

December 2021

# Brugsanvisning (håndbog) til *artus*<sup>®</sup> CMV RG PCR Kit



24 (katalognr. 4503263)



96 (katalognr. 4503265)

Version 1

Kvantitativ in vitro-diagnostik

Til brug med Rotor-Gene<sup>®</sup> Q MDx-instrumenter



4503263, 4503265



QIAGEN GmbH

QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND



1126759DA



# Indhold

Tilsligtet anvendelse .....	5
Beskrivelse og princip .....	5
Patogeninformation.....	6
Funktionsprincip .....	6
Medfølgende materialer .....	7
Kittet indeholder .....	7
Nødvendige materialer, som ikke medfølger .....	8
Reagenser .....	8
Forbrugsartikler .....	8
Udstyr .....	8
Advarsler og forholdsregler.....	9
Sikkerhedsinformation .....	9
Forholdsregler .....	9
Opbevaring og håndtering af reagenser .....	10
Håndtering og opbevaring af prøver.....	10
Udtagning af prøver .....	10
Opbevaring af prøver .....	11
Transport af prøver .....	11
Procedure .....	12
DNA-isolation .....	12
Intern kontrol.....	13
Protokol: PCR og dataanalyse .....	14

---

Fortolkning af resultater .....	22
Kvantificering.....	22
Resultater.....	23
Kvalitetskontrol .....	26
Begrænsninger .....	26
Ydelseskarakteristika .....	27
Analysesensitivitet.....	27
Det lineære område af kvantificeringen.....	29
Specificitet.....	30
Præcision .....	32
Interfererende stoffer .....	34
Robusthed .....	36
Reproducerbarhed.....	36
Diagnostisk evaluering .....	38
Litteraturhenvisninger.....	40
Fejlfindingsvejledning.....	41
Symboler .....	43
Bestillingsinformation.....	44
Revisionshistorik for dokumentet.....	47

# Tilsigtet anvendelse

*artus CMV RG PCR Kit* er en in vitro-nukleinsyreamplifikationstest til kvantitering af cytomegalovirus (CMV)-DNA i humant plasma. Dette diagnostiske test-kit udnytter polymerasekædereaktionen (PCR) og er konfigureret til brug sammen med Rotor-Gene Q-instrumenter.

*artus CMV RG PCR Kit* er beregnet til anvendelse i forbindelse med klinisk præsentation og andre laboratoriemarkører for sygdomsprognose med henblik på behandling af CMV-infektion hos patienter med risiko for CMV-sygdom..

Resultaterne fra *artus CMV RG PCR Kit* skal fortolkes i sammenhæng med alle relevante kliniske og laboratoriefund.

*artus CMV RG PCR Kit* er ikke beregnet til brug som screeningstest for CMV i blod eller blodprodukter eller som en diagnostisk test til bekræftelse af tilstedeværelse af CMV-infektion.

## Beskrivelse og princip

*artus CMV RG PCR Kit* er et brugsklart system til detektion af CMV DNA ved hjælp af polymerasekædereaktion (PCR) på Rotor-Gene Q MDx-instrumenter. *CMV RG Master* indeholder reagenser og enzymer til specifik amplifikation af en 105 bp region af Major Immediate Early Gene (*MIE*) inden for CMV-genomet (analysen kan også påvise CMV-genotyperne gB1-gB4) og til direkte detektion af det specifikke ampikon i fluorescenskanalen Cycling Green på Rotor-Gene Q MDx.

Derudover indeholder *artus CMV RG PCR Kit* et andet heterologt amplifikationssystem, som bruges til detektion af en eventuel PCR-inhibition. Denne detekteres som en intern kontrol (IC) i fluorescenskanalen Cycling Yellow på Rotor-Gene Q MDx. Der leveres eksterne positive kontroller (*CMV QS 1-4*), der tillader bestemmelse af mængden af viralt DNA. For yderligere information, se "Kvantificering", side 22.

---

## Patogeninformation

Den humane cytomegalovirus (CMV) findes hos inficerede personer i blod, væv og næsten alle sekretionsvæsker. Overførslen kan ske oralt, seksuelt, via blodtransfusion eller organtransplantation, intrauterint eller perinatalt (1-4). CMV-virusmængdetest er et vigtigt hjælpemiddel til vurdering af sygdomsrisiko, diagnosticering af sygdom og overvågning af respons på behandling (5).


Infektion med CMV medfører ofte en asymptomatisk infektion efterfulgt af livslang vedvarende virus i kroppen. Hvis der forekommer symptomer hos teenagere eller hos voksne, ligner de symptomerne på mononukleose med feber, svagt positiv hepatitis og generel utilpashed (6). Der er observeret alvorlige forløb af CMV-infektion navnlig hos patienter med intrauterin infektion og hos patienter med immundefekt (4,7).

## Funktionsprincip

Patogendetektion via polymerasekædereaktion (PCR) er baseret på amplifikation af specifikke områder af patogenets genom. Det amplificerede produkt detekteres i real-time PCR via fluorescerende farver. Disse er i reglen knyttet til oligonucleotidprober, der bindes specifikt til det amplificerede produkt. Monitorering af fluorescensintensiteterne under PCR-kørslen (dvs. i realtid) muliggør detektion og kvantitering af det akkumulerede produkt, uden at man behøver genåbne reaktionsglassene efter PCR-kørslen (8).

# Medfølgende materialer

## Kittet indeholder

<i>artus</i> CMV RG PCR Kit katalognr. Antal reaktioner			(24) 4503263 24	(96) 4503265 96
Blå	CMV RG Master (Taq 0,1 U/µl)		2 x 12 reaktioner	8 x 12 reaktioner
Gul	CMV Mg-Sol*	<b>Mg-Sol</b>	600 µl	600 µl
Rød	CMV QS 1 <sup>†</sup> (1 x 104 kopier/µl)	<b>QS</b>	200 µl	200 µl
Rød	CMV QS 2 <sup>†</sup> (1 x 103 kopier/µl)	<b>QS</b>	200 µl	200 µl
Rød	CMV QS 3 <sup>†</sup> (1 x 102 kopier/µl)	<b>QS</b>	200 µl	200 µl
Rød	CMV QS 4 <sup>†</sup> (1 x 101 kopier/µl)	<b>QS</b>	200 µl	200 µl
Grønt	CMV RG IC <sup>‡</sup>	<b>IC</b>	1000 µl	2 x 1000 µl
Hvid	Vand (PCR-kvalitet)		1000 µl	1000 µl
	Brugsanvisning		1	1

\* Magnesiumopløsning

<sup>†</sup> Kvantiteringsstandard

<sup>‡</sup> Intern kontrol

# Nødvendige materialer, som ikke medfølger

## Reagenser

- DNA-isoleringskit (se "DNA-isolation", side 12)

## Forbrugsartikler

- Sterile pipettespidser med filtre
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, til brug med 72-Well Rotor (kat.-nr. 981103 eller 981106)
- **Alternativ mulighed:** PCR Tubes, 0.2 ml, til brug med 36-well rotor (kat.-nr. 981005 eller 981008)

## Udstyr

- Pipetter (justerbare)\*
- Vortex-mixer\*
- Bordcentrifuge\* med rotor til 2 ml reaktionsrør
- Rotor-Gene Q MDx-instrumenter\* med fluorescenskanalerne Cycling Green og Cycling Yellow
- Rotor-Gene Q-software version 2.3.5 eller nyere
- Cooling block (Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes, kat.-nr. 9018901 eller Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes, kat.-nr. 9018905)

\* Sørg for, at instrumenterne før anvendelse regelmæssigt kontrolleres og kalibreres efter producentens anvisninger.



# Advarsler og forholdsregler

## Sikkerhedsinformation

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der henvises til de relevante sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er) for yderligere information. Disse er tilgængelige online i et praktisk og kompakt PDF-format på adressen [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), hvor det er muligt at finde, få vist og udskrive SDS'et for hvert QIAGEN-kit og hver kitkomponenter.

Prøve- og analyseaffald skal bortskaffes i henhold til lokale sikkerhedsregler.

## Forholdsregler

Følgende anvisninger skal altid overholdes af brugeren:

- Brug sterile pipettespidser med filtre.
- Positivt materiale (prøver, positive kontroller, amplifikater) skal opbevares og oprenses adskilt fra de øvrige reagenser og tilsættes reaktionsblandingen i et separat rum.
- Alle komponenter skal omhyggeligt optøes til stuetemperatur (15-25 °C), inden analysen startes.
- Efter optøning skal komponenterne blandes (ved gentagen pipettering op og ned eller ved pulsvortexing) og centrifugeres kortvarigt.
- Arbejd hurtigt, og hold komponenterne på is eller i køleblokken (72/96-brønds isætningsblok).

# Opbevaring og håndtering af reagenser

Komponenterne i *artus* CMV RG PCR Kit skal opbevares ved -30 °C til -15 °C og er stabile indtil den udløbsdato, der er angivet på etiketten. Gentagne optøninger og nedfrysninger (>2 x) bør undgås, da det kan reducere analysens sensitivitet. Ved uregelmæssig brug skal reagenserne derfor fryses i alikvoter. Må ikke opbevares ved 2-8 °C i mere end fem timer.

## Håndtering og opbevaring af prøver

**Bemærk:** Alle prøver skal behandles som potentielt infektiøst materiale.

**Bemærk:** Analytiske undersøgelser udført for at verificere ydeevnen af dette kit peger på EDTA-plasma som det mest egnede prøvemateriale til CMV-detektion. Vi anbefaler derfor, at disse materialer anvendes med *artus* CMV RG PCR Kit.

Den interne validering af *artus* CMV RG PCR Kit blev gennemført med EDTA-plasmaprøver. Andre prøvematerialer blev ikke valideret. Du bedes udelukkende anvende det anbefalede DNA-isolerings-kit (se "DNA-isolation", side 12) til klargøring af prøve.

Når bestemte prøvematerialer anvendes, er det yderst vigtigt at følge de følgende forskrifter for udtagning, opbevaring og transport.

### Udtagning af prøver

Enhver blodtapning forårsager sår på blodkarrene (arterier, vener og kapillærer). Der må kun benyttes upåklageligt og sterilt materiale. Der skal stå passende engangsmaterialer til rådighed for at tappe blodet. Til venepunkturen må der ikke benyttes for fine kanyler. Udtagning af venøst blod skal ske i passende dele af albuebøjningen, underarmen eller håndryggen. Blodet skal udtages ved hjælp af standard-prøvetagningssystemer (rødt låg, Sarstedt® eller ækvivalente systemer af andre producenter). Der skal udtages et volumen på 5-10 ml blod i et EDTA-rør. Umiddelbart efter blodtapningen skal rørene blandes ved at de flere gange vendes forsigtigt (8x, ikke ryste).

