2021 년 3 월

artus® CMV RG PCR Kit 사용 설명서(안내서)

Σ 24(카탈로그 번호 4503263)

Σ 96(카탈로그 번호 4503265)

버전 1

체외 정량적 진단

Rotor-Gene® Q MDx 기기와 함께 사용

IVD

CE 0197

REF 4503263, 4503265

QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 독일

R6 MAT 1123965KR

Sample to Insight

QIAGEN

목차

용도 5

설명 및 원리 5

병원균 정보 6

절차의 원리 6

제공물 7

키트 내용물 7

필요하지만 제공되지 않는 품목 8

시약 8

소모품 8

장비 8

경고 및 사전 주의사항 9

안전성 정보 9

사전 주의사항 9

시약 보관 및 취급 10

시료 취급 및 보관 10

시료 채집 10

검체 보관 11

검체 운송 11

절차 12

DNA 분리 12

내부 대조물질 13

프로토콜: PCR 및 데이터 분석 14

결과의 해석 22
정량화 22
결과 23
품질 관리 26
제한 사항 26
성능 특징 27
분석 민감도 27
선형 범위 29
특이성 30
정밀도 33
간섭 물질 34
강건성 37
재현성 37
진단 평가 39
참고 문헌 41
문제 해결 가이드 42
기호 44
주문 정보 45
문서 개정 이력 48

용도

artus CMV RG PCR Kit 는 사람 혈장의 사이토메갈로바이러스(CMV) DNA 를 정량화하기 위한 체외 핵산 증폭 검사입니다. 이 진단 검사 키트는 중합효소 연쇄 반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)을 활용하며, Rotor-Gene Q 기기와 함께 사용하도록 구성되었습니다.

artus CMV RG PCR Kit 는 임상 발현 및 CMV 질병 위험이 있는 환자의 CMV 감염 관리를 위해 기타 실험실 지표와 함께 사용하도록 고안되었습니다.

artus CMV RG PCR Kit 의 결과는 모든 관련 임상 및 검사실 소견의 맥락에서 해석되어야 합니다.

artus CMV RG PCR Kit 는 혈액 또는 혈액 제품 내 CMV 존재에 대한 스크리닝 검사 또는 CMV 감염 여부의 확인을 위한 진단 검사로 사용하기 위한 것이 아닙니다.

설명 및 원리

artus CMV RG PCR Kit 는 Rotor-Gene Q MDx 기기에서 중합효소 연쇄 반응(PCR)을 사용하여 CMV DNA 를 검출할 수 있는 즉시 사용 가능한 시스템을 구성합니다. CMV RG Master 에는 CMV 유전체 분석(이 분석으 CMV 유전형 gB1~gB4 를 검출할 수 있음) 내 주요 즉각 조기 유전자(*MIE*)의 105 bp 부위의 특이적 증폭과, Rotor-Gene Q MDx 의 형광 채널 Cycling Green 에서 특정 앰플리콘을 직접 검출하기 위한 시약과 효소가 들어 있습니다.

또한 *artus* CMV RG PCR Kit 에는 PCR 억제 가능성을 파악하기 위한 이차 이종 증폭 시스템이 포함되어 있습니다. 이것은 Rotor-Gene Q MDx 의 형광 채널 Cycling Yellow 에서 내부 대조물질(Internal Control, IC)로 검출됩니다. 외부 양성 대조물질(CMV QS 1~4)이 공급되므로 바이러스 DNA 의 양을 결정할 수 있습니다. 자세한 내용은 "정량화", 22 페이지를 참조하십시오.

병원균 정보

사람 사이토메갈로바이러스(CMV)는 감염된 사람의 혈액, 조직 및 거의 모든 분비액에서 발견됩니다. 전염은 구강, 성행위, 수혈 또는 장기 이식, 자궁 내 또는 주산기 감염을 통해 일어날 수 있습니다(1~4). CMV 바이러스 부하 검사는 질병의 위험 평가, 질병 진단, 요법에 대한 반응 모니터링에 중요한 도움을 제공합니다(5).

CMV 감염은 빈번하게 무증상 감염으로 이어지고, 바이러스는 체내에 평생 존속합니다. 십대 또는 성인에서 증상이 나타나면 발열, 약한 간염 및 일반적인 가벼운 질병이 있는 단핵구증과 유사합니다(6). CMV 감염의 중증 경과는 특히 자궁 내 감염 및 면역 결핍 환자들에서 관찰되었습니다(4, 7).

절차의 원리

중합효소 연쇄 반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)에 의한 병원체 검출은 병원체 유전체의 특정 부위의 증폭에 기반한 것입니다. Real-time PCR 에서 증폭 산물은 형광 염료를 통해 검출됩니다. 이는 일반적으로 확장된 산물에 특히 고정되는 올리고뉴클레오티드 프로브에 연결되어 있습니다. PCR 실행 중에(즉, 실시간) 형광도 강도를 모니터링함으로써 PCR 실행 후 반응 튜브를 다시 열 필요 없이 누적되는 산물을 검출 및 정량할 수 있습니다(8).

제공물

키트 내용물

***artus* CMV RG PCR Kit** **카탈로그 번호** **반응액 수**		(24) 4503263 24	**(96)** **4503265** **96**
파란색	CMV RG Master(Taq 0.1 U/µl)		2 x 12 반응
노란색	CMV Mg-Sol*	Mg-Sol	600 µl
빨간색	CMV QS 1†(1 x 104 copies/µl)	QS	200 µl
빨간색	CMV QS 2†(1 x 103 copies/µl)	QS	200 µl
빨간색	CMV QS 3†(1 x 102 copies/µl)	QS	200 µl
빨간색	CMV QS 4†(1 x 101 copies/µl)	QS	200 µl
초록색	CMV RG IC‡	IC	1000 µl
흰색	Water (물) (PCR 등급)		1000 µl
	사용 설명서		1

* 마그네슘 용액
† 정량 표준
‡ 내부 대조물질

필요하지만 제공되지 않는 품목

시약

- DNA 분리 키트("DNA 분리", 12 페이지 참조)

소모품

- 필터가 있는 멸균 피펫 팁
- 72-well rotor 와 함께 사용하는 Strip Tubes and Caps, 0.1 ml(카탈로그 번호 981103 또는 981106)
- **또는**: PCR Tubes, 0.2 ml, 36-well rotor 와 함께 사용(카탈로그 번호 981005 또는 981008)

장비

- 피펫(조절식)*
- 볼텍스 믹서*
- 2 ml 반응 튜브용 로터가 있는 실험대용 원심분리기*
- Cycling Green 및 Cycling Yellow 에 대한 형광 채널이 있는 Rotor-Gene Q MDx 기기*
- Rotor-Gene Q 소프트웨어 버전 2.3.5 이상
- 냉각 블록(로딩 블록 72 x 0.1 ml Tubes, 카탈로그 번호 9018901 또는 로딩 블록 96 x 0.2 ml Tubes, 카탈로그 번호 9018905)

* 사용하기 전에 제조업체의 권장사항에 따라 기기를 점검 및 보정하십시오.

경고 및 사전 주의사항

안전성 정보

화학물질로 작업할 때 항상 적합한 실험용 가운, 일회용 장갑 및 보안경을 착용합니다. 자세한 정보는 관련 안전보건자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하십시오. 안전 보건 자료는 **www.qiagen.com/safety** 에서 편리하고 용량이 작은 온라인 PDF 형식으로 사용할 수 있으며 여기에서 각 QIAGEN 키트 및 키트 구성품에 대한 SDS 를 찾아서 보고 인쇄할 수 있습니다.

검체 및 분석 폐기물은 현지 안전 규정에 따라 폐기하십시오.

사전 주의사항

사용자는 항상 다음 사항에 주의를 기울여야 합니다.

- 필터가 있는 멸균 피펫 팁을 사용합니다.
- 양성 물질(시료, 양성 대조물질, 앰플리콘)은 다른 모든 시약과 별도로 보관 및 추출하고, 공간적으로 분리된 시설에서 반응 혼합물에 첨가합니다.
- 분석을 시작하기 전에 모든 구성 요소를 실온(15–25°C)에서 해동하십시오.
- 해동 시, 구성품을 혼합하고(위아래로 반복적으로 피펫팅하거나 펄스 볼텍싱하여) 잠깐 원심분리합니다.
- 신속하게 작업하고, 구성품을 얼음 위 또는 냉각 블록 안에 둡니다(72/96 웰 로딩 블록).

시약 보관 및 취급

artus CMV RG PCR Kit 의 구성품은 –30°C~–15°C 에서 보관해야 하며, 라벨에 표시된 유통기한까지 안정적입니다. 반복적인 해동 및 동결(>2x)은 분석 민감도를 낮출 수 있으므로 피해야 합니다. 시약을 간헐적으로 사용하면, 분주로 냉동해야 합니다. 5 시간 넘게 2~8°C 에서 보관하면 안 됩니다.

시료 취급 및 보관

참고: 모든 검체는 잠재적 감염성 물질로 취급해야 합니다.

참고: 이 키트의 성능을 검증하기 위해 수행된 분석 시험에서는 CMV 검출을 위해 가장 적합한 검체 물질로 EDTA 혈장이 언급되었습니다. 그러므로 이런 물질을 *artus* CMV RG PCR Kit 와 함께 사용하는 것이 권장됩니다.

artus CMV RG PCR Kit 의 검증은 사람 EDTA 혈장 검체를 사용하여 수행되었습니다. 다른 검체 물질은 검증되지 않았습니다. 권장되는 핵산 분리 키트("DNA 분리", 12 페이지 참조)만을 검체 준비에 사용하시기 바랍니다.

특정한 검체 물질을 사용할 때는 채취, 운송, 보관에 관한 특별 지침을 엄격하게 준수해야 합니다.

시료 채집

모든 혈액 채취는 혈관(동맥, 정맥, 또는 모세혈관)의 상해를 초래합니다. 무해한 살균 재료만 사용해야 합니다. 혈액 채취를 위해서는 적절한 일회용 제품을 사용해야 합니다. 정맥 천자 시, 너무 미세한 모세관 바늘을 사용해서는 안 됩니다. 정맥 채혈은 팔꿈치 안쪽(굽어지는 부분), 팔뚝 또는 손등의 적절한 부위에서 수행해야 합니다. 혈액은 표준 표본 채집 튜브(빨간색 캡, Sarstedt® 또는 다른 제조업체의 동등한 튜브)로 채취해야 합니다. 5~10 ml 의 혈액을 EDTA 튜브에 뽑아야 합니다. 튜브는 검체 채취 후에 바로 오버헤드 혼합해야 합니다(8x, 진탕시키지 않음).

