

Φεβρουάριος 2018

# Φύλλο εφαρμογής QIAAsymphony<sup>®</sup> RGQ

*artus*<sup>®</sup> CMV QS-RGQ Kit  
(τύπος δείγματος: πλάσμα)

R3

**IVD**

**CE**  
0197

**REF**

4503363

*artus* CMV QS-RGQ Kit, έκδοση 1



Ελέγξτε τη διαθεσιμότητα νέων ηλεκτρονικών αναθεωρήσεων επισήμανσης στη διεύθυνση [www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx) προτού εκτελέσετε τη δοκιμασία.

## Γενικές πληροφορίες

Κιτ	<i>artus CMV QS-RGQ Kit</i> , Έκδοση 1 (αρ. καταλ. 4503363)
Επικυρωμένο υλικό δείγματος	Ανθρώπινο πλάσμα με EDTA
Καθαρισμός Front-end	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (αρ. καταλ. 937055)
Όγκος δείγματος (συμπεριλαμβανομένου πλεονάζοντος όγκου)	1200 μl
Σετ παραμέτρων προσδιορισμού	<i>artus_CMV_plasma1000_V5</i>
Προκαθορισμένο σετ μαρτύρων προσδιορισμού	<i>Cellfree1000_V7_DSP_artus_CMV</i>
Όγκος έκλουσης	60 μl
Απαιτούμενη έκδοση λογισμικού	Έκδοση 4.0 ή μεταγενέστερη
Όγκος κύριου μείγματος	30 μl
Όγκος προτύπου	20 μl
Αριθμός αντιδράσεων	6–24
Χρόνος εκτέλεσης στη μονάδα AS	Για 6 αντιδράσεις: περίπου 9 λεπτά Για 72 αντιδράσεις: περίπου 35 λεπτά

## Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

### Κιτ καθαρισμού

- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (αρ. καταλ. 937055)

### Προσαρμογείς για το QIASymphony SP

- Elution Microtube Rack QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, αρ. καταλ. 9020730)
- Πλαίσιο μεταφοράς
- Tube Insert 3B (Insert, 2,0 ml v2, samplecarr. (24), Qsym, αρ. καταλ. 9242083)

### Αναλώσιμα για το QIASymphony SP

- Sample Prep Cartridges, 8-well (αρ. καταλ. 997002)
- 8-Rod Covers (αρ. καταλ. 997004)
- Filter-Tips, 1500 µl (αρ. καταλ. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (αρ. καταλ. 990332)
- Elution Microtubes CL (αρ. καταλ. 19588)
- Tip disposal bags (αρ. καταλ. 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Type H ή Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt®, αρ. καταλ. 72.693 και 72.694, [www.sarstedt.com](http://www.sarstedt.com)) για χρήση με δείγματα και εσωτερικούς μάρτυρες

### Προσαρμογείς και υποδοχές αντιδραστηρίων για το QIASymphony AS

- Reagent holder 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, αρ. καταλ. 9018090)
- RG Strip Tubes 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, αρ. καταλ. 9018092)

### Αναλώσιμα για το QIASymphony AS

- Strip Tubes and Caps, 0,1 ml (αρ. καταλ. 981103)
- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (αρ. καταλ. 997102)\* ή Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, αρ. καταλ. 72.694.005)
- Εναλλακτικά: Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (αρ. καταλ. 997104)\* ή Tubes with flat base from PP (Sarstedt, αρ. καταλ. 60.558.001)
- Filter-Tips, 1500 µl (αρ. καταλ. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (αρ. καταλ. 990332)
- Filter-Tips, 50 µl (αρ. καταλ. 997120)
- Tip disposal bags (αρ. καταλ. 9013395)

## Χειρισμός και φύλαξη δειγμάτων

Δειγματοληψία	<p>Δείγμα αίματος 5–10 ml αίμα με EDTA 8x μείγμα κορυφής — χωρίς ανάδευση!</p> <p>Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ηπαρινισμένα ανθρώπινα δείγματα.</p>
Φύλαξη δειγμάτων	<p>Διαχωρισμός: 20 λεπτά φυγοκέντριση, 800–1.600 x g εντός 24 ωρών μετά τη συλλογή</p> <p>Μεταφέρετε το απομονωμένο πλάσμα σε αποστειρωμένο σωληνάριο από πολυπροπυλένιο</p> <p>Η ευαισθησία του προσδιορισμού μπορεί να περιορισθεί εάν τα δείγματα καταψυχθούν ως συνήθης διαδικασία ή αποθηκευθούν για μεγαλύτερη χρονική περίοδο.</p>
Μεταφορά δειγμάτων	<p>Μεταφορά σε άθραυστο δοχείο</p> <p>Αποστολή εντός 24 ωρών</p> <p>Αποστολή με το ταχυδρομείο σύμφωνα με τις νόμιμες οδηγίες για τη μεταφορά παθογόνου υλικού*</p> <p>Τα δείγματα αίματος πρέπει να αποστέλλονται ψυχόμενα (2 έως 8°C)</p>
Παρεμβαλλόμενες ουσίες	<p>Η ηπαρίνη (<math>\geq 10</math> IU/ml) επηρεάζει την PCR. Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται δείγματα που συλλέγονται σε σωληνάρια που περιέχουν ηπαρίνη ως αντιπηκτικό ή δείγματα από ηπαρινισμένους ασθενείς.</p>
Προετοιμασία δειγμάτων	<p>Αποφύγετε τη δημιουργία αφρού μέσα ή επάνω στα δείγματα</p> <p>Τα δείγματα θα πρέπει να αποκτούν θερμοκρασία περιβάλλοντος (15–25°C) πριν από την έναρξη της εκτέλεσης.</p>

\* International Air Transport Association (IATA) (Διεθνής Ένωση Αεροπορικών Μεταφορών). Dangerous Goods Regulations (Κανονισμοί περί Επικίνδυνων Εμπορευμάτων).

