

декември 2021 г.

Инструкции (ръководство) за употреба на *artus*[®] CMV RG PCR Kit



24 (каталожен № 4503263)



96 (каталожен № 4503265)

Версия 1

Количествена инвитро диагностика

За употреба с апаратите Rotor-Gene[®] Q MDx

IVD

CE 0197

REF

4503263, 4503265



QIAGEN GmbH

QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ГЕРМАНИЯ

R7 **MAT**

1126759BG

Съдържание

Предвидена употреба	5
Описание и принцип	5
Информация за патогените	6
Принцип на процедурата	6
Предоставени материали	7
Съдържание на набора	7
Необходими, но непредоставени материали	8
Реактиви	8
Консумативи	8
Оборудване	8
Предупреждения и предпазни мерки	9
Информация за безопасността	9
Предпазни мерки	9
Съхранение и боравене с реактиви	10
Съхранение и работа с проби	10
Вземане на проби	10
Съхранение на проби	11
Транспортиране на пробите	11
Процедура	12
Изолране на ДНК	12
Вътрешна контрола	13
Протокол: PCR и анализ на данните	14

Интерпретиране на резултатите	23
Количествено определяне	23
Обобщение	24
Контрол на качеството	27
Ограничения	27
Работни характеристики	28
Аналитична чувствителност	28
Линеен диапазон	30
Специфичност	32
Прецизност	34
Интерфериращи вещества	36
Устойчивост	38
Възпроизводимост	38
Диагностична оценка.....	40
Цитирани източници	42
Ръководство за отстраняване на проблеми	43
Символи	45
Информация за поръчка	46
Хронология на редакциите на документа	49

Предвидена употреба

Наборът *artus* CMV RG PCR Kit представлява инвитро тест за амплификация на нуклеинови киселини за количественото определяне на ДНК на цитомегаловирус (cytomegalovirus, CMV) в човешка плазма. Този диагностичен тестов набор използва полимеразната верижна реакция (Polymerase Chain Reaction, PCR) и е конфигуриран за употреба с апарати Rotor-Gene Q.

Наборът *artus* CMV RG PCR Kit е предназначен за използване съвместно с клиничната картина и други лабораторни маркери за лечение на CMV инфекция при пациенти в риск от CMV заболяване.

Резултатите от *artus* CMV RG PCR Kit трябва да се интерпретират в контекста на всички приложими клинични и лабораторни констатации.

Наборът *artus* CMV RG PCR Kit не е предназначен за използване като скрининг тест за наличие на CMV в кръв или кръвни продукти или като диагностичен тест за потвърждаване на наличието на CMV инфекция.

Описание и принцип

Наборът *artus* CMV RG PCR Kit представлява готова за използване система за откриването на ДНК на CMV чрез полимеразна верижна реакция (Polymerase Chain Reaction, PCR) на апарати Rotor-Gene Q MDx. CMV RG Master съдържа реактиви и ензими за специфичната амплификация на регион от 105 bp от основния незабавен ранен ген (*MIE*) от генома на CMV (анализът може да открие CMV генотипове gB1 – gB4) за директното откриване на специфичния ампликон във флуоресцентен канал Cycling Green на Rotor-Gene Q MDx.

Освен това *artus* CMV RG PCR Kit съдържа втора хетерологична амплификационна система за установяване на евентуално инхибиране на PCR. Това се открива като вътрешна контрола (Internal Control, IC) във флуоресцентен канал Cycling Yellow на Rotor-Gene Q MDx. Доставят се външни положителни контроли (CMV QS 1 – 4), които позволяват определянето на количеството вирусна ДНК. За повече информация вижте „Количествено определяне“ на страница 23.

Информация за патогените

Човешкият цитомегаловирус (CMV) се намира в кръвта, тъканите и почти всички секреторни течности на заразени лица. Предаването може да бъде по орален, сексуален път, чрез кръвопреливане или трансплантация на органи, вътрематочно или перинатално (1 – 4). Тестовите за вирусния товар на CMV са важна помощ за оценка на риска от заболяване, диагностициране на заболяването и проследяване на отговора към терапията (5).


Инфекцията със CMV често води до асимптоматична инфекция, последвана от доживотно персистиране на вируса в организма. Ако симптомите се наблюдават при тийнейджъри или при възрастни, те наподобяват тези при мононуклеоза – висока температура, лек хепатит и общо неразположение (6). Тежки форми на CMV инфекция са наблюдавани особено при инфектираните по вътрематочен път и при пациенти с имунна недостатъчност. (4,7).

Принцип на процедурата

Откриването на патогени чрез полимеразна верижна реакция (Polymerase Chain Reaction, PCR) се основава на амплификацията на специфични региони от генома на патогена. В real-time PCR амплифицираният продукт се открива с флуоресцентни оцветители. Те обикновено са свързани с олигонуклеотидни сонди, които се свързват специфично с амплифицирания продукт. Следенето на интензитетите на флуоресценцията по време на PCR (т.е. в реално време) позволява откриване и количествено определяне на натрупвания се продукт, без да бъде необходимо реакционните епруветки да се отварят отново след приключването на PCR (8).

Предоставени материали

Съдържание на набора

artus CMV RG PCR Kit			(24)	(96)
Каталожен №			4503263	4503265
Брой реакции			24	96
Син	CMV RG Master (Тақ 0,1 U/µl)		2 × 12 реакции	8 × 12 реакции
Жълт	CMV Mg-Sol*	Mg-Sol	600 µl	600 µl
Червен	CMV QS 1 [†] (1 × 104 копия/µl)	QS	200 µl	200 µl
Червен	CMV QS 2 [†] (1 × 103 копия/µl)	QS	200 µl	200 µl
Червен	CMV QS 3 [†] (1 × 102 копия/µl)	QS	200 µl	200 µl
Червен	CMV QS 4 [†] (1 × 101 копия/µl)	QS	200 µl	200 µl
Зелен	CMV RG IC ‡	IC	1000 µl	2 × 1000 µl
Бял	Water (Вода) (с качество за PCR)		1000 µl	1000 µl
	Инструкции за употреба		1	1

* Магнезиев разтвор

† Стандарт за количествено определяне

‡ Вътрешна контрола

Необходими, но непредоставени материали

Реактиви

- Комплект за изолиране на ДНК (вижте „Изолиране на ДНК“ на страница 12)

Консумативи

- Стерилни връхчета за пипети с филтри
- Strip Tubes and Caps, 0,1 ml, за използване със 72-well rotor (каталожен № 981103 или 981106)
- **Или:** PCR Tubes, 0,2 ml, за използване с 36-well rotor (каталожен № 981005 или 981008)

Оборудване

- Пипети (регулируеми)*
- Бъркалка*
- Настолна центрофуга* с ротор за 2-ml реакционни епруветки
- Апарати Rotor-Gene Q MDx* с флуоресцентни канали за Cycling Green и Cycling Yellow
- Софтуер на Rotor-Gene Q версия 2.3.5 или по-нова
- Блок за охлаждане (Loading Block 72 × 0,1 ml Tubes, каталожен № 9018901 или Loading Block 96 × 0,2 ml Tubes, каталожен № 9018905)

* Преди употреба се уверете, че апаратите са проверени и калибрирани съгласно препоръките на производителя.

Предупреждения и предпазни мерки

Информация за безопасността

При работа с химикали винаги носете подходяща лабораторна престилка, ръкавици за еднократна употреба и защитни очила. За повече информация вижте съответните информационни листове за безопасност (Safety Data Sheet, SDS). Тези листове можете да намерите онлайн в удобен и компактен PDF формат на адрес www.qiagen.com/safety, където можете да намерите, прегледате и разпечатате ИЛБ за всеки набор и компонент от набор QIAGEN.

Изхвърляйте отпадъците от аликвотните части и анализите съгласно местните разпоредби за безопасност.

Предпазни мерки

Потребителят трябва винаги да обръща особено внимание на следното:

- Използвайте стерилни връхчета за пипети с филтри.
- Съхранявайте и изтегляйте положителни материали (проби, положителни контроли и ампликони) отделно от всички други реактиви и ги прибавяйте към реакционната смес в пространствено обособено съоръжение.
- Размразете добре всички компоненти при стайна температура (15 – 25°C), преди да започнете анализа.
- По време на размразяването разбъркайте компонентите (с неколккратно пипетиране навътре и навън или с бъркалка на импулси) и центрофугирайте кратко време.
- Работете бързо и дръжте компонентите на лед или в блока за охлаждане (блок за зареждане със 72/96 ямки).

Съхранение и боравене с реактиви

Компонентите на *artus* CMV RG PCR Kit трябва да се съхраняват при температура от -30°C до -15°C и остават стабилни до датата на изтичане на срока на годност, посочена на етикета. Неколкократно размразяване и замразяване (повече от 2 пъти) трябва да се избягва, защото може да понижи чувствителността на анализа. Ако реактивите не се използват редовно, те трябва да се замразяват на аликвоти. Съхранението при температура между 2 и 8°C не трябва да бъде по-дълго от 5 часа.

Съхранение и работа с проби

Забележка: С всички аликвотни части трябва да се работи като с потенциално инфекциозен материал.

Забележка: Аналитичните проучвания, проведени за проверка на ефективността на този набор, посочват EDTA плазмата като най-подходящ материал в аликвотната част за откриване на CMV. Ето защо препоръчваме използването на този материал с набора *artus* CMV RG PCR Kit.

Валидирането на *artus* CMV RG PCR Kit се извършва с помощта на аликвотни части от човешка EDTA плазма. Други материали в аликвотната част не са валидирани. Моля, използвайте само препоръчителния набор за изолиране на нуклеинова киселина (вижте „Изолиране на ДНК“, страница 12) за подготовка на аликвотните части.

При използване на определени материали в аликвотната част трябва да се спазват стриктно конкретни инструкции относно вземането, транспортирането и съхранението им.

