PCR\*

Lütfen protokol ayrıntıları için yazılıma özel protokol sayfası "Settings to run artus QS-RGQ Kits" belgesine [www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx) adresine başvurun.

artus EBV QS-RGQ Kiti için spesifik ayarlar

Rotor-Gene® yazılımı 2.1 veya üstü bir sürüm ile spesifik ayarlar aşağıda gösterilmiştir.

Reaksiyon Hacmi (µl)	50
Tutma	Tutma Sıcaklığı: 95 derece Tutma Süresi: 10 dakika
Döngü	45 kez 15 saniye için 95 derece 30 saniye için 65 derece (Yeşil, Sarı üzerinde alın ve 10 döngü için touchdown fonksiyonunu etkinleştirin) 20 saniye için 72 derece
Otomatik Kazanç Optimizasyonu Kurulumu	65 derece (Örnek: Yeşil; IC: Sarı)

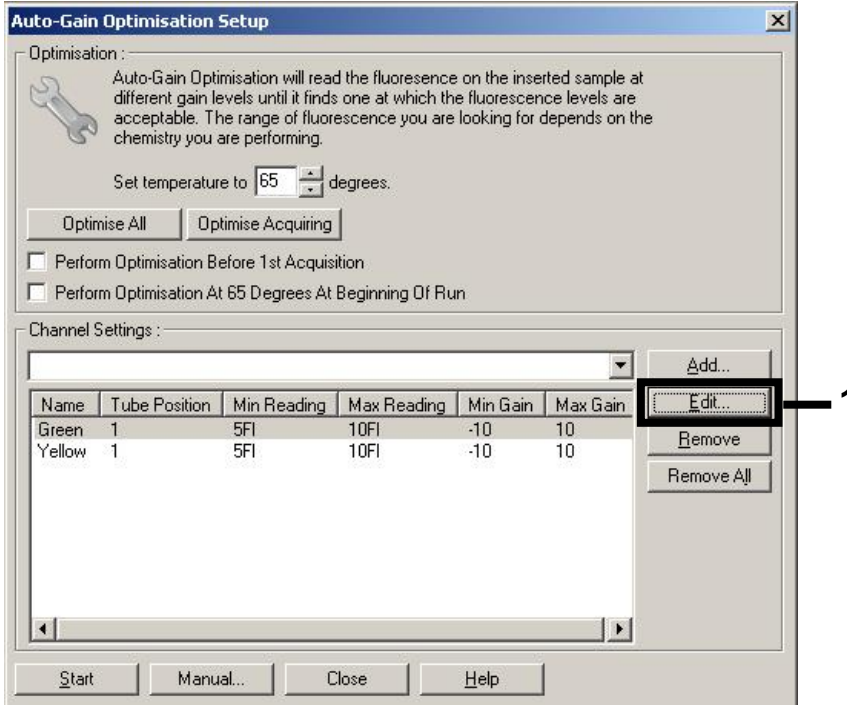
### Çoklu test çalışması

Floresans kanalları için saptama aralığının PCR tüplerindeki floresans şiddetlerine göre belirlenmesi gerekir. **Auto-Gain Optimisation Setup** (Otomatik Kazanç Optimizasyonu Kurulumu) iletişim penceresini açmak için **New Run Wizard** (Yeni Çalıştırma Sihirbazı) iletişim kutusunda **Gain Optimisation**'a (Kazanç Optimizasyonu) tıklayın (bkz. *artus QS-RGQ Kitlerini çalıştırma ayarları* protokol sayfasında Adım 6 ve Şekil 7).

Tek test çalışması için kalibrasyon sıcaklığını, amplifikasyon programının birleştirme sıcaklığıyla eşleşmesi için **65** olarak ayarlayın. EBV ve CMV'nin aynı PCR'de test edileceği çoklu test çalışması için floresans kanalı yoğunluklarını manuel olarak ayarlayın.

