

2018 vasaris

# „QIA Symphony<sup>®</sup> RGQ“ taikymo lapas

„artus<sup>®</sup> CMV QS-RGQ Kit“ (mėginio tipas:  
kraujas)

R2



4503363

„artus CMV QS-RGQ Kit“, 1 versija.



Prieš vykdydami testą, patikrinkite, ar yra naujų elektroninio ženklavimo pataisytų leidimų [www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx).

## Bendroji informacija

Rinkinys	„artus CMV QS-RGQ Kit“, 1 versija (kat. Nr. 4503363)
Patvirtinta mėginio medžiaga	Žmogaus EDTA visas kraujas
Pradinis gryninimas	„QIASymphony DSP DNA Mini Kit“ (kat. Nr. 937236)
Mėginio tūris (įskaitant perteklinį tūrį)	300 µl
Tyrimo parametrų rinkinys	artus_CMV_blood200_V5
Numatytasis tyrimo kontrolės rinkinys	VirusBlood200_V7_DSP_artus_CMV
Eliuavimo tūris	60 µl
Reikalinga programinės įrangos versija	4.0 arba naujesnė versija
Pagrindinio mišinio tūris	30 µl
Matricos tūris	20 µl
Reakijų skaičius	6-24
Procedūros laikas AS modulyje	6 reakcijos: apytiksliai 9 minutės 72 reakcijos: apytiksliai 35 minutės

## Reikalingos, tačiau nepateikiamos medžiagos

### Gryninimo rinkinys

- „QIASymphony DSP DNA Mini Kit“ (kat. Nr. 937236)

### „QIASymphony SP“ adapteriai

- „Elution Microtube Rack QS“ („Cooling Adapter“, EMT, v2, „Qsym“, kat. Nr. 9020730)
- Perkėlimo rėmelis
- „Tube Insert 3B (Insert, 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym“, kat. Nr. 9242083)

### „QIASymphony SP“ eksploataciniai reikmenys

- „Sample Prep Cartridges, 8-well“ (kat. Nr. 997002)
- „8-Rod Covers“ (kat. Nr. 997004)
- „Filter-Tips, 1500 µl“ (kat. Nr. 997024)
- „Filter-Tips, 200 µl“ (kat. Nr. 990332)
- „Elution Microtubes CL“ (kat. Nr. 19588)
- „Tip disposal bags“ (kat. Nr. 9013395)
- „Micro tubes 2.0 ml Type H“ arba „Micro tubes 2.0 ml Type I“ („Sarstedt®“, kat. Nr. 72.693 ir 72.694, [www.sarstedt.com](http://www.sarstedt.com)), skirti naudoti su mėginiais ir vidinėmis kontrolinėmis medžiagomis

### Adapteriai ir reagentų laikikliai „QIASymphony AS“

- „Reagent holder 1 QS“ („Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym“, kat. Nr. 9018090)
- „RG Strip Tubes 72 QS“ („Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym“, kat. Nr. 9018092)

### „QIASymphony AS“ eksploataciniai reikmenys

- „Strip Tubes and Caps, 0.1 ml“ (kat. Nr. 981103)
- „Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS“ (kat. Nr. 997102) arba „Micro tubes 2.0 ml Type I“ („Sarstedt“, kat. Nr. 72.694.005)
- Arba: „Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS“ (kat. Nr. 997104) arba „Tubes with flat base from PP“ („Sarstedt“, kat. Nr. 60.558.001)
- „Filter-Tips, 1500 µl“ (kat. Nr. 997024)
- „Filter-Tips, 200 µl“ (kat. Nr. 990332)
- „Filter-Tips, 50 µl“ (kat. Nr. 997120)
- „Tip disposal bags“ (kat. Nr. 9013395)

## Mėginių naudojimas ir laikymas

Mėginio paėmimas	Kraujo mėginys 5–10 ml kraujo su EDTA Maišyti 8 kartus apverčiant – neplakti! Negalima naudoti heparinizuotų žmogaus mėginių.
Mėginio laikymas	Perkelti į sterilų polipropileno mėgintuvėlį Tyrimo jautrumas gali sumažėti, jei mėginiai užšaldomi įprastos darbo eigos metu arba laikomi ilgiau nei 24 valandas.
Mėginių gabenimas	Transportuoti nedūžtančiame inde Išsiųsti per 24 valandas Siųsti paštu, laikantis įstatymus atitinkančių patogeninių medžiagų transportavimo instrukcijų* Kraujo mėginiai turi būti siunčiami atvėsinti (2–8 °C)
Trukdančios medžiagos	Heparinas (≥ 10 IU/ml) veikia PGR. Negalima naudoti į mėgintuvėlius su heparinu paimtų mėginių iš heparinizuotų pacientų.
Mėginio paruošimas	Saugokitės, kad mėginiuose ar ant jų nesusidarytų putų Prieš pradėdant procedūrą, mėginius reikia palikti sušilti iki kambario temperatūros (15–25 °C).

\* Tarptautinė oro transporto asociacija („International Air Transport Association“, IATA). Pavojingiems kroviniams taikomi reglamentai.