**Bemærk:** Hepariniserede prøver må ikke anvendes.

---

## Opbevaring af prøver

Helblod skal separeres i plasma og cellulære komponenter ved centrifugering i 20 minutter ved  $\pm 800-1600 \times g$  inden for 6 timer (9,10). Det isolerede plasma overføres til sterile polypropylenrør. Analysens sensitivitet kan reduceres, hvis prøverne rutinemæssigt fryses eller opbevares i længere tid.

## Transport af prøver

Prøvemateriale skal principielt transporteres i en knusningssikker transportbeholder. Dermed kan en potentiel infektionsfare som følge af udlækkende prøvemateriale undgås. Prøverne skal transporteres efter de gyldige lokale og statslige forskrifter vedrørende transporten af sygdomsfremkaldende stoffer.\*

Prøverne skal afsendes inden for 6 timer. Det anbefales ikke, at prøven opbevares på afgangsstedet. Transport som almindelig postforsendelse er mulig, dog skal forskrifterne for opbevaring overholdes under transporten. Vi anbefaler, at prøven transporteres med kurer. Blodprøverne skal sendes på køl (2-8 °C) og separeret plasma i dybfrossen tilstand (-30 til -15 °C).

\* International Air Transport Association (IATA). Dangerous Goods Regulations (Regler vedrørende transport af farligt gods).

# Procedure

## DNA-isolation

Kittene fra QIAGEN, som er vist i Tabel 1, er valideret til viral DNA-oprensning fra de angivne prøvetyper fra mennesker til brug med *artus* CMV RG PCR Kit. Udfør den virale DNA-oprensning i henhold til anvisningerne i kithåndbogen til det respektive kit.

**Tabel 1. Oprensningskit valideret til brug med *artus* CMV RG PCR Kit**

Prøvemateriale	Prøvestørrelse	Nukleinsyre-isolationskit	Katalognummer	Carrier-RNA
EDTA-plasma	500 µl	QIAamp® DSP Virus Kit	60704	Inklusive
EDTA-plasma	400 µl	EZ1® DSP Virus Kit (48)	62724	Inklusive

**Bemærk:** Anvendelsen af carrier-RNA er af afgørende betydning for oprensningens effektivitet og dermed for DNA-/RNA-udbyttet. For at opnå en højere stabilitet af den i QIAamp DSP Virus Kit vedlagte carrier-RNA bør angivelserne for rekonstruktion og opbevaring af carrier-RNA i afsnittet "Preparing reagents and buffers" i *QIAamp DSP Virus Kit Handbook* følges.

**Bemærk:** Den interne kontrol til *artus* CMV RG PCR Kit kan bruges direkte i isoleringsproceduren. Sørg for at medtage en negativ plasmaprøve i isoleringen. Den interne kontrols tilsvarende signal danner grundlag for vurderingen af isoleringen (se afsnittet "Intern kontrol" nedenfor).

## Intern kontrol

Der vedlægges en intern kontrol (CMV RG IC) med dette kit. Dette giver brugeren mulighed for både at kontrollere DNA-isoleringsproceduren og kontrollere for mulig PCR-inhibition. Til denne anvendelse tilsættes den interne kontrol i et forhold, der svarer til 0,1 µl pr. 1 µl elueringsmængde til oprensningen. Ved brug af f.eks. QIAamp DSP Virus Kit elueres DNA'et i 60 µl elueringsbuffer (AVE). Derfor bør 6 µl af den interne kontrol tilsættes initialt. Mængden af den anvendte interne kontrol er kun afhængig af elueringsmængden.

**Bemærk:** Den interne kontrol og carrier-RNA (se "DNA-isolation", side 12) bør kun tilsættes blandingen af lysisbuffer og prøvemateriale eller direkte til lysisbufferen.

Den interne kontrol må ikke direkte tilsættes prøvematerialet. Ved tilsætningen til lysisbufferen skal der sørges for, at blandingen af den interne kontrol og lysisbuffer/carrier-RNA forberedes frisk og tilsættes med det samme (opbevaring af blandingen ved stuetemperatur eller i køleskabet kan allerede efter få timer føre til fravær af den interne kontrol og til en reduceret oprensningseffektivitet).

**Bemærk:** Pipetter ikke den interne kontrol og carrier-RNA i prøvematerialet.

For at kunne vurdere en oprensning som en succes skal  $C_T$ -værdien af den interne kontrol af en negativ plasmaprøve, der er behandlet under oprensningen (QIAamp DSP Virus Kit), ligge ved  $C_T = 27 \pm 3$  (tærskel: 0,03) ved brug af Rotor-Gene Q-instrumenter (se side 25 for at få yderligere information). Den angivne spredning betinges af apparaternes og oprensningernes varians. En højere afvigelse tyder på problemer med oprensningen. I dette tilfælde skal oprensningen kontrolleres og i givent tilfælde valideres igen. Hvis der skulle opstå yderligere spørgsmål eller problemer, kontakt da QIAGEN Teknisk Service.

Alternativt kan den interne kontrol anvendes udelukkende til kontrol af en mulig PCR-inhibition. Til denne anvendelse tilsættes den interne kontrol direkte i CMV RG Master og CMV Mg-Sol som beskrevet i trin 2b i protokollen (side 15).

# Protokol: PCR og dataanalyse

## Vigtige anvisninger før start

- Brug tid på at blive fortrolig med Rotor-Gene Q-instrumentet, før protokollen startes. Se brugervejledningen til det pågældende instrument for at få mere information.
- Sørg for, at mindst en kvantiteringsstandard og en negativ kontrol (vand, PCR-kvalitet) er med i hver PCR-kørsel. For at generere en standardkurve bruges alle 4 kvantiteringsstandarder, der medfølger (CMV QS 1-4), til hver PCR-kørsel.

## Ting, der skal gøres før start

- Sørg for, at køleblokken (tilbehør til Rotor-Gene Q-instrumentet) er forkølet til 2-8 °C.
- Alle reagenser skal, inden testen startes, optøes fuldstændigt ved stuetemperatur, blandes godt (gentagen pipettering eller kort vortexen) og centrifugeres kort.

## Procedure

1. Anbring det ønskede antal PCR-rør i køleblokkens adaptere.
2. Hvis du anvender den interne kontrol til at monitorere oprensningen af DNA og til at kontrollere en eventuel inhibition af PCR, følges trin 2a. Hvis du kun anvender den interne kontrol til at kontrollere en inhibition af PCR, følges trin 2b.

**Bemærk:** Det anbefales kraftigt at tilsætte den interne kontrol i CMV RG Master og CMV Mg-Sol, der bruges til kvantiteringsstandarderne. For kvantiteringsstandarderne tilsættes den interne kontrol direkte til CMV RG Master og CMV Mg-Sol som beskrevet i trin 2b i protokollen. Brug denne master-blanding til hver kvantiteringsstandard (CMV QS 1-4).

- 2a. Den interne kontrol er allerede tilsat oprensningen (se *Intern kontrol*, side 13). I dette tilfælde klargøres en master-blanding ifølge tabel 2 (næste side). Reaktionsblandingen indeholder typisk alle de komponenter, der skal anvendes til PCR, undtagen prøven.

**Tabel 2. Klargøring af Master Mix (intern kontrol anvendes til at monitorere DNA-oprensning og kontrollere for hæmning af PCR)**

<b>Antal prøver</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
CMV RG Master	25 µl	300 µl
CMV Mg-Sol	5 µl	60 µl
CMV RG IC	0 µl	0 µl
Samlet volumen	30 µl	360 µl

2b. Den interne kontrol skal tilsættes direkte til blandingen af CMV RG Master og CMV Mg-Sol. I dette tilfælde klargøres en master-blanding ifølge tabel 3.

Reaktionsblandingen indeholder typisk alle de komponenter, der skal anvendes til PCR, undtagen prøven.

**Tabel 3. Klargøring af Master Mix (intern kontrol anvendes kun til at kontrollere for hæmning af PCR)**

<b>Antal prøver</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
CMV RG Master	25 µl	300 µl
CMV Mg-Sol	5 µl	60 µl
CMV RG IC	2 µl	24 µl
Samlet volumen	32 µl*	384 µl*

\*Volumenforøgelsen forårsaget af tilsætning af den interne kontrol overses, når du klargør PCR-analysen. Detektionssystemets sensitivitet påvirkes ikke.

3. Pipetter 30 µl af master-blandingens i hvert PCR-rør, og tilsæt derefter 20 µl af det eluerede prøve-DNA (se tabel 4). Der skal tilsvarende bruges 20 µl af mindst én af kvantiteringsstandarderne (CMV QS 1-4) som positiv kontrol og 20 µl vand (vand, PCR-kvalitet) som negativ kontrol.

**Tabel 4. Klargøring af PCR-analyse**

<b>Antal prøver</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
Master-blanding	30 µl	30 µl hver
Prøve	20 µl	20 µl hver
Samlet volumen	50 µl	50 µl hver
Antal prøver	1	12

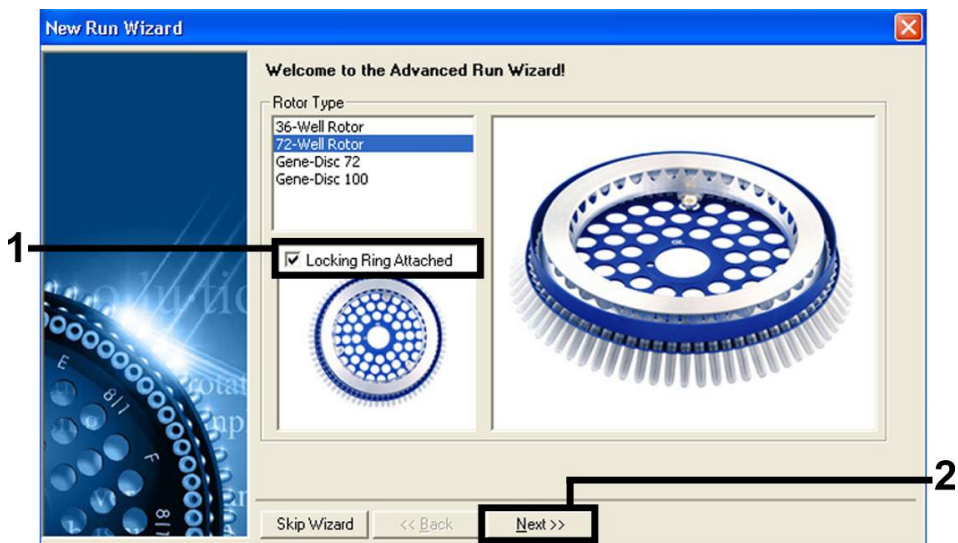
4. Luk PCR-rørene. Sørg for, at låseringen (tilbehør til Rotor-Gene-instrumentet) er placeret oven på rotoren for at forebygge utilsigtet åbning af rørene under kørslen.
5. For detektion af CMV DNA oprettes en temperaturprofil i henhold til de følgende trin.

