

Oktober 2019

Brosur Kemasan

QuantiFERON[®]-CMV ELISA



Pengujian IFN- γ darah utuh untuk menghitung respons terhadap antigen peptida Cytomegalovirus Manusia



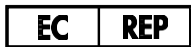
Untuk penggunaan diagnostik in vitro



0350-0201



QIAGEN, 19300 Germantown Road, Germantown,
MD 20874, Amerika Serikat +1-800-426-8157



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724
Hilden, JERMAN

1075110 Rev. 06



www.QuantiFERON.com

Daftar Isi

Tujuan Penggunaan	5
Rangkuman dan Penjelasan	5
Prinsip Prosedur.....	6
Waktu yang diperlukan untuk melakukan uji kadar	7
Bahan yang Disediakan	8
Isi kit.....	8
Bahan yang Diperlukan tetapi Tidak Disediakan	9
Peringatan dan Pencegahan	9
Informasi keselamatan	11
Penyimpanan dan Penanganan Reagen	12
Pengambilan dan Penanganan Spesimen	13
Prosedur	16
Tahap 1: Inkubasi darah dan pengambilan plasma.....	16
Tahap 2: QuantiFERON-CMV ELISA untuk IFN- γ manusia.....	17
Perhitungan dan Interpretasi Pengujian.....	22
Pembuatan kurva standar (jika QF-CMV Analysis Software tidak digunakan).....	22
Kontrol kualitas pengujian	23
Interpretasi Hasil.....	24
Batasan	25
Nilai yang Diharapkan	25
Karakteristik Kinerja	28
Kinerja klinis	28

Ambang batas uji kadar	29
Studi Klinis.....	29
Spesifisitas.....	29
Sensitivitas.....	30
Studi yang menyoroti manfaat klinis	30
Pedoman konsensus internasional mengenai pengelolaan cytomegalovirus dalam transplantasi organ padat	36
Karakteristik Kinerja Uji Kadar	37
Informasi Teknis.....	40
Hasil yang tidak tentu	40
Sampel plasma membeku	40
Panduan Pemecahan Masalah	41
Referensi.....	43
Simbol.....	45
Informasi Kontak.....	46
Ringkasan Prosedur Pengujian ELISA.....	47
Tahap 1: Inkubasi darah	47
Tahap 2: IFN- γ ELISA	47
Riwayat Revisi Buku Pegangan	50

Tujuan Penggunaan

QuantiFERON-CMV ELISA (QF-CMV) adalah uji kadar in vitro yang menggunakan koktail peptida yang menstimulasi protein cytomegalovirus (CMV) manusia untuk merangsang sel pada darah utuh heparin. Pendeteksian interferon-gamma (IFN- γ) oleh enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (uji kadar imunosorben terangkai enzim) digunakan untuk menghitung respons in vitro terhadap antigen peptida tersebut terkait dengan kontrol imun infeksi CMV. Berkurangnya fungsi imun dapat dikaitkan dengan tumbuhnya penyakit CMV. Penggunaan QF-CMV dimaksudkan untuk memantau kadar imunitas anti-CMV pada pasien.

QF-CMV bukan pengujian untuk menentukan infeksi CMV dan tidak boleh digunakan untuk meniadakan infeksi CMV.

Rangkuman dan Penjelasan

CMV adalah virus herpes yang menginfeksi antara 50–85% orang dewasa dalam suatu populasi. Hal ini merupakan komplikasi yang sering terjadi pada immunosupresi, terutama setelah transplantasi, dan dapat berkontribusi secara signifikan terhadap morbiditas dan mortalitas penerima transplantasi. Terapi immunosupresif terkini yang digunakan untuk mencegah penolakan organ yang ditransplantasi memiliki efek yang merugikan pada limfosit T dan respons imunitas seluler (Cell-Mediated Immune, CMI), menyebabkan peningkatan kerentanan terhadap infeksi virus pasca-transplantasi. Pentingnya fungsi sel T dalam menekan replikasi CMV juga disorot oleh fakta bahwa limfosit T sitotoksik (CTL) khusus CMV CD8⁺ dapat melindungi terhadap patogenesis terkait virus. Enumerasi CTL khusus CMV CD8⁺ pada pasien immunosupresi dan produksi IFN- γ dapat menjadi prediksi untuk risiko perkembangan penyakit CMV. Produksi IFN- γ dapat menjadi pengganti fungsi untuk identifikasi CTL khusus CMV.

QF-CMV adalah uji kadar untuk respons CMI terhadap antigen peptida yang menstimulasi protein CMV. Peptida CMV dirancang untuk menyasar sel CD8⁺ T, termasuk haplotipe A1, A2, A3, A11, A23, A24, A26, B7, B8, B27, B35, B40, B41, B44, B51, B52, B57, B58, B60, dan Cw6 (A30, B13) HLA Kelas I yang meliputi >98% populasi manusia. Individu yang terinfeksi CMV biasanya memiliki limfosit CD8⁺ dalam darahnya yang mengenali antigen ini. Proses pengenalan ini melibatkan produksi dan sekresi sitokin, IFN- γ . Deteksi dan penghitungan IFN- γ yang berikutnya membentuk dasar pengujian ini.

Prinsip Prosedur

Pengujian QF-CMV dilakukan dalam dua tahap. Pertama, darah utuh dimasukkan ke dalam setiap tabung penampung darah QF-CMV yang terdiri dari tabung Kontrol Nil, tabung Antigen CMV, dan tabung Mitogen.

Tabung Mitogen digunakan dalam pengujian QF-CMV sebagai kontrol positif. Hal ini diperlukan terutama saat ada keraguan mengenai status imun pasien. Tabung Mitogen juga dapat berfungsi sebagai kontrol untuk penanganan dan inkubasi darah secara tepat.

Tabung harus diinkubasi pada suhu 37 °C sesegera mungkin, dan dalam kurun waktu 16 jam sejak pengambilan darah. Setelah masa inkubasi selama 16–24 jam, tabung disentrifugasi, plasma disingkirkan, dan jumlah IFN- γ (IU/ml) dihitung oleh QF-CMV ELISA.

Jumlah IFN- γ dalam sampel plasma dari tabung Antigen CMV dan Mitogen terkadang dapat melebihi batas atas sebagian besar pembacaan ELISA, bahkan jika pasien mengalami imunosupresi sedang. Untuk hasil kualitatif, gunakan nilai yang dihitung untuk plasma murni. Untuk hasil kuantitatif, yaitu saat diperlukan nilai IU/ml aktual, sampel plasma harus diencerkan 1/10 dalam Pengencer Hijau dan dilakukan uji kadar dalam ELISA bersama dengan plasma murni.

Catatan: Untuk sampel yang berada di dalam rentang QF-CMV ELISA (yaitu hingga 10 IU/ml), hasil yang didapatkan dengan sampel plasma murni harus digunakan. Untuk konsentrasi IFN- γ tersebut, nilai yang didapatkan menggunakan pengenceran 1/10 sampel plasma mungkin tidak akurat.