# Διαδικασία

## Προετοιμασία του RNA-φορέα και προσθήκη του εσωτερικού μάρτυρα στα δείγματα

Η χρήση του QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit σε συνδυασμό με το *artus CMV QS-RGQ Kit* απαιτεί την εισαγωγή του εσωτερικού μάρτυρα (CMV RG IC) στη διαδικασία καθαρισμού, για την παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας της προετοιμασίας των δειγμάτων και του καθοδικού προσδιορισμού.

Για εκτέλεση πολλαπλών προσδιορισμών, όπου οι CMV και EBV θα προσδιοριστούν στην ίδια PCR, βεβαιωθείτε ότι στη διαδικασία καθαρισμού χρησιμοποιείται ο CMV RG IC από το *artus CMV QS-RGQ Kit*. Χρησιμοποιείτε CMV RG IC από την ίδια παρτίδα τόσο για την προετοιμασία των δειγμάτων όσο και για τη ρύθμιση προσδιορισμού των μαρτύρων PCR. Μη χρησιμοποιείτε CMV RG IC με διαφορετικό αριθμό παρτίδας.

Οι εσωτερικοί μάρτυρες πρέπει να προστίθενται στο μείγμα φορέα RNA (CARRIER) – ρυθμιστικού διαλύματος AVE (AVE). Ο συνολικός όγκος του μείγματος εσωτερικού μάρτυρα – φορέα RNA (CARRIER) – ρυθμιστικού διαλύματος AVE (AVE) παραμένει 120 μl.

Ο πίνακας δείχνει την προσθήκη του εσωτερικού μάρτυρα στην απομόνωση, σε αναλογία 0,1 μl ανά 1 μl όγκου έκλουσης. Συνιστούμε την προετοιμασία φρέσκων μειγμάτων για κάθε εκτέλεση αμέσως πριν από τη χρήση. Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί το εργαλείο «IC Calculator» του QIAasymphony Management Console.

Συστατικό	Όγκος (μl) (σωληνάρια Sarstedt)*	Όγκος (μl) (σωληνάρια Corning)†
Βασικό διάλυμα φορέα RNA (CARRIER)	5	5
Εσωτερικός μάρτυρας‡	9	9
Ρυθμιστικό διάλυμα AVE	106	106
Τελικός όγκος ανά δείγμα (αποκλείοντας το νεκρό όγκο)	120	120
Συνολικός όγκος για n δείγματα	(n x 120) + 360§	(n x 120) + 600¶

\* Micro tubes 2.0 ml Type H και Micro tubes 2.0 ml Type I Sarstedt, αρ. καταλ. 72.693 και 72.694.

† Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom, (Corning® Inc., αρ. καταλ. 352051, ο προηγούμενος προμηθευτής αυτού του σωληναρίου ήταν η Becton Dickinson και ο νέος προμηθευτής είναι η Corning Inc.).

‡ Ο υπολογισμός της ποσότητας του εσωτερικού μάρτυρα βασίζεται στους αρχικούς όγκους έκλουσης (90 μl). Ο πρόσθετος νεκρός όγκος εξαρτάται από τον τύπο του χρησιμοποιούμενου σωληναρίου δείγματος.

§ Απαιτείται μείγμα εσωτερικών μαρτύρων που αντιστοιχεί σε 3 πρόσθετα δείγματα (δηλ. 360 μl). Μη γεμίζετε πάνω από 1,92 ml συνολικού όγκου (που αντιστοιχεί σε μέγιστο αριθμό 13 δειγμάτων. Αυτοί οι όγκοι είναι ειδικό για Micro tubes 2.0 ml Type H και Micro tubes 2.0 ml Type I, Sarstedt αρ. καταλ. 72.693 και 72.694).

¶ Απαιτείται μείγμα εσωτερικών μαρτύρων που αντιστοιχεί σε 5 πρόσθετα δείγματα (δηλ. 600 μl). Μη γεμίζετε πάνω από 13,92 ml συνολικού όγκου (που αντιστοιχεί σε μέγιστο αριθμό 111 δειγμάτων. Αυτοί οι όγκοι είναι ειδικό για Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom, (Corning Inc., αρ. καταλ. 352051, ο προηγούμενος προμηθευτής αυτού του σωληναρίου ήταν η Becton Dickinson και ο νέος προμηθευτής είναι η Corning Inc.).

## Προετοιμασία του QIAasymphony SP

### Συρτάρι «Waste» (Απόβλητα)

Στήριγμα κουτιού μονάδων 1–4	Κενά κουτιά μονάδων
Στήριγμα σακούλας αποβλήτων	Σακούλα αποβλήτων
Στήριγμα φιάλης υγρών αποβλήτων	Εκκένωση και εγκατάσταση της φιάλης υγρών αποβλήτων

### Συρτάρι «Eluate» (Εκλούσμα)

Θήκη έκλουσης	Elution Microtubes CL ή Elution Microtube Rack QS και πλαίσιο μεταφοράς Χρησιμοποιήστε την υποδοχή 1, θέση ψύξης
Όγκος έκλουσης*	Προεπιλεγμένος όγκος έκλουσης: 60 µl Αρχικός όγκος έκλουσης: 90 µl

\* Ο όγκος έκλουσης είναι προεπιλεγμένος για το πρωτόκολλο. Αυτός ο όγκος είναι ο ελάχιστος διαθέσιμος όγκος εκλούσματος για το τελικό σωληνάριο έκλουσης. Ο αρχικός όγκος του διαλύματος έκλουσης απαιτείται προκειμένου να διασφαλισθεί ότι ο πραγματικός όγκος του εκλούσματος είναι ίδιος με τον προεπιλεγμένο.

### Συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα)

Θέση RC 1 και 2	Φορτώστε 1 φύσιγγα αντιδραστηρίων (reagent cartridge, RC) για έως 48 δείγματα ή 2 καινούργιες φύσιγγες αντιδραστηρίων (RC) για έως 96 δείγματα
Θέσεις στηρίγματος θήκης ρυγχών 1-18	Φορτώστε επαρκή αριθμό θηκών για τα αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 µl και 1.500 µl (βλ. «Απαιτούμενα πλαστικά υλικά για 1–4 παρτίδες δειγμάτων», σελ. 8)
Θέση στηρίγματος κουτιού μονάδων 1–4	Φορτώστε κουτιά μονάδων που περιέχουν φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων και περιβλήματα 8 ράβδων (βλ. «Απαιτούμενα πλαστικά υλικά για 1–4 παρτίδες δειγμάτων», σελ. 8)

## Συρτάρι «Sample» (Δείγμα)

Τύπος δείγματος	Ανθρώπινο πλάσμα με EDTA
Όγκος δείγματος (συμπεριλαμβανομένου πλεονάζοντος όγκου)	1200 μl
Σωληνάκια δείγματος	Micro tubes 2.0 ml Type H ή Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, αρ. καταλ. 72.693 και 72.694)
Ένθετο	Tube Insert 3B (αρ. καταλ. 9242083)

## Απαιτούμενα πλαστικά υλικά για 1–4 παρτίδες δειγμάτων

Συστατικό	Μία παρτίδα, 24 δείγματα*	Δύο παρτίδες, 48 δείγματα*	Τρεις παρτίδες, 72 δείγματα*	Τέσσερις παρτίδες, 96 δείγματα*
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 μl†‡	28	52	76	100
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 1500 μl†‡	113	206	309	402
Φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων§	21	42	54	72
8-Rod Covers ¶	3	6	9	12

\* Η χρήση περισσότερων από ενός σωληναρίου εσωτερικού μάρτυρα ανά παρτίδα και η εκτέλεση περισσότερων από μίας σάρωσης υλικών απαιτεί πρόσθετα αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου.

† Υπάρχουν 32 ρύγχη φίλτρου/θήκη ρυγχών.

‡ Ο αριθμός των απαιτούμενων ρυγχών φίλτρου περιλαμβάνει ρύγχη φίλτρου για 1 σάρωση υλικού ανά φύσιγγα αντιδραστηρίων.

§ Κάθε κουτί μονάδων περιέχει 28 φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων.

¶ Κάθε κουτί μονάδων περιέχει δώδεκα περιβλήματα 8 ράβδων.



## Προετοιμασία του QIASymphony AS

### Αναλώσιμα

Κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας, οι κατάλληλες θέσεις για κάθε αναλώσιμο στη μονάδα QIASymphony AS υποδεικνύονται στην οθόνη αφής του οργάνου.

Αναλώσιμο	Όνομα στην οθόνη αφής	Για χρήση με προσαρμογέα/ υποδοχή αντιδραστηρίου
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

\* Υποδεικνύει εργαστηριακό εξοπλισμό που μπορεί να ψυχθεί με χρήση προσαρμογέα ψύξης με γραμμωτό κώδικα.

<sup>†</sup> Για συστατικά κύριου μείγματος, προετοιμαζόμενο από το σύστημα κύριο μείγμα, πρότυπα διαλύματα προσδιορισμού και μάρτυρες προσδιορισμού.

<sup>‡</sup> Εναλλακτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν τα σωληνάρια Sarstedt που περιγράφονται στην ενότητα «Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται», σελ. 3.

<sup>§</sup> Το πρόθεμα «(m)» στην οθόνη αφής υποδεικνύει ότι οι υπολογισμοί στάθμης υγρού για το αντίστοιχο σωληνάριο έχουν βελτιστοποιηθεί για αντιδραστήρια που σχηματίζουν κοίλο μηνίσκο.

### Προσαρμογείς και υποδοχές αντιδραστηρίων

Θήκη/υποδοχή αντιδραστηρίου	Όνομα	Απαιτούμενος αριθμός <sup>¶</sup>
Υποδοχές αντιδραστηρίων	Reagent holder 1 QS	1
Θήκες δειγμάτων	RG Strip Tubes 72 QS	1

<sup>¶</sup> Υπολογίζεται για μία εκτέλεση προσδιορισμού με 72 αντιδράσεις.

## Ρύγχη πιπέτας με φίλτρο

Φορτώστε θήκες ρυγχών αρχίζοντας με τις υποδοχές ρύγχους 1, 2 και 3 στο συρτάρι «Eluate and Reagents» (Έκλουσμα και αντιδραστήρια) και στη συνέχεια φορτώστε θήκες ρυγχών στις υποδοχές ρύγχους 7, 8 και 9 στο συρτάρι «Assays» (Προσδιορισμοί).

<b>Αναλώσιμο</b>	<b>Όνομα στην οθόνη αφής</b>	<b>Ελάχιστος αριθμός για 24 αντιδράσεις</b>	<b>Ελάχιστος αριθμός για 72 αντιδράσεις</b>
Filter-Tips, 1500 μl (1024)	1.500 μl	4	5
Filter-Tips, 200 μl (1024)	200 μl	10	8
Filter-Tips, 50 μl (1024)	50 μl	25	73
Tip Disposal Bags	–	1	1

## PCR στο Rotor-Gene Q\*

Ανατρέξτε στο ειδικό για το λογισμικό φύλλο πρωτοκόλλου «Ρυθμίσεις για την εκτέλεση των *artus* QS-RGQ Kits» (Settings to run *artus* QS-RGQ Kits) στη διεύθυνση [www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx) για λεπτομέρειες σχετικά με το πρωτόκολλο.

### Ειδικές ρυθμίσεις για το *artus* CMV QS-RGQ Kit

Με το λογισμικό Rotor-Gene® Q έκδοσης 2.1 ή μεταγενέστερης, οι ειδικές ρυθμίσεις εμφανίζονται παρακάτω.