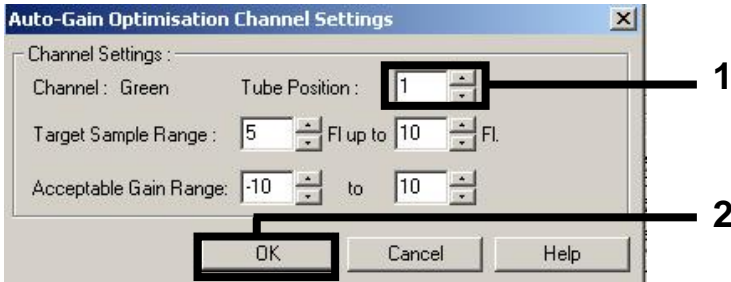
\* Geçerliyse, Ocak 2010 veya sonraki üretim tarihli Rotor-Gene Q 5plex HRM aleti. Üretim tarihi bilgisi, cihazın arkasındaki seri numarasından edinilebilir. Seri numarası, "mm" ibaresinin basamak olarak üretim ayını, "yy" ibaresinin üretim yılının son iki basamağını ve "nnn" ibaresinin benzersiz cihaz tanımlayıcıyı gösterdiği "mmyynnn" biçimindedir.

1. Floresans kanallarını düzenlemek için **Edit'e** (Düzenle) (Şekil 1) tıklayın.



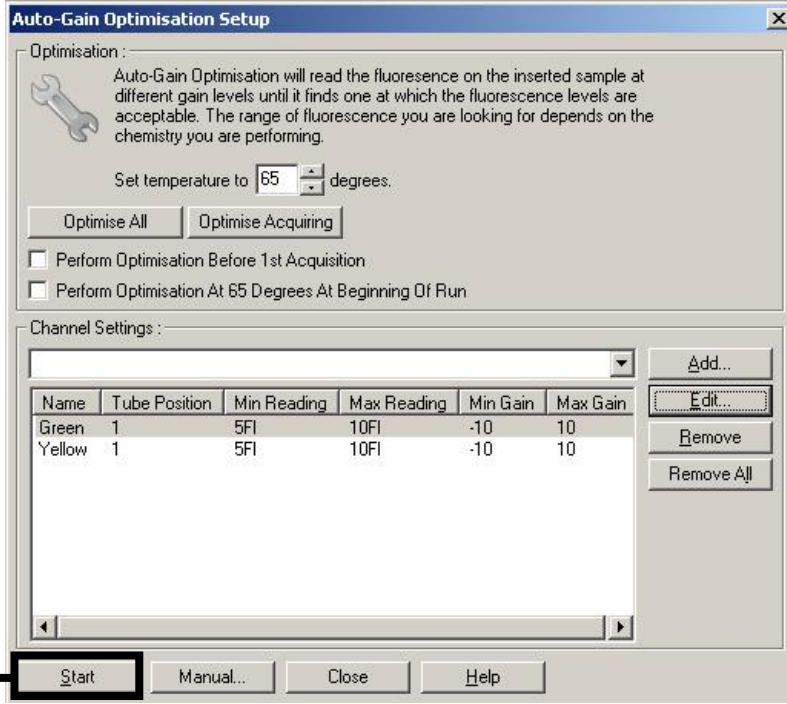
**Şekil 1. Floresans kanalı yoğunluğunu manuel olarak ayarlama.** Farklı testler (CMV ve EBV) için farklı tüp konumlarında her bir floresans kanalı için yoğunluğu ayarlayın.

2. İlk *artus* testinde (örn. EBV) bir tüp için tüp konumunu ayarlayın. Tüm floresans kanalları için tüp konumunu ayarlayın ve **OK'a** (Tamam) (Şekil 2) tıklayın.



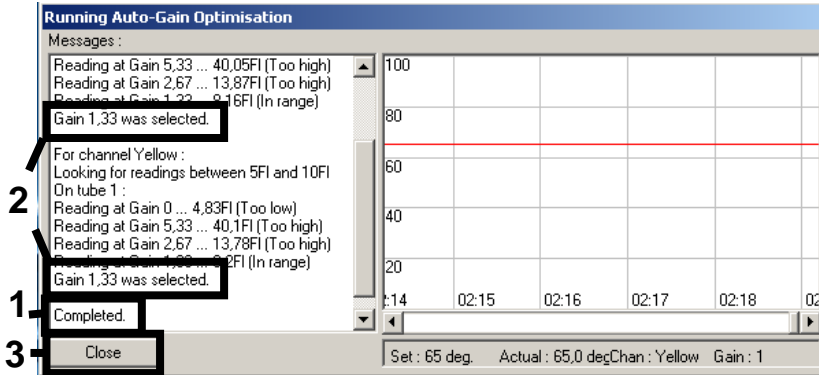
**Şekil 2. Tüp konumunu ayarlama.**

3. İlk *artus* testi için kazanç optimizasyonunu başlatmak üzere **Start**'a tıklayın (Şekil 3).