Suatu pengujian dianggap reaktif untuk sebuah respons IFN- γ saat tabung Antigen CMV mencatatkan nilai yang secara signifikan berada di atas nilai IU/ml IFN- γ pada tabung Nil. Sampel plasma yang distimulasi oleh Mitogen berfungsi sebagai kontrol positif IFN- γ untuk setiap spesimen yang diuji. Respons rendah terhadap Mitogen mengindikasikan hasil yang tidak pasti ketika sampel darah juga memiliki respons nonreaktif terhadap antigen CMV. Pola ini dapat terjadi dengan limfosit yang tidak memadai, aktivitas limfosit yang berkurang akibat penanganan spesimen yang tidak tepat, pengisian/pencampuran tabung Mitogen yang tidak tepat, atau ketidakmampuan limfosit pasien untuk menghasilkan IFN- γ – seperti pada pasien yang baru saja menjalani transplantasi. Sampel Nil menyesuaikan latar belakang atau IFN- γ nonspesifik dalam sampel darah. Kadar IFN- γ pada tabung Nil dikurangi dari kadar IFN- γ untuk tabung Antigen CMV dan tabung Mitogen (lihat “Interpretasi Hasil” pada halaman 24 Brosur Kemasan ini untuk ringkasan mengenai cara hasil QF-CMV diinterpretasi).

Waktu yang diperlukan untuk melakukan uji kadar

Perkiraan waktu yang diperlukan untuk melakukan uji kadar QF-CMV seperti di bawah ini; juga dicantumkan waktu pengujian beberapa sampel dalam batch:

Inkubasi 37 °C untuk tabung darah:	16–24 jam
ELISA:	Sekitar 3 jam untuk satu pelat ELISA
	Kurang dari 1 jam kerja
	Tambahkan 10–15 menit untuk setiap pelat tambahan

Bahan yang Disediakan

Isi kit

Blood Collection Tubes (Single Patient Pack) (Tabung Penampung Darah (Pak Pasien Tunggal))	
No. katalog	0192-0301
Jumlah sediaan	1
QuantiFERON Nil Control (Kontrol Nil QuantiFERON) (tutup abu-abu)	1 tabung
QuantiFERON CMV Antigen (Antigen CMV QuantiFERON) (tutup biru)	1 tabung
QuantiFERON Mitogen Control (Kontrol Mitogen QuantiFERON) (tutup ungu)	1 tabung
QF-CMV Blood Collection Tubes Package Insert (Brosur Kemasan Tabung Penampung Darah QF-CMV)	1

QuantiFERON-CMV ELISA	2-Plate Kit ELISA (Kit ELISA 2 Pelat)
No. katalog	0350-0201
Microplate strips (Strip pelat mikro) (12 x 8 sumuran) dilapisi dengan antibodi monoklonal IFN- γ anti-manusia pada tikus	2 set strip pelat mikro 12 x 8 sumuran
IFN- γ Standard Manusia, yang diliofilisasi (mengandung rekombinan IFN- γ manusia, kasein sapi, Thimerosal dengan berat volume 0,01%)	1 x vial (8 IU/ml saat direkonstitusi)
Green Diluent (Pengencer Hijau) (berisi kasein sapi, serum mencit normal, Thimerosal dengan berat volume 0,01%)	1 x 30 ml
Konjugat 100x Konsentrat, terliofilisasi (IFN- γ -HRP anti-manusia pada tikus, mengandung Thimerosal dengan berat volume 0,01%)	1 x 0,3 ml
Wash Buffer 20x Concentrate (Dapar Pencuci Konsentrat 20x) (pH 7,2, mengandung 0,05% volume konsentrasi ProClin® 300)	1 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Larutan Substrat Enzim) (mengandung H ₂ O ₂ , 3,3',5,5' Tetrametilbenzindin)	1 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Larutan Penghenti Enzim) (mengandung 0,5 M H ₂ SO ₄)*	1 x 15 ml
QF-CMV ELISA Package Insert (Brosur Kemasan QF-CMV ELISA)	1

* Mengandung asam sulfat. Lihat halaman 9 untuk tindakan pencegahan.

Bahan yang Diperlukan tetapi Tidak Disediakan

Saat bekerja dengan bahan kimia, selalu kenakan jas lab yang sesuai, sarung tangan sekali pakai, dan kacamata pelindung. Untuk informasi selengkapnya, baca lembar data keselamatan (Safety Data Sheet, SDS) yang sesuai, tersedia dari pemasok produk.

- Inkubator 37 °C; CO₂ tidak diperlukan
- Pipet variabel volume terkalibrasi untuk pemuatan 10–1000 µl dengan ujung sekali pakai
- Pipet multisaluran terkalibrasi mampu memuat 50 hingga 100 µl dengan ujung sekali pakai
- Alat kocok pelat mikro
- Air deionisasi atau distilasi, 2 liter
- Pencuci pelat mikro (pencuci otomatis disarankan)
- Pembaca pelat mikro yang dipasang filter 450 nm dan filter referensi 620 nm hingga 650 nm
- Tutup pelat

Peringatan dan Pencegahan

Untuk penggunaan diagnostik in vitro

Saat bekerja dengan bahan kimia, selalu kenakan jas lab yang sesuai, sarung tangan sekali pakai, dan kacamata pelindung. Untuk informasi selengkapnya, periksa lembar data keselamatan (Safety Data Sheets, SDS) yang sesuai. Dokumen ini tersedia online dalam format PDF yang praktis dan ringkas di www.qiagen.com/safety di mana Anda dapat menemukan, melihat, dan mencetak SDS untuk setiap kit QIAGEN® dan komponen kit.

PERHATIAN



Tangani darah manusia seolah-olah darah tersebut berpotensi menularkan penyakit. Perhatikan pedoman yang relevan tentang menangani darah.

Pernyataan bahaya dan pencegahan berikut ini berlaku untuk komponen-komponen QuantiFERON-CMV ELISA.

QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Mengandung: asam sulfat. Peringatan! Dapat menyebabkan korosi pada logam. Menyebabkan iritasi kulit. Menyebabkan iritasi mata serius. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Peringatan! Menyebabkan iritasi kulit ringan. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah.

QuantiFERON Green Diluent



Mengandung: trisodium 5-hidroksi-1-(4-sulfofenil)-4-(4-sulfofenil azo)pirazol-3-karboksilat. Mengandung: tartrazin. Peringatan! Dapat menyebabkan reaksi alergi terhadap kulit. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Mengandung: ProClin 300. Berbahaya bagi kehidupan air dengan efek jangka panjang. Hindari terlepas ke lingkungan.

Informasi keselamatan

Informasi lebih lanjut

- Penyimpangan dari QF-CMV Package Insert dapat memberikan hasil yang salah. Bacalah petunjuk dengan saksama sebelum digunakan.
- Jangan gunakan jika botol reagen yang mana pun menunjukkan tanda kerusakan atau kebocoran sebelum digunakan.
- Penting: Periksa vial sebelum digunakan. Jangan gunakan vial Konjugat atau IFN- γ Standard yang menunjukkan tanda-tanda kerusakan atau jika segel karetinya sudah tidak wajar. Jangan gunakan vial yang rusak. Lakukan tindakan pencegahan untuk keselamatan yang tepat guna membuang vial dengan aman.
Saran: Gunakan pembuka segel vial untuk membuka vial Konjugat atau IFN- γ Standard guna mengurangi risiko cedera dari tutup gerigi logam.
- Jangan mencampur atau menggunakan Strip Pelat Mikro, IFN- γ Standard Manusia, Pengencer Hijau, atau Konjugat 100x Konsentrat dari batch kit QF-CMV yang berbeda. Reagen lain (Dapar Pencuci 20x Konsentrat, Larutan Substrat Enzim, dan Larutan Penghenti Enzim) dapat dipertukarkan antar-kit, asalkan reagen berada dalam masa kedaluwarsa masing-masing dan rincian lot dicatat.
- Buang reagen dan sampel biologis yang tidak digunakan sesuai dengan regulasi setempat, negara, dan federal.
- Jangan gunakan QF-CMV Blood Collection Tubes atau QF-CMV ELISA kits setelah tanggal kedaluwarsa.
- Pastikan peralatan laboratorium seperti pencuci dan pembaca pelat telah dikalibrasi/divalidasi untuk penggunaan.