Reaction Volume (μl) [Όγκος αντίδρασης (μl)]	50
Hold (Διατήρηση)	Θερμοκρασία διατήρησης: 95 βαθμοί Χρόνος διατήρησης: 10 λεπτά
Cycling (Κυκλοποίηση)	45 φορές 95 βαθμοί για 15 δευτερόλεπτα 65 βαθμοί 30 δευτερόλεπτα ( Λήψη στο Πράσινο, Κίτρινο και ενεργοποίηση λειτουργίας touchdown για 10 κύκλους) 72 βαθμοί για 20 δευτερόλεπτα
Auto-Gain Optimisation Setup (Ρύθμιση παραμέτρων αυτόματης βελτιστοποίησης απολαβής)	65 βαθμοί (Δείγματα: Πράσινο, IC: Κίτρινο)

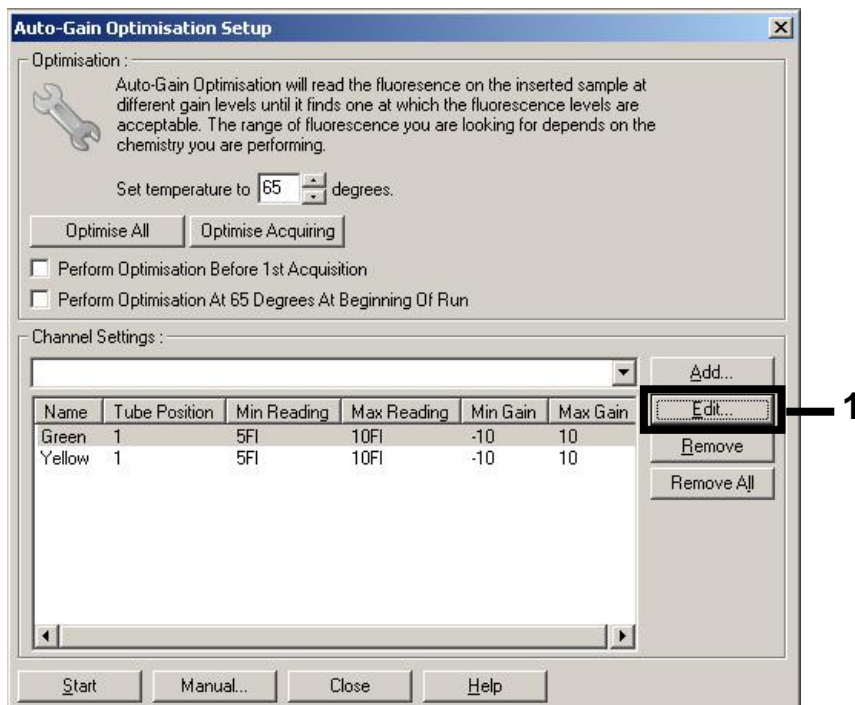
### Εκτέλεση πολλαπλών προσδιορισμών

Το εύρος ανίχνευσης των καναλιών φθορισμού πρέπει να προσδιοριστεί ανάλογα με τις εντάσεις φθορισμού στα σωληνάρια PCR. Πατήστε το **Gain Optimisation** (Βελτιστοποίηση απολαβής) στο πλαίσιο διαλόγου **New Run Wizard** (Οδηγός νέας ανάλυσης) για να ανοίξετε το πλαίσιο διαλόγου **Auto-Gain Optimisation Setup** (Ρυθμίσεις βελτιστοποίησης αυτόματης απολαβής) [βλ. βήμα 6 και Εικόνα 7 στο φύλλο πρωτοκόλλου Ρυθμίσεις για την εκτέλεση των *artus* QS-RGQ Kits].

\*Εάν εφαρμόζεται, το όργανο Rotor-Gene Q 5plex HRM με ημερομηνία παραγωγής Ιανουάριος 2010 ή μεταγενέστερη. Η ημερομηνία παραγωγής μπορεί να προσδιοριστεί από τον αριθμό σειράς στο πίσω μέρος του οργάνου. Ο αριθμός σειράς αναγράφεται σε μορφή «μμεεααα», όπου το «μμ» υποδεικνύει τον μήνα παραγωγής σε ψηφία, το «εε» υποδεικνύει τα δύο τελευταία ψηφία του έτους παραγωγής και το «ααα» υποδεικνύει το μοναδικό αναγνωριστικό του οργάνου.

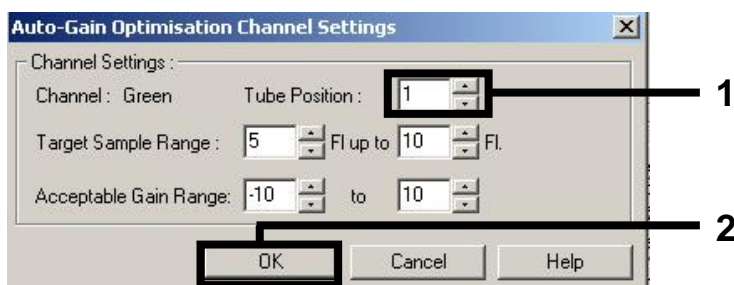
Για μία μόνο εκτέλεση προσδιορισμού, ρυθμίστε τη θερμοκρασία βαθμονόμησης στο **65** για να αντιστοιχεί στη θερμοκρασία ανασύνδεσης του προγράμματος ενίσχυσης. Για μια εκτέλεση πολλαπλών προσδιορισμών, όπου οι CMV και EBV θα προσδιοριστούν στην ίδια PCR, προσαρμόστε τις εντάσεις του καναλιού φθορισμού χειροκίνητα.

1. Κάντε κλικ στο **Edit** (Επεξεργασία) (Εικόνα 1) για να επεξεργαστείτε τα κανάλια φθορισμού.