Şekil 3. Kazanç optimizasyonunu başlatma.

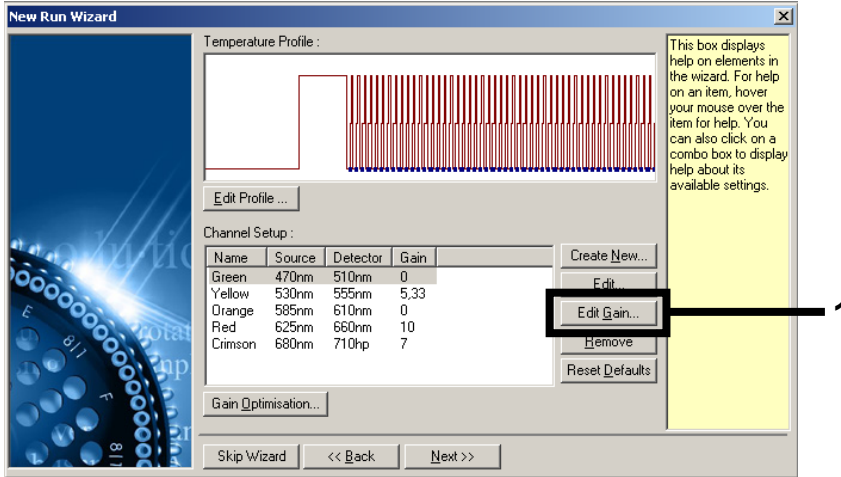
4. Yeni bir **Running Auto-Gain Optimisation** (Otomatik Kazanç Optimizasyonu Çalışıyor) penceresi açılır. Pencerede **Completed** (Tamamlandı) görünene dek bekleyin (Şekil 4) Her iki kanal için seçilen kazanç değerlerini yazın ve ardından **Close**'a (Kapat) tıklayın (Şekil 4).



Şekil 4. Kazanç optimizasyonu tamamlandı. Kazanç değerlerini not edin (bu örnekte her iki floresans kanalı için 1,33).

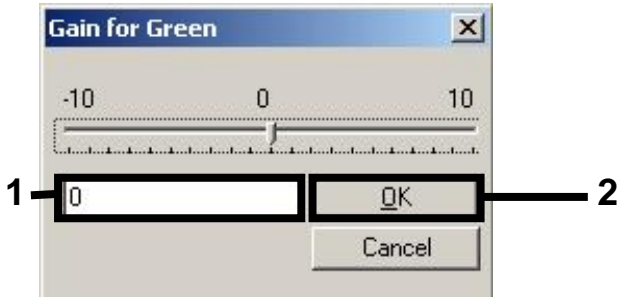
5. İkinci *artus* testinde (örn. CMV) bir tüp konumu için 1-4 arası adımları tekrarlayın.

6. Kazanç değerlerini manuel olarak düzenlemek için **Edit Gain'e** (Kazanç Düzenle) tıklayın (Şekil 5)



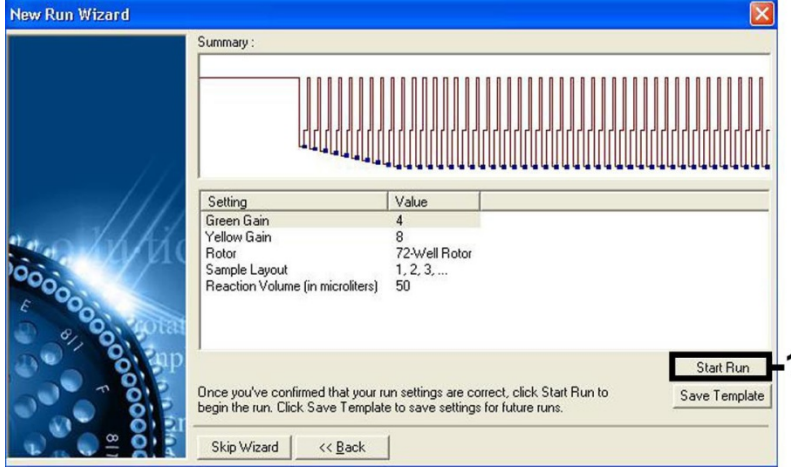
Şekil 5. Kazanç değerlerini manuel olarak düzenleme.