Indstilling af generelle analyseparametre	Figur 1, figur 2 og figur 3
Første aktivering af hot start-enzymet	Figur 4
Amplifikation af DNA'et (touchdown PCR)	Figur 5
Justering af fluorescenskanalens sensitivitet	Figur 6
Start kørslen	Figur 7

Alle specifikationer henviser til Rotor-Gene Q-software version 2.3.5 og nyere. Yderligere oplysninger om programmering af Rotor-Gene-instrumenter kan ses i instrumentets brugervejledning. På illustrationerne er indstillingerne fremhævet med sorte kasser. Illustrationerne er inkluderet for Rotor-Gene Q-instrumenter.

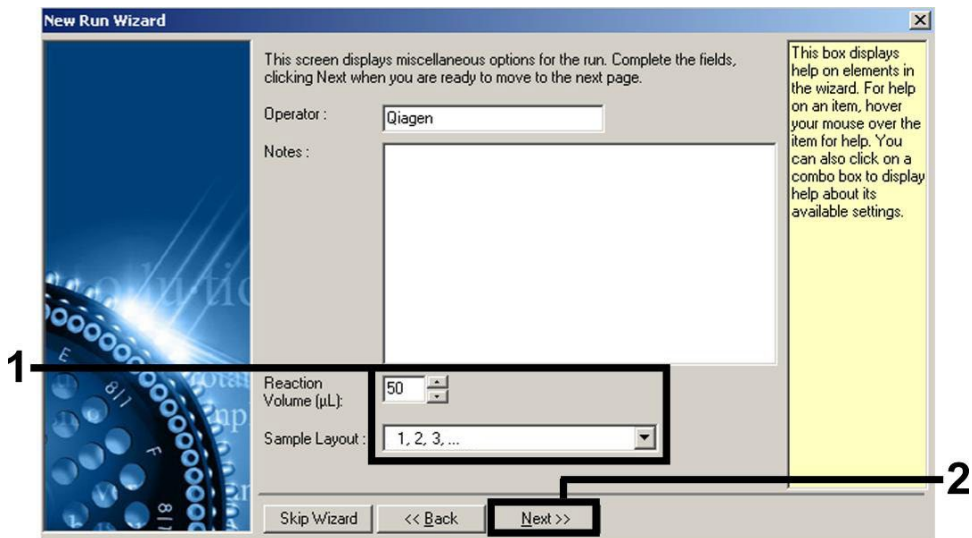
6. Åbn dialogboksen **New Run Wizard** (Guiden Ny kørsel) (figur 1, næste side). Markér afkrydsningsfeltet **Locking Ring Attached** (Låsering påsat), og klik på **Next** (Næste).





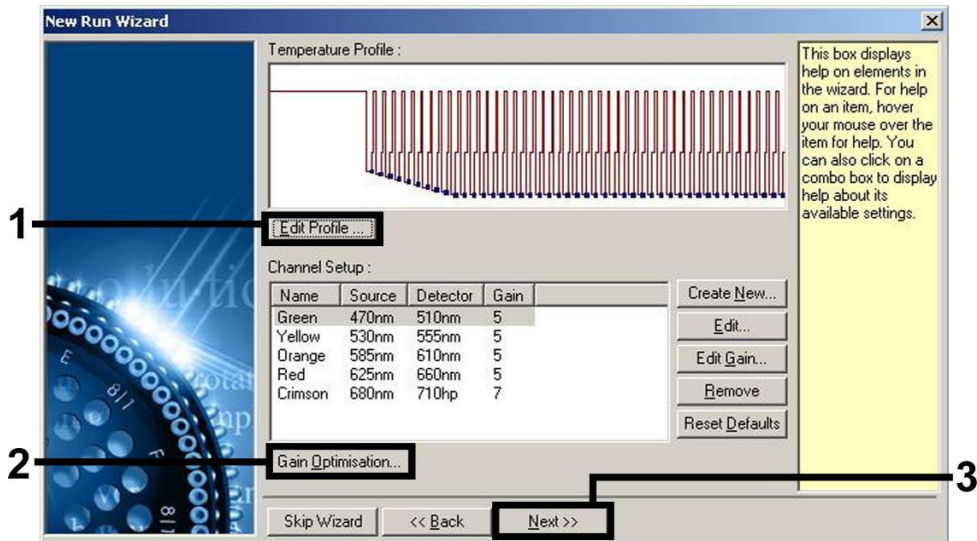
Figur 1. Dialogboksen "New Run Wizard" (Guiden Ny kørsel).

7. Vælg 50 for PCR-reaktionsvolumen, og klik på **Next** (Næste) (figur 2).

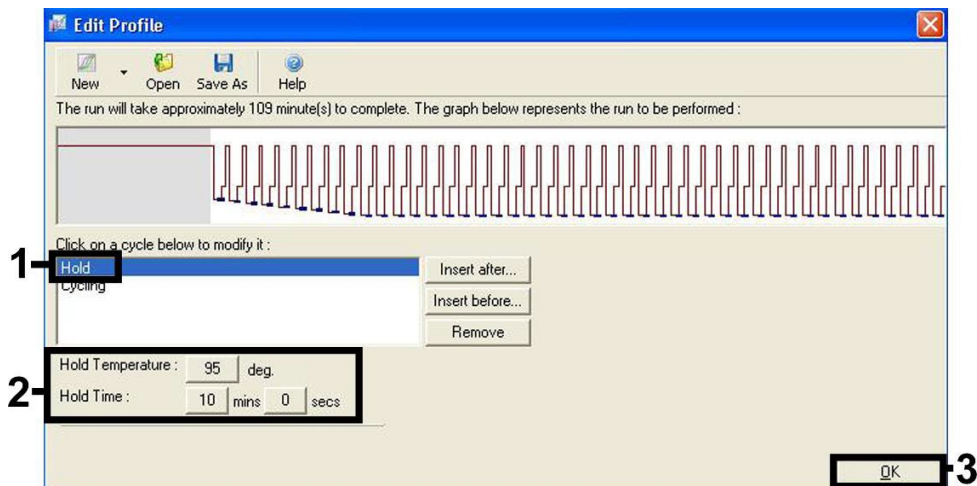


Figur 2. Indstilling af generelle analyseparametre.

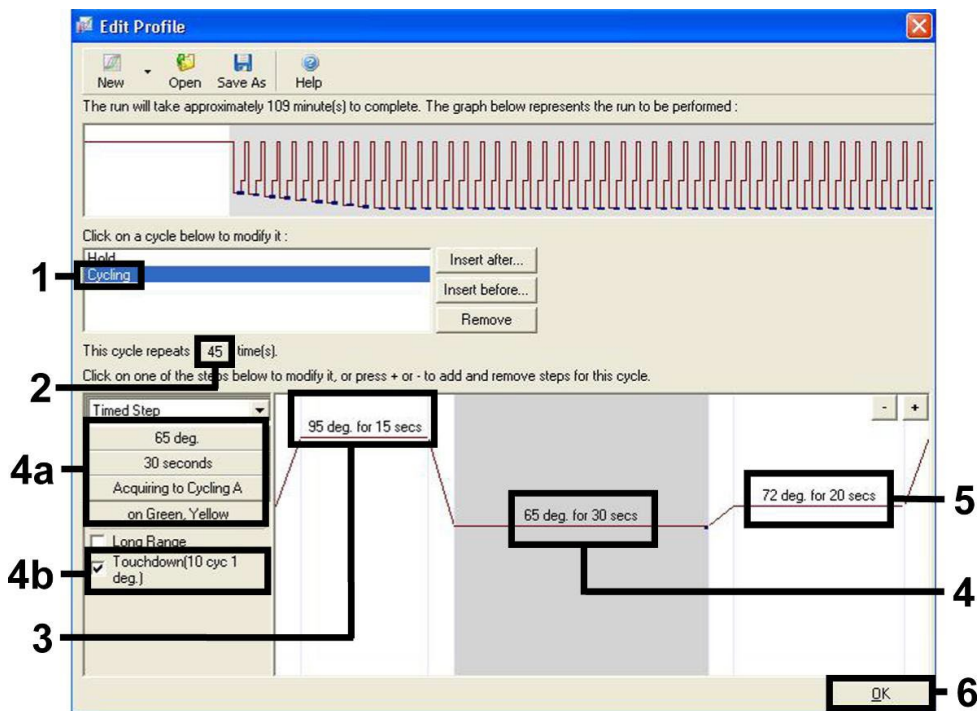
8. Klik på knappen **Edit Profile** (Rediger profil) i den næste dialogboks i **New Run Wizard** (Guiden Ny kørsel) (figur 3), og programmér temperaturprofilen som vist i figur 3 til figur 5).



Figur 3. Redigering af profilen.