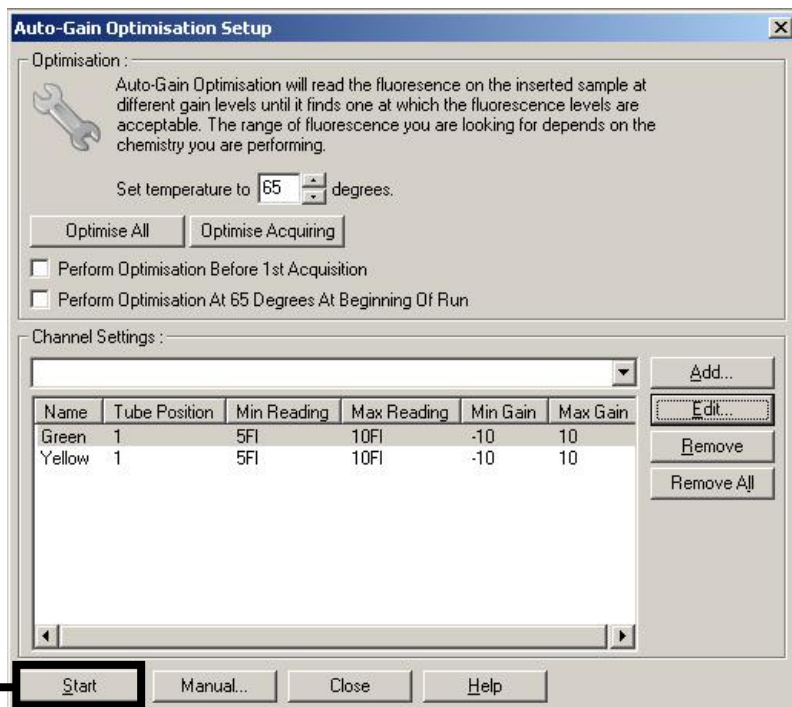
**Εικόνα 1. Προσαρμογή της έντασης του καναλιού φθορισμού χειροκίνητα.** Προσαρμόστε την ένταση για κάθε κανάλι φθορισμού σε διαφορετικές θέσεις σωληναρίων για διαφορετικούς προσδιορισμούς (CMV και EBV).

2. Ρυθμίστε τη θέση σωληναρίου για ένα σωληνάριο για τον πρώτο προσδιορισμό *artus* (π.χ., CMV). Ρυθμίστε τη θέση σωληναρίου για όλα τα κανάλια φθορισμού και κάντε κλικ στο **OK** (Εικόνα 2).



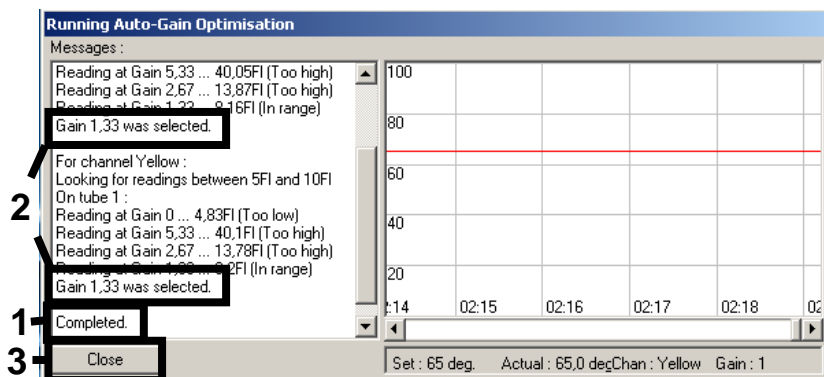
**Εικόνα 2. Ρύθμιση της θέσης σωληναρίου.**

3. Κάντε κλικ στο **Start** (Έναρξη) για να ξεκινήσετε τη βελτιστοποίηση απολαβής για τον πρώτο προσδιορισμό *artus* (Εικόνα 3).



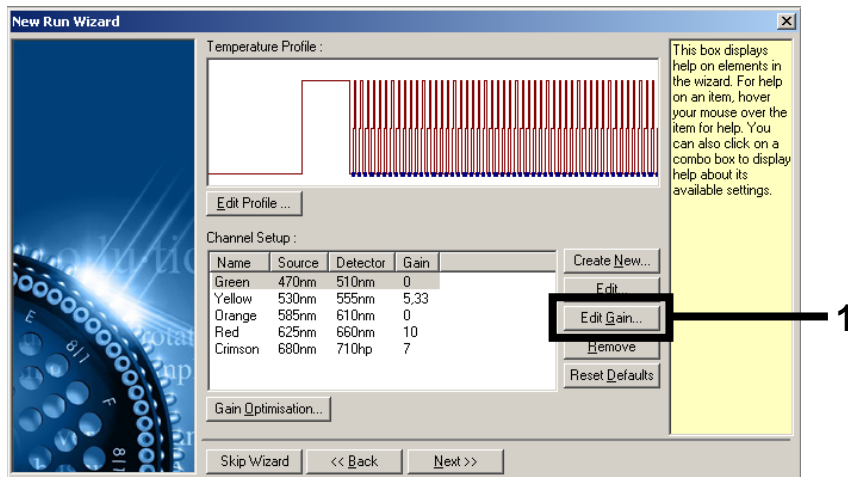
Εικόνα 3. Έναρξη της βελτιστοποίησης απολαβής.

4. Ανοίγει ένα νέο παράθυρο **Running Auto-Gain Optimisation** (Εκτέλεση βελτιστοποίησης αυτόματης απολαβής). Περιμένετε έως ότου εμφανιστεί σε αυτό το παράθυρο η ένδειξη **Completed** (Ολοκληρώθηκε) (Εικόνα 4). Καταγράψτε τις επιλεγμένες τιμές απολαβής και για τα δύο κανάλια και στη συνέχεια κάντε κλικ στο **Close** (Κλείσιμο) (Εικόνα 4).