7. Adım 4'te belirtilen Cycling Green için en düşük kazanç değerini seçin ve bu değeri manuel olarak **Gain for Green** (Yeşil için Kazanç) penceresinde girin (Şekil 6). Adım 4'te belirtilen Cycling Yellow için en düşük kazanç değerini seçin ve bu değeri manuel olarak **Gain for Yellow** (Sarı için Kazanç) penceresinde girin (Şekil 6).



Şekil 6. En düşük kazanç değerlerini manuel olarak girme.

8. Kanal kalibrasyonu tarafından belirlenen (ya da manuel olarak atanan) kazanç değerleri otomatik olarak kaydedilir ve programlama işleminin son menü penceresinde liste halinde verilir (Şekil 7). **Start Run** (Çalışmayı Başlat) kısmına tıklayın.



**Şekil 7. Çalışmayı başlatma.**

## Sonuçların yorumlanması

Bu bölüm Rotor-Gene Q sonuçlarının yorumlanmasını tanımlar. Ayrıca tam bir örnekten sonuca iş akışı analizi için QIASymphony SP/AS sonuç dosyalarındaki örnek durumu bilgisini gözden geçirin. Sadece geçerli durumu olan örnekler kullanılacaktır.

*artus* EBV QS-RGQ Kiti Rotor-Gene Q yazılımı 2.1 veya üstü ile manuel analiz kullanılarak Rotor-Gene Q üzerinde çalıştırılabilir. Aşağıdaki bölümler Rotor-Gene Q yazılımı 2.1 veya üstü kullanılarak sonuçların yorumlanmasını tanımlar.

Sinyal saptama ve sonuçlar — plazma

Cycling Green kanalında sinyal	Cycling Yellow kanalında sinyal	Kantitasyon sonuç (kopya/ml)	Yorum
Evet	Evet	<157	Geçerli sonuç: EBV DNA saptandı, <157 kopya/ml. Kantitasyon mümkün değil çünkü kantitatif sonuç saptama limitinin altında. Pozitif sonucun tekrar üretilebilirliği garanti edilmez.
Evet	Evet	≥157 ve <631	Geçerli sonuç: EBV DNA saptandı, <631 kopya/ml. Kantitasyon mümkün değil çünkü kantitatif sonuç testin lineer aralığının altında.
Evet	Evet/Hayır**	≥631 ve ≤1 x 10 <sup>7</sup>	Geçerli sonuç: Hesaplanan konsantrasyonda EBV DNA saptandı. Kantitatif sonuç, testin lineer aralığı dahilinde.
Evet	Evet/Hayır**	>1 x 10 <sup>7</sup>	Geçerli sonuç: EBV DNA saptandı, >1 x 10 <sup>7</sup> kopya/ml. Kantitasyon mümkün değil çünkü kantitatif sonuç testin lineer aralığının üstünde.*
Hayır	Evet	–	Geçerli sonuç: EBV DNA saptanamaz.†
Hayır	Hayır	–	Geçersiz sonuç: Bir sonuca varılamaz.‡

\* Kantitasyon isteniyorsa örneği EBV içermeyen plazmayla seyreltin ve tekrar işleyin. Tekrar işlenmiş örnekten kantitatif sonucu dilüsyon faktörüyle çarpın.

† Negatif bir örneğin dahili kontrolü için C<sub>T</sub> değeri çalışmada şablonsuz kontrolün dahili kontrolü için C<sub>T</sub> değerinden 3 döngüden daha yüksekse (C<sub>T</sub> IC Sample – C<sub>T</sub> IC NTC >3), örnek geçersiz olarak muamele görmelidir. Bir sonuca varılamaz.

‡ Hata kaynakları ve çözümleriyle ilgili bilgi artus *EBV QS-RGQ Kit Handbook* içinde "Troubleshooting Guide" (Sorun Giderme Kılavuzu) kısmında bulunabilir.

\*\* Bu durumda Cycling Yellow kanalında bir sinyalin saptanması kullanılmayabilir çünkü yüksek başlangıç EBV DNA konsantrasyonları (Cycling Green Kanalında pozitif sinyal) Cycling Yellow kanalında dahili kontrol floresan sinyalinin azalmış olması veya olmamasına neden olabilir (rekabet).

