

Απρίλιος 2019

Φύλλο εφαρμογής QIAasymphony[®] RGQ

artus[®] VZV QS-RGQ Kit
(τύπος δείγματος: πλάσμα)

R2



4502363

artus VZV QS-RGQ Kit, έκδοση 1



Ελέγξτε τη διαθεσιμότητα νέων αναθεωρήσεων ηλεκτρονικής επισήμανσης
στη διεύθυνση www.qiagen.com/products/artusvzvpcrkitce.aspx
πρωτού εκτελέσετε τη δοκιμασία.

Γενικές πληροφορίες

Κιτ	artus VZV QS-RGQ Kit, Έκδοση 1 (αρ. κατ. 4502363)
Επικυρωμένο υλικό δείγματος	Ανθρώπινο πλάσμα με EDTA
Καθαρισμός Front-end	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (αρ. κατ. 937055)
Όγκος δείγματος (συμπεριλαμβανομένου του πλεονάζοντος όγκου)	1.200 μl
Σετ παραμέτρων προσδιορισμού	artus_VZV_plasma1000_V5
Προκαθορισμένο σετ μαρτύρων προσδιορισμού	Cellfree1000_V7_DSP_artus_VZV
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. κατ. 937055)

Προσαρμογείς για το QIASymphony SP

- Elution Microtube Rack QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, αρ. κατ. 9020730)
- Πλαίσιο μεταφοράς
- Tube Insert 3B (Insert, 2.0 ml v2, samplecarr. (24), Qsym, αρ. κατ. 9242083)

Αναλώσιμα για το QIASymphony SP

- Sample Prep Cartridges, 8-well (αρ. κατ. 997002)
- 8-Rod Covers (αρ. κατ. 997004)
- Filter-Tips, 1500 µl (αρ. κατ. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (αρ. κατ. 990332)
- Elution Microtubes CL (αρ. κατ. 19588)
- Tip disposal bags (αρ. κατ. 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Type H ή Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt®, αρ. κατ. 72.693 και 72.694, 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. κατ. 9018090)
- RG Strip Tubes 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, αρ. κατ. 9018092)

Αναλώσιμα για το QIASymphony AS

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

Χειρισμός και αποθήκευση 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 περιοριστεί εάν η συνήθης διαδικασία που ακολουθείτε είναι να καταψύχετε τα δείγματα ή εάν τα αποθηκεύσετε για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.</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 (≥ 10 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>

* Διεθνής Ένωση Αεροπορικών Μεταφορών (International Air Transport Association, IATA). 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 Mini Kit σε συνδυασμό με το *artus* VZV QS-RGQ Kit απαιτεί την εισαγωγή του εσωτερικού μάρτυρα (VZV IC) στη διαδικασία καθαρισμού, για την παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας της προετοιμασίας των δειγμάτων και του καθοδικού προσδιορισμού.

Οι εσωτερικοί μάρτυρες πρέπει να προστίθενται στο μείγμα φορέα RNA (CARRIER) – Buffer AVE (AVE). Ο συνολικός όγκος του μείγματος εσωτερικού μάρτυρα – φορέα RNA (CARRIER) – Buffer 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» (Υπολογιστής IC) του QIAAsymphony Management Console.

Συστατικό	Όγκος (μl) (σωληνάρια Sarstedt)*	Όγκος (μl) (σωληνάρια Corning)†
Βασικό διάλυμα φορέα RNA (CARRIER)	5	5
Εσωτερικός μάρτυρας‡	9	9
Buffer AVE	106	106
Τελικός όγκος ανά δείγμα (αποκλείοντας τον 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. κατ. 72.693 και 72.694.

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

Προετοιμασία του QIASymphony 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. 7)
Θέση στηρίγματος κουτιού μονάδων 1–4	Φορτώστε κουτιά μονάδων που περιέχουν φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων και 8-Rod Covers (βλ. «Απαιτούμενα πλαστικά υλικά για 1–4 παρτίδες δειγμάτων», σελ. 7)

Συρτάρι «Sample» (Δείγμα)

Τύπος δείγματος	Ανθρώπινο πλάσμα με EDTA
Όγκος δείγματος(συμπεριλαμβανομένου του πλεονάζοντος όγκου)	1.200 μl
Σωληνάρια δείγματος	Micro tubes 2,0 ml Type H ή Micro tubes 2,0 ml Type I (Sarstedt, αρ. κατ. 72.693 και 72.694)
Ένθετο	Tube Insert 3B (αρ. κατ. 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*
Disposable filter-tips, 200 μl†‡	28	52	76	100
Disposable filter-tips, 1500 μl†‡	113	206	309	402
Sample Prep Cartridges §	21	42	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Η χρήση περισσότερων από ένα σωληνάρια εσωτερικού μάρτυρα ανά παρτίδα και η εκτέλεση περισσότερων από μία σάρωση 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 8-Rod Covers.