참고: 헤파린 처리된 검체를 사용해서는 안 됩니다.

검체 보관

전혈은 6 시간 이내에 800~1600 x *g* 에서 20 분간 원심분리하여 혈장과 세포 성분으로 분리해야 합니다(9, 10). 분리된 혈장은 살균 폴리프로필렌 튜브로 옮깁니다. 분석항목의 민감도는 검체를 정기적으로 냉동하거나 더 오래 보관할 경우 감소할 수 있습니다.

검체 운송

검체 물질은 파손 방지 운송 용기에 넣어 운송하는 것이 원칙입니다. 그렇게 하면 검체의 누출로 인한 잠재적 감염 위험을 피할 수 있습니다. 검체는 병원균 물질의 운송에 관한 현지 및 국가 지침에 따라 운송해야 합니다.*

검체는 6 시간 이내에 배송해야 합니다. 검체를 채취한 곳에 보관하는 것은 권장하지 않습니다. 검체를 병원균 물질의 운송에 관한 법적 지침에 따라 우편으로 운송하는 것이 가능합니다. 운송업체를 이용한 검체 운송을 권장합니다. 혈액 검체는 냉장 운송해야 하며(2~8°C), 분리된 혈장은 냉동시켜야 합니다(–30~–15°C).

* 국제항공운송협회(International Air Transport Association, IATA). Dangerous Goods Regulations(위험물 규정).

절차

DNA 분리

표 1 에 나와 있는 QIAGEN 의 키트는 *artus* CMV RG PCR Kit 와 함께 사용할 수 있는 지정된 사람 검체 유형을 이용한 바이러스 DNA 정제에 대하여 검증되었습니다. 해당 키트 안내서에 기술된 지침에 따라 바이러스 DNA 정제를 수행하십시오.

표 1. *artus* CMV RG PCR Kit 와 함께 사용할 수 있도록 검증된 정제 키트

검체 물질	검체 크기	핵산 분리 키트	카탈로그 번호	운반체 RNA
EDTA 혈장	500 µl	QIAamp® DSP Virus Kit	60704	포함
EDTA 혈장	400 µl	EZ1® DSP Virus Kit(48)	62724	포함

참고: 운반체 RNA 의 사용은 추출 효율 그리고 결과적으로 DNA/RNA 수율에 중요합니다. QIAamp DSP Virus Kit 와 함께 제공되는 운반체 RNA 의 안정성을 높이려면 *QIAamp DSP Virus Kit 안내서*의 "시약 및 완충액 준비" 섹션에 제시된 운반체 RNA 의 재구성 및 보관에 대한 정보에 따라 진행하기 바랍니다.

참고: *artus* CMV RG PCR Kit 의 내부 대조물질은 분리 절차에 직접 사용할 수 있습니다. 1 개의 음성 혈장 검체를 분리 절차에 포함시키십시오. 내부 대조물질의 해당 신호는 분리를 평가하는 근거입니다(아래의 "내부 대조물질" 섹션 참조).

내부 대조물질

내부 대조물질(CMV RG IC)이 이 키트와 함께 제공됩니다. 이것으로 사용자가 DNA 분리 절차를 조절하고 PCR 억제 가능성도 점검할 수 있습니다. 이런 용도에서는 내부 대조물질을 용출량 1 µl 당 0.1 µl 의 비율로 분리에 추가합니다. 예를 들어, QIAamp DSP Virus Kit 를 사용한다면 DNA 는 60 µl 의 용출 완충액(AVE)으로 용출됩니다. 따라서 6 µl 의 내부 대조물질을 처음에 추가해야 합니다. 사용되는 내부 대조물질의 양은 용출량에만 좌우됩니다.

참고: 내부 대조군 및 운반체 RNA("DNA 분리", 12 페이지 참조)는 용해 완충액 및 검체 물질의 혼합물에만 또는 용해 완충액에 직접 첨가해야 합니다.

내부 대조군을 검체 물질에 직접 첨가해서는 안 됩니다. 용해 완충액에 추가할 경우에는 내부 대조물질 및 용해 완충액/운반체 RNA 의 혼합물을 새로 준비하여 즉시 사용해야 합니다(혼합물을 실온 또는 냉장고에 몇 시간만 보관해도 내부 대조물질 실패 및 추출 효율 감소로 이어질 수 있음).

참고: 내부 대조물질 및 운반체 RNA 를 검체 물질에 직접 추가하지 마십시오.

정제가 성공적이려면 정제(QIAamp DSP Virus Kit) 중에 처리된 음성 혈장 검체의 내부 대조물질의 C_T 값이 Rotor-Gene Q 기기를 사용하여 $C_T = 27 \pm 3$(임계값: 0.03)에 도달해야 합니다(자세한 정보는 24 페이지 참조). 언급된 분포는 기기 및 정제의 분산에 기초한 것입니다. 이보다 높은 편차는 정제 문제를 시사합니다. 그런 경우, 정제를 점검하고, 필요하면 한 번 더 검증을 실시해야 합니다. 추가적인 문의 사항이 있거나 문제가 발생하면 QIAGEN 기술 서비스에 연락하십시오.

선택적으로, 내부 대조물질을 PCR 억제 가능성을 점검하기 위해서만 사용할 수 있습니다. 이 분석을 위해서는 프로토콜의 단계 2b(15 페이지)에 기술된 바와 같이 내부 대조물질을 직접 CMV RG Master 및 CMV Mg-Sol 에 추가하십시오.

프로토콜: PCR 및 데이터 분석

시작 전 중요 사항

- 프로토콜을 시작하기 전에 시간을 가지고 Rotor-Gene Q 기기의 작동을 숙지하십시오. 자세한 정보는 해당하는 기기 사용 설명서를 참조하십시오.
- 최소 1 개의 정량 표준품 및 최소 1 개의 음성 대조물질(물, PCR 등급)을 각 PCR 실행에 포함시키도록 합니다. 표준 곡선을 생성하려면 각 PCR 실행 시, 제공된 4 개의 정량 표준(CMV QS 1~4)을 모두 사용하십시오.

시작하기 전 해야 할 일

- 냉각 블록(Rotor-Gene Q 기기의 액세서리)을 2~8°C 로 사전 냉각시킵니다.
- 각 사용 전에 모든 시약을 완전히 해동하여 혼합하고(위아래로 반복적 피펫팅 또는 빠른 볼텍싱), 짧게 원심분리해야 합니다.

절차

1. 원하는 수량의 PCR 튜브를 냉각 블록의 어댑터 안에 배치합니다.
2. DNA 분리 절차를 모니터링하고 PCR 억제를 점검하기 위해 내부 대조물질을 사용하는 경우, 단계 2a 를 따르십시오. PCR 억제 여부만 점검하기 위해 내부 대조물질을 사용하는 경우, 단계 2b 를 따르십시오.

   참고: 내부 대조군을 정량 표준에 사용되는 CMV RG Master 및 CMV Mg-Sol 에 추가하는 것이 매우 권장됩니다. 정량 표준의 경우, 프로토콜의 단계 2b 에 기술된 바와 같이 CMV RG Master 및 CMV Mg-Sol 에 내부 대조물질을 직접 추가하고, 각 정량 표준(CMV QS 1~4)에 이 마스터 혼합물을 사용하십시오.

   2a. 내부 대조물질은 이미 분리물에 추가되었습니다(*내부 대조물질*, 13 페이지 참조). 이 경우, 마스터 혼합물을 표 2 에 따라 준비하십시오(다음 페이지). 반응 혼합물에는 일반적으로 검체를 제외한 PCR 에 필요한 모든 구성품이 포함되어 있습니다.

표 2. 마스터 혼합물(DNA 분리 모니터링 및 PCR 억제 점검에 사용되는 내부 대조물질)의 준비

검체 수	1	12
CMV RG Master	25 µl	300 µl
CMV Mg-Sol	5 µl	60 µl
CMV RG IC	0 µl	0 µl
총 용량	30 µl	360 µl

2b. 내부 대조물질은 CMV RG Master 및 CMV Mg-Sol 의 혼합물에 직접 추가해야 합니다. 이 경우, 마스터 혼합물을 표 3 에 따라 준비하십시오. 반응 혼합물에는 일반적으로 검체를 제외한 PCR 에 필요한 모든 구성품이 포함되어 있습니다.

표 3. 마스터 혼합물(PCR 억제 점검에만 사용되는 내부 대조물질)의 준비

검체 수	1	12
CMV RG Master	25 µl	300 µl
CMV Mg-Sol	5 µl	60 µl
CMV RG IC	2 µl	24 µl
총 용량	32 µl*	384 µl*

*PCR 분석을 준비할 때 내부 대조군을 추가함으로써 발생하는 용량 증가는 무시됩니다. 검출 시스템의 감도는 저해되지 않습니다.

3. 마스터 혼합물 30 µl 를 각 PCR 튜브로 피펫팅하고 용출된 검체 DNA 20 µl 를 추가합니다(표 4 참조). 이에 따라 최소 1 개의 정량 표준(CMV QS 1~4) 20 µl 를 양성 대조물질로 사용하고, 20 µl 의 물(물, PCR 등급)을 음성 대조물질로 사용해야 합니다.

표 4. PCR 분석의 준비

검체 수	**1**	**12**
마스터 혼합물	30 µl	각 30 µl
검체	20 µl	각 20 µl
총 용량	50 µl	각 50 µl
검체 수	1	12

4. PCR 튜브를 닫습니다. 잠금 링(Rotor-Gene 기기의 부속장치)을 로터 상단에 배치하여 실행 중 튜브가 우발적으로 개봉되지 않게 합니다.
5. CMV DNA 검출을 위해 다음의 절차에 따라 온도 프로필을 만드십시오.

