

2019 m. Sausio mėn.

„artus[®] HCV QS-RGQ Kit Handbook“



72

2 versija

Skirta naudoti su

„QIASymphony[®] SP/AS“ ir

„Rotor-Gene[®] Q“ instrumentais

IVD

CE⁰¹⁹⁷

REF

4538366



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden
VOKIETIJA

R2 MAT

1115368 LT

Turinys

Numatytoji paskirtis	5
Santrauka ir paaiškinimas	5
Informacija apie patogeną	6
Pagrindinė informacija	6
Klinikinės ligos aprašas	6
Dabartinės gydymo strategijos	7
Pateikiamos medžiagos.....	9
Rinkinio turinys.....	9
Reikalingos, tačiau nepateikiamos medžiagos	11
Mėginio paruošimas	11
„QIASymphony SP“ adapteriai.....	11
„QIASymphony SP“ reagentai ir vartojimo reikmenys.....	11
„QIASymphony AS“ adapteriai.....	12
„QIASymphony AS“ reagentai ir vartojimo reikmenys.....	12
Įranga.....	13
Išorinės viso proceso kontrolinės medžiagos	13
Įspėjimai ir atsargumo priemonės.....	14
Įspėjimai.....	14
Bendrosios atsargumo priemonės.....	15
Reagentų laikymas ir naudojimas.....	16
Procedūra.....	17
Mėginio ėmimas	17
Mėginių gabenimas ir laikymas.....	17
Mėginių ruošimas	18

HCV būdingosios RNR aptikimas.....	19
Procedūra.....	20
Nešančiosios RNR ruošimas ir vidinės kontrolinės medžiagos perkėlimas į mėginius	20
Darbo su „QIASymphony SP/AS“ instrumentais pradžia	21
Viruso RNR gryninimas	21
Tyrimo kontrolės rinkiniai ir tyrimo parametrų rinkiniai	22
Protokolas: RNR išskyrimas ir tyrimo parengimas naudojant „QIASymphony SP/AS“	23
Svarbi informacija prieš pradėdant.....	23
Ką reikia atlikti prieš pradėdant	24
„QIASymphony SP“ parengimas.....	25
Procedūra naudojant „QIASymphony SP/AS“	26
Viruso RNR gryninimas naudojant „QIASymphony SP“	26
„QIASymphony AS“ parengimas.....	28
Vartojimo reikmenys	28
Adapteriai ir reagentų laikikliai	28
Filtrų antgaliai	29
„QIASymphony AS“ stalčių įdėjimas rengiant tyrimą	29
Protokolas: AT-PGR „Rotor-Gene Q“ instrumente	32
Svarbi informacija prieš pradėdant.....	32
Procedūra naudojant „Rotor-Gene Q“ instrumentą	32
Analizės nustatymai.....	35
Procedūros ir mėginio tinkamumo kriterijai.....	36
Viso proceso kontrolės rezultatai	37
Kiekybinis nustatymas	38

Rezultatų vertinimas	39
Darbinės charakteristikos	40
Tuštumo riba ir specifiškumas.....	40
Aptikimo riba (Limit of detection, LOD).....	40
Hepatito C viruso 2–6 genotipų aptikimo riba.....	42
Tiesinis intervalas ir kiekybinio nustatymo riba.....	43
Glaudumas, pakartojamumas ir kintamumas tarp partijų	45
Atkuriamumas	47
Kryžminės reakcijos ir mišrios infekcijos	49
Trukdančios medžiagos	53
Kryžminė tarša	57
Klinikinis efektyvumas	58
Apribojimai.....	60
Kokybės kontrolė.....	60
Literatūra	61
Simboliai.....	63
Trikčių šalinimo vadovas	65
Užsakymo informacija	70

Numatytoji paskirtis

„*artus* HCV QS-RGQ“ tyrimas yra atvirkštinės transkripcijos polimerazinės grandininės reakcijos (AT-PGR) technologija pagrįstas in vitro nukleorūgščių amplifikacijos tyrimas, skirtas naudoti su QS-RGQ instrumentais kiekybiniam hepatito C viruso (HCV) RNR (1–6 genotipų) aptikimui EDTA plazmoje, gautoje iš HCV užsikrėtusių asmenų.

Bendrai su klinikiniais simptomais ir kitais laboratoriniais žymenimis „*artus* HCV QS-RGQ“ tyrimas yra skirtas ligos prognozavimui bei gali būti naudojamas kaip pagalbinė priemonė virusinio atsako į gydymą antivirusiniais vaistais vertinimui matuojant HCV RNR lygio pokyčius žmogaus EDTA plazmoje prieš pradedant gydymą, gydymo metu ir gydymo pabaigoje. „*artus* HCV QS-RGQ“ tyrimas nėra skirtas kraujo, plazmos arba serumo tyrimui dėl HCV infekcijos. Šis tyrimas negali būti naudojamas kaip diagnostinis tyrimas esamos HCV infekcijos patvirtinimui.

Santrauka ir paaiškinimas

„*artus* HCV QS-RGQ Kit“ sudaro paruošta naudoti sistema, skirta HCV RNR aptikimui PGR „Rotor-Gene Q“ instrumentais, kai mėginių ruošimas ir tyrimo parengimas atliekamas naudojant „QIA-symphony SP/AS“ instrumentus. Hepatito C viruso RG A ir B pagrindiniuose mišiniuose yra reagentų ir fermentų, skirtų HCV genomo 69 bazių poros specifinei amplifikacijai ir tiesioginiam specifinio amplikono aptikimui „Rotor-Gene Q“ instrumento fluorescenciniame kanale „Cycling Green“.

„*artus* HCV QS-RGQ Kit“ sudėtyje taip pat yra antra heterologinės amplifikacijos sistema, skirta galimam PGR slopinimui nustatyti. Ji aptinkama naudojant vidinę kontrolinę (internal control, IC) medžiagą „Rotor-Gene Q“ instrumento fluorescenciniame kanale „Cycling Orange“. Analitinės HCV viruso PGR aptikimo riba nesumažėja. Tiekiamos išorinės teigiamos kontrolinės medžiagos (hepatito C viruso RG QS 1–4), kurios leidžia nustatyti viruso RNR kiekį.

Informacija apie patogeną

Pagrindinė informacija

HCV yra flaviviridae šeimos RNR virusas. HCV virusas, turintis apvalkalą ir koduojantis tik 10 brandžių baltymų, sukelia sunkias patologijas, pradedant kepenų uždegimu (hepatitu) ir ciroze bei baigiant hepatoceliuline karcinoma (hepatocellular carcinoma, HCC), kuri visais atvejais yra mirtina. Pasaulyje yra daugiau nei 200 milijonų HCV viruso nešiotojų, o iš jų keturi milijonai gyvena Europoje. HCV infekcija yra viena iš pagrindinių lėtinių kepenų ligų priežasčių visame pasaulyje, o dauguma asmenų nežino, kad yra užsikrėtę. HCV virusas skirstomas į šešis pagrindinius genotipus (1–6). Šiaurės Amerikoje ir Vakarų Europoje labiausiai paplitęs 1 genotipas (a ir b potipiai) (1). Visų genotipų nukleotidai pasižymi tik 55–70 % homologija, be to, nustatyta daugiau nei 80 potipių. Nustatyti genotipą rekomenduojama siekiant užtikrinti tinkamą klinikinę kontrolę ir prognozuoti atsako į gydymą tikimybę (2).

Klinikinės ligos aprašas

Ūmi HCV infekcija daugeliu atveju yra visiškai besimptomė. HCV inkubacinis laikotarpis yra nuo 6 iki 10 savaičių. Liga gali pasižymėti nespecifiniais simptomais, įskaitant anoreksiją, neaiškų diskomfortą pilvo srityje, pykinimą ir vėmimą, karščiavimą ir nuovargį. Retais atvejais šie pradiniai simptomai gali apimti gelta. Tik nedaugeliu ūmia infekcija sergančių asmenų (10–30 %) virusas išnyks. Daugeliu atveju HCV sukelia infekciją visam gyvenimui ir pacientas tampa lėtiniu nešiotu.

Lėtinė HCV infekcija yra apibrėžiama kaip ilgiau nei 6 mėnesius trunkantis ligos tęsinys be pagerėjimo ir išsivysto apytiksliai dviem trečdaliams užkrėstų asmenų. Dar 10–20 % asmenų lėtinė HCV infekcija sukelia cirozę ir kepenų nepakankamumą, o mirtingumas tokiu atveju siekia 25 %. Tik 1–5 % HCV nešiotojų išsivysto HCC, kurios atvejai yra reti, kai pacientai neserga ciroze. Svarbu tai, kad HCV infekcija gali išlikti besimptomė iki 20 metų, kol išsivystys sunkios komplikacijos.

Nors ligos eigą lemiantys mechanizmas nėra iki galo suprasti, nustatyta, kad HCV ligos eigai įtakos turi keli veiksniai. Tai yra amžius (senėjimas yra susijęs su spartesne eiga), lygis (vyrai pasižymi spartesne ligos eiga), alkoholio vartojimas (susijęs su spartesne ligos eiga) ir kepenų ląstelėse esantys riebalai. Be to, patikimai nustatyta, kad ligos eiga žymiai paspartėja kartu užsikrėtus hepatito B virusu (HBV) ir 1 žmogaus imunodeficito virusu (HIV-1) (3).

Dabartinės gydymo strategijos

Gydymo tikslas yra sunaikinti HCV lėtine infekcija sergančių asmenų organizme ir užtikrinti ilgalaikį virusologinį atsaką (IVA), kurį galima laikyti išgyjimu. IVA apibrėžiamas kaip 12 savaičių (IVA12) arba 24 savaites (IVA24) po to, kai buvo baigtas gydymas, neaptinkama HCV RNR, matuojant jautriu RNR tyrimu (kurio aptikimo riba [limit of detection, LOD] yra ≤ 15 IU/ml). Taip įvykus, HCV infekcija išgydoma daugiau nei 99 % pacientų. Ciroze nesergantiems pacientams IVA įprastai yra susijęs su kepenų ligų išgydymu. Ciroze sergantiems pacientams išlieka gyvybei pavojingų komplikacijų pavojus, tačiau gali regresuoti kepenų fibrozė ir sumažėti tokių komplikacijų kaip kepenų nepakankamumas ir portalinė hipertenzija rizika.

Iki 2011 m. lėtinei HCV infekcijai gydyti buvo taikomas patvirtintas 24 arba 48 savaites vartojamų pegiliuoto interferono alfa (PegIFN-a) ir ribavirino derinys. Taikant šį režimą, 1 genotipo HCV užkrėstų pacientų IVA rodiklis Šiaurės Amerikoje buvo apie 40 %, o Vakarų Europoje – 50 %. Apie 75–85 % asmenų, užsikrėtusių 2 arba 3 genotipo virusu, praėjus 6 mėnesiams po to, kai buvo baigtas gydymas, buvo nustatytas IVA, o kitų genotipų (4, 5 ir 6) atveju ši dalis buvo nuo 50 % iki 75 % (2).

2011 m. 1 genotipo HCV infekcijoms gydyti buvo licencijuoti proteazių inhibitoriai telapreviras (TEL) ir bocepreviras (BOC). Tai buvo pirmieji HCV virusą tiesiogiai veikiantys antivirusiniai vaistai (direct-acting antivirals, DAA), darantys poveikį HCV NS3-4A serino proteazėms. TEL ir BOC buvo vartojami kartu su PegIFN-a ir ribavirinu. Prieš tai negydytų dėl 1 genotipo viruso pacientų, kuriems buvo skirtas trigubas gydymas, IVA rodiklis buvo aukštesnis nei taikant dvigubą gydymą vien tik PegIFN-a ir ribavirinu (4).

Vėliau ES ir JAV (ir kai kuriuose kituose regionuose) buvo licencijuoti efektyvesni visus genotipus veikiantys DAA, skirti kombinuotam HCV infekcijos gydymui. Pirmą kartą tapo galimas gydymas neskiriant IFN, o ribavirinas toliau išlieka tam tikruose gydymui naudojamuose deriniuose. BOC ir TEL, naudojamų trigubam gydymui, šalutinis poveikis bei kainos ir IVA rodiklio santykis reiškia, kad idealiu atveju jie neturėtų būti skiriami 1 genotipo HCV užsikrėtusiems pacientams dideles pajamas gaunančiose šalyse. Būtina pažymėti, kad daugelis vidutines pajamas gaunančių šalių tik neseniai gavo leidimą naudoti TEL ir BOC, tačiau dideles pajamas gaunančiose šalyse palaipsniui pereinama prie gydymo naudojant antrosios kartos DAA (2).

Pateikiamos medžiagos

Rinkinio turinys

„artus HCV QS-RGQ Kit“			(72)
Katalogo numeris			4538366
Reakcijų skaičius			72
Mėlyna	Hepatitis C Virus Master A (Hepatitis C viruso A pagrindinis mišinys)	MASTER	3 x 820 µl
Violetinė	Hepatitis C Virus Master B (Hepatitis C viruso B pagrindinis mišinys)	MASTER	3 x 200 µl
Raudona	Hepatitis C Virus RG QS 1 (Hepatitis C viruso RG QS 1) (10^4 IU/µl)		200 µl
Raudona	Hepatitis C Virus RG QS 2 (Hepatitis C viruso RG QS 2) (10^3 IU/µl)		200 µl
Raudona	Hepatitis C Virus RG QS 3 (Hepatitis C viruso RG QS 3) (10^2 IU/µl)		200 µl
Raudona	Hepatitis C Virus RG QS 4 (Hepatitis C viruso RG vidinė kontrolinė medžiaga) (10^1 IU/µl)		200 µl
Žalia	Hepatitis C Virus RG Internal Control (Hepatitis C viruso RG vidinė kontrolinė medžiaga)	IC	2 x 1000 µl
Balta	Water (PCR grade) (Vanduo (PGR klasės))		1900 µl
	Handbook (Vadovas)		1

QS (quantification standard) – kiekybinio nustatymo standartas

Reagentų tūris buvo optimizuotas 24 mėginių, įskaitant kiekybinio nustatymo standartus (QS 1–4) ir kontrolinę medžiagą be matricos (no template control, NTC), partijoms.

Gali būti apdorojama mažiau arba daugiau mėginių, tačiau, kadangi turi būti įtrauktas „QIASymphony SP/AS“ būtinas liekamasis tūris, reikalingas pagrindinis mišinys bus naudojamas neoptimaliai.

Reikalingos, tačiau nepateikiamos medžiagos

Prieš naudodami įsitikinkite, kad visi instrumentai patikrinti ir sukalibruoti pagal gamintojo rekomendacijas. Šis rinkinys skirtas naudoti su „QIASymphony SP/AS“ ir „Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM“ instrumentu*, kuriame yra įdiegta atitinkama programinė įranga (žr. toliau pateiktą informaciją).