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 αντιδραστήριου
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) ^{†‡}	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt [§]	Reagent holder 1 QS
Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (500) ^{†‡}	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt [§]	Reagent holder 1 QS

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

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

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

§ 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 αντιδραστήριου	Όνομα	Απαιτούμενος αριθμός [†]
Υποδοχές αντιδραστηρίων	Reagent holder 1 QS	1
Θήκες δειγμάτων	RG Strip Tubes 72 QS	1

[†] 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» (Εκλουσμα και αντιδραστήρια) και, στη συνέχεια, φορτώστε θήκες ρυγχών στις υποδοχές ρύγχους 7, 8 και 9 στο συρτάρι «Assays» (Προσδιορισμοί).

Αναλώσιμο	Όνομα στην οθόνη αφής	Ελάχιστος αριθμός για 24 αντιδράσεις	Ελάχιστος αριθμός για 72 αντιδράσεις
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	1500 µl	4	6
Filter-Tips, 200 µl (1024)	200 µl	9	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» στη διεύθυνση www.qiagen.com/products/artusvzvpcrkitce.aspx για λεπτομέρειες σχετικά με το πρωτόκολλο.

Ειδικές ρυθμίσεις για το artus VZV QS-RGQ Kit

Με το λογισμικό Rotor-Gene® 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 (Κύκλοι)	45 φορές 95 βαθμοί για 15 δευτερόλεπτα 65 βαθμοί 30 δευτερόλεπτα (Λήψη στο Green, Orange και ενεργοποίηση λειτουργίας touchdown για 10 κύκλους) 72 βαθμοί για 20 δευτερόλεπτα
Auto-Gain Optimisation Setup (Ρύθμιση παραμέτρων αυτόματης βελτιστοποίησης απολαβής)	65 βαθμοί (Δείγματα: Green, IC: Orange)

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 VZV 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.

* 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.

Ανίχνευση σήματος και συμπεράσματα

Σήμα στο κανάλι Cycling Green	Σήμα στο κανάλι Cycling Orange	Ποσοτικό αποτέλεσμα (αντίγραφα/ml)	Ερμηνεία
Ναι	Ναι	<12,7	Έγκυρο αποτέλεσμα: Ανιχνεύθηκε DNA από VZV, <127 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	≥12,7 και <127	Έγκυρο αποτέλεσμα: Ανιχνεύθηκε DNA από VZV, <127 αντίγραφα/ml. Η ποσοτικοποίηση δεν είναι δυνατή εφόσον το ποσοτικό αποτέλεσμα βρίσκεται κάτω από το γραμμικό εύρος του προσδιορισμού.
Ναι	Ναι/Όχι*	≥127 και ≤6,92 x 10 ⁶	Έγκυρο αποτέλεσμα: Ανιχνεύθηκε DNA από VZV στην υπολογισμένη συγκέντρωση. Το ποσοτικό αποτέλεσμα είναι εντός του γραμμικού εύρους του προσδιορισμού.
Ναι	Ναι/Όχι*	>6,92 x 10 ⁶	Έγκυρο αποτέλεσμα: Ανιχνεύθηκε DNA από VZV, >6,92 x 10 ⁶ αντίγραφα/ml. Η ποσοτικοποίηση δεν είναι δυνατή εφόσον το ποσοτικό αποτέλεσμα βρίσκεται πάνω από το γραμμικό εύρος του προσδιορισμού.†
Όχι	Ναι	–	Έγκυρο αποτέλεσμα: Δεν υπάρχει ανιχνεύσιμο DNA από VZV. ‡
Όχι	Όχι	–	Μη έγκυρο αποτέλεσμα: Η λήψη αποτελέσματος δεν είναι δυνατή. §

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

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

‡ Εάν η τιμή C_T για τον εσωτερικό μάρτυρα ενός αρνητικού δείγματος είναι για περισσότερους από 3 κύκλους μεγαλύτερη από την τιμή C_T για τον εσωτερικό μάρτυρα του μάρτυρα χωρίς μήτρα στην εκτέλεση (C_{T IC Δείγμα} – C_{T IC NTC} >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 στην ενότητα «Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων» του εγχειριδίου artus VZV QS-RGQ Kit.

Ρυθμίσεις κατωφλίου για την ανάλυση PCR

Οι βέλτιστες ρυθμίσεις κατωφλίου για έναν δεδομένο συνδυασμό του οργάνου Rotor-Gene Q και του *artus* QS-RGQ Kit θα 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 (VZV QS 1–4) στο *artus* VZV QS-RGQ Kit αντιμετωπίζονται ως προηγούμενως κεκαθαμένα δείγματα και χρησιμοποιείται ο ίδιος όγκος (20 μl). Για να δημιουργήσετε μια 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).