Вземане на проби

Всяко вземане на кръв причинява нараняване на кръвоносните съдове (артерии, вени или капилляри). Трябва да се използват само безвредни и стерилни материали. За вземане на кръв трябва да са на разположение подходящи материали за еднократна употреба. При пункции на вени не трябва да се използват твърде фини игли за капилярна кръв.

Вземането на венозна кръв трябва да се извършва от съответните за това части – сгъвката на лакътя, предмишницата или задната част на ръката. Кръвта трябва да бъде взета със стандартни епруветки за вземане на проби (червена капачка, Sarstedt® или еквивалентна епруветка на друг производител). Обем от 5 – 10 ml кръв трябва да се изтегли в епруветка с EDTA. Епруветките трябва да се смесват отгоре директно след вземането на пробата (8 пъти, не разклащайте).

Забележка: Не трябва да се използват хепаринизирани проби.

Съхранение на проби

Цялата кръв трябва да бъде разделена на плазма и клетъчни компоненти чрез центрофугиране в продължение на 20 минути при 800 – 1600 x *g* в рамките на 6 часа (9,10). Изолираната плазма се прехвърля в стерилни полипропиленови епруветки. Чувствителността на анализа може да бъде намалена, ако пробите се замразяват или съхраняват за по-дълъг период от време.

Транспортиране на пробите

Материалът за проби по принцип трябва да бъде транспортиран в нечуплив транспортен контейнер. По този начин може да се избегне потенциална опасност от инфекция поради изтичане на проба. Пробите трябва да се транспортират в съответствие с местните и национални разпоредби относно транспортиране на патогенни материали.*

Пробите трябва да бъдат изпратени в рамките на 6 часа. Не се препоръчва пробите да се съхраняват там, където са взети. Възможно е пробите да бъдат изпратени по пощата, като се спазват законовите разпоредби относно транспортиране на патогенни материали. Препоръчваме транспортирането на проби да става по куриер. Кръвните проби трябва да се доставят охладени (2 – 8°C), а отделената плазма да бъде дълбоко замразена (от -30°C до -15°C).

* Международна асоциация за въздушен транспорт (International Air Transport Association, IATA). Регламенти за превоз на опасни товари.

Процедура

Изолиране на ДНК

Наборите от QIAGEN, изброени в Таблица 1, са валидирани за пречистване на вирусна ДНК от посочените видове човешки аликвотни части за употреба с набора *artus CMV RG PCR Kit*. Пречистването на вирусна ДНК трябва да се извършва според съответните инструкции в ръководствата за наборите.

Таблица 1. Набори за пречистване, валидирани за употреба с *artus CMV RG PCR Kit*

Материал в аликвотната част	Размер на аликвотната част	Набор за изолиране на нуклеинови киселини	Каталожен номер	Носеща РНК
EDTA плазма	500 µl	QIAamp® DSP Virus Kit	60704	Включен
EDTA плазма	400 µl	EZ1® DSP Virus Kit (48)	62724	Включен

Забележка: Употребата на носеща РНК е задължителна за ефективното извличане и съответно за полученото количество ДНК/РНК. За да се увеличи стабилността на носещата РНК, предоставена с набора QIAamp DSP Virus Kit, препоръчваме да се процедира според информацията за разтваряне и съхранение на носещата РНК, предоставена в раздела „Подготовка на реактиви и буфери“ на *Ръководство за набора QIAamp DSP Virus Kit*.

Забележка: Вътрешната контрола на набора *artus CMV RG PCR Kit* може да се използва директно в процедурата за изолиране. Не забравяйте да включите една отрицателна плазмена проба в процедурата за изолиране. Съответният сигнал на вътрешната контрола е основата за оценка на изолирането (вижте раздела „Вътрешна контрола“ по-долу).

Вътрешна контрола

Този набор включва вътрешна контрола (CMV RG IC). Това позволява на потребителя да контролира както процедурата за изолиране на ДНК, така и да проверява за евентуално инхибиране на PCR. За целта добавете вътрешна контрола към изолацията в съотношение 0,1 µl на 1 µl обем за елуиране. Например, когато се използва QIAamp DSP Virus Kit, ДНК се елуира в 60 µl елуиращ буфер (AVE). Затова първоначално трябва да се прибавят 6 µl от вътрешната контрола. Количеството на използваната вътрешна контрола зависи само от обема за елуиране.

Забележка: Вътрешната контрола и Carrier RNA (вижте „Изолиране на ДНК“ на страница 12) трябва да се прибавят само към сместа от буфер за лизиране и материал в пробата или директно към буфера за лизиране.

Вътрешната контрола не трябва да се прибавя директно към материала в аликвотната част. При прибавяне към буфера за лизиране имайте предвид, че сместа от вътрешна контрола и буфер за лизиране–носеща РНК трябва да се приготвя и използва незабавно (съхраняване на сместа при стайна температура или в хладилник дори само няколко часа може да направи вътрешната контрола негодна и да намали ефективността на извличането).

Забележка: Не прибавяйте вътрешната контрола и носеща РНК директно към материала в аликвотната част.

За да се счита, че пречистването е успешно, стойността на C_T на вътрешна контрола на отрицателна плазмена проба, която е била обработена по време на пречистването (QIAamp DSP Virus Kit), трябва да достигне $C_T = 27 \pm 3$ (праг: 0,03) с помощта на апарати Rotor-Gene Q (вижте страница 26 за повече информация). Посоченото разпространение се основава на отклонението на апарата и пречистването. По-голямото отклонение сочи към проблем с пречистването. В този случай пречистването трябва да се провери и, ако е необходимо, да се валидира повторно. Ако имате допълнителни въпроси или срещнете проблеми, свържете се с отдела за техническо обслужване на QIAGEN.

Вътрешната контрола може да се използва евентуално и за проверка за инхибиране на PCR. За целта вътрешната контрола се прибавя директно към CMV RG Master и CMV Mg-Sol, както е описано на стъпка 2b от протокола (страница 15).

Протокол: PCR и анализ на данните

Важни моменти преди да започнете

- Отделете време да се запознаете с апарата Rotor-Gene Q, преди да започнете протокола. Вижте ръководството за потребителя на съответния апарат за повече информация.
- Задължително включете поне един стандарт за количествено определяне и една отрицателна контрола (вода с качество за PCR) във всяка PCR. За да генерирате стандартна крива, използвайте и 4-те доставени стандарта за количествено определяне (CMV QS 1 – 4) за всяка PCR.

Неща, които да направите, преди да започнете

- Блокът за охлаждане (от принадлежностите на апарата Rotor-Gene Q) задължително трябва да се охлади предварително до 2 – 8°C.
- Преди всяка употреба всички реактиви трябва да се размразят напълно, да се разбъркат (с неколккратно пипетиране навътре и навън или с бързо разбъркване) и да се центрофугират за кратко време.

Процедура

1. Поставете необходимия брой епруветки за PCR в адаптерите на блока за охлаждане.
2. Ако използвате вътрешната контрола, за да следите процедурата за изолиране на ДНК и да проверявате за евентуално инхибиране на PCR, изпълнете стъпка 2a. Ако използвате вътрешната контрола само за проверка за инхибиране на PCR, изпълнете стъпка 2b.

Забележка: Силно се препоръчва да добавите вътрешна контрола към CMV RG Master и CMV Mg-Sol, използвани за количествените стандарти. За стандартите за количествено определяне добавете вътрешна контрола директно към CMV RG Master и CMV Mg-Sol, както е описано в стъпка 2b от протокола, и използвайте тази основна смес за всеки стандарт за количествено определяне (CMV QS 1 – 4).

2a. Вътрешната контрола вече е прибавена за изолирането (вижте „*Вътрешна контрола*“ на страница 13). В този случай пригответе основна смес, следвайки таблица 2 (на следващата страница).

Реакционната смес обикновено съдържа всички компоненти, необходими за PCR, освен аликвотната част.

Таблица 2. Приготвяне на основна смес (вътрешната контрола се използва за следене на изолирането на ДНК и проверка за инхибиране на PCR)

Брой на аликвотните части	1	12
CMV RG Master	25 µl	300 µl
CMV Mg-Sol	5 µl	60 µl
CMV RG IC	0 µl	0 µl
Общ обем	30 µl	360 µl

2b. Вътрешната контрола трябва да се прибави директно към сместа от CMV RG Master и CMV Mg-Sol. В този случай пригответе основна смес по таблица 3. Реакционната смес обикновено съдържа всички компоненти, необходими за PCR, освен аликвотната част.

Таблица 3. Приготвяне на основна смес (вътрешната контрола се използва само за проверка за инхибиране на PCR)

Брой на аликвотните части	1	12
CMV RG Master	25 µl	300 µl
CMV Mg-Sol	5 µl	60 µl
CMV RG IC	2 µl	24 µl
Общ обем	32 µl*	384 µl*

* Увеличаването на обема поради прибавянето на вътрешната контрола се пренебрегва при подготовката на анализа за PCR. Това не влошава чувствителността на системата за откриване.

3. Пипетирайте 30 µl от основната смес във всяка епруветка за PCR. След това прибавете 20 µl от елуираната ДНК от алиquotната част (вижте таблица 4). Съответно 20 µl от поне един стандарт за количествено определяне (CMV QS 1 – 4) трябва да се използва като положителна контрола и 20 µl вода (с качество за PCR) – като отрицателна контрола.