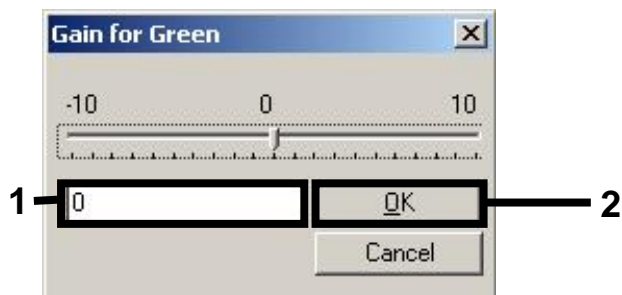
Εικόνα 4. Ολοκλήρωσης βελτιστοποίησης απολαβής. Σημειώστε τις τιμές απολαβής (σε αυτή την περίπτωση, 1,33 και για τα δύο κανάλια φθορισμού).

5. Επαναλάβετε τα βήματα 1–4 για μια θέση σωληναρίου στον δεύτερο προσδιορισμό *artus* (π.χ., EBV).
6. Κάντε κλικ στο **Edit Gain** (Επεξεργασία απολαβής) για να επεξεργαστείτε τις τιμές απολαβής χειροκίνητα (Εικόνα 5).



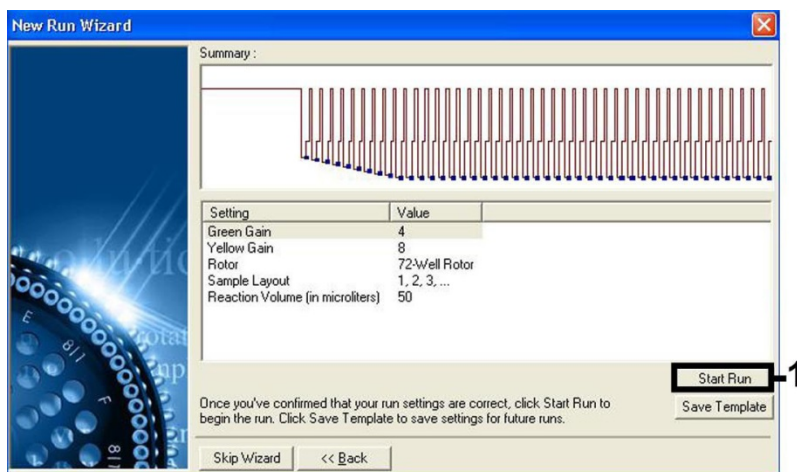
Εικόνα 5. Χειροκίνητη επεξεργασία τιμών απολαβής.

7. Επιλέξτε τη χαμηλότερη τιμή απολαβής για το Cycling Green που σημειώθηκε στο βήμα 4 και εισαγάγετε χειροκίνητα την τιμή αυτή στο παράθυρο **Gain for Green** (Απολαβή για το πράσινο) (Εικόνα 6). Επιλέξτε τη χαμηλότερη τιμή απολαβής για το Cycling Yellow που σημειώθηκε στο βήμα 4 και εισαγάγετε χειροκίνητα την τιμή αυτή στο παράθυρο **Gain for Yellow** (Απολαβή για το κίτρινο) (Εικόνα 6).



Εικόνα 6. Χειροκίνητη εισαγωγή των χαμηλότερων τιμών απολαβής.

8. Οι τιμές απολαβής που καθορίζονται από τη βαθμονόμηση του καναλιού (ή εκχωρούνται χειροκίνητα) αποθηκεύονται αυτομάτως και παρατίθενται στο τελευταίο παράθυρο μενού της διαδικασίας προγραμματισμού (Εικόνα 7). Κάντε κλικ στο **Start Run** (Έναρξη εκτέλεσης).



Εικόνα 7. Έναρξη της εκτέλεσης.

## Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Αυτή η ενότητα περιγράφει την ερμηνεία των αποτελεσμάτων στο Rotor-Gene Q. Ανασκοπήστε επίσης τις πληροφορίες κατάστασης δείγματος από τα αρχεία αποτελεσμάτων του QIASymphony SP/AS για ανάλυση της πλήρους ροής εργασίας από το δείγμα έως το αποτέλεσμα. Πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο δείγματα με έγκυρη κατάσταση.

Το *artus CMV QS-RGQ Kit* μπορεί να εκτελείται στο Rotor-Gene Q χρησιμοποιώντας χειροκίνητη ανάλυση με το λογισμικό Rotor-Gene Q έκδοσης 2.1 ή μεταγενέστερης. Οι ακόλουθες ενότητες περιγράφουν την ερμηνεία των αποτελεσμάτων χρησιμοποιώντας το λογισμικό Rotor-Gene Q έκδοσης 2.1 ή μεταγενέστερης.

## Ανίχνευση σήματος και συμπεράσματα

Σήμα στο κανάλι Cycling Green	Σήμα στο κανάλι Cycling Yellow	Ποσοτικό αποτέλεσμα (αντίγραφα/ml)	Ερμηνεία
Ναι	Ναι	< 42,5	Έγκυρο αποτέλεσμα: Ανιχνεύθηκε DNA από CMV, <79,4 αντίγραφα/ml. Η ποσοτικοποίηση δεν είναι δυνατή εφόσον το ποσοτικό αποτέλεσμα βρίσκεται κάτω από το όριο ανίχνευσης. Η αναπαραγωγικότητα του θετικού αποτελέσματος δεν είναι διασφαλισμένη.
Ναι	Ναι	≥42,5 και <79,4	Έγκυρο αποτέλεσμα: Ανιχνεύθηκε DNA από CMV, <79,4 αντίγραφα/ml. Η ποσοτικοποίηση δεν είναι δυνατή εφόσον το ποσοτικό αποτέλεσμα βρίσκεται κάτω από το γραμμικό εύρος του προσδιορισμού.
Ναι	Ναι/Όχι*	≥79,4 και ≤1 x 10 <sup>8</sup>	Έγκυρο αποτέλεσμα: Ανιχνεύθηκε DNA από CMV στην υπολογισμένη συγκέντρωση. Το ποσοτικό αποτέλεσμα είναι εντός του γραμμικού εύρους του προσδιορισμού.
Ναι	Ναι/Όχι*	>1 x 10 <sup>8</sup>	Έγκυρο αποτέλεσμα: Ανιχνεύθηκε DNA από CMV, >1 x 10 <sup>8</sup> αντίγραφα/ml. Η ποσοτικοποίηση δεν είναι δυνατή εφόσον το ποσοτικό αποτέλεσμα βρίσκεται πάνω από το γραμμικό εύρος του προσδιορισμού. <sup>†</sup>
Όχι	Ναι	–	Έγκυρο αποτέλεσμα: Δεν είναι ανιχνεύσιμο DNA από CMV. <sup>‡</sup>
Όχι	Όχι	–	Μη έγκυρο αποτέλεσμα: Η λήψη αποτελέσματος δεν είναι δυνατή. <sup>§</sup>