Penyimpanan dan Penanganan Reagen

Tabung penampung darah

- Simpan QF-CMV Blood Collection Tubes pada suhu 4–25 °C.
- QF-CMV Blood Collection Tubes harus berada pada suhu antara 17–25 °C pada saat diisi darah.
- Masa penyimpanan QF-CMV Blood Collection Tubes adalah selama maksimal 15 bulan setelah tanggal produksi, jika disimpan pada suhu 4–25 °C.

Reagen kit ELISA

- Simpan kit pada suhu 2–8 °C.
- Lindungi selalu Larutan Enzim Substrat dari cahaya matahari langsung.

Reagen yang direkonstitusi dan tidak digunakan

Untuk petunjuk tentang cara merekonstitusi reagen, lihat “Tahap 2: QuantiFERON-CMV ELISA untuk IFN- γ manusia” (langkah 3 hingga 5 pada halaman 17 dan 19).

- IFN- γ Standard Manusia yang direkonstitusi dapat disimpan hingga 3 bulan jika disimpan pada suhu 2–8 °C. Catat tanggal rekonstitusi IFN- γ Standar Manusia.
- Setelah direkonstitusi, Konjugat 100x Konsentrat yang tidak digunakan harus dikembalikan ke penyimpanan pada suhu 2–8 °C dan harus digunakan dalam kurun waktu 3 bulan.

Catat tanggal saat konjugat direkonstitusi.

- Konjugat berdaya kerja harus digunakan dalam waktu 6 jam setelah disediakan.
- Dapar Pencuci berdaya kerja dapat disimpan pada suhu ruang (22 °C \pm 5 °C) hingga 2 minggu.

Pengambilan dan Penanganan Spesimen

QF-CMV menggunakan tabung penampung darah berikut:

- Kontrol Nil (tutup abu-abu)
- CMV Antigen (blue cap) (Antigen CMV (tutup biru))
- Kontrol Mitogen (tutup ungu)

Antigen dikeringkan pada bagian dalam dinding tabung penampung darah, sehingga penting bahwa isi tabung dicampur secara merata dengan darah. Tabung harus dipindah ke inkubator bersuhu 37 °C sesegera mungkin dan dalam kurun waktu 16 jam setelah pengambilan darah.

Prosedur berikut harus dipatuhi untuk mendapatkan hasil yang optimal:

1. Ambil 1 ml darah dari setiap pasien melalui tusukan vena langsung ke dalam setiap QF-CMV Blood Collection Tubes. Prosedur ini harus dilakukan oleh ahli flebotomi terlatih.

QF-CMV Blood Collection Tubes dapat digunakan hingga ketinggian 810 meter.

Jika Anda menggunakan QF-CMV Blood Collection Tubes pada ketinggian lebih dari 810 meter, atau jika volume pengambilan darah terlalu rendah, darah dapat diambil menggunakan alat suntik, dan langsung pindahkan 1 ml darah ke ketiga tabung. Untuk alasan keselamatan, hal ini sebaiknya dilakukan dengan melepas jarum suntik, memastikan prosedur keselamatan yang tepat, melepas tutup dari ketiga QF-CMV Blood Collection Tubes, dan menambahkan 1 ml darah ke setiap tabung (hingga tanda hitam di sisi label tabung). Pasang kembali tutup dengan aman dan campur seperti yang dijelaskan di bawah. Karena tabung 1 ml mengalirkan darah dengan cukup pelan, tahan tabung pada jarum selama 2–3 detik setelah tabung tampak selesai terisi guna menjamin perolehan volume yang tepat.

Tanda hitam di sisi tabung menandakan volume pengisian 1 ml. QF-CMV Blood Collection Tubes telah divalidasi untuk rentang volume dari 0,8 hingga 1,2 ml. Jika level darah di salah satu tabung tidak mendekati tanda indikator, sampel darah baru harus diambil.

Jika jarum suntik kupu-kupu digunakan untuk mengambil darah, tabung “pembuangan” harus digunakan untuk memastikan bahwa tabung dipenuhi dengan darah sebelum QF-CMV Blood Collection Tubes digunakan.

Sebagai alternatif, darah dapat diambil dalam tabung penampung darah generik tunggal yang mengandung litium heparin sebagai antikoagulan lalu dipindahkan ke QF-CMV Blood Collection Tubes. Hanya gunakan litium heparin sebagai antikoagulan darah karena antikoagulan lain bertentangan dengan uji kadar. Isi tabung penampung darah (volume minimum 5 ml) dan campur perlahan dengan menjungkirbalikkan tabung beberapa kali untuk melarutkan heparin. Prosedur ini harus dilakukan oleh ahli flebotomi terlatih. Darah harus disimpan pada suhu ruang ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) sebelum dipindahkan ke QF-CMV Blood Collection Tubes untuk inkubasi, yang harus dilakukan dalam kurun waktu 16 jam dari pengambilan darah.

2. Segera setelah QF-CMV Blood Collection Tubes terisi, kocok tabung dengan cukup kuat sebanyak 10 kali untuk memastikan bahwa seluruh permukaan bagian dalam tabung terlapisi dengan darah guna melarutkan antigen pada dinding tabung.

Tabung harus disimpan pada suhu 17°C – 25°C saat pengisian darah.

Kocokan yang terlalu kuat dapat menyebabkan kerusakan gel dan dapat menyebabkan hasil yang menyimpang.

Jika darah ditampung dalam tabung litium heparin, sampel harus dicampur merata sebelum dipindahkan ke dalam QF-CMV Blood Collection Tubes. Pastikan bahwa darah tercampur secara merata dengan menjungkirbalikkan tabung secara perlahan tepat sebelum darah dikeluarkan. Keluarkan 1 ml aliquot (satu per QF-CMV Blood Collection Tube) ke dalam tabung Nil, Antigen CMV, dan Mitogen. Proses ini harus dilakukan secara aseptik, memastikan prosedur keselamatan yang tepat, melepas tutup dari ketiga QF-CMV Blood Collection Tubes, dan menambahkan 1 ml darah ke tabung masing-masing (hingga tanda hitam di sisi label tabung). Pasang kembali tutup dengan aman dan campur seperti yang dijelaskan di atas.

-
3. Pasang label yang sesuai dengan tabung.

Pastikan setiap tabung (Nil, Antigen CMV, Mitogen) dapat diidentifikasi melalui labelnya atau cara lain.