Таблица 4. Подготовка на анализа за PCR

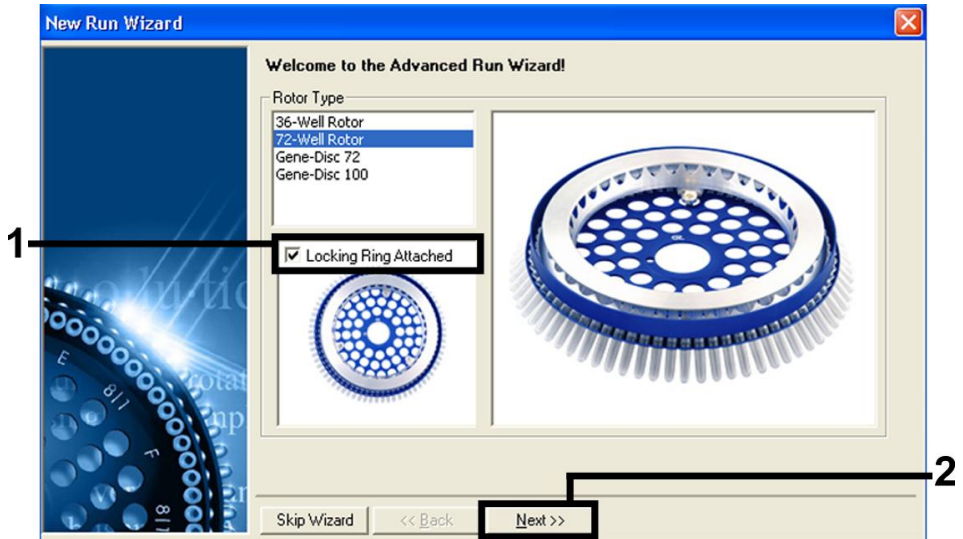
Брой на алиquotните части	1	12
Основна смес	30 µl	по 30 µl
Алиquotна част	20 µl	по 20 µl
Общ обем	50 µl	по 50 µl
Брой на алиquotните части	1	12

4. Затворете епруветките за PCR. Фиксираният пръстен (от принадлежностите на апарата Rotor-Gene) задължително трябва да се постави върху ротора, за да се предотврати инцидентно отваряне на епруветките по време на изпълнението.
5. За откриването на ДНК на CMV създайте температурен профил, следвайки следващите стъпки.

Задаване на общите параметри на анализа	Фигура 1, Фигура 2 и Фигура 3
Първоначално активиране на ензима за горещ старт	Фигура 4
Амплификация на ДНК (тъчдаун PCR (touchdown PCR))	Фигура 5
Регулиране на чувствителността на флуоресцентния канал	Фигура 6
Стартиране на изпълнението	Фигура 7

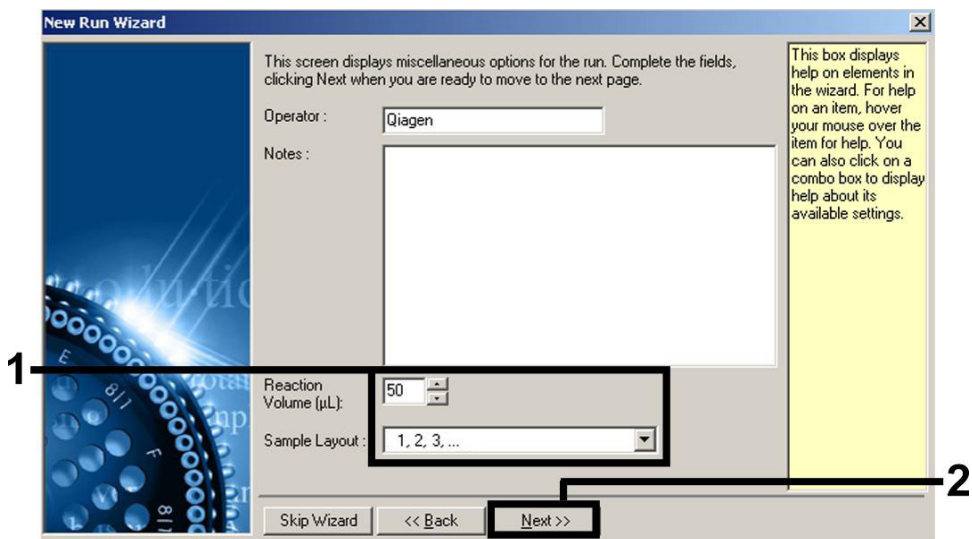
Всички спецификации са за софтуера на Rotor-Gene Q, версия 2.3.5 или по-нова. Допълнителна информация за програмирането на апаратите Rotor-Gene ще намерите в ръководството за потребителя на съответния апарат. На илюстрациите тези настройки са оградени с черни рамки. Дадени са илюстрации за апаратите Rotor-Gene Q.

6. Отворете диалоговия прозорец **New Run Wizard** (Съветник за ново изпълнение) (Фигура 1 на следващата страница). Поставете отметка в квадратчето **Locking Ring Attached** (Поставен фиксиращ пръстен) и щракнете върху **Next** (Напред).



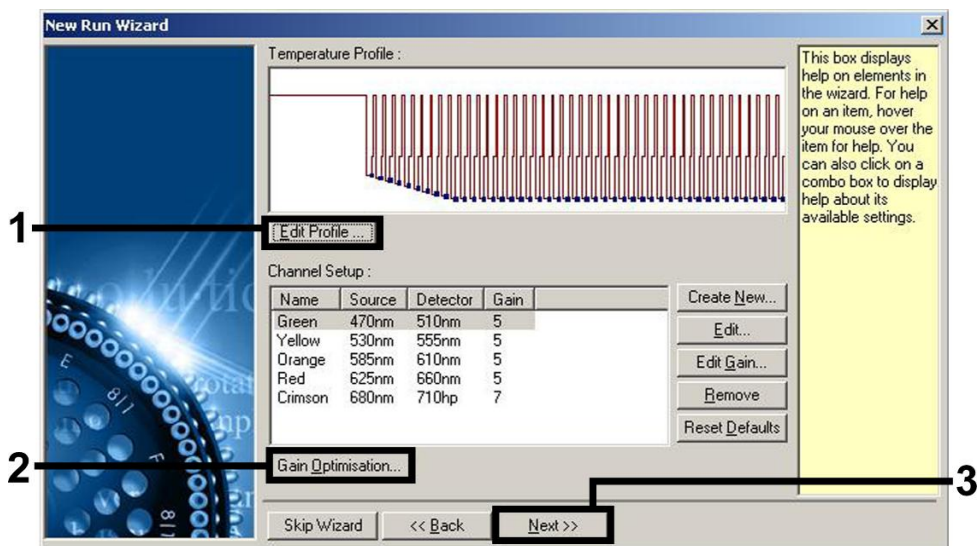
Фигура 1. Диалоговият прозорец „New Run Wizard“ (Съветник за ново изпълнение).

7. Изберете 50 за реакционния обем на PCR и щракнете върху **Next** (Напред) (фигура 2).

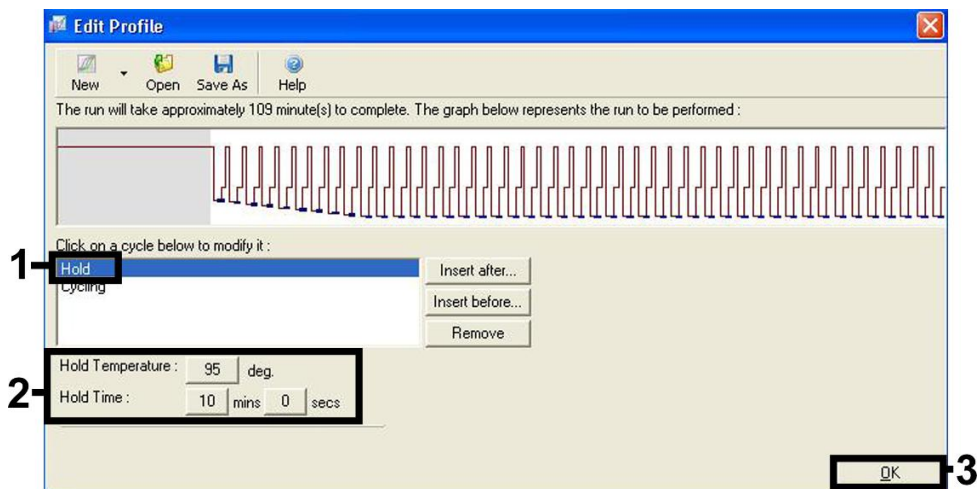


Фигура 2. Задаване на общите параметри на анализа.

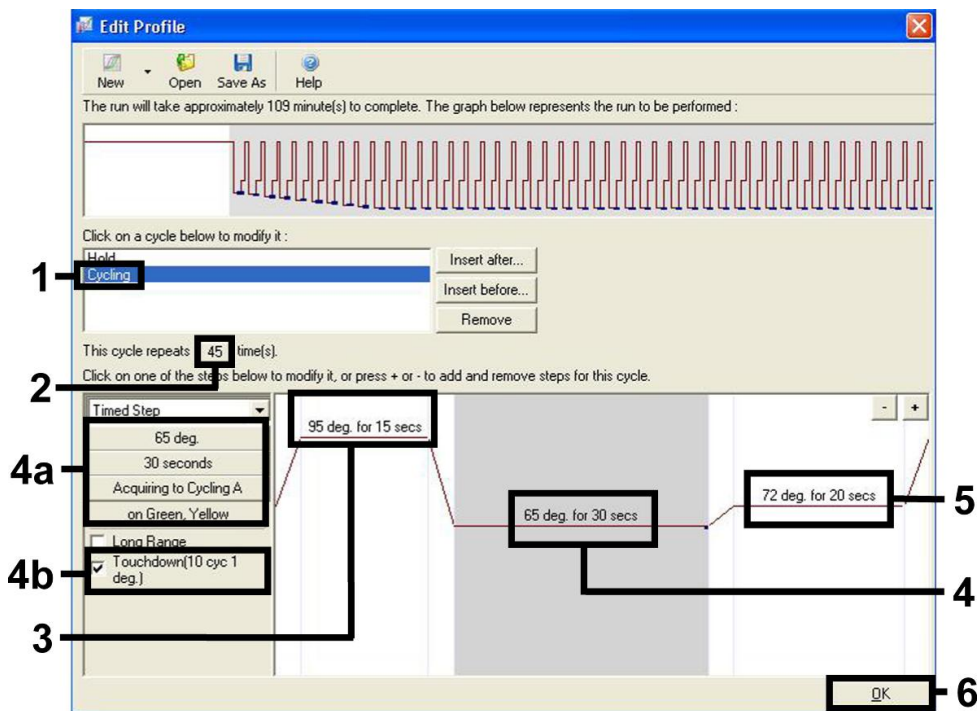
- Щракнете върху бутона **Edit Profile** (Промяна на профил) в следващия диалогов прозорец **New Run Wizard** (Съветник за ново изпълнение) (Фигура 3) и програмирайте температурния профил, както е показано на Фигура 3 до Фигура 5).