일반 분석 매개변수 설정	**그림** 1, **그림** 2, **그림** 3
핫 스타트 효소의 최초 활성화	**그림** 4
DNA 증폭(터치다운 PCR)	**그림** 5
형광 채널 감도 조절	**그림** 6
실행 시작	**그림** 7

모든 사양은 Rotor-Gene Q 소프트웨어 버전 2.3.5 이상의 사양입니다. Rotor-Gene 기기의 프로그래밍에 대한 추가적인 정보는 해당하는 기기 사용 설명서에서 확인하시기 바랍니다. 그림에서는 이런 설정들이 굵은 검은색 프레임으로 식별되어 있습니다. 포함된 그림은 Rotor-Gene Q 기기에 관한 것입니다.

6. **New Run Wizard**(새 실행 마법사) 대화 상자를 엽니다(그림 1, 다음 페이지). **Locking Ring Attached**(잠금 링 부착됨) 상자에 체크하고, **Next**(다음)를 클릭합니다.

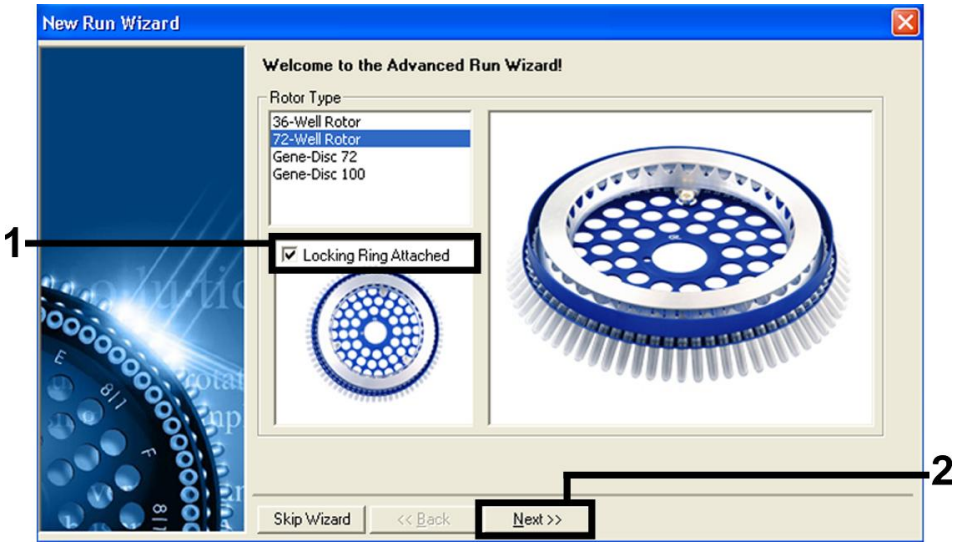

그림 1. "New Run Wizard"(새 실행 마법사) 대화 상자.

7. PCR 반응액 부피에 50 을 선택하고 **Next**(다음)를 클릭합니다(그림 2).

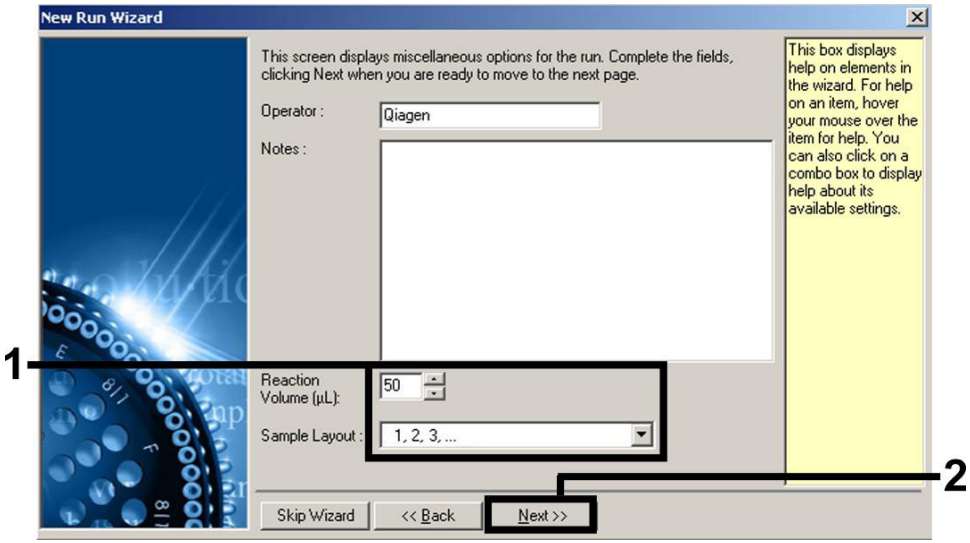

그림 2. 일반 분석 매개변수 설정.

8. 다음 "**New Run Wizard**"(새 실행 마법사) 대화 상자에서 **Edit Profile**(프로필 편집) 버튼을 클릭하고(그림 3), 온도 프로필을 그림 3~그림 5 에서와 같이 프로그래밍합니다.

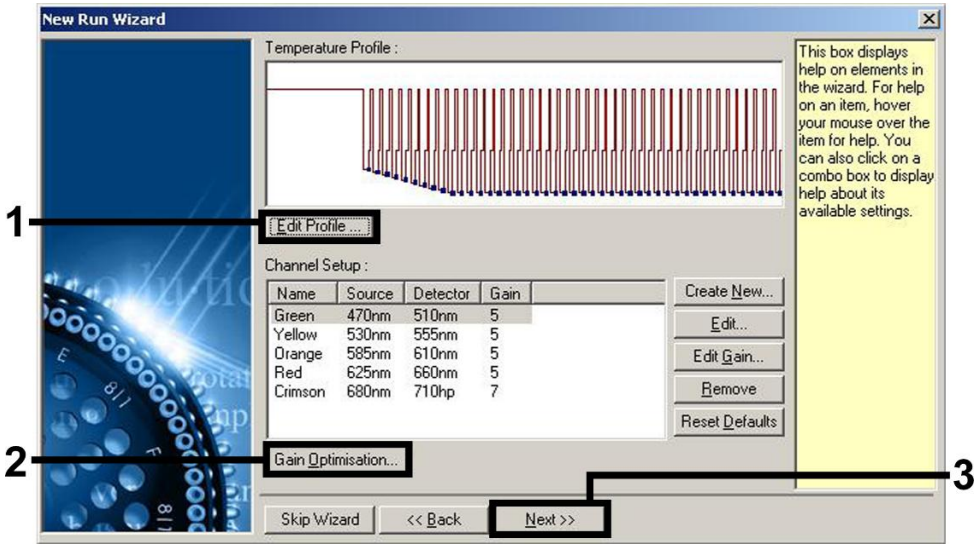

그림 3. 프로필 편집.

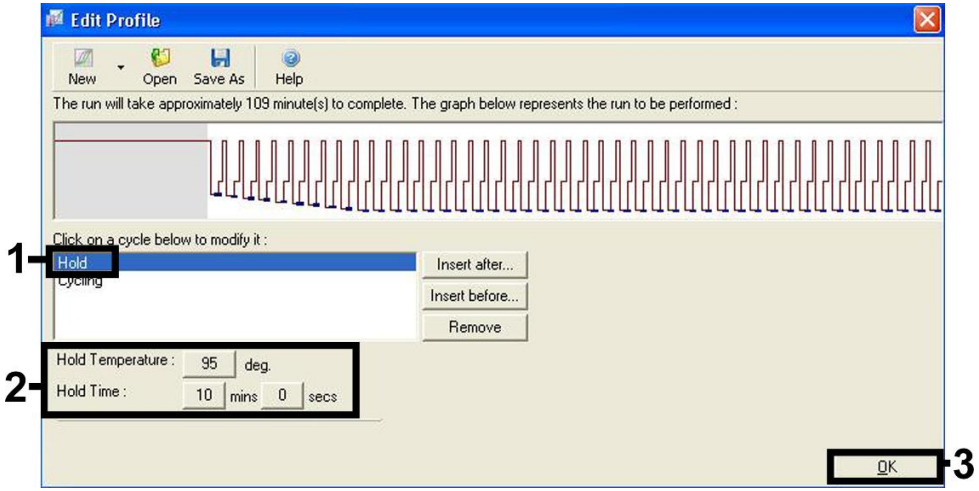

그림 4. 핫 스타트 효소의 최초 활성화.

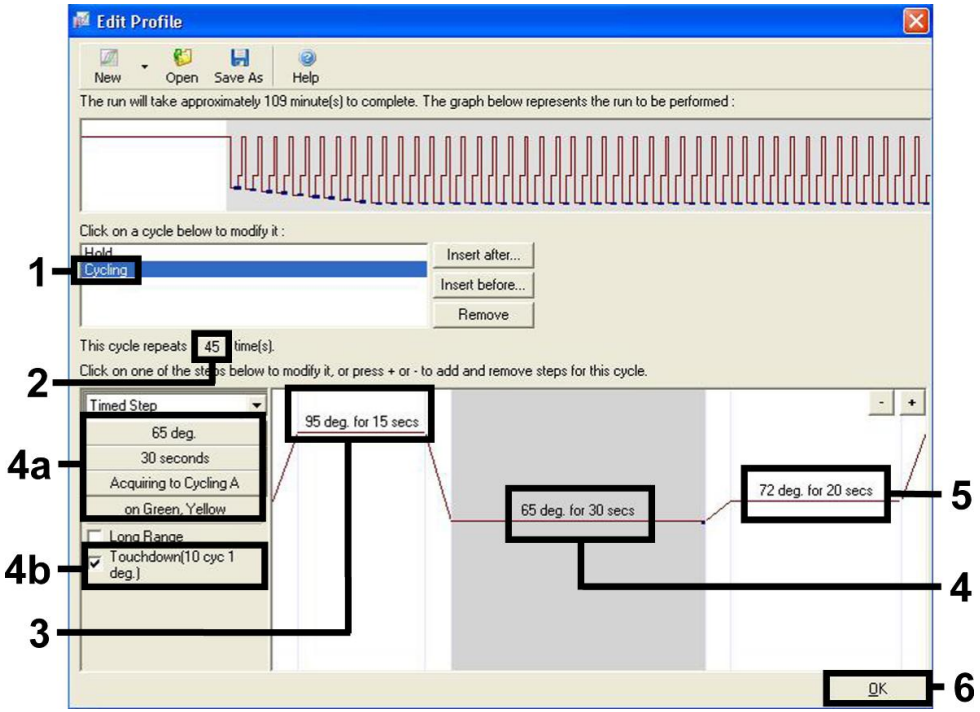

그림 5. DNA 증폭. 어닐링 단계에서 터치다운 기능을 10 사이클 동안 활성화하십시오.