# Procedūra

## Mėginių papildymas vidine kontroline medžiaga

Naudojant „QIASymphony DSP DNA Mini Kit“ kartu su „artus CMV QS-RGQ Kit“, gryninimo procedūros metu reikia naudoti vidinę kontrolinę medžiagą (CMV RG IC), skirtą mėginio paruošimo ir tolesnių tyrimų efektyvumui stebėti.

Atlikdami kelis tyrimus, kai vienu metu ta pačia PGR bus tiriama CMV ir EBV, gryninimo proceso metu būtinai naudokite CMV RG IC iš „artus CMV QS-RGQ Kit“. Tos pačios partijos CMV RG IC naudokite abiem mėginiams ir PGR tyrimo kontrolinėms medžiagoms paruošti. Nenaudokite CMV RG IC su kitu partijos numeriu.

Vidinės kontrolinės medžiagas reikia įpilti su „Buffer ATE“ (ATE), o bendras vidinės kontrolinės medžiagos „Buffer ATE“ (ATE) mišinio tūris turi likti 60 µl.

Šioje lentelėje pateiktas vidinės kontrolinės medžiagos perkėlimas į izoliatą santykiu 0,1 µl kiekvienam 1 µl eliuavimo tūrio. Rekomenduojame prieš pat naudojant kiekvienai procedūrai paruošti šviežius mišinius.

Arba galima naudoti „QIASymphony“ valdymo konsolės įrankį „IC Calculator“ (IC skaičiuotuvą).

Komponentas	Tūris (µl)	Tūris (µl)
	(„Sarstedt“ mėgintuvėliai)*	(„Corning“ mėgintuvėliai)†
Vidinė kontrolinė medžiaga‡	9	9
„Buffer ATE“	51	51
Galutinis mėginio tūris (neįskaitant liekamojo tūrio)	60	60
Bendrasis n mėginių tūris	(n x 60) + 360§	(n x 60) + 600¶

\* „Micro tubes 2.0 ml Type H“ ir „Micro tubes 2.0 ml Type I“, „Sarstedt“ kat. Nr. 72.693 ir 72.694.

† „Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom“ („Corning® Inc.“, kat. Nr. 352051; anksčiau šiuos mėgintuvėlius tiekė „Becton Dickinson“, dabar naujasis tiekėjas yra „Corning Inc.“).

‡ Vidinės kontrolinės medžiagos tūrio skaičiavimas pagrįstas pradinio eliuavimo tūriu (90 µl). Papildomas niekinis tūris priklauso nuo naudojamo mėgintuvėlio tipo.

§ Reikalingas vidinis kontrolinis mišinys, atitinkantis 6 papildomus mėginius (t. y. 360 µl). Nepilkite daugiau nei 1,92 ml viso tūrio (atitinka ne daugiau kaip 13 mėginių. Šie tūriai būdingi „Micro tubes 2.0 ml Type H“ ir „Micro tubes 2.0 ml Type I“, „Sarstedt“ kat. Nr. 72.693 ir 72.694).

¶ Reikalingas vidinis kontrolinis mišinys, atitinkantis 10 papildomus mėginius (t. y. 600 µl). Bendrasis tūris neturi viršyti 13,92 ml (atitinka ne daugiau kaip 111. Šie tūriai būdingi „Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom“, „Corning Inc.“, kat. Nr. 352051; anksčiau šiuos mėgintuvėlius tiekė „Becton Dickinson“, dabar naujasis tiekėjas yra „Corning Inc.“).

## „QIASymphony SP“ parengimas

### „Waste“ (atliekų) stalčius

Elementų dėžutės laikiklis, 1–4	Tuščios elementų dėžutės
Atliekų maišelio laikiklis	Atliekų maišelis
Skystųjų atliekų butelio laikiklis	Tuščias ir įdėtas skystųjų atliekų butelis

### „Eluate“ (eliuato) stalčius

Eliuavimo stovėlis	„Elution Microtubes CL“ „Elution Microtube Rack QS“ ir perkėlimo rėmelis Naudokite 1 angą, aušinimo vieta
Eliuavimo tūris*	Numatytas eliuavimo tūris: 60 µl Pradinis eliuavimo tūris: 90 µl

\* Eliuavimo tūris yra numatytas protokole. Tai yra mažiausias pasiekiamas eliuato tūris paskutiniame eliuavimo mėgintuvėlyje. Pradinis eliuavimo tirpalo tūris yra reikalingas tam, kad faktinis eliuato tūris sutaptu su numatytu tūriu.

### „Reagents and Consumables“ (reagentų ir eksploatacinių reikmenų) stalčius

RC 1 ir 2 vietos	Įdėkite 1 reagentų kasetę (reagent cartridge, RC), skirtą ne daugiau nei 96 mėginiams
Antgalių stovėlio laikiklis, 1-18 vietos	Įdėkite pakankamai 200 µl ir 1500 µl vienkartinį filtrų antgalių stovėlių (žr. „Reikalingos plastikinės dalys 1-4 mėginių partijoms“, 7 psl.)
Elementų dėžutės laikiklis, 1-4 vietos	Įdėkite elementų dėžutes su mėginių paruošimo kasetėmis ir „8-Rod Covers“ (žr. „Reikalingos plastikinės dalys 1-4 mėginių partijoms“, 7 psl.)

