กรกฎาคม 2021

คำแนะนำสำหรับการใช้งาน (คู่มือ) *artus*® SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit

Σ 768

Σ 3072

เวอร์ชัน 1

IVD

สำหรับการใช้งานวินิจฉัยในหลอดทดลอง

สำหรับใช้กับเครื่องมือ Rotor-Gene® Q MDx 5plex HRM และ ABI® 7500 Fast Dx

CE

REF 4511460, 4511469

QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ประเทศเยอรมนี

R2

สารบัญ

จุดประสงค์การใช้งาน 4

คำอธิบายและหลักการ 5

ข้อมูลจุลชีพก่อโรค 5

สรุปและคำอธิบาย 6

วัสดุที่จัดเตรียมให้ 9

ส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์ 9

ส่วนประกอบชุดอุปกรณ์ 10

แพลตฟอร์มและซอฟต์แวร์ 11

วัสดุที่ต้องใช้แต่ไม่ได้จัดหาให้ 12

วัสดุสิ้นเปลือง 12

อุปกรณ์ 12

คำเตือนและข้อควรระวัง 13

ข้อมูลด้านความปลอดภัย 13

การระวังป้องกัน 14

การเก็บและการจัดการน้ำยา 15

การขนส่ง การจัดเก็บและการจัดการสิ่งส่งตรวจ 15

การเก็บ การขนส่งและการจัดเก็บสิ่งส่งตรวจ 15

เกณฑ์วิธี: การเตรียมตัวอย่างและการตรวจหา SARS-CoV-2 บน RGQ MDx 5plex HRM 16

เกณฑ์วิธี: การเตรียมตัวอย่างและการตรวจหา SARS-CoV-2 บน ABI 7500 Fast Dx 22

ผลลัพธ์ 26

การแปลผลลัพธ์ 28

ข้อจำกัด 30

การดำเนินการ....31
ความไวในการวิเคราะห์ (ขีดจำกัดของการตรวจจับ)....31
การศึกษาความจำเพาะเชิงวิเคราะห์ (การรวมและความเฉพาะตัว/การเกิดปฏิกิริยาข้าม)....31
สารรบกวน....39
ความเที่ยง....40
ประสิทธิภาพทางคลินิก....41
อ้างอิง....46
แนวทางการแก้ไขปัญหา....47
สัญลักษณ์....49
ข้อมูลติดต่อ....50
ข้อมูลการสั่งซื้อ....51
ประวัติการแก้ไขเอกสาร....52

จุดประสงค์การใช้งาน

สำหรับ *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit เป็นการทดสอบ real-time RT-PCR สำหรับการตรวจหากรดนิวคลีอิกเชิงคุณภาพจาก SARS-CoV-2 ใน swab หลังโพรงจมูก (Nasopharyngeal Swab, NPS), swab ช่องจมูกและ swab ช่องปากจากบุคคลที่มีอาการและอาการแสดงของการติดเชื้อหรือผู้ที่ไม่มีอาการหรือเหตุผลอื่น ๆ ให้น่าสงสัยว่ามีการติดเชื้อ COVID-19

มีวัตถุประสงค์เพื่อช่วยในการวินิจฉัย COVID-19 ในระยะเฉียบพลันของการติดเชื้อร่วมกับการสังเกตทางคลินิก ประวัติผู้ป่วยและข้อมูลทางระบาดวิทยา

artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit จะต้องใช้ในสภาพแวดล้อมของห้องปฏิบัติการอณูชีววิทยาโดยผู้ใช้มืออาชีพ เช่น บุคลากรในห้องปฏิบัติการทางคลินิกที่ได้รับการฝึกอบรมซึ่งได้รับคำแนะนำโดยเฉพาะในเทคนิคของ real-time PCR และขั้นตอนการวินิจฉัย *ในหลอดทดลอง*

ผลลัพธ์ที่เป็นลบไม่ได้ป้องกันการติดเชื้อ SARS-CoV-2 และไม่ควรใช้เป็นพื้นฐานเดียวในการตัดสินใจในการจัดการผู้ป่วย

artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้กับ Rotor-Gene Q (RGQ) MDx System หรือ ABI 7500 Fast Dx เป็นเครื่องมือสำหรับตรวจ real-time PCR

คำอธิบายและหลักการ

ข้อมูลจุลชีพก่อโรค

Coronavirus ซึ่งเป็นสกุลในวงศ์ *Coronaviridae* เป็นไวรัส RNA ชนิดสายบวกที่ห่อหุ้มไว้ขนาดใหญ่ที่ทำให้เกิดโรคที่รุนแรงในคนและสัตว์เลี้ยง (1) Coronavirus เป็นที่รู้จักกันว่าติดเชื้อในมนุษย์โดยคิดเป็นหนึ่งในสามของการติดเชื้อหวัดทั่วไปและยังเป็นสาเหตุที่รู้จักกันดีของการติดเชื้อทางเดินหายใจส่วนบนในโรงพยาบาลในทารกที่คลอดก่อนกำหนด (2)

สมาชิกใหม่ของวงศ์ Coronavirus ทำให้เกิดการระบาดของโรคทางเดินหายใจในเมืองอู่ฮั่นในประเทศจีน (1, 3) Coronavirus สายพันธุ์ใหม่มีชื่อแรก (2019-nCoV), SARS-CoV-2 แตกต่างจาก SARS-CoV (1, 3) ซึ่งรับผิดชอบต่อการระบาดของโรคในปี 2003 และ MERS-CoV ซึ่งแพร่ระบาดในตะวันออกกลางตั้งแต่ปี 2012 SARS-CoV-2 เป็นสาเหตุของ COVID-19 SARS-CoV-2 RNA
สามารถตรวจพบได้ในระยะเริ่มต้นและระยะเฉียบพลันของการติดเชื้อจากสิ่งส่งตรวจระบบทางเดินหายใจส่วนบนต่าง ๆ (swab ช่องจมูก ช่องปาก และหลังโพรงจมูก) (3)

เมื่อรวมกับประวัติผู้ป่วยและระบาดวิทยา SARS-CoV-2 การทดสอบ RT-PCR ได้กลายเป็นมาตรฐานสูงสุดสำหรับการวินิจฉัย SARS-CoV-2 ศูนย์ป้องกันและควบคุมโรคแห่งยุโรป (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) ได้เสนอให้รวมการทดสอบด้วยวิธี RT-PCR
กับการทดสอบทางวิทยาภูมิคุ้มกันเพื่อติดตามสถานะการติดเชื้อและประเมินประสิทธิภาพของมาตรการที่เข้มงวดในการควบคุมการระบาด (4, 5)

การทดสอบ SARS-CoV-2 Prep&Amp UM กำหนดเป้าหมายยีนของไวรัส 2 ยีน (ยีน N1 และ N2) ที่ตรวจพบด้วยช่องเรืองแสงเดียวกัน
เป้าหมายของยีนทั้งสองไม่มีความแตกต่างกันและการเพิ่มขยายเป้าหมายยีนอย่างใดอย่างหนึ่งหรือทั้งสองจะนำไปสู่สัญญาณเรืองแสง ผลลัพธ์ที่เป็นบวกบ่งบอกถึงการมีอยู่ของไวรัส SARS-CoV-2

แต่ไม่ได้แยกแยะการติดเชื้อร่วมกับเชื้อโรคอื่น ๆ ในทางกลับกัน ผลลัพธ์ RT-PCR ที่เป็นลบไม่รวมการติดเชื้อที่เป็นไปได้

สรุปและคำอธิบาย

artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit เป็นระบบที่พร้อมใช้งานโดยมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างง่าย ๆ ตามด้วยการตรวจหา SARS-CoV-2 RNA โดยใช้ RT-PCR บนระบบ RGQ MDx หรือแพลตฟอร์ม ABI 7500 Fast Dx (รูปที่ 1) SARS-CoV-2 UM Amp Buffer ประกอบด้วยน้ำยาและเอนไซม์สำหรับการเพิ่มจำนวนเฉพาะของคู่เบส 72 คู่ (bp) และพื้นที่ 67 bp ของจีโนม SARS-CoV-2 RNA และสำหรับการตรวจจับโดยตรงในช่องเรืองแสง "Green" ของเครื่องมือ RGQ MDx และด้วยฟิลเตอร์เรืองแสง A/1 ของ ABI 7500 Fast Dx

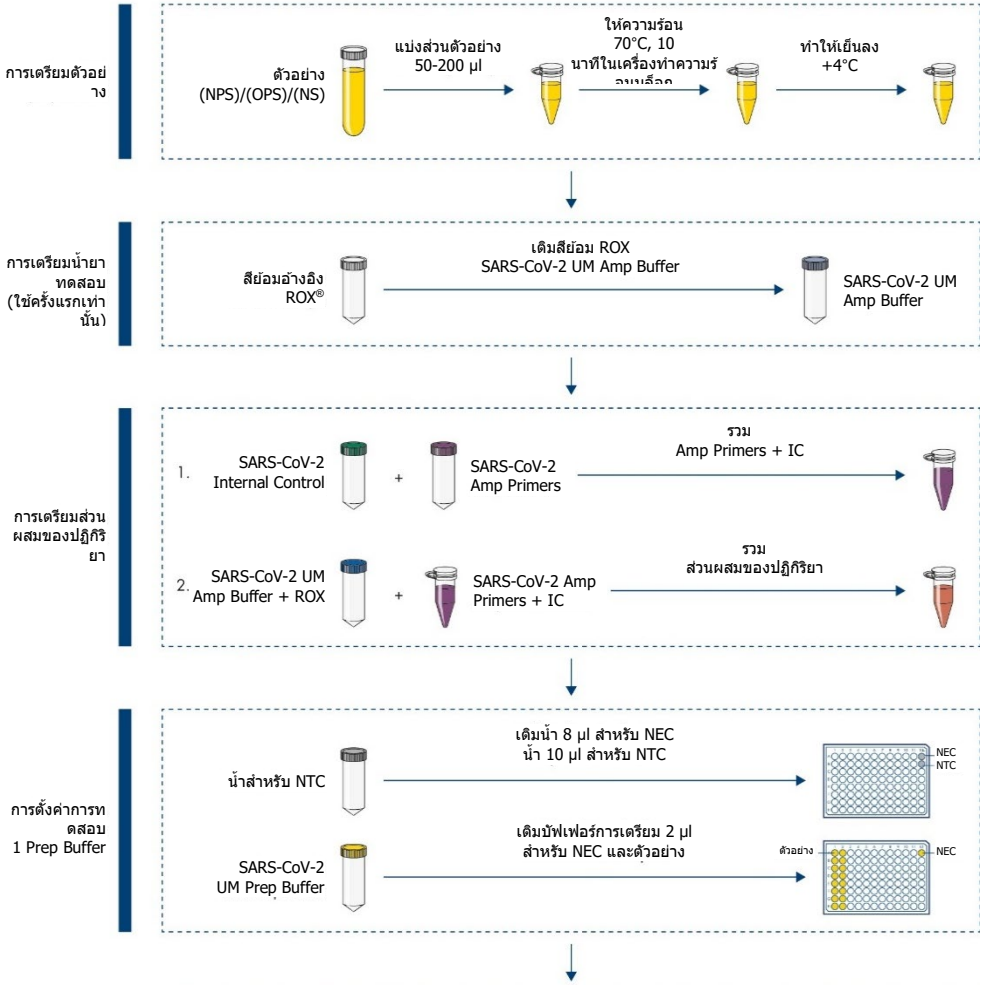
Primer และ Probes Mix ของ *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit ยังมีโอลิโกนิวคลีโอไทด์ที่จำเป็นสำหรับการขยาย RNAse P เมื่อตรวจพบในช่องฟลูออเรสเซนซ์ "Yellow" ของเครื่อง RGQ MDx หรือตัวกรองฟลูออเรสเซนซ์ B/2 ของ ABI 7500 Fast Dx ชิ้นส่วนสารพันธุกรรมเหล่านี้จะทำให้มั่นใจได้ว่ามีการรวบรวมตัวอย่างทางชีวภาพเพียงพอด้วยการ swab การควบคุมนี้มีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อให้แน่ใจว่ามีตัวอย่างทางชีวภาพในตัวอย่างเชิงลบ SARS-CoV-2 ควรตรวจจับการขยายได้เสมอ มิฉะนั้นควรตั้งคำถามกับคุณภาพของตัวอย่าง

artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit ยังมีระบบการเพิ่มขยายที่สามที่ต่างกันเพื่อเผยการยับยั้ง RT-PCR ที่เป็นไปได้ สิ่งนี้ถูกตรวจพบว่าเป็นตัวควบคุม RNA ภายใน (Internal Control, IC) ในช่องเรืองแสง "Red" ของเครื่องมือ RGQ MDx และด้วยฟิลเตอร์เรืองแสง E/5 ของ ABI 7500 Fast Dx เนื่องจาก IC รวมอยู่ใน SARS-CoV-2 Amp Primers Mix ดังนั้นการเพิ่มปริมาณจึงควรคงที่เว้นแต่จะมีสารยับยั้ง RT-PCR อยู่ในตัวอย่างหรือในปฏิกิริยา RT-PCR ซึ่งจะชะลอหรือป้องกันการเพิ่มปริมาณ

มีการจัดตัวควบคุมภายนอกที่เป็นบวกและลบ (SARS-CoV-2 Positive Control และน้ำปราศจากนิวคลีเอสที่ใช้เป็น NTC ตามลำดับ) ไว้ให้ใน artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit เพื่อยืนยันประสิทธิภาพของขั้นตอน PCR ขอแนะนำเป็นอย่างยิ่งให้ตัวควบคุมแบบไม่มีการสกัด (SARS-CoV-2 UM Prep Buffer ที่ใช้เป็น NEC) เพื่อตรวจสอบว่าไม่มีสารยับยั้ง RT-PCR ในบัฟเฟอร์การเตรียม