4. Setelah terisi, dikocok, dan dilabeli, tabung harus dipindahkan ke inkubator $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ sesegera mungkin, dan dalam kurun waktu 16 jam setelah pengambilan darah. Sebelum inkubasi, simpan tabung pada suhu ruang ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$). Jangan mendinginkan atau membekukan sampel darah.

Prosedur

Tahap 1: Inkubasi darah dan pengambilan plasma

1. Inkubasi tabung dalam posisi TEGAK LURUS pada suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 16–24 jam. Inkubator tidak memerlukan CO_2 atau humidifikasi.

Penting: Jika darah tidak langsung diinkubasi setelah diambil, campur kembali dengan menjungkirbalikkan tabung 10 kali sebelum inkubasi.

Setelah inkubasi, tabung penampung darah dapat disimpan pada suhu $4\text{--}27\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama hingga 3 hari sebelum sentrifugasi.

2. Setelah tabung diinkubasi pada suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, pengambilan plasma dibantu dengan melakukan sentrifugasi tabung selama 15 menit pada 2000–3000 RCF (*g*). Penyumbat gel akan memisahkan sel dari plasma. Jika ini tidak terjadi, tabung harus disentrifugasi ulang.

Anda dapat mengambil plasma tanpa sentrifugasi, namun, diperlukan penanganan tambahan untuk memisahkan plasma tanpa mengganggu sel.

3. Setelah sentrifugasi, hindari menambah atau mengurangi penggunaan pipet atau mencampur plasma dengan cara apa pun sebelum memanen. Selalu berhati-hatilah agar tidak mengacaukan material pada permukaan gel.

Penting: Sampel plasma hanya boleh diambil menggunakan pipet.

Sampel plasma dapat dimuat langsung dari tabung penampung darah yang telah disentrifugasi ke dalam pelat QF-CMV ELISA, termasuk ketika stasiun kerja ELISA otomatis digunakan.

Sampel plasma dapat disimpan dalam QF-CMV Blood Collection Tubes yang telah disentrifugasi selama hingga 28 hari pada suhu $2\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$ atau, jika diambil, di bawah $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (sebaiknya kurang dari $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$) untuk waktu yang lama.

Untuk sampel pengujian yang memadai, ambil setidaknya 150 μl plasma.

Tahap 2: QuantiFERON-CMV ELISA untuk IFN- γ manusia

Lihat "Isi kit", halaman 8 dan "Bahan yang Diperlukan tetapi Tidak Disediakan", halaman 9, untuk bahan yang diperlukan guna melakukan ELISA.

1. Semua sampel dan reagen plasma, kecuali Konjugat Konsentrat 100x, harus dibiarkan dalam suhu ruang ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) sebelum digunakan. Beri waktu setidaknya 60 menit untuk menyetimbangkan.

2. Lepas strip pelat ELISA yang tidak diperlukan dari rangka, segel kembali dalam kantung foil dan kembalikan ke lemari pendingin untuk disimpan hingga diperlukan.

Gunakan setidaknya satu strip untuk QF-CMV ELISA Standards dan strip yang cukup untuk jumlah pasien yang akan diuji. Setelah digunakan, simpan rangka dan penutup untuk digunakan dengan strip yang tersisa.

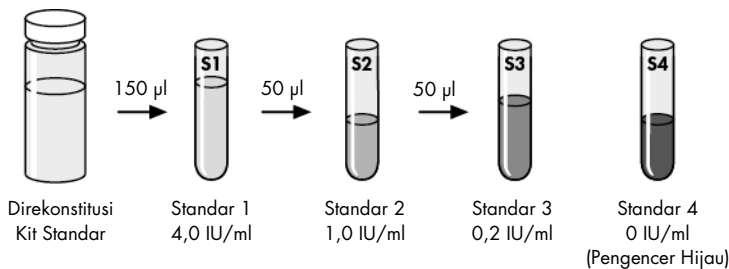
3. Rekonstitusi IFN- γ Standard Manusia dengan volume air deionisasi atau air distilasi yang tertera pada label vial. Campur perlahan untuk mengurangi terbentuknya buih dan memastikan pelarutan ulang secara menyeluruh. Rekonstitusi IFN- γ Standard hingga ke volume yang tepat akan menghasilkan larutan dengan konsentrasi 8,0 IU/ml.

Catatan: Volume rekonstitusi IFN- γ Standard Manusia (kit standar) akan berbeda antar batch.

Menggunakan standar yang direkonstitusi, siapkan rangkaian pengenceran empat konsentrasi IFN- γ dalam Pengencer Hijau (GD, Green Diluent) (Gambar 1, halaman berikutnya). S1 (Standar 1) mengandung 4,0 IU/ml, S2 (Standar 2) mengandung 1,0 IU/ml, S3 (Standar 3) mengandung 0,25 IU/ml, dan S4 (Standar 4) mengandung 0 IU/ml (GD saja). Standar harus diuji kadar setidaknya rangkap dua. Siapkan pengencer segar dari kit standar untuk setiap sesi ELISA.

Contoh prosedur untuk standar duplikat

Contoh prosedur untuk standar duplikat	
A	Labeli keempat tabung: S1, S2, S3, S4
B	Tambahkan 150 µl GD ke S1, S2, S3, S4
C	Tambahkan 150 µl kit standar ke S1 dan campur secara merata
D	Pindahkan 50 µl dari S1 ke S2 lalu campur secara merata
E	Pindahkan 50 µl dari S2 ke S3 lalu campur secara merata
F	GD saja berfungsi sebagai standar nol (S4)



Gambar 1. Persiapan kurva S standar oleh pengenceran seri.

4. Rekonstitusi Konjugat 100x Konsentrat terliofilisasi dengan 0,3 ml air deionisasi atau air distilasi. Campur perlahan untuk mengurangi pembuihan dan pastikan pelarutan konjugat secara menyeluruh.

Konjugat berdaya kerja disiapkan dengan mengencerkan sejumlah Konjugat 100x Konsentrat yang direkonstitusi dalam Pengencer Hijau (lihat Tabel 1, halaman berikutnya).

Campur perlahan secara merata untuk menghindari terbentuknya buih.

Kembalikan Konjugat 100x Konsentrat yang tidak digunakan ke kondisi bersuhu 2–8 °C segera setelah digunakan.

Gunakan hanya Pengencer Hijau.

Tabel 1. Persiapan konjugat berdaya kerja

Jumlah strip	Volume Konjugat Konsentrat 100x	Volume Pengencer Hijau
2	10 µl	1,0 ml
3	15 µl	1,5 ml
4	20 µl	2,0 ml
5	25 µl	2,5 ml
6	30 µl	3,0 ml
7	35 µl	3,5 ml
8	40 µl	4,0 ml
9	45 µl	4,5 ml
10	50 µl	5,0 ml
11	55 µl	5,5 ml
12	60 µl	6,0 ml

5. Untuk sampel plasma yang diambil dari tabung penampung darah yang kemudian dibekukan atau disimpan selama lebih dari 24 jam sebelum uji kadar, campur secara merata sampel sebelum ditambahkan ke sumuran ELISA.

Penting: Jika sampel plasma harus ditambahkan secara langsung dari QF-CMV Blood Collection Tubes yang disentrifugasi, percampuran plasma harus dihindari. Selalu berhati-hatilah untuk tidak mengganggu material pada permukaan gel.