„Sample“ (mėginių) stalčius

Mėginio tipas	Žmogaus EDTA visas kraujas
Mėginio tūris (įskaitant perteklinį tūrį)	300 µl
Mėgintuvėliai	„Micro tubes 2.0 ml Type H“ arba „Micro tubes 2.0 ml Type I“ („Sarstedt“ kat. Nr. 72.693 ir 72.694)
Įdėklas	„Tube Insert 3B“ (kat. Nr. 9242083)

Reikalingos plastikinės dalys 1-4 mėginių partijoms

Komponentas	Viena partija, 24 mėginiai*	Dvi partijos, 48 mėginiai*	Trys partijos, 72 mėginiai*	Keturios partijos, 96 mėginiai*
Vienkartiniai filtrų antgaliai, 200 µl <sup>†‡</sup>	26	50	74	98
Vienkartiniai filtrų antgaliai, 1500 µl <sup>†‡</sup>	98	188	278	368
Mėginių paruošimo kasetės <sup>§</sup>	21	42	63	84
„8-Rod Covers“ <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* Jei vienai partijai naudojamas daugiau nei vienas pradinės kontrolinės medžiagos mėgintuvėlis ir atliekamas daugiau nei vienas reikmenų nuskaitymas, reikia papildomų vienkartinių filtrų antgalių.

<sup>†</sup> Antgalių stovelyje yra 32 filtrų antgaliai.

<sup>‡</sup> Reikalingų filtrų antgalių skaičius apima filtrų antgalius, reikalingus vienai reagentų kasetei atliekant 1 reikmenų nuskaitymą.

<sup>§</sup> Elementų dėžutėje yra 28 mėginių paruošimo kasetės.

<sup>¶</sup> Elementų dėžutėje yra dvylika „8-Rod Covers“.

## „QIASymphony AS“ parengimas

### Eksploataciniai reikmenys

Parengimo metu atitinkamos kiekvieno eksploatacinio reikmens vietos „QIASymphony AS“ modulyje yra rodomos instrumento jutikliniame ekrane.

<b>Eksploatacinis reikmuo</b>	<b>Jutiklinio ekrano pavadinimas</b>	<b>Skirta naudoti su adapteriu / reagentų laikikliu</b>
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG Strip Tubes 72 QS
Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (500) <sup>†‡</sup>	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt <sup>§</sup>	Reagent holder 1 QS
Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (500) <sup>†‡</sup>	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt <sup>§</sup>	Reagent holder 1 QS

\* Nurodo laboratorinę įrangą, kurią galima aušinti naudojant aušinimo adapterį su brūkšniniu kodu.

<sup>†</sup> Pagrindinio mišinio komponentams, sistemos paruoštam pagrindiniam mišiniui, tyrimo standartams ir tyrimo kontrolėms.

<sup>‡</sup> Arba galima naudoti „Sarstedt“ mėgintuvėlius, aprašytus „Reikalingos, tačiau nepateikiamos medžiagos“, 3 psl.

<sup>§</sup> Sufiksas „(m)“ jutikliniame ekrane rodo, kad atitinkamo mėgintuvėlio skysčio lygio skaičiavimai buvo optimizuoti, atsižvelgiant į reagentus, suformuojančius įgautą meniską.

### Adapteriai ir reagentų laikikliai

<b>Stovelių / reagentų laikiklis</b>	<b>Pavadinimas</b>	<b>Reikalingas kiekis<sup>†</sup></b>
Reagentų laikikliai	Reagent holder 1 QS	1
Mėginių stoveliai	RG Strip Tubes 72 QS	1

<sup>†</sup> Suskaičiuota 72 reakcijų tyrimui.

### Filtrų antgaliai

Įkelkite antgalių stovelius į 1, 2 ir 3 antgalių vietas „Eluate and Reagents“ (eliuato ir reagentų) stalčiuje, o tada įkelkite antgalių stovelius į 7, 8 ir 9 antgalių vietas „Assays“ (tyrimų) stalčiuje.

<b>Eksploatacinis reikmuo</b>	<b>Jutiklinio ekrano pavadinimas</b>	<b>Mažiausias kiekis 24 reakcijoms</b>	<b>Mažiausias kiekis 72 reakcijoms</b>
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	1500 µl	4	6
Filter-Tips, 200 µl (1024)	200 µl	10	9
Filter-Tips, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Tip Disposal Bags	–	1	1



## PGR „Rotor-Gene Q“\*

Išsamią protokolo informaciją žr. konkrečios programinės įrangos protokole „artus QS-RGQ Kits“ naudojimo nustatymai (*Settings to run artus QS-RGQ Kits*) [www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx).

„artus CMV QS-RGQ Kit“ specialieji parametrai

Jei naudojama „Rotor-Gene®“ programinės įrangos 2.1 ar naujesnė versija, specifiniai parametrai pavaizduoti toliau.