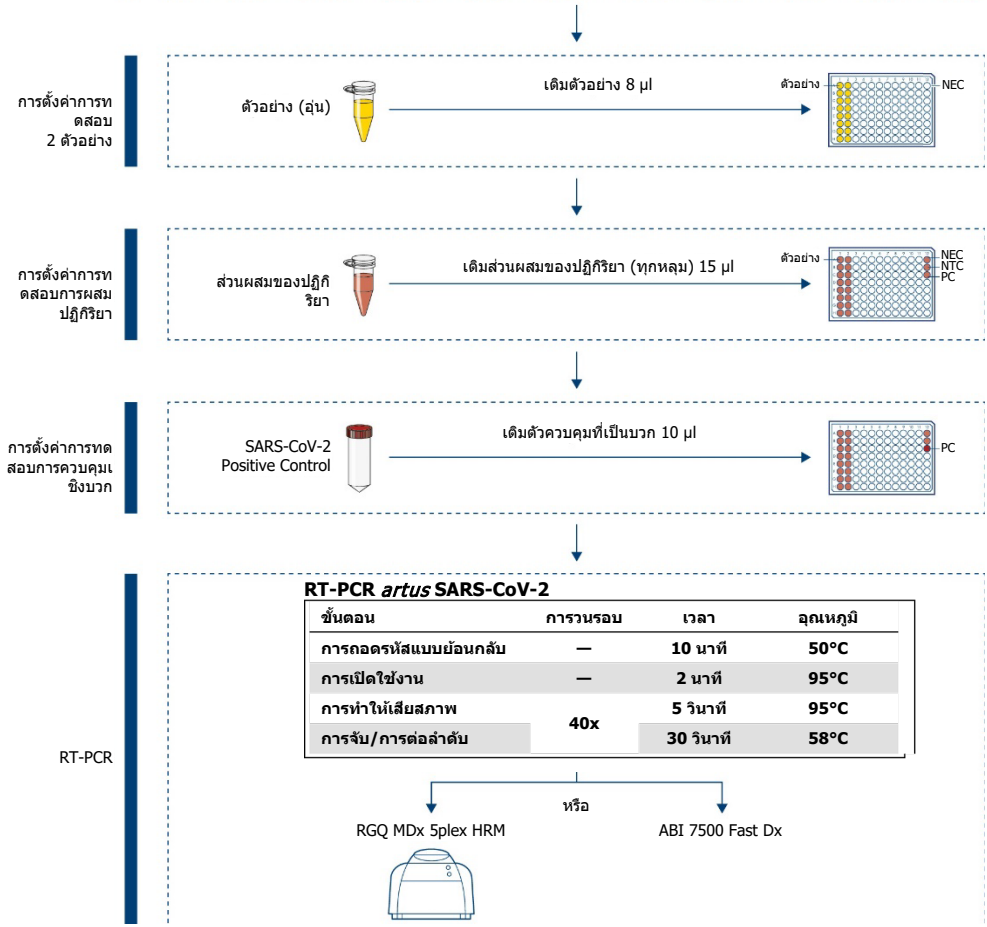
เมื่อนำมารวมกันประสิทธิภาพของการถอดรหัสแบบย้อนกลับและขั้นตอน PCR จะถูกตรวจสอบโดยตัวควบคุมเหล่านี้

ขั้นตอนการทำงานของ *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit



(มีต่อในหน้าถัดไป)

(ต่อจากหน้าที่แล้ว)



ขั้นตอน	การวนรอบ	เวลา	อุณหภูมิ
การถอดรหัสแบบย้อนกลับ	—	10 นาที	50°C
การเปิดใช้งาน	—	2 นาที	95°C
การทำให้เสียสภาพ	40x	5 วินาที	95°C
การจับ/การต่อลำดับ		30 วินาที	58°C

รูปที่ 1. ขั้นตอนการทำงานของ *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit

วัสดุที่จัดเตรียมให้

ส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์

***artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit** **หมายเลขแค็ตตาล็อก** **จำนวนปฏิกิริยา**				**4511460 768**	**4511469 3072**
สีหลอด	**สีของฝา**	**เอกลักษณ์**	**รหัสหลอด**	**ปริมาตร (µl)**	**ปริมาตร (µl)**
เคลียร์	**สีเหลือง**	SARS-CoV-2 UM Prep Buffer	**Preparation Buffer (บัฟเฟอร์การเตรียม)**	2 x 930	8 x 930
เคลียร์	**น้ำเงิน**	SARS-CoV-2 UM Amp Buffer	**Master Mix (น้ำยาทดสอบ)**	4 x 1440	16 x 1440
เคลียร์	**สีม่วง**	SARS-CoV-2 Amp Primers	**Primers and Probes (ไพรเมอร์และโพรบ)**	4 x 1680	16 x 1680
เคลียร์	**สีเขียว**	SARS-CoV-2 Internal Control	**Internal Control (IC) (ตัวควบคุมภายใน)**	1 x 1390	4 x 1390
เคลียร์	**สีแดง**	SARS-CoV-2 Positive Control	**Positive Control (ตัวควบคุมที่เป็นบวก)**	1 x 220	4 x 220
เคลียร์	**เคลียร์**	Water for NTC (น้ำสำหรับ NTC)	**Water (น้ำ) (NTC)**	1 x 1900	4 x 1900
เคลียร์	**เคลียร์**	ROX Reference Dye (สีย้อมอ้างอิง ROX)	**Rox Dye (ROX สีย้อม)**	1 x 210	4 x 210

ส่วนประกอบชุดอุปกรณ์

น้ำยา

ในแต่ละหลอด ปริมาตรน้ำยาได้รับการปรับให้เหมาะสม สำหรับ 8 กลุ่มจาก 96 ตัวอย่าง (สำหรับ 768 ชุดปฏิกิริยา) หรือ 32 กลุ่มของ 96 ปฏิกิริยา (สำหรับ 3,072 ชุดปฏิกิริยา) รวมถึงตัวควบคุมที่เป็นบวก (Positive Control, PC), ตัวควบคุมแบบไม่มีเทมเพลต (No Template Control, NTC) และตัวควบคุมแบบไม่มีการสกัด (No Extraction Control, NEC)

อาจมีการเรียกใช้ตัวอย่างน้อยลงหรือมากขึ้น แต่จะมีการใช้รีเอเจนต์ที่ไม่เหมาะสม
ขอแนะนำให้หลีกเลี่ยงการแช่แข็ง-การละลายหลายรอบ
อาจมีการแบ่งส่วนรีเอเจนต์เพื่อหลีกเลี่ยงการแช่แข็ง-การละลายหลายรอบ

Primer และ Probe

Primer และ Probe ที่กำหนดเป้าหมายไปยังลำดับ SARS-CoV-2 นั้นขึ้นอยู่กับ Primer และ Probe ที่ออกแบบโดยศูนย์ควบคุมและป้องกันโรค (Centers for Disease Control and Prevention, CDC)

ตัวควบคุมและเครื่องสอบเทียบ

การทดสอบประกอบด้วยการควบคุม 5 แบบเพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพ RT-PCR

ตัวควบคุมภายใน (Internal Control, IC) ตัวควบคุมภายในเป็น IVT RNA สายเดี่ยวที่ตรวจสอบการมีอยู่ของสิ่งปนเปื้อนที่สามารถยับยั้งการถอดรหัสแบบย้อนกลับได้ ตัวควบคุมภายในยังตรวจสอบประสิทธิภาพการถอดรหัสแบบย้อนกลับในตัวควบคุมแบบไม่มีเทมเพลต (No Template Control, NTC) และในตัวควบคุมแบบไม่มีการสกัด (No Extraction Control, NEC)

ตัวควบคุมแบบไม่มีเทมเพลต (No Template Control, NTC): ตัวควบคุมแบบไม่มีเทมเพลตประกอบด้วยน้ำที่ปราศจากนิวคลีเอส เติมเข้าไปในแผ่น PCR เพื่อตรวจสอบการนำสารปนเปื้อนในระหว่างการเตรียมแผ่น PCR ที่อาจนำไปสู่การแปลผลเป้าหมาย SARS-CoV-2 ที่ผิดพลาด

ตัวควบคุมที่เป็นบวก (Positive Control, PC): ตัวควบคุมที่เป็นบวกคือ DNA เส้นคู่ซึ่งมีการเพิ่มปริมาณด้วย SARS-CoV-2 Primers and Probes (ส่วนผสม P&P) การตรวจจับจะตรวจสอบประสิทธิภาพของน้ำยาที่เกี่ยวข้องในขั้นตอนการเพิ่มขยาย PCR

ตัวควบคุมแบบไม่มีการสกัด (No Extraction Control, NEC): ตัวควบคุมแบบไม่มีการสกัดประกอบด้วย SARS-CoV-2 UM Prep Buffer มีการประมวลผลควบคู่ไปกับตัวอย่างทางคลินิกเพื่อตรวจสอบการนำสารปนเปื้อนในระหว่างการเตรียมตัวอย่างที่อาจนำไปสู่การแปลผลเป้าหมาย SARS-CoV-2 ที่ผิดพลาด

การควบคุมการสุ่มตัวอย่าง: การควบคุมการสุ่มตัวอย่างจะตรวจจับยีน RNAse P และมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อให้แน่ใจว่ามีตัวอย่างทางชีวภาพในตัวอย่างเชิงลบของ SARS-CoV-2 การขยายของการควบคุมการสุ่มตัวอย่างควรตรวจจับได้เสมอ
มิฉะนั้นควรตั้งคำถามกับคุณภาพของตัวอย่าง

แพลตฟอร์มและซอฟต์แวร์

ก่อนใช้ ตรวจสอบให้แน่ใจว่าเครื่องมือต่าง ๆ ได้รับการดูแลรักษาและสอบเทียบมาตรฐานตามคำแนะนำของผู้ผลิต
ชุดอุปกรณ์นี้สามารถใช้ในสองขั้นตอนการทำงานที่ต้องใช้เครื่องมือ Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM หรือ ABI 7500 Fast Dx และซอฟต์แวร์ที่เหมาะสม:

- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM: ซอฟต์แวร์ Rotor-Gene Q เวอร์ชัน 2.3.1 หรือสูงกว่า
- ABI 7500 Fast Dx: ซอฟต์แวร์ SDS เวอร์ชัน 1.4.1 หรือสูงกว่า

วัสดุที่ต้องใช้แต่ไม่ได้จัดหาให้

วัสดุสิ้นเปลือง

- ถุงมือชนิดไม่มีแป้งสำหรับใช้ครั้งเดียว
- ทิปปิเปตปราศจากเชื้อและไม่มีนิวคลีเอสพร้อมฟิลเตอร์
- หลอดปลอด PCR 1.5 ml หรือ 2 ml
- หลอด PCR ขนาด 0.1 ml สำหรับใช้กับ Rotor-Gene® Q MDx (Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, หมายเลขแคตตาล็อก 981103)
- 96-Well MicroAmp™ สำหรับใช้กับแพลตฟอร์ม ABI 7500 Fast Dx qPCR (แผ่น 96 หลุมสำหรับ Applied Biosystems, หมายเลขแคตตาล็อก N8010560)
- MicroAmp Optical Adhesive Film สำหรับใช้กับแพลตฟอร์ม ABI 7500 Fast Dx qPCR (Applied Biosystems, หมายเลขแคตตาล็อก 4360954)

อุปกรณ์*

- เครื่องหมุนเหวี่ยงชนิดตั้งโต๊ะพร้อมโรเตอร์สำหรับหลอดปฏิกิริยาขนาด 2 ml
- ปิเปต (ปรับได้)
- เครื่องผสมกระแสวน
- เครื่องทำความร้อนแบบบล็อก
- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (หมายเลขแคตตาล็อก 9002032) พร้อมซอฟต์แวร์ Rotor-Gene Q เวอร์ชัน 2.3.1 หรือสูงกว่า
- Rotor-Disc 72 Rotor (หมายเลขแคตตาล็อก 9018899)
- Rotor-Disc 72 Locking Ring (หมายเลขแคตตาล็อก 9018900)
- บล็อกบรรจุ 72 หลุม (QIAGEN Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes, หมายเลขแคตตาล็อก 9018901)
- หรืออีกทางเลือกหนึ่ง: แพลตฟอร์ม ABI 7500 Fast Dx qPCR (Thermo Fisher Scientific®, หมายเลขแคตตาล็อก 4406985) พร้อมซอฟต์แวร์เวอร์ชัน 1.4.1 หรือสูงกว่า และเครื่องหมุนเหวี่ยงเพลท 96 หลุม

* ก่อนใช้และเมื่อใช้ ตรวจสอบให้แน่ใจว่าเครื่องมือต่าง ๆ ได้รับการตรวจสอบและสอบเทียบมาตรฐานตามคำแนะนำของผู้ผลิต

คำเตือนและข้อควรระวัง

โปรดทราบว่าคุณอาจต้องอ่านข้อกำหนดท้องถิ่นของคุณในการรายงานเหตุการณ์ร้ายแรงที่ได้เกิดขึ้นเกี่ยวกับอุปกรณ์ไปยังผู้ผลิตและหน่วยงานกำกับดูแลที่มีผู้ใช้และ/หรือผู้ป่วย

ข้อมูลด้านความปลอดภัย

เมื่อทำงานกับสารเคมี ให้สวมใส่เสื้อคลุมห้องปฏิบัติการ ถุงมือแบบใช้แล้วทิ้ง และแว่นป้องกันดวงตาที่เหมาะสมเสมอ สำหรับข้อมูลเพิ่มเติม โปรดศึกษาเอกสารข้อมูลความปลอดภัย (Safety Data Sheet, SDS) ที่เหมาะสม สามารถดูเอกสารเหล่านี้ได้ทางออนไลน์ในรูปแบบ PDF ที่สะดวกและกะทัดรัดได้ที่ www.qiagen.com/safety ซึ่งคุณจะสามารถค้นหา ดู และพิมพ์เอกสารข้อมูลความปลอดภัยสารเคมี (Safety Data Sheet, SDS) ของ QIAGEN ชุดอุปกรณ์ และชิ้นส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์แต่ละรายการได้

สวมอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลที่เหมาะสมเสมอ
โดยรวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงถุงมือที่ไม่มีแป้งแบบใช้แล้วทิ้ง เสื้อคลุมสำหรับห้องปฏิบัติการ และแว่นตาป้องกัน ปกป้องผิวหนัง ดวงตา และเยื่อเมือก เปลี่ยนถุงมือบ่อย ๆ เมื่อจัดการกับตัวอย่าง

ตัวอย่างทั้งหมดควรได้รับการปฏิบัติว่าอาจเป็นอันตราย
ปฏิบัติตามข้อควรระวังเพื่อความปลอดภัยตามที่ระบุไว้ในแนวทางที่เกี่ยวข้องเสมอ เช่น Clinical and Laboratory Standards Institute® (CLSI) *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* (M29) หรือเอกสารที่เหมาะสมอื่น ๆ

สิ่งส่งตรวจและตัวอย่างอาจติดเชื้อได้
ให้ทิ้งตัวอย่างและของเสียจากการทดสอบตามขั้นตอนความปลอดภัยในท้องถิ่นของคุณ

การระวังป้องกัน

- ปฏิบัติตามขั้นตอนมาตรฐานของห้องปฏิบัติการเพื่อรักษาพื้นที่ทำงานให้สะอาดและปราศจากสิ่งปนเปื้อน เตรียมพื้นที่พร้อมอุปกรณ์เฉพาะเพื่อจัดการกับ RNA
- ปฏิบัติตามแนวทางปฏิบัติในห้องปฏิบัติการที่ดีเพื่อลดการปนเปื้อนข้ามให้น้อยที่สุด
- ให้ความใส่ใจเพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนกับ RNAse ในระหว่างการทดลองและใช้อุปกรณ์พลาสติกที่ปราศจาก RNAse
- ตรวจสอบให้แน่ใจว่ามีการตรวจสอบย้อนกลับที่ดีพร้อมกับบันทึก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับการระบุตัวอย่าง

การเก็บและการจัดการน้ำยา

ต้องใส่ใจในเรื่องวันหมดอายุและสภาพการเก็บรักษาที่พิมพ์อยู่บนกล่องและฉลากของชิ้นส่วนประกอบทั้งหมด ห้ามใช้ชิ้นส่วนประกอบที่จัดเก็บอย่างไม่ถูกต้องหรือหมดอายุแล้ว

artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิ −30°C ถึง −15°C เป็นเวลา 6 เดือนหรือจนถึงวันหมดอายุ