6. Jika diperlukan hasil kuantitatif, encerkan plasma CMV dan Mitogen 1/10 ke dalam Pengencer Hijau (10 µl plasma + 90 µl GD). Plasma Nil tidak boleh diencerkan.

Dianjurkan untuk menguji sampel berikut secara paralel:

Nil, Antigen CMV, Mitogen, Antigen CMV (1/10), Mitogen (1/10)

Namun, opsi sampel pasien berikut juga didukung oleh QuantiFERON-CMV Analysis Software:

Nil, Antigen CMV, Mitogen

Nil, Antigen CMV (1/10), Mitogen (1/10)

Nil, Antigen CMV, Mitogen, Antigen CMV (1/10)

Nil, Antigen CMV (1/10), Mitogen

7. Tambahkan 50 µl konjugat berdaya kerja yang baru disiapkan ke sumuran ELISA yang diperlukan menggunakan pipet multisaluran.
8. Tambahkan 50 µl sampel plasma pengujian ke sumuran yang sesuai. Kemudian, tambahkan 50 µl masing-masing Standar 1 hingga 4 ke sumuran yang sesuai. Standar harus diuji kadar setidaknya rangkap dua.
9. Tutup pelat ELISA dan campur konjugat dan sampel plasma/standar secara merata menggunakan pengocok pelat mikro selama 1 menit pada 500 hingga 1000 rpm. Jangan sampai memercik.
10. Tutupi pelat ELISA dan inkubasi pada suhu ruang ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) selama 120 ± 5 menit.
Pelat tidak boleh terpapar sinar matahari langsung selama inkubasi. Suhu yang menyimpang dari rentang suhu yang ditentukan dapat menyebabkan hasil yang salah.
11. Selama inkubasi, siapkan dapar pencuci berdaya kerja. Encerkan satu bagian Dapar Pencuci 20x Konsentrat dengan 19 bagian air deionisasi atau air distilasi dan campur secara merata.
Dapar Pencuci 20x Konsentrat yang memadai telah disediakan untuk menyiapkan 2 liter dapar pencuci berdaya kerja.
12. Saat inkubasi pelat ELISA selesai, cuci sumuran dengan 400 µl dapar pencuci berdaya kerja selama setidaknya enam siklus. Disarankan menggunakan pencuci pelat otomatis.
Penting: Pencucian menyeluruh sangat penting untuk kinerja uji kadar. Pastikan masing-masing sumuran terisi penuh dengan dapar pencuci hingga ke atas sumuran untuk setiap siklus pencucian. Disarankan ada waktu rendam sekurangnya 5 detik antar siklus.
Disinfektan laboratorium standar harus ditambahkan ke reservoir efluen, dan prosedur yang telah ditetapkan dipatuhi untuk dekontaminasi material yang berpotensi menular.
13. Ketuk pelat menghadap ke bawah ke handuk penyerap bebas serat untuk menghilangkan sisa dapar pencuci. Tambahkan 100 µl Larutan Substrat Enzim ke setiap sumuran, tutup pelat dan campur secara merata selama 1 menit pada 500 hingga 1000 rpm menggunakan pengocok pelat mikro.

-
14. Tutup setiap pelat dan inkubasi pada suhu ruang ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit. Pelat tidak boleh terpapar sinar matahari langsung selama inkubasi.
 15. Setelah inkubasi 30 menit, tambahkan 50 μl Larutan Penghenti Enzim ke masing-masing sumuran dalam urutan yang sama seperti ketika substrat ditambahkan, lalu campur secara merata pada 500 hingga 1000 rpm menggunakan pengocok pelat mikro.
 16. Ukur Densitas Optik (OD, Optical Density) setiap sumuran dalam waktu 5 menit setelah reaksi berhenti menggunakan pembaca pelat mikro yang dipasang pada filter 450 nm dan pada filter referensi 620 nm hingga 650 nm. Nilai OD digunakan untuk menghitung hasil.

Perhitungan dan Interpretasi Pengujian

QuantiFERON-CMV Analysis Software, untuk menganalisis data mentah dan penghitungan hasil, tersedia dari QIAGEN di www.QuantiFERON.com. Pastikan Anda menggunakan QF-CMV Analysis Software versi terbaru.

Perangkat lunak ini melakukan penilaian Kendali Mutu pada uji kadar, membuat kurva standar, dan memberikan hasil pengujian untuk setiap subjek, yang diperinci dalam "Interpretasi Hasil" pada halaman 24. Perangkat lunak melaporkan pengenceran terendah yang mengeluarkan hasil di dalam rentang QF-CMV ELISA, dengan memperhitungkan faktor pengenceran.

Sebagai alternatif dalam menggunakan QF-CMV Analysis Software, hasil dapat ditentukan menurut metode berikut.

Pembuatan kurva standar (jika QF-CMV Analysis Software tidak digunakan)

Tentukan nilai OD rata-rata dari replikat Kit Standard pada setiap pelat.

Buat kurva standar $\log_{(e)} - \log_{(e)}$ dengan memplot $\log_{(e)}$ dari OD rata-rata (sumbu y) terhadap $\log_{(e)}$ pada konsentrasi IFN- γ pada standar dalam IU/ml (sumbu x), dengan menghilangkan standar nol dari perhitungan ini. Hitung garis yang paling sesuai untuk kurva standar dengan analisis regresi.

Gunakan kurva standar untuk menentukan konsentrasi IFN- γ (IU/ml) untuk setiap sampel plasma pengujian, menggunakan nilai OD dari setiap sampel.

Perhitungan ini dapat dilakukan menggunakan paket perangkat lunak yang tersedia dengan pembaca pelat mikro, dan perangkat lunak statistik atau spreadsheet standar (seperti Microsoft® Excel®). Disarankan agar paket ini digunakan untuk menghitung analisis regresi, koefisien variasi (%CV) untuk standar, dan koefisien korelasi (r) kurva standar.

Hasil yang dilaporkan harus diambil dari pengenceran terendah yang mengeluarkan hasil dalam rentang QF-CMV ELISA, pastikan faktor pengenceran diperhitungkan jika sesuai.

Kontrol kualitas pengujian

Keakuratan hasil pengujian bergantung pada pembuatan kurva standar yang akurat. Maka, hasil yang diturunkan dari standar harus diperiksa sebelum hasil sampel pengujian dapat diinterpretasi.

Agar ELISA bisa menjadi valid:

- Nilai OD rata-rata untuk Standar 1 harus sebesar $\geq 0,600$.
- %CV untuk nilai OD replikat Standar 1 dan Standar 2 harus $< 15\%$.
- Nilai OD replikat untuk Standar 3 dan 4 tidak boleh berbeda lebih dari 0,040 unit absorbansi dari rata-ratanya.
- Koefisien korelasi (r) yang dihitung dari mean nilai daya serap standar harus sebesar $\geq 0,98$.

QF-CMV Analysis Software menghitung dan melaporkan parameter kendali mutu tersebut. Jika kriteria di atas tidak terpenuhi, proses tidak valid dan harus diulangi.

Nilai OD rata-rata untuk Standar Nol (Pengencer Hijau) harus sebesar $\leq 0,150$. Jika nilai OD rata-rata $> 0,150$, prosedur pencucian pelat harus diinvestigasi.