9. 형광도 채널의 검출 범위는 PCR 튜브의 형광도 강도에 따라 결정해야 합니다. **New Run Wizard**(새 실행 마법사) 대화 상자에서 **Gain Optimisation**(게인 최적화)을 클릭하여(그림 3, 이전 페이지) **Auto-Gain Optimisation Setup**(자동 게인 최적화 설정) 대화 상자를 엽니다. 캘리브레이션 온도를 65°C 로 설정하여 증폭 프로그램의 어닐링 온도와 일치시킵니다(그림 6, 다음 페이지).

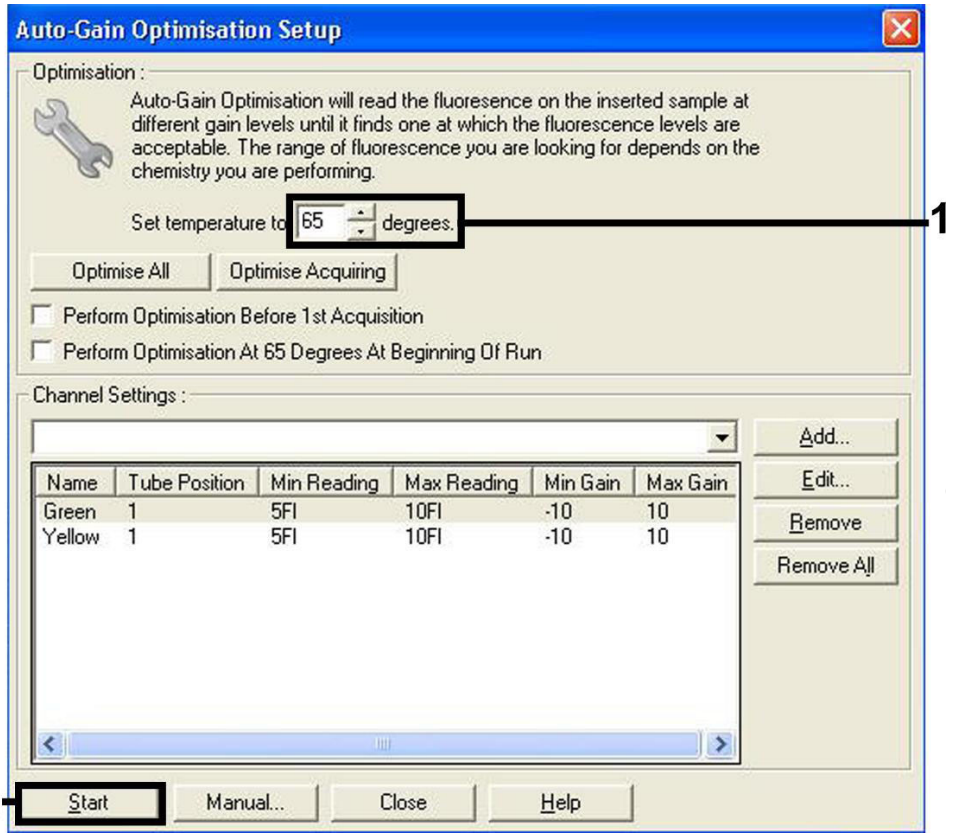

그림 6. 형광 채널 감도 조절.

10. 채널 캘리브레이션으로 결정된 게인 값은 자동으로 저장되며, 프로그래밍 절차의 최종 메뉴 창에 나열됩니다(그림 7, 다음 페이지). **Start Run**(실행 시작)을 클릭합니다.

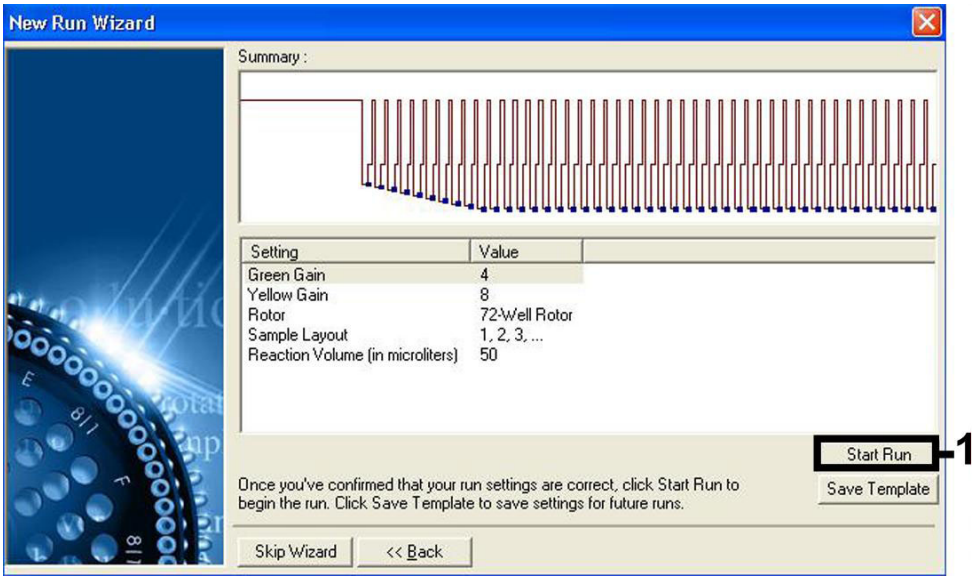
New Run Wizard
Summary :
Setting
Value
Green Gain
4
Yellow Gain
8
Rotor
72-Well Rotor
Sample Layout
1, 2, 3, ...
Reaction Volume (in microliters)
50
Start Run
1
Save Template
Once you've confirmed that your run settings are correct, click Start Run to begin the run. Click Save Template to save settings for future runs.
Skip Wizard
<< Back

그림 7. 실행 시작.

결과의 해석

정량화

포함된 정량 표준(CMV QS 1~4)은 이전에 정제한 검체로 취급되며, 동일한 20 µl 용량이 PCR 에 직접 사용됩니다(추가 추출이 필요하지 않음). Rotor-Gene Q 기기에서 표준 곡선을 생성하려면 4 개의 정량 표준을 모두 사용하여 **Edit Samples(검체 편집)** 대화 상자에서 지정된 농도의 표준으로 정의해야 합니다(해당 기기 사용 설명서 참조).

참고: 정확한 정량을 위해서는 내부 대조군을 정량 표준에 사용되는 CMV RG Master 및 CMV Mg-Sol 에 추가하는 것이 매우 권장됩니다. 이 분석에서는 프로토콜의 단계 2b 에 기술된 바와 같이 CMV RG Master 및 CMV Mg-Sol 에 내부 대조물질을 직접 추가하고(15 페이지), 각 정량 표준(CMV QS 1~4)에 이 마스터 혼합물을 사용하십시오.

참고: 정량 표준은 copies/µl 로 정의됩니다. 다음의 등식을 표준 곡선을 사용하여 결정된 값을 검체 물질의 copies/ml 로 변환하는 데 적용해야 합니다.

$$\textbf{결과}\left(\frac{\textbf{copies}}{\textbf{ml}}\right) = \frac{\textbf{결과 (copies/µl) x 용출액 용량 (µl)}}{\textbf{검체 용량 (ml)}}$$

원칙적으로, 초기 검체 부피를 위의 등식에 입력해야 합니다. 이것은 검체 부피가 핵산 추출 이전에 변경된 경우(예: 원심 분리로 부피가 줄거나 분리에 필요한 부피에 추가하여 부피를 늘리는 경우) 고려해야 합니다.

참고: 정량 표준은 세계보건기구(World Health Organization, WHO)에서 정한 사이토메갈로바이러스에 대한 제 1 국제 표준(NIBSC 코드: 09/162)에 따라 캘리브레이션했습니다.

QIAamp DSP Virus Kit 를 고려하여 copies/ml 을 IU/ml 로 변환:

WHO(IU/ml) = 2.933 x artus CMV(copies/ml)

참고: QIAamp 작업 흐름의 경우, 정량화한 검체가 QS 1 x 10^1~1 x 10^4 copies/µl 의 선형 범위 내에 있어야 합니다. 이 범위 밖이면 정량화를 보장할 수 없습니다.

EZ1 Advanced XL 기기를 사용한 EZ1 DSP Virus Kit 를 고려하여 copies/ml 을 IU/ml 로 변환:

WHO(IU/ml) = 0.794 x artus CMV(copies/ml)

참고: EZ1 작업 흐름의 경우, 정량화한 검체가 3.16E+02~1.00E+08 copies/µl 의 선형 범위 내에 있어야 합니다. 이 범위 밖이면 정량화를 보장할 수 없습니다.

결과

양성 및 음성 PCR 반응의 예를 그림 8 및 그림 9 에서 볼 수 있습니다(다음 페이지).

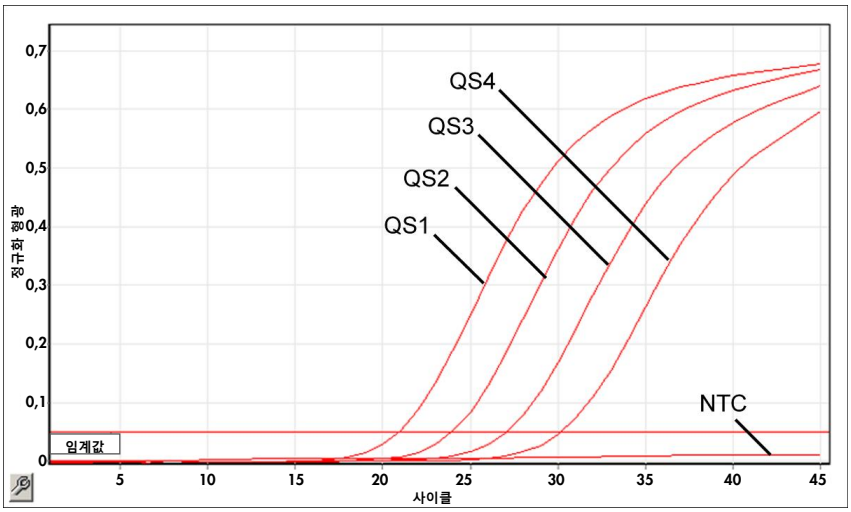

그림 8. Cycling Green 형광 채널에서 정량 표준(CMV QS 1-4)의 검출.