การขนส่ง การจัดเก็บและการจัดการสิ่งส่งตรวจ

artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit สำหรับใช้กับ swab หลังโพรงจมูก ช่องจมูกและช่องปาก ตัวอย่างทั้งหมดควรได้รับการปฏิบัติว่าอาจเป็นอันตราย

ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรค (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) และหน่วยงานสาธารณสุขอังกฤษ (Public Health England) ได้ให้แนวทางสำหรับการเก็บตัวอย่าง การจัดการและการทดสอบสิ่งส่งตรวจทางคลินิก
ดูแนวทางเหล่านี้หรือเกณฑ์วิธีของห้องปฏิบัติการอ้างอิงระดับชาติอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องสำหรับข้อมูลเพิ่มเติม

การเก็บ การขนส่งและการจัดเก็บสิ่งส่งตรวจ

สำหรับการเก็บ การจัดเก็บและการขนส่งสิ่งส่งตรวจ swab โปรดดูคำแนะนำของซัพพลายเออร์ ต้องแช่ swab ลงในภาชนะเก็บสิ่งส่งตรวจเพื่อรักษาความสมบูรณ์ของสิ่งส่งตรวจ

เกณฑ์วิธี: การเตรียมตัวอย่างและการตรวจหา SARS-CoV-2 บน RGQ MDx 5plex HRM

เกณฑ์วิธีนี้อธิบายถึงตัวอย่างและการเตรียม RT-PCR เพื่อตรวจจับ SARS-CoV-2 เป้าหมายใน swab ช่องจมูก หลังโพรงจมูกหรือช่องปากของมนุษย์ที่เก็บไว้ในภาชนะเก็บสิ่งส่งตรวจบน RGQ MDx 5plex HRM

จุดสำคัญก่อนเริ่มงาน

- **ตรวจสอบว่ามีการปฏิบัติตามวันหมดอายุและสภาวะการจัดเก็บที่พิมพ์บนกล่องและฉลากชิ้นส่วนประกอบทั้งหมด ห้ามใช้ชิ้นส่วนประกอบที่จัดเก็บอย่างไม่ถูกต้องหรือหมดอายุแล้ว**
- **ใช้อุปกรณ์ที่ได้รับการบำรุงรักษาและสอบเทียบมาตรฐานอย่างดี**
- **ให้ความใส่ใจเพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนของ RNAses ในระหว่างการทดลองและใช้อุปกรณ์พลาสติกที่ปราศจากนิวคลีเอส**

สิ่งที่ต้องทำก่อนเริ่มต้นการทำงาน

- **อาจเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องในระหว่างขั้นตอนการเตรียมและการตั้งค่าปฏิกิริยา แต่ขอแนะนำให้เก็บไว้บนน้ำแข็งหรือที่ 4°C บนตะแกรงทำความเย็น**
- **ก่อนใช้งาน ต้องปล่อยให้ SARS-CoV-2 UM Prep Buffer, SARS-CoV-2 UM Amp Buffer, SARS-CoV-2 Amp Primers, SARS-CoV-2 IC, น้ำสำหรับ NTC และ SARS-CoV-2 Positive Control ละลายทั่วถึงทั้งหมดที่อุณหภูมิห้อง (15–25°C) เก็บหลอดไว้ที่อุณหภูมิห้องและป้องกันไม่ให้ถูกแสงจนกว่าจะใช้งาน**
- **ก่อนใช้งาน ให้ทำ SARS-CoV-2 UM Prep Buffer และ SARS-CoV-2 UM Amp Buffer ให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยการกลับด้าน 2-3 ครั้ง (อย่าวน) ตามด้วยการหมุนอย่างรวดเร็ว รีเอเจนต์อื่น ๆ ทั้งหมดสามารถทำให้เป็นเนื้อเดียวกันได้โดยการหมุนวนของพัลส์เป็นเวลา 3-5 วินาทีหรือโดยการกลับด้าน 2-3 ครั้ง ตามด้วยการหมุนอย่างรวดเร็ว**
- **SARS-CoV-2 UM Prep Buffer ยับยั้ง RNAses ที่มีอยู่ในตัวอย่างทางคลินิกสำหรับขั้นตอนการตรวจจับ แต่ไม่ใช่สารละลายที่ยับยั้งไวรัส ตัวอย่างทั้งหมดควรได้รับการปฏิบัติว่าอาจเป็นอันตราย**
- **ตรวจสอบว่าเงื่อนไขการหมุนรอบของแพลตฟอร์ม qPCR เป็นไปตามที่ระบุในเกณฑ์วิธีนี้**
- **อาจมีการแบ่งส่วนย่อยน้ำยาเพื่อหลีกเลี่ยงการแช่แข็ง-ละลายหลายรอบ**

- เตรียมส่วนผสมของปฏิกิริยาใหม่ (<2 h เพื่อเปิดแผ่น RT-PCR)
- เพื่อลดการปนเปื้อนให้น้อยที่สุด ตัวอย่างและการเตรียม RT-PCR ควรทำในโซนที่ต่างกัน

กระบวนการ

1. การเตรียมตัวอย่าง
   1a. หมุนวน swab ที่มีตัวอย่างแรง ๆ
   1b. แบ่งส่วนย่อยของตัวอย่าง 50-200 µl ลงในหลอดที่ปราศจาก PCR 1.5mL
   1c. ทำขั้นตอนการให้ความร้อนที่ 70°C เป็นเวลา 10 นาทีบนเครื่องทำความร้อนแบบบล็อก ทำให้ตัวอย่างเย็นลงบนน้ำแข็งเป็นเวลาอย่างน้อย 5 นาที จากนั้นเก็บตัวอย่างไว้บนน้ำแข็งหรือที่อุณหภูมิ 4°C
2. ในการใช้งานครั้งแรก ให้เติม SARS-CoV-2 UM Amp Buffer ด้วยสีย้อมอ้างอิง ROX
   2a. เติมสีย้อม ROX 32.8 µl ลงใน SARS-CoV-2 UM Amp Buffer 1 หลอด
   2b. ปิดฝาที่มี SARS-CoV-2 UM Amp Buffer และ สีย้อม ROX แล้วพลิกกลับหลอด 3 ครั้ง
   2c. หมุนเหวี่ยง SARS-CoV-2 UM Amp Buffer ที่มี สีย้อม ROX ลงที่ก้นหลอด
3. สำหรับแผ่น RGQ MDx (72 หลุม) เตรียมส่วนผสมที่แบ่งส่วนย่อยของ SARS-CoV-2 Amp Primer กับ SARS-CoV-2 Internal Control
   3a. ถ่ายโอนปริมาตรที่ต้องการของ SARS-CoV-2 Amp Primers และ SARS-CoV-2 Internal Control ตาม ตารางที่ 1 ลงในหลอดใหม่ที่ไม่มี PCR ขนาด 1.5 mL
   3b. ปิดฝาแล้วกลับด้านหลอด 3 ครั้งหรือหมุนวนหลอดเป็นเวลา 3-5 วินาที
   3c. หมุนเหวี่ยง SARS-CoV-2 Amp Primers ที่มี IC ลงไปที่ก้นหลอด

ตารางที่ 1 SARS-CoV-2 Amp Primers + การตั้งค่าส่วนผสม IC

SARS-CoV-2 Amp Primers + IC การผสม IC				**ปริมาตรจำนวนปฏิกิริยา (µl)**
น้ำยา	**ความเข้มข้นของสต็อก**	**ความเข้มข้นขั้นสุดท้าย**	**1 rxn**	**72 rxns (ปริมาตรเพิ่มเติม +22%*)**
SARS-CoV-2 Amp Primers	3.45x	1x	7.25	638
SARS-CoV-2 Internal Control	166.67 cp/µl	10 cp/µl	1.5	132
รวม SARS-CoV-2 Amp Primers+ IC mix			8.75	770

* **หมายเหตุ**: ปรับปริมาณของ SARS-CoV-2 UM Amp Primer และ SARS-CoV-2 Internal Control ตามจำนวนตัวอย่างที่จะทดสอบ พิจารณาปริมาตรเพิ่มเติมเพื่อชดเชยปริมาตรที่ตายแล้ว

4. เตรียมส่วนผสมของปฏิกิริยาตาม ตารางที่ 2 และผสมให้เข้ากัน

ตารางที่ 2 การตั้งค่าส่วนผสมของปฏิกิริยา

ส่วนผสมของปฏิกิริยา RT-PCR				ปริมาตรจำนวนปฏิกิริยา (µl)
น้ำยา	**ความเข้มข้นของสต็อก**	**ความเข้มข้นขั้นสุดท้าย**	**1 rxn**	**72 rxns (ปริมาตรเพิ่มเติม +20%*)**
SARS-CoV-2 UM Amp buffer†	4x	1x	6.25	540
SARS-CoV-2 Amp Primers‡	2.9x	1x	8.75	756
ปริมาตรปฏิกิริยาทั้งหมด		–	15.00	1296

* **หมายเหตุ**: ปรับปริมาตรของ SARS-CoV-2 UM Amp Buffer และ SARS-CoV-2 Amp Primer ตามจำนวนตัวอย่างที่จะทดสอบ พิจารณาปริมาตรเพิ่มเติมเพื่อชดเชยปริมาตรที่ตายแล้ว

† SARS-CoV-2 UM Amp Buffer พร้อม พร้อมสีย้อมอ้างอิง ROX

‡ SARS-CoV-2 Amp Primers พร้อม SARS-CoV-2 Internal Control

5. จ่ายน้ำที่ปราศจากนิวคลีเอส 8 µl ไปยังหลอด PCR ที่กำหนดให้กับ NEC
6. ใส่น้ำที่ปราศจากนิวคลีเอส 10 µl ลงในหลอด PCR ที่กำหนดให้กับ NTC
7. จ่าย SARS-CoV-2 UM Prep Buffer 2 µlลงในหลอด PCR แต่ละหลอดที่กำหนดให้กับ NEC และตัวอย่างที่เตรียมไว้
8. เติมตัวอย่างที่เตรียมไว้ 8 µl ลงในหลอด PCR ที่มี SARS-CoV-2 UM Prep Buffer ผสมโดยปิเปตขึ้นและลง 5 ครั้ง
9. เติมส่วนผสมของปฏิกิริยาที่เตรียมไว้ในขั้นตอนที่ 4 ในปริมาณ 15 µl ลงในหลอดที่ใช้สำหรับตัวอย่างและการควบคุม (รูปที่ 2 ให้เป็นตัวอย่าง) ผสมโดยปิเปตขึ้นและลง 5 ครั้งจากนั้นปิดฝาหลอด PCR ยกเว้นหลอดที่เก็บไว้เป็น SARS-CoV-2 Positive Control

   หมายเหตุ: ตรวจสอบว่าหลอดปิดสนิทเพื่อป้องกันการปนเปื้อนข้าม
10. ใส่ SARS-CoV-2 Positive Control ปริมาณ 10 µl ลงในหลอด PCR ที่เหมาะสม ผสมโดยปิเปตขึ้นและลง 5 ครั้ง
11. ตั้งค่าโปรแกรม RT-PCR ของ RGQ MDx 5plex HRM ตามข้อกำหนดจำเพาะในตารางที่ 3

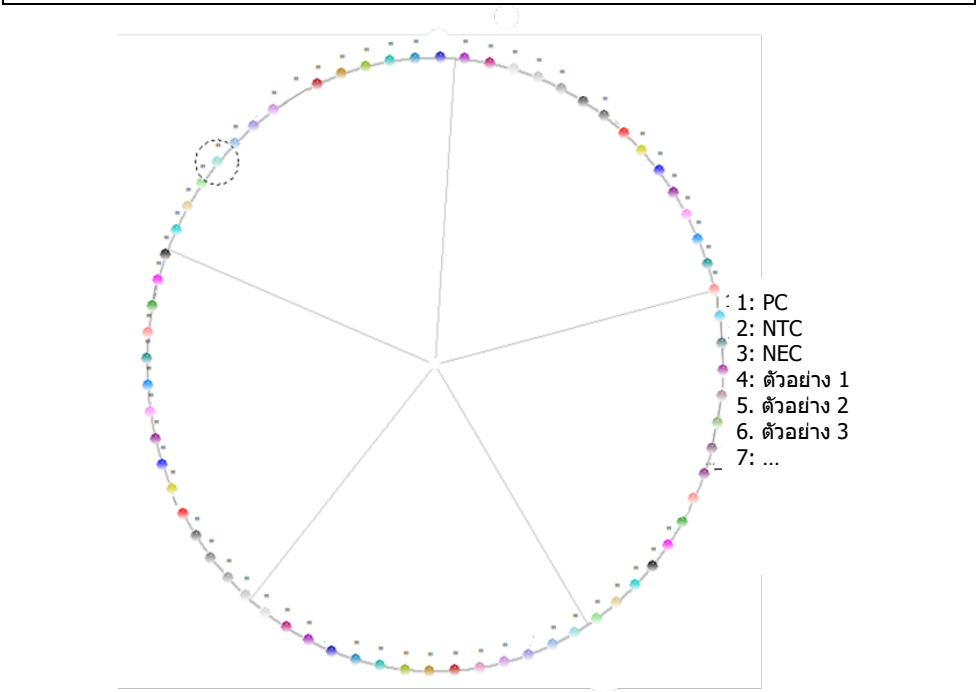
    หมายเหตุ: ควรดำเนินการรับข้อมูลในระหว่างขั้นตอนการจับ/การต่อลำดับ
12. วางหลอดใน cycler แบบเรียลไทม์ (ตัวอย่างของโครงร่างหลอดแสดงอยู่ใน รูปที่ 2) และเริ่มโปรแกรมการหมุนรอบตามที่อธิบายไว้ใน ตารางที่ 3

หมายเหตุ:

โปรดใช้ความระมัดระวังในการปฏิบัติตามตำแหน่งหลอดเดียวกันและลำดับระหว่างขั้นตอนการตั้งค่าการทดสอบและขั้นตอนการหมุนแบบเรียลไทม์

ตารางที่ 3 โปรแกรม SARS-CoV-2 Prep&Amp UM

ขั้นตอน	เวลา	อุณหภูมิ (°C)	จำนวนรอบ	การได้รับ
การถอดรหัสแบบย้อนกลับ	10 นาที	50	1	ไม่
การเปิดใช้งานความร้อนเริ่มต้นของ PCR	2 นาที	95	1	ไม่
การหมุนรอบ 2 ขั้นตอน				
การอบอ่อน/การขยายการทำให้เสียสภาพ	5 วินาที	95	40	ไม่
	30 วินาที	58		Green (FAM), Yellow (HEX) และ Red (Atto)