Interpretasi Hasil

Hasil QuantiFERON-CMV diinterpretasikan menggunakan kriteria dalam Tabel 2.

Tabel 2. Interpretasi hasil QuantiFERON-CMV

Nil (IU/ml)	CMV minus Nil (IU/ml)	Mitogen dikurangi Nil (IU/ml)*	Hasil QF-CMV	Laporan/Interpretasi
≤8,0	≥0,20 dan ≥25% Nil	Bebas	Reaktif†	Imunitas anti-CMV terdeteksi
	<0,20 ATAU ≥0,20 dan <25% Nil	≥0,5	Nonreaktif	Imunitas anti-CMV TIDAK terdeteksi
		<0,5	Tidak tentu‡	Hasil tidak menentukan responsif CMV
>8,0§	Bebas	Bebas	Tidak tentu‡	Hasil tidak menentukan responsif CMV

* Respons terhadap kontrol positif Mitogen (dan sesekali antigen CMV) biasanya dapat berada di luar rentang pembaca pelat mikro. Ini tidak berpengaruh pada hasil pengujian.

† Saat tidak ada dugaan infeksi cytomegalovirus, mulanya hasil reaktif dapat dikonfirmasi dengan pengujian ulang sampel plasma asli dalam duplikat pada QF-CMV ELISA. Jika pengujian ulang salah satu atau kedua replikat positif, masing-masing harus dianggap sebagai reaktif pengujian.

‡ Lihat “Panduan Pemecahan Masalah” (halaman 41) untukkemungkinan penyebabnya.

Dalam studi klinis (1), hasil tak pasti di antara pasien transplantasi organ padat, saat seorang donor reaktif untuk CMV tetapi kontrol Mitogen di bawah 0,5 IU/ml, telah terbukti relevan secara klinis. Pasien tersebut memiliki risiko tertinggi atas berkembangnya CMV.

§ Dalam studi klinis, kurang dari 0,25% subjek memiliki kadar IFN-γ sebesar >8,0 IU/ml untuk nilai Nil.

Catatan: Kadar IFN-γ terukur harus digunakan berkaitan dengan gejala klinis, riwayat medis, dan evaluasi diagnostik lain saat menetapkan respons imun terhadap antigen CMV. QF-CMV bukan pengujian untuk menentukan infeksi CMV dan tidak boleh digunakan untuk meniadakan infeksi CMV.

Batasan

Hasil pengujian QuantiFERON-CMV harus digunakan berkaitan dengan riwayat epidemiologis, kondisi medis terkini, dan evaluasi diagnostik lain setiap pasien.

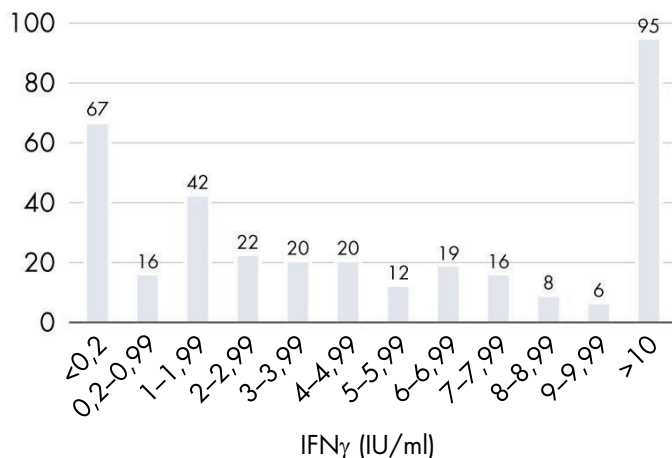
Hasil yang tidak dapat diandalkan atau tidak pasti dapat terjadi karena:

- Penyimpangan dari prosedur dijelaskan dalam QuantiFERON-CMV ELISA Package Insert
- Kadar IFN- γ yang berlebihan dalam tabung kontrol
- Lebih dari 16 jam antara pengambilan spesimen darah dengan inkubasi pada 37 °C.

Nilai yang Diharapkan

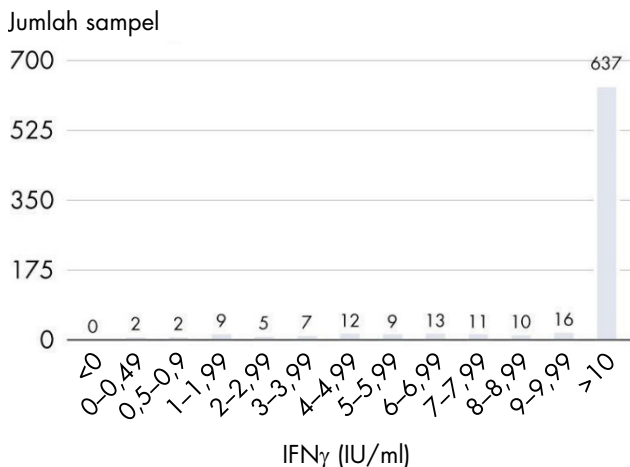
Nilai IFN- γ yang diperkirakan menggunakan QuantiFERON-CMV didapatkan dengan menguji 591 sampel dari pasien yang sehat. 343 sampel teruji seropositif dan 248 sampel teruji seronegatif terhadap CMV IgG. Status serologi CMV belum diketahui saat pengujian QF-CMV. Dalam 248 sampel dari pasien seronegatif CMV, 100% (248/248) sampel yang diuji bersifat nonreaktif pada QF-CMV ELISA menghasilkan respons IFN- γ <0,2 IU/ml ke tabung Antigen CMV (dikurangi Nil). Penyebaran respons IFN- γ terhadap tabung Antigen CMV (dikurangi Nil) untuk 343 pasien CMV seropositif ditampilkan (Gambar 2).

Jumlah sampel



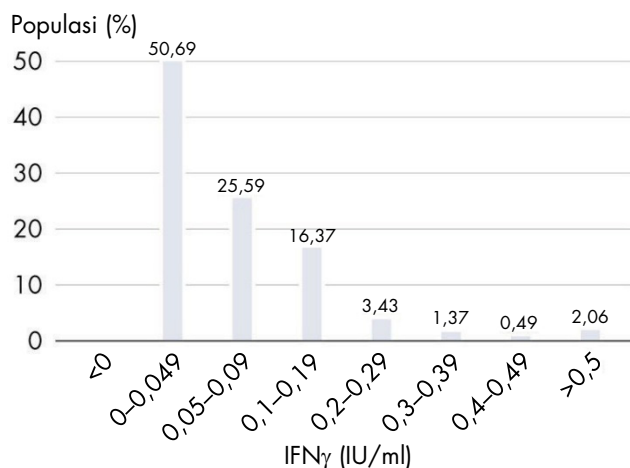
Gambar 2. Penyebaran respons QF-CMV IFN- γ (dikurangi Nil) pada pasien seropositif yang sehat (n = 343).

Penyebaran respons IFN- γ terhadap Mitogen (dikurangi Nil) ditentukan menggunakan 733 sampel dari pasien dewasa yang sehat menggunakan QF-CMV ELISA, terlepas dari serologi CMV IgG (Gambar 3). Hasil Mitogen (dikurangi Nil) yang kurang dari 0,5 IU/ml mengindikasikan kegagalan pengujian atau pasien mengalami gangguan sistem imun (immunocompromised). Dalam populasi yang sehat, hanya 2/733 hasil masuk dalam kategori ini.