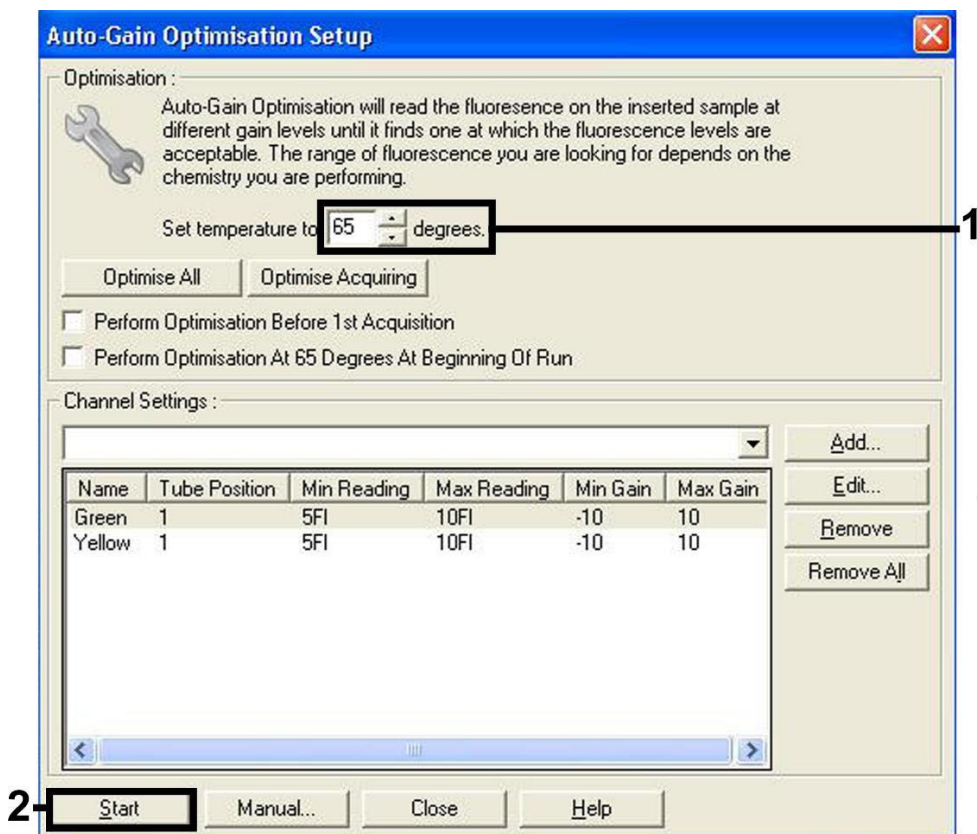


Figur 4. Første aktivering af hot start-enzymet.



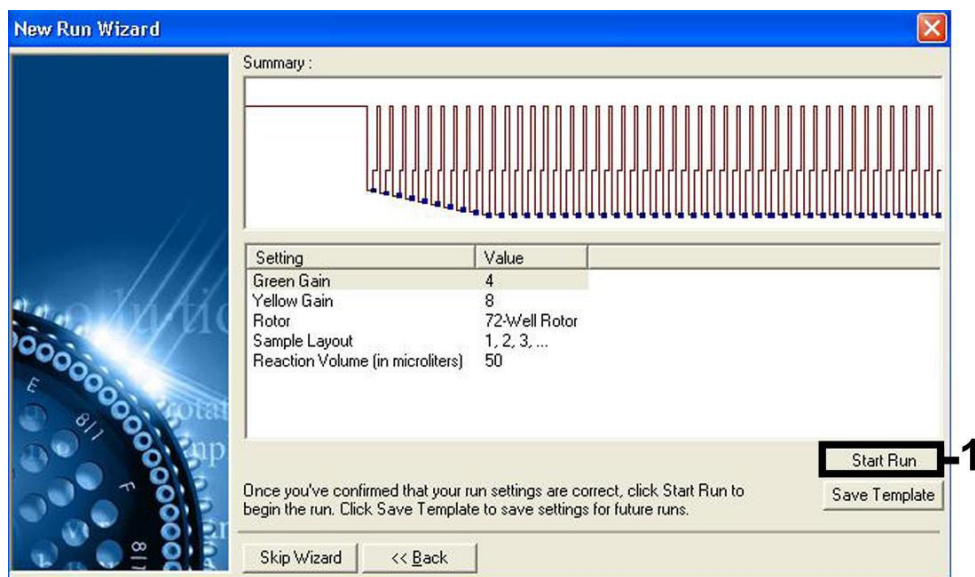
Figur 5. Amplifikation af DNA'et. Sørg for at aktivere touchdown-funktionen for 10 cyklusser i afhærdningstrinnet.

9. Detektionsområdet for fluorescenskanalerne skal bestemmes i henhold til fluorescensintensiteterne i PCR-rørene. Klik på **Gain Optimisation** (Gain-optimering) i dialogboksen **New Run Wizard** (Guiden Ny kørsel) (se figur 3, forrige side) for at åbne dialogboksen **Auto-Gain Optimisation Setup** (opsætning af automatisk gain-optimering). Indstil kalibreringstemperaturen til 65 °C for at matche amplifikationsprogrammets afhærdningstemperatur (figur 6, næste side).



Figur 6. Justering af fluorescenskanalens sensitivitet.

- Gain-værdierne, der bestemmes af kanalkalibreringen, gemmes automatisk og angives i det sidste menuvindue i programmeringsproceduren (figur 7, næste side). Klik på **Start Run** (Start kørsel).



Figur 7. Start kørslen.

# Fortolkning af resultater

## Kvantificering

De vedlagte kvantiteringsstandarder (CMV QS 1-4) behandles som allerede oprensede prøver, og det samme volumen på 20 µl anvendes direkte i PCR (intet behov for yderligere ekstraktion). For at generere en standardkurve på Rotor-Gene Q-instrumenter bør alle 4 kvantiteringsstandarder bruges og defineres i dialogboksen **Edit Samples** (Rediger prøver) som standarder med de specificerede koncentrationer (se instrumentets brugervejledning).

**Bemærk:** For at sikre nøjagtig kvantificering anbefales det kraftigt at tilsætte den interne kontrol i CMV RG Master og CMV Mg-Sol, der bruges til kvantiteringsstandarderne. Til denne anvendelse tilsættes den interne kontrol direkte til CMV RG Master og CMV Mg-Sol som beskrevet i trin 2b i protokollen (side 15). Brug denne master-blanding til hver kvantiteringsstandard (CMV QS 1-4).

**Bemærk:** Kvantiteringsstandarderne defineres som kopier/µl. Følgende formel skal anvendes til at omregne de værdier, som er bestemt ved hjælp af standardkurven, til kopier/ml prøvemateriale:

$$\text{Resultat} \left( \frac{\text{kopier}}{\text{ml}} \right) = \frac{\text{Resultat (kopier/}\mu\text{l)} \times \text{Elueringsvolumen (}\mu\text{l)}}{\text{Prøvevolumen (ml)}}$$

Det initiale prøvevolumen skal altid indsættes i ovenstående formel. Det skal tages i betragtning, når prøvevolumen ændres før nukleinsyreekstraktionen (f.eks. reduktion af volumen ved centrifugering eller øgning af volumen ved at tilsætte det nødvendige volumen til isolationen).

---

**Bemærk:** Kvantiteringsstandarderne er kalibreret efter 1st International Standard for Human Cytomegalovirus (NIBSC-kode: 09/162), som er fastlagt af Verdenssundhedsorganisationen (World Health Organization, WHO).

Sådan konverteres kopier/ml til IE/ml under hensyntagen til QIAamp DSP Virus Kit:

$$\text{WHO (IE/ml)} = 2,933 \times \text{artus CMV (kopier/ml)}$$

**Bemærk:** For QIAamp-workflowet skal kvantificerede prøver være inden for det lineære område for QS  $1 \times 10^1$  til  $1 \times 10^4$  kopier/ $\mu$ l. Uden for dette område kan kvantificering ikke garanteres.

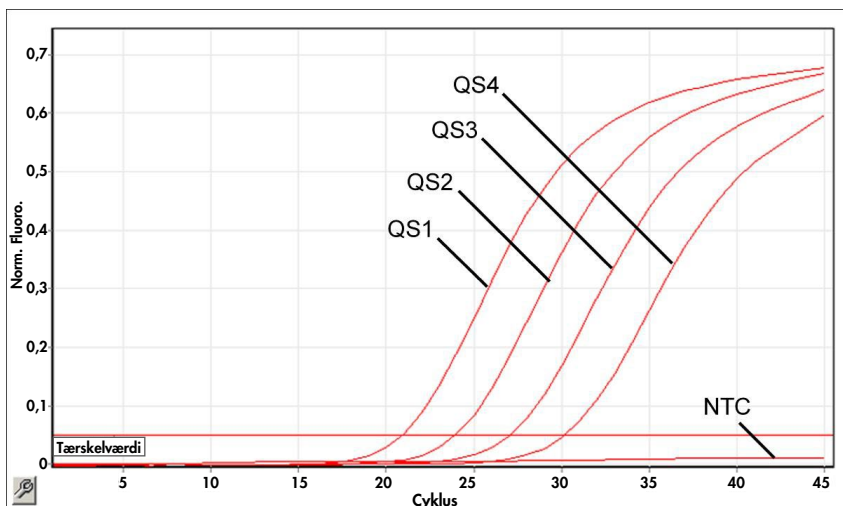
Sådan konverteres kopier/ml til IE/ml under hensyntagen EZ1 DSP Virus Kit på EZ1 Advanced XL-instrumentet:

$$\text{WHO (IE/ml)} = 0,794 \times \text{artus CMV (kopier/ml)}$$

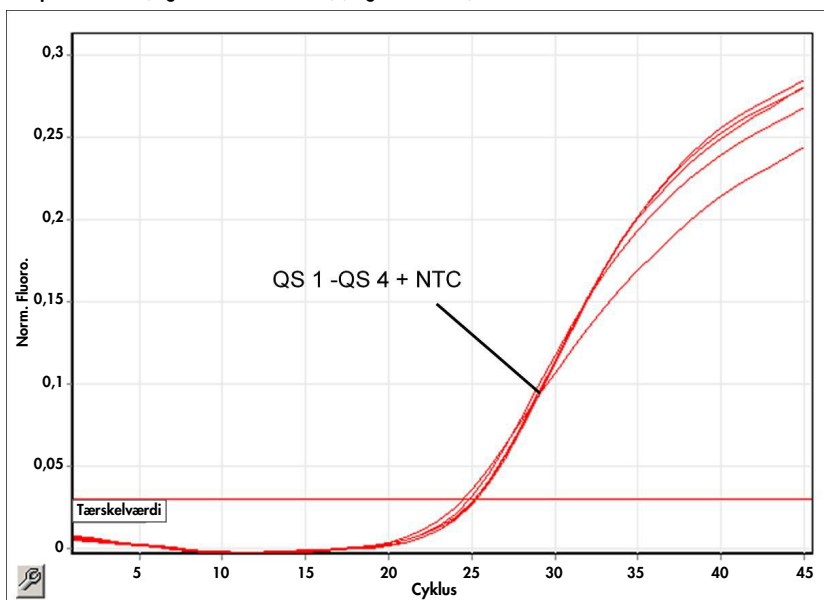
**Bemærk:** For EZ1-workflowet skal kvantificerede prøver være inden for det lineære område  $3,16E+02$  til  $1,00E+08$  kopier/ml. Uden for dette område kan kvantificering ikke garanteres.