รูปที่ 2 ตัวอย่างโครงร่างหลอดบนแพลตฟอร์ม RGQ MDx 5plex HRM

13. คลิก **Gain optimization** (เพิ่มประสิทธิภาพ) ใน "New Run Wizard" (การดำเนินการใหม่ใน Wizard) และเปิด **Auto-gain Optimization Setup** (รับการตั้งค่าการเพิ่มประสิทธิภาพอัตโนมัติ)
14. ตรวจสอบว่าได้ตั้งค่าช่องทางการได้รับตามที่อธิบายไว้ใน ตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การกำหนดค่า RGQ MDx 5plex HRM

ชื่อ	ตำแหน่งหลอด PC	การอ่านขั้นต่ำ (FI)	การอ่านสูงสุด (FI)	การรับขั้นต่ำ	การรับสูงสุด
Green	1*	5 FI	10 FI	-10	10
Yellow	1*	5 FI	10 FI	-10	10
Red	1*	5 FI	10 FI	-10	10

* **หมายเหตุ**: สิ่งนี้จำเป็นต้องเปลี่ยนตามตำแหน่งหลอด SARS-CoV-2 Positive Control

15. เลือก **Perform optimization before the first acquisition**
    (ดำเนินการเพิ่มประสิทธิภาพก่อนการได้รับครั้งแรก)

16. เริ่มการดำเนินการ

17. ในตอนท้ายของการรัน ให้วิเคราะห์ผลลัพธ์ (ดูส่วน ผลลัพธ์)

เกณฑ์วิธี: การเตรียมตัวอย่างและการตรวจหา SARS-CoV-2 บน ABI 7500 Fast Dx

เกณฑ์วิธีนี้มีไว้สำหรับเตรียมและตรวจจับเป้าหมาย SARS-CoV-2 ใน swab ช่องจมูกหลังโพรงจมูกหรือช่องปากที่จัดเก็บไว้ในภาชนะเก็บสิ่งส่งตรวจ บนเครื่องมือ ABI 7500 Fast Dx qPCR

จุดสำคัญก่อนเริ่มงาน

- **ตรวจสอบว่ามีการปฏิบัติตามวันหมดอายุและสภาวะการจัดเก็บที่พิมพ์บนกล่องและฉลากชิ้นส่วนประกอบทั้งหมด ห้ามใช้ชิ้นส่วนประกอบที่จัดเก็บอย่างไม่ถูกต้องหรือหมดอายุแล้ว**
- **ใช้อุปกรณ์ที่ได้รับการบำรุงรักษาและสอบเทียบมาตรฐานอย่างดี**
- **ให้ความใส่ใจเพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนของ RNAses ในระหว่างการทดลองและใช้อุปกรณ์พลาสติกที่ปราศจากนิวคลีเอส**
- **เมื่อใช้ ABI 7500 Fast Dx ต้องเติมสีย้อม ROX ลงในหลอดน้ำยาทดสอบ ก่อนใช้ครั้งแรก**

สิ่งที่ต้องทำก่อนเริ่มต้นการทำงาน

- **อาจเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องในระหว่างขั้นตอนการเตรียมและการตั้งค่าปฏิกิริยา แต่ขอแนะนำให้เก็บไว้บนน้ำแข็งหรือที่ 4°C บนตะแกรงทำความเย็น**
- **ต้องใช้สีย้อม ROX เมื่อใช้ ABI 7500 Fast Dx**
- **ต้องได้รับข้อมูลด้วยการตั้งค่าสีย้อม ROX แบบพาสซีฟ**
- **ก่อนใช้งาน ต้องปล่อยให้ SARS-CoV-2 UM Prep Buffer, SARS-CoV-2 UM Amp Buffer, SARS-CoV-2 Amp Primers, SARS-CoV-2 IC, น้ำสำหรับ NTC และ SARS-CoV-2 Positive Control ละลายทั่วถึงทั้งหมดที่อุณหูมิห้อง (15–25°C) เก็บหลอดไว้ที่อุณหภูมิห้องและป้องกันไม่ให้ถูกแสงจนกว่าจะใช้งาน**
- **ก่อนใช้งาน ให้ทำให้ SARS-CoV-2 UM Prep Buffer และ SARS-CoV-2 UM Amp Buffer เป็นเนื้อเดียวกันโดยกลับด้าน 2-3 ครั้ง (อย่าวน) ตามด้วยการหมุนอย่างรวดเร็ว รีเอเจนต์อื่น ๆ ทั้งหมดสามารถทำให้เป็นเนื้อเดียวกันได้โดยการหมุนวนของพัลส์เป็นเวลา 3-5 วินาทีหรือโดยการกลับด้าน 2-3 ครั้งตามด้วยการหมุนอย่างรวดเร็ว**
- **SARS-CoV-2 UM Prep Buffer ยับยั้ง RNAses ที่มีอยู่ในตัวอย่างทางคลินิกสำหรับขั้นตอนการตรวจจับ แต่ไม่ใช่วิธีการยับยั้งไวรัส ตัวอย่างทั้งหมดควรได้รับการปฏิบัติว่าอาจเป็นอันตราย**

- ตรวจสอบว่าเงื่อนไขการหมุนรอบของแพลตฟอร์ม qPCR เป็นไปตามที่ระบุในเกณฑ์วิธีนี้
- อาจมีการแบ่งส่วนย่อยน้ำยาเพื่อหลีกเลี่ยงการแช่แข็ง-ละลายหลายรอบ
- เตรียมส่วนผสมของปฏิกิริยาใหม่ (<2 h เพื่อเปิดแผ่น RT-PCR)
- เพื่อลดการปนเปื้อนให้น้อยที่สุด ตัวอย่างและการเตรียม RT-PCR ควรทำในโซนที่ต่างกัน

กระบวนการ

1. การเตรียมตัวอย่าง
   1a. หมุนวน swab ที่มีตัวอย่างแรง ๆ
   1b. แบ่งส่วนย่อยของตัวอย่าง 50-200 µl ลงในหลอดที่ปราศจาก PCR 1.5mL.
   1c. ทำขั้นตอนการให้ความร้อนที่ 70°C เป็นเวลา 10 นาทีบนเครื่องทำความร้อนแบบบล็อก ทำให้ตัวอย่างเย็นลงบนน้ำแข็งเป็นเวลาอย่างน้อย 5 นาทีจากนั้นเก็บตัวอย่างไว้บนน้ำแข็งหรือที่อุณหภูมิ 4°C
2. ในการใช้งานครั้งแรก ให้เติม SARS-CoV-2 UM Amp Buffer ด้วยสีย้อมอ้างอิง ROX
   2a. เติมสีย้อม ROX 32.8 µl ลงในหลอดของ SARS-CoV-2 UM Amp Buffer
   2b. ปิดฝาที่มี SARS-CoV-2 UM Amp Buffer และ สีย้อม ROX แล้วพลิกกลับหลอด 3 ครั้ง
   2c. หมุนเหวี่ยง SARS-CoV-2 UM Amp Buffer ที่มี สีย้อม ROX ลงที่ก้นหลอด
3. สำหรับ แผ่น ABI 7500 Fast Dx (96 หลุม) เต็ม เตรียมส่วนผสมที่แบ่งย่อยของ SARS-CoV-2 Amp Primers ร่วมกับ SARS-CoV-2 Internal Control
   3a. ถ่ายโอนปริมาตร SARS-CoV-2 Amp Primers และ SARS-CoV-2 Internal Control ที่ต้องการตาม ตารางที่ 5 ลงในหลอดใหม่ที่ปราศจาก PCR ขนาด 1.5 mL
   3b. ปิดฝาแล้วกลับด้านหลอด 3 ครั้งหรือหมุนวนหลอดเป็นเวลา 3-5 วินาที
   3c. หมุน SARS-CoV-2 Amp Primer ที่มี IC เพื่อนำสารละลายไปยัง ก้นหลอด

ตารางที่ 5 SARS-CoV-2 Amp Primers + การตั้งค่าส่วนผสม IC

SARS-CoV-2 Amp Primers + IC mix				**ปริมาตรจำนวนปฏิกิริยา (µl)**
น้ำยา	**ความเข้มข้นของสต็อก**	**ความเข้มข้นขั้นสุดท้าย**	**1 rxn**	**96 rxns (ปริมาตรเพิ่มเติม + 21%*)**
SARS-CoV-2 Amp Primers	3.45x	1x	7.25	841
SARS-CoV-2 Internal Control	166.67 cp/µl	10 cp/µl	1.5	174
รวม SARS-CoV-2 Amp Primers+ IC mix			8.75	1015

* **หมายเหตุ**: ปรับปริมาณของ SARS-CoV-2 UM Amp Primer และ SARS-CoV-2 Internal Control ตามจำนวนตัวอย่างที่จะทดสอบ พิจารณาปริมาตรเพิ่มเติมเพื่อชดเชยปริมาตรที่ตายแล้ว

4. เตรียมส่วนผสมของปฏิกิริยาตาม ตารางที่ 6 และผสมให้เข้ากัน

ตารางที่ 6 การตั้งค่าส่วนผสมของปฏิกิริยา

ส่วนผสมของปฏิกิริยา RT-PCR				ปริมาตรจำนวนปฏิกิริยา (µl)
น้ำยา	**ความเข้มข้นของสต็อก**	**ความเข้มข้นขั้นสุดท้าย**	**1 rxn**	**96 rxns (ปริมาตรเพิ่มเติม +20%*)**
SARS-CoV-2 UM Amp buffer†	4x	1x	6.25	720
SARS-CoV-2 Amp Primers‡	2.9x	1x	8.75	1008
ปริมาตรปฏิกิริยาทั้งหมด		–	15.00	1728

* **หมายเหตุ**: ปรับปริมาตรของ SARS-CoV-2 UM Amp Buffer และ SARS-CoV-2 Amp Primers ตามจำนวนตัวอย่างที่จะทดสอบ พิจารณาปริมาตรเพิ่มเติมเพื่อชดเชยปริมาตรที่ตายแล้ว

† SARS-CoV-2 UM Amp Buffer พร้อม พร้อมสีย้อมอ้างอิง ROX

‡ SARS-CoV-2 Amp Primers พร้อม SARS-CoV-2 Internal Control

5. จ่ายน้ำที่ปราศจากนิวคลีเอส 8 µl ไปยังหลุมที่ได้กำหนดให้ NEC
6. บรรจุ น้ำที่ปราศจากนิวคลีเอส 10 µl ลงในหลุมที่กำหนดให้ NTC
7. จ่าย SARS-CoV-2 UM Prep Buffer 2 µl ในแต่ละหลุมที่กำหนดให้กับ NEC และตัวอย่างที่เตรียมไว้
8. เติมตัวอย่างที่เตรียมไว้ 8 µl ลงในหลุมที่มี SARS-CoV-2 UM Prep Buffer ผสมโดยปิเปตขึ้นและลง 5 ครั้ง
9. เติมส่วนผสมของปฏิกิริยาที่เตรียมไว้ในขั้นตอนที่ 4 15 µl ลงในหลุมสำหรับตัวอย่างและตัวควบคุม (ดูตัวอย่างบน รูปที่ 3) ผสมโดยปิเปตขึ้นและลง 5 ครั้ง
10. บรรจุ SARS-CoV-2 Positive Control 10 µl ลงในหลุมที่เหมาะสม ผสมโดยปิเปตขึ้นและลง 5 ครั้ง
11. ปิดผนึกแผ่น PCR ให้ดีเพื่อป้องกันการปนเปื้อนข้าม ตรวจสอบให้แน่ใจว่าได้ใช้แรงกดอย่างสม่ำเสมอทั่วทั้งแผ่นเพื่อให้ได้การปิดผนึกที่แน่นหนาในแต่ละหลุม
12. หมุนเหวี่ยงแผ่น PCR สั้น ๆ เพื่อรวบรวมของเหลวที่ก้นหลุม
13. ตั้งโปรแกรม RT-PCR ในโหมดรัน "Standard 7500" ของ ABI 7500 Fast Dx ตาม ตารางที่ 7

    หมายเหตุ: ควรดำเนินการรับข้อมูลในระหว่างขั้นตอนการจับ/การต่อลำดับ

    หมายเหตุ: โปรดดูที่ *คำแนะนำสำหรับการใช้งาน ABI 7500 Fast Dx* สำหรับรายละเอียดเพิ่มเติม

14. วางเพลทใน cycler แบบเรียลไทม์ (ตัวอย่างของโครงร่างเพลท PCR แสดงอยู่ใน รูปที่ 3) และเริ่มโปรแกรมการหมุนตามที่อธิบายไว้ใน ตารางที่ 7
15. เลือกหลุมที่ใช้และใช้ผู้รายงาน FAM, VIC และ Cy5 ต้องได้รับข้อมูลด้วยสีย้อม ROX แบบพาสซีฟ **ON**
16. ตรวจสอบว่ากราฟมาตรฐานของ ABI 7500 Fast Dx ถูกกำหนดค่าเป็นปริมาณสัมบูรณ์
17. เริ่มการดำเนินการ
18. ในตอนท้ายของการรัน ให้วิเคราะห์ผลลัพธ์ (ดูส่วน ผลลัพธ์)

ตารางที่ 7 โปรแกรม SARS-CoV-2 Prep&Amp UM

ขั้นตอน	เวลา	อุณหภูมิ (°C)	จำนวนรอบ	การได้รับ
การถอดรหัสแบบย้อนกลับ	10 นาที	50	1	ไม่
การเปิดใช้งานความร้อนเริ่มต้นของ PCR	2 นาที	95	1	ไม่
การหมุนรอบ 2 ขั้นตอน				
การอบอ่อน/การขยายการทำให้เสียสภาพ	5 วินาที	95	40	ไม่
	30 วินาที	58		Green (FAM), Yellow (VIC) และ Red (Cy5)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	PC											
B	NTC											
C	NEC											
D	Sample 1											
E	Sample 2											
F	Sample 3											
G	...											
H												

รูปที่ 3 ตัวอย่างเค้าโครงแผ่นบน ABI 7500 Fast Dx

ผลลัพธ์

ใน RGQ MDx 5plex HRM ข้อมูลจะถูกวิเคราะห์ด้วยซอฟต์แวร์ Rotor-Gene Q เวอร์ชัน 2.3.1 (หรือสูงกว่า) ตามคำแนะนำของผู้ผลิต (คู่มือผู้ใช้ Rotor-Gene Q MDx, ฉบับแก้ไข 7, กันยายน 2018) จำเป็นต้องใช้พารามิเตอร์การวิเคราะห์ต่อไปนี้เพื่อความสอดคล้องระหว่างการวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 พารามิเตอร์การวิเคราะห์สำหรับ RGQ MDx 5plex HRM

ช่อง	Green	Red	Yellow
เกณฑ์การเรืองแสง	0.03	0.03	0.03
การแก้ไขความลาดชัน	ใช่	ใช่	ใช่
หลอดไดนามิก	ใช่	ใช่	ใช่
จุด Take-off	ไม่	10-20	10-20
การกำจัดค่าผิดปกติ: เกณฑ์ประสิทธิภาพของปฏิกิริยา	ใช่ เปิดใช้งาน 0%	ไม่	ไม่
รอบการเริ่มต้นที่ครอบตัด	5	5	5
รอบ Cut-off	Ct >38.00 คิดเป็น 40.00	ไม่	Ct >35.00 คิดเป็น 40.00