NTC: No Template Control(주형 없는 대조물질)(음성 대조물질).

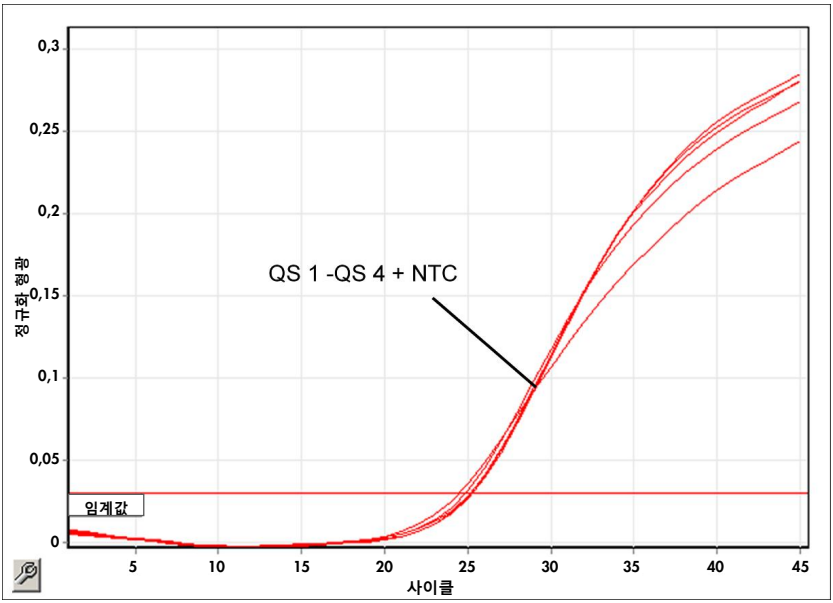

그림 9. 정량 표준(CMV QS 1-4)의 동시 증폭을 통해 Cycling Yellow 형광 채널에서 내부 대조물질(Internal Control, IC)의 검출. NTC: No Template Control(주형 없는 대조물질)(음성 대조물질).

형광 채널 Cycling Green 에서 신호가 검출됩니다.

분석 경과는 양성입니다: 검체에 CMV DNA 가 들어 있습니다.

이 경우, CMV DNA(Cycling Green 채널의 양성 신호)의 높은 초기 농도는 Cycling Yellow 채널(경쟁)에서 내부 대조물질의 형광도 신호 감소 또는 부재로 이어질 수 있기 때문에 Cycling Yellow 채널에서의 신호 검출은 필요하지 않습니다.

형광도 채널 Cycling Green 에서는 신호가 검출되지 않습니다. 동시에 내부 대조군의 신호가 Cycling Yellow 채널에 표시됩니다.

검체 내에 검출 가능한 CMV DNA 가 없습니다. 이것은 음성으로 간주할 수 있습니다.

음성 CMV PCR 의 경우, 검출된 내부 대조군의 신호는 PCR 억제의 가능성을 배제합니다.

Cycling Green 또는 Cycling Yellow 채널에서는 신호가 검출되지 않습니다.

어떤 결과도 얻을 수 없습니다.

오류의 원인 및 그것의 해결에 관한 정보는 "문제 해결 가이드", 42 페이지에서 확인할 수 있습니다.

품질 관리

QIAGEN 의 ISO 인증 품질 관리 시스템에 따라 *artus* CMV RG PCR Kit 의 각 로트는 일관된 제품 품질을 보장하기 위해 사전 결정된 사양에 대해 검사됩니다.

제한 사항

모든 시약은 체외 진단용으로만 사용합니다.

본 제품은 체외 진단 절차에 대해 특별히 교육받고 훈련받은 사람이 사용해야 합니다.

최적의 PCR 결과를 얻기 위해 해당 기기 사용 설명서를 엄격하게 준수해야 합니다.

모든 구성품의 포장 상자와 라벨에 인쇄되어 있는 유통 기한에 주의를 기울여야 합니다. 유통기한이 만료된 구성품은 사용하지 마십시오.

드물지만, 키트의 프라이머 및/또는 프로브에 가려져 있는 바이러스 유전체의 고도 보존 부위 내 돌연변이로 인해 보유 바이러스가 정량 미만이거나 바이러스 보유 여부를 검출하지 못할 수 있습니다. 분석 설계의 유효성과 성능은 주기적으로 변경됩니다.

성능 특징

분석 민감도

분석 검출 한계 및 정제를 고려한 분석 검출 한계(민감도 한계)가 *artus* CMV RG PCR Kit 에 대해 평가되었습니다. 정제를 고려한 분석 검출 한계는 특정한 추출 방법과 함께 CMV 양성 임상 표본을 사용하여 결정됩니다. 반면에 분석 검출 한계는 선택된 추출 방법과 독립적으로 결정되며, 알려진 농도의 CMV DNA 를 사용합니다.

artus CMV RG PCR Kit 의 분석 민감도를 결정하기 위해 CMV 유전체 DNA 의 희석물 시리즈가 10~공칭 0.00316 copies/µl 로 설정되고, *artus* CMV RG PCR Kit 와 조합한 Rotor-Gene 기기에서 분석되었습니다. 검사는 8 개의 복제물로 3 일간(비연속) 수행했습니다. 결과는 프로빗 분석으로 결정되었습니다. Rotor-Gene 6000 에서의 프로빗 분석에 대한 그래프를 그림 10(다음 페이지)에서 볼 수 있습니다. Rotor-Gene Q MDx/Q/6000 및 Rotor-Gene 3000 과 조합한 *artus* CMV RG PCR Kit 의 분석 검출 한계는 각각 0.36 copies/µl(p = 0.05) 및 0.24 copies/µl(p = 0.05)입니다. 이것은 0.36 copies/µl 또는 0.24 copies/µl 이 검출될 확률이 95%임을 의미합니다.

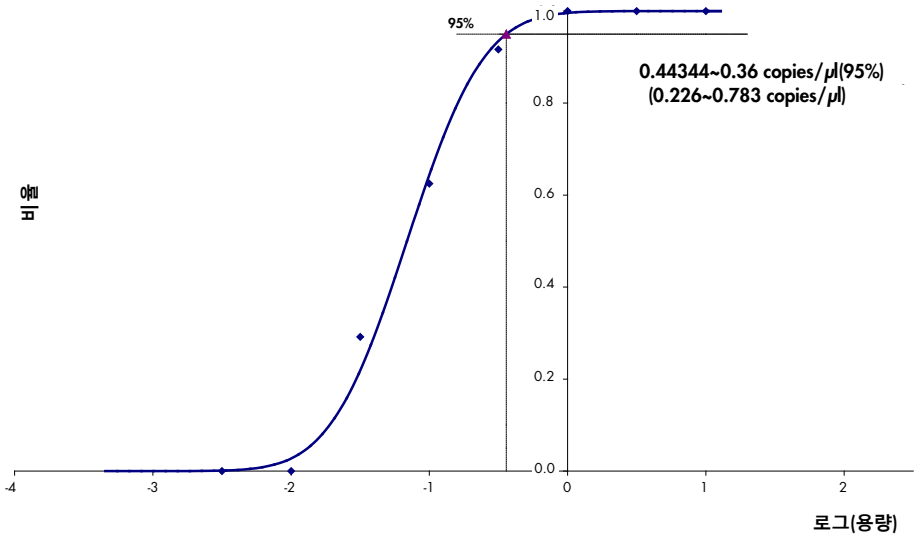

그림 10. 프로빗 분석: CMV(Rotor-Gene 6000). Rotor-Gene 6000 에서 *artus* CMV RG PCR Kit 의 분석 감도.

Rotor-Gene 기기에서 *artus* CMV RG PCR Kit 의 정제를 고려한 분석 민감도(QIAamp DSP Virus Kit)는 임상 혈장 표본에 첨가한 1000~공칭 0.316 CMV copies/ml 의 CMV 물질 희석물 시리즈를 사용하여 결정되었습니다. 이것들은 QIAamp DSP Virus Kit(추출 용량: 0.5 ml, 용출량: 60 µl)를 사용한 DNA 추출에 사용되었습니다. 8 개의 희석물을 각각 8 개의 복제물에서 3 일간(비연속) *artus* CMV RG PCR Kit 를 사용하여 분석했습니다. 결과는 프로빗 분석으로 결정되었습니다. 프로빗 분석 그래프는 그림 11(다음 페이지)에 나와 있습니다. Rotor-Gene 3000 과 조합한 *artus* CMV RG PCR Kit 의 정제를 고려한 분석 검출 한계는 57.1 copies/ml(p = 0.05)입니다. 이것은 57.1 copies/ml 가 검출될 확률이 95%임을 의미합니다.

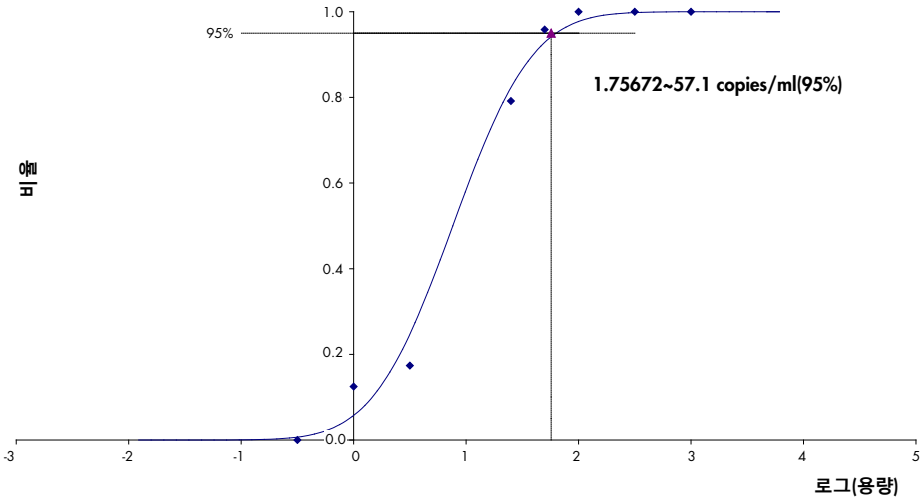

그림 11. 프로빗 분석: CMV(Rotor-Gene 3000). Rotor-Gene 3000 에서 *artus* CMV RG PCR Kit 의 정제를 고려한 분석 민감도(QIAsymphony DSP Virus Kit, QIAGEN).