\* Σε αυτήν την περίπτωση, η ανίχνευση ενός σήματος στο κανάλι Cyclin Yellow μπορεί να αγνοηθεί, και αυτό διότι υψηλές αρχικές συγκεντρώσεις DNA από CMV (θετικό σήμα στο κανάλι Cycling Green) μπορούν να οδηγήσουν σε μείωση ή απώλεια σήματος φθορισμού του εσωτερικού μάρτυρα στο κανάλι Cycling Yellow (ανταγωνισμός).

† Εάν είναι επιθυμητή ποσοτικοποίηση, αραιώστε το δείγμα με πλάσμα ελεύθερο από CMV και επαναλάβετε την επεξεργασία. Πολλαπλασιάστε το ποσοτικό αποτέλεσμα από το επανεπεξεργασμένο δείγμα επί το συντελεστή αραιώσης.

‡ Εάν η τιμή C<sub>T</sub> για τον εσωτερικό μάρτυρα ενός αρνητικού δείγματος είναι για περισσότερους από 3 κύκλους μεγαλύτερη από την τιμή C<sub>T</sub> για τον εσωτερικό μάρτυρα του μάρτυρα χωρίς μήτρα στην εκτέλεση (C<sub>T IC Sample</sub> – C<sub>T IC NTC</sub> >3), τότε το δείγμα πρέπει να θεωρηθεί ως μη έγκυρο. Η λήψη αποτελέσματος δεν είναι δυνατή.

§ Πληροφορίες σχετικά με τις πηγές σφαλμάτων και την επίλυσή τους παρέχονται στον «Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων» (Troubleshooting Guide) του εγχειριδίου artus CMV QS-RGQ Kit (artus CMV QS-RGQ Kit Handbook).



## Ρυθμίσεις κατωφλίου για την ανάλυση PCR

Οι βέλτιστες ρυθμίσεις κατωφλίου για ένα δεδομένο συνδυασμό του οργάνου Rotor-Gene Q και του *artus* QS-RGQ Kit πρέπει να καθορίζονται εμπειρικά με δοκιμασία κάθε επιμέρους συνδυασμού, εφόσον πρόκειται για σχετική τιμή ανάλογα με τη συνολική διαγνωστική ροή εργασίας. Το κατώφλι μπορεί να ρυθμιστεί σε μια προκαταρκτική τιμή 0,04 για την ανάλυση της πρώτης εκτέλεσης PCR, αλλά αυτή η τιμή θα πρέπει να ρυθμιστεί περαιτέρω σε μια συγκριτική ανάλυση των επόμενων εκτελέσεων της ροής εργασίας. Το κατώφλι πρέπει να ρυθμιστεί χειροκίνητα μόλις πάνω από το σήμα υποβάθρου των αρνητικών μαρτύρων και αρνητικών δειγμάτων. Η μέση τιμή κατωφλίου που υπολογίζεται από αυτά τα πειράματα πιθανότητα θα λειτουργεί για την πλειονότητα των μελλοντικών εκτελέσεων, ωστόσο ο χρήστης θα πρέπει να πραγματοποιεί ανασκόπηση της παραγόμενης τιμής κατωφλίου σε τακτικά διαστήματα. Η τιμή κατωφλίου θα βρίσκεται συνήθως στο εύρος από 0,03–0,05 και πρέπει να στρογγυλοποιείται σε έως και τρία δεκαδικά ψηφία.

## Ποσοτικός προσδιορισμός

Τα πρότυπα ποσοτικοποίησης (CMV QS 1–4) στο *artus* CMV QS-RGQ Kit αντιμετωπίζονται ως προηγούμενως καθαρισμένα δείγματα και χρησιμοποιείται ο ίδιος όγκος (20 μl). Για να δημιουργήσετε μία πρότυπη καμπύλη σε όργανα Rotor-Gene Q θα πρέπει να χρησιμοποιήσετε και τα 4 πρότυπα ποσοτικοποίησης και να τα ορίσετε στο πλαίσιο διαλόγου **Edit Samples** (Επεξεργασία δειγμάτων) στο όργανο Rotor-Gene Q ως πρότυπα με τις συγκεκριμένες συγκεντρώσεις (βλέπε εγχειρίδιο χρήσης του οργάνου).

**Σημείωση:** Τα πρότυπα ποσοτικοποίησης ορίζονται ως αντίγραφα/μl στο έκλουσμα. Η παρακάτω εξίσωση πρέπει να χρησιμοποιηθεί για τη μετατροπή των τιμών που προσδιορίζονται με χρήση της πρότυπης καμπύλης σε αντίγραφα/μl του υλικού δείγματος.

$$\text{Αποτέλεσμα σε υλικό δείγματος (αντίγραφα/ml)} = \frac{\text{Αποτέλεσμα σε έκλουσμα (αντίγραφα/μl)} \times \text{Όγκος αρχικής έκλουσης (90 μl)*}}{\text{Όγκος δείγματος (ml)}}$$

Κατ' αρχήν, ο αρχικός όγκος δείγματος πρέπει να καταχωρηθεί στην παραπάνω εξίσωση. Αυτό πρέπει να ληφθεί υπόψη σε περίπτωση τροποποίησης του όγκου δείγματος πριν από την εκχύλιση του νουκλεϊκού οξέος (π.χ., μείωση του όγκου με φυγοκέντρηση ή αύξηση του όγκου με προσθήκη του απαιτούμενου για την απομόνωση όγκου).