ในซอฟต์แวร์ RGQ ผลลัพธ์การดำเนินการจะพร้อมใช้งานในตารางผลลัพธ์เชิงปริมาณที่เปิดระหว่างการวิเคราะห์ ข้อมูลจากตัวอย่างที่เลือกจะสรุปไว้ในตารางและสามารถส่งออกเป็นไฟล์ Excel® ได้โดยคลิกขวาที่ปุ่มเมาส์ในตารางแล้วเลือก Export to Excel (ส่งออกไปยัง Excel) ตรวจสอบให้แน่ใจว่าได้เลือกตัวอย่างทั้งหมดก่อนที่จะส่งออกผลลัพธ์

ใน ABI ข้อมูลจะถูกวิเคราะห์ด้วยซอฟต์แวร์ 7500 Fast System เวอร์ชัน 1.4.1 (หรือสูงกว่า) ตามคำแนะนำของผู้ผลิต
จำเป็นต้องใช้พารามิเตอร์ต่อไปนี้เพื่อความสอดคล้องระหว่างการวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 พารามิเตอร์การวิเคราะห์สำหรับ ABI 7500 Fast Dx

ช่อง	FAM*	VIC/HEX*	Cy5/Atto*
สีย้อมแบบพาสซีฟ	ROX	ROX	ROX
เกณฑ์การเรืองแสง	0.13	0.05	0.025
ชุดพื้นฐาน	อัตโนมัติ	อัตโนมัติ	อัตโนมัติ
รอบ Cut-off	Ct >39.00 คิดเป็น 40.00	ไม่	Ct >35.00 คิดเป็น 40.00

* FAM = ตัวกรอง A/1 ในแพลตฟอร์ม ABI, VIC/HEX = ตัวกรอง B/2 ในแพลตฟอร์ม ABI, Cy5/Atto = ตัวกรอง E/5 ในแพลตฟอร์ม ABI

ในซอฟต์แวร์ ABI SDS ค่า Ct ของกลุ่มหลุมที่เลือกหรือทั้งแผ่นจะมีอยู่ในแผ่น **Report** (รายงาน) ของส่วนหลักของ **Results** (ผลลัพธ์) ข้อมูลสามารถส่งออกในรูปแบบ (.csv) ข้อความค่าที่คั่นด้วยเครื่องหมายจุลภาค (แนะนำ): ในหน้าต่างซอฟต์แวร์ SDS ให้เลือก **File** (ไฟล์) > **Export** (ส่งออก) > **Results** (ผลลัพธ์) (รายการเมนู **Ct** ยังสามารถเลือกได้) เลือกรูปแบบของไฟล์ที่ส่งออกเป็น .csv

การแปลผลลัพธ์

ตัวควบคุมเชิงบวก (Positive Control, PC), ยีน N1 และ N2 ถูกตรวจพบในช่องเรืองแสง Green ด้วย RGQ MDx 5plex HRM (หรือในช่องเรืองแสง FAM บน ABI)

การควบคุมการสุ่มตัวอย่างซึ่งประกอบด้วย RNAse P ถูกตรวจพบใน ช่องสารเรืองแสง Yellow ด้วย RGQ MDx 5plex HRM (หรือในสารเรืองแสง VIC/HEX พร้อม ABI) ทุกตัวอย่างทางคลินิกควรแสดงการเพิ่มขยายการควบคุมการสุ่มตัวอย่าง ใน PC อาจเห็นการเพิ่มขยายสีเหลืองแม้ว่าจะไม่มีลำดับของมนุษย์ก็ตาม ในกรณีนี้ สัญญาณในช่องสัญญาณสีเหลืองของ PC อาจถูกละเว้นเนื่องจากสัญญาณเรืองแสงที่รุนแรงในช่องสีเขียวอาจกระจายในช่องสีเหลือง

ตัวควบคุมภายใน (Internal Control, IC) รวมอยู่ใน SARS-CoV-2 Amp Primers มีการตรวจพบในตัวควบคุมแบบไม่มีเทมเพลต (No Template Control, NTC), ตัวควบคุมแบบไม่มีการสกัด (No Extraction Control, NEC), ตัวควบคุมเชิงบวก (Positive Control, PC) และตัวอย่างทางคลินิกที่มีช่องเรืองแสง Red ที่มี RGQ MDx 5plex HRM (หรือในช่องเรืองแสง Cy5/Atto พร้อมด้วย ABI)

ในการตรวจสอบความถูกต้องของการรัน RT-PCR จะต้องมีการขยายและตรวจจับตัวควบคุม PC, NTC และ NEC ตามที่คาด

ตารางที่ 10 คำเนินการเกณฑ์ความถูกต้องและการแปลผลลัพธ์สำหรับ RGQ MDx 5plex HRM

ตัวควบคุม	การตรวจจับในช่อง Green	การตรวจจับในช่อง Yellow	การตรวจจับในช่อง Red	การแปลผล
ตัวควบคุมที่เป็นบวก (Positive Control, PC)	Ct ≤ 38.00	คงเฉย	คงเฉย	การรันได้รับการตรวจสอบ
	Ct > 38.00 หรือ No Ct	คงเฉย	คงเฉย	การรันไม่ถูกต้อง
ตัวควบคุมแบบไม่มีเทมเพลต (No Template Control, NTC) หรือ	Ct > 38.00 หรือ No Ct	Ct > 35.00 หรือ No Ct	ใช่	การรันได้รับการตรวจสอบ
ตัวควบคุมแบบไม่มีการสกัด (No Extraction Control, NEC)	ชุดค่าผสมอื่น ๆ ที่มีการเพิ่มขยายเป็นสีเขียวหรือสีเหลือง		คงเฉย	การรันไม่ถูกต้อง

ตารางที่ 11 ดำเนินการใช้เกณฑ์ความถูกต้องและการแปลความผลลัพธ์สำหรับ ABI 7500 Fast Dx

ตัวควบคุม	การตรวจจับในสีย้อม FAM*	การตรวจจับในสีย้อม VIC/HEX*	การตรวจจับในสีย้อม Cy5/Atto*	การแปลผล
ตัวควบคุมที่เป็นบวก (Positive Control, PC)	Ct ≤ 39.00	คงเฉย	คงเฉย	การรันได้รับการตรวจสอบ
	Ct > 39.00 หรือ No Ct	คงเฉย	คงเฉย	การรันไม่ถูกต้อง
ตัวควบคุมแบบไม่มีเทมเพชต (No Template Control, NTC) หรือ	Ct > 39.00 หรือ No Ct	C t> 35.00 หรือ No Ct	ใช่	การรันได้รับการตรวจสอบ
ตัวควบคุมแบบไม่มีการสกัด (No Extraction Control, NEC)	ชุดค่าผสมอื่น ๆ ที่มีการขยายใน FAM หรือ VIC/HEX		คงเฉย	การรันไม่ถูกต้อง

* FAM = ตัวกรอง A/1 ในแพลตฟอร์ม ABI, VIC/HEX = ตัวกรอง B/2 ในแพลตฟอร์ม ABI, Cy5/Atto = ตัวกรอง E/5 ในแพลตฟอร์ม ABI

ในการตรวจสอบความถูกต้องของตัวอย่างที่ทดสอบ จะต้องเพิ่มขยายและตรวจจับตัวอย่างตามที่คาดไว้

ตารางที่ 12 เกณฑ์ความถูกต้องของตัวอย่างและการแปลผลลัพธ์สำหรับ RGQ MDx 5plex HRM

การตรวจจับในช่อง Green	การตรวจจับในช่อง Yellow	การตรวจจับในช่อง Red	การแปลผล
Ct ≤ 38.00	คงเฉย	คงเฉย	ตัวอย่างเป็นบวกสำหรับ SARS-CoV-2 RNA
Ct > 38.00 หรือ No Ct	Ct ≤ 35.00	คงเฉย	ตัวอย่างเป็นลบ ตรวจไม่พบ SARS-CoV-2 RNA
Ct > 38.00 หรือ No Ct	Ct > 35.00 หรือ No Ct	ใช่	ตัวอย่างไม่ถูกต้อง ตรวจไม่พบวัสดุของมนุษย์หรือไม่เพียงพอ -ต้องมีการสุ่มตัวอย่างใ
Ct > 38.00 หรือ No Ct	Ct > 35.00 หรือ No Ct	ไม่	ตัวอย่างไม่ถูกต้อง ปฏิกิริยา RT-qPCR ถูกยับยั้ง จำเป็นต้องมีการทดสอบซ้ำ

ตารางที่ 13 เกณฑ์ความถูกต้องของตัวอย่างและการแปลผลผลลัพธ์สำหรับ ABI 7500 Fast Dx

การตรวจจับในสีย้อม FAM*	การตรวจจับในสีย้อม VIC/HEX*	การตรวจจับในสีย้อม Cy5/Atto*	การแปลผล
Ct ≤ 39.00	คงเฉย	คงเฉย	ตัวอย่างเป็นบวก
Ct > 39.00 หรือ No Ct	Ct ≤ 35.00	คงเฉย	ตัวอย่างเป็นลบ ตรวจไม่พบ SARS-CoV-2
Ct > 39.00 หรือ No Ct	Ct > 35.00 หรือ No Ct	ใช่	ตัวอย่างไม่ถูกต้อง ตรวจไม่พบวัสดุของมนุษย์ -ต้องมีการสุ่มตัวอย่างใหม่
Ct > 39.00 หรือ No Ct	Ct > 35.00 หรือ No Ct	ไม่	ตัวอย่างไม่ถูกต้อง ปฏิกิริยา RT-qPCR ถูกยับยั้ง จำเป็นต้องมีการทดสอบซ้ำ

** FAM = ตัวกรอง A/1 ในแพลตฟอร์ม ABI, VIC/HEX = ตัวกรอง B/2 ในแพลตฟอร์ม ABI, Cy5/Atto = ตัวกรอง E/5 ในแพลตฟอร์ม ABI*

ข้อจำกัด

- สำหรับการใช้งานวินิจฉัย *ในหลอดทดลอง* เท่านั้น
- ผลลัพธ์จาก *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit ไม่ได้มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เป็นพื้นฐานเดียวสำหรับการวินิจฉัย การรักษาหรือการตัดสินใจในการจัดการผู้ป่วยอื่น ๆ ผลลัพธ์ที่เป็นลบไม่ได้ป้องกันการติดเชื้อ SARS-CoV-2 และไม่ควรเป็นพื้นฐานเดียวของการตัดสินใจในการรักษาผู้ป่วย
- ผลิตภัณฑ์จะต้องได้รับการใช้งานโดยบุคลากรที่ได้รับคำแนะนำหรือผ่านการฝึกอบรมเป็นพิเศษในกระบวนการวินิจฉัย *ในหลอดทดลอง*เท่านั้น
- ต้องปฏิบัติตามอย่างเคร่งครัดตามคู่มือผู้ใช้ของแพลตฟอร์ม qPCR (Rotor-Gene Q 5-plex HRM MDx หรือ ABI 7500 Fast Dx) เพื่อผลลัพธ์ PCR ที่ดีที่สุด
- ต้องใส่ใจในเรื่องวันหมดอายุที่พิมพ์อยู่บนกล่องและฉลากของชิ้นส่วนประกอบทั้งหมด ห้ามใช้ชิ้นส่วนประกอบที่หมดอายุแล้ว

การดำเนินการ

ความไวในการวิเคราะห์ (ขีดจำกัดของการตรวจจับ)

ความไวในการวิเคราะห์หรือขีดจำกัดในการตรวจจับถูกกำหนดให้เป็นความเข้มข้นต่ำสุด ≥95% ของตัวอย่างที่ทดสอบสร้างสัญญาณบวก

LoD
ได้รับการประเมินโดยการวิเคราะห์การเจือจางแบบอนุกรมของตัวอย่างหลังโพรงจมูกที่เป็นลบที่เตรียมด้วยสต็อกอนุภาคไวรัสที่ไม่มีฤทธิ์ที่มีค่าไตเตอร์สูงซึ่งได้รับจากซัพพลายเออร์เชิงพาณิชย์ (ZeptoMetrix®). เพื่อยืนยันความเข้มข้นของ LoD ที่กำหนดขึ้น อัตราการตรวจจับของการทำซ้ำทั้งหมดต้องเป็น ≥95% (การทำซ้ำอย่างน้อย 19/20 ต้องสร้างสัญญาณบวก) มีการยืนยันความเข้มข้นของ LoD บนแพลตฟอร์มของ real-time PCR ที่มีการอ้างถึงซึ่งใช้ชุดน้ำยาสำหรับการทดสอบที่แตกต่างกันสองชุดบนทั้งสองแพลตฟอร์ม

ขีดจำกัดการตรวจหาอ้างถึงไว้สำหรับแพลตฟอร์มของ real-time PCR ทั้งคู่ สำหรับ artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit อยู่ที่ 950 cp/ml

การศึกษาความจำเพาะเชิงวิเคราะห์ (การรวมและความเฉพาะตัว/การเกิดปฏิกิริยาข้าม)

การรวม

การรวมของ *artus* SARS-CoV-2 Amp Primers และ Probes ได้รับการประเมินด้วยการวิเคราะห์ความเป็นพิษของสารเคมี *ในโปรแกรมคอมพิวเตอร์*เกี่ยวกับลำดับที่มีอยู่ในฐานข้อมูล GISAID (www.gisaid.org**) มีการวิเคราะห์ลำดับพันธุกรรมรวมทั้งสิ้น 722,488 ลำดับ (ที่มีอยู่ ณ วันที่ 23 มี.ค. 2021) บน COVID CG (**https://covidcg.org**), ตามการจัดเรียงโดยข้อมูลอภิพันธุ์ของ GISAID ลำดับถูกจัดให้สอดคล้องกับ ลำดับการอ้างอิง WIV04 (เหมือนกับ Wuhan-Hu-1 /NC_045512.2100% ยกเว้นความยาวของหางโพลี-A) และรูปแบบนิวคลีโอไทด์เดี่ยว (Single Nucleotide Variations, SNVs) ได้รับการวิเคราะห์ในบริเวณจีโนมที่กำหนดเป้าหมายโดย *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit Primer และ Probe ความชุกของ SNV ที่ระบุอยู่ต่ำกว่า 1% เช่นเดียวกับความถี่ของ -การกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นพร้อมกัน ไม่มี SNV ที่อยู่ที่ 1 ถึง 3**

นิวคลีโอไทด์สุดท้ายจากปลาย 3' ในโอลิโกนิวคลีโอไทด์ตามลำดับซึ่งคาดว่าจะส่งผลต่อประสิทธิภาพ *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit ได้รับการพิจารณาว่าสามารถตรวจจับลำดับที่เผยแพร่ได้ 100%