Rotor-Gene 6000 에서 *artus* CMV RG PCR Kit 의 EZ1 Advanced XL 기기를 사용한 EZ1 DSP Virus Kit(추출 용량: 0.4 ml, 용출량: 60 µl)로의 정제를 고려한 분석 민감도는 68.75 copies/ml(p = 0.05)입니다. 이것은 68.75 copies/ml 가 검출될 확률이 95%임을 의미합니다.

선형 범위

EZ1 Advanced XL 기기를 사용한 EZ1 DSP Virus Kit(추출 용량: 0.4ml, 용출량: 60 µl)의 정제를 고려한 선형 범위는 3.16E+01~1.00E+08 copies/ml 의 CMV 바이러스 물질 복제물 4~6 개를 연속으로 희석한 희석물을 검사하여 결정했습니다.

프로빗 분석 그래프는 그림 12(다음 페이지)에 나와 있습니다.

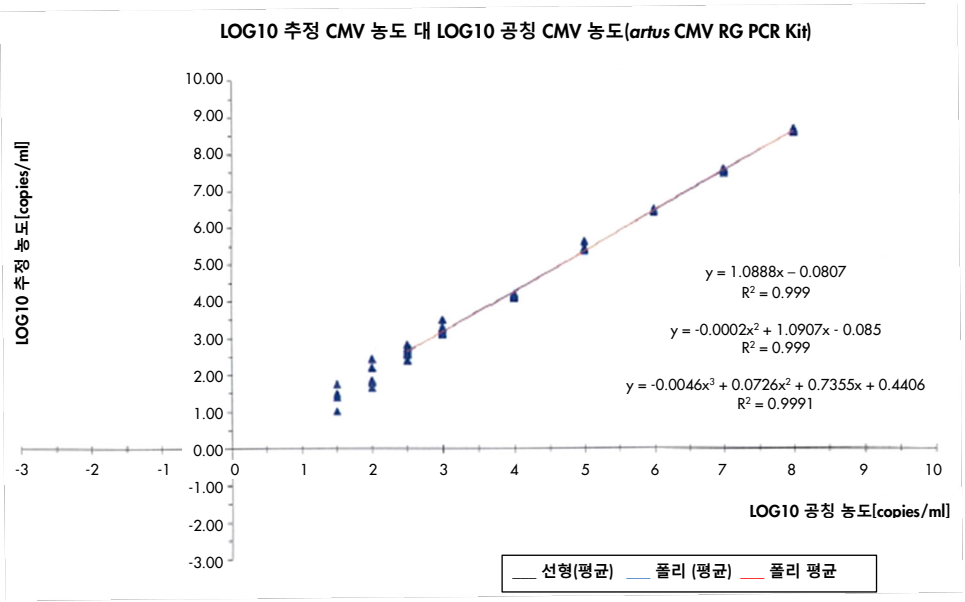

그림 12. EZ1 Advanced XL 기기에서의 정제(EZ1 DSP Virus Kit)를 고려한 *artus* CMV RG PCR Kit 의 다항식 회귀 데이터세트. 선형, 이차, 또는 삼차 회귀 모델이 포함됩니다.

EZ1 Advanced XL 기기를 사용한 EZ1 DSP Virus Kit(추출 용량: 0.4ml, 용출량: 60µl)의 정제를 고려한 *artus* CMV RG PCR Kit 의 선형 범위는 3.16E+02~1.00E+08 copies/ml 입니다.

참고: QIAamp DSP Virus Kit(추출 용량: 0.4 ml, 용출량: 60 µl)의 정제를 고려한 *artus* CMV RG PCR Kit 의 선형 범위는 1.00E+01~1.00E+04 copies/µl 입니다.

특이성

artus CMV RG PCR Kit 의 특이성은 무엇보다 프라이머와 프로브의 선택 및 엄격한 반응 조건의 선택을 통해 보장됩니다. 프라이머와 프로브는 유전자 은행에서 발행한 모든 시퀀스에 대한 상동 가능성을 시퀀스 비교 분석으로 확인했습니다. 따라서 모든 관련 균주의 검출 가능성이 보장되었습니다.

특이성은 또한 100 가지 각기 다른 CMV 음성 혈장 검체로 검증되었습니다. 이들 검체 중 99 개는 CMV RG Master 에 포함된 CMV 특이 프라이머 및 프로브에서 어떠한 신호도 생성하지 않았습니다.

참고: 1 개의 검체가 CMV 특이적 프라이머 및 프로브에서 신호를 생성했고 *artus* CMV LC Kit 및 TM RG PCR Kit 에서 CMV 검사 결과가 양성일 가능성이 높습니다. 100 개의 개별 공여자의 검체 검사에 기반한 최종 특이성은 99.00%(99/100)로 검증되었습니다.

artus CMV RG PCR Kit 의 잠재적 교차 반응성은 표 5 에 나열된 대조군을 사용하여 검사되었습니다. 검사한 병원균 중 어떠한 것도 반응하지 않았습니다. 혼합 감염으로도 교차 반응성이 나타나지 않았습니다.

표 5. 교차 반응 가능성이 있는 병원체를 사용한 키트 특이성 검사

대조군	CMV(Cycling Green 또는 Cycling A.FAM)	내부 대조군(Cycling Yellow 또는 Cycling A JOE)
사람 헤르페스 바이러스 1(단순 헤르페스 바이러스 1)	–	+
인간 헤르페스 바이러스 2(단순 헤르페스 바이러스 2)	–	+
인간 헤르페스 바이러스 3(수두대상포진 바이러스)	–	+
인간 헤르페스 바이러스 4(엡스타인 바 바이러스)	–	+
인간 헤르페스 바이러스 6A	–	+
사람 헤르페스 바이러스 6B	–	+
인간 헤르페스 바이러스 7	–	+
인간 헤르페스 바이러스 8 (카포시 육종 관련 헤르페스 바이러스)	–	+
A 형간염 바이러스	–	+
B 형간염 바이러스	–	+
C 형간염 바이러스	–	+

(다음 페이지에서 표 계속)

표 5(이전 페이지로부터 계속)

대조군	CMV(Cycling Green 또는 Cycling A.FAM)	내부 대조군(Cycling Yellow 또는 Cycling A JOE)
인간 면역결핍 바이러스 1	–	+
인간 T 세포 백혈병 바이러스 1	–	+
인간 T 세포 백혈병 바이러스 2	–	+
웨스트나일바이러스	–	+
엔테로바이러스	–	+
파르보바이러스 B19	–	+

정밀도

artus CMV RG PCR Kit 의 정밀도 데이터는 Rotor-Gene 기기를 사용하여 수집되었으며, 분석의 총분산에 대한 결정을 가능케 합니다. 총분산은 분석 내 변동성(한 실험에서 동일한 농도의 검체들로 얻은 여러 결과의 변동성), 분석 간 변동성(한 검사실에서 각기 다른 실험자가 동일한 유형의 각기 다른 기기로 수행하여 생성된 분석으로 얻은 여러 결과의 변동성), 배치 간 변동성(다양한 배치를 사용한 분석으로 얻은 여러 결과의 변동성)으로 구성됩니다. 획득한 데이터를 사용하여 병원균 특이 PCR 및 내부 대조물질 PCR 에 대한 표준 편차, 분산, 변동 계수를 측정했습니다.

artus CMV RG PCR 의 정밀도 데이터는 최저 농도의 정량 표준(QS 4, 10 copies/µl)을 사용하여 수집되었습니다. 검사는 8 개의 복제물로 수행했습니다. 정밀도 데이터는 증폭 곡선의 C_T 값을 토대로 계산되었습니다(C_T: 임계 사이클, 표 6 참조, 다음 페이지). 또한 정량적 결과의 정밀도 데이터(copies/µl)는 해당 C_T 값을 사용하여 결정되었습니다(표 7, 다음 페이지). 이러한 결과를 바탕으로 할 때, 농도가 언급된 모든 주어진 검체의 전체 통계 분포는 1.21%(C_T) 또는 14.38%(농도), 내부 대조물질 검출의 경우 1.93%(C_T)입니다. 이 값들은 측정된 변동성에 대한 모든 단일 값들의 총계를 토대로 합니다.

표 6. C_T 값에 기초한 정밀도 데이터

	표준 편차	분산	변동 계수(%)
분석 내 변동성: CMV QS 4	0.17	0.03	0.57
분석 내 변동성: 내부 대조물질	0.31	0.10	1.16
분석 간 변동성: CMV QS 4	0.38	0.14	1.27
분석 간 변동성: 내부 대조물질	0.47	0.22	1.77
배치 간 변동성: CMV QS 4	0.33	0.11	1.10
배치 간 변동성: 내부 대조물질	0.53	0.28	2.02
총분산: CMV QS 4	0.36	0.13	1.21
총분산: 내부 대조물질	0.51	0.26	1.93

표 7. 정량적 결과에 기초한 정밀도 데이터(copies/µl)

	표준 편차	분산	변동 계수(%)
분석 내 변동성: CMV QS 4	1.34	1.80	13.30
분석 간 변동성: CMV QS 4	1.54	2.38	15.25
배치 간 변동성: CMV QS 4	1.46	2.12	14.41
총분산: CMV QS 4	1.45	2.11	14.38

간섭 물질

CMV DNA 를 다양한 항응고제를 이용한 여러 상용 채혈 시스템의 음성 혈장에 첨가했습니다. 계산한 농도(copies/ml, C_T 평균, 표준 편차, 분산, CV%는 표 8 에 보고됩니다. 표준 편차 및 변동 계수는 5% 범위 내에 있었으므로 허용 범위 내였습니다. 다양한 물질로 인한 PCR 에 대한 유의한 영향은 확인되지 않았습니다.