Фигура 3. Промяна на профила.

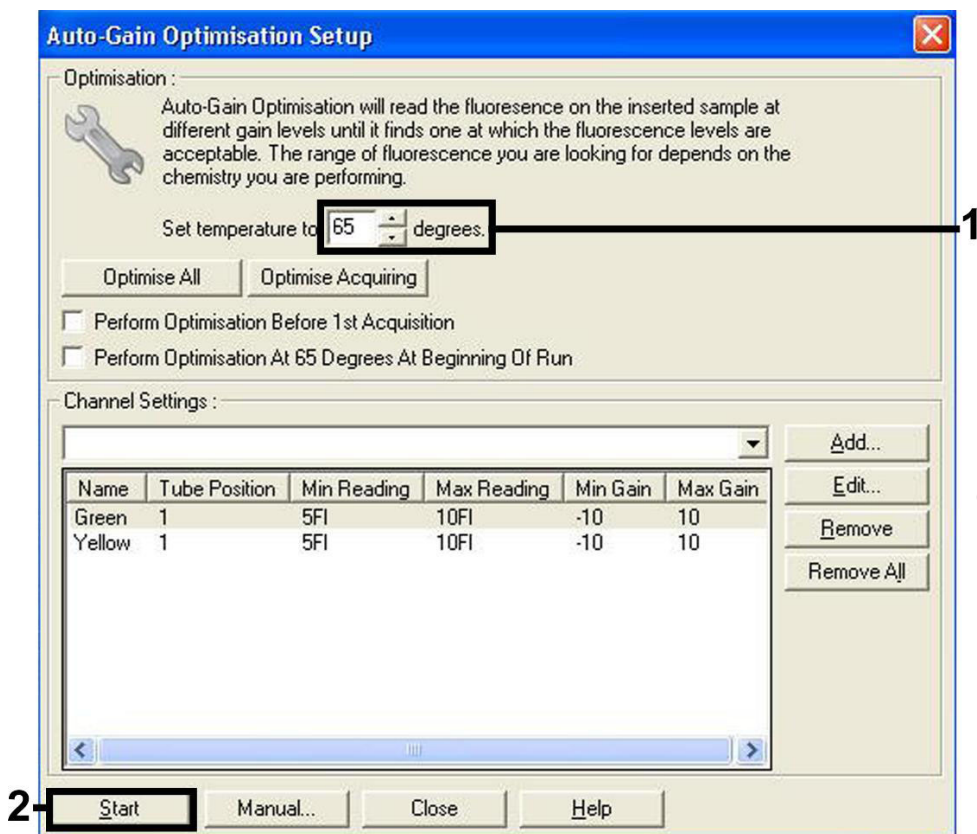


Фигура 4. Първоначално активиране на ензима за горещ старт.



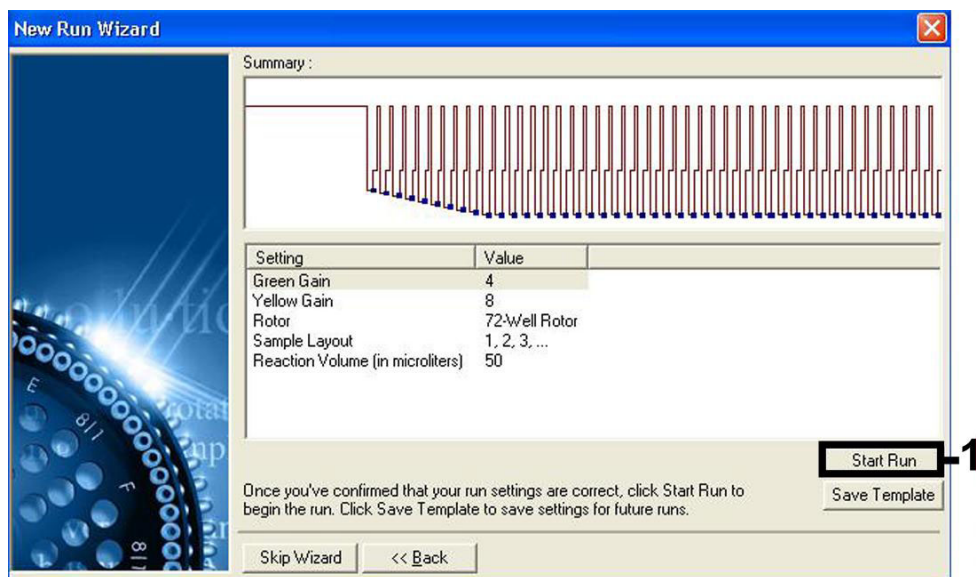
Фигура 5. Амплификация на ДНК. Задължително активирайте функцията за тъчдаун за 10 цикъла на стъпката за топлинна обработка.

9. Диапазонът на откриването на флуоресцентните канали трябва да се определи според интензитетите на флуоресценцията в епруветките за PCR. Щракнете върху **Gain Optimisation** (Оптимизиране на усилването) в диалоговия прозорец **New Run Wizard** (Съветник за ново изпълнение) (вижте Фигура 3 на предишната страница), за да отворите диалоговия прозорец **Auto-Gain Optimisation Setup** (Настройка на оптимизирането на автоматичното усилване). Задайте температурата за калибриране на 65°C, за да съответства на температурата на топлинната обработка на програмата за амплификация (Фигура 6 на следващата страница).



Фигура 6. Регулиране на чувствителността на флуоресцентния канал.

- Стойностите за усилването, определени от калибрирането на канала, се записват автоматично и се изброяват в прозореца с последното меню от процедурата за програмиране (Фигура 7 на следващата страница). Щракнете върху **Start Run** (Стартиране на изпълнението).



Фигура 7. Стартиране на изпълнението.

Интерпретиране на резултатите

Количествено определяне

Приложените стандарти за количествено определяне (CMV QS 1 – 4) се третират като предварително пречистени аликвотни части и се използва същият обем от 20 µl директно в PCR (няма нужда от допълнително извличане). За да се генерира стандартна крива на апарати Rotor-Gene Q, и 4-те стандарта за количествено определяне трябва да се използват и да се определят в диалоговия прозорец **Edit Samples** (Промяна на аликвотни части) като стандарти с посочените концентрации (вижте ръководството за потребителя на съответния апарат).

Забележка: За да се осигури точно количествено определяне, силно се препоръчва да добавите вътрешна контрола към CMV RG Master и CMV Mg-Sol, използвани за количествените стандарти. За целта добавете вътрешна контрола директно към CMV RG Master и CMV Mg-Sol, както е описано в стъпка 2b от протокола (страница 15), и използвайте тази основна смес за всеки стандарт за количествено определяне (CMV QS 1 – 4).

Забележка: Стандартите за количествено определяне се определят като копия/µl. За да се преобразуват стойностите, определени от стандартната крива, в копия/ml от материала в аликвотната част, трябва да се използва следното уравнение:

$$\text{Резултат} \left(\frac{\text{копия}}{\text{ml}} \right) = \frac{\text{Резултат (копия/µl)} \times \text{Обем за елуиране (µl)}}{\text{Обем на аликвотната част (ml)}}$$

По принцип първоначалният обем на аликвотната част трябва да се въведе в горното уравнение. Това трябва да се съобрази, когато обемът на аликвотната част се е променил преди извличането на нуклеинови киселини (например обемът е намалял при центрофугиране или се е увеличил при прибавяне към необходимия обем за изолирането).

Забележка: Стандартите за количествено определяне са калибрирани спрямо първия международен стандарт за човешки цитомегаловирус (NIBSC код: 09/162) на Световната здравна организация (СЗО).

За да конвертирате копия/ml в IU/ml по отношение на набора QIAamp DSP Virus Kit:

$$\text{СЗО (IU/ml)} = 2,933 \times \text{artus CMV (копия/ml)}$$

Забележка: За работния поток на QIAamp, количествените проби трябва да бъдат в линейния диапазон от $QS 1 \times 10^1$ до 1×10^4 копия/ μ l. Количественото определяне не може да бъде гарантирано извън този диапазон.

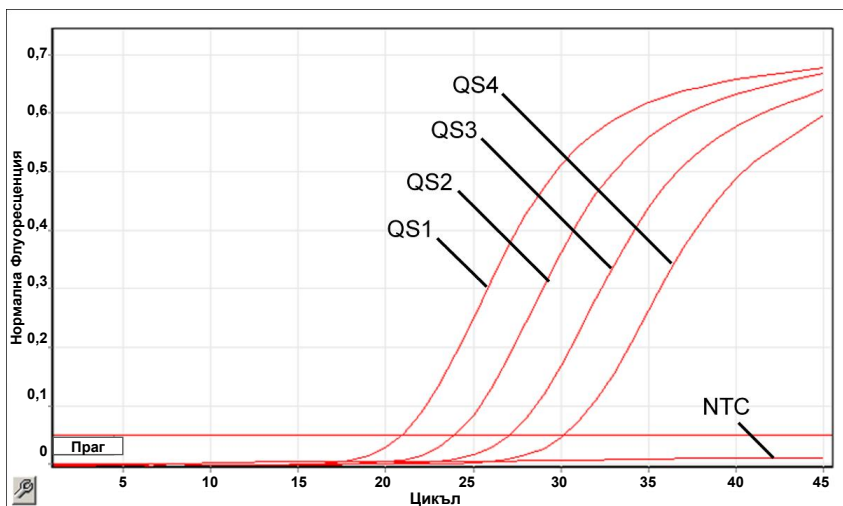
За да конвертирате копия/ml в IU/ml по отношение на набора EZ1 DSP Virus Kit на апарата EZ1 Advanced XL:

$$\text{СЗО (IU/ml)} = 0,794 \times \text{artus CMV (копия/ml)}$$

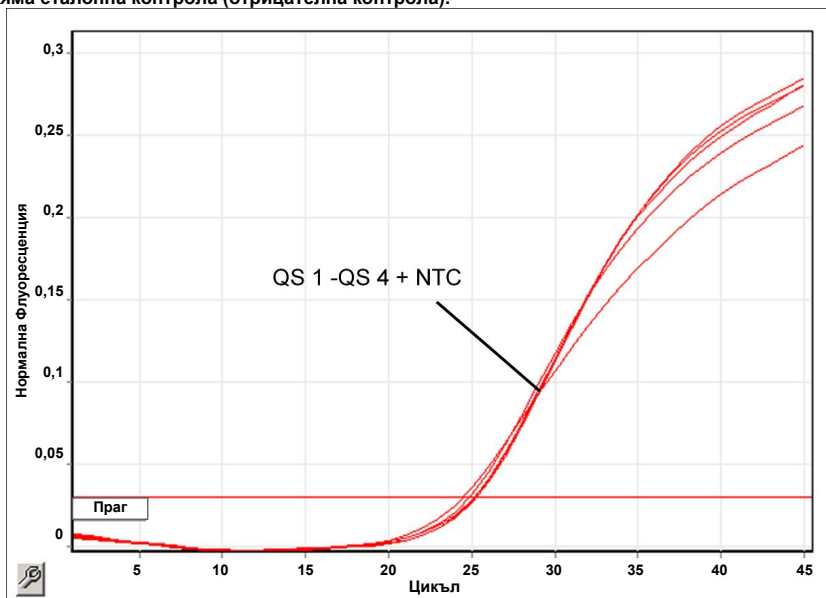
Забележка: За работния поток на EZ1, количествените проби трябва да бъдат в линейния диапазон от $3,16E + 02$ до $1,00E + 08$ копия/ml. Количественото определяне не може да бъде гарантирано извън този диапазон.

Обобщение

Примери за положителни и отрицателни реакции PCR са дадени на Фигура 8 и Фигура 9 (на следващата страница).



Фигура 8. Откриване на стандартите за количествено определяне (CMV QS 1 – 4) във флуоресцентен канал Cycling Green.
 NTC: Няма еталонна контрола (отрицателна контрола).



Фигура 9. Откриване на вътрешната контрола (IC) във флуоресцентен канал Cycling Yellow с едновременна амплификация на стандартите за количествено определяне (CMV QS 1 – 4). NTC: Няма еталонна контрола (отрицателна контрола).

Открит е сигнал във флуоресцентен канал Cycling Green.

Резултатът от анализа е положителен: аликвотната част съдържа ДНК на CMV.

В този случай откриването на сигнал в канала Cycling Yellow може да се пренебрегне, тъй като високи начални концентрации на ДНК на CMV (положителен сигнал в канала Cycling Green) могат да доведат до понижен или липсващ флуоресцентен сигнал от вътрешната контрола в канала Cycling Yellow (конкуренция).

Не е открит сигнал във флуоресцентен канал Cycling Green. В същото време в канала Cycling Yellow се появява сигнал от вътрешната контрола.

В пробата не се открива ДНК на CMV. Тя може да се счита за отрицателна.

При отрицателен резултат за CMV от PCR откритият сигнал от вътрешната контрола изключва възможността за инхибиране на PCR.

Не е открит сигнал в каналите Cycling Green или в Cycling Yellow.

Резултат не може да се определи еднозначно.

Информация за източниците на грешки и съответните решения можете да намерите в „Ръководство за отстраняване на проблеми“ на страница 43.

Контрол на качеството

В съответствие със сертифицираната по ISO Система за управление на качеството на QIAGEN всяка производствена партида на *artus* CMV RG PCR Kit се тества по предварително определени спецификации, за да се осигури постоянно качество на продуктите.

Ограничения

Всички реактиви са само за инвитро диагностична употреба.

Продуктът може да се използва от персонал, който е специално инструктиран и обучен по процедурите за ин витро диагностика.

За получаването на оптимални резултати от PCR е необходимо строго спазване на ръководството за потребителя на съответния апарат.

Трябва да се проверяват датите на изтичане на сроковете на годност, отпечатани на опаковката и етикетите на всички компоненти. Не използвайте компоненти с изтекъл срок на годност.

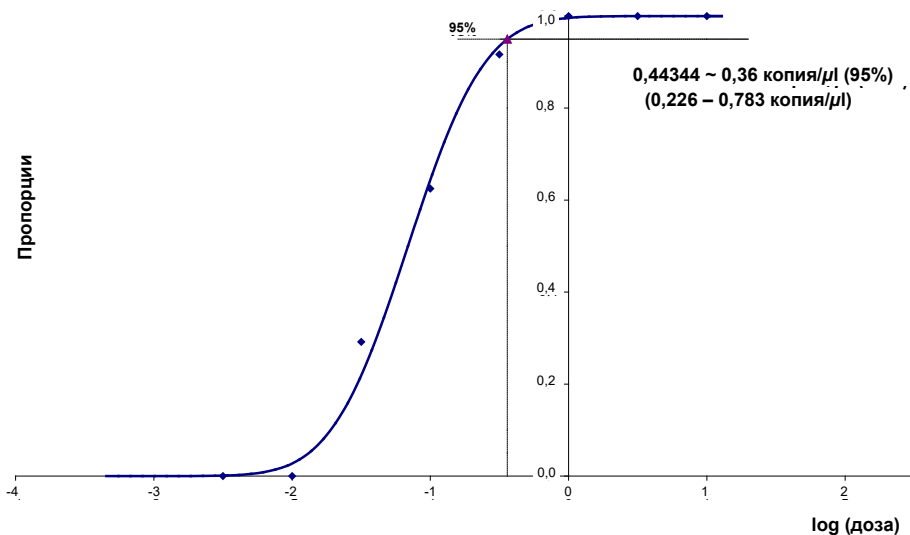
Макар и рядко, мутации в силно консервираните региони на вирусния геном, използвани от праймерите и/или сондата в комплекта, могат да доведат до занижено количествено определяне или неоткриване на присъствието на вируса в тези случаи. Валидността и работните характеристики на конфигурацията на анализа се проверяват редовно.

Работни характеристики

Аналитична чувствителност

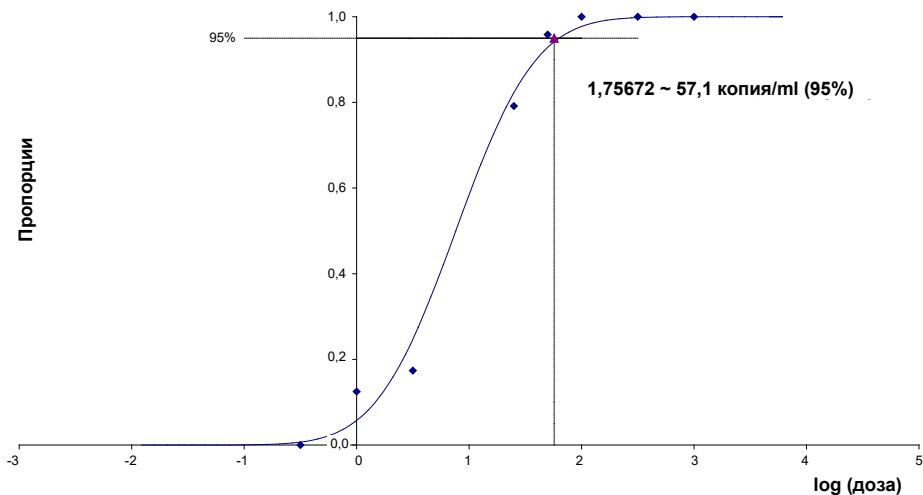
Аналитичната граница на откриване, както и аналитичната граница на откриване по отношение на пречистването (граница на чувствителност) за набора *artus* CMV RG PCR Kit бяха оценени. Аналитичната граница на откриване по отношение на пречистването се определя, като се използват положителни за CMV клинични проби в комбинация с конкретен метод на извличане. За разлика от това, аналитичната граница на откриване се определя независимо от избрания метод на извличане, като се използва ДНК на CMV с известна концентрация.

За да се определи аналитичната чувствителност на набора *artus* CMV RG PCR Kit, е подготвена серия разреждания на геномна ДНК на CMV от 10 до номиналните 0,00316 копия/ μ l, която е анализирана на апарати Rotor-Gene заедно с набора *artus* CMV RG PCR Kit. Тестването е извършено в 3 различни дни на 8 повторения. Резултатите са определени чрез probit анализ. Probit анализът на Rotor-Gene 6000 е представен графично на Фигура 10 (на следващата страница). Аналитичната граница на откриване на набора *artus* CMV RG PCR Kit заедно с Rotor-Gene Q MDx/Q/6000 и Rotor-Gene 3000 е съответно 0,36 копия/ μ l ($p = 0,05$) и 0,24 копия/ μ l ($p = 0,05$). Това означава, че има 95% вероятност за откриване на 0,36 копия/ μ l или 0,24 копия/ μ l.



Фигура 10. Probit анализ: CMV (Rotor-Gene 6000). Аналитична чувствителност на *artus* CMV RG PCR Kit с Rotor-Gene 6000.

Аналитичната чувствителност по отношение на пречистването (QIAamp DSP Virus Kit) на набора *artus* CMV RG PCR Kit на апарати Rotor-Gene беше определена с помощта на серия от разреждания на материал от CMV вирус от 1000 до номиналните 0,316 копия/ml на CMV, добавени в клинични плазмени проби. Те бяха подложени на извличане на ДНК с помощта на набора QIAamp DSP Virus Kit (екстракционен обем: 0,5 ml, обем за елуиране: 60 µl). Всяко от 8-те разреждания се анализира с *artus* CMV RG PCR Kit в 3 различни дни на 8 повторения. Резултатите са определени чрез probit анализ. Probit анализът е представен графично на Фигура 11 (на следващата страница). Аналитичната граница на откриване по отношение на пречистването на набора *artus* CMV RG PCR Kit заедно с Rotor-Gene 3000 е 57,1 копия/ml ($p = 0,05$). Това означава, че има 95% вероятност за откриване на 57,1 копия/µl.