## Resultater

Eksempler på positive og negative PCR-reaktioner er givet i figur 8 og figur 9, (næste side).



Figur 8. Detektion af kvantiteringsstandarderne (CMV QS 1-4) i fluorescenskanalen Cycling Green. NTC: No template control (Ingen skabelonkontrol) (negativ kontrol).



Figur 9. Detektion af den interne kontrol (IC) i fluorescenskanalen Cycling Yellow med samtidig amplifikation af kvantiteringsstandarderne (CMV QS 1-4). NTC: No template control (Ingen skabelonkontrol) (negativ kontrol).



---

Der er detekteret et signal i fluorescenskanalen Cycling Green.

Analysens resultat er positivt: prøven indeholder CMV DNA.

I så tilfælde er detektion af et signal i kanalen Cycling Yellow unødvendigt, idet høje initiale koncentrationer af CMV DNA (positivt signal i Cycling Green-kanalen) kan medføre reduceret eller manglende fluorescenssignal af den interne kontrol i Cycling Yellow-kanalen (konkurrence).

Der er ikke detekteret noget signal i fluorescenskanalen Cycling Green. Samtidig vises et signal fra den interne kontrol i Cycling Yellow-kanalen.

Det er ikke muligt at påvise CMV DNA i prøven. Den kan således betragtes som negativ.

I tilfælde af en negativ CMV PCR udelukker det detekterede signal af den interne kontrol muligheden for PCR-hæmning.

Intet signal detekteret i Cycling Green eller Cycling Yellow-kanalerne.

Der kan ikke udledes noget resultat.

Information vedrørende fejlkilder og deres løsning kan findes i "Fejlfindingsvejledning", side 41.

---

# Kvalitetskontrol

I overensstemmelse med QIAGENs ISO-certificerede kvalitetsstyringssystem testes hvert lot af *artus CMV RG PCR Kit* efter fastlagte specifikationer for at sikre en ensartet produktkvalitet.

## Begrænsninger

Alle reagenser er kun til in vitro-diagnostisk brug.

Produktet skal anvendes af personale, som er specielt instrueret og uddannet i in vitro-diagnostiske procedurer.

Det er absolut nødvendigt at følge brugervejledningen til det pågældende instrument nøje for at opnå optimale PCR-resultater.

Bemærk nøje udløbsdatoerne, der er trykt på æsken og etiketterne til alle komponenter. Brug ikke komponenter, der er for gamle.

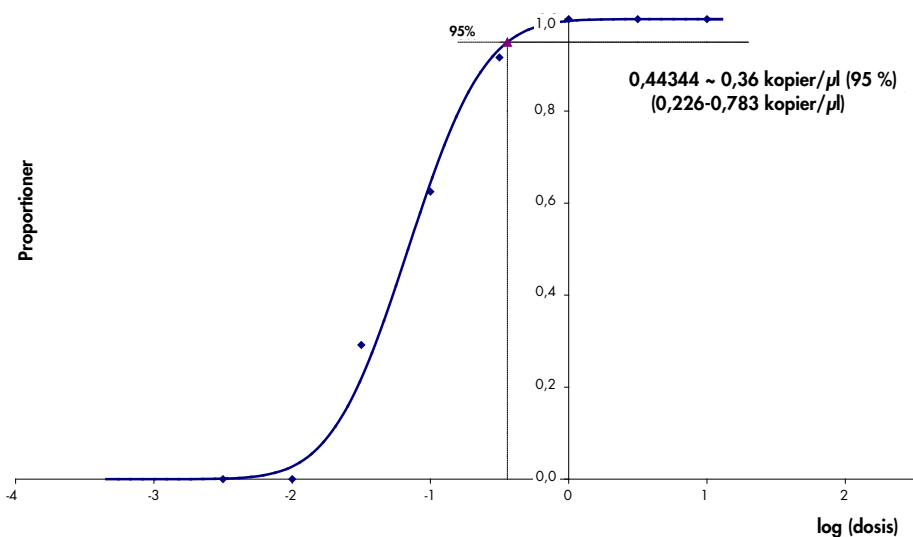
Selv om det er sjældent, kan mutationer i de stærkt konserverede områder af det virale genom, der dækkes af kittets primere og/eller probe, resultere i underkvantitering eller manglende evne til at detektere tilstedeværelsen af virusset i disse tilfælde. Analysedesignets validitet og ydelse revideres jævnligt.

# Ydelseskarakteristika

## Analysesensitivitet

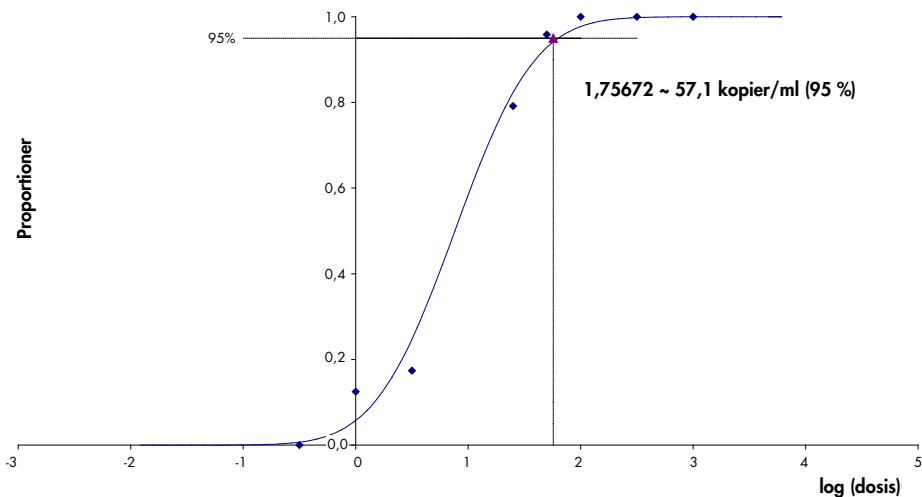
For valideringen af *artus* CMV RG PCR Kit blev både analysesensitiviteten og den analytiske påvisningsgrænse med hensyn til oprensningen (sensitivitetsgrænser) bestemt. Den analytiske påvisningsgrænse med hensyn til oprensningen blev bestemt ved hjælp af CMV-positive kliniske prøver med hensyn til den benyttede oprensningsmetode. I modsætning hertil bestemmes den analytiske påvisningsgrænse uafhængigt af den valgte ekstraktionsmetode med anvendelse af et CMV-DNA med en kendt koncentration.

Til bestemmelsen af analysesensitivitet for *artus* CMV RG PCR Kit blev der udarbejdet en fortyndingsrække af genomisk CMV-DNA af 10 til 0,00316 kopier/ $\mu$ l. Denne blev derefter analyseret ved hjælp af *artus* CMV RG PCR Kit på Rotor-Gene-instrumenter. Undersøgelserne blev gennemført på tre forskellige dage med otte replikater. Resultatet blev udarbejdet ved hjælp af en probit-analyse. En grafisk illustration af probit-analysen på Rotor-Gene 6000 er vist i figur 10 (næste side). Den analytiske påvisningsgrænse for *artus* CMV RG PCR Kit i kombination med Rotor-Gene Q MDx/Q/6000 og Rotor-Gene 3000 er henholdsvis 0,36 kopier/ $\mu$ l ( $p = 0,05$ ) og 0,24 kopier/ $\mu$ l ( $p = 0,05$ ). Det vil sige, at der er 95 % sandsynlighed for, at 0,36 kopier/ $\mu$ l eller 0,24 kopier/ $\mu$ l vil blive detekteret.



**Figur 10. Probit-analyse: CMV (Rotor-Gene 6000). Analytisk sensitivitet for *artus* CMV RG PCR Kit på Rotor-Gene 6000.**

Analysesensitiviteten med hensyn til oprensningen (QIAamp DSP Virus Kit) af *artus* CMV RG PCR Kit på Rotor-Gene-instrumenter blev bestemt ved hjælp af en fortyndingsserie af CMV-virusmateriale fra 1000 til nominelt 0,316 CMV-kopier/ml tilsat i kliniske plasmaprøver. Disse blev underkastet en DNA-ekstraktion med QIAamp DSP Virus Kit (ekstraktionsvolumen: 0,5 ml, elueringsmængde: 60 μl). Hver af de 8 fortyndinger blev analyseret med *artus* CMV RG PCR Kit på 3 forskellige dage med hver 8 replikater. Resultatet blev udarbejdet ved hjælp af en probit-analyse. En grafisk illustration af probit-analysen er vist i figur 11 (næste side). Den analytiske påvisningsgrænse med hensyn til oprensningen af *artus* CMV RG PCR Kit i kombination med Rotor-Gene 3000 er 57,1 kopier/ml ( $p = 0,05$ ). Det vil sige, at der er 95 % sandsynlighed for, at 57,1 kopier/ml vil blive detekteret.



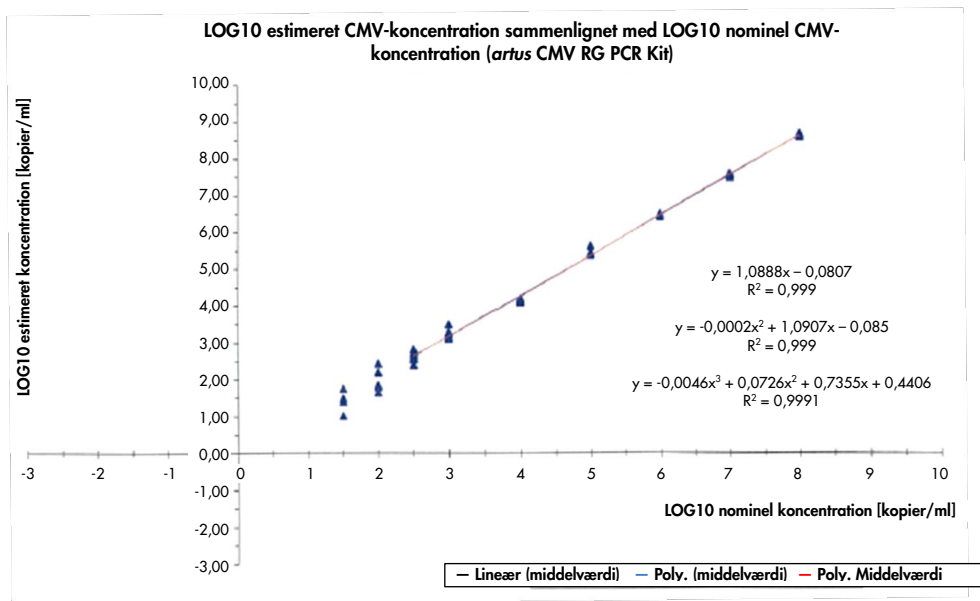
**Figur 11. Probit-analyse: CMV (Rotor-Gene 3000). Analytisk sensitivitet med hensyn til oprensningen (QIAamp DSP Virus Kit, QIAGEN) for *artus* CMV RG PCR Kit på Rotor-Gene 3000.**

Analysesensitiviteten i betragtning af oprensningen med EZ1 DSP Virus Kit (ekstraktionsvolumen: 0,4 ml, elueringsmængde: 60 µl) ved brug af EZ1 Advanced XL-instrumentet i *artus* CMV RG PCR Kit på Rotor-Gene 6000 er 68,75 kopier/ml ( $p = 0,05$ ). Det vil sige, at der er 95 % sandsynlighed for, at 68,75 kopier/ml vil blive detekteret.