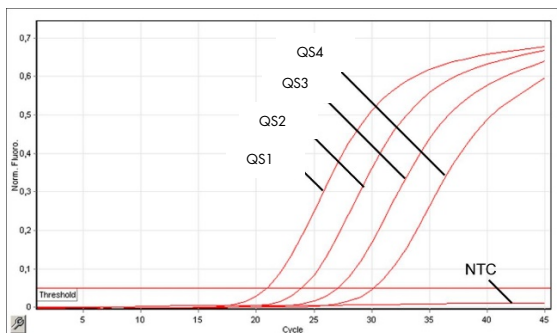
\* Ο υπολογισμός βασίζεται στους αρχικούς όγκους έκλουσης (90 μl).

Για μια εκτέλεση πολλαπλών προσδιορισμών, όπου οι CMV και EBV θα προσδιοριστούν στην ίδια PCR, βεβαιωθείτε ότι τα δείγματα αναλύονται ξεχωριστά για τον CMV και τον EBV, με τα αντίστοιχα πρότυπα ποσοτικοποίησης.

### Συντελεστής μετατροπής

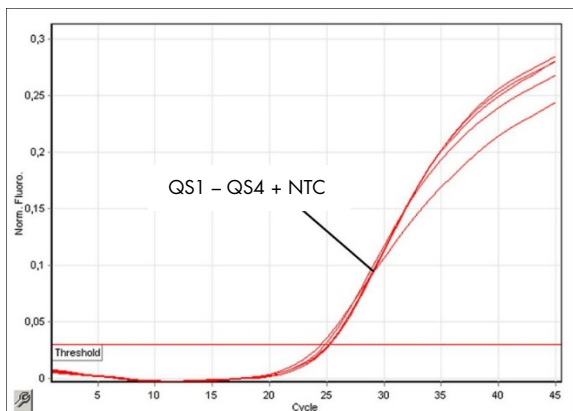
1,00 αντίγραφο/ml αντιστοιχεί σε 1,64 IU/ml για την ανίχνευση DNA από CMV που προέρχεται από ανθρώπινο πλάσμα με EDTA στο Rotor-Gene Q. Αυτός ο συντελεστής μετατροπής ισχύει όταν συμμορφώνεται με την επικυρωμένη ροή εργασιών όπως αναφέρεται στο φύλλο εφαρμογής. Ο συντελεστής μετατροπής αποτελεί μια προσέγγιση με βάση ένα μέσο συντελεστή στο δυναμικό εύρος του προσδιορισμού. Ο συντελεστής μετατροπής προσδιορίστηκε μέσω ανάλυσης παλινδρόμησης σειράς πολλαπλών αραιώσεων του 1ου διεθνούς προτύπου του Π.Ο.Υ. με σύγκριση με μια μέθοδο αναφοράς όπου τα αποτελέσματα αναφέρονται σε IU/ml.

### Παραδείγματα θετικών και αρνητικών αντιδράσεων PCR



NTC

**Ανίχνευση των προτύπων ποσοτικοποίησης (CMV QS 1–4) στο κανάλι φθορισμού Cycling Green.** NTC: No template control (μάρτυρας χωρίς μήτρα) (αρνητικός μάρτυρας).



**Ανίχνευση του εσωτερικού μάρτυρα (Internal Control, IC) στο κανάλι φθορισμού Cycling Yellow με ταυτόχρονη ενίσχυση των προτύπων ποσοτικοποίησης (CMV QS 1–4).** NTC: No template control (μάρτυρας χωρίς μήτρα) (αρνητικός μάρτυρας).

#### Ιστορικό αναθεώρησης εγγράφου

R3, Φεβρουάριος  
2018

Αφαιρέθηκε υποσημείωση σχετικά με τη ρύθμιση 216 προσδιορισμών. Αλλάχθηκε σε νέες εκδόσεις των πρωτοκόλλων QIASymphony. Ενημερώθηκαν τα απαιτούμενα υλικά για τη ρύθμιση μέγιστου αριθμού 72 αντιδράσεων. Προστέθηκαν πληροφορίες για την εκτέλεση πολλαπλών προσδιορισμών με τον EBV. Προστέθηκαν πληροφορίες για τη χρήση του εργαλείου «IC Calculator» στο QMC. Ενημερώθηκε η ονομασία του εργαστηριακού εξοπλισμού Corning (προηγουμένως Becton Dickinson). Προστέθηκαν ειδικές ρυθμίσεις εκτέλεσης Rotor-Gene Q (χρήση λειτουργίας touchdown, λήψεις). Προστέθηκαν πληροφορίες για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων ώστε να συμπεριλαμβάνεται η περίπτωση «θετικό για παθογόνο και αρνητικό για IC». Αφαιρέθηκαν οι οδηγίες σχετικά με τη χρήση του Rotor-Gene AssayManager®. Προστέθηκαν πληροφορίες για τον συντελεστή μετατροπής.

Για ενημερωμένες πληροφορίες άδειας και δηλώσεις αποποίησης ευθύνης σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στο αντίστοιχο εγχειρίδιο κιτ QIAGEN ή εγχειρίδιο χρήστη. Τα εγχειρίδια των κιτ QIAGEN και τα εγχειρίδια χρήστη είναι διαθέσιμα στον ιστότοπο [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της QIAGEN ή τον αντιπρόσωπο της περιοχής σας.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (Όμιλος QIAGEN), Corning® (Corning Inc.), Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Οι κατατεθείσες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα κ.λπ. που χρησιμοποιούνται σε αυτό το έγγραφο δεν θα πρέπει να θεωρηθούν μη προστατευόμενα από το νόμο, ακόμα κι αν δεν υποδεικνύονται ρητώς.  
02/2018 HB-0356-S02-003 © 2012–2018 QIAGEN, με την επιφύλαξη κάθε δικαιώματος.