Gambar 3. Penyebaran respons Mitogen-IFN- γ (dikurangi Nil) pada pasien yang sehat (n = 733).

Penyebaran respons IFN- γ terhadap tabung Nil ditentukan menggunakan 1020 sampel plasma dari pasien yang sehat menggunakan QF-CMV ELISA, terlepas dari serologi CMV IgG (Gambar 4).



Gambar 4. Penyebaran respons Nil IFN- γ pada pasien yang sehat (n = 1020) ditampilkan sebagai persentase populasi.

Karakteristik Kinerja

Kinerja klinis

Ambang batas pengujian untuk mendeteksi paparan CMV sebelumnya menggunakan QF-CMV ditentukan setelah analisis hasil dari sekelompok pasien yang sehat (n = 223) di mana hasil QF-CMV dibandingkan dengan hasil serologis CMV IgG. Analisis ROC menetapkan bahwa ambang batas pengujian 0,04 IU/ml (setelah pengurangan Nil) memberikan nilai prediktif positif dan negatif optimal untuk QF-CMV (area di bawah kurva = 0,9679 [95%CI: 0,9442–0,9915, p<0,0001]), dengan demikian mewakili ambang batas di mana uji kadar ini berkinerja paling efektif sesuai dengan tujuan penggunaannya pada populasi yang sehat.

Kinerja uji kadar QF-CMV dibandingkan dengan pengujian serologi SeraQuest™ CMV IgG (Quest International). Uji kadar QF-CMV menunjukkan 95% (294/310 orang) kesesuaian dengan pengujian serologi CMV IgG pada pasien yang sehat, serta tidak ada satu pun dari 149 donor seronegatif menunjukkan suatu reaktivitas pada QF-CMV. 145 dari 161 donor seropositif menunjukkan respons reaktif QF-CMV. Keseluruhan kesesuaian positif adalah 90% dengan nilai kesesuaian negatif sebesar 100%. Tingkat kesesuaian pada pasien yang sehat antara respons QF-CMV dan status serologi CMV IgG ditampilkan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Kesesuaian antara pengujian serologi QuantiFERON-CMV dengan CMV IgG pada pasien yang sehat

		Serologi CMV		Total
		Positive (Positif)	Negative (Negatif)	
QuantiFERON-CMV	Reaktif	145	0	145 (46,8%)
	Nonreaktif	16	149	165 (53,2%)
	Total	161 (51,9%)	149 (48,1%)	310 (100%)

Ambang batas uji kadar

Ambang batas pengujian klinis yang dianjurkan untuk uji kadar ini adalah 0,2 IU/ml dalam tabung Antigen CMV (dikurangi Nil), walaupun ambang batas yang berbeda dapat divalidasi untuk pengaturan klinis yang berbeda.

Studi Klinis

Karena tidak ada standar pasti untuk mengonfirmasi atau meniadakan diagnosis infeksi cytomegalovirus, perkiraan sensitivitas dan kekhususan untuk QF-CMV tidak dapat dievaluasi secara praktis. Kekhususan dan sensitivitas QF-CMV dihitung dengan mengevaluasi tingkat kesesuaian antara respons QF-CMV dengan status serologi CMV IgG pasien yang sehat.

Kekhususan QF-CMV dihitung dengan mengevaluasi nilai positif palsu (respons reaktif QF-CMV) pada sampel donor yang sehat tanpa adanya paparan CMV sebelumnya (pasien seronegatif CMV IgG). Sensitivitas dihitung dengan mengevaluasi responsif QF-CMV pada sampel donor yang sehat dengan adanya paparan CMV sebelumnya (pasien seropositif CMV IgG). QF-CMV menggunakan sejumlah besar epitop khusus CMV dari berbagai protein CMV, dengan demikian memberikan cakupan luas pada populasi dengan beragam haplotipe HLA Kelas I (sekitar 98% populasi). Karena haplotipe HLA pasien yang diuji terhadap serologi CMV belum diketahui, sebagian kecil pasien positif serologi diperkirakan tidak responsif terhadap QF-CMV Blood Collection Tubes.

Spesifisitas

Dalam sebuah studi 591 sampel dari pasien yang sehat, tidak ada hasil QF-CMV positif palsu terdeteksi pada pasien yang diuji seronegatif untuk CMV IgG, dengan 248/248 pengujian sampel nonreaktif pada QF-CMV ELISA dan negatif pada pengujian serologi CMV IgG. Oleh karena itu, hasil yang didapatkan menggunakan QF-CMV dan pengujian serologi CMV IgG menunjukkan kesesuaian 100%.

Dalam semua evaluasi kekhususan lain yang dilakukan pada penerima transplantasi organ padat (1–8), penerima transplantasi sel punca hematopoietik (9,10), dan pasien yang terinfeksi HIV (11), kesesuaian antara QF-CMV dengan serologi CMV IgG juga menunjukkan hasil 100%.

Sensitivitas

Dalam sebuah studi yang dilakukan pada 343 sampel dari pasien yang sehat untuk menguji seropositif CMV IgG, tingkat kesesuaian antara hasil respons QF-CMV dengan serologi CMV IgG adalah 80,5% dengan 276/343 pengujian sampel reaktif terhadap QF-CMV dan positif terhadap pengujian serologi CMV IgG. Ketidakesesuaian yang diamati mungkin disebabkan oleh serologi CMV positif palsu, atau tidak adanya tipe HLA responsif pada individu yang diuji.

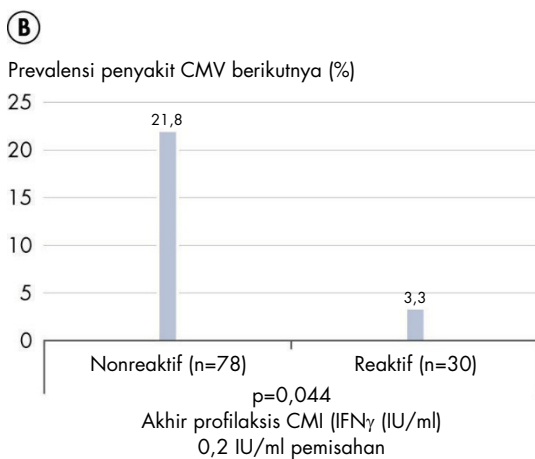
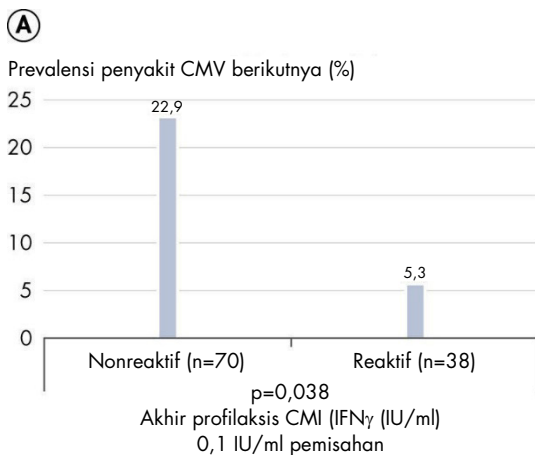
Tingkat kesesuaian pada evaluasi sensitivitas yang dilakukan pada penerima transplantasi organ padat (1–8), penerima transplantasi sel punca hematopoietik (9, 10), dan pasien yang terinfeksi HIV (11) telah terbukti lebih rendah dan dapat disebabkan oleh serologi CMV positif palsu, tidak adanya tipe HLA responsif pada pasien yang diuji, atau tidak adanya sel T reaktif pada pasien karena mengalami immunosupresi.