Mėginio paruošimas

- „QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit“ (kat. nr. 937055)

„QIASymphony SP“ adapteriai

- Eliuavimo mikromėgintuvėlių stovėlis QS (aušinimo adapteris, EMT, v2, Qsym, kat. nr. 9020730)
- Mėgintuvėlių įdėklas 3B (įdėklas, 2,0 ml v2, mėginių laik. (24), Qsym, kat. nr. 9242083)

„QIASymphony SP“ reagentai ir vartojimo reikmenys

- Mėginių ruošimo kasetės, 8 šulinėlių (kat. nr. 997002)
- 8 strypų dangteliai (kat. nr. 997004)
- Filtrų antgaliai, 1500 µl (kat. nr. 997024)
- Filtrų antgaliai, 200 µl (kat. nr. 990332)
- Eliuavimo mikromėgintuvėliai CL (kat. nr. 19588)

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

- Antgalių išmetimo maišeliai (kat. nr. 9013395)
- 2,0 ml H tipo mikromėgintuvėlai arba 2,0 ml I tipo mikromėgintuvėlai („Sarstedt®“, kat. nr. 72.693 ir 72.694, www.sarstedt.com), skirti naudoti su mėginiais ir vidinėmis kontrolinėmis medžiagomis
- BD mėgintuvėliai 14 ml, 17 x 100 mm polistireno su apvaliu dugnu („Becton Dickinson“, kat. nr. 352051) vidinei kontrolinei medžiagai ruošti

„QIASymphony AS“ adapteriai

- Reagentų laikiklis 1 QS (aušinimo adapteris, 1 reagentų laikiklis, Qsym, kat. nr. 9018090)
- RG mėgintuvėlių juostelės 72 QS (aušinimo adapteris, RG mėgintuvėlių juostelės 72, Qsym, kat. nr. 9018092)

„QIASymphony AS“ reagentai ir vartojimo reikmenys

- Mėgintuvėlių juostelės ir dangteliai, 0,1 ml (kat. nr. 981103)
- Mėgintuvėliai, kūginiai, 2 ml, Qsym AS (kat. nr. 997102) arba 2,0 ml I tipo mikromėgintuvėliai („Sarstedt“, kat. nr. 72.694.005)
- Mėgintuvėlis, kūginiai, 5 ml, Qsym AS (kat. nr. 997104) arba PP mėgintuvėliai su plokščiu pagrindu („Sarstedt“, kat. nr. 60.558.001)
- Reagentų buteliukai, 30 ml, Qsym AS (kat. nr. 997108)
- Eliuavimo mikromėgintuvėliai CL (kat. nr. 19588)
- Filtrų antgaliai, 1500 µl (kat. nr. 997024)
- Filtrų antgaliai, 200 µl (kat. nr. 990332)
- Filtrų antgaliai, 50 µl (kat. nr. 997120)
- Antgalių išmetimo maišeliai (kat. nr. 9013395)

Įranga

- Pipetės (reguliuojamos)* ir sterilūs pipečių antgaliai su filtrais
- Sūkurinė maišyklė*
- Stalinė centrifuga* su rotoriumi, skirta 2 ml reakcijų mėgintuvėliams, gali centrifuguoti 6800 x g jėga
- „Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM“[†] (kat. nr. 9002032) ir „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos 2.3 arba naujesnė versija
- „QIASymphony SP“ instrumentas (kat. nr. 9001297)* ir „QIASymphony AS“ instrumentas (kat. nr. 9001301)* bei „QIASymphony“ programinės įrangos 4.0.3 arba naujesnė versija

Išorinės viso proceso kontrolinės medžiagos

Išorinės viso proceso kontrolinės medžiagos (full process controls, FPC) nėra reikalingos „artus HCV QS-RGQ“ tyrimui atlikti. Tačiau kiekviename laboratorijoje turi būti reguliariai tiriamos teigiamos ir neigiamos kontrolinės medžiagos, vadovaujantis vietinių, valstybės ir (arba) federalinių teisės aktų arba akredituojančių organizacijų reikalavimais ar rekomendacijomis.

Didelės koncentracijos teigiama viso proceso kontrolinė medžiaga (high positive full process control, H-FPC) ir mažos koncentracijos teigiama viso proceso kontrolinė medžiaga (low positive full process control, L-FPC) yra skirtos viso proceso kontrolei. Neigiama viso

* Užtikrinkite, kad instrumentai būtų patikrinti ir sukalibruoti laikantis gamintojo rekomendacijų.

[†] Jei taikoma, 2010 m. sausį arba vėliau pagamintas „Rotor-Gene Q 5plex HRM“ instrumentas. Gamybos datą galima sužinoti iš serijos numerio, esančio ant instrumento galinės dalies. Serijos numerio formatas yra „mmMMnnn“, kur „mm“ nurodo gamybos mėnesį skaitmenimis, „MM“ – paskutinius du gamybos metų skaitmenis, o „nnn“ – unikalų instrumento identifikatorių. † International Air Transport Association (Tarptautinė oro transporto asociacija). Dangerous Goods Regulations (Pavojingiems kroviniams taikomi reglamentai).

proceso kontrolinė medžiaga (negative full process control, N-FPC) aptinka reagento arba aplinkos HCV taršą.

Neigiamas ir teigiamas HCV proceso kontrolines medžiagas rekomenduojama tirti kiekvienos PGR procedūros metu. Su proceso kontrolinėmis medžiagomis turi būti elgiamasi taip pat kaip ir su mėginiais ir jiems turi būti taikoma ta pati RNR išskyrimo procedūra. Šiam tikslui galima naudoti prieš tai aprašytus mėginius.

Įspėjimai ir atsargumo priemonės

Skirta „in vitro“ diagnostikai.

Prieš naudodami tyrimą, atidžiai perskaitykite visas instrukcijas.

Daugiau informacijos rasite atitinkamuose saugos duomenų lapuose (safety data sheets, SDS). Jie pateikiami patogiu ir kompaktišku PDF formatu internete **www.qiagen.com/safety** – čia galite rasti, peržiūrėti ir išspausdinti kiekvieno QIAGEN rinkinio ir jų komponentų SDS.

Norėdami gauti su naudojimu gryninimo rinkiniu susijusios saugos informacijos, žr. atitinkamo rinkinio vadovą. Norėdami gauti su instrumentais susijusios saugos informacijos, žr. atitinkamo instrumento naudotojo vadovą.

Įspėjimai

- Dirbdami su chemikalais, visada dėvėkite tinkamą laboratorinį chalata, mūvėkite vienkartinės pirštines ir naudokite apsauginius akinius.

- Naudoti šį produktą gali tik darbuotojai, specialiai apmokyti atlikti AT-PGR ir „in vitro“ diagnostines procedūras.
- Su mėginiais visada reikia elgtis kaip su užkrėsta ir (arba) biologiškai pavojinga medžiaga, laikanti saugaus darbo laboratorijoje principų.
- Dirbdami su mėginiais arba rinkinio komponentais, mūvėkite apsaugines vienkartinės nepudruotas pirštines, dėvėkite laboratorinį chalata ir naudokite akių apsaugas.
- Mėginių ruošimui, reakcijų parengimui ir amplifikacijos veiksmams rekomenduojama naudoti atskiras patalpas, leidžiančias taikyti 2 patalpų koncepciją, kurioje mėginių ruošimas ir tyrimo parengimas vykdomas atskirai nuo amplifikacijos. Darbų seka laboratorijoje visada turi vykti viena kryptimi. Kiekvienoje srityje visada mūvėkite vienkartinės pirštines ir pasikeiskite jas prieš pereidami į kitą sritį.
- Vartojimo reikmenis ir įrangą skirkite vienai darbo sričiai ir neperkelkite jų iš vienos srities į kitą.
- Venkite mėginių ir rinkinio komponentų taršos mikroorganizmais ir nukleazėmis (DNaze / RNaze).
- Visada naudokite aerolinius barjerus turinčius vienkartinius pipečių antgalius be DNazės / RNazės.
- Laikykite teigiamą ir (arba) galimai teigiamą medžiagą atskirtą nuo visų kitų rinkinio komponentų.
- Neatidarykite reakcijų mėgintuvėlių po amplifikacijos, kad išvengtumėte taršos amplikonais.
- Nemaišykite komponentų iš rinkinių, kurių partijų numeriai yra skirtingi.
- Nenaudokite rinkinyje, kurio galiojimo data yra praėjusi, esančių komponentų.
- Mėginių ir tyrimų atliekas išmeskite laikydamiesi vietinių saugos reikalavimų.

Bendrosios atsargumo priemonės

Visada atkreipkite dėmesį į toliau aprašytus dalykus.

- Rankiniu būdu atlikdami veiksmus, kai tai yra įmanoma, laikykite mėgintuvėlius uždarytus, kad išvengtumėte taršos.
- Prieš pradėdami tyrimą visus komponentus gerai atšildykite kambario temperatūroje (15–25 °C).
- Atšildę, sumaišykite komponentus lašindami pipete į viršų ir žemyn arba naudodami impulsinę sukurinę maišyklę ir trumpai centrifuguokite.

Pastaba. Įsitikinkite, kad reagento mėgintuvėliuose nėra putų arba burbuliukų.

- Reikalingi adapteriai turi būti atvėsinti iki 2–8 °C.
- Dirbkite greitai ir prieš įkeldami laikykite PGR reagentus ant ledo arba vėsavimo bloke.
- Iš eilės pereikite nuo vieno darbų sekos veiksmo prie kito. Perkėlimo tarp modulių (iš „QIASymphony SP/AS“ į „Rotor-Gene Q“ instrumentą) laikas neturi viršyti 30 minučių.

Reagentų laikymas ir naudojimas

„*artus* HCV QS-RGQ Kit“ komponentai turi būti laikomi nuo –15 iki –30 °C temperatūroje. A ir B pagrindinius mišinius galima naudoti pakartotinai, bet jie negali būti užšaldyti ir atšildyti daugiau nei du kartus. Mėgintuvėlių tūris turi būti pritaikytas 24 reakcijų grupėms.

Patvirtinta, kad 1–4 QS ir IC išlieka stabilūs iki šešių užšaldymo ir atšildymo ciklų metu.

Patvirtinta, kad įkelti į „QIASymphony SP/AS“ reagentai išlieka stabilūs mėginio ruošimo metu, kol tiriamas vienos procedūros didžiausias galimas mėginių skaičius (3 laikiklių procedūra).

Procedūra

Mėginio ėmimas

1. Kraujas turi būti surenkamas į standartinius mėginių surinkimo mėgintuvėlius su EDTA.
2. Prieš centrifuguojant ir atskiriant plazmą, mėgintuvėlio turinys turi būti sumaišomas apverčiant 8 kartus, bet nekratant mėginio.

Svarbu: Negalima naudoti heparinizuotų žmogaus mėginių, nes heparinas gali būti šiam tyrimui trukdanti medžiaga. Tai taikoma į mėgintuvėlius su heparinu surinktiems mėginiams bei mėginiams, gautiems iš heparinu gydomų pacientų.

Mėginių gabenimas ir laikymas

Mėginius nugabenkite per 24 po surinkimo nedūžtančiame gabenimui skirtame inde 2–8 °C temperatūroje, laikydamiesi teisės aktų reikalavimų dėl patogeninių medžiagų gabenimo.*

Patvirtinta, kad kraujo mėginiai (prieš centrifugavimą) išlieka stabilūs šiomis laikymo sąlygomis:

- Kambario temperatūroje (15–25 °C) iki 24 valandų

* International Air Transport Association (Tarptautinė oro transporto asociacija). Dangerous Goods Regulations (Pavojingiems kroviniams taikomi reglamentai).

Patvirtinta, kad EDTA plazmos mėginiai (po centrifugavimo) išlieka stabilūs šiomis laikymo sąlygomis (įskaitant gabenimui reikalingą laiką):

- Kambario temperatūroje (15–25 °C) iki 24 valandų
- 2–8 °C temperatūroje iki 3 dienų
- nuo –15 iki –30 °C (arba žemesnėje) temperatūroje iki 6 savaičių, jei užšaldymo ir atšildymo ciklą yra ne daugiau kaip 3

Mėginių ruošimas

1. Perkelkite 1200 µl EDTA plazmos į „Sarstedt“ 2,0 ml H tipo mikromėgintuvėlį su pagrindu be juostos (kart. nr. 72.693) arba „Sarstedt“ 2,0 ml I tipo mėgintuvėlį su pagrindu su juosta (kat. nr. 72.694)
2. Įkelkite į „QIASymphony SP/AS“ būdami atsargūs, kad nesusidarytų putos.

HCV būdingosios RNR aptikimas

1 lentelė. Bendroji informacija apie „artus HCV QS-RGQ Kit“

Rinkinys	artus HCV QS-RGQ Kit (kat. nr. 4538366)
Mėginio medžiaga	EDTA plazma
Pradinis gryninimas	„QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit“ (kat. nr. 937055)
Mėginio tūris (įskaitant perteklinį tūrį)	1200 µl
Tyrimo parametrų rinkinys	170221_APS_HCV_v2_plasma1000_V2
Numatytasis tyrimo kontrolės rinkinys	ACS_Cellfree1000_V7_DSP_artus_HCV_v2
Eliuavimo tūris	90 µl
Vidinės kontrolinės medžiagos (IC) tūris mėginiui	9 µl
„QIASymphony“ programinės įrangos versija	4.0.3 arba naujesnė versija
Pagrindinio mišinio tūris	25 µl
Matricos tūris	25 µl
Reakcijų skaičius	24–72* (įskaitant visas kontrolines medžiagas, kurias reikia įkelti į „QIASymphony SP“ ir „QIASymphony AS“; tai atitinka 19–67 klinikinių mėginių)
Procedūros laikas „QIASymphony SP/AS“	48 reakcijos: apytiksliai 205 minutės
„Rotor-Gene Q“ instrumento procedūros laikas	Apytiksliai 105 minutės

Įsitikinkite, kad neviršijama 72 reakcijų 1 tyrimo stovelio adapterio riba. Užtikrinkite, kad inkubacijos laikas nuo tada, kai baigiamas tyrimo parengimas, iki įkėlimo į „Rotor-Gene Q“ instrumentą nebūtų pernelyg ilgas (>30 minučių).

Procedūra

Nešančiosios RNR ruošimas ir vidinės kontrolinės medžiagos perkėlimas į mėginius

Naudojant „QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit“ kartu su „artus HCV QS-RGQ Kit“, gryninimo procedūros metu reikia naudoti vidinę kontrolinę medžiagą (hep. C viruso RG IC), kuri leidžia kontroliuoti mėginių ruošimo ir tolesnių tyrimų efektyvumą.

Vidinę kontrolinę medžiagą (hep. C viruso RG IC), pateiktą su „artus HCV QS-RGQ Kit“, reikia perkelti į nešančiosios RNR (CARRIER) ir buferinio tirpalo AVE (AVE) mišinį. Bendras vidinės kontrolinės medžiagos bei nešančiosios RNR (CARRIER) ir buferinio tirpalo AVE (AVE) mišinio tūris išlieka 120 µl mėginiui.

2 lentelė nurodytos mėginio reakcijos mišinio vidinės kontrolinės medžiagos dalys santykiu 0,1 µl kiekvienam 1 µl eliuavimo tūrio. Rekomenduojame prieš pat naudojant kiekvienai procedūrai paruošti šviežius mišinius.

2 lentelė. Nešančiosios RNR ir vidinės kontrolinės medžiagos (hep. C viruso RG vidinės kontrolinės medžiagos) ruošimas

Komponentas	Reakcijos	
	Tūris (µl), kai n≤13 „Sarstedt“ mėgintuvėliuose*	Tūris (µl), kai n>13 „Corning [®] “ mėgintuvėliuose†
Skiedžiama nešančioji RNR (CARRIER)	5	5
Vidinė kontrolinė medžiaga (hep. C viruso RG vidinė kontrolinė medžiaga)	9	9
Buferinis tirpalas AVE	106	106
Galutinis mėginio tūris (neįskaitant liekamojo tūrio)	120	120
Bendrasis n mėginių tūris	(n × 120) + 360	(n × 120) + 600

* 2,0 ml H tipo mikromėgintuvėliai ir 2,0 ml I tipo mikromėgintuvėliai („Sarstedt“, kat. nr. 72.693 ir 72.694). Reikalingas vidinis kontrolinis mišinys, atitinkantis 3 papildomus mėginius (t. y. 360 µl). Bendrasis tūris neturi viršyti 1,92 ml (atitinka ne daugiau kaip 13 mėginių). Pasirinktinai, kai naudojate daugiau nei 13 reakcijų, paruoškite vidinės kontrolinės medžiagos mišinį didesniame mėgintuvėlyje ir įkelkite dalimis 2,0 ml mikromėgintuvėliuose. Į kiekvieną mėgintuvėlį turi būti perkeltas perteklinis 3 papildomų reakcijų tūris.