표 8. 상용 채혈 시스템 및 항응고제 데이터

물질	농도(copies/ml)	C_T 평균	C_T 표준 편차	C_T 분산	C_T CV(%)
칼륨 EDTA, Becton Dickinson®	399.60	31.06	0.11	0.01	0.36
칼륨 EDTA, Sarstedt	350.10	31.26	0.30	0.09	0.97
칼륨 EDTA, Greiner Bio-One®	285.00	31.58	0.50	0.25	1.58
칼륨 EDTA, Springe(참조)	310.40	31.40	0.16	0.03	0.52
칼륨 EDTA, Sarstedt(참조)	487.20	30.80	0.14	0.02	0.47
칼륨 EDTA(임신)	423.30	33.2	0.26	0.07	0.79

내인성 물질(표 9, 다음 페이지)를 CMV 양성 EDTA 혈장 검체에 3 x LOD 및 10 x LOD 로 첨가했습니다. 모든 검체가 성공적으로 검출되었고, 농도를 증가시킨 내생 억제물(빌리루빈, 헤모글로빈, 트리글리세라이드 및 알부민)을 함유한 검체들에서 간섭이 관찰되지 않았습니다.

표 9. 검사한 내인성 물질

간섭 물질	간섭 물질 농도
빌리루빈	30 mg/dl
헤모글로빈	2 g/dl
트리글리세라이드	1 g/dl
알부민	6 g/dl

이식 상황에서 사용되는 일반적인 약물은 CLSI® 지침 EP07-A2(11)(표 10 참조)에서 권장하는 대로 치료제 투여 후 3x 급성 최대 농도로 검사했습니다. 이 물질들을 각각 4 개의 복제물로 검사한 CMV 음성 및 CMV 양성 검체 모두에 첨가했습니다.

검사한 외인성 물질은 모두 *artus* CMV RG PCR Kit 의 성능에 유의한 영향을 나타내지 않았습니다.

표 10. 외인성 물질로 검사한 약물 목록

간섭 물질	검사 농도
항생제	
설파메톡사졸	200 mg/l
트리메토프림	5.2 mg/l
Claforan®(세포탁심)	1 g/l
Tazobac®(피페라실린+타조박탐)	피페라실린: 1 g/l 타조박탐:125 mg/l
티카르실린	1 g/l
Augmentin®(아목실린 + 클라불란산)	아목실린:125 mg/l 클라불란산: 25 mg/l
반코마이신	125 mg/l
항진균제	
플루코나졸	1 mg/l
면역억제제	
라파마이신	100 mg/l
미코페놀레이트 나트륨	80 mg/l

강건성

강건성 검증을 통해 *artus* CMV RG PCR Kit 의 총 실패율을 결정할 수 있습니다. 100 개 CMV 음성 혈장 검체에 최종 농도 170 copies/ml(분석 감도 한계의 약 3 배 농도)로 CMV 를 첨가했습니다. QIAamp DSP Virus Kit 를 사용한 추출 후, 이 검체들을 *artus* CMV RG PCR Kit 로 분석했습니다. 모든 CMV 검체에서 실패율은 0%였습니다. 이와 더불어 내부 대조물질의 강건성을 100 개 CMV 음성 혈장 검체의 정제 및 분석으로 평가했습니다. 따라서 *artus* CMV RG PCR Kit 의 강건성은 ≥99%입니다.

재현성

재현성 데이터는 *artus* CMV RG PCR Kit 의 정규 성능 평가와 함께 다른 제품과의 효율성 비교도 가능케 합니다. 이러한 데이터는 확립된 신빙도 프로그램에 참여하여 확보합니다.

신빙도 프로그램 참여 외에 추가로, 10 개 멤버 CMV 패널(표 11)을 3 개의 외부 실험실에서 핵산 정제를 위한 EZ1 Advanced XL 기기를 사용한 EZ1 DSP Virus Kit 및 DNA 용출액을 검사하기 위한 *artus* RG PCR Kit 로 검사했습니다.

표 11. CMV 패널 멤버 요약

패널 멤버(패널 멤버 유형)	패널 멤버	희석 영향
1001 (1)	음성	음성 풀 1
1002 (1)	음성	음성 풀 2
1003 (2)	고 음성	50% 양성
1004 (2)	고 음성	50% 양성
1005 (3)	저 양성	200 copies/ml
1006 (3)	저 양성	200 copies/ml
1007 (4)	중등도 양성	2,000 copies/ml
1008 (4)	중등도 양성	2,000 copies/ml
1009 (5)	고 양성	200,000 copies/ml
1010 (5)	고 양성	200,000 copies/ml

10 개 멤버 패널을 2 명의 다른 작업자가 각 시험기관에서 3 개의 시약 키트 로트로 6 일간 매일 2 회 반복 검사했습니다. 따라서 20 개의 검체에 2 명의 작업자가 3 개 시험기관에서 6 일간 수행한 것을 곱하면 720 개의 자료점과 동등합니다.

artus CMV RGQ MDx 검사의 총 재현성은 200 copies/ml~200,000 copies/ml 농도의 검체에 대해 ≤12% CV 로 확인되었습니다(표 12)

표 12. 전체 요약(각 패널 멤버 유형) – 관찰된 평균

패널_멤버_유형	관찰 수	평균	중앙값	표준 편차	백분율 CV	최소
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

로트, 시험기관, 작업자, 일, 실행 간 및 실행 내에 걸친 5 개 패널 각각의 log10 IU/ml 값에 대한 백분율 분산 및 표준 편차의 전체 요약은 표 13(다음 페이지)에 나와 있습니다.

표 13. 분산 및 표준 편차의 전체 요약

검체		1	2	3	4	5
검체 유형		음성	고 음성	저 양성	중등도 양성	고 양성
관찰된 평균 log10 IU/ml		0.02	0.68	1.91	2.96	5.03
검사 수		144	144	144	144	144
척도				%분산 S.D.		
분산 성분	로트	0 0	3.10 0.113	0 0	0 0	3.00 0.016
	기관	0 0	0 0	0 0	0.90 0.016	0 0
	작업자	4.3 0.033	4.6 0.136	0 0	18.8 0.074	15.4 0.037
	제 일	0 0	0 0	8.60 0.067	6.00 0.042	48.10 0.065
	실행 간	0 0	0 0	4.40 0.048	10.90 0.057	7.90 0.026
	실행 내	95.7 0.155	92.3 0.611	87 0.212	63.40 0.136	25.60 0.048
	총계	100 0.158	100 0.635	100 0.227	100 0.171	100 0.094

진단 평가

artus CMV RG PCR Kit 는 *artus* CMV RG PCR Kit 를 COBAS® AMPLICOR® CMV MONITOR® 검사와 비교하는 연구에서 평가되었습니다. 156 개의 후향적 및 전향적 임상 EDTA 혈장 검체를 분석했습니다. 모든 표본 검체는 이전에 일반적 진단을 위해 COBAS AMPLICOR CMV MONITOR 를 사용하여 양성 또는 음성으로 분석되었던 것입니다.

artus CMV RG PCR Kit 의 검사를 위한 CMV DNA 는 QIAamp DSP Virus Kit 를 사용하여 분리되었으며, *artus* CMV RG PCR Kit 의 내부 대조물질이 분리에 추가되었고, 분석은 Rotor-Gene 3000 에서 수행되었습니다. COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test 의 표본은 패키지 설명서에 제공된 제조업체의 지침에 따라 처리 및 분석되었습니다.

COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test 에서 양성으로 나온 11 개 검체가 모두 *artus* CMV RG PCR Kit 에서 양성으로 검사되었습니다. COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test 에서 음성으로 나온 145 개의 검체 중 123 개가 *artus* CMV RG PCR Kit 에서 음성으로 검사되었습니다. 22 개의 불일치 결과가 나왔습니다(표 14).

표 14. 비교 검증 연구의 결과

		COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test		
		+	–	총계
artus CMV RG PCR Kit	+	11	22	33
	–	0	123	123

COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test 의 결과를 기준으로 하면 *artus* CMV RG PCR Kit 의 모든 검체의 진단 민감도는 100%이며, 진단 특이성은 84.8%입니다.

22 개의 불일치 검체에 대한 추가적인 검사는 *artus* PCR Kit 의 결과를 확인해 주었습니다. 그러므로 불일치는 *artus* CMV RG PCR Kit 의 보다 높은 감도에 의한 것으로 가정할 수 있습니다.

참고 문헌

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).

문제 해결 가이드

이 문제 해결 가이드는 발생 가능한 문제를 해결하는 데 도움을 줄 수 있습니다. 더 자세한 정보는 또한 당사 기술 지원 센터의 자주 묻는 질문(Frequently Asked Questions, FAQ) 페이지를 참조하십시오. **www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx**.

	의견 및 제안
형광도 채널 Cycling Green 에서 양성 대조물질(CMV QS 1-4)의 신호 없음	
a) PCR 데이터 분석에 선택된 형광 채널이 프로토콜을 준수하지 않음	데이터 분석의 경우, 분석 CMV PCR 에 형광도 채널 Cycling Green 을 선택하고, 내부 대조물질 PCR 에 형광도 채널 Cycling Yellow 를 선택합니다.
b) Rotor-Gene 기기의 온도 프로필의 부정확한 프로그래밍.	온도 프로필을 프로토콜과 비교합니다. "프로토콜: PCR 및 데이터 분석", 14 페이지를 참조하십시오.
c) 잘못된 PCR 구성	피펫팅 계획에 따른 작업 단계를 점검하고, 필요하면 PCR 을 반복합니다. "프로토콜: PCR 및 데이터 분석", 14 페이지를 참조하십시오.
d) 한 개 이상의 키트 구성품 보관 조건이 "시약 보관 및 취급", 10 페이지)에 제시된 지침을 준수하지 않았음	시약의 보관 조건과 유통 기한(키트 라벨 참조)을 확인하고, 필요한 경우 새 키트를 사용합니다.
e) *artus* CMV RG PCR Kit 의 유통 기한이 만료됨	시약의 보관 조건과 유통 기한(키트 라벨 참조)을 확인하고, 필요한 경우 새 키트를 사용합니다.
형광도 채널 Cycling Yellow 에서 QIAamp DSP Virus Kit 를 사용하여 정제한 음성 혈장 검체의 내부 대조물질의 신호가 약하거나 없으며(Cr = 27 ± 3, 임계값, 0.03), 그와 동시에 채널 Cycling Green 에서 신호가 없음	
a) PCR 조건이 프로토콜을 준수하지 않음	PCR 조건(상기 참조)을 확인하고, 필요한 경우 올바른 설정으로 PCR 을 반복합니다.
b) PCR 이 억제되었음	권장 분리 방법을 이용하고, 제조업체의 지침을 엄격하게 준수합니다.