„Reaction Volume (µl)“ (reakcijos tūris (µl))	50
„Hold“ (sulaikymas)	„Hold Temperature“ (sulaikymo temperatūra): 95 laipsniai „Hold Time“ (sulaikymo laikas): 10 minučių
„Cycling“ (ciklai)	45 kartai 95 laipsniai 15 sekundžių 65 laipsniai 30 sekundžių (gauti „Green“ (žalias), „Yellow“ (geltonas) ir aktyvinti 10 ciklų nuleidimo funkciją) 72 laipsniai 20 sekundžių
„Auto-Gain Optimisation Setup“ (automatinio gavimo optimizavimo sąranka)	65 laipsniai (mėginiai: „Green“ (žalias); IC: „Yellow“ (geltonas))

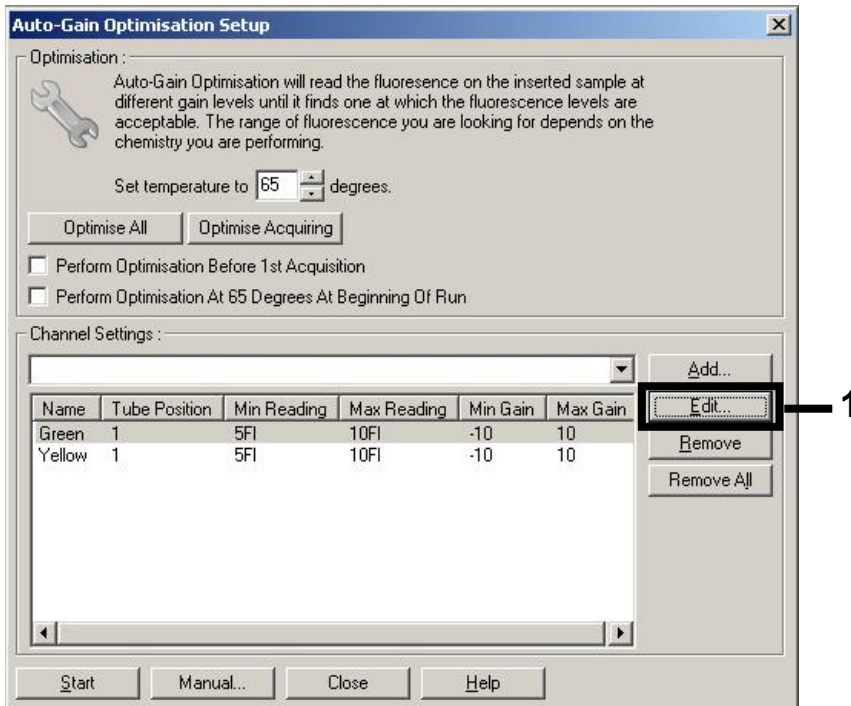
### Kelų tyrimų vykdymas

Fluorescencinių kanalų aptikimo intervalą reikia nustatyti pagal fluorescavimo intensyvumą PGR mėgintuvėliuose. Dialogo lange **New Run Wizard** (naujos procedūros vedlys) spustelėkite **Gain Optimisation** (gavimo optimizavimas), kad atidarytumėte dialogo langą **Auto-Gain Optimisation Setup** (automatinio gavimo optimizavimo nustatymas). (žr. 6 veiksmą ir 7 pav. protokole „artus QS-RGQ Kits“ naudojimo nustatymai).

Vykdydami vieną tyrimą, nustatykite **65** laipsnių kalibravimo temperatūrą, kad atitiktų amplifikacijos programos kaitinimo temperatūrą. Vykdydami kelis tyrimus, kai CMV ir EBV tiriama ta pačia PGR, reguliuokite fluorescencinio kanalo intensyvumą rankiniu būdu.

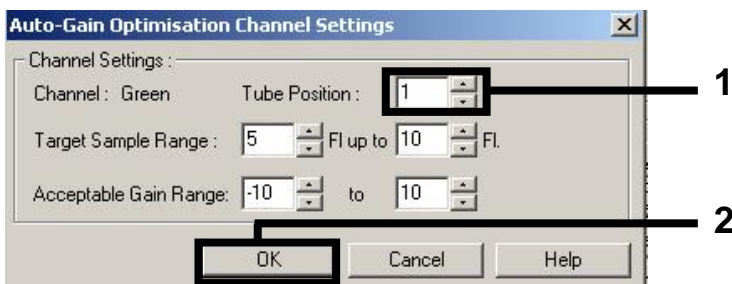
\* Jei taikoma, 2010 m. sausį arba vėliau pagamintas „Rotor-Gene Q 5plex HRM“ instrumentas. Gamybos datą galima sužinoti iš serijos numerio, esančio ant instrumento galinės dalies. Serijos numerio formatas yra „mmMMnnn“, kur „mm“ nurodo gamybos mėnesį skaitmenimis, „MM“ – paskutinius du gamybos metų skaitmenis, o „nnn“ – unikalų instrumento identifikatorių.