† Jei ruošiate daugiau nei 13 reakcijų, ruoškite IC didesniame mėgintuvėlyje (14 ml, 17 x 100 mm polistireno su apvaliu dugnu, „Corning“, kat. nr. 352051). Reikalingas IC mišinys, atitinkantis 5 papildomus mėginius (t. y. 600 µl). Bendrasis tūris neturi viršyti 13,92 ml (atitinka ne daugiau kaip 111 mėginių).

Darbo su „QIASymphony SP/AS“ instrumentais pradžia

1. Uždarykite visus stalčius ir gaubtus.
2. Įjunkite „QIASymphony SP/AS“ instrumentus ir palaukite, kol atsidarys ekranas „Sample Preparation“ (mėginio paruošimas) ir baigsis inicijavimo procedūra.
3. Prisijunkite instrumente (stalčiai bus atrakinti).

Viruso RNR gryninimas

Patvirtinta, kad „artus HCV QS-RGQ Kit“ galima naudoti viruso RNR gryninimo etape, atliekame „QIASymphony SP“ naudojant „QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit“. Informacijos, kaip ruošti reagentų kasetę mėginio gryninimo etapui, atliekamam

„QIASymphony SP“, žr. „QIASymphony DSP Virus/Pathogen“ vadove („QIASymphony DSP Virus/Pathogen Handbook“).

Tyrimo kontrolės rinkiniai ir tyrimo parametrų rinkiniai

Tyrimo kontrolės rinkinys yra protokolo ir papildomų parametrų, pvz., IC, derinys, skirtas mėginių gryninimui naudojant „QIASymphony SP“. Numatytasis tyrimo kontrolės rinkinys iš anksto įdiegtas kiekviename protokole.

Tyrimo parametrų rinkinys yra tyrimo apibrėžimo ir nurodytų papildomų parametrų, pvz., kartotinių tyrimų skaičiaus ir tyrimo standartų skaičiaus, derinys, skirtas tyrimo parengimui naudojant „QIASymphony AS“.

Atliekant integruotas procedūras su „QIASymphony SP/AS“, tyrimo parametrų rinkinys yra tiesiogiai susietas su tyrimo kontrolės rinkiniu, apibrėžiančiu susijusio mėginio gryninimo procesą.

Protokolas: RNR išskyrimas ir tyrimo parengimas naudojant „QIASymphony SP/AS“

Svarbi informacija prieš pradedant

- Turite būti susipažinę, kaip dirbti su „QIASymphony SP/AS“ Instrumentais. Informacijos ieškokite su instrumentu pateiktuose naudotojo vadovuose ir įsitikinkite, kad versijos atitinka nurodytas tyrimo protokole.
- Prieš naudodami reagentų kasetę (reagent cartridge, RC) pirmą kartą, patikrinkite, ar RC esančiuose buferiniuose tirpaluose QSL2 ir QSB1 nėra nuosėdų. Jei reikia, išimkite lovelius su buferiniais tirpalais QSL2 ir QSB1 iš RC ir 30 minučių inkubuokite 37 °C temperatūroje kartais pakratydami, kad nuosėdos ištirptų. Būtinai gražinkite lovelius į tinkamas vietas. Jei RC jau yra pradurta, būtinai uždenkite lovelius daugkartinio naudojimo sandarinimo juostelėmis ir 30 minučių inkubuokite visą RC vandens vonelėje 37 °C temperatūroje kartais pakratydami.*
- Stenkitės nekratyti RC smarkiai, nes gali susidaryti putų, dėl kurių gali kilti skysčio lygio aptikimo problemų.
- Dirbkite greitai ir prieš įkeldami laikykite PGR reagentus ant ledo arba vėsavimo bloke.
- Reagentų tūriai yra optimaliai pritaikyti 3 x 24 reakcijoms rinkinyje. Galima apdoroti mažiau arba daugiau mėginių, tačiau esamas pagrindinio mišinio tūris bus naudojamas neoptimaliai, dėl apskaičiuoto „QIASymphony“ reikalingo liekamojo tūrio.
- Prieš kiekvieną kartą naudojant, visus reagentus reikia visiškai atšildyti, sumaišyti (pakartotinai lašinant pipete į viršų ir žemyn arba naudojant impulsinę sūkurinę maišyklę) ir centrifuguoti mažiausiai 3 sekundes 6800 x g jėga. Stenkitės, kad reagentai nesuputotų.
- Nustatyta, kad ruošiant mėginį gauti eliuatai ir visi „artus HCV QS-RGQ Kit“ komponentai išlieka stabilūs instrumente mažiausiai įprastą laiką, kurio reikia mėginių

* Užtikrinkite, kad prietaisai būtų reguliariai tikrinami, prižiūrimi ir kalibruojami, kaip nurodyta gamintojo instrukcijose.

gryninimui, kai apdorojami 67 mėginiai ir rengiamas tyrimas iš 72 reakcijų, įskaitant iki 30 minučių perkėlimo iš „QIASymphony SP/AS“ į „Rotor-Gene Q“ instrumentą laiką.

Ką reikia atlikti prieš pradėdami

- Paruoškite reikalingus mišinius. Jei reikia, paruoškite mišinius su nešančiąja RNR (CARRIER) ir vidinėmis kontrolinėmis medžiagomis prieš pat pradėdami procedūrą.
- Prieš pradėdami procedūrą įsitikinkite, kad magnetinės dalelės visiškai suspenduotos. Prieš naudodami pirmą kartą smarkiai purtykite lovelį su magnetinėmis dalelėmis bent 3 minutes.
- Prieš dėdami RC, nuimkite dangtelį nuo lovelio su magnetinėmis dalelėmis ir atidarykite fermentų mėgintuvėlius. Įsitikinkite, kad fermentų stovėlio temperatūra pasiekė kambario temperatūrą (15–25 °C).
- Įsitikinkite, kad pradūrimo dangtelis (piercing lid, PL) yra uždėtas RC, o magnetinių dalelių lovelio dangtelis nuimtas arba, jei naudojate panaudotą RC, būtinai nuimkite daugkartinio naudojimo sandarinimo juosteles.
- Jei mėginiai pažymėti brūkšniniais kodais, atsukite mėginius mėgintuvėlių laikiklyje taip, kad brūkšniniai kodai būtų atsukti į brūkšninių kodų skaitytuvą, esantį „Sample“ (mėginių) stalčiuje kairiojoje „QIASymphony SP“ pusėje.

„QIASymphony SP“ parengimas

„Waste“ (atliekų) stalčius

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

„Eluate“ (eliuato) stalčius

Eliuavimo stovėlis	Naudokite 1 angą, aušinimo vieta
Eliuavimo tūris*	Numatytas eliuavimo tūris: 60 µl Pradinis eliuavimo tūris: 90 µl

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

„Reagents and consumables“ (reagentų ir vartojimo reikmenų) stalčius

1 ir 2 reagentų kasetės (RC) vieta	Įkelkite 1 reagentų kasetę (RC), jei mėginių yra ne daugiau kaip 48, arba 2 naujas reagentų kasetes (RC), jei mėginių yra ne daugiau kaip 67
Antgalių stovėlio laikiklis, 1–4 vieta	Įkelkite pakankamai vienkartinį filtrų antgalių, 200 µl (informacijos apie reikalingas plastikines dalis žr. lentelėje kitoje pusėje)
Antgalių stovėlio laikiklis, 5–18 vieta	Įkelkite pakankamai vienkartinį filtrų antgalių, 1500 µl (informacijos apie reikalingas plastikines dalis žr. lentelėje kitoje pusėje)
Elementų dėžutės laikiklis, 1–3 vieta	Įkelkite 3 elementų dėžutes su mėginių paruošimo kasetėmis
Elementų dėžutės laikiklis, 4 vieta	Įkelkite 1 elementų dėžutę su 8 strypų dangteliais

„Sample“ (mėginių) stalčius

Mėginio tipas	EDTA plazma
Mėginio tūris (įskaitant perteklinį tūrį)	1200 µl
Mėgintuvėliai	2,0 ml H tipo mikromėgintuvėliai arba 2,0 ml I tipo mikromėgintuvėliai („Sarstedt“, kat. nr. 72.693 ir 72.694)
Įdėklas	3B mėgintuvėlio įdėklas (kat. nr. 9242083)

Reikalingos plastikinės dalys 1–3 mėginių partijoms

	Viena partija, 24 mėginiai*	Dvi partijos, 48 mėginiai*	Trys partijos, 67 mėginiai*
Vienkartiniai filtrų antgaliai, 200 µl††	28	52	76
Vienkartiniai filtrų antgaliai, 1500 µl††	113	206	309
Mėginių paruošimo kasetės§	21	42	54
8 strypų dangteliai¶	3	6	9

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

† Antgalių stovelyje yra 32 filtrų antgaliai.

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

§ Elementų dėžutėje yra 28 mėginių paruošimo kasetės.

¶ Elementų dėžutėje yra dvylika 8 strypų dangtelių.

Procedūra naudojant „QIASymphony SP/AS“

Viruso RNR gryninimas naudojant „QIASymphony SP“

1. Uždarykite visus „QIASymphony SP/AS“ instrumento stalčius ir gaubtus.
2. Įjunkite instrumentą ir palaukite, kol atsidarys ekranas „Sample Preparation“ (mėginio paruošimas) ir baigsis inicijavimo procedūra.
Maitinimo jungiklis yra apačioje, kairiajame „QIASymphony SP“ kampe.
3. Prisiregistruokite prietaise.
4. Turi būti paruošti toliau nurodyti stalčiai, kaip aprašyta skirsnyje „QIASymphony SP“ parengimas“, 25 psl.
 - „Waste“ (atliekų) stalčius. Kai jis bus paruoštas, atlikite reikmenų nuskaitymą.
 - „Eluate“ (eliuato) stalčius. Kai jis bus paruoštas, atlikite reikmenų nuskaitymą.
 - „Reagents and consumables“ (reagentų ir vartojimo reikmenų) stalčius. Kai jis bus paruoštas, atlikite reikmenų nuskaitymą.
 - „Sample“ (mėginių) stalčius

5. Naudodami „Integrated run“ (integruota procedūra) konfigūracijos ekraną, „QIASymphony“ jutikliniame ekrane įveskite reikiamą informaciją apie kiekvieną apdorotiną mėginių partiją. Procedūrai pasirinkite tyrimo parametrų rinkinį ir mėginiams priskirkite atitinkamą tyrimo parengimo (assay set up, AS) partiją.
6. Informacija apie tyrimo parametrų rinkinį ir numatytą eliuavimo tūrį pateikta 2 lentelė. Norėdami gauti daugiau informacijos apie integruotų procedūrų atlikimą naudojant „QIASymphony SP“, žr. instrumento naudotojo vadovą.
7. Kai rengiate integruotą procedūrą, patikrinkite, ar tinkamai priskirta mėginių laboratorinė įranga, mėginių tipas ir tūriai.

Informacija apie vartojimo reikmenis ir komponentus, kuriuos reikia įkelti į kiekvieną stalčių, pateikta prieš tai esančiame skirsnyje.
8. Įvedę informaciją apie visas integruotos procedūros partijas, spustelėkite mygtuką „Ok“ (gerai), kad išeitumėte iš konfigūracijos ekrano „Integrated run“ (integruota procedūra). Visų partijų būseną integruotos procedūros apžvalgos ekrane pasikeis iš „LOADED“ (įdėta) į „QUEUED“ (laukia eilėje). Kai partija yra įtraukta į eilę, rodomas mygtukas „Run“ (vykdyti). Paspauskite mygtuką „Run“ (vykdyti), kad pradėtumėte procedūrą.

Visi apdorojimo veiksmai atliekami visiškai automatiškai.

„QIASymphony AS“ parengimas

Vartojimo reikmenys

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

Vartojimo reikmenys	Jutiklinio ekrano pavadinimas	Skirta naudoti su adapteriu / reagentų laikikliu
Mėgintuvėlių juostelės ir dangteliai, 0,1 ml (250)	QIA#981103 Strip Tubes 0.1 [*]	RG mėgintuvėlių juostelė, 72 QS
Mėgintuvėliai, kūginiai, 2 ml, „Qsym AS“ (500) ^{†‡}	QIA#997102 T2.0 Screw Skirt [§]	Reagentų laikiklis, 1 QS
Mėgintuvėlis, kūginis, 5 ml, „Qsym AS“ (500) ^{†‡}	QIA#997104 T5.0 Screw Skirt [§]	Reagentų laikiklis, 1 QS
Eliuavimo mikromėgintuvėliai CL (24 x 96)	QIA#19588 EMTR [*]	Eliuavimo mikromėgintuvėlių stovėlis, QS

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

† Pagrindinio mišinio komponentams, sistemos paruoštam pagrindiniam mišiniui, tyrimo standartams ir tyrimo kontrolėms.

‡ Arba galima naudoti „Sarstedt“ mėgintuvėlius, aprašytus „Reikalingos, tačiau nepateikiamos medžiagos“, 11 psl.

§ Galūnė „(m)“ jutikliniame ekrane nurodo, kad atitinkamo mėgintuvėlio skysčio lygio skaičiavimas buvo optimizuotas reagentams, suformuojantiems įgaubtą meniską.

Adapteriai ir reagentų laikikliai

Stovelių / reagentų laikiklis	Pavadinimas	Reikalingas kiekis
Mėginių stovėlis	Eliuavimo mikromėgintuvėlių stovėlis, QS	1
Reagentų laikikliai	Reagentų laikiklis, 1 QS	1
Tyrimų stovėliai	RG mėgintuvėlių juostelė, 72 QS	1

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

Filtrų antgaliai

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

Vartojimo reikmuo	Jutiklinio ekrano pavadinimas	Mažiausias kiekis 24 reakcijoms	Mažiausias kiekis 72 reakcijoms
Filtrų antgaliai, 1500 µl (1024)	1500 µl	5	6
Filtrų antgaliai, 200 µl (1024)	200 µl	10	10
Filtrų antgaliai, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Antgalių išmetimo maišeliai	–	1	1

„QIASymphony AS“ stalčių įdėjimas rengiant tyrimą

- Įtraukę į eilę integruotą procedūrą, atidarykite „QIASymphony AS“ stalčius.
Komponentai, kuriuos reikia įkelti, parodyti jutikliniame ekrane.
- Prieš atlikdami integruotą procedūrą, visada atlikite toliau nurodytus veiksmus.
 - Įdėkite antgalių lataką
 - Išmeskite antgalių išmetimo maišelį
 - Įdėkite tuščią antgalių išmetimo maišelį
- Nurodykite ir įkelkite tyrimų stovelių (-ius). Tyrimų stovelių (-ius) aušinamame (-uose) adapteryje (-iuose) reikia įkelti į „Assay“ (tyrimo) vietą (-as). Informacija apie tyrimų stovelius pateikta ankstesniame skirsnyje.
- Patikrinkite aušinimo vietų temperatūrą.
Pasiekus reikiamą temperatūrą, šalia kiekvienos vietos esanti nedidelė žvaigždutė pradės šviesti žaliai.
- Pripildykite kiekvieną mėgintuvėlį reikiamu atitinkamo reagento tūriu, kaip nurodyta instrumento programinės įrangos pateikiamoje informacijoje apie įkėlimą.