	의견 및 제안
c) 추출 중 DNA 가 손실되었음	내부 대조물질이 추출물에 추가된 경우, 내부 대조물질의 신호가 없다는 것은 추출 중에 DNA 가 손실되었음을 나타낼 수 있습니다. 권장 분리 방법("DNA 분리", 12 페이지 참조)을 이용하고, 제조업체의 지침을 엄격하게 준수하십시오.
d) 한 개 이상의 키트 구성품 보관 조건이 "시약 보관 및 취급", 10 페이지)에 제시된 지침을 준수하지 않았음	시약의 보관 조건과 유통 기한(키트 라벨 참조)을 확인하고, 필요한 경우 새 키트를 사용합니다.
e) *artus* CMV RG PCR Kit 의 유통 기한이 만료됨	시약의 보관 조건과 유통 기한(키트 라벨 참조)을 확인하고, 필요한 경우 새 키트를 사용합니다.
분석 PCR 의 형광 채널 Cycling Green 의 음성 대조물질에서 신호 발생	
a) PCR 준비 중 오염이 발생했음	새 시약으로 PCR 을 반복 실행합니다. 가능하면, 검사할 검체를 추가한 후에 바로 PCR 튜브를 닫습니다. 양성 대조물질을 마지막으로 피펫팅하십시오. 반드시 작업 공간과 기기의 오염을 정기적으로 제거합니다.
b) 추출 과정 중 오염이 발생했음	새 시약을 사용하여 검사할 검체의 추출 및 PCR 을 반복합니다. 반드시 작업 공간과 기기의 오염을 정기적으로 제거합니다.

기호

<N>회 검사에 충분한 시약 포함

사용 기한

체외 진단용 의료 기기

카탈로그 번호

로트 번호

물품 번호

구성품

내용물

수

국제 거래 단위 번호

온도 제한

제조업체

사용 설명서 참조

주문 정보

제품	목차	카탈로그 번호
artus CMV RG PCR Kit (24)	24 개 반응물의 경우: 마스터, 마그네슘 용액, 4 개의 정량 표준, 내부 대조물질, 물(PCR 등급)	4503263
artus CMV RG PCR Kit (96)	96 개 반응물의 경우: 마스터, 마그네슘 용액, 4 개의 정량 표준, 내부 대조물질, 물(PCR 등급)	4503265
EZ1 DSP Virus Kit - 1~14 개의 혈청, 혈장 또는 CSF 검체로부터의 바이러스 DNA 및 RNA 의 자동화된 동시 정제		
EZ1 DSP Virus Kit (48)	48 개의 바이러스 핵산 준비용: 사전 충전된 시약 카트리지, 일회용 팁 홀더, 일회용 필터 팁, 검체 튜브, 용출 튜브, 완충액, 운반체 RNA	62724
QIAamp DSP Virus Kit - 시험관 내진단을 위해 사람의 혈장에서 바이러스 핵산을 정제하는 용도		
QIAamp DSP Virus Kit	50 회분: QIAamp MinElute® Spin Columns, 완충액, 시약, 튜브, 컬럼 익스텐더, VacConnectors	60704
Rotor-Gene Q MDx 및 부속장치		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	5 개 채널(녹색, 노란색, 주황색, 빨간색, 진홍색)이 있는 Real-time PCR 사이클러, 노트북 컴퓨터, 소프트웨어, 부속장치: 부품 및 공임 1 년 보증 포함, 설치 및 교육 비포함	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	5 채널(녹색, 노란색, 주황색, 빨간색, 진홍색)이 있는 Real-time PCR 사이클러, 노트북 컴퓨터, 소프트웨어, 액세서리: 부품 및 공임 1 년 보증, 설치 및 교육 포함	9002023

제품	목차	카탈로그 번호
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	5 채널(녹색, 노란색, 주황색, 빨간색, 진홍색) + HRM 채널이 있는 실시간 PCR 사이클러 및 고해상도 멜팅 분석기, 노트북 컴퓨터, 소프트웨어, 액세서리: 부품 및 공임 1 년 보증 포함, 설치 및 교육 비포함	9002032
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	5 채널(녹색, 노란색, 주황색, 빨간색, 진홍색) + HRM 채널이 있는 실시간 PCR 사이클러 및 고해상도 멜팅 분석기, 노트북, 소프트웨어, 액세서리: 부품 및 공임 1 년 보증, 설치 및 교육 포함	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	6 채널(파란색, 녹색, 노란색, 주황색, 빨간색, 진홍색)이 있는 Real-time PCR 기기, 노트북 컴퓨터, 소프트웨어, 액세서리: 부품 및 공임 1 년 보증 포함, 설치 및 교육 비포함	9002042
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	6 채널(파란색, 녹색, 노란색, 주황색, 빨간색, 진홍색)이 있는 Real-time PCR 기기, 노트북 컴퓨터, 소프트웨어, 액세서리: 부품 및 공임 1 년 보증, 설치 및 교육 포함	9002043
Rotor-Gene Q MDx 2plex Platform	2 개 채널(녹색, 노란색)이 있는 real-time PCR 사이클러, 노트북 컴퓨터, 소프트웨어, 부속장치: 부품 및 공임 1 년 보증 포함, 설치 및 교육 비포함	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex System	2 개 채널(녹색, 노란색)이 있는 real-time PCR 사이클러, 노트북 컴퓨터, 소프트웨어, 부속장치: 부품 및 공임 1 년 보증, 설치 및 교육 포함	9002003
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM Platform	2 개 채널(녹색, 노란색) + HRM 채널이 있는 real-time PCR 사이클러 및 고해상도 멜팅 분석기, 노트북, 소프트웨어, 부속장치: 부품 및 공임 1 년 보증 포함, 설치 및 교육 비포함	9002012

제품	목차	카탈로그 번호
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM System	2 개 채널(녹색, 노란색) + HRM 채널이 있는 real-time PCR 사이클러 및 고해상도 멜팅 분석기, 노트북, 소프트웨어, 부속장치: 부품 및 공임 1 년 보증, 설치 및 교육 포함	9002013
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	72 x 0.1ml 튜브의 단일 채널 피펫을 사용한 수동 반응 설정을 위한 알루미늄 블록	9018901
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	96 x 0.2 ml 튜브를 사용한 표준 8 x 12 배열의 수작업 반응 설정용 알루미늄 블록	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	1000 회 반응을 위한 250 개 스트립(4 개 튜브) 및 캡	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10,000 회 반응을 위한 10 x 250 개 스트립(4 개 튜브) 및 캡	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 회 반응을 위한 1000 개의 박벽 튜브	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	1000 회 반응을 위한 10 x 10,000 개의 박벽 튜브	981008

최신 라이선스 정보 및 제품별 면책 사항은 각 QIAGEN 키트 안내서 또는 사용 설명서를 참조하십시오. QIAGEN 키트 안내서와 사용 설명서는 **www.qiagen.com** 에서 확인하거나 QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체에 요청할 수 있습니다.

문서 개정 이력

개정판	변경 사항
R6, 2021 년 3 월	선형 범위, 간섭 물질, 재현성 섹션 추가. 용도 및 정량화 섹션 업데이트. 더 이상 지원되지 않는 QIAGEN 기기에 대한 언급 삭제.

artus CMV RG PCR Kit 의 제한적 라이선스 계약

본 제품을 사용하는 것은 제품의 구매자 또는 사용자가 다음의 조건에 동의함을 나타냅니다.

1. 이 제품은 오로지 제품과 함께 제공된 프로토콜과 안내서에 따라 사용될 수 있으며 키트에 포함되어 있는 구성품과만 사용할 수 있습니다. QIAGEN 은 제품과 함께 제공된 프로토콜 및 본 안내서, www.qiagen.com 에 제공된 추가 프로토콜에서 설명한 경우를 제외하고 지적 재산권에 따라 본 키트에 동봉된 구성품을 본 키트에 포함되지 않은 구성품과 통합하거나 사용하도록 라이선스를 부여하지 않습니다. QIAGEN 사용자를 위해 QIAGEN 사용자가 이 추가 프로토콜의 일부를 제공하였습니다. QIAGEN 에서 이 프로토콜을 철저히 검사하거나 최적화하지 않았습니다. QIAGEN 은 이를 보장하지 않으며 제 3 자의 권한을 침해하지 않는다는 것도 보증하지 않습니다.
2. 명시적으로 설명한 라이선스 이외에 QIAGEN 은 본 키트 및/또는 본 키트의 사용이 제 3 자의 권한을 침해하지 않음을 보증하지 않습니다.
3. 본 키트 및 해당 구성품은 1 회용으로 라이스가 부여되며 재사용, 재정비 또는 재판매할 수 없습니다.
4. QIAGEN 은 명시적으로 설명한 경우 이외에 명시 또는 암시한 다른 라이선스는 명확히 부인합니다.
5. 키트 구입자 및 사용자는 위에서 금한 행위를 유도하거나 촉진할 수 있는 단계를 취하거나 이를 허용하지 않는데 동의합니다. QIAGEN 은 모든 법정에서 이와 같은 제한된 라이선스 협약의 금지를 시행할 수 있으며, 키트 및/또는 해당 구성요소에 관련하여 본 제한된 라이선스 협약 또는 지적 재산권을 시행하기 위한 어떤 행동에서든 변호사 비용을 포함하여 조사 및 법정 비용을 회수할 수 있습니다.

라이선스 조항의 업데이트는 www.qiagen.com 을 참조하십시오.

이 제품을 구매함으로써 구매자는 사람을 대상으로 한 체외 진단을 위한 진단 서비스 성능을 위해 이 제품을 사용하는 것이 허용됩니다. 이로써 구매 시, 이 구체적인 사용 권한 이외에 일반적 특허 또는 어떤 종류의 다른 라이선스는 허여되지 않습니다.

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

HB-0046-008 1123965 R6 03/2021© 2021 QIAGEN, 모든 권한 보유.