1. Spustelėkite **Edit** (redaguoti) (1 pav.), jei norite redaguoti fluorescencinius kanalus.



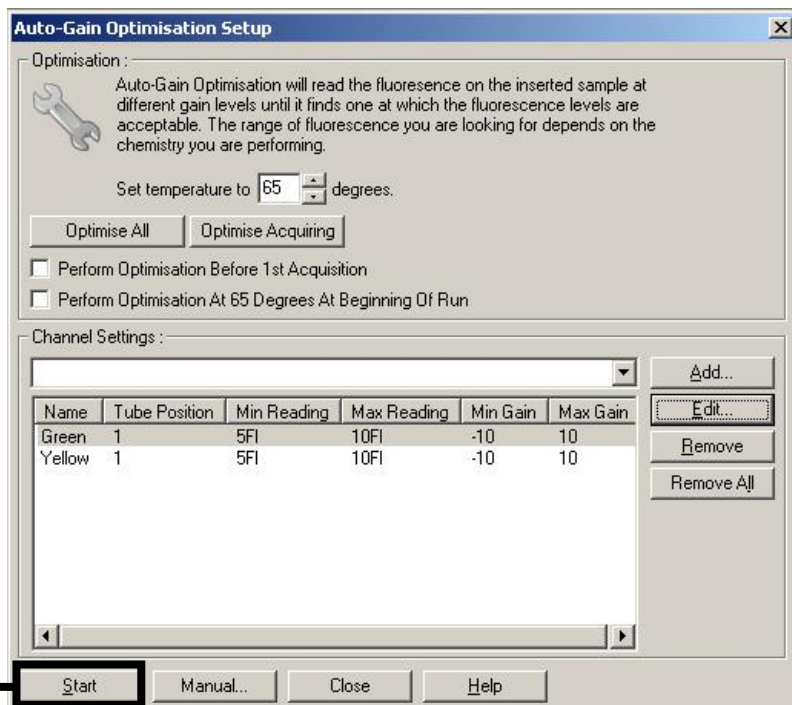
**1 pav. Fluorescencinio kanalo jautrio reguliavimas rankiniu būdu.** Reguliuokite kiekvieno fluorescencinio kanalo intensyvumą skirtingose skirtingų tyrimų (CMV ir EBV) mėgintuvėlių vietose.

2. Nustatykite pirmojo *artus* tyrimo (pvz., CMV) mėgintuvėlio vietą. Nustatykite visų fluorescencinių kanalų mėgintuvėlio vietas ir spustelėkite **OK** (gerai) (2 pav.).



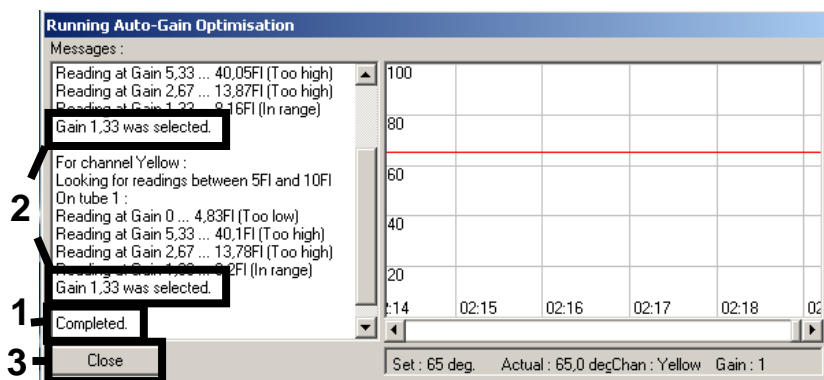
**2 pav. Mėgintuvėlio vietos nustatymas.**

- Spustelėkite **Start** (pradėti), kad pradėtumėte pirmojo *artus* tyrimo gavimo optimizavimą (3 pav.).



3 pav. Gavimo optimizavimo pradžia.

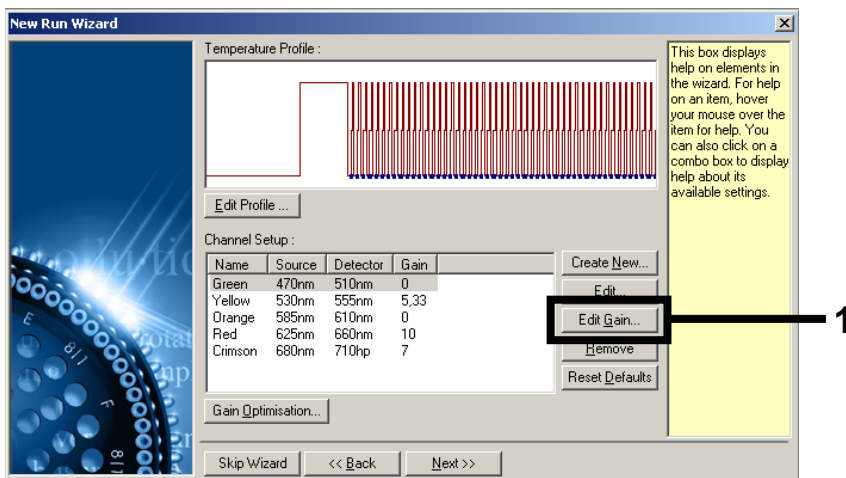
- Atsidaro naujas langas **Running Auto-Gain Optimisation** (automatinio gavimo optimizavimo vykdymas). Palaukite, kol lange bus rodoma **Completed** (baigta) (4 pav.). Užsirašykite abiejų kanalų pasirinktas gavimo reikšmes, tada spustelėkite **Close** (uždaryti) (4 pav.).



4 pav. Gavimo optimizavimas baigtas. Pasižymėkite gavimo reikšmes (šiuo atveju abiejų fluorescencinių kanalų reikšmės yra 1,33 ).