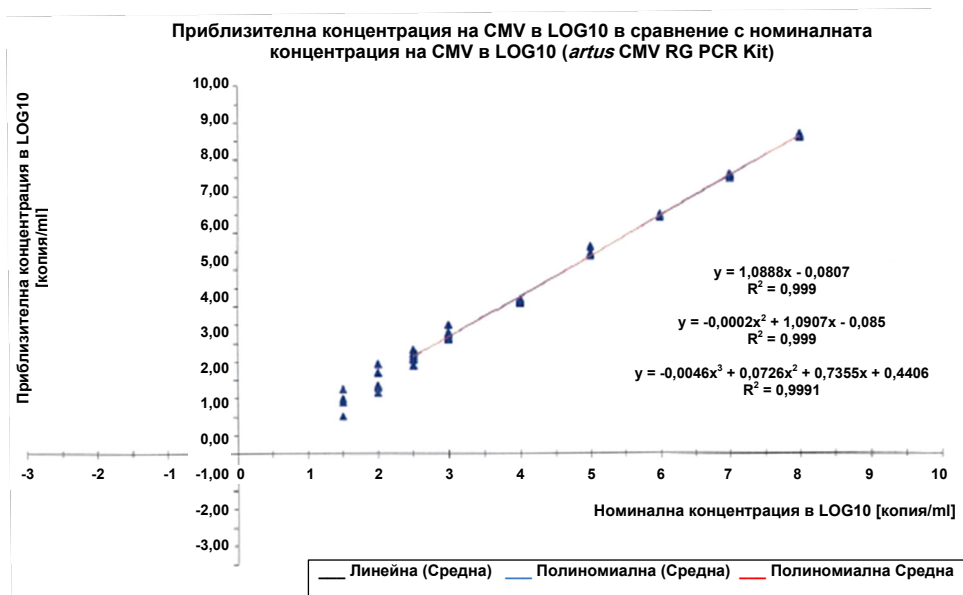
Фигура 11. Probit анализ: CMV (Rotor-Gene 3000). Аналитична чувствителност по отношение на пречистването (QIAamp DSP Virus Kit, QIAGEN) на набора *artus* CMV RG PCR Kit с Rotor-Gene 3000.

Аналитичната чувствителност по отношение на пречистването с набора EZ1 DSP Virus Kit (обем на екстракция: 0,4 ml, обем за елуиране: 60 µl), когато се използва апарата EZ1 Advanced XL на набора *artus* CMV RG PCR Kit с Rotor-Gene 6000 е 68,75 копия/ml ($p = 0,05$). Това означава, че има 95% вероятност за откриване на 68,75 копия/µl.

Линеен диапазон

Линейният диапазон по отношение на пречистването с набора EZ1 DSP Virus Kit (обем на екстракция: 0,4 ml, обем за елуиране: 60 µl), когато се използва апарата EZ1 Advanced XL беше определен чрез тестване на 4 до 6 повторения на материал от CMV вирус в серия от разреждания от $3,16 \times 10^1$ до $1,00 \times 10^8$ копия/ml.

Probit анализът е представен графично на Фигура 12 (на следващата страница).



Фигура 12. Полиномиална регресия на набор от данни на *artus* CMV RG PCR Kit по отношение на пречиштането (EZ1 DSP Virus Kit) на апарата EZ1 Advanced XL. Включени са линейни, квадратични и кубични регресионни модели.

Линейният диапазон на *artus* CMV RG PCR Kit по отношение на пречиштането с набора EZ1 DSP Virus Kit (обем на екстракция: 0,4 ml, обем за елуиране: 60 µl), когато се използва апарата EZ1 Advanced XL, е от 3,16 E + 02 до 1,00 E + 08 копия/ml.

Забележка: Линейният диапазон на *artus* CMV RG PCR Kit по отношение на пречиштането с набора QIAamp DSP Virus Kit (обем на екстракция: 0,4 ml, обем за елуиране: 60 µl) е от 1,00 E + 01 до 1,00 E + 04 копия/ml.

Специфичност

Специфичността на *artus* CMV RG PCR Kit се осигурява най-вече чрез подбора на праймери и сонди, както и чрез избора на точни условия на реакцията. Праймерите и сондите са проверени за възможни хомологии на всички публикувани секвенции в генните банки чрез сравнителен анализ на секвенциите. По този начин е осигурена възможността за откриване на всички съответни щамове.

Специфичността е допълнително валидирана със 100 различни CMV-отрицателни аликвотни части от плазма. 99 от тези проби не са генерирали сигнали със специфичните за CMV праймери и сонди, включени в CMV RG Master.

Забележка: 1 проба, която е генерирала сигнал със специфичните за CMV праймери и сонди, която също е излязла положителна с наборите *artus* CMV LC и TM RG PCR Kit, е вероятно положителна. Крайната специфичност въз основа на тестване на 100 отделни проби от донори беше потвърдена като 99,00% (99/100).

Наборът *artus* CMV RG PCR Kit е тестван за потенциална кръстосана реактивоспособност с контролната група в Таблица 5. Не е установена реактивоспособност с нито един от тестваните патогени. Не е установена кръстосана реактивност със смесени инфекции.

Таблица 5. Тестване на специфичността на комплекта с патогени с потенциална кръстосана реактивоспособност

Контролна група	CMV (Cycling Green или Cycling A.FAM)	Вътрешна контрола (Cycling Yellow или Cycling A.JOE)
Човешки вирус на херпес 1 (вирус на херпес симплекс 1)	–	+
Човешки вирус на херпес 2 (вирус на херпес симплекс 2)	–	+
Човешки вирус на херпес 3 (вирус на варицела-зостер)	–	+
Човешки вирус на херпес 4 (вирус на Епщайн-Бар)	–	+
Човешки вирус на херпес 6А	–	+
Човешки вирус на херпес 6В	–	+
Човешки вирус на херпес 7	–	+
Човешки вирус на херпес 8 (Херпес вирус, свързан със саркома на Капоши)	–	+
Вирус на хепатит А	–	+
Вирус на хепатит В	–	+
Вирус на хепатит С	–	+

(продължава на следващата страница)

Таблица 5 (продължава от предишната страница)

Контролна група	CMV (Cycling Green или Cycling A.FAM)	Вътрешна контрола (Cycling Yellow или Cycling A.JOE)
Човешкият имунодефицитен вирус 1	–	+
Човешки вирус на Т-клетъчна левкемия 1	–	+
Човешки вирус на Т-клетъчна левкемия 2	–	+
Вирус на западнотилска треска	–	+
Ентеровирус	–	+
Парвовирус В19	–	+

Прецизност

Данните за прецизност на *artus* CMV RG PCR Kit са събрани с помощта на апарати Rotor-Gene и позволяват определянето на общата вариабилност на анализа. Общата вариабилност се състои от вариабилност в рамките на анализа (вариабилност на множество резултати от проби с една и съща концентрация в рамките на един експеримент), вариабилност между различните анализи (вариабилност на множество резултати от анализа, генерирани на различни апарати от един и същи тип от различни оператори в рамките на една лаборатория) и вариабилността между партидите (вариабилността на множество резултати от анализа, за които са използвани различни партиди). Получените данни бяха използвани за определяне на стандартното отклонение, вариабилността и коефициента на вариация при PCR обработката на специфичен патоген и вътрешна контрола.

Данните за прецизност на *artus* CMV RG PCR Kit бяха събрани, използвайки количествения стандарт с най-ниска концентрация (QS 4; 10 копия/μl). Тестването беше извършено с 8 повторения. Данните за прецизност бяха изчислени на базата на C_T стойностите на кривите на амплификация (C_T: граничен цикъл, вижте Таблица 6 на следващата страница). Освен това, данните за прецизност на количествените резултати в копия/μl бяха определени, като се използват съответните C_T стойности (вижте Таблица 7 на следващата страница). Въз основа на тези резултати, общото статистическо разпространение на всяка дадена проба със споменатата концентрация е 1,21% (C_T) или 14,38% (концентрация) и 1,93% (C_T) за откриване на вътрешната контрола. Тези стойности се основават на съвкупността от всички единични стойности на определените вариабилности.

Таблица 6. Данни за прецизност на базата на C_T стойностите

	Стандартно отклонение	Вариации	Коефициент на вариация (%)
Вариабилност в рамките на анализа: CMV QS 4	0,17	0,03	0,57
Вариабилност в рамките на анализа: Вътрешна контрола	0,31	0,10	1,16
Вариабилност между различните анализи: CMV QS 4	0,38	0,14	1,27
Вариабилност между различните анализи: Вътрешна контрола	0,47	0,22	1,77
Вариабилност между различните партиди: CMV QS 4	0,33	0,11	1,10
Вариабилност между различните партиди: Вътрешна контрола	0,53	0,28	2,02
Обща вариабилност: CMV QS 4	0,36	0,13	1,21
Обща вариабилност: Вътрешна контрола	0,51	0,26	1,93

Таблица 7. Данни за прецизност на базата на количествените резултати (в копия/μl)

	Стандартно отклонение	Вариации	Коефициент на вариация (%)
Вариабилност в рамките на анализа: CMV QS 4	1,34	1,80	13,30
Вариабилност между различните анализи: CMV QS 4	1,54	2,38	15,25
Вариабилност между различните партиди: CMV QS 4	1,46	2,12	14,41
Обща вариабилност: CMV QS 4	1,45	2,11	14,38

Интерфериращи вещества

ДНК на CMV беше добавена в отрицателна плазма в различни предлагани в свободна продажба системи за взимане на кръв с различни антикоагуланти. Изчислената концентрация (копия/ml), C_T средно, стандартно отклонение, вариабилността и CV% са отчетени в Таблица 8. Стандартното отклонение и коефициентът на вариация са в рамките на 5% и следователно в границите на допустимите отклонения. Не е установено значително въздействие върху PCR поради различните вещества.