Pastaba. Prieš kiekvieną kartą naudojant, visus reagentus, išskyrus pagrindinį B mišinį, reikia visiškai atšildyti, sumaišyti (pakartotinai lašinant pipete į viršų ir žemyn arba naudojant impulsinę sukurinę maišyklę) ir centrifuguoti mažiausiai 3 sekundes 6800 x g jėga. Stenkitės, kad nesusidarytų burbuliukai arba putos, nes tai gali lemti aptikimo klaidas. Dirbkite greitai ir prieš įkeldami laikykite PGR komponentus ledo arba vėsavimo bloke.

Pastaba. Naudojant rankines pipetes gali būti sudėtinga dirbti su klampiais reagentais. Į mėgintuvėlį perkelti numatytą pagrindinio mišinio tūrį.

6. Rekomenduojama nuskaityti tyrimo rinkinio informaciją, kad būtų užtikrintas optimalus reagentų atsekamumas. Norėdami tai padaryti, atlikite šiuos veiksmus:
 - Paspauskite jutiklinio ekrano mygtuką „Scan Kit Barcode“ (nuskaityti rinkinio brūkšninį kodą) ir paspauskite šviesiai mėlyną rinkinio brūkšninio kodo liniją.
 - Paspauskite teksto lauką ir, naudodami rankinį brūkšninių kodų skaitytuvą, nuskaitykite rinkinio brūkšninį kodą viršutinėje „artus HCV QS-RGQ Kit“ pusėje.
7. Įkelkite reagentų laikiklį ir įkelkite reagentų mėgintuvėlius be dangtelių į atitinkamas reagentams skirtas aušinamo adapterio vietas.
8. Įkelkite visų antgalių tipų reikalingą vienkartinį filtrų antgalių skaičių į „Eluate and Reagents“ (eliuato ir reagentų) bei „Assays“ (tyrimų) stalčius.
9. Uždarykite „Eluate and Reagents“ (eliuato ir reagentų) bei „Assays“ (tyrimų) stalčius.
10. Uždarę kiekvieną stalčių, paspauskite „Scan“ (nuskaitykite), kad pradėtumėte kiekvieno stalčiaus reikmenų nuskaitymą.

Reikmenų nuskaitymo metu patikrinamos vietos, adapteriai, filtrų antgaliai ir antgalių latakas bei patikrinama, ar įkeltų reagentų tūris yra tinkamas. Jei reikia, ištaisykite klaidas.

Tyrimo parengimo veiksmas bus pradėtas automatiškai po to, kai bus baigtas gryninimo veiksmas, atliekamas „QIASymphony SP“, ir eliuato stoveliai bus perkelti į „QIASymphony AS“.

11. Baigus procedūrą, paspauskite „Remove“ (šalinti) tyrimo parengimo ekrane „Overview“ (apžvalga). Atidarykite „Assays“ (tyrimų) stalčių ir išimkite tyrimo stovėlių (-ius). Išimkite likusius „artus HCV QS-RGQ“ reagentus iš „QIASymphony AS“ ir išmeskite, laikydamiesi vietinių reikalavimų.
12. Atsisiųskite rezultatų ir ciklerio failus (pasirinktinai).
13. Perkelkite procedūros ciklerio failą į „Rotor-Gene Q“ instrumentą, naudodami „QIASymphony“ valdymo konsolę (QIASymphony Management Console, QMC) arba įrašydami USB atmintinę.
 - Mėginio ruošimo naudotojo sąsajoje pasirinkite kortelę „In-/Output Files“ (įvesties / išvesties failai).
 - Įdėkite USB atmintinę, pasirinkite „Cycler files“ (ciklerio failai) ir perkelkite.
 - Ekrane turi būti rodomas pranešimas apie perkėlimą, pasirinkite „Ok“ (gerai) ir išimkite USB atmintinę, kurioje yra įrašyti failai.
14. Pereikite prie „Protokolas: AT-PGR „Rotor-Gene Q“ instrumente“ kitame puslapyje.
15. PGR procedūros „Rotor-Gene Q“ instrumente metu arba vėliau atlikite „QIASymphony AS“ reguliariai atliekamus priežiūros veiksmus.

Kadangi darbų seką sudaro integruoti veiksmai, pabaigus darbų seką, nuvalykite visus instrumentus.

Vykdykite priežiūros instrukcijas, pateiktas „QIASymphony SP/AS“ naudotojo vadovo bendrajame apraše“ („QIASymphony SP/AS User Manual – General Description“).

Reguliariai atlikite priežiūros veiksmus, kad sumažintumėte kryžminės taršos pavojų.

Protokolas: AT-PGR „Rotor-Gene Q“ instrumente

Svarbi informacija prieš pradedant

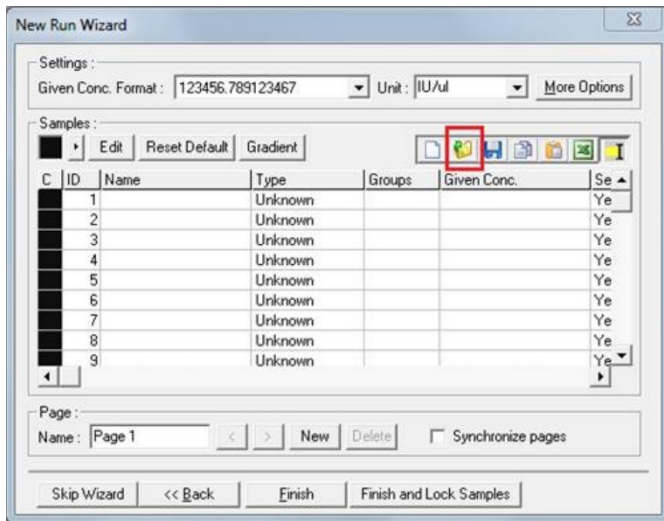
- Prieš pradėdami vykdyti protokolą, skirkite laiko susipažinti su „Rotor-Gene Q“ instrumentu. Peržiūrėkite instrumento naudotojo vadovą.
- Rengiant tyrimą reikia, kad visi keturi kiekybinio nustatymo standartai bei mažiausiai viena neigiama kontrolinė medžiaga (PGR klasės vanduo) būtų naudojami visose PGR procedūrose.

Procedūra naudojant „Rotor-Gene Q“ instrumentą

1. Lange „New Run Wizard“ (naujos procedūros vedlys) pasirinkite 72 šulinėlių rotorių.
2. Sąrankos puslapyje spustelėkite žymimąjį langelį „Locking ring attached“ (fiksuojamasis žiedas uždėtas).
3. Spustelėkite mygtuką „Next“ (kitas) ir patvirtinkite procedūros parametrus.
4. Įsitinkinkite, kad nustatytas QS1 gavimo optimizavimas
5. Įveskite naudotojo ID ir reakcijos tūrį (50 µl)
6. Spustelėkite mygtuką „Start“ (pradėti), kad pradėtumėte PGR procedūrą.
7. Nurodykite mėginių pavadinimus

Pastaba. Rekomenduojama mėginių ID sąrašą perkelti iš „QIASymphony SP/AS“ į „Rotor-Gene Q“ instrumentą rankiniu būdu, kad būtų išvengta duomenų įvedimo klaidų.

8. Perkelkite atitinkamą ciklerio failą į kompiuterį
9. Mėginių vardų nurodymo pranešime pasirinkite piktogramą „Open file“ (atidaryti failą) (žr. ekrano vaizdą toliau) bei suraskite ir atidarykite atitinkamą ciklerio failą.



10. Suteikite pavadinimus mėginiams, spustelėkite „Finish“ (baigti).

11. Uždarykite PGR mėgintuvėlius ir įdėkite mėgintuvėlius į „Rotor-Gene Q“ 72 šulinėlių rotorių.

Įsitikinkite, kad „Rotor-Gene Q“ 4 juostelių mėgintuvėlių padėtis yra tinkama bei atitinka aušinimo adapterio ir rotoriaus padėtis.

Pastaba. Įsitikinkite, kad fiksuojamasis žiedas, kuris yra „Rotor-Gene Q“ instrumento priedas, yra uždėtas ant rotoriaus viršaus taip, kad procedūros metu mėgintuvėliai netyčia neatsidarytų.

12. Norėdami aptikti HCV RNR, sukurkite temperatūros profilį, kaip aprašyta 3 lentelė.

13. Įsitikinkite, kad davimo optimizavimo nustatymai atitinka nustatymus, pateiktus 4 lentelė, ir kad jie yra taikomi mėgintuvėlio su QS1 vietoje (tai yra mėgintuvėlis už paskutinio tyrimo mėginio iš „QIA Symphony SP“).

14. Pradėkite procedūrą.

3 lentelė. „Rotor-Gene Q“ instrumento procedūros parametrai

Veiksmas	Temperatūra (°C)	Trukmė	Gavimo kanalai	Ciklų skaičius
Atvirkštinės transkripcijos (AT) veiksmas	50	10 min.	nėra	1
Pradinė denatūracija / fermentų aktyvacija	95	2 min.	nėra	1
Denatūracija	95	10 sek.	nėra	45
Prisijungimas	55	20 sek.	nėra	
Elongacija	72	20 sek.	Taikinys: Žalia Vidinė kontrolinė medžiaga: Oranžinė	

4 lentelė. Gavimo optimizavimo nustatymai

Nustatykite temperatūrą:		72 °C			
Atlikite optimizavimą prieš pirmąjį gavimą (įsitikinkite, kad pažymėtas)					
Automatino gavimo optimizavimo kanalo nustatymai					
Kanalas	Mėgintuvėlio vieta	Min. rodmuo	Maks. rodmuo	Min. gavimas	Maks. gavimas
Žalia	QS1	5 FI	10 FI	-10	10
Oranžinė	QS1	5 FI	10 FI	-10	10

Analizės nustatymai

Šiame skirsnyje parašyti „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos (2.3. arba naujesnė versija) analizės nustatymai. Naudojant tuos pačius analizės nustatymus, užtikrinamos pastovios atliekamų tyrimų charakteristikos ir gali būti palyginami dviejų skirtingų procedūrų rezultatai.

5 lentelė. „artus HCV QS-RGQ Kit“ procedūros analizės parametrai

Kanalas	Tiesinė skalė	Dinaminis mėgintuvėlis	Slenkstis	Ignoruoti pirmus	Nuolydžio koregavimas	Išsiskiriančiųjų šalinimas (reakcijos efektyvumo slenkstis)
Žalias (FAM)	Pasirinkta	Pasirinkta	0.02	10	išjungta	Net.
Oranžinis (Teksaso raudona)	Pasirinkta	Pasirinkta	0.02	15	išjungta	Net.

Net.: netaikoma

Procedūros ir mėginio tinkamumo kriterijai

Visų PGR procedūrų rezultatų interpretavimas bus atliekamas naudojant „Rotor-Gene Q“ programinę įrangą. Procedūros ir mėginio tinkamumas bus vertinamas, kaip nurodyta 6 lentelė, 7 lentelė ir 8 lentelė, nagrinėjant duomenis, gautus iš „Rotor-Gene Q“ instrumento. Tolesnei analizei gali būti naudojami tik tinkamų procedūrų tinkami mėginių rezultatai.

6 lentelė. Procedūros tinkamumo kriterijai

Kontrolės parametras	Žalio (FAM) kanalo kriterijai	Oranžinio (Teksaso raudona) kanalo kriterijai
Kontrolinė medžiaga be matricos (no template control, NTC)	Be amplifikacijos	C _t 26.30–33.60
QS1	Amplifikacija	Amplifikacija*
QS2	Amplifikacija	Amplifikacija
QS3	Amplifikacija	Amplifikacija
QS4	Amplifikacija	Amplifikacija

* Retais atvejais dėl labai didelio HCV viruso kiekio vidinė kontrolinė medžiaga (IC) gali būti neveiksminga. Jei nepavyksta QS1 IC amplifikacija, bet kiti tyrimo tinkamumo kriterijai yra tenkinami, procedūrą galima laikyti tinkama.

7 lentelė. Procedūros standartinės kreivės tinkamumo kriterijai

Kontrolės parametras	Kriterijai
R ²	≥0.990
Sankirta („B“) C _t	30.75–34.43

Atskiro mėginio tinkamumo kriterijai pateikti 8 lentelė ir yra taikomi po to, kai buvo įvertintas procedūros tinkamumas pagal 6 lentelė ir 7 lentelė pateiktus kriterijus.

8 lentelė. Mėginio tinkamumo kriterijai

Mėginys	Žalio (FAM) kanalo kriterijai	Oranžinio (Teksaso raudona) kanalo kriterijai
HCV neaptiktas	Be amplifikacijos	$\geq 25,00 C_t^*$
HCV aptiktas ≤ 2000 IU/ml	Amplifikacija	$\geq 25,00 C_t^*$
HCV aptiktas > 2000 IU/ml	Amplifikacija	$\geq 25,00 C_t^\dagger$

* Delta reikšmė tarp kontrolinės medžiagos be matricos (no template control, NTC) vidinės kontrolės (internal control, IC) ir mėginio vidinės kontrolinės medžiagos (IC) turi būti $< 3,50 C_t$ ($\Delta C_t IC = C_t IC_{\text{Mėginio}} - C_t IC_{\text{NTC}}$).

† Retais atvejais dėl labai didelio HCV viruso kiekio IC gali būti neveiksminga, tačiau jei nustatyta HCV patenka į tyrimo tiesinį intervalą ($\leq 1 \times 10^8$ IU/ml), mėginys gali būti laikomas tinkamu.

Viso proceso kontrolės rezultatai

Naudoti išorines viso proceso kontrolines medžiagas (FPC) yra neprivaloma, tačiau rekomenduojama. „artus HCV QS-RGQ“ nenumato fiksuotų taisyklių FPC analizei, nes FPC yra klasifikuojamos kaip mėginiai bei turi būti tiekiamos ir naudojamos vadovaujantis vietiniai, valstybės ir federaliniais teisės aktais.

Jei naudojamos, turi būti užtikrintos šios sąlygos:

- Naudojant didelės koncentracijos FPC (H-FPC), gaunamas HCV teigiamas mėginio rezultatas, atitinkantis numatytas specifikacijas
- Naudojant mažos koncentracijos FPC (L-FPC), gaunamas HCV teigiamas mėginio rezultatas, atitinkantis numatytas specifikacijas
- Naudojant neigiamą FPC (N-FPC), gaunamas HCV neigiamas mėginio rezultatas

Jei H-FPC, L-FPC arba N-FPC neatitinka laboratorijos nustatytų specifikacijų, vykdykite numatytas esminės priežasties tyrimo standartinės procedūras, kad tinkamai įvertintumėte mėginio ir procedūros tinkamumą.

Kiekybinis nustatymas

Kiekybinio nustatymo standartai (hep. C viruso RG QS 1–4), esantys „artus HCV QS-RGQ Kit“, laikomi prieš tai išgrynintais mėginiais ir naudojamas 25 µl mėginio tūris. Standartinei kreivei „Rotor-Gene Q“ instrumentuose sukurti visus keturis kiekybinio nustatymo standartus reikia naudoti ir nurodyti „Rotor-Gene Q“ instrumento dialogo lange „Edit Samples“ (mėginių redagavimas) kaip tam tikros koncentracijos standartus (daugiau informacijos žr. instrumento naudotojo vadove).