## Det lineære område af kvantificeringen

Det lineære område i betragtning af oprensningen med EZ1 DSP Virus Kit (ekstraktionsvolumen: 0,4ml, elueringsmængde: 60 µl) ved anvendelse af EZ1 Advanced XL-instrumentet blev bestemt ved at teste 4 til 6 replikater af CMV-virusmateriale i en fortyndingsserie fra  $3,16E+01$  til  $1,00E+08$  kopier/ml.

En grafisk illustration af probit-analysen er vist i figur 12 (næste side).



**Figur 12. Polynomisk regression af datasættet for *artus* CMV RG PCR Kit i betragtning af oprensningen (EZ1 DSP Virus Kit) på EZ1 Advanced XL-instrumentet. Lineære, kvadratiske og kubiske regressionsmodeller er inkluderet.**

Det lineære område for *artus* CMV RG PCR Kit i betragtning af oprensningen med EZ1 DSP Virus Kit (ekstraktionsvolumen: 0,4ml, elueringsmængde: 60 µl) ved brug af EZ1 Advanced XL-instrumentet er 3,16E+02 til 1,00E+08 kopier/ml.

**Bemærk:** Det lineære område for *artus* CMV RG PCR Kit i betragtning af oprensningen med QIAamp DSP Virus Kit (ekstraktionsvolumen: 0,4 ml, elueringsmængde: 60 µl), er 1,00E+01 til 1,00E+04 kopier/µl.

## Specificitet

Specificiteten for *artus* CMV RG PCR Kit sikres først og fremmest gennem udvalget af primere og prober samt ved valget af stringente reaktionsbetingelser. Primere og prober blev kontrolleret for mulige homologier med alle sekvenser, der er publiceret i genbanker, med sekvenssammenligningsanalyse. Detekterbarheden for alle relevante stammer er således blevet sikret.

Desuden blev specificiteten valideret med 100 forskellige CMV-negative plasmaprøver. 99 af disse prøver genererede ikke nogen signaler med CMV-specifikke primere og prober, som indgår i CMV RG Master.

**Bemærk:** 1 prøve, der genererede et signal i de CMV-specifikke primere og prober, der også testede CMV-positive i *artus* CMV LC Kit og TM RG PCR Kit, er sandsynligvis positiv. Den endelige specificitet baseret på test af 100 individuelle donorprøver blev verificeret som 99,00 % (99/100).

En potentiel krydsreaktivitet i *artus* CMV RG PCR Kit blev testet med den kontrolgruppe, der er angivet i tabel 5. Ingen af de testede patogener var reaktive. Der viste sig ingen krydsreaktiviteter ved blandede infektioner.

**Tabel 5. Testning af kittets specificitet med potentielt krydsreaktive patogener.**

Kontrolgruppe	CMV (Cycling Green eller Cycling A.FAM)	Intern kontrol (Cycling Yellow eller A. JOE)
Humant herpesvirus 1 (Herpes simplex virus 1)	–	+
Humant herpesvirus 2 (Herpes simplex virus 2)	–	+
Humant herpesvirus 3 (Varicella-zoster-virus)	–	+
Humant herpesvirus 4 (Epstein-barr-virus)	–	+
Humant herpesvirus 6A	–	+
Humant herpesvirus 6B	–	+
Humant herpesvirus 7	–	+
Humant herpesvirus 8 (herpesvirus forbundet med Kaposi sarkom)	–	+
Hepatitis A-virus	–	+
Hepatitis B-virus	–	+
Hepatitis C-virus	–	+

(fortsættes på næste side)

Tabel 5 (fortsat fra foregående side)

Kontrolgruppe	CMV (Cycling Green eller Cycling A.FAM)	Intern kontrol (Cycling Yellow eller A. JOE)
Humant immundefektvirus 1	–	+
Humant T-celleleukæmi-virus 1	–	+
Humant T-celleleukæmi-virus 2	–	+
West Nile-virus	–	+
Enterovirus	–	+
Parvovirus B19	–	+

## Præcision

Præcisionsdata for *artus* CMV RG PCR Kit er indsamlet ved hjælp af Rotor-Gene-instrumenter og tillader bestemmelsen af totalvariansen for testsystemet. Den totale varians består af variabilitet inden for analysen (variabiliteten af flere resultater af prøver med samme koncentration inden for et eksperiment), variabiliteten mellem analyser (variabiliteten af flere resultater af analysen genereret på forskellige instrumenter af samme type af forskellige operatører inden for et laboratorium) og variabiliteten mellem batches (variabiliteten af flere resultater af analysen ved brug af forskellige batches). De opnåede data blev brugt til at bestemme standardafvigelsen, variansen og variationskoefficienten for den patogenspecifikke og den interne kontrol-PCR.

Præcisionsdata for *artus* CMV RG PCR blev indsamlet ved hjælp af kvantiteringsstandarderne med den laveste koncentration (QS 4; 10 kopier/ $\mu$ l). Testene blev foretaget med 8 replikater. Præcisionsdata blev beregnet på basis af  $C_T$ -værdierne af amplifikationskurverne ( $C_T$ : tærskelcyklus, se tabel 6, næste side). Desuden blev præcisionsdata for kvantitative resultater i kopier/ $\mu$ l bestemt ved hjælp af de tilsvarende  $C_T$ -værdier (se tabel 7, næste side). Baseret på disse resultater er den samlede statistiske spredning af enhver given prøve med den nævnte koncentration 1,21% ( $C_T$ ) eller 14,38% (koncentration) og 1,93% ( $C_T$ ) for detektion af den interne kontrol. Disse værdier er baseret på helheden af enkeltværdierne af alle konstaterede variationer.



**Tabel 6. Præcisionsdata på basis af C<sub>v</sub>-værdierne**

	<b>Standardafvigelse</b>	<b>Varians</b>	<b>Variationskoefficient (%)</b>
Variabilitet inden for analysen: CMV QS 4	0,17	0,03	0,57
Variabilitet inden for analysen: Intern kontrol	0,31	0,10	1,16
Variabilitet mellem analyser: CMV QS 4	0,38	0,14	1,27
Variabilitet mellem analyser: Intern kontrol	0,47	0,22	1,77
Variabilitet mellem batches: CMV QS 4	0,33	0,11	1,10
Variabilitet mellem batches: Intern kontrol	0,53	0,28	2,02
Total varians: CMV QS 4	0,36	0,13	1,21
Total varians: Intern kontrol	0,51	0,26	1,93

**Tabel 7. Præcisionsdata på basis af de kvantitative resultater (i kopier/μl)**

	<b>Standardafvigelse</b>	<b>Varians</b>	<b>Variationskoefficient (%)</b>
Variabilitet inden for analysen: CMV QS 4	1,34	1,80	13,30
Variabilitet mellem analyser: CMV QS 4	1,54	2,38	15,25
Variabilitet mellem batches: CMV QS 4	1,46	2,12	14,41
Total varians: CMV QS 4	1,45	2,11	14,38

## Interfererende stoffer

CMV DNA blev tilsat i negativt plasma i forskellige kommercielt tilgængelige blodprøvetagningssystemer med forskellige antikoagulantia. Den beregnede koncentration (kopier/ml,  $C_T$ -middelværdi, -standardafvigelse, -varians og -CV % er rapporteret i tabel 8. Standardafvigelsen og variationskoefficienten ligger inden for området på 5 % og dermed inden for acceptområdet. Der blev ikke identificeret nogen væsentlig indvirkning på PCR på grund af de forskellige stoffer.

**Tabel 8. Data fra kommercielle blodprøvetagningssystemer og antikoagulantia**

Stof	Koncentration (kopier/ml)	$C_T$ -middelværdi	$C_T$ -standardafvigelse	$C_T$ -varians	$C_T$ CV (%)
Kalium EDTA, Becton Dickinson®	399,60	31,06	0,11	0,01	0,36
Kalium EDTA, Sarstedt	350,10	31,26	0,30	0,09	0,97
Kalium EDTA, Greiner Bio-One®	285,00	31,58	0,50	0,25	1,58
Kalium EDTA, Springe (reference)	310,40	31,40	0,16	0,03	0,52
Kalium EDTA, Sarstedt (reference)	487,20	30,80	0,14	0,02	0,47
Kalium EDTA (graviditet)	423,30	33,2	0,26	0,07	0,79

Endogene stoffer (tabel 9, næste side) blev tilsat CMV-positive EDTA-plasmaprøver ved 3 x LOD og 10 x LOD. Alle prøver blev med påvist med vellykket resultat, og der blev ikke observeret nogen interferens for prøver, der indeholdt forhøjede niveauer af endogene inhibitorer (bilirubin, hæmoglobin, triglycerid og albumin).

**Tabel 9. Testede endogene stoffer**

Interfererende stoffer	Koncentration af interfererende stoffer
Bilirubin	30 mg/dl
Hæmoglobin	2 g/dl
Triglycerid	1 g/dl
Albumin	6 g/dl

Lægemidler, der almindeligvis anvendes i transplantationssituationer, blev testet med 3x den akutte peak-koncentration efter en lægemiddeltherapeutisk behandling, som anbefalet i CLSI® retningslinjen EP07-A2 (11) (se tabel 10). Hvert af disse stoffer blev tilsat både CMV-negative og CMV-positive prøver, der blev testet i 4 replikater.