Таблица 8. Предлагани в свободна продажба системи за взимане на кръв и данни за антикоагуланти

Вещество	Концентрация (копия/ml)	C_T средно	C_T Стандартно отклонение	C_T Вариации	C_T CV (%)
Калиев EDTA, Becton Dickinson®	399,60	31,06	0,11	0,01	0,36
Калиев EDTA, Sarstedt	350,10	31,26	0,30	0,09	0,97
Калиев EDTA, Greiner Bio-One®	285,00	31,58	0,50	0,25	1,58
Калиев EDTA, Springe (сравнителен)	310,40	31,40	0,16	0,03	0,52
Калиев EDTA, Sarstedt (сравнителен)	487,20	30,80	0,14	0,02	0,47
Калиев EDTA (бременност)	423,30	33,2	0,26	0,07	0,79

Ендогенни вещества (Таблица 9 на следващата страница) бяха добавени в CMV-положителни EDTA плазмени проби при 3 x LOD и 10 x LOD. Всички проби бяха открити успешно и не бе наблюдавана намеса за проби, съдържащи повишени нива на ендогенни инхибитори (билирубин, хемоглобин, триглицериди и албумин).

Таблица 9. Тествани ендогенни вещества

Интерфериращи вещества	Концентрация на интерфериращи вещества
Билирубин	30 mg/dl
Хемоглобин	2 g/dl
Триглицериди	1 g/dl
Албумин	6 g/dl

Често използваните лекарства при трансплантация са тествани при 3 пъти острата пикова концентрация след медикаментозно терапевтично лечение, както се препоръчва в насоките CLSI® EP07-A2 (11) (вижте Таблица 10). Всяко от веществата беше добавено както в CMV отрицателни, така и в CMV положителни проби, които бяха тествани в 4 повторения.

Всички тествани екзогенни вещества не показват значително влияние върху ефективността на набора *artus* CMV RG PCR Kit.

Таблица 10. Списък на лекарствата, тествани като екзогенни вещества

Интерфериращи вещества	Тестова концентрация
Антибиотици	
Сулфаметоксазол	200 mg/l
Триметоприм	5,2 mg/l
Claforan® (Цефотаксим)	1 g/l
Tazobac® (Пиперацилин + Тазобактам)	Пиперацилин: 1 g/l Тазобактам: 125 mg/l
Тикарцилин	1 g/l
Augmentin® (Амоксицилин + Клавуланова киселина)	Амоксицилин: 125 mg/l Клавуланова киселина: 25 mg/l
Ванкомицин	125 mg/l
Противогъбични препарати	
Флуконазол	1 mg/l
Имуносупресивни лекарства	
Рапамицин	100 mg/l
Натриев микофенолат	80 mg/l

Устойчивост

Проверката на устойчивостта позволява определянето на общата честота на неуспех на набора *artus CMV RG PCR Kit*. 100 отрицателни за CMV проби от плазма бяха добавени към CMV при крайна концентрация от 170 копия/ml (приблизително трикратна концентрация в сравнение с границата на аналитичната чувствителност). Тези проби бяха анализирани с *artus CMV RG PCR Kit* след екстракция с помощта на набора *QIAamp DSP Virus Kit*. За всички CMV проби честота на неуспех е 0%. В допълнение, устойчивостта на вътрешната контрола беше оценена чрез пречистване и анализ на 100 отрицателни за CMV плазмени проби. По този начин устойчивостта на набора *artus CMV RG PCR Kit* е оценена на 99%.

Възпроизводимост

Данните за възпроизводимостта позволяват както редовна оценка на работните характеристики на *artus CMV RG PCR Kit*, така и сравнение на ефективността с други продукти. Тези данни са получени от участието в утвърдени програми за професионална квалификация.

В допълнение към участието в утвърдени програми за професионална квалификация, панел от 10 CMV проби (Таблица 11) беше тестван в 3 външни лаборатории с помощта на наборите *EZ1 DSP Virus Kit* на апарата *EZ1 Advanced XL* за пречистване на нуклеинова киселина и *artus RG PCR Kit* – за тестване на елуат от ДНК.

Таблица 11. Резюме на пробите от CMV панела

Номер на панела (Тип на пробата от панела)	Проба от панела	Ефект на разреждане
1001 (1)	Отрицателна	Отрицателна сборна проба 1
1002 (1)	Отрицателна	Отрицателна сборна проба 2
1003 (2)	Силно отрицателна	50% положителна
1004 (2)	Силно отрицателна	50% положителна
1005 (3)	Слабо положителна	200 копия/ml
1006 (3)	Слабо положителна	200 копия/ml
1007 (4)	Умерено положителна	2 000 копия/ml
1008 (4)	Умерено положителна	2 000 копия/ml
1009 (5)	Силно положителна	200 000 копия/ml
1010 (5)	Силно положителна	200 000 копия/ml

Панелът от 10 проби беше тестван в репликат от 2 различни оператора всеки ден в продължение на 6 дни във всеки от центровете с 3 партиди комплекти с реактиви. Следователно 20 проби, умножени по 2 оператора в продължение на 6 дни в 3 центъра, се равняват на 720 елемента с данни.

Установено е, че общата възпроизводимост на теста *artus* CMV RGQ MDx е $\leq 12\%$ CV за проби с концентрация между 200 копия/ml и 200 000 копия/ml (Таблица 12).

Таблица 12. Общо резюме (всички типове проби от панела) – наблюдавани средни стойности

типове проби от панела	Брой наблюдавани	Средна	Медиана	Стандартно отклонение	Процент CV	Минимум
1	144	0,02	0,00	0,158	849,84	0,00
2	144	0,68	0,83	0,630	92,19	-0,10
3	144	1,91	1,95	0,226	11,83	0,98
4	144	2,96	2,96	0,168	5,68	2,16
5	144	5,03	5,03	0,091	1,80	4,75

Общото резюме на процентната вариабилност и стандартното отклонение за стойностите на \log_{10} IU/ml за всеки от 5-те панела за дадена партида, център, оператор, ден, в рамките на различни серии и в рамките на една серия са представени в Таблица 13 (на следващата страница).

Таблица 13. Общо резюме на вариабилността и стандартното отклонение

Аликвотна част	1	2	3	4	5	
Вид на аликвотната част	отрицателна	силно отрицателна	слабо положителна	умерено положителна	силно положителна	
Наблюдавано средно log₁₀ IU/ml	0,02	0,68	1,91	2,96	5,03	
Брой тестове	144	144	144	144	144	
Параметър	% вариации S.D.					
Компоненти на вариациите	Партида	0	3,10	0	0	3,00
		0	0,113	0	0	0,016
	Център	0	0	0	0,90	0
		0	0	0	0,016	0
	Оператор	4,3	4,6	0	18,8	15,4
		0,033	0,136	0	0,074	0,037
	Ден	0	0	8,60	6,00	48,10
		0	0	0,067	0,042	0,065
	В различни серии	0	0	4,40	10,90	7,90
		0	0	0,048	0,057	0,026
В една серия	95,7	92,3	87	63,40	25,60	
	0,155	0,611	0,212	0,136	0,048	
Общо	100	100	100	100	100	
	0,158	0,635	0,227	0,171	0,094	

Диагностична оценка

Наборът *artus* CMV RG PCR Kit беше оценен в проучване, сравняващо *artus* CMV RG PCR Kit с COBAS® AMPLICOR® CMV MONITOR® Test. Бяха анализирани 156 ретроспективни и проспективни клинични EDTA плазмени проби. Всички проби преди това са анализирани положително или отрицателно с помощта на COBAS AMPLICOR CMV MONITOR за рутинна диагностика.

ДНК на CMV за тестване на набора *artus* CMV RG PCR Kit беше изолирана с помощта на QIAamp DSP Virus Kit чрез добавянето на вътрешна контрола на *artus* CMV RG PCR Kit към izolata, след което беше извършен анализ с апарат Rotor-Gene 3000. Пробите за теста COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test бяха обработени и анализирани в съответствие с инструкциите на производителя, предоставени в опаковката.

Всичките 11 проби, които са отчетени като положителни с теста COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test, са положителни и при тестването с набора *artus* CMV RG PCR Kit. 123 от 145 проби, които са тествани като отрицателни с теста COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test, са отрицателни и при тестването с набора *artus* CMV RG PCR Kit. Получени са 22 несъгласувани резултата (Таблица 14).

Таблица 14. Резултати от сравнителното валидиращо проучване

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

Ако резултатите от теста с COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test се вземат за справка, диагностичната чувствителност на всички проби, направени с набора *artus* CMV RG PCR Kit, е 100%, а диагностичната специфичност е 84,8%.

По-нататъшното тестване на 22 несъгласувани проби потвърди резултатите от *artus* PCR Kits. Следователно може да се приеме, че несъответствието се основава на по-високата чувствителност на набора *artus* CMV RG PCR Kit.

Цитирани източници

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

Ръководство за отстраняване на проблеми

Това ръководство за отстраняване на проблеми може да бъде полезно за отстраняване на евентуално възникнали проблеми. За повече информация вижте и страницата „Често задавани въпроси“ (Frequently Asked Questions, FAQ) в нашия Център за техническа поддръжка: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx.