Pastaba. Kiekybinio nustatymo standartai yra kalibruojami naudojant Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) tarptautinį HCV standartą. Reikšmės yra pateiktos IU/µl vienetais, o konvertuoti reikšmėms, gautoms iš standartinės kreivės, iš IU/µl į IU/ml nurodant HCV koncentraciją mėginyje, turi būti naudojama toliau esanti lygtis.

$$\text{Rezultatas (IU/ml)} = \frac{\text{Rezultatas (IU/}\mu\text{l)} \times \text{Pradinis eliuavimo tūris (90 }\mu\text{l)}}{\text{Mėginio tūris (1 ml)}}$$

Rezultatų vertinimas

„artus HCV QS-RGQ Kit“ tyrimas yra skirtas naudoti kartu su paciento klinikiniais duomenimis ir tiriant kitus laboratorinius žymenis. Šį rinkinį galima naudoti patikslinti ligos prognozei bei kaip pagalbinę priemonę vertinant viruso atsaką į antivirusinį gydymą, kai matuojamas HCV RNR lygio pokytis žmogaus EDTA plazmoje prieš pradėdant gydymą, gydymo metu ir gydymo pabaigoje.

9 lentelė. Tyrimo rezultatų, gautų naudojant „artus HCV QS-RGQ Kit“, vertinimas

Signalas aptiktas žaliame kanale	Signalas aptiktas oranžiniame kanale	Kiekybinis rezultatas (IU/ml)	Aiškinimas
Taip	≥25,00*	< 15	Tinkamas rezultatas: aptikta HCV RNR, <15 IU/ml, kiekybinis nustatymas neįmanomas, nes kiekybinis rezultatas nesiekia tyrimo tiesinio intervalo apatinės ribos.
Taip	≥25,00*	≥15 ir ≤2000	Tinkamas rezultatas: aptikta apskaičiuotos koncentracijos HCV RNR. Kiekybinis rezultatas patenka į tyrimo tiesinį intervalą.
Taip	≥25,00†	>2000 ir ≤1 x 10 ⁹	Tinkamas rezultatas: aptikta apskaičiuotos koncentracijos HCV RNR. Kiekybinis rezultatas patenka į tyrimo tiesinį intervalą.
Taip	Taip / Ne†	>1 x 10 ⁸	Tinkamas rezultatas: aptikta HCV RNR. Kiekybinis nustatymas neįmanomas, nes kiekybinis rezultatas viršija viršutinę tyrimo tiesinio intervalo ribą.
Ne	≥25,00*	0	Tinkamas rezultatas: neaptikta HCV RNR.
Ne	Ne	-	Netinkamas rezultatas: nepavyko gauti rezultatų.

* Delta reikšmė tarp kontrolinės medžiagos be matricos (no template control, NTC) vidinės kontrolės (internal control, IC) ir mėginio IC turi būti <3,50 C_t ($\Delta C_{tIC} = C_{tIC\text{ mėginio}} - C_{tIC\text{ NTC}}$).

† Retais atvejais dėl labai didelio HCV viruso kiekio IC gali būti neveiksminga. Jei nustatyta HCV patenka į tyrimo tiesinį intervalą, mėginys gali būti laikomas tinkamu.

Darbinės charakteristikos

Tuštumo riba ir specifiškumas

Tuštumo riba (limit of blank, LOB) apibrėžiama kaip didžiausias matavimo rezultatas, galimas tiriant tuščią mėginį. Naudojant „*artus* HCV QS-RGQ Kit“, atitinkamas parametras, kurio LOB yra tirama, yra galinis fluorescencijos intensyvumas tyrimo kanale. Fluorescencijos lygis neigiamų mėginių atveju turi išlikti žemesnis už slenkstinę reikšmę (pvz., 0.02), kad būtų sugeneruotas rezultatas „HCV RNA Not Detected“ (HCV RNR neaptikta).

Nuo tyrimo efektyvumo naudojant neigiamus mėginius priklauso galimai klaidingų teigiamų rezultatų tikimybė.

Naudojant „*artus* HCV QS-RGQ“ darbų seką iš viso buvo iširta 120 HCV seronegatyvių EDTA plazmos mėginių, gautų iš atskirų donorų. Nė vienam iš 120 nebuvo gauta C₁ reikšmė prieš 45 ciklą ir buvo sugeneruotas rezultatas „HCV RNA Not Detected“ (HCV RNR neaptikta). Todėl „*artus* HCV QS-RGQ Kit“ specifiškumas HCV seronegatyvių mėginių atžvilgiu buvo 100 %, taikant LOB 45 ciklo metu ir nustačius 0,02 slenkstinę reikšmę.

Aptikimo riba (Limit of detection, LOD)

„*artus* HCV QS-RGQ Kit“ LOD buvo nustatyta naudojant 5-ąjį PSO HCV tarptautinį standartą (NIBSC kodas 14/150) bei vadovaujantis Klinikinių ir laboratorijos standartų instituto (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) rekomendacija EP17-A2 (5). LOD buvo apibrėžta kaip mažiausias analitės kiekis mėginyje, kurį galima aptikti su 95 % tikimybe. Ruošiant šešių iš eilės naudojamų skiedinių, kurių koncentracija prasideda nuo 69,5 IU/ml EDTA plazmoje, rinkinį, buvo naudojamas 5-asis PSO HCV tarptautinis standartas. Tiriant HCV seronegatyvius mėginius nustatyta ir patvirtinta LOB buvo 0 IU/ml.

Per tris tyrimo dienas, naudojant septynis „QIAAsymphony“ ir septynis „Rotor-Gene Q“ instrumentus, iš viso buvo iširta po 102 kiekvieno koncentracijos lygio kartotinius mėginius (101 kartotiniai mėginiai 9 IU/ml koncentracijos ir 15 IU/ml koncentracijos). Kiekvieno skiedinio visi kartotiniai mėginiai buvo iširti vienos PGR procedūros metu. Tyrimas buvo atliktas naudojant tris skirtingas „artus HCV QS-RGQ Kit“ partijas, o kiekvieną partiją trys skirtingi naudotojai naudojo tris dienas.

Naudojant „SAS[®]“ programinę įrangą buvo atlikta probit regresija ir apskaičiuota 95 % LOD reikšmė bei pasisekimo koeficientas, esant 15 IU/ml koncentracijai. Rezultatai pateikti 10 lentelė ir 11 lentelė.

10 lentelė. Apskaičiuota aptikimo riba atlikus probit analizę su dvipusio 95 % pasikliautinąo intervalo ribomis

Apskaičiuota aptikimo riba (LOD)	Apatinė dvipusio 95 % pasikliautinąo intervalo riba	Viršutinė dvipusio 95 % pasikliautinąo intervalo riba
10,66	8,90	14,21

11 lentelė. Pasisekimo koeficientas, esant viršutinei vienpusio 95 % pasikliautinio intervalo ribai

Nominali IU/ml	Pasisekimo dažn. / kart. t. sk.	Pasisekimo koeficientas (%)	Pasisekimo koeficientas, esant virš. vienp. 95 % pas. int. ribai (%)	Apsk. vid. IU/ml	Vidurkis apsk. log ₁₀ IU/ml	SN apsk. log ₁₀ IU/ml	Sisteminė paklaida	FDD	TAE
5,40	84/102	82,35	88,27	7,87	0,90	0,243	0,16	4,86	0,65
9,00	91/101	90,10	94,53	12,30	1,09	0,312	0,14	7,64	0,76
15,00	99/101	98,02	99,65	19,31	1,29	0,295	0,11	6,85	0,70
25,00	102/102	100,00	100,00	36,67	1,56	0,191	0,17	3,48	0,55
41,70	102/102	100,00	100,00	56,55	1,75	0,187	0,13	3,39	0,51
69,50	102/102	100,00	100,00	103,64	2,02	0,178	0,17	3,18	0,53

Apsk. – apskaičiuotas; pas. – pasiklovimas; FFD (fold detectable difference) – santykinis aptinkamas skirtumas; dažn. – dažnis; sk. – skaičius; kart. t. – kartotiniai tyrimai; SN – standartinis nuokrypis; TAE (total analytical error) – bendra tyrimo paklaida.

Hepatito C viruso 2–6 genotipų aptikimo riba

Patvirtinimo strategija buvo pagrįsta CLSI rekomendacijoje EP17-A2 (5) pateiktais nurodymais. Norint patvirtinti LOD ir apatinę kiekybinio nustatymo ribą (lower limit of quantification, LLOQ), esant 15 IU/ml koncentracijai, buvo ištirti 2–6 HCV genotipai, naudojant 60 kartotinių mėginių, kurių koncentracija yra 15 IU/ml. Prieš atliekant tyrimus su „artus HCV QS-RGQ Kit“, kiekvieną genotipą atitinkantys mėginiai buvo atskiesti, kad būtų pasiekta numatyta koncentracija. Šie tyrimai buvo atlikti su trimis skirtingomis „artus HCV QS-RGQ Kit“ partijomis, naudojant tris skirtingas „QIAasymphony“ ir „Rotor-Gene Q“ instrumentų sistemas. Pasisekimo koeficientas ir vienpusio 95 % pasikliautinio intervalo riba, tiriant 2–6 HCV genotipus, kurių nominali koncentracija yra 15 IU/ml, pateikta 12 lentelė.

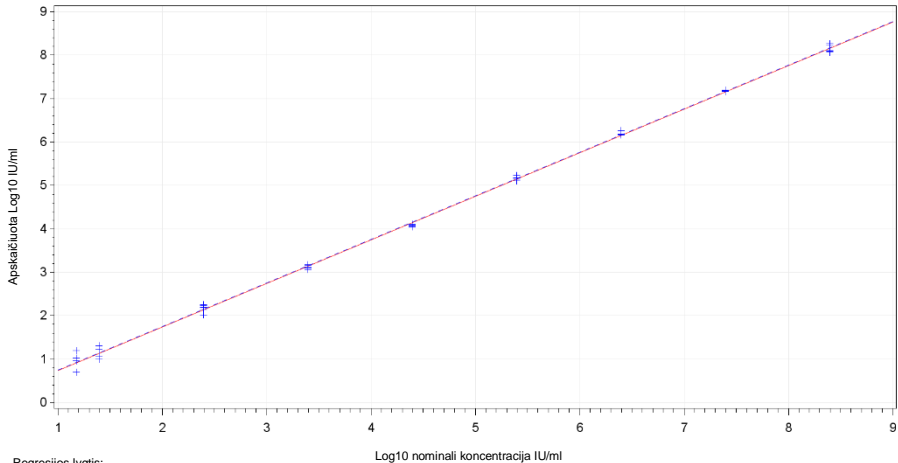
12 lentelė. 2–6 hepatito C genotipų, kurių koncentracija yra 15 IU/ml, pasisekimo koeficientas, įskaitant viršutinę vienusio 95 % pasikliautinąjo intervalo ribą.

Hepatito C viruso genotipas	Nominali IU/ml	Sėkmių dažn. / kart. t. sk.	Pasisekimo koeficientas (%)	Viršutinė vienusio 95 % pasikliautinąjo intervalo riba
2	15	58/60	96,67	99,40
3	15	60/60	100,00	100,00
4	15	58/60	96,67	99,40
5	15	55/59	93,22	97,65
6	15	56/58	96,55	99,38

HCV : hepatito C virusas.

Tiesinis intervalas ir kiekybinio nustatymo riba

„artus HCV QS-RGQ Kit“ tiesinis intervalas buvo nustatytas vadovaujantis CLSI rekomendacijoje EP06-A (6) pateiktais nurodymais. Buvo paruošta 10 iš eilės naudojamų in vitro transkripcijos (IVT) RNR su apvalkalu darinų, atitinkančių 1–6 HCV genotipus, skiedinių. Siekiant nustatyti tiesinį tyrimo darbinį intervalą, kiekvienas darinys buvo iš eilės atskiestas neigiamoje EDTA plazmoje. Buvo tiriamos koncentracijos nuo 15 IU/mL iki 1×10^8 IU/ml. Mėginiai buvo analizuojami naudojant „artus HCV QS-RGQ Kit“, o kiekvienas skiedimo lygis buvo tiriamas atliekant šešis kartotinius tyrimus. 1 pav. grafiškai pavaizduoti HCV 1 genotipo tyrimo rezultatai ir regresijos grafikas. Šis pavyzdys pasirinktas, nes tai yra dažniausiai pasitaikantis genotipas Europos populiacijoje.



Regresijos lygtis:
 $\text{calc_conc_log10_iu_ml} = -0.264547 + 1.003622 * \text{mac_log}$
 $\text{calc_conc_log10_iu_ml} = -0.246022 + 0.99303 * \text{mac_log} + 0.001122 * \text{mac_log}^2$

1 pav. HCV 1 genotipo apskaičiuota log₁₀ IU/ml ir log₁₀ IU/ml nominali koncentracija. Raudona išsistinė linija atitinka tiesinės regresijos liniją, o mėlyna brūkšninė linija atitinka kvadratinės regresijos liniją.

„*artus* HCV QS-RGQ V2 Kit“ tiesinis intervalas buvo nustatytas HCV 1–6 genotipų koncentracijoms EDTA plazmoje nuo 15 IU/mL iki 1×10^8 IU/ml. LLOQ apibrėžiama kaip mažiausia koncentracija tiesiniame intervale, kurios bendra tyrimo paklaida (TAE; 2 x standartinis nuokrypis [SN] + [Sisteminė paklaida]) yra $\leq 1,0 \log_{10}$ IU/ml. Tyrimo LOD patvirtinimui sugeneruoti duomenys buvo naudojami apskaičiuoti santykiniam aptinkamam skirtumui [(FDD): $10^{((\text{Bendras SN}) * \sqrt{2})^2)}$] bei TAE, esant 15 IU/ml. Kaip pavaizduota 13 lentelė, 1–6 HCV genotipai pasižymėjo TAE reikšme $\leq 1,0 \log_{10}$ IU/ml, esant 15 IU/ml.

13 lentelė. Pasisekimo koeficientas, apskaičiuota hepatito C viruso koncentracija (IU/ml), santykinis aptinkamas skirtumas (fold detectable difference, FDD) ir bendra tyrimo paklaida (total analytical error, TAE), esant 15 IU/ml

HCV genotipas	Nominali IU/ml	Pasisekimo dažn. / kart. t. sk.	Apsk. vid. IU/ml (geometrinis vidurkis)	Apsk. vid. log ₁₀ IU/ml	SN apsk. log ₁₀ IU/ml	Sisteminė paklaida	FDD	TAE
1 (PSO*)	15,00	99/101	19,31	1,29	0,295	0,11	6,85	0,70
2	15,00	58/60	21,00	1,32	0,258	0,15	5,37	0,66
3	15,00	60/60	10,77	1,03	0,403	-0,14	13,77	0,95
4	15,00	58/60	15,94	1,20	0,250	0,03	5,09	0,53
5	15,00	55/59	9,59	0,98	0,290	-0,19	6,61	0,77
6	15,00	56/58	17,10	1,23	0,273	0,06	5,94	0,60

* 5-asis Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) HCV tarptautinis standartas (NIBSC kodas 14/150).

FDD (fold detectable difference) – santykinis aptinkamas skirtumas; dažn. – dažnis; HCV – hepatito C virusas; SN – standartinis nuokrypis; sk. – skaičius; kart. t. – kartotiniai tyrimai; TAE (total analytical error) – bendra tyrimo paklaida.

Glaudumas, pakartojamumas ir kintamumas tarp partijų

„artus HCV QS-RGQ Kit“ glaudumas buvo įvertintas vadovaujantis CLSI rekomendacijoje EP05-A3 (7) pateiktais nurodymais. Procedūrą sudarė penkių elementų grupės tyrimas. Ją sudarė neigiamas mėginys, mėginys, kurio koncentracija yra 3 x LOD, klinikinis mėginys, EDTA plazmoje atskiestas santykiu 1:100 ir du specialūs mėginiai, patenkantys į tyrimo tiesinį intervalą. Specialiuose mėginiuose buvo naudojamas IVT RNR darinys apvalkale, atitinkantis HCV 3 genotipą. Visi mėginiai buvo EDTA plazmoje. Kiekvienas naudotojas kiekvieną iš aštuonių (ne) iš eilės einančių dienų atliko po vieną integruotą QS-RGQ procedūrą, procedūros metu vienam grupės elementui atliekant keturis kartotinius tyrimus. Tai reiškia, kad viso tyrimo metu iš viso buvo atliktos 24 procedūros (8 dienos x 3 naudotojai x 1 procedūra per dieną) ir tyrimo grupės nariui buvo gauti 96 duomenų taškai, apimantys tris skirtingas „artus HCV QS-RGQ Kit“ partijas. Be to, tyrimui buvo naudojamos trys skirtingos QS-RGQ platformos, nes buvo trys skirtingos „DSP Virus/Pathogen Midi Kit“ partijos ir trys skirtingi tyrimą atliekantys naudotojai.