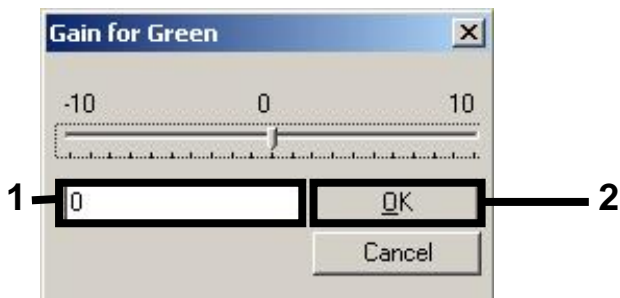
- Pakartokite antrojo *artus* tyrimo (pvz., EBV) mėgintuvėlio vietos 1–4 veiksmus.

6. Spustelėkite **Edit Gain** (redaguoti gavimą), jei norite redaguoti gavimo reikšmes rankiniu būdu (5 pav.).



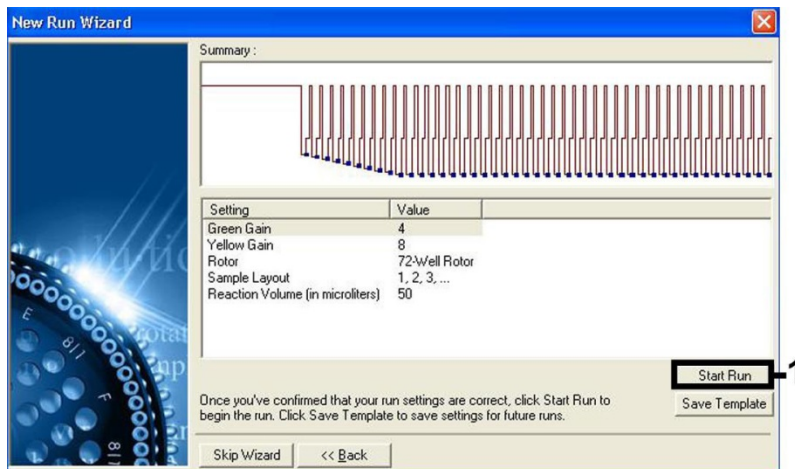
5 pav. Gavimo reikšmių redagavimas rankiniu būdu.

7. Pasirinkite mažiausią 4 veiksmė pasižymėtą „Cycling Green“ (žalias ciklas) gavimo reikšmę ir įveskite ją rankiniu būdu lange **Gain for Green** („Green“ (žalias) gavimas) (6 pav.). Pasirinkite mažiausią 4 veiksmė pasižymėtą „Cycling Yellow“ (geltonas ciklas) gavimo reikšmę ir įveskite ją rankiniu būdu lange **Gain for Yellow** („Yellow“ (geltonas) gavimas) (6 pav.).



6 pav. Mažiausių gavimo reikšmių įvedimas rankiniu būdu.

8. Kanalių kalibravimu nustatytos gavimo reikšmės (priskiriant rankiniu būdu) automatiškai įrašomos ir išvardijamos programavimo procedūros paskutiniame meniu lange (7 pav.). Spustelėkite **Start Run** (pradėti procedūrą).



7 pav. Procedūros pradžia.

## Rezultatų aiškinimas

Šiame skyriuje aprašytas „Rotor-Gene Q“ gautų rezultatų aiškinimas. Be to, peržiūrėkite mėginio būsenos informaciją „QIASymphony SP/AS“ baigtos darbo eigos nuo mėginio iki rezultato analizės rezultatų failuose. Galima naudoti tik tuos mėginius, kurių būseną yra galiojanti.

„artus CMV QS-RGQ Kit“ procedūrą „Rotor-Gene Q“ galima vykdyti naudojant rankinę analizę ir „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos 2.1 arba naujesnę versiją. Paskesniuose skyriuose aprašytas rezultatų aiškinimas, naudojant „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos 2.1 arba naujesnę versiją.

## Signalų aptikimas ir išvados – kraujas

Signalas kanale „Cycling Green“ (žalias ciklas)	Signalas kanale „Cycling Yellow“ (geltonas ciklas)	Kiekybinis rezultatas (kopijų/ml)	Aiškkinimas
Taip	Taip	< 164,6	Tinkamas rezultatas: Aptikta CMV DNR, <1000 kopijų/ml. Nustatyti kiekybiškai neįmanoma, nes kiekybinis rezultatas yra žemiau aptikimo ribos. Teigiamo rezultato atkuriamumas neužtikrintas.
Taip	Taip	≥164,6 ir <1000	Tinkamas rezultatas: Aptikta CMV DNR, <1000 kopijų/ml. Kiekybinis nustatymas neįmanomas, nes kiekybinis rezultatas yra žemiau tyrimo tiesinio intervalo.
Taip	Taip / ne*	≥1000 ir ≤5 x 10 <sup>7</sup>	Tinkamas rezultatas: aptikta apskaičiuotos koncentracijos CMV DNR. Kiekybinis rezultatas patenka į tyrimo tiesinį intervalą.
Taip	Taip / ne*	>5 x 10 <sup>7</sup>	Tinkamas rezultatas: Aptikta CMV DNR, >5 x 10 <sup>7</sup> kopijų/ml. Kiekybinis nustatymas neįmanomas, nes kiekybinis rezultatas yra aukščiau tyrimo tiesinio intervalo.†
Ne	Taip	–	Tinkamas rezultatas: CMV DNR neaptinkama.‡
Ne	Ne	–	Netinkamas rezultatas: Rezultatų gauti negalima.§

\* Tokiu atveju signalo aptikimas kanale „Cycling Yellow“ (geltonas ciklas) nebūtinai, nes didelės CMV DNR (teigiamas signalas kanale „Cycling Green“ (žalias ciklas) koncentracijos gali sąlygoti vidinės kontrolinės medžiagos fluorescencinio signalo kanale „Cycling Yellow“ (geltonas ciklas) sumažėjimą arba nebuvimą (konkurencija).