Коментари и предложения

Няма сигнал с положителни контроли (CMV QS 1 – 4) във флуоресцентен канал *Cycling Green*

- | | |
|--|--|
| а) Избраният флуоресцентен канал за анализ на данните от PCR не е в съответствие с протокола | За анализ на данните изберете флуоресцентния канал <i>Cycling Green</i> за аналитичната PCR за CMV и флуоресцентния канал <i>Cycling Yellow</i> за PCR за вътрешната контрола. |
| б) Неправилно програмиране на температурния профил на апарата Rotor-Gene | Сравнете температурния профил с протокола. Вижте „Протокол: PCR и анализ на данните“ на страница 14. |
| в) Неправилно конфигуриране на PCR | Проверете своите работни стъпки по схемата за пипетиране и повторете PCR, ако е необходимо. Вижте „Протокол: PCR и анализ на данните“ на страница 14. |
| г) Условието на съхранение за един или повече от компонентите на комплекта не съответстват на инструкциите в „Съхранение и боравене с реактиви“ на страница 10 | Проверете условията на съхранение и датата на изтичане на срока на годност (вижте етикета на комплекта) на реактивите и използвайте нов комплект, ако е необходимо. |
| д) Срокът на годност на <i>artus</i> CMV RG PCR Kit е изтекъл | Проверете условията на съхранение и датата на изтичане на срока на годност (вижте етикета на комплекта) на реактивите и използвайте нов комплект, ако е необходимо. |

Слабият сигнал или липсата на сигнал за вътрешната контрола на отрицателна плазмена проба, подложена на пречистване с помощта на *QIAamp DSP Virus Kit* ($C_T = 27 \pm 3$; праг, 0,03) във флуоресцентен канал *Cycling Yellow* и едновременно отсъствие на сигнал в канал *Cycling Green*

- | | |
|--|--|
| а) Условието на PCR не съответстват на протокола | Проверете условията на PCR (вижте по-горе) и повторете PCR с коригирани настройки, ако е необходимо. |
| б) PCR е инхибирана | Задължително използвайте препоръчителния метод за изолиране и спазвайте точно инструкциите на производителя. |

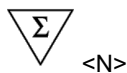
Коментари и предложения

- | | |
|--|--|
| в) ДНК е изгубена по време на извличането | Ако вътрешната контрола е била прибавена при извличането, липсващ сигнал от вътрешната контрола може да означава загуба на ДНК по време на извличането. Задължително използвайте препоръчителния метод за изолиране (вижте „Изолиране на ДНК“ на страница 12) и спазвайте точно инструкциите на производителя. |
| г) Условието на съхранение за един или повече от компонентите на комплекта не съответстват на инструкциите в „Съхранение и боравене с реактиви“ на страница 10 | Проверете условията на съхранение и датата на изтичане на срока на годност (вижте етикета на комплекта) на реактивите и използвайте нов комплект, ако е необходимо. |
| д) Срокът на годност на <i>artus</i> CMV RG PCR Kit е изтекъл | Проверете условията на съхранение и датата на изтичане на срока на годност (вижте етикета на комплекта) на реактивите и използвайте нов комплект, ако е необходимо. |

Сигнали с отрицателните контроли във флуоресцентен канал **Cycling Green** на аналитичната PCR

- | | |
|--|--|
| а) Замърсяване по време на подготовката на PCR | Повторете PCR с нови реактиви на повторения.
Ако е възможно, затваряйте епруветките за PCR незабавно след прибавянето на аликвотната част за тестване.
Задължително пипетирайте положителните контроли последни.
Задължително деконтаминирайте редовно работното място и апаратите. |
| б) Замърсяване по време на извличането | Повторете с нови реактиви извличането и PCR на аликвотната част за тестване.
Задължително деконтаминирайте редовно работното място и апаратите. |

СИМВОЛИ



Съдържа достатъчно реактиви за <N> теста



Използвайте до



Медицинско изделие за инвитро диагностика



Каталожен номер



Партиден номер



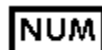
Номер на материала



Компоненти



Съдържа



Номер



Глобален номер на търговска единица



Ограничение на температурата



Производител



Направете справка с инструкциите за употреба

Информация за поръчка

Продукт	Съдържание	Каталожен №
<i>artus</i> CMV RG PCR Kit (24)	За 24 реакции: Основна, Магнезиев разтвор, 4 стандарта за количествено определяне, вътрешна контрола, вода (с качество за PCR)	4503263
<i>artus</i> CMV RG PCR Kit (96)	За 96 реакции: Основна, Магнезиев разтвор, 4 стандарта за количествено определяне, вътрешна контрола, вода (с качество за PCR)	4503265
EZ1 DSP Virus Kit – за автоматизирано, едновременно пречистване на вирусна ДНК и РНК от 1 – 14 алиquotни части от серум, плазма или гръбначно-мозъчна течност (ГМТ)		
EZ1 DSP Virus Kit (48)	За 48 подготовки за вирусни нуклеинови киселини: Фабрично заредени касети с реактиви, държачи за връхчета за еднократна употреба, филтърни връхчета за еднократна употреба, епруветки за алиquotни части, епруветки за елуиране, буфери, носеща РНК	62724
QIAamp DSP Virus Kit – за пречистване на вирусни нуклеинови киселини от човешка плазма за инвитро диагностични цели		
QIAamp DSP Virus Kit	За 50 подготовки: Центрофугиращи колони QIAamp MinElute®, буфери, реактиви, епруветки, удължители на колони и VacConnectors	60704
Rotor-Gene Q MDx и принадлежности		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Апарат за цикли на real-time PCR с 5 канала (зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен), лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, не включва инсталиране и обучение	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Апарат за цикли на real-time PCR с 5 канала (зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен), лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, инсталиране и обучение	9002023

Продукт	Съдържание	Каталожен №
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Апарат за цикли на real-time PCR и анализатор на стопилки с висока разделителна способност с 5 канала (зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен) плюс канал HRM, лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, не включва инсталиране и обучение	9002032
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Апарат за цикли на real-time PCR и анализатор на стопилки с висока разделителна способност с 5 канала (зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен) плюс канал HRM, лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, инсталиране и обучение	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Апарат за real-time PCR с 6 канала (син, зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен), включва лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, не включва инсталиране и обучение	9002042
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Апарат за real-time PCR с 6 канала (син, зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен), включва лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, инсталиране и обучение	9002043
Rotor-Gene Q MDx 2plex Platform	Апарат за цикли на real-time PCR с 2 канала (зелен, жълт), лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, не включва инсталиране и обучение	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex System	Апарат за цикли на real-time PCR с 2 канала (зелен, жълт), лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, инсталиране и обучение	9002003
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM Platform	Апарат за цикли на real-time PCR и анализатор на стопилки с висока разделителна способност с 2 канала (зелен, жълт) плюс канал HRM, лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, не включва инсталиране и обучение	9002012

Продукт	Съдържание	Каталожен №
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM System	Апарат за цикли на real-time PCR и анализатор на стопилки с висока разделителна способност с 2 канала (зелен, жълт) плюс канал HRM, лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, инсталиране и обучение	9002013
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Алуминиев блок за ръчна подготовка на реакция с едноканална пипета в 72 епруветки × 0,1 ml	9018901
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Алуминиев блок за ръчна подготовка на реакция в стандартна конфигурация 8 × 12 с 96 епруветки × 0,2 ml	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 ленти от 4 епруветки и капачки за 1000 реакции	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 × 250 ленти от 4 епруветки и капачки за 10 000 реакции	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 тънкостенни епруветки за 1000 реакции	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 × 1000 тънкостенни епруветки за 10 000 реакции	981008

За актуална информация за лицензиране и декларации за освобождаване от отговорност за конкретни продукти вижте съответния наръчник или ръководство за потребителя на набора QIAGEN. Наръчници и ръководства за потребителя на набори QIAGEN могат да се изтеглят от адрес www.qiagen.com, да се поръчат от „Техническо обслужване“ или местния дистрибутор на QIAGEN.

Хронология на редакциите на документа

Редакция	Промени
R6, Март 2021 г.	Добавяне на раздели Линеен диапазон, Интерфериращи вещества и Възпроизводимост. Актуализации в раздели Предвидена употреба и Количествено определяне. Премахване на препратки към инструменти на QIAGEN, които вече не се поддържат.
R7, декември 2021 г.	Корекция на раздела „Съдържание на набора“ с добавянето на подробности за тестовия набор, формат 24

Ограничено лицензно споразумение за *artus* CMV RG PCR Kit

Употребата на този продукт означава, че всеки купувач или потребител на продукта приема следните условия:

1. Този продукт може да се използва единствено в съответствие с протоколите, предоставени с продукта и настоящото ръководство, както и само с компонентите, включени в набора. QIAGEN не предоставя лиценз във връзка с никоя от интелектуалните си собствениности за използване или включване на приложените компоненти в този набор с каквито и да са компоненти, които не са включени в него, с изключение на описаните в протоколите, предоставени с продукта, ръководството и допълнителните протоколи, които можете да намерите на www.qiagen.com. Някои от тези допълнителни протоколи са предоставени от потребители на QIAGEN за потребители на QIAGEN. Тези протоколи не са тестови щателно или оптимизирани от QIAGEN. QIAGEN не дава гаранция за тях и не гарантира, че те не нарушават правата на трети страни.
2. Освен изрично посочените лицензи, QIAGEN не дава гаранция, че този набор и/или неговата употреба не нарушават правата на трети страни.
3. Този набор и неговите компоненти са лицензирани за еднократна употреба и не могат да се използват повторно, регенерират или препродават.
4. QIAGEN изрично се освобождава от всички други лицензи, изрични или подразбиращи се, с изключение на изрично заявените.
5. Купувачът и потребителят на набора дават съгласие да не предприемат или позволяват на други лица да предприемат действия, които могат да доведат до или да улеснят някое от действията, забранени по-горе. QIAGEN може да приложи забраните в настоящото Ограничено лицензно споразумение във всеки съд и ще възстанови всичките си разходи за разследване и съдебни разходи, включително адвокатски хонорари, при всяко действие за прилагане на Ограниченото лицензно споразумение или някое от правата върху интелектуална собственост, свързани с набора и/или неговите компоненти.

За актуалните условия на лиценза вижте www.qiagen.com.

Попълката на този продукт разрешава на купувача да го използва за извършването на диагностични услуги за човешка инвитро диагностика. Освен горепосоченото изрично право на използване, не се предоставя никакъв общ патент или друг вид разрешение.

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

HB-0046-009 1126759 R7 12/2021© 2021 QIAGEN, всички права запазени.

Поръчки: www.qiagen.com/shop | Техническа поддръжка: support.qiagen.com | Уебсайт: www.qiagen.com