Šio tyrimo variacijos komponentai pateikti 14 lentelė. Bendras SN buvo apskaičiuotas kaip $\text{Log}_{10}(\text{IU/ml})$ ir ši reikšmė atitinka kintamumą laboratorijoje (t. y. tarpinį glaudumą). 14 lentelė rodo, kad SN intervalas buvo nuo 0,131, esant didžiausiai ištirtai koncentracijai (5×10^6 IU/ml) iki 0,222, esant mažiausiai ištirtai koncentracijai (45 IU/ml).

14 lentelė. Apskaičiuotos Log_{10} IU/ml reikšmės variacijos komponentų standartinis nuokrypis (SN) ir lognormalusis procentinis variacijos koeficientas (%VK)

Nominali konc. IU/ml	Stebėjimų sk.	Tarp procedūrų SN (%VK)	Tarp dienų SN (%VK)	Tarp naudo-tojų SN (%VK)	Tarp rinkinio partijų SN (%VK)	Tarp ekstrakcijos partijų SN (%VK)	Procedūros SN (%VK)	Bendras SN (bendras %VK)
5×10^6	96	0,112 (26,30)	0,017 (3,82)	0,014 (3,34)	0,051 (11,86)	0,000 (0,00)	0,054 (12,38)	0,131 (30,96)
100	96	0,136 (32,04)	0,044 (10,21)	0,000 (0,00)	0,022 (5,05)	0,000 (0,00)	0,145 (34,22)	0,202 (49,14)
45	96	0,115 (26,86)	0,072 (16,60)	0,000 (0,00)	0,016 (3,68)	0,000 (0,00)	0,178 (42,86)	0,222 (54,62)
$18,9 \times 10^3$ (klinikinis mėginys)	96	0,094 (21,97)	0,049 (11,24)	0,045 (10,46)	0,035 (7,96)	0,000 (0,00)	0,063 (14,69)	0,131 (30,74)

Konc. – koncentracija; VK – variacijos koeficientas; SN – standartinis nuokrypis.

Modeliui kaip atsako kintamasis buvo naudojami duomenys su log_{10} IU/ml reikšmėmis, o kaip kategorinis fiksuotas efektas buvo naudojama rinkinio partija. Buvo nustatytas visų rinkinio partijų log_{10} IU/ml vidurkio skirtumas (t. y. iš viso trys skirtumai) kartu su atitinkama standartine paklauda (SP) ir 95 % pasikliautinoju intervalu (PI). Rezultatai pateikti 15 lentelė.

15 lentelė. Apskaičiuoto \log_{10} IU/ml vidurkio skirtumas tarp kiekvienos mėgimo procedūros rinkinio partijų

Nominali konc. IU/ml	Bendras stebėjimų sk.	Skirt. tarp rinkinio partijų	\log_{10} IU/ml vidurkio skirt.	Standartinė paklaida (SP)	Apatinė 95 % pas. int. riba	Viršutinė 95 % pas. int. riba	p reikšmė
5 x 10 ⁶	96	1-2	-0,046	0,030	-0,106	0,014	0,134
		1-3	-0,130	0,030	-0,190	-0,070	< 0,001
		2-3	-0,085	0,030	-0,145	-0,025	0,006
100	96	1-2	-0,048	0,050	-0,146	0,050	0,336
		1-3	-0,117	0,050	-0,215	-0,018	0,021
		2-3	-0,069	0,050	-0,167	0,030	0,169
45	96	1-2	0,049	0,055	-0,060	0,159	0,371
		1-3	-0,058	0,055	-0,167	0,051	0,294
		2-3	-0,107	0,055	-0,217	0,002	0,054
18,9 x 10 ³ (klinikinis mėginys)	96	1-2	-0,070	0,031	-0,132	-0,008	0,026
		1-3	-0,104	0,031	-0,166	-0,042	0,001
		2-3	-0,034	0,031	-0,096	0,028	0,278

Konc. – koncentracija; pas. – pasiklovimas; skirt. – skirtumas.

Didžiausias absoliutus \log_{10} IU/ml vidurkio skirtumas tarp skirtingų naudotų rinkinio partijų buvo 0,130.

Atkuriamumas

Šio tyrimo planas yra pagrįstas CLSI rekomendacija EP05-A3 (7). Glaudumas apibrėžiamas kaip „išmatuotų reikšmių, gautų atliekant kartotinius tų pačių arba panašių objektų matavimus nurodytomis sąlygomis, artumas“. Remiantis EP05-A3, glaudumas yra matavimų skirtingose vietose tikslumas. Atliekant šį tyrimą, sąlygos laboratorijoje buvo keičiamos skirtingų dienų ir procedūrų metu („diena“ ir „procedūra“ yra susijusios) bei buvo naudojamos trys skirtingos tyrimo vietos (viena vidinė ir dvi išorinės tyrimo vietos).

Kiekvienoje išorinėje tyrimo vietoje kiekvieną iš aštuonių (ne) iš eilės einančias dienų buvo atliekama po vieną integruotą „artus HCV QS-RGQ Kit“ procedūrą, vienai procedūrai atliekant keturis mėginio kartotinius tyrimus. Šio tyrimo metu, neskaitant vidinėje vietoje sugeneruotų duomenų, kiekvienoje iš dviejų išorinių tyrimo vietų vienas instrumentas buvo naudojamas iš viso 16 procedūrų (8 dienos x 1 procedūra per dieną x 2 tyrimo vietos). Glaudumo ir pakartojamumo tyrimo metu sugeneruoti duomenys (žr. 45 psl.), kai rinkinio partijos atitiko naudojamas tyrimo metu, šiame atkuriamumo tyrime buvo panaudoti trečioje tyrimo vietoje.

16 lentelė. Visose trijose tyrimo vietose apskaičiuotų log₁₀ IU/ml reikšmių statistiniai duomenys pagal nominalią koncentraciją

Nominali konc. IU/ml	Nominali log ₁₀ IU/ml	Kartotinių tyrimų sk.	Vidurkis	Vidurkis	Standartinis nuokrypis (SN)	Minimalus	Maksimalus
5 x 10 ⁶	6,699	96	6,93	6,93	0,083	6,68	7,17
100	2,000	96	2,15	2,15	0,138	1,73	2,42
45	1,653	96	1,82	1,85	0,214	1,27	2,70
18,9 x 10 ³ (klinikinis mėginys)	4,276	96	4,33	4,33	0,063	4,17	4,53

Konc. – koncentracija; sk. – skaičius.

Kaip parodyta 16 lentelė, didžiausias SN visose trijose tyrimo vietose buvo 0,214 log₁₀ IU/ml, esant šio tyrimo metu iširtai mažiausiai koncentracijai, pvz., 45 IU/ml (3 x LOD).

Kryžminės reakcijos ir mišrios infekcijos

Tyrimas buvo skirtas nustatyti kryžminių reakcijų su susijusiais arba panašiais į HCV patogenais, poveikį HCV aptikimui naudojant „*artus* HCV QS-RGQ Kit“. HCV teigiamiems mėginiams poveikio nebuvimas reiškia, kad nebuvo nustatyta reikšmingo \log_{10} IU/ml skirtumo nagrinėjant rezultatus, gautus naudojant kontrolines medžiagas ir mėginius su įterptais patogenais. Jei buvo nustatytas reikšmingas skirtumas tarp mėginių, jis buvo daugiau du kartus mažesnis už tarpinį tyrimo glaudumą. Be to, HCV neigiami mėginiai buvo klasifikuoti kaip HCV neigiami, kai buvo tiriami esant patogenams.

HCV teigiami mėginiai buvo pagaminti 45 IU/ml koncentracijos naudojant IVT apvaskalę, atitinkančią HCV 1a genotipą. Iš viso į pagamintus HCV teigiamus mėginius bei HCV neigiamus mėginius buvo atskirai įterpti 34 skirtingi patogenai. RNR buvo išskirta ir ištirta šeši kartotinių tyrimų metu naudojant „QIASymphony SP/AS“ instrumentą ir „Rotor-Gene Q 5Plex HRM“ instrumentus. Šiam tyrimui naudotos kontrolinės medžiagos buvo HCV neigiama plazma (neigiama kontrolinė medžiaga) ir 45 IU/mL (HCV 45 kontrolinė medžiaga) koncentracijos HCV teigiama plazma be patogenų.

Patogenai buvo įterpti į mėginius, sukuriant 1×10^5 galutinę koncentraciją, išreikštą tyrimo sertifikate nurodytais atitinkamais vienetais (pvz., IU, kopijomis, dalelėmis, infekcine doze 50% ląstelių kultūrų (TCID₅₀), kolonijas sudarančias vienetais [colony forming units, CFU], viruso dalelėmis [virus particles, VP]). Patogenai, kurių koncentracija nebuvo pakankama šiai galutinei koncentracijai mėginyje pasiekti, buvo ruošiami siekiant didžiausios įmanomos koncentracijos.

17 lentelė. Patogenai, ištirti dėl kryžminių reakcijų naudojant hepatito C viruso neigiamus kontrolinės medžiagos mėginius ir 45 IU/ml koncentracijos hepatito C viruso teigiamus mėginius

Galutinė tyrimo konc.	Rūšys	HCV neigiamas		HCV 45 IU/ml			p reikšmė
		Nustatytų neigiamų mėginių sk. / iš viso neigiamų mėginių	log ₁₀ IU/ml vidurkio skirtumas	Standartinė paklaida (SP)	Apatinė 95 % pas. int. riba	Viršutinė 95 % pas. int. riba	
1 x 10 ⁵ (IU/ml)	5 tipo adenovirusas	6/6	0,251	0,182	-0,123	0,626	0,179
Neatskiestas (prad. konc. neduota)	BK žmogaus poliomos virusas	6/6	0,022	0,182	-0,353	0,397	0,905
1 x 10 ⁵ CFU/ml	<i>Candida albicans</i>	6/6	0,148	0,182	-0,227	0,522	0,425
1 x 10 ⁵ IFU/ml	<i>Chlamydia trachomatis</i>	6/6	0,348	0,182	-0,026	0,723	0,067
1 x 10 ⁵ kopijos/ml	(citomegalo virusas)	6/6	-0,079	0,161	-0,410	0,253	0,630
1 x 10 ⁵ kopijos/ml	1 dengės virusas	6/6	-0,170	0,160	-0,499	0,159	0,297
1 x 10 ⁵ kopijos/ml	2 dengės virusas	6/6	0,149	0,160	-0,180	0,478	0,361
1 x 10 ⁵ kopijos/ml	3 dengės virusas	6/6	-0,044	0,160	-0,373	0,285	0,786
1 x 10 ⁵ kopijos/ml	4 dengės virusas	6/6	0,126	0,160	-0,203	0,455	0,438
5 x 10 ³ TCID ₅₀ /ml	Epstein-Barr virusas	6/6	-0,209	0,161	-0,540	0,122	0,205
1 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	Hepatito A virusas	6/6	-0,275	0,161	-0,606	0,057	0,100
1 x 10 ⁵ IU/ml	1 tipo herpes simplex virusas	6/6	0,036	0,161	-0,295	0,367	0,823
1 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	2 tipo herpes simplex virusas	6/6	0,332	0,146	0,027	0,637	0,034
5 x 10 ³ TCID ₅₀ /ml	8 tipo žmogaus herpes virusas	6/6	0,265	0,146	-0,040	0,570	0,085
1 x 10 ⁵ PFU/ml -	A gripo virusas	6/6	0,152	0,139	-0,136	0,440	0,286
1 x 10 ⁵ CFU/buteliukas (/ml)	<i>Mycobacterium gordonae</i>	6/6	-0,143	0,139	-0,431	0,145	0,315

		HCV neigiamas		HCV 45 IU/ml			
1 x 10 ⁴ CFU/buteliukas (/ml)	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	6/6	0,150	0,119	-0,095	0,395	0,220
1 x 10 ⁴ CFU/buteliukas (/ml)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	6/6	-0,173	0,119	-0,418	0,072	0,158
1 x 10 ⁵ CFU/buteliukas (/mL)	<i>Propionibacteriu m acnes</i>	6/6	0,042	0,119	-0,203	0,287	0,728
1 x 10 ⁵ CFU/buteliukas (/ml)	<i>Staphylococcus aureus</i>	6/6	0,133	0,119	-0,112	0,378	0,275
1 x 10 ⁵ CFU/buteliukas (/ml)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6/6	-0,156	0,186	-0,539	0,227	0,409
5 x 10 ³ TCID ₅₀ /ml	Vėjaraupių virusas (Varicella-zoster virus, VZV)	6/6	-0,188	0,186	-0,571	0,195	0,321
1 x 10 ⁵ IU/ml	Hepatito B virusas	6/6	-0,138	0,186	-0,521	0,245	0,464
1 x 10 ⁵ IU/ml	HIV-1 IIB	6/6	0,042	0,186	-0,341	0,424	0,825
1 x 10 ⁵ U/ml	HIV-2 NIH-Z	6/6	0,097	0,158	-0,241	0,434	0,551
1 x 10 ⁵ ląstelių/ml	HPV16 CaSki	6/6	0,270	0,146	-0,035	0,575	0,080
1 x 10 ⁵ ląstelių/ml	HPV18 HeLa	6/6	0,385	0,230	-0,093	0,864	0,109
1 x 10 ⁵ kopijos/ml	6A GS tipo žmogaus herpes virusas	6/6	-0,436	0,170	-0,787	-0,085	0,017
1 x 10 ⁵ viruso dalelės/ml	1 tipo žmogaus T ląstelių limfotropinis virusas	6/6	-0,154	0,170	-0,504	0,197	0,376
1 x 10 ⁵ viruso dalelės/ml	2 tipo žmogaus T ląstelių limfotropinis virusas	6/6	0,209	0,230	-0,269	0,688	0,373
1 x 10 ⁵ U/ml-	Sent Luiso encefalito virusas	6/6	0,148	0,164	-0,190	0,486	0,376

		HCV neigiamas		HCV 45 IU/ml			
1 x 10 ⁵ U/ml	Vakarų Nilo virusas NY 2001-6263	6/6	-0,018	0,164	-0,356	0,320	0,913
1 x 10 ⁵ U/ml	Geltonosios karštinės virusas 17-D	6/6	0,208	0,230	-0,270	0,687	0,375
8,13 x 10 ⁴ U/ml	Zika virusas MR 766	6/6	0,164	0,164	-0,174	0,501	0,328

Kaip nurodyta 17 lentelė, nenustatyta nė vieno iš patogenų kryžminių reakcijų su „artus HCV QS-RGQ Kit“. Tai reiškia, kad nebuvo nustatyta reikšmingo log₁₀ IU/ml skirtumo nagrinėjant rezultatus, gautus naudojant kontrolines medžiagas ir HCV 45 mėginius su įterptais patogenais. Tais atvejais, kai buvo nustatytas reikšmingas skirtumas, jis buvo mažesnis nei 2 x bendras tyrimo SN (<0,444 Log₁₀ IU/ml, 17 lentelė). Be to, ištyrus 100 % HCV neigiamų mėginių su patogenais, buvo gauti neigiami rezultatai.