Alle testede eksogene stoffer viste ingen væsentlig indvirkning på ydeevnen af *artus CMV RG* PCR Kit.

**Tabel 10. Liste over lægemidler, der blev testet som eksogene stoffer**

Interfererende stoffer	Testkoncentration
<b>Antibiotika</b>	
Sulfamethoxazol	200 mg/l
Trimethoprim	5,2 mg/l
Claforan® (cefotaxim)	1 g/l
Tazobac® (piperacillin + tazobactam)	Piperacillin: 1 g/l Tazobactam: 125 mg/l
Ticarcillin	1 g/l
Augmentin® (amoxicillin + clavulansyre)	Amoxicillin: 125 mg/l Clavulansyre: 25 mg/l
Vancomycin	125 mg/l
<b>Antifungalt</b>	
Fluconazol	1 mg/l
<b>Immunsuppressive lægemidler</b>	
Rapamycin	100 mg/l
Mycophenolatnatrium	80 mg/l

## Robusthed

Kontrol af robustheden bruges til bestemmelsen af den samlede udskillelsesrate for *artus* CMV RG PCR Kit. Hertil blev benyttet 100 CMV negative plasmaprøver blandet med CMV ved en endelig koncentration af 170 kopier/ml (cirka tredobbelt koncentration af analysesensitivitetsgrænsen). Efter oprensningen med QIAamp DSP Virus Kit blev disse prøver analyseret med *artus* CMV RG PCR Kit. Fejlraten udgjorde for alle CMV-prøver 0 %. Robustheden af den interne kontrol blev yderligere kontrolleret gennem oprensning og analyse af 100 CMV-negative plasmaprøver. Dermed er robustheden for *artus* CMV RG PCR Kit  $\geq 99$  %.

## Reproducerbarhed

Dataene for reproducerbarheden registreres for at kunne foretage en regelmæssig vurdering af effekten af *artus* CMV RG PCR Kit samt for en sammenligning med effekten af andre produkter. Disse data indhentes ved at deltage i etablerede færdighedsprogrammer.

Ud over deltagelse i etablerede færdighedsprogrammer blev et CMV-panel med 10 medlemmer (tabel 11) testet på tre forskellige eksterne laboratorier ved hjælp af EZ1 DSP Virus Kit på EZ1 Advanced XL-instrumentet for at oprense nukleinsyre og *artus* RG PCR Kit for at teste DNA-eluatet.

**Tabel 11. Oversigt over CMV-panelmedlemmer**

Panelnummer (panelmedlemstype)	Panelmedlem	Fortyndingseffekt
1001 (1)	Negativ	Negativ pool 1
1002 (1)	Negativ	Negativ pool 2
1003 (2)	Højt negativ	50 % positiv
1004 (2)	Højt negativ	50 % positiv
1005 (3)	Lavt positiv	200 kopier/ml
1006 (3)	Lavt positiv	200 kopier/ml
1007 (4)	Moderat positiv	2.000 kopier/ml
1008 (4)	Moderat positiv	2.000 kopier/ml
1009 (5)	Højt positivt	200.000 kopier/ml
1010 (5)	Højt positivt	200.000 kopier/ml

Panelet med 10 medlemmer blev testet i to eksemplarer af 2 forskellige operatører hver dag i 6 dage på hvert sted med 3 reagenskitlot. Derfor er 20 prøver ganget med 2 operatører i 6 dage på 3 steder lig med 720 datapunkter.

Den samlede reproducerbarhed af *artus* CMV RGQ MDx-testen blev målt til at være  $\leq 12\%$  CV for prøver med en koncentration på mellem 200 kopier/ml og 200.000 kopier/ml (tabel 12)

**Tabel 12. Samlet oversigt (hver panelmedlemstype) – observerede gennemsnit**

panel_medlems_type	Antal obs.	Middelværdi	Median	Standardafvigelse	Procent CV	Minimum
1	144	0,02	0,00	0,158	849,84	0,00
2	144	0,68	0,83	0,630	92,19	-0,10
3	144	1,91	1,95	0,226	11,83	0,98
4	144	2,96	2,96	0,168	5,68	2,16
5	144	5,03	5,03	0,091	1,80	4,75

Den samlede oversigt over den procentmæssige varians og standardafvigelse for log<sub>10</sub> IE/ml-værdierne for hvert af de 5 paneler på for alle lot, steder, operatører, dage, mellem kørsler og inden for samme kørsler er vist i tabel 13 (næste side).

Tabel 13. Samlet oversigt over varians og standardafvigelse

Prøve	1	2	3	4	5	
<b>Prøvetype</b>	negativ	højt negativ	lavt positiv	moderat positiv	højt positiv	
<b>Observeret middelværdi for log<sub>10</sub> IE/ml</b>	0,02	0,68	1,91	2,96	5,03	
<b>Antal tests</b>	144	144	144	144	144	
<b>Mål</b>	<b>% varians Standardafvigelse</b>					
<b>Varianskomponent</b>	<b>Lot</b>	0	3,10	0	0	3,00
		0	0,113	0	0	0,016
	<b>Sted</b>	0	0	0	0,90	0
		0	0	0	0,016	0
	<b>Operatør</b>	4,3	4,6	0	18,8	15,4
		0,033	0,136	0	0,074	0,037
	<b>Dag</b>	0	0	8,60	6,00	48,10
		0	0	0,067	0,042	0,065
	<b>Mellem kørsler</b>	0	0	4,40	10,90	7,90
		0	0	0,048	0,057	0,026
	<b>Inden for kørsel</b>	95,7	92,3	87	63,40	25,60
		0,155	0,611	0,212	0,136	0,048
	<b>I alt</b>	100	100	100	100	100
	0,158	0,635	0,227	0,171	0,094	

## Diagnostisk evaluering

artus CMV RG PCR Kit blev evalueret i en undersøgelse, der havde til formål at sammenligne artus CMV RG PCR Kit med COBAS® AMPLICOR® CMV MONITOR® Test. Der blev analyseret 156 retrospektive og prospektive kliniske EDTA-plasmaprøver. Alle prøver var tidligere analyseret som positive eller negative ved hjælp af COBAS AMPLICOR CMV MONITOR til rutinediagnosticering.

CMV DNA til test af *artus* CMV RG PCR Kit blev isoleret ved hjælp af QIAamp DSP Virus Kit, med den interne kontrol i *artus* CMV RG PCR Kit tilsat i isolationen, og der blev udført analyse på Rotor-Gene 3000. Prøverne til COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test blev behandlet og analyseret ifølge producentens anvisninger i indlægssedlen.

Alle 11 prøver, der blev testet positive med COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test, blev også testet positive med *artus* CMV RG PCR Kit. 123 af 145 prøver, der blev testet negative med COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test, blev også testet negative med *artus* CMV RG PCR Kit. Der blev opnået 22 diskrepante resultater (tabel 14).

**Tabel 14. Resultater af det sammenlignende valideringsstudie.**

		COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test		
		+	-	I alt
<i>artus</i> CMV RG PCR Kit	+	11	22	33
	-	0	123	123

Hvis resultaterne af COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Testen bruges som reference, er den diagnostiske sensitivitet for alle prøver i *artus* CMV RG PCR Kit 100 %, og den diagnostiske specificitet er 84,8 %.

Yderligere test af de 22 diskrepante prøver bekræftede resultaterne af *artus* PCR-kittene. Det kan derfor antages, at diskrepansen er betinget af den højere sensitivitet af *artus* CMV RG PCR Kit.

# Litteraturhenvisninger

1. Plosa E.J., Esbenshade J.C., Fuller M.P., and Weitkamp J.H. (2012). Cytomegalovirus Infection. *Pediatr. Rev.* **33**, 156-163.
2. Furui Y., Satake M., Hoshi Y., Uchida S., Suzuki K., and Tadokoro K. (2013). Cytomegalovirus (CMV) seroprevalance in Japanese blood donors and high detection frequency of CMV DNA in elderly donors. *Transfusion.* **53**, 2190-2197.
3. Atabani, S.F., et al. (2012). Cytomegalovirus replication kinetics in solid organ transplant recipients managed by preemptive therapy. *Am. J. Transplant.* **12**, 2457-2464.
4. Enders G., Daiminger A., Bäder U., Exler S., and Enders M. (2011). Intrauterine transmission and clinical outcome of 248 pregnancies with primary cytomegalovirus infection in relation to gestational age. *J. Clin. Virol.* **52**, 244-246.
5. Kotton, C.N., et al. (2018). The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-organ Transplantation. *Transplantation.* **102**, 900-931.
6. Lancini D, Faddy H.M., Flower R., and Hogan C. (2014). Cytomegalovirus disease in immunocompetent adults. *Med. J. Aust.* **201**, 578-580.
7. Eddleston M, Peacock S, Juniper M, and Warrell DA. (1997). Severe cytomegalovirus infection in immunocompetent patients. *Clin. Infect. Dis.* **24**, 52-56.
8. Mackay, I.M. (2004). Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin. Microbiol. Infect.* **10**, 190-212.
9. Nesbitt S.E., Cook L., Jerome K.R. (2004). Cytomegalovirus quantitation by real-time PCR is unaffected by delayed separation of plasma from whole blood. **42**, 1296-1297.
10. Abdul-Ali D., Kraft C.S., Ingersoll J., Frempong M., Caliendo A.M. (2011). Cytomegalovirus DNA stability in EDTA Anti-Coagulated Whole Blood and Plasma Samples. *J. Clin. Virol.* **52**, 222-224
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2005). *Interference Testing in Clinical Chemistry: Approved Guideline – Second Edition*. CLSI Document EP07-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS).



# Fejlfindingsvejledning

Denne fejlfindingsvejledning kan være nyttig til at afhjælpe eventuelle problemer. For yderligere information henvises også til siden med hyppigt stillede spørgsmål (Frequently Asked Questions, FAQ) hos vores tekniske supportcenter: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx).