ความเฉพาะตัว/การเกิดปฏิกิริยาข้าม

<u>การวิเคราะห์ *ในโปรแกรมคอมพิวเตอร์*</u>

ความพิเศษของ *artus* SARS-CoV-2 Amp Primer และ Probe ได้รับการประเมินด้วยการวิเคราะห์ *ในโปรแกรมคอมพิวเตอร์* ตามลำดับที่จัดเก็บในฐานข้อมูล NCBI การวิเคราะห์ *ในโปรแกรมคอมพิวเตอร์* พบว่าเชื้อโรคที่ผ่านการทดสอบบางชนิดมีความคล้ายคลึงกันมากกว่า 80% กับหนึ่งใน *artus* SARS-CoV-2 primer หรือ probe ในจำนวนนี้ ได้แก่ *Candida albicans*, SARS-CoV-1, *Streptococcus pyogenes* และ *Streptococcus salivarius Pseudomonas aeruginosa* มีความคล้ายคลึงกันน้อยกว่า 80% ด้วยไพรเมอร์/โพรบตัวใดตัวหนึ่งของการทดสอบ SARS-CoV-2 อย่างไรก็ตาม*artus* SARS-CoV-2 Amp Primers และ Probes ไม่พบการขยายที่เป็นไปได้ด้วยลำดับต่าง ๆ ที่จัดเก็บไว้ในฐานข้อมูล NCBI nr/nt

มีการวิเคราะห์สายพันธุ์แบคทีเรีย ไวรัสและเชื้อรารวม 36 สายพันธุ์ *ในโปรแกรมคอมพิวเตอร์* PCR ที่มีขนาดแอมปลิคอนที่มีศักยภาพจำกัด 500 bp ลำดับของเชื้อโรคถูกรวบรวมจากฐานข้อมูล NCBI อย่างไรก็ตามไม่มีเชื้อโรคเหล่านี้แสดงการขยาย *ในโปรแกรมคอมพิวเตอร์*

ตารางที่ 14 รายการของเชื้อโรคที่มีการทดสอบ *ในโปรแกรมคอมพิวเตอร์*

เชื้อโรค	สายพันธุ์/ประเภท	รหัสการจัดหมวดหมู่	*ผลลัพธ์ PCR* ในโปรแกรมคอมพิวเตอร์
Adenovirus ชนิด 3	ชนิด 3	45659	ไม่ตรงกัน
Adenovirus ชนิด 4	ชนิด 4	28280	ไม่ตรงกัน
Adenovirus ชนิด 5	ชนิด 5	28285	ไม่ตรงกัน
Adenovirus ชนิด 7A	ชนิด 7A	85755	ไม่ตรงกัน
Adenovirus ชนิด 14	ชนิด 14	10521	ไม่ตรงกัน
Adenovirus ชนิด 31	ชนิด 31	10529	ไม่ตรงกัน
Bordetella pertussis	A639	520	ไม่ตรงกัน
Candida albicans	Z006 SC5314	5476	ไม่สามารถขยายได้*†
Chlamydia pneumoniae	CWL-029 TW-183	115713	ไม่ตรงกัน
เอนเทอโรไวรัส	ชนิด 68	42789	ไม่ตรงกัน

* การจับคู่ลำดับกับไพรเมอร์/โพรบตัวใดตัวหนึ่งแสดงให้เห็นความคล้ายคลึงกัน <80%

† การจับคู่ลำดับกับไพรเมอร์/โพรบตัวใดตัวหนึ่งแสดงให้เห็นความคล้ายคลึงกัน ≥80%

(มีต่อในหน้าถัดไป)

ตารางที่ 14 (ต่อจากหน้าที่แล้ว)

เชื้อโรค	สายพันธุ์/ประเภท	รหัสการจัดหมวดหมู่	*ผลลัพธ์ PCR* ในโปรแกรมคอมพิวเตอร์
Haemophilus influenzae	KW20	727	ไม่ตรงกัน
Human coronavirus	229E	11137	ไม่ตรงกัน
Human coronavirus	NL63	277944	ไม่ตรงกัน
Human coronavirus	HKU-1	290028	ไม่ตรงกัน
Human coronavirus OC43	OC43	31631	ไม่ตรงกัน
Human coronavirus	MERS-CoV	1335626	ไม่ตรงกัน
Human Metapneumovirus	ไม่มี	162145	ไม่ตรงกัน
ไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ A	H1N1	114727	ไม่ตรงกัน
ไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ A	H3N2	119210	ไม่ตรงกัน
ไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ B	ไม่มี	11520	ไม่ตรงกัน
Mycoplasma pneumoniae	M129 FH	272634	ไม่ตรงกัน
Parainfluenza virus	ชนิด 1	12730	ไม่ตรงกัน
Parainfluenza virus	ชนิด 2	2560525	ไม่ตรงกัน
Parainfluenza virus	ชนิด 3	11216	ไม่ตรงกัน
Parainfluenza virus	ชนิด 4	2560526	ไม่ตรงกัน
Pneumocystis jirovecii	RU7	42068	ไม่ตรงกัน
Pseudomonas aeruginosa	PAO1	287	ไม่สามารถขยายได้*
Respiratory syncytial virus	ชนิด A (RSV-A)	208893	ไม่ตรงกัน
Respiratory syncytial virus	ชนิด B (RSV-B)	208895	ไม่ตรงกัน
ไรโนไวรัส	ชนิด A	147711	ไม่ตรงกัน
ไรโนไวรัส	ชนิด B	147712	ไม่ตรงกัน
SARS-coronavirus	Tor2	694009	ไม่สามารถขยายได้†
Staphylococcus epidermidis	ไม่มี	1282	ไม่ตรงกัน
Streptococcus pyogenes	ไม่มี	1314	ไม่สามารถขยายได้†
Streptococcus salivarius	ATCC® BAA-1024D-5 CCHSS3	1304	ไม่สามารถขยายได้†
Streptococcus pneumoniae	ATCC 700669 NCTC11032	1313	ไม่ตรงกัน

* การจับคู่ลำดับกับไพรเมอร์/โพรบตัวใดตัวหนึ่งแสดงให้เห็นความคล้ายคลึงกัน <80%

† การจับคู่ลำดับกับไพรเมอร์/โพรบตัวใดตัวหนึ่งแสดงให้เห็นความคล้ายคลึงกัน ≥80%

***การวิเคราะห์* ในหลอดทดลอง**

การทำปฏิกิริยาข้ามได้รับการตรวจสอบในหลอดทดลองโดยมีเชื้อโรคที่แสดงความคล้ายคลึงกัน ≥ 80% ด้วย SARS-CoV-2 Amp Primer ในการวิเคราะห์ในโปรแกรมคอมพิวเตอร์ ตัวอย่างถูกเตรียมโดยการเพิ่มจำนวนเชื้อโรคที่มีปฏิกิริยาข้ามเข้าไปในเมทริกซ์ swab หลังโพรงจมูกที่ 10^6 cp/ml ยกเว้นสำหรับ SARS-CoV-1 ซึ่งผ่านการทดสอบโดยไม่เจือปนตามคำแนะนำของซัพพลายเออร์ ไม่มีเชื้อโรคเหล่านี้แสดงให้เห็นว่ามีปฏิกิริยาข้ามในหลอดทดลอง

การรบกวนของจุลินทรีย์ *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit ได้รับการประเมินในหลอดทดลองจากกลุ่มเชื้อโรคที่แนะนำ ตัวอย่างถูกเตรียมโดยการเพิ่มปริมาณเชื้อโรคสูงสุด 5 ตัว - ที่ 105 TCID50/mL สำหรับเป้าหมายของไวรัส 10^6 cp/mL สำหรับเป้าหมายของแบคทีเรียและเชื้อราหรือที่ความเข้มข้นสูงสุดที่เป็นไปได้ตามความเข้มข้นของสต็อก - ลงใน swab หลังโพรงจมูกที่เป็นลบซึ่งเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วที่ 2.87 x LoD ด้วยอนุภาค SARS-CoV-2 ที่ไม่มีฤทธิ์ (Zeptometrix) อุปกรณ์ NATtrol™ และ SARS-CoV-1 ถูกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วโดยตรงด้วยอนุภาคไวรัส SARS-CoV-2 (Zeptometrix) ที่ไม่มีฤทธิ์ที่ 2.87 x LoD ผลลัพธ์สำหรับกลุ่มจุลินทรีย์ที่ผ่านการทดสอบแต่ละกลุ่มและความเข้มข้นตามลำดับสรุปได้ดังนี้

ตารางที่ 15 รายการเชื้อโรคที่ผ่านการทดสอบ *ในหลอดทดลอง* ในการรบกวนของจุลินทรีย์

รหัสกลุ่ม / รหัสตัวอย่าง	จุลินทรีย์	แหล่งที่มา	ความเข้มข้นขั้นสุดท้าย	หน่วย	ผลลัพธ์
กลุ่ม 1	SARS-CoV-2	Zeptometrix (NATSARS (COV2) - ERC)	2.72E+03	cp/ml	ไม่มีการรบกวน
	Human coronavirus 229E	Zeptometrix (0810229CFHI)	1.43E+05	TCID50/ml	
	Human coronavirus OC43	Zeptometrix (0810024CFHI)	5.86E+04	TCID50/ml	
	Human coronavirus NL63	Zeptometrix (0810228CFHI)	2.84E+04	TCID50/ml	
	Adenovirus T3	Zeptometrix (0810016CFHI)	1.43E+05	TCID50/ml	
	Parainfluenza virus 1	Zeptometrix (0810014CFHI)	9.14E+06	TCID50/ml	
กลุ่ม 2	SARS-CoV-2	Zeptometrix (NATSARS (COV2) - ERC)	2.72E+03	cp/ml	ไม่มีการรบกวน
	Adenovirus T31	Zeptometrix (0810073CFHI)	1.67E+04	TCID50/ml	
	Parainfluenza virus 2	Zeptometrix (0810015CFHI)	4.29E+04	TCID50/ml	
	ไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ B ฟลอริดา/02/2006	Zeptometrix (0810037CFHI)	1.43E+05	TCID50/ml	
	Rhinovirus T 1A	Zeptometrix (0810012CFNHI)	2.86E+04	TCID50/ml	

(มีต่อในหน้าถัดไป)

ตารางที่ 15 (ต่อจากหน้าที่แล้ว)

รหัสกลุ่ม / รหัสตัวอย่าง	จุลินทรีย์	แหล่งที่มา	ความเข้มข้นขั้นสุดท้าย	หน่วย	ผลลัพธ์
กลุ่ม 3	SARS-CoV-2	Zeptometrix (NATSARS (COV2) -ERC)	2.72E+03	cp/ml	ไม่มีการรบกวน
	Parainfluenza Virus T3	Zeptometrix (0810016CFHI)	1.43E+07	TCID50/ml	
	Haemophilus influenzae	ATCC (51907D-5)	1.00E+06	CFU/ml	
	Streptococcus pneumoniae	ATCC (700669DQ)	3.30E+06	CFU/ml	
	Candida albicans	Zeptometrix (0801504DNA)	1.00E+06	CFU/ml	
	Staphylococcus epidermidis	ATCC (12228DQ)	4.60E+06	CFU/ml	
กลุ่ม 4	SARS-CoV-2	Zeptometrix (NATSARS (COV2) -ERC)	2.73E+03	cp/ml	ไม่มีการรบกวน
	Adenovirus T7A	Zeptometrix (0810021CFHI)	1.02E+06	TCID50/ml	
	Streptococcus pyogenes	ATCC (700294DQ)	1.00E+07	CFU/ml	
	Mycoplasma pneumoniae	Zeptometrix (0801579DNA)	1.00E+08	CFU/ml	
	Pseudomonas aeruginosa	ATCC (47085DQ)	1.00E+07	CFU/ml	
กลุ่ม 5	SARS-CoV-2	Zeptometrix (NATSARS (COV2) -ERC)	2.72E+03	cp/ml	ไม่มีการรบกวน
	Respiratory syncytial virus RSVA	Zeptometrix (0810482CFHI)	7.14E+04	TCID50/ml	
	ไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ A H1N1 แคลิฟอร์เนีย	Zeptometrix (0810165CFHI)	1.43E+04	TCID50/ml	
	Enterovirus Type 68 Major Group	Zeptometrix (0810300CFHI)	1.43E+05	TCID50/ml	
	Adenovirus T14	Zeptometrix (0810108CFHI)	2.86E+04	TCID50/ml	
กลุ่ม 6	SARS-CoV-2	Zeptometrix (NATSARS (COV2) -ERC)	2.73E+03	cp/ml	ไม่มีการรบกวน
	MERS-coronavirus	Zeptometrix (0810575CFHI)	1.43E+04	TCID50/ml	
	AdenoVirus T4	Zeptometrix (0810070CFHI)	1.43E+05	TCID50/ml	
	Human Metapneumovirus (hMPV) ชนิด B	Zeptometrix (0810156CFHI)	7.14E+03	TCID50/ml	
	Respiratory Syncytial Virus ชนิด B (RSV-B)	Zeptometrix (0810040CFHI)	1.43E+03	TCID50/ml	

(มีต่อในหน้าถัดไป)

ตารางที่ 15 (ต่อจากหน้าที่แล้ว)

รหัสกลุ่ม / รหัสตัวอย่าง	จุลินทรีย์	แหล่งที่มา	ความเข้มข้นขั้นสุดท้าย	หน่วย	ผลลัพธ์
กลุ่ม 7	SARS-CoV-2	Zeptometrix (NATSARS (COV2) -ERC)	2.73E+03	cp/ml	ไม่มีการรบกวน
	Adenovirus T5	Zeptometrix (0810020CFHI)	6.43E+05	TCID50/ml	
	Parainfluenza virus 4B	Zeptometrix (0810 060BCFHI)	7.14E+04	TCID50/ml	
	ไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ A H3N2 สวิตเซอร์แลนด์/9715293/13	Zeptometrix (0810511CFHI)	2.86E+04	TCID50/ml	
	Streptococcus salivarius	Zeptometrix (BAA-1024D-5)	1.00E+06	CFU/ml	
กลุ่ม 8	SARS-CoV-2	Zeptometrix (NATSARS (COV2) -ERC)	2.73E+03	cp/ml	ไม่มีการรบกวน
	NATrol Panel RP1 (Influenza A H3N2 (Brisbane/10/07), Influenza A H1N1 (NY/02/2009), Rhinovirus (ชนิด 1A), Adenovirus T3, Parainfluenza T1, Parainfluenzavirus T4, Metapneumovirus (Peru 6-2003)*C. pneumoniae* (CWL-029), *M. pneumoniae* (M129), Coxsackievirus (ชนิด A1)	Zeptometrix (MDZ001)	ไม่รู้จัก*	ไม่มี	
กลุ่ม 9	SARS-CoV-2	Zeptometrix (NATSARS (COV2) -ERC)	2.73E+03	cp/ml	ไม่มีการรบกวน
	NATrol Panel RP2 (Influenza A H1 (New Caledonia/20/99), Influenza B (Florida/02/06), RSV-A, Parainfluenza T2, Parainfluenza T3, Coronavirus HKU recombinant, Coronaviruses (OC43, NL63, 229E), *Bordetella pertussis* (A639)	Zeptometrix (MDZ001)	ไม่รู้จัก*	ไม่มี	
กลุ่ม 10	SARS-CoV-2	Zeptometrix (NATSARS (COV2) -ERC)	2.73E+03	cp/ml	ไม่มีการรบกวน
	SARS-CoV-1	Zeptometrix (NATSARS-ST)	ไม่รู้จัก*	ไม่มี	