Trukdančios medžiagos

Poveikio tyrimas parodė galimai trukdančių medžiagų, kurių gali būti EDTA plazmoje, poveikį „artus HCV QS-RGQ Kit“ efektyvumui. Planuojant šį poveikio tyrimą, buvo vadovaujamas CLSI rekomendacija EP7-A2 (8). Šiame tyrime galimai trukdančios medžiagos buvo vaistai, naudojami HCV infekcijų gydymai (pvz., egzogeninės medžiagos, 18 lentelė ir 19 lentelė), bei kraujo komponentai ir hormonai (pvz., endogeninės medžiagos, 20 lentelė). Įterptų į mėginį egzogeninių medžiagų koncentracija buvo tris kartus didesnė už didžiausią vaisto koncentraciją plazmoje (C_{max}). Įterptų endogeninių medžiagų koncentracija buvo, kaip nurodyta CLSI rekomendacijoje EP7-A2 (8). Medžiagos poveikis buvo ištirtas HCV neigiamoje žmogaus EDTA plazmoje ir 45 IU/mL ($3 \times LOD$) koncentracijos neigiamo mėginio matricoje su įterptu HCV, naudojant IVT RNR su apvalkalu, atitinkančią HCV 1a genotipą.

Dešimt skirtingų egzogeninių medžiagų telkinių buvo įterpti sudarant dvi skirtingas eksperimentines koncentracijas (HCV neigiamas mėginys ir su 45 IU/ml koncentracijos HCV). Egzogeninės medžiagos buvo grupuojamos pagal resuspensijai naudoto tirpikli tipą (18 lentelė).

18 lentelė. Egzogeninės medžiagos ir jų grupavimas tyrimo metu

Resuspenzijai naudotas egzogeninės medžiagos telkinys / tirpiklis		Ištirtos egzogeninės medžiagos
DMSO	1	Bocepreviras, efavirenzas, emtricitabinas, raltegraviras, zidovudinas
	2	Acikloviras, atazanaviras, darunaviras, fosamprenaviras, indinaviras
	3	Azitromicinas, elbasviras, paritapreviras, sakvinaviras, tenofoviras
	4	Klaritromicinas, gancikloviras, lopinaviras, telapreviras
Vanduo be nukleazės	5	Abakaviras, ciprofloksacinas, enfurvitidas, telbivudinas, valgancikloviras
	6	Adefoviras, fluoksetinas, interferonas alfa-2a, interferonas alfa-2b, stavudinas
	7	Daklatasviras, didanozinas, lamivudinas, ribavirinas, sofosbuviras
Etanolis	8	Entekaviras, grazopreviras, ombitasviras, paroksetinas, zalcitibinas (DMSO)
	9	Amprenaviras, nelfinaviras, simepreviras, tipranaviras
	10	Ledipasviras, ritonaviras, sertralinas, valacikloviras
DMSO	Net.	Nevirapinas

DMSO – dimetilsulfoksidas; net. – netaikoma.

19 lentelė. Ištirtų egzogeninių medžiagų statistiniai duomenys

Skirtumas tarp kontrolinės medžiagos ir trukdančios medžiagos	Apskaičiuoto vidurkio log ₁₀ IU/ml skirtumas	Standartinė paklaida (SP)	Apatinė 95 % pas. int. riba	Viršutinė 95 % pas. int. riba	p reikšmė
1 grupė - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,148	0,203	-0,272	0,567	0,474
2 grupė - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,286	0,213	-0,154	0,726	0,193
3 grupė - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,068	0,213	-0,372	0,509	0,751
4 grupė - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,302	0,203	-0,118	0,722	0,150
5 grupė - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,029	0,195	-0,375	0,432	0,884
6 grupė - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,250	0,195	-0,153	0,654	0,212
7 grupė - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,170	0,195	-0,234	0,573	0,393
8 grupė - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,307	0,204	-0,114	0,728	0,145
9 grupė - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,006	0,183	-0,380	0,391	0,976
10 grupė - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,174	0,192	-0,228	0,577	0,375
Nevirapinas - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,014	0,183	-0,371	0,399	0,940

Pas. – pasiklojimas; SP – standartinė paklaida.

Kaip nurodyta 19 lentelė, nė vienai iš šio tyrimo metu ištirtų egzogeninių medžiagų nenustatytas reikšmingas log₁₀ IU/ml skirtumas, lyginant su kontroliniais mėginiais (p reikšmė > 0,05). Be to, kai į šiuos neigiamus mėginius buvo įterpta egzogeninė medžiaga arba medžiagų grupė, HCV neigiamuose mėginiuose amplifikacijos nebuvo (duomenys nepateikti).

20 lentelė. Endogeninių medžiagų statistiniai duomenys

Skirtumas tarp kontrolinės medžiagos ir trukdančios medžiagos	Apskaičiuoto vidurkio log ₁₀ IU/ml skirtumas	Standartinė paklaida (SP)	Apatinė 95 % pas. int. riba	Viršutinė 95 % pas. int. riba	p reikšmė
Trigliceridai - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,373	0,125	0,115	0,631	0,006
Konjuguotas bilirubinas - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,277	0,119	0,033	0,521	0,028
Hemoglobinas - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,297	0,119	0,053	0,541	0,019
Nekonjuguotas bilirubinas - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,300	0,061	0,163	0,4370	< 0,001
EDTA - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,005	0,144	-0,321	0,331	0,973
Globulinas - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,256	0,058	0,124	0,387	0,002
hDNR - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,066	0,079	-0,112	0,244	0,425
hRNR - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	0,019	0,171	-0,368	0,405	0,915
Albuminas - KONTROLINĖ MEDŽIAGA	-0,080	0,162	-0,442	0,281	0,631

20 lentelė parodyta, kad konjuguoto ir nekonguguoto bilirubino, hemoglobino ir globulino koncentracija statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo kontrolinių mėginių (atitinkamai $p=0,028$, $p<0,001$ $p=0,019$ ir $p=0,002$), tačiau apskaičiuoto vidurkio log₁₀ IU/ml skirtumas buvo atitinkamai 0,277, 0,300, 0,297 ir 0,256. Tai reiškia, kad šios medžiagos atitiko tyrimo patvirtinimo kriterijų <0,5 log₁₀ IU/ml. Be to, kai į šiuos neigiamus mėginius buvo įterptos endogeninės medžiagos, HCV neigiamuose mėginiuose amplifikacijos nebuvo (duomenys nepateikti).

Kryžminė tarša

Siekiant ištirti kryžminę taršą tarp integruotų „QIASymphony SP/AS“ procedūrų, atliekamų taikant „artus HCV QS-RGQ“ darbų seką, buvo suplanuotas kryžminės taršos tyrimas. Kryžminė tarša apibrėžiama kaip analitės kiekis, pernešamas tarp gretimų šulinėlių automatinių procedūrų metu. Instrumento pernešimas, išreikštas procentais, buvo skaičiuojamas taip:

$$\left(\frac{\text{Neigiamų mėginių, kuriuose aptikta, skaičius}}{\text{Bendras neigiamų mėginių skaičius}} \right) \times 100$$

Šis tyrimas buvo atliktas naudojant kliniškai svarbių koncentracijų (1×10^5 , 1×10^6 ir 1×10^7 IU/ml) HCV teigiamus mėginius. Atliekant atskirus skiedimus, siekiant gauti skirtingų koncentracijų skiedinius, IVT RNR apvalkale, atitinkanti 1a HCV genotipą, buvo atsiesta EDTA plazmoje. Visos šios mėginio koncentracijos buvo ištirtos su HCV neigiamais mėginiais augančia tvarka penkių procedūrų metu („šašių lentos procedūros“). Kiekvienai procedūrai buvo atlikta galutinė (ir šeštoji) procedūra, siekiant nustatyti taršą tarp procedūrų. Buvo apskaičiuota kryžminės taršos (instrumento pernešimo, kaip apibrėžta prieš tai) dalis, o visų koncentracijų rezultatai yra pateikti 21 lentelė (toliau).

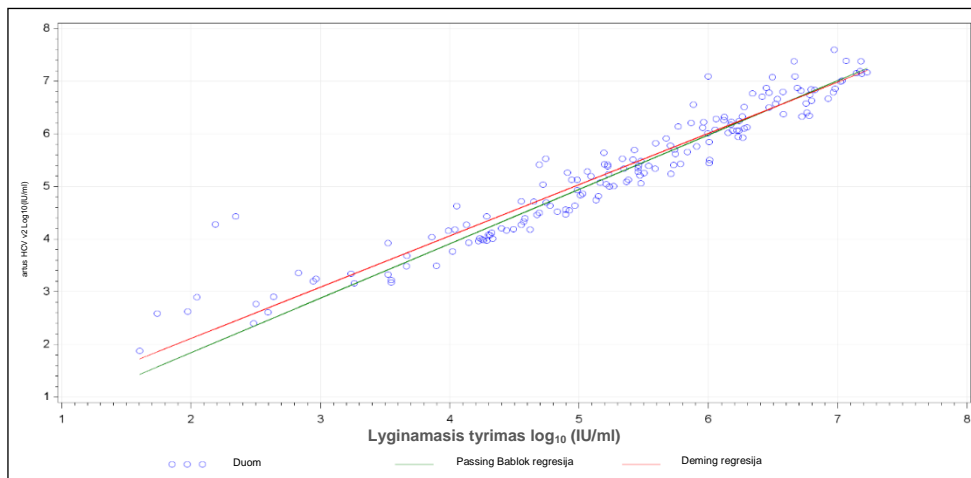
21 lentelė. Kryžminė tarša, esant kliniškai svarbioms koncentracijoms

Mėginio koncentracija šachmatų lentos formatu	Kryžminės taršos dažnis	Kryžminės taršos dalis (%)
1×10^7 IU/ml	4/170	2,35
1×10^6 IU/ml	3/170	1,76
1×10^5 IU/ml	0/170	0,00

Klinikinis efektyvumas

„artus HCV QS-RGQ Kit“ klinikinis efektyvumas buvo įvertintas dviejose klinikinėse laboratorijose JK atlikto lyginamojo tyrimo metu, kurio metu buvo ištirti 452 skirtingų pacientų mėginiai, kurie buvo HCV teigiami arba neigiami. Mėginiai buvo tiriami naudojant „artus HCV QS-RGQ Kit“ įprastoje laboratorijos aplinkoje, o mėginiai atitiko tiriamos Europos populiacijos dabartines HCV epidemiologines tendencijas. Tam tikrų genotipų (4, 5 ir 6) buvo įsigyti, siekiant, kad būtų ištirti visi HCV genotipai nuo 1 iki 6.

Šio tyrimo metu pacientų mėginiai buvo ištirti naudojant „artus HCV QS-RGQ Kit“, o rezultatai buvo lyginami su naudojant CE ženklu pažymėtą lyginamąjį tyrimą anksčiau arba tuo pačiu metu gautais rezultatais. Buvo atlikta Deming ir Passing-Bablok regresijos analizė, „artus HCV QS-RGQ Kit“ tyrimo rezultatus vaizduojant y ašyje, o lyginamojo tyrimo rezultatus – x ašyje. Buvo pateikti parametru įverčiai kartu su jų SP ir atitinkamais 95 % PI. Regresijos analizė buvo atlikta įtraukiant visus abiejų tyrimų mėginius tarp LLOQ ir viršutinės kiekybinio nustatymo ribos (upper limit of quantification, ULOQ) (n=165, 2 pav.).



2 pav. Progresijos grafikas su Passing-Bablok ir Deming linijomis (n=165).

22 lentelė. „artus HCV QS-RGQ Kit“ ir lyginamojo tyrimo regresijos analizė

Tyrimas	Atsako kintamojo \log_{10} (IU/ml)	Aišk. kintamojo \log_{10} (IU/ml)	Stebėjimų sk.	Sankirta	Sankirtos apatinė dvipusio 95 % pas. int. riba	Sankirtos viršutinė dvipusio 95 % pas. int. riba	Nuolydis	Nuolydžio apatinė dvipusio 95 % pas. int. riba	Nuolydžio viršutinė dvipusio 95 % pas. int. riba
Deming	„artus HCV QS-RGQ Kit“	Lyginamasis tyrimas	165	0,164	-0,190	0,519	0,974	0,912	1,036
Passing-Bablok	„artus HCV QS-RGQ Kit“	Lyginamasis tyrimas	165	-0,222	-0,448	0,028	1,033	0,990	1,072

Pas. – pasiklovimas; aišk. – aiškinamasis; sk. – skaičius.

22 lentelė rodo, kad tiek Deming, tiek Passing-Bablok atveju sankirta yra artima nuliui (atitinkamai 0,164 ir -0,222), o nuolydis yra artimas 1 (atitinkamai 0,974 ir 1,033). Tai reiškia artimą bendrą koreliaciją tarp „artus HCV QS-RGQ Kit“ ir lyginamojo tyrimo.

Apribojimai

- Optimaliems PGR rezultatams užtikrinti reikia griežtai laikytis naudotojo vadovo nurodymų.
- Reikia atkreipti dėmesį į galiojimo datas, išspausdintas ant dėžutės ir visų komponentų etikečių. Nenaudokite komponentų, kurių galiojimo laikas baigėsi.
- Dirbant su mėginiais, kuriuose yra fibrino ar kitų krešulių susidarymo požymių, gali užsikimšti pipečių antgaliai ir dėl nepakankamo perkeliama tūrio mėginio ruošimo metu gali būti gauti klaidingi rezultatai.
- Nors mutacijos pasireiškia retai, tačiau dėl jų ypač atspariose HCV genomo srityse, dengtose rinkinio pradmenimis ir (arba) zondų, gali būti nustatytas per mažas viruso kiekis arba paveiktuose mėginiuose gali nepavykti aptikti esančio HCV.
- Šis gaminys skirtas naudoti specialistams, pvz., technikams ir gydytojams, paruoštiems atlikti in vitro diagnostikos procedūras.

Kokybės kontrolė








Vadovaujantis „QIAGEN“ ISO sertifikuota kokybės valdymo sistema, kiekviena „artus HCV QS-RGQ Kit“ partija išbandoma pagal nustatytas specifikacijas, siekiant nuolat išlaikyti produktų kokybę.








Literatūra

1. Polaris Observatory HCV Collaborators (2017) Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study; *Lancet Gastroenterol. Hepatol.*, **2**, 161.
2. European Association for Study of the Liver (2018). EASL recommendations on treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatol.*, [Epub ahead of print].
3. European Association for Study of the Liver and Asociacion Latinoamericana para el Estudio del Hígado (2015). EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J. Hepatol.*, **63**, 237.
4. Harrington, P.R., Zeng, W., and Naeger, L.K. (2012) Clinical relevance of detectable but not quantifiable hepatitis C virus RNA during boceprevir or telaprevir treatment. *Hepatology* **55**, 1048.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Guideline EP17-A2, Vol. 32 No. 8, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures, Approved Guideline – Second Edition 2012.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Guideline EP06-A, Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline 2003.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Guideline EP05-A3, Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition 2014.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Guideline EP7-A2, Vol. 25 No. 27, Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Edition – Second Edition 2005.

Simboliai

Šiose naudojimo instrukcijose naudojami toliau esančioje lentelėje nurodyti simboliai.