## Kommentarer og forslag

### Intet signal ved positive kontroller (CMV QS 1-4) i fluorescenskanal Cycling Green

- |   |   |
|---|---|
| a) Den valgte fluorescenskanal til PCR-dataanalyse er ikke i overensstemmelse med protokollen   | Ved dataanalyse vælges fluorescenskanalen Cycling Green for analytisk CMV PCR, og fluorescenskanalen Cycling Yellow for intern kontrol PCR. |
| b) Ukorrekt programmering af temperaturprofilen for Rotor-Gene-instrument   | Sammenlign temperaturprofilen med protokollen. Se "Protokol: PCR og dataanalyse", side 14.  |
| c) PCR er konfigureret forkert.   | Kontrollér dine arbejdsstrin ved hjælp af pipetteringsskemaet, og gentag i givet fald PCR'en. Se "Protokol: PCR og dataanalyse", side 14.   |
| d) Opbevaringsbetingelserne for en eller flere kitkomponenter var ikke i overensstemmelse med instruktionerne i afsnittet "Opbevaring og håndtering af reagenser" side 10 | Kontrollér opbevaringsbetingelserne og udløbsdatoen for reagenserne (se kittets etiket), og brug evt. et nyt kit.                           |
| e) <i>artus</i> CMV RG PCR Kit er udløbet   | Kontrollér opbevaringsbetingelserne og udløbsdatoen for reagenserne (se kittets etiket), og brug evt. et nyt kit.                           |

### Svagt eller intet signal fra den interne kontrol af en negativ plasmaprøve underkastet oprensning med QIAamp DSP Virus Kit ( $C_t = 27 \pm 3$ , tærskel, 0,03) i fluorescenskanalen Cycling Yellow og samtidigt fravær af signal i kanalen Cycling Green

- |   |   |
|---|---|
| a) PCR-betingelserne stemmer ikke overens med protokollen | Kontrollér PCR-betingelserne (se foroven), og gentag i givent tilfælde PCR'en med korrigerede indstillinger.  |
| b) PCR blev hæmmet  | Sørg for, at du bruger den anbefalede isoleringsmetode og følger producentens vejledning nøje.  |
| c) DNA gik tabt under ekstraktionen                       | Hvis den interne kontrol er tilsat til ekstraktionen, kan et manglende signal fra den interne kontrol være tegn på tab af DNA under ekstraktionen. Sørg for, at du bruger den anbefalede isoleringsmetode (se "DNA-isolation", side 12) og følger producentens vejledning nøje. |

## Kommentarer og forslag









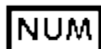




---

- d) Opbevaringsbetingelserne for en eller flere kitkomponenter var ikke i overensstemmelse med instruktionerne i afsnittet "Opbevaring og håndtering af reagenser" side 10
- Kontrollér opbevaringsbetingelserne og udløbsdatoen for reagenserne (se kittets etiket), og brug evt. et nyt kit.
- e) *artus CMV RG PCR Kit* er udløbet
- Kontrollér opbevaringsbetingelserne og udløbsdatoen for reagenserne (se kittets etiket), og brug evt. et nyt kit.

### Signaler med de negative kontroller i fluorescenskanalen *Cycling Green* for den analytiske PCR

- a) Kontamination under klargøring af PCR
- Gentag PCR'en med nye reagenser i replikater.
- Hvis det er muligt, skal PCR-rørene lukkes straks efter tilsætning af den prøve, der skal testes.
- De positive kontroller skal pipetteres til sidst.
- Sørg for, at arbejdsbordene og apparaterne regelmæssigt dekontamineres.
- b) Der forekom kontamination under ekstraktion
- Gentag oprensningen og PCR'en for de prøver der skal undersøges under anvendelse af ubrugte reagenser.
- Sørg for, at arbejdsbordene og apparaterne regelmæssigt dekontamineres.

# Symboler

 $\Sigma$	Indeholder tilstrækkelige reagenser til <N> test
 <N>	Holdbarhedsdato
 <b>IVD</b>	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
 <b>REF</b>	Katalognummer
 <b>LOT</b>	Lotnummer
 <b>MAT</b>	Materialenummer
 <b>COMP</b>	Komponenter
 <b>CONT</b>	Indeholder
 <b>NUM</b>	Antal
 <b>GTIN</b>	Globalt handelsvarenummer
	Temperaturbegrænsning
	Producent
	Læs brugsanvisningen

# Bestillingsinformation

Produkt	Indhold	Kat.-nr.
artus CMV RG PCR Kit (24)	Til 24 reaktioner: Master, magnesiumopløsning, 4 kvantiteringsstandarder, intern kontrol, vand (PCR-kvalitet)	4503263
artus CMV RG PCR Kit (96)	Til 96 reaktioner: Master, magnesiumopløsning, 4 kvantiteringsstandarder, intern kontrol, vand (PCR-kvalitet)	4503265
<b>EZ1 DSP Virus Kit – til automatiseret, samtidig oprensning af viralt DNA og RNA fra 1-14 serum-, plasma- eller CSF-prøver</b>		
EZ1 DSP Virus Kit (48)	Fyldte reagenskassetter, spidsholdere til engangsbrug, filterspidser til engangsbrug, prøverør, elueringsrør, buffere og bærer-RNA	62724
<b>QIAamp DSP Virus Kit – til oprensning af virale nukleinsyrer fra humant plasma til in vitro-diagnostiske formål</b>		
QIAamp DSP Virus Kit	Til 50 præparater: QIAamp MinElute® Spin Columns, buffere, reagenser, spalte-ekstendere og VacConnectors	60704
<b>Rotor-Gene Q MDx og tilbehør</b>		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Real-time PCR-cycler med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, lilla), bærbar computer, software, tilbehør: Inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Real-time PCR-cycler med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet), bærbar computer, software, tilbehør: Inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002023

Produkt	Indhold	Kat.-nr.
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Real-time PCR-cycler og højopløselig smelteanalysator med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, lilla) samt HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør: Inkluderer 1 års garanti mod håndværksmæssige og materielle defekter. Installation og uddannelse er ikke inkluderet	9002032
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Real-time PCR-cycler og højopløselig smelteanalysator med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør: Inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Real-time PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grøn, gul, orange, rød, violet), inkl. bærbar computer, software, tilbehør: inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn. Installation og uddannelse er ikke inkluderet	9002042
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Real-time PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grøn, gul, orange, rød, violet), inkl. bærbar computer, software, tilbehør: Inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002043
Rotor-Gene Q MDx 2plex Platform	Real-time PCR-cycler med 2 kanaler (grøn, gul), bærbar computer, software, tilbehør: inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex System	Real-time PCR-cycler med 2 kanaler (grøn, gul), bærbar computer, software, tilbehør: inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002003
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM Platform	Real-time PCR-cycler og Højopløselig smelteanalysator med 2 kanaler (grøn, gul) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør, inkluderer 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9002012

Produkt	Indhold	Kat.-nr.
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM System	Real-time PCR-cycler og Højopløselig smelteanalysator med 2 kanaler (grøn, gul) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør, inkluderer 1 års garanti på reservedele og arbejdsløn, installation og uddannelse	9002013
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Aluminiumsblok til manuel opsætning af reaktioner med enkeltkanalspipette i 72 x 0,1-ml rør	9018901
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Aluminiumsblok til manuel opsætning af reaktion i et standard 8 x 12-array med 96 x 0,2 ml rør	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 strips a 4 rør og hætter til 1000 reaktioner	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 strips a 4 rør og hætter til 10.000 reaktioner	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 tyndvæggede rør til 1000 reaktioner	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 tyndvæggede rør til 10.000 reaktioner	981008

Opdaterede licensoplysninger og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser findes i håndbogen eller brugsvejledningen til det pågældende QIAGEN-kit. Håndbøger og brugsvejledninger til QIAGEN-kits kan fås via [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller rekvireres hos QIAGEN Teknisk Service eller den lokale distributør.

# Revisionshistorik for dokumentet

Revision	Ændringer
R6, marts 2021	Tilsætning af Det lineære område af kvantificeringen-, Interfererende stoffer- og Reproducerbarhed-snit. Opdateringer af afsnit Tilsigtet anvendelse og Kvantificering. Fjernelse af henvisninger til QIAGEN-instrumenter, der ikke understøttes længere.
R7, december 2021	Rettelse til afsnittet Kittet indeholder i form af tilføjelse af oplysninger om 24-testkitformat

## Aftale om begrænset licens for *artus* CMV RG PCR Kit

Brug af dette produkt betyder, at enhver køber eller bruger af produktet accepterer følgende vilkår:

1. Produktet må kun anvendes i overensstemmelse med protokoller leveret med produktet og denne håndbog og kun med de komponenter, der er i kittet. QIAGEN giver ingen licens, under nogen intellektuel ejendomsret, til at bruge eller inkludere komponenterne i dette kit med komponenter, der ikke er inkluderet i dette kit, undtagen som beskrevet i de protokoller, der følger med produktet, denne håndbog og andre protokoller, der er tilgængelige på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Nogle af disse andre protokoller er stillet til rådighed af QIAGEN-brugere for QIAGEN-brugere. Disse protokoller er ikke grundigt testet eller optimeret af QIAGEN. QIAGEN hverken garanterer for dem eller for, at de ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
2. Ud over de udtrykkeligt givne licenser giver QIAGEN ingen garanti for, at dette kit og/eller brugen af det, ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
3. Dette kit og dets komponenter er under licens til engangsbrug og må ikke genbruges, gendannes eller videresælges.
4. QIAGEN afviser specifikt alle andre licenser, udtrykte eller underforståede, end dem, der udtrykkeligt er angivet.
5. Køberen og brugeren af kittet indvilliger i ikke at tage, eller lade andre tage, skridt, der kunne føre til, eller fremme, handlinger der forbydes ovenfor. QIAGEN kan håndhæve forbuddene i denne begrænsede licensaftale ved enhver domstol og vil inddrive alle undersøgelses- og retsomkostninger, herunder advokatsalærer, i ethvert søgsmål for at håndhæve denne begrænsede licensaftale samt alle deres intellektuelle ejendomsrettigheder i forbindelse med kittet og/eller komponenterne deri.

Opdaterede licensbetingelser kan findes på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Køb af dette produkt giver køberen ret til at bruge det til udførelse af diagnostiske tjenester inden for human in vitro-diagnostik. Der overdrages intet generelt patent eller andre licenser af nogen art udover denne specifikke brugsret i forbindelse med købet.

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, *artus*®, EZ1®, MinElute®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); CLSI®, (Clinical Laboratory and Standards, Inc.); Augmentin® (Glaxo Group Limited); Tazobac® (Pfizer Inc.); AMPPLICOR®, COBAS®, MONITOR® (Roche Group); Claforan (Sanofi-Aventis Group); FAM™, JOE™ (Thermo Fisher Scientific).

HB-0046-009 1126759 R7 12/2021© 2021 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.

---

Bestilling [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Teknisk support [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Websted [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)