† Jei reikia iširti kiekybiškai, praskieskite mėginį krauju be CMV ir tirkite iš naujo. Pakartotinai apdoroto mėginio kiekybinį rezultatą padauginkite iš skiedimo koeficiento.

‡ Jeigu procedūroje neigiamo mėginio vidinės kontrolinės medžiagos C<sub>T</sub> reikšmė yra daugiau nei 3 ciklais didesnė už vidinės kontrolinės medžiagos be matricos C<sub>T</sub> reikšmę (C<sub>T IC mėginio</sub> – C<sub>T IC NTC</sub> >3), tuomet mėginį reikia laikyti netinkamu. Rezultatų gauti negalima.

§ Informaciją apie klaidos šaltinius ir jų sprendimą rasite „artus CMV QS-RGQ Kit“ vadovo („artus CMV QS-RGQ Kit Handbook“) skyriuje „Trikčių šalinimas“.

## PGR analizės slenkstinės reikšmės nustatymas

„Rotor-Gene Q“ instrumento ir „artus QS-RGQ Kit“ derinio optimalią slenkstinę reikšmę reikia nustatyti empiriškai, atskirai išbandant kiekvieną derinį, nes tai yra santykinė reikšmė, kuri priklauso nuo bendrojo diagnostinio darbo srauto. Pirmosios PGR procedūros slenkstinę preliminarią analizės reikšmę galima nustatyti 0,04, tačiau, taikant lyginamąją analizę, paskesnių darbo eigos procesų vykdymo metu reikia nustatyti tikslią reikšmę. Slenkstinę reikšmę reikia nustatyti rankiniu būdu vos didesnę už neigiamų kontrolinių medžiagų ir neigiamų mėginių fono signalą. Labiausiai tikėtina, kad pagal šiuos eksperimentus suskaičiuota vidutinė slenkstinė reikšmė tiks daugeliui būsimų vykdymų, tačiau naudotojas vis tiek turėtų reguliariai peržiūrėti gautą slenkstinę reikšmę. Paprastai slenkstinės reikšmės diapazonas yra 0,03–0,05 ir ją reikėtų apvalinti bent iki tūkstantųjų dalių.

## Kiečio nustatymas

Kiekybinio nustatymo etaloniniai tirpalai (CMV QS 1–4) „artus CMV QS-RGQ Kit“ traktuojami kaip anksčiau gryninti mėginiai ir naudojamas tas pats tūris (20 µl). Standartinei kreivei „Rotor-Gene Q“ instrumentuose sukurti visus 4 kiekybinio nustatymo standartus reikia naudoti ir nurodyti „Rotor-Gene Q“ instrumento dialogo lange **Edit Samples** (mėginių redagavimas) kaip tam tikros koncentracijos standartus (žr. instrumento naudotojo vadovą).

**Pastaba.** Kiekybinės analizės etaloniniai tirpalai apibrėžiami kaip kopijos/µl eliuate. Šią lygtį reikia taikyti norint konvertuoti standartine kreive nustatytus dydžius į kopijas/ml mėginio medžiagoje.

$$\text{Rezultatas mėginio medžiagoje (kopijų/ml)} = \frac{\text{rezultatas eliuate (kopijų/µl)} \times \text{pradinis eliuavimo tūris (90 µl)*}}{\text{Mėginio tūris (ml)}}$$

Teoriškai aukščiau pateiktoje lygtyje reikia nurodyti pradinį mėginio tūrį. Į tai reikia atsižvelgti, jei prieš nukleorūgščių ekstrahavimą pakito mėginio tūris (pvz., tūris sumažėjo centrifuguojant arba padidėjo pridėjus išskyrimui reikalingą tūrį).

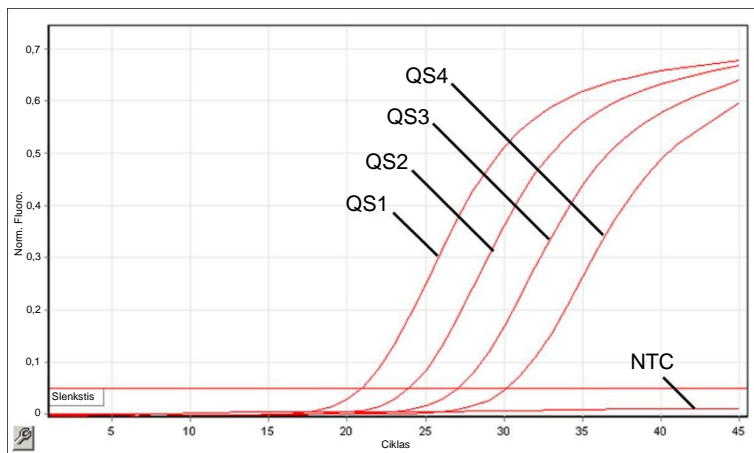
Vykdydami kelis tyrimus, kai CMV ir EBV tiriami ta pačia PGR, CMV ir EBV mėginius analizuokite atskirai, naudodami atitinkamus kiekybinės analizės etaloninius tirpalus.