Simbolis	Simbolio apibrėžimas
 72	Pakanka 72 tyrimams
	In vitro diagnostika
	CE ženklas
	Katalogo numeris
	Partijos numeris
	Medžiagos numeris
	Komponentai

Simbolis	Simbolio apibrėžimas
	Sudėtyje yra
	Vidinė kontrolinė medžiaga
	Visuotinis prekės numeris
Rn	R yra naudojimo instrukcijų (vadovo) peržiūrėtas leidimas, n yra peržiūrėto leidimo numeris
	Temperatūros apribojimai
	Gamintojas
	Tinka naudoti iki
	Žr. naudojimo instrukcijas

Trikčių šalinimo vadovas

Šiame skirsnyje ieškokite informacijos apie klaidų ir trikčių šalinimą, esant problemoms, kurios gali kilti dirbant su „artus HCV QS-RGQ Kit“. Jei atlikus rekomenduojamus veiksmus problemos nepavyko išspręsti, kreipkitės į „QIAGEN“ technines tarnybas per techninės pagalbos centrą adresu www.qiagen.com/support, skambindami 00800-22-44-6000, arba susisiekdami su vienu iš „QIAGEN“ techninio aptarnavimo skyrių arba vietinių platintojų.

Galima problema arba priežastis	Korekcinis veiksmas
--	----------------------------

Bendrasis naudojimas

Jutikliniame ekrane rodomas klaidos pranešimas.

Jei klaidos pranešimas rodomas vykdant protokolą, žr. su instrumentais pateiktus naudotojo vadovus.

Atidarytos „QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit“ kasetės reagentų lovelyje yra nuosėdų

a) Buferinio tirpalo garavimas

Dėl per didelio garavimo buferiniuose tirpaluose gali padidėti druskų koncentracija arba sumažėti alkoholio koncentracija. Išmeskite reagentų kasetę (reagent cartridge, RC). Panaudotos reagentų kasetės (RC) buferinio tirpalo lovelius būtinai uždarykite sandarinimo pakartotinai naudojant juostelėmis, kai tirpalas nenaudojamas gryninant.

Galima problema arba priežastis	Korekcinis veiksmas
--	----------------------------

b) Reagentų kasečių (RC) laikymas	Laikant reagentų kasetes (RC) žemesnėje nei 15 °C temperatūroje, gali susidaryti nuosėdų. Jei reikia, išimkite lovelius su buferiniais tirpalais QSL2 ir QSB1 iš reagentų kasetės (RC) ir 30 minučių inkubuokite vandens vonelėje* 37 °C temperatūroje kartais pakratydami, kad nuosėdos ištirptų. Būtinai gražinkite lovelius į tinkamas vietas. Jei reagentų kasetė (RC) jau pradurta, būtinai uždarykite lovelius naudodami daugkartinio naudojimo sandarinimo juosteles ir inkubuokite visą reagentų kasetę (RC) vandens vonelėje* 37 °C temperatūroje 30 minučių kartais pakratydami.
-----------------------------------	--

Maža nukleorūgščių išeiga

a) Magnetinės dalelės nebuvo iki galo suspenduotos.	Prieš pradėdami procedūrą įsitikinkite, kad magnetinės dalelės visiškai suspenduotos. Prieš naudodami purtykite bent 3 minutes.
b) Atšaldžius, užšaldyti mėginiai nebuvo tinkamai išmaišyti.	Užšaldytus mėginius atšildykite atsargiai kratydami, kad jie tinkamai susimaišytų.
c) Nepridėta nešančiosios RNR (CARRIER)	Regeneruokite nešančiąją RNR (CARRIER) buferiniame tirpale AVE (AVE) ir sumaišykite su reikiamu kiekiu buferinio tirpalo AVE (AVE), kaip aprašyta prieš tai esančiame skirsnyje. Pakartokite gryninimo procedūrą naudodami naujus mėginius.
d) Suprastėjo nukleorūgščių kokybė	Mėginiai buvo netinkamai laikomi arba per daug kartų užšaldyti ir atšildyti. Kartokite gryninimo procedūrą su naujais mėginiais.

*Užtikrinkite, kad prietaisai būtų reguliariai tikrinami, prižiūrimi ir kalibruojami, kaip nurodyta gamintojo instrukcijose.

Galima problema arba priežastis	Korekcinis veiksmas
--	----------------------------

- | | |
|---|---|
| e) Nebaigta mėginio lizė | Prieš naudodami patikrinkite, ar buferiniuose tirpaluose QSL2 ir QSB1 nėra nuosėdų. Jei reikia, išimkite lovelius su buferiniais tirpalais QSL1 ir QSB1 iš reagentų kasetės (RC) ir 30 minučių inkubuokite 37 °C temperatūroje kartais pakratydami, kad nuosėdos ištirptų. Jei reagentų kasetė (RC) jau pradurta, būtinai uždarykite lovelius daugkartinio naudojimo sandarinimo juostelėmis ir 30 minučių inkubuokite visą reagentų kasetę (RC) vandens vonelėje 37 °C temperatūroje kartais pakratydami.* |
| f) Dėl netirpios medžiagos užsikimšo pipetės antgalis | Netirpi medžiaga nebuvo pašalinta iš mėginio prieš pradėdant „QIASymphony“ gryninimo procedūrą. Norėdami pašalinti netirpią medžiagą ir tirti virusus, 1 minutę centrifuguokite mėginį 3000 x g jėga ir perkeltite supernatantą į naują mėgintuvėlį. |

„QIASymphony AS“ aptinka nepakankamą pagrindinio mišinio kiekį

- | | |
|--|--|
| Į mėgintuvėlį perkeliamas nepakankamas pagrindinio mišinio tūris | Į mėgintuvėlį perkeltkite reikalingą reagento tūrį ir įdėkite jį į „QIASymphony“. Naudojant rankines pipetes gali būti sudėtinga dirbti su klampiais reagentais. Į mėgintuvėlį perkeltkite visą pagrindinio mišinio tūrį.
Jei dirbate su klampiais reagentais ir naudojate rankines pipetes, rekomenduojame aspiruoti papildomą 5 % tūrį (pvz., nustatykite pipetę 840 µl tūrį, kad gautumėte 800 µl).
Arba, lėtai paskirstydami skystį ir išleisdami ant mėgintuvėlio sienelės, ištraukite antgalį iš skystio, atleiskite pipetės stūmoklį ir paplaukite dar 10 sekundžių. Likęs skystis nutekės į antgalį ir galės būti išleistas paspaudus pipetės stūmiklį antrą kartą. Naudojant PGR klasės filtrų antgalius, pažymėtus „low retention“ (mažas sukibimas), gali pagerėti skystio išgavimas. |
|--|--|

Galima problema arba priežastis	Korekcinis veiksmas
---------------------------------	---------------------

Nėra signalo, esant teigiamoms kontrolinėms medžiagoms (hep. C viruso RG QS 1–4) fluorescenciniame kanale „Cycling Green“

- | | |
|---|--|
| a) PGR duomenų analizei pasirinktas fluorescencinis kanalas neatitinka protokolo | Duomenų analizei pasirinkite fluorescencinį kanalą „Cycling Green“, kai vykdote analitinę HCV PGR, ir fluorescencinį kanalą „Cycling Orange“, kai vykdote vidinės kontrolinės medžiagos PGR. |
| b) Neteisingas „Rotor-Gene Q“ instrumento temperatūros profilio programavimas | Palyginkite temperatūros profilį su protokolu. Informacijos apie „Rotor-Gene Q“ ciklo parametrus žr. atitinkamuose šio vadovo skyriuose (žr. 3 lentelė ir skirsinį „Analizės nustatymai“, 35 psl.) |
| c) Neteisinga PGR konfigūracija | Įsitikinkite, kad tyrimo konfigūravimas buvo atliktas tinkamai ir kad buvo naudojamas teisingas tyrimo parametrų rinkinys (žr. 2 lentelė). Jei reikia, pakartokite PGR. |
| d) Vieno ar kelių rinkinio komponentų laikymo sąlygos neatitiko nurodymų, pateiktų „Reagentų laikymas ir naudojimas“, 16 psl. | Patikrinkite reagentų laikymo sąlygas ir tinkamumo laiką (žr. rinkinio etiketę) ir, jei reikia, naudokite naują rinkinį. |
| e) Baigėsi „artus HCV QS-RGQ Kit“ galiojimo laikas | Patikrinkite reagentų laikymo sąlygas ir tinkamumo laiką (žr. rinkinio etiketę) ir, jei reikia, naudokite naują rinkinį. |

Neigiamo mėginio arba mažos koncentracijos HCV teigiamo plazmos mėginio, kuris yra gryninimas naudojant „QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit“ fluorescencijos kanale „Cycling Orange“, prastas signalas arba signalo nėra

- | | |
|--------------------------------------|--|
| a) PGR sąlygos neatitinka protokolo. | Patikrinkite PGR sąlygas (žr. aukščiau) ir, jei reikia, pakartokite PGR taikydami teisingas nuostatas. |
| b) PGR buvo slopinama | Įsitikinkite, kad naudojate patvirtintą išskyrimo metodą (žr. „Protokolas: RNR išskyrimas ir tyrimo parengimas naudojant „QIASymphony SP/AS““, 23 psl.) ir atidžiai laikykitės nurodymų. |

Galima problema arba priežastis	Korekcinis veiksmas
--	----------------------------

- | | |
|---|---|
| c) Ekstrakcijos metu RNR buvo prarasta | Vidinės kontrolinės medžiagos signalo nebuvimas gali rodyti RNR praradimą ekstrakcijos metu. Įsitikinkite, kad naudojate patvirtintą išskyrimo metodą (žr. „Protokolas: RNR išskyrimas ir tyrimo parengimas naudojant „QIASymphony SP/AS““, 23 psl.) ir atidžiai laikykitės nurodymų. Taip pat žr. „Maža nukleorūgščių išėiga“ prieš tai. |
| d) Vieno ar kelių rinkinio komponentų laikymo sąlygos neatitiko nurodymų, pateiktų „Reagentų laikymas ir naudojimas“, 16 psl. | Patikrinkite reagentų laikymo sąlygas (žr. rinkinio etiketę) ir, jei reikia, naudokite naują rinkinį. |
| e) Baigėsi „artus HCV QS-RGQ Kit“ galiojimo laikas | Patikrinkite reagentų laikymo sąlygas ir tinkamumo laiką (žr. rinkinio etiketę) ir, jei reikia, naudokite naują rinkinį. |

Galima problema arba priežastis	Korekcinis veiksmas
--	----------------------------

Signalai naudojant neigiamas kontrolines medžiagas analitinės PGR fluorescenciniame kanale „Cycling Green“

- | | |
|-------------------------------------|---|
| a) PGR ruošimo metu atsirado tarša | Dėl per didelio garavimo buferiniuose tirpaluose gali padidėti druskų koncentracija arba sumažėti alkoholio koncentracija. Išmeskite reagentų kasetę (reagent cartridge, RC). Panaudotos reagentų kasetės (reagent cartridge, RC) buferinio tirpalo lovėlius būtina uždarykite sandarinimo pakartotinai naudojant juostelėmis, kai tirpalas nenaudojamas gryninant. |
| b) Ekstrakcijos metu atsirado tarša | Pakartokite tiriamo mėginio ekstrakciją ir PGR, naudodami naujus reagentus. Užtikrinkite, kad darbo vieta ir instrumentai būtų reguliariai dezinfekuojami. |

Užsakymo informacija

Produktas	Turinys	Kat. Nr.
„artus HCV QS-RGQ Kit“	72 reakcijoms: A ir B pagrindinis mišinys, vidinė kontrolinė medžiaga, 1–4 hepatito C viruso kiekybinio nustatymo standartai, (hepatito C viruso RG QS 1–4) ir PGR klasės vanduo	4538366
Susiję produktai		
„QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit“ (96)	Su 2 reagentų kasetėmis ir fermentų stoveliais bei reikmenimis	937055
„QIASymphony SP“	„QIASymphony“ mėginių ruošimo modulis, 1 metų garantija dalių ir darbo kokybei	9001297
„QIASymphony AS“	„QIASymphony“ mėginių rengimo modulis, 1 metų garantija dalių ir darbo kokybei	9001301
„Rotor-Gene Q Software“, 2.3 arba naujesnė versija	Programinė įranga, skirta įprastiems tyrimams naudojant „Rotor-Gene Q“ ir „QIASymphony RGQ“ instrumentus	9023241
„Rotor-Gene Q MDx Cycler“	Realaus laiko PGR cikleris ir didelės skiriamosios gebos lydumo analizatorius (high resolution melt, HRM) su 5 kanalais (žaliu, geltonu, oranžiniu, raudonu, tamsiai raudonu), taip pat HRM kanalu, nešiojamuoju kompiuteriu, programine įranga, priedais: apima 1 metų garantiją dalims ir darbui, montavimas ir apmokymai neįtraukti	9002032

Prekių ženklai: QIAGEN[®], Sample to Insight[®], QIASymphony[®], artus[®], Rotor-Gene[®], Rotor-Gene AssayManager[®] („QIAGEN Group“); Corning[®] („Corning Inc.“); Sarstedt[®] („Sarstedt AG and Co.“); SAS[®] („SAS Institute Inc.“).

Dokumento peržiūrų istorija	
R2 01/2019	R ² reikšmė 7 lentelėje atnaujinta iš $\geq 0,980$ į ≥ 0.990 . Pridėti trūkstami duomenys 15 lentelėje Atnaujinti duomenys 2 pav. ir 22 lentelėje

„artus HCV QS-RGQ Kit“ ribotosios licencijos sutartis

Naudodamas šį produktą perkėjas ar naudotojas sutinka su šiomis sąlygomis:

1. Produktą galima naudoti tik vadovaujantis protokolais, pateiktais su šiuo produktu, šiuo vadovu ir tik su komplekte esančiais komponentais. QIAGEN nesuteikia jokios intelektualinės nuosavybės licencijos naudoti ar įtraukti pridėtus šio komplekto komponentus su į šį rinkinį neįeinančiais komponentais, išskyrus aprašytus protokoluose, pateiktuose su šiuo produktu, šiame vadove ir papildomuose protokoluose, esančiuose www.qiagen.com. QIAGEN naudotojams pateikiami keli papildomi protokolai. Šiuos protokolus QIAGEN kruopščiai patikrino ir optimizavo. QIAGEN neteikia garantijų, kad šie protokolai nepažeidžia trečiųjų šalių teisių.
2. Išskyrus licencijose nurodytus atvejus, QIAGEN nesuteikia garantijos, kad šis kompleksas ir (arba) jo naudojimas nepažeis trečiųjų šalių teisių.
3. Komplektui ir jo komponentams suteikta licencija naudoti vieną kartą; pakartotinai naudoti, atnaujinti ar perparduoti negalima.
4. QIAGEN aiškiai atsisako bet kokių kitų išreikštų ar numanomų licencijų, išskyrus aiškiai nurodytas licencijas.
5. Komplekto perkėjas ir naudotojas sutinka nesiimti ir neleisti niekam kitam imtis veiksmų, kurie galėtų paskatinti arba palengvinti čia nurodytus draudžiamus veiksmus. QIAGEN gali priversti vykdyti šios Ribotosios licencinės sutarties draudimus bet kuriame teisme ir atgauti visas tyrimo ir teismo išlaidas, įskaitant išlaidas advokatams, pateikusi ieškinį dėl šios Ribotosios licencinės sutarties vykdymo arba su šiuo kompleksu ir (arba) jo komponentais susijusių teisių į savo intelektualinę nuosavybę.

Atnaujintas licencijos sąlygas žr. www.qiagen.com.

Įsigijęs šį produktą perkėjas jį gali naudoti diagnostinėms paslaugoms teikti žmogaus in vitro diagnostikos tikslais. Joks bendras patentas ar kita licencija, išskyrus šią konkrečią įsigijimo suteikiamą teisę, nesuteikiama.

HB-2556-002 1115368 01/2019

© QIAGEN, 2019. Visos teisės saugomos.

Užsakymas www.qiagen.com/contact | Techninis palaikymas support.qiagen.com | Svetainė www.qiagen.com