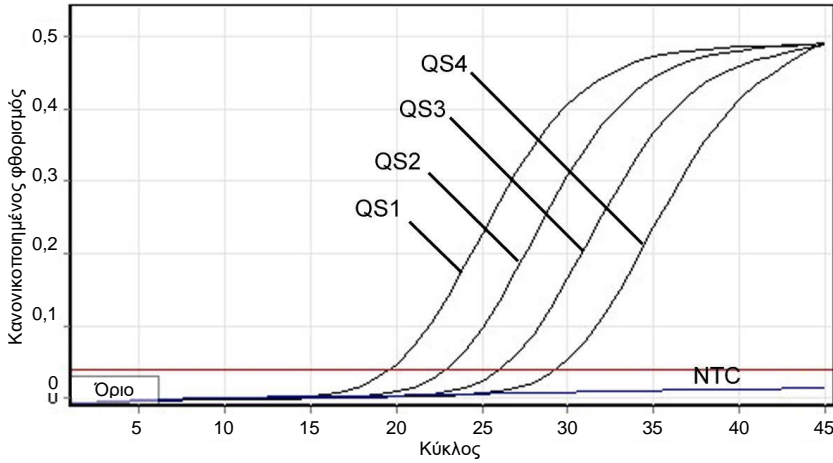
Σημείωση: Τα πρότυπα ποσοτικοποίησης ορίζονται ως αντίγραφα/μl στο έκλουσμα. Η παρακάτω εξίσωση πρέπει να χρησιμοποιηθεί για τη μετατροπή των τιμών που προσδιορίζονται με χρήση της πρότυπης καμπύλης σε αντίγραφα/ml του υλικού δείγματος.

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

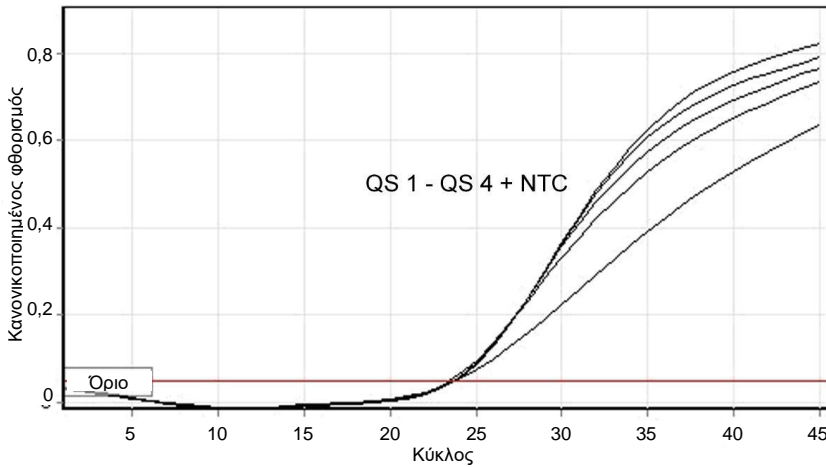
Κατ' αρχήν, ο αρχικός όγκος δείγματος πρέπει να καταχωρηθεί στην παραπάνω εξίσωση. Αυτό πρέπει να ληφθεί υπόψη σε περίπτωση τροποποίησης του όγκου δείγματος πριν από την εκχύλιση του νουκλεϊκού οξέος (π.χ., μείωση του όγκου με φυγοκέντρηση ή αύξηση του όγκου με προσθήκη του απαιτούμενου για την απομόνωση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

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

Παραδείγματα θετικών και αρνητικών αντιδράσεων PCR



Ανίχνευση των προτύπων ποσοτικοποίησης (VZV 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 Orange με ταυτόχρονη ενίσχυση των προτύπων ποσοτικοποίησης (VZV QS 1–4). NTC: No Template Control (μάρτυρας χωρίς μήτρα) (αρνητικός μάρτυρας).

Ιστορικό αναθεώρησης εγγράφου

R2, Απρίλιος 2019

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 τη χρήση του εργαλείου «IC Calculator» (Υπολογιστής IC) στο QMC. Ενημερώθηκε η ονομασία του εργαστηριακού εξοπλισμού Corning (προηγουμένως Becton Dickinson). Προστέθηκαν ειδικές ρυθμίσεις εκτέλεσης για το 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®, άλλαξε η διατύπωση από RT-PCR σε PCR για αποσαφήνιση, διευκρινίστηκε η διαφορά μεταξύ εκλούσματος και συγκέντρωσης δείγματος στον υπολογισμό ποσοτικοποίησης.

Για ενημερωμένες πληροφορίες άδειας χρήσης και για 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 στη διεύθυνση www.qiagen.com ή μπορείτε να τα ζητήσετε από το τμήμα Τεχνικών Υπηρεσιών της QIAGEN ή τον διανομέα 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.). Όλες οι κατοχυρωμένες 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.
04/2019 HB-0401-S02-002 © 2012-2019 QIAGEN, με την επιφύλαξη κάθε δικαιώματος.