## PCR analizi için eşik kurulumu

Verilen bir Rotor-Gene Q aleti ve *artus* QS-RGQ Kiti kombinasyonu için optimum eşik ayarları her ayrı kombinasyon test edilerek deneme yoluyla ayarlanmalıdır çünkü genel diagnostik iş akışına bağlı relatif bir değerdir. İlk PCR çalışmasının analizi için eşik 0,04 ön değeriyle ayarlanabilir ancak bu değer iş akışında sonraki çalışmaların karşılaştırmalı bir analiziyle daha ileri ayarlanmalıdır. Eşik manuel olarak negatif kontrollerin ve negatif örneklerin arka plan sinyalinin hemen üzerinde ayarlanmalıdır. Bu deneylerden hesaplanan ortalama eşik değeri muhtemelen gelecekteki çalışmaların çoğunluğuyla çalışacaktır ama kullanıcı yine de oluşturulan eşik değerini düzenli aralıklarla gözden geçirmelidir. Eşik değeri genellikle 0,03–0,05 aralığında olacaktır ve virgülden sonra en fazla üç rakam olacak şekilde yuvarlanmalıdır.

## Kantitasyon

*artus* EBV QS-RGQ Kitindeki kantitasyon standartları (EBV QS 1–4) daha önce saflaştırılmış örneklerle aynı şekilde muamele edilir ve aynı hacim kullanılır (20 µl). Rotor-Gene Q aletleri üzerinde standart bir eğri oluşturmak için 4 kantitasyon standardının hepsi kullanılmalı ve Rotor-Gene Q aleti üzerinde belirtilen konsantrasyonlarla standartlar olarak **Edit Samples** diyalog kutusunda tanımlanmalıdır (bakınız alet kullanım kılavuzu).

**Not:** Kantitasyon standartları elüt içinde kopya/µl olarak tanımlanır. Aşağıdaki denklemin standart eğri kullanılarak belirlenen değerlerin kopya/ml örnek materyal olarak dönüştürülmesi için uygulanması gerekir.

$$\text{Örnek materyalinde sonuç (kopya/ml)} = \frac{\text{Elütte sonuç (kopya/µl)} \times \text{Başlangıç Elüsyon Hacmi (90 µl)*}}{\text{Örnek Hacmi (ml)}}$$

Prensip olarak başlangıç örnek hacmi yukarıdaki denkleme girilmelidir. Örnek hacmi nükleik asit ekstraksiyonu öncesinde değiştirildiğinde bunun dikkate alınması gerekir (örn. hacmin santrifügasyonla azaltılması veya izolasyon için gerekli hacme ekleme yapılarak hacmin artırılması).

EBV ve CMV'nin aynı PCR'de test edildiği çoklu test çalışması için, örneklerin, ilgili kantitasyon standartlarıyla birlikte CMV ve EBV için ayrı olarak analiz edildiğinden emin olun.

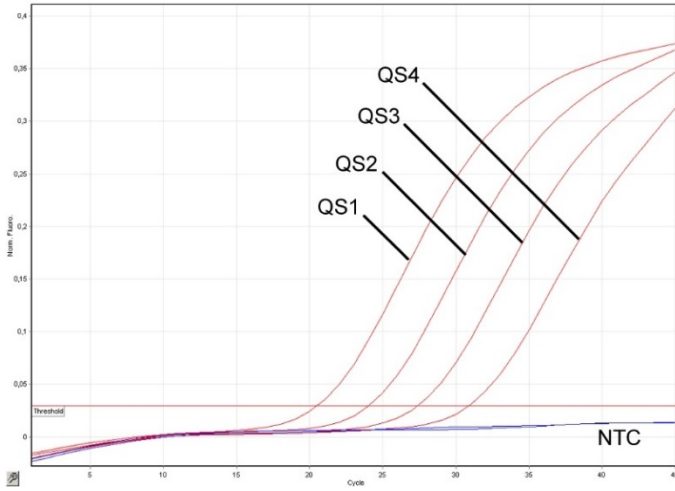
\* Hesaplama başlangıç elüsyon hacimlerini (90 µl) temel alır.