* ความเข้มข้นไม่ได้รับการสื่อสารโดยซัพพลายเออร์

สารรบกวน

ผลกระทบของสารรบกวนการสังเคราะห์ (สำหรับสารที่ระบุไว้ใน ตารางที่ 16) ได้รับการประเมินบนประสิทธิภาพ *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit การทดสอบได้ดำเนินการใน 3 กลุ่มของ swab หลังโพรงจมูกที่เป็นลบและใน 3 กลุ่มของ swab หลังโพรงจมูกที่เป็นบวกซึ่งมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วที่ 4 x LoD โดยมีอนุภาคไวรัส SARS-CoV-2 ที่ไม่มีฤทธิ์ (Zeptometrix) การทดลองดำเนินการบนแพลตฟอร์ม RGQ MDx 5plex HRM (ใน 4 เครื่องมือ) โดยผู้ปฏิบัติงาน 1 คนพร้อมชุดน่ำร่อง 1 ชุด

แต่ละกลุ่มถูกแบ่งออกเป็น 2 เพื่อทดสอบสารรบกวนที่ละลายในตัวทำละลาย (ตัวอย่างทดสอบ) หรือตัวทำละลายเพียงอย่างเดียว (ตัวอย่างควบคุม) อัตรา Hit rate ในช่องเรืองแสงสีเขียวและสีแดงถูกเปรียบเทียบระหว่างการทดสอบและตัวอย่างควบคุมที่สอดคล้องกัน ในกรณีที่ไม่มีการรบกวน การทดสอบและตัวอย่างการควบคุมที่เกี่ยวข้องจะมีอัตราการ hit rate เท่ากัน

ตารางที่ 16 แสดงให้เห็นว่าไม่มีสารทดสอบใดที่รบกวนประสิทธิภาพของ *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit ในช่องเรืองแสงสีเขียว

ตารางที่ 16 รายชื่อสารรบกวน

สารรบกวน	ฟังก์ชัน	ความเข้มข้นที่ทดสอบ	ผลจาก swab หลังโพรงจมูกที่เป็นลบ	ผลจาก swab หลังโพรงจมูกที่เป็นบวก (4x LoD)
โทบรามัยซิน	ยาปฏิชีวนะตามระบบ	1 mg/ml	ไม่มีการรบกวน 0/15	ไม่มีการรบกวน 0/15
มิวพิโรซิน	ยาปฏิชีวนะแบบครีมสำหรับใช้ในจมูก	6.6 mg/ml	ไม่มีการรบกวน 0/15	ไม่มีการรบกวน 0/15
ฟลูติคาโซน	คอร์ติโคสเตียรอยด์สำหรับใช้ทางจมูก	5% (v/v)	ไม่มีการรบกวน 0/15	ไม่มีการรบกวน 0/15
เมนทอล (ยาอมแก้เจ็บคอ)	ยาชาและยาแก้ปวดในช่องปาก	0.5 mg/ml	ไม่มีการรบกวน 0/15	ไม่มีการรบกวน 0/15

(มีต่อในหน้าถัดไป)

ตารางที่ 16 (ต่อจากหน้าที่แล้ว)

สารรบกวน	ฟังก์ชัน	ความเข้มข้นที่ทดสอบ	ผลจาก swab หลังโพรงจมูกที่เป็นลบ	ผลจาก swab หลังโพรงจมูกที่เป็นบวก (4x LoD)
ออกซีเมตาโซลีน	ยาพ่นจมูก	10% (v/v)	ไม่มีการรบกวน (0/15)	ไม่มีการรบกวน (0/15)
โอเซลทามิเวียร์	ยาต้านไวรัส	3.3 mg/ml	ไม่มีการรบกวน (0/15)	ไม่มีการรบกวน (0/15)
เยื่อเมือก (ชนิดได้จากต่อมใต้กรามของวัว I-S)		2.5 mg/ml	ไม่มีการรบกวน (0/15)	ไม่มีการรบกวน (0/15)
เลือดครบส่วน		4% (v/v)	ไม่มีการรบกวน (1/15*)	ไม่มีการรบกวน (0/15)

* ตรวจพบการเพิ่มปริมาณที่สอดคล้องกับสิ่งไม่พึงประสงค์

ความเที่ยง

การศึกษาความแม่นยำประเมินความสามารถในการให้ผลซ้ำ (ตัวอย่างเดียวกันมีการทำซ้ำในการรันและเงื่อนไขที่แตกต่างกัน: 5 วัน 3 ชุดล็อต 3 ผู้ปฏิบัติการ และ 2 เครื่องมือ) และความสามารถในการทำซ้ำ (ตัวอย่างเดียวกันถูกทำซ้ำในการรันและเงื่อนไขเดียวกัน) ทำการทดสอบกับตัวอย่างหลังโพรงจมูกที่เป็นลบและตัวอย่างหลังโพรงจมูกที่เป็นลบซึ่งเพิ่มขึ้นที่ 5 x LoD บน RGQ MDx

สำหรับแต่ละระดับการเจือจาง มีการรวบรวมจุดข้อมูล 204 จุด ข้อมูลความสามารถในการวัดซ้ำและความสามารถในการให้ผลซ้ำถูกนำมาใช้เพื่อกำหนดค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation, SD) และค่าสัมประสิทธิ์การแปรผัน (Coefficient of Variation, %CV) สำหรับเป้าหมาย SARS-CoV-2 ในช่องสีเขียว สีเหลือง และสีแดง ตารางที่ 17 แสดงว่า artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit มีความแม่นยำโดยรวม 0.63 SD (2.03% CV) ในช่องสีเขียว 0.54 SD (2.22% CV) ในช่องสีเหลืองและ 1.28 SD (4.10 %CV) ในช่องสีแดง

ตารางที่ 17ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าสัมประสิทธิ์การแปรผันของ *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit

ตัวอย่างและช่องการตรวจหา	รวม	วันต่อวัน	ชุดต่อชุด	ผู้ปฏิบัติงานต่อผู้ปฏิบัติงาน	เครื่องมือต่อเครื่องมือ	รันต่อรัน	ภายในรัน
	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation, SD) (ค่าสัมประสิทธิ์การแปรผัน (Coefficient of Variation, %CV))						
NPS ที่เป็นลบ ช่องสีเหลือง	0.54 (2.22)	0.09 (0.37)	0.10 (0.42)	0.06 (0.27)	0.11 (0.47)	0.09 (0.36)	0.50 (2.05)
NPS ที่เป็นลบ ช่องสีแดง	1.15 (3.68)	0.0 (0.00)	0.55 (1.76)	0.00 (0.00)	0.12 (0.40)	0.39 (1.26)	0.92 (2.96)
NPS ที่เพิ่มขึ้น ช่องสีเขียว	0.63 (2.03)	0.18 (0.59)	0.31 (1.00)	0.00 (0.00)	0.08 (0.25)	0.00 (0.00)	0.51 (1.64)
NPS ที่เพิ่มขึ้น ช่องสีเหลือง	0.47 (1.93)	0.13 (0.53)	0.24 (0.98)	0.05 (0.20)	0.18 (0.73)	0.00 (0.00)	0.33 (1.38)
NPS ที่เพิ่มขึ้น ช่องสีแดง	1.28 (4.10)	0.12 (0.37)	0.58 (1.84)	0.11 (0.34)	0.00 (0.00)	0.49 (1.57)	1.02 (3.27)

ประสิทธิภาพทางคลินิก

ประสิทธิภาพทางคลินิกของการทดสอบ artus SARS-CoV-2 UM Prep&Amp ได้รับการประเมินโดยใช้สิ่งส่งตรวจจากการ swab หลังโพรงจมูกแบบย้อนหลังในภาชนะเก็บสิ่งส่งตรวจซึ่งประกอบด้วย:

- สิ่งส่งตรวจที่เป็นลบต่อ SARS-CoV-2 RNA 98 ตัวอย่าง
- สิ่งส่งตรวจที่เป็นบวกต่อ SARS-CoV-2 RNA 52 ตัวอย่าง

เก็บสิ่งส่งตรวจทั้งหมดจากผู้ป่วยที่มีอาการและอาการแสดงของการติดเชื้อ COVID-19 และจัดเก็บโดยการแช่แข็งจนกว่าจะใช้งาน

ดำเนินการตรวจสอบความถูกต้องทางคลินิกด้วย ABI 7500 Fast Dx ตารางที่ 18 รายงานประสิทธิภาพของ artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit โดยเทียบกับวิธีการอ้างอิง ซึ่งแสดงค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ความเหมือนที่เป็นบวก (Positive Percent Agreement, PPA) และเปอร์เซนต์ความเหมือนที่เป็นลบ (Negative Percent Agreement, NPA)

ตารางที่ 18 ประสิทธิภาพทางคลินิกของ *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit เทียบกับวิธีอ้างอิง

ชนิดตัวอย่าง	N	% ที่เป็นบวก	95% CI	% ที่เป็นลบ	95% CI
เป็นบวก	52	98.1 (51/52)	89.9 – 99.7	5.1 (5/98)	
เป็นลบ	98	1.9 (1/52)		94.9 (93/98)	88.7 – 97.8

ผลที่ไม่ตรงกันได้รับการประเมินโดยวิธีที่สามและวิเคราะห์ใหม่ด้วยตารางการณ์จร ผลประสิทธิภาพทางคลินิกโดยรวมจะแสดงเป็นเปอร์เซนต์ความเหมือนที่เป็นบวก (Positive Percent Agreement, PPA) และเปอร์เซนต์ความเหมือนที่เป็นลบ (Negative Percent Agreement, NPA) และแสดงไว้ใน ตารางที่ 19

ตารางที่ 19 ประสิทธิภาพทางคลินิกของ *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit

ชนิดตัวอย่าง	N	% ที่เป็นบวก	95% CI	% ที่เป็นลบ	95% CI
เป็นบวก	52	98.1 (51/52)	89.9 – 99.7	5.1 (5/98)	
เป็นลบ	98	1.9 (1/52)		94.9 (93/98)	88.7 – 97.8

รายการที่แสดงต่อจากนี้เป็นจำนวนตัวอย่างที่มีความเหมือน และเปอร์เซนต์ความเหมือนที่เป็นบวกและเปอร์เซนต์ความเหมือนที่เป็นลบ (PPA และ NPA, ตามลำดับ) กับสถานะตัวอย่างที่คาดหมาย:

เปอร์เซนต์ความเหมือนที่เป็นบวก
(Positive Percent Agreement, PPA%): 51/52 = 98.1% (95% CI: 89.9% - 99.7%)
เปอร์เซนต์ความเหมือนที่เป็นลบ
(Negative Percent Agreement, NPA%): 93/98 = 94.9% (95% CI: 88.6% - 97.8%)

ประสิทธิภาพทางคลินิก รวมถึงคนที่ไม่แสดงอาการ

ประสิทธิภาพทางคลินิกของการทดสอบ artus SARS-CoV-2 UM Prep&Amp ได้รับการประเมินโดยใช้สิ่งส่งตรวจจากการ swab หลังโพรงจมูกแบบย้อนหลังในภาชนะเก็บสิ่งส่งตรวจซึ่งประกอบด้วย:

- **สิ่งส่งตรวจที่เป็นลบต่อ SARS-CoV-2 RNA 100 ตัวอย่าง**
- **สิ่งส่งตรวจที่เป็นบวกต่อ SARS-CoV-2 RNA 53 ตัวอย่าง**

มีการเก็บสิ่งส่งตรวจทั้งหมดจากผู้ป่วยที่ไม่มีอาการ หรือเหตุผลอื่น ๆ ให้สงสัยว่ามีการติดเชื้อ COVID-19

ดำเนินการตรวจสอบความถูกต้องทางคลินิกด้วย ABI 7500 Fast Dx มีการนำทั้งสิบหกตัวอย่างออกจากการวิเคราะห์หลังจากทดสอบด้วย *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit เนื่องจากสถานะไม่ถูกต้องตามเกณฑ์ความถูกต้องของตัวอย่าง (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 20 รายงานประสิทธิภาพของ *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit เทียบกับวิธีอ้างอิงซึ่งแสดงค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ความเหมือนที่เป็นบวก (Positive Percent Agreement, PPA) และเปอร์เซนต์ความเหมือนที่เป็นลบ (Negative Percent Agreement, NPA)

ตารางที่ 20 ประสิทธิภาพทางคลินิกของ *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit เทียบกับวิธีอ้างอิง

ชนิดตัวอย่าง	N	% ที่เป็นบวก	95% CI	ที่เป็นลบ %	95% CI
เป็นบวก	50	64.0 (32/50)	50.1 – 75.9	1.15 (1/87)	–
เป็นลบ	87	36.0 (18/50)	–	98.85 (86/87)	93.8 – 99.8

ผลที่ไม่ตรงกันทั้งสิบเก้ารายการได้รับการประเมินโดยวิธีที่สามและวิเคราะห์ใหม่ด้วยตารางการณ์จร ผลประสิทธิภาพทางคลินิกโดยรวมจะแสดงเป็นเปอร์เซนต์ความเหมือนที่เป็นบวก (Positive Percent Agreement, PPA) และเปอร์เซนต์ความเหมือนที่เป็นลบ (Negative Percent Agreement, NPA) และแสดงไว้ใน ตารางที่ 21

ตารางที่ 21 ประสิทธิภาพทางคลินิกของ artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit

ชนิดตัวอย่าง	N	% ที่เป็นบวก	95% CI	% ที่เป็นลบ	95% CI
เป็นบวก	32	100.0 (32/32)	89.3 – 100.0	0.95 (1/105)	–
เป็นลบ	105	–	–	99.05 (104/105)	94.8 – 99.8

ตัวอย่างที่ได้ผลลบลวงทั้งสิบแปดตัวอย่าง ได้รับการจัดประเภทใหม่ให้เป็นลบจริง ขณะที่ตัวอย่างที่ได้ผลบวกลวงหนึ่งตัวอย่าง ยังคงเป็นบวกลวง

รายการที่แสดงต่อจากนี้เป็นจำนวนตัวอย่างที่มีความเหมือน และเปอร์เซนต์ความเหมือนที่เป็นบวก และเปอร์เซนต์ความเหมือนที่เป็นลบ (PPA และ NPA, ตามลำดับ) กับสถานะตัวอย่างที่คาดหมาย:

เปอร์เซนต์ความเหมือนที่เป็นบวก
(Positive Percent Agreement, PPA): 32/32 = 100.0% (95% CI: 89.3% - 100.0%)
เปอร์เซนต์ความเหมือนที่เป็นลบ
(Negative Percent Agreement, NPA): 104/105 = 99.05% (95% CI: 94.8% - 99.8%)

อ้างอิง

1. CUI J *et al.* (2019) Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nat Rev Microbiol **17**, 181-192

2. Gagneur *et al.* (2002) Infections nosocomiales à coronavirus humains chez le nouveau-né. Arch Pédiatr **9**, 61-69

3. HU *et al.* (2020) Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. Nat Rev Microbiol **6**:1-14.

4. Mackay IM. (2004) Real-time PCR in the microbiology laboratory. Clin Microbiol. Infect **10**(3), 190–212

5. European Commission. (2020) Current performance of COVID-19 test methods and devices and proposed performance criteria. 16 April 2020. **https://ec.europa.eu/docsroom/documents/40805/attachments/1/translations/en/renditions/native**