\* Skaičiavimas pagrįstas pradiniu eliuavimo tūriu (90 µl).

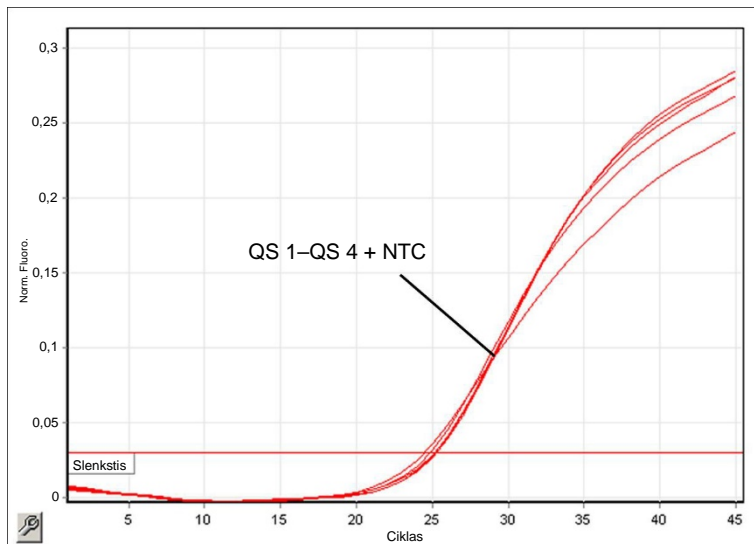
## Konvertavimo koeficientas

1 kopija/ml atitinka 0,745 IU/ml aptinkant CMV DNR, gautą iš žmogaus EDTA viso kraujo „Rotor-Gene Q“. Šis konvertavimo koeficientas taikomas laikantis patvirtintos darbo eigos, nurodytos šiame taikymo lape. Konvertavimo koeficientas yra suapvalinta reikšmė pagrįsta tyrimo dinaminio diapazono vidutiniu koeficientu.

## Teigiamų ir neigiamų PGR reakcijų pavyzdžiai



**Kiekybinės analizės etaloninių tirpalų aptikimas (CMV QS 1–4) fluorescenciniame kanale „Cycling Green“ (žalias ciklas).** NTC: „No template control“ (nėra šabloninės kontrolinės medžiagos) (neigiamos kontrolinės medžiagos).



**Vidinės kontrolinės medžiagos (internal control, IC) aptikimas fluorescenciniame kanale „Cycling Yellow“ (geltonas ciklas), taikant kiekybinės analizės etaloninių tirpalų vienlaikę amplifikaciją (CMV QS 1–4).** NTC: „No template control“ (nėra šabloninės kontrolinės medžiagos) (neigiamos kontrolinės medžiagos).



#### Dokumento peržiūros istorija

R2, 2018 vasaris

Atnaujintas klientui skirtas gryninimo rinkinys. „QIAsymphony“ protokolų versijos pakeistos naujesnėmis. Pašalinta poraštė apie 216 tyrimų paruošimą. Atnaujintos ne daugiau nei 72 reakcijoms paruošti reikalingos medžiagos. Pridėta informacija apie kelių tyrimų vykdymą su EBV. Pridėta informacija apie QMC įrankio „IC Calculator“ (IC skaičiuotuvas) naudojimą. Atnaujinti „Corning“ laboratorijos įrangos pavadinimai (anksčiau „Becton Dickinson“). Pridėti specifiniai „Rotor-Gene Q“ vykdymo parametrai (nuleidimo funkcijos naudojimas, gavimai). Pridėta informacija apie rezultatų aiškinimo, apimanti „patogeno teigiamą ir IC neigiamą“ atvejį. Pašalintos „Rotor-Gene AssayManager<sup>®</sup>“ naudojimo instrukcijos. Pridėta konvertavimo koeficiento informacija.

Norėdami gauti naujausios informacijos apie licencijavimą ir atsakomybės už produktus apribojimus, žr. atitinkamą QIAGEN rinkinio vadovą arba naudotojo vadovą. QIAGEN rinkinio vadovai arba naudotojo vadovai pateikti svetainėje [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) arba galite jų paprašyti QIAGEN techninių tarnybų ar vietinio platintojo.

Prekių ženklai: QIAGEN<sup>®</sup>, „Sample to Insight<sup>®</sup>“, „QIAsymphony<sup>®</sup>“, „artus<sup>®</sup>“, „Rotor-Gene<sup>®</sup>“, „Rotor-Gene AssayManager<sup>®</sup>“ (QIAGEN Group); „Corning<sup>®</sup>“ („Corning Inc.“); „Sarstedt<sup>®</sup>“ („Sarstedt AG and Co.“). Šiame dokumente naudojami registruotieji pavadinimai, prekių ženklai ir kt., net jei jie specialiai nepažymėti, vis tiek yra saugomi įstatymų.  
02/2018 HB-0356-S01-002  
© QIAGEN, 2012–2018. Visos teisės saugomos