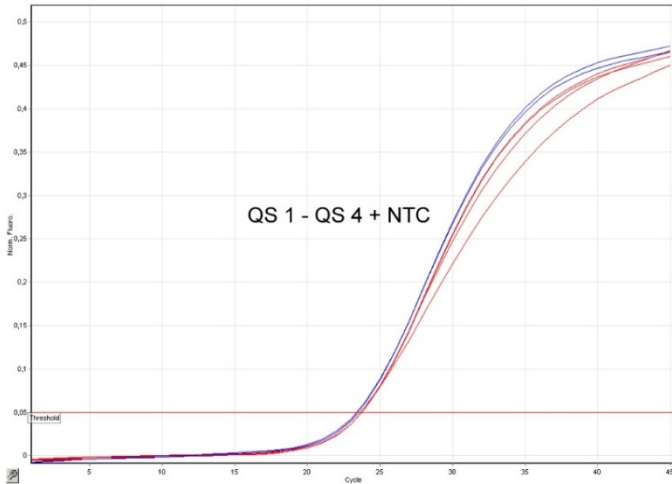
## Dönüştürme faktörü

1 kopya/ml, Rotor-Gene Q'da insan EDTA plazmadan türetilen EBV DNA'nın saptanması için 0,142 IU/ml'ye tekabül eder. Bu dönüştürme faktörü, bu Uygulama Sayfasında belirtildiği gibi geçerli iş akışına uyulduğunda geçerlidir. Dönüştürme faktörü, testin dinamik aralığında bir ortalama faktörün temel alındığı bir yaklaşık değerdir.

## Pozitif ve negatif PCR reaksiyonları örnekleri



**Cycling Green (Yeşil Döngü) floresan kanalında miktar tayini standartlarının (EBV QS 1–4) tespiti. NTC: Şablonsuz kontrol (negatif kontrol).**



**Kantitasyon standartlarının (EBV QS 1–4) eş zamanlı amplifikasyonu ile dahili kontrolün (IC) floresans kanalı Cycling Yellow içinde saptanması. NTC: Şablonsuz kontrol (negatif kontrol).**

## Belge revizyon geçmişi

Eylül 2017

Dönüştürme faktörüyle ilgili bilgi eklendi (IU/ml için kopyalar). Bir AS çalışmasında 216 adede kadar test ayarlanabileceğini belirten altbilgi kaldırıldı. Yalnızca QS-SP/AS'de maks. 72 reaksiyonluk entegre çalışma kurulumu için gereken materyaller dahil olacak şekilde gerekli materyaller değiştirildi. EBV ile çoklu test çalışması için materyallerin kullanımıyla ilgili daha ayrıntılı bilgi eklendi (CMV IC kullanımı). "Prosedür" bölümüne IC preparatı ve taşıyıcı RNA için QIASymphony Management Console (QIASymphony Yönetim Konsolu) yazılımının kullanımıyla ilgili bilgi eklendi. Laboratuvar gereçlerinin üreticisi BD'den Corning'e değiştirildi. RGQ çalışma ayarları daha açık ifade edildi (touchdown fonksiyonunun kullanımı, edinimler). "Patojen pozitif ve IC negatif" durumlarını içerecek şekilde sonuçların yorumlanmasıyla ilgili bilgi eklendi. Rotor-Gene AssayManager'ın kullanımıyla ilgili talimatlar çıkarıldı. Güncellenen lineer aralık değerleriyle uyumlu olması için kantitatif sonuç limitleri değiştirildi. Kantitasyon hesaplamasında elüt ile örnek konsantrasyonu arasındaki fark daha açık ifade edildi. Ön uç saflaştırma listesi uyarlandı. QIASymphony protokol versiyonları güncellendi: "Analiz Parametre Seti" versiyon numarası V4'ten V5'e ve "Varsayılan Analiz Kontrol Seti" V6'dan V7'ye yükseltildi.

Güncel lisans bilgileri ve ürüne özgü yasal uyarılar için ilgili QIAGEN kiti el kitabına veya kullanıcı kılavuzuna bakın. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresinde bulunabilir veya QIAGEN Technical Services veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Ticari markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); BD™ (Becton, Dickinson and Company); Corning® (Corning Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Bu belgede geçen kayıtlı isimler, ticari markalar, vb. açıkça bu şekilde belirtilmemiş olsa bile yasalarda korunmaktadır. 09/2017 HB-0357-S02-002  
© 2012–2017 QIAGEN, tüm hakları saklıdır

---

Sipariř verme [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Teknik Destek [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Web sitesi [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)