แนวทางการแก้ไขปัญหา

แนวทางการแก้ไขปัญหาอาจช่วยแก้ปัญหาที่อาจเกิดขึ้น สำหรับข้อมูลเพิ่มเติม
โปรดดูหน้าคำถามที่พบบ่อยที่ศูนย์ให้การสนับสนุนด้านเทคนิค:
www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx

	ข้อคิดเห็นและข้อแนะนำ
สัญญาณสีเขียวอ่อนหรือไม่มีเลย (FAM) ในตัวควบคุมที่เป็นบวก (Positive Control, PC)	
a) ช่องสัญญาณเรืองแสงที่เลือกไว้สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูล RT-PCR ไม่สอดคล้องตามเกณฑ์วิธีนี้	สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูล เลือก เชิงวิเคราะห์ ช่องสัญญาณเรืองแ (สีแดง) สำหรับตัวควบคุมภายใน
b) การสร้างโปรแกรมโพรไฟล์อุณหภูมิไม่ถูกต้อง	เปรียบเทียบโปรแกรม RT-PCR ก
c) การปรับตั้งค่าปฏิกิริยา PCR ไม่ถูกต้อง	ตรวจสอบขั้นตอนการทำงานของ
d) สภาวะการจัดเก็บสำหรับส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์อย่างน้อยหนึ่งชิ้นไม่เป็นไปตามคำแนะนำหรือ *artus* SARS-CoV-2 RT-PCR Kit หมดอายุแล้ว	ปฏิบัติตามสภาวะการจัดเก็บและ
e) การกำหนดค่าแพลตฟอร์ม qPCR ไม่ถูกต้องระหว่างการกำหนดค่าข้อมูล	ใช้การกำหนดค่าที่แนะนำที่เกี่ยว
f) PCR ถูกยับยั้ง	ปฏิบัติตามแนวทางปฏิบัติที่ดีในห ตรวจสอบให้แน่ใจว่าพื้นที่ทำงาน ปฏิบัติตามเกณฑ์วิธีที่ระบุไว้ในคู่ ทำซ้ำการทดสอบกับตัวอย่างอื่น
สัญญาณสีเขียว (FAM) ในตัวควบคุมแบบไม่มีเทมเพลต หรือในตัวควบคุมแบบไม่มีตัวสกัด	
การปนเปื้อนด้วยลำดับ SARS-CoV-2 เกิดขึ้นระหว่างการเตรียมแผ่น RT-PCR	ทำซ้ำ RT-PCR ด้วยน้ำยาใหม่ ปฏิบัติตามแนวทางปฏิบัติที่ดีในห ปฏิบัติตามเกณฑ์วิธีที่กล่าวถึงใน ตรวจสอบให้แน่ใจว่าพื้นที่ทำงาน

	ข้อคิดเห็นและข้อแนะนำ
สัญญาณสีแดงอ่อนหรือไม่มีเลย (Cy5/Atto) จากตัวควบคุมภายใน	
a) มีการนำอินเทอร์เฟซมาใช้ในปฏิกิริยา RT-PCR PCR ถูกยับยั้ง	ปฏิบัติตามแนวทางปฏิบัติที่ดีในห ตรวจสอบให้แน่ใจว่าพื้นที่ทำงาน ปฏิบัติตามเกณฑ์วิธีที่ระบุไว้ในคู่ ทำการทดลองซ้ำกับตัวอย่างที่เก็
b) ตัวควบคุมภายในเสื่อม	ปฏิบัติตามแนวทางปฏิบัติที่ดีในห ปฏิบัติตามค่าแนะนำที่ระบุไว้ในคู่ ตรวจสอบให้แน่ใจว่าพื้นที่ทำงาน ปฏิบัติตามสภาวะการจัดเก็บและ
c) การกำหนดค่าแพลตฟอร์ม qPCR ไม่ถูกต้องระหว่างการกำหนดค่าข้อมูล	ใช้การกำหนดค่าที่แนะนำที่เกี่ยว
สัญญาณสีเหลืองอ่อนหรือไม่มี (VIC/HEX) ของตัวควบคุมการสุ่มตัวอย่าง	
a) ตัวอย่างทางคลินิกเสื่อม	ปฏิบัติตามค่าแนะนำที่จัดหาโดย ปฏิบัติตามเกณฑ์วิธีที่กล่าวถึงใน ปฏิบัติตามเงื่อนไขการจัดเก็บและ SARS-CoV-2 UM Prep Buffer
b) เก็บสิ่งส่งตรวจไม่ถูกต้อง มีการรวบรวมเซลล์ของมนุษย์ไม่เพียงพอบน swab หรือถ่ายโอนในภาชนะจัดเก็บสิ่งส่งตรวจ	ปฏิบัติตามค่าแนะนำที่จัดหาโดย
c) การกำหนดค่าแพลตฟอร์ม qPCR ไม่ถูกต้องระหว่างการกำหนดค่าข้อมูล	ใช้การกำหนดค่าที่เกี่ยวข้องกับแ

สัญลักษณ์

สัญลักษณ์ต่อไปนี้อาจปรากฏในคำแนะนำสำหรับใช้งานหรือบนบรรจุภัณฑ์และฉลากกำกับ:

สัญลักษณ์	นิยามของสัญลักษณ์
	ประกอบด้วยน้ำยาที่เพียงพอต่อ 768 หรือ 3,072 ปฏิกิริยา
	ใช้โดย
	เครื่องมือแพทย์สำหรับการวินิจฉัยในหลอดทดลอง
	หมายเลขแคตตาล็อก
	หมายเลขล็อต
	ส่วนประกอบ
	ประกอบด้วย
	จำนวน
	หมายเลขรายการการค้าทั่วโลก
	R ใช้สำหรับการแก้ไขคำแนะนำการใช้งานและ n คือหมายเลขการแก้ไข
	ขีดจำกัดอุณหภูมิ
	ผู้ผลิต
	อ่านคำแนะนำการใช้งานก่อนใช้
	เก็บให้พ้นจากแสงแดด
	คำเตือน/ข้อควรระวัง

ข้อมูลติดต่อ

สำหรับความช่วยเหลือด้านเทคนิคและข้อมูลเพิ่มเติม โปรดติดต่อฝ่ายบริการด้านเทคนิคของ QIAGEN ที่ support.qiagen.com

ข้อมูลการสั่งซื้อ

ผลิตภัณฑ์	สารบัญ	หมายเลขแคตตาล็อก
artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit (768)	สำหรับ 768 ปฏิกิริยา: บัฟเฟอร์การเตรียม, สีย้อม ROX, สารละลายผสม , Primer และ Probe, ตัวควบคุมภายใน, น้ำ (No Template Control, NTC) และตัวควบคุมเชิงบวก	4511460
artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit (3072)	สำหรับ 3072 ปฏิกิริยา: บัฟเฟอร์การเตรียม, สีย้อม ROX, สารละลายผสม , Primer และ Probe, ตัวควบคุมภายใน, น้ำ (No Template Control, NTC) และตัวควบคุมเชิงบวก	4511469
เครื่องมือและอุปกรณ์เสริม		
หลอด PCR 0.1 ml สำหรับ Rotor-Gene Q 5-plex HRM MDx	สำหรับใช้กับโรเตอร์ 72 หลุม, หลอดแถบและฝาปิด	981103
ซอฟต์แวร์ Rotor-Gene Q	ซอฟต์แวร์ Rotor-Gene Q v2.3.1 (หรือสูงกว่า)	
Rotor-Gene Q 5-plex HRM MDx	Real-time PCR cycler ที่มี 5 ช่องวิเคราะห์การคลายเกลียวของสายดีเอ็นเอ, คอมพิวเตอร์, แล็ปท็อป, ซอฟต์แวร์และอุปกรณ์เสริมต่างๆ : รวมไปถึงการรับประกัน 1 ปีสำหรับชิ้นส่วนต่างๆ และค่าแรง การติดตั้ง	9002032
Loading Block	หลอด 72 x 0.1 ml	9018901

สำหรับข้อมูลใบอนุญาตและข้อมูลปฏิเสธความรับผิดชอบจำเพาะผลิตภัณฑ์ที่เป็นปัจจุบัน โปรดดูคู่มือชุดอุปกรณ์ QIAGEN หรือคู่มือผู้ใช้งานที่เกี่ยวข้อง ท่านสามารถอ่านคู่มือชุดอุปกรณ์ QIAGEN และคู่มือผู้ใช้งานได้ที่ **www.qiagen.com** หรือสามารถขอได้จากแผนกบริการทางเทคนิคของ QIAGEN หรือผู้แทนจำหน่ายในประเทศของท่าน

ประวัติการแก้ไขเอกสาร

การแก้ไข	คำอธิบาย
R1 เมษายน 2021	การเปิดตัวครั้งแรก
R2, กรกฎาคม 2021	คำอธิบายเรื่องการเพิ่มเติมข้อความ:ได้กำหนดการทดสอบสำหรับผู้ที่ไม่มีอาการ จุดประสงค์การใช้งาน ได้มีการอัปเดตเพื่อรวมถึงผู้ที่ไม่มีอาการหรือเหตุผลอื่น ๆ ให้สงสัยว่ามีการติดเชื้อ COVID-19 ได้มีการเพิ่มหัวข้อเกี่ยวกับ ประสิทธิภาพทางคลินิก รวมถึงคนที่ไม่แสดงอาการ ลงในข้อมูล การดำเนินการแล้ว มีการนำข้อความ "ยังไม่มีการกำหนดประสิทธิภาพของการทดสอบนี้สำหรับผู้ป่วยที่ไม่มีอาการและอาการแสดงของการติดเชื้อทางเดินหายใจ" ออกจากหัวข้อ ข้อจำกัด แล้ว มีการเปลี่ยนแปลงรูปแบบและแก้ไขเล็กน้อย

ข้อตกลงใบอนุญาตแบบจำกัดสำหรับ *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit

การใช้ผลิตภัณฑ์นี้แสดงว่าผู้ซื้อหรือผู้ใช้งานผลิตภัณฑ์ยอมรับข้อตกลงดังต่อไปนี้:

1. ผลิตภัณฑ์นี้จะใช้ได้ตามเกณฑ์วิธีที่ให้มากับผลิตภัณฑ์และคู่มือนี้เท่านั้นและสำหรับใช้ร่วมกับชิ้นส่วนประกอบที่มาพร้อมกับชุดอุปกรณ์นี้เท่านั้น QIAGEN ไม่ให้การอนุญาตภายใต้ทรัพย์สินทางปัญญาใด ๆ ของบริษัทในการใช้หรือนำชิ้นส่วนอุปกรณ์ที่รวมอยู่ในชุดอุปกรณ์นี้ไปใช้ร่วมกับชิ้นส่วนอุปกรณ์ใด ๆ ที่ไม่ได้รวมอยู่ในชุดอุปกรณ์นี้ เว้นเสียแต่ได้บรรยายไว้ในเกณฑ์วิธีที่ให้มากับผลิตภัณฑ์ คู่มือฉบับนี้ และเกณฑ์วิธีเพิ่มเติมต่าง ๆ ที่พบได้ที่ www.qiagen.com. เกณฑ์วิธีเพิ่มเติมเหล่านี้บางเกณฑ์วิธี ผู้ใช้ของ QIAGEN จัดหาให้แก่ผู้ใช้ของ QIAGEN เกณฑ์วิธีเพิ่มเติมอาจไม่ได้รับการทดสอบอย่างครบถ้วนสมบูรณ์หรือได้รับการปรับให้เหมาะสมที่สุดโดย QIAGEN QIAGEN ไม่รับประกันและไม่รับรองว่าเกณฑ์วิธีเหล่านี้จะไม่ละเมิดสิทธิ์ของบุคคลอื่น

2. นอกเหนือจากใบอนุญาตที่ได้แจ้งไว้โดยแจ้งชัดแล้ว QIAGEN ไม่ให้การรับรองว่าชุดอุปกรณ์และ/หรือการใช้งานชุดอุปกรณ์จะไม่ละเมิดสิทธิ์ของบุคคลอื่น

3. ชุดอุปกรณ์และชิ้นส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์ได้รับอนุญาตสำหรับการใช้งานครั้งเดียว และห้ามใช้ซ้ำ ทำใหม่ หรือขายซ้ำ

4. QIAGEN ปฏิเสธความรับผิดชอบในใบอนุญาตอื่นใด ทั้งที่แจ้งชัดหรือโดยนัยนอกเหนือจากที่ได้แจ้งไว้อย่างชัดแจ้ง

5. ผู้ซื้อหรือผู้ใช้ชุดอุปกรณ์นี้ตกลงที่จะไม่นำหรืออนุญาตให้บุคคลอื่นใด ดำเนินการใบขั้นตอนใด ๆ ที่อาจนำไปสู่หรืออำนวยความสะดวกให้เกิดการกระทำต้องห้ามที่แสดงไว้ข้างต้น QIAGEN อาจบังคับใช้ข้อห้ามของข้อตกลงการใช้สิทธิ์แบบจำกัดในศาลใด ๆ และฟ้องเรียกชดใช้ค่าใช้จ่ายในการสืบสวนและค่าศาลทั้งหมด รวมถึงค่าทนาย ในการกระทำใด ๆ เพื่อบังคับใช้ข้อตกลงการใช้สิทธิ์แบบจำกัดนี้ หรือสิทธิในทรัพย์สินทางปัญญาใด ๆ ของบริษัท ที่เกี่ยวข้องกับชุดอุปกรณ์นี้และ/หรือชิ้นส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์นี้

สำหรับเงื่อนไขการรับใบอนุญาตที่อัปเดตแล้ว ดู www.qiagen.com

เครื่องหมายการค้า: QIAGEN®, Sample to Insight®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); ATCC® (American Type Culture Collection); Clinical and Laboratory Standards Institute®, CLSI® (Clinical and Laboratory Standards Institute, Inc); Zeptometrix®, NATtrol™ (Cole-Parmer); Excel® (Microsoft Corporation); ABI®, MicroAmp™, Thermo Fisher Scientific® (Thermo Fisher Scientific หรือบริษัทสาขา) ชื่อและเครื่องหมายการค้าจดทะเบียน และข้อมูลอื่น ๆ ที่ใช้ในเอกสารฉบับนี้ แม้ว่าจะไม่ได้ทำเครื่องหมายโดยเฉพาะเจาะจงว่าเป็นเช่นนั้นก็ตาม มิได้ถือว่าไม่ได้รับการปกป้องตามกฎหมาย

07/2021 R2 HB-2850-002 © 2021 QIAGEN สงวนลิขสิทธิ์

การสั่งซื้อผลิตภัณฑ์ **www.qiagen.com/shop** | ฝ่ายสนับสนุนทางเทคนิค **support.qiagen.com** | เว็บไซต์ **www.qiagen.com**