Studi yang menyoroti manfaat klinis

Baik serologi CMV IgG maupun QF-CMV menjelaskan tujuan penggunaannya sebagai pendeteksi imunitas terhadap CMV. Dalam bidang transplantasi, serologi CMV digunakan secara luas sebelum transplantasi untuk mengetahui risiko komplikasi CMV yang timbul pada penerima pasca-transplantasi, tetapi memiliki nilai terbatas pasca-transplantasi. Secara alternatif, QF-CMV dapat digunakan pada penerima transplantasi untuk mengukur tingkat imunitas CMV pada pasien yang memiliki risiko gejala infeksi dan/atau penyakit CMV yang berkembang akibat immunosupresi (12–15).

Sejumlah studi klinis yang telah dipublikasikan pada berbagai kelompok transplantasi telah menunjukkan manfaat QuantiFERON-CMV (1–11, 15, 16).

Dalam sebuah studi besar pada 108 penerima transplantasi organ padat (4), pasien dengan hasil QF-CMV reaktif pada akhir profilaksis anti-CMV memiliki angka penyakit CMV berikutnya yang lebih rendah secara signifikan (3,3% atau 1/30; menggunakan ambang batas 0,2 IU/ml) dibandingkan dengan pasien yang memiliki hasil QF-CMV nonreaktif (21,8% atau 17/78, $p = 0,044$) (Gambar 5).



Gambar 5. Nilai penyakit CMV serangan lambat (late-onset) pada pasien dengan hasil QuantiFERON-CMV reaktif dibandingkan dengan hasil QuantiFERON-CMV nonreaktif di akhir profilaksis. Data berikut ini ditemukan dalam Kumar et al. (4).

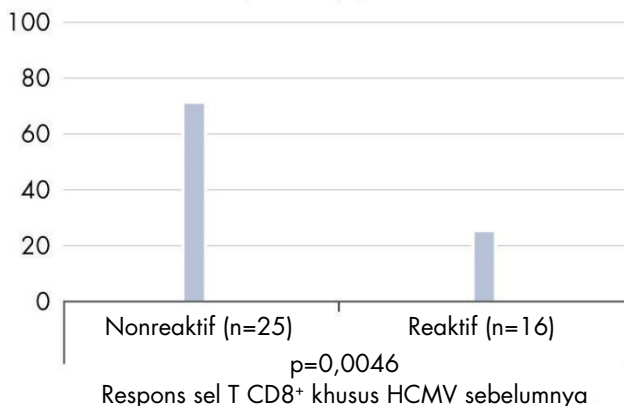
Selain itu, penerima transplantasi seronegatif CMV yang menerima organ dari donor positif CMV (D+R-) dengan hasil QF-CMV reaktif saat akhir profilaksis, sering kali tetap terbebas dari penyakit CMV dalam waktu yang lebih lama, menandakan bahwa QF-CMV dapat digunakan untuk mengidentifikasi pasien yang berisiko terhadap penyakit CMV serangan lambat yang berkembang.

Studi ini juga menyoroti bahwa dalam kelompok pasien transplantasi dengan risiko tertinggi terkena penyakit CMV (D+/R-), hasil reaktif sewaktu-waktu pasca-profilaksis dikaitkan dengan peluang lebih tinggi untuk tetap bebas dari penyakit CMV.

Dalam sebuah studi terhadap 37 pasien transplantasi organ padat (6), penilaian respons sel T CD8⁺ khusus CMV oleh QF-CMV membantu prediksi pembersihan virus spontan dibandingkan dengan perkembangan penyakit CMV, setelah peningkatan viremia CMV. Dalam studi ini, sebanyak 24/26 pasien (92,3%) dengan hasil reaktif QF-CMV (menggunakan ambang batas uji IFN- γ $\geq 0,2$ IU/ml), secara spontan membersihkan virus CMV sementara hanya 5/11 (45,5%) pasien dengan hasil nonreaktif QF-CMV yang memiliki hasil yang sama.

Sebuah studi terhadap 67 penerima transplantasi paru-paru yang menilai episode viremia CMV pasca-transplantasi (7), mengamati bahwa 18/25 (72%) episode viremia CMV didahului oleh hasil nonreaktif QF-CMV, dibandingkan dengan 4/16 (25%) episode yang didahului oleh respons reaktif QF-CMV (uji pasti Fisher, $p = 0,0046$; Gambar 6).

Episode DNAemia HCMV dengan muatan virus >1000 tiruan/ml (%)



Gambar 6. Analisis statistik respons sel T CD8⁺ khusus CMV seperti yang terdeteksi pada QuantiFERON-CMV dan perkembangan viremia CMV (uji pasti Fisher, p=0,0046). Data berikut ini ditemukan di Weseslindtner et al (7).

Dalam sebuah studi prospektif multipusat besar pada 127 donor seropositif CMV, pasien penerima transplantasi organ padat seronegatif CMV (8), semua yang menerima profilaksis antivirus menunjukkan bahwa pasien dengan hasil QF-CMV reaktif (menggunakan ambang batas pengujian 0,1 IU/ml) sewaktu-waktu setelah akhir profilaksis anti-CMV memiliki angka penyakit serangan lambat yang lebih rendah secara signifikan 12 bulan pasca-transplantasi (6,4%), dibandingkan dengan pasien yang memiliki hasil QF-CMV nonreaktif (22,2%) dan hasil tak pasti (58,3%, $p < 0,001$). Saat mengklasifikasikan hasil tak pasti seperti juga "nonreaktif", kejadian penyakit CMV berikutnya adalah 6,4% vs. 26,8%, $p = 0,024$. Nilai prediktif positif dan negatif QF-CMV untuk perlindungan dari penyakit CMV masing-masing dilaporkan sebesar 0,90 (95% CI 0,74–0,98) dan 0,27 (95% CI 0,18–0,37). Studi ini menemukan bahwa QF-CMV dapat digunakan untuk memprediksi apakah pasien memiliki risiko rendah, sedang, atau tinggi terhadap perkembangan penyakit CMV berikutnya setelah profilaksis.

Dalam sebuah studi prospektif pada 55 penerima transplantasi organ padat (8) di mana dianalisis hubungan antara hasil QF-CMV sebelum transplantasi dengan episode replikasi CMV pasca-transplantasi, ditemukan bahwa kejadian replikasi CMV pasca-transplantasi yang lebih tinggi tampak pada penerima seropositif CMV dengan hasil QF-CMV sebelum transplantasi nonreaktif (menggunakan ambang batas pengujian 0,2 IU/ml) (7/14 atau 50%), dibandingkan dengan penerima seropositif CMV dengan hasil QF-CMV sebelum transplantasi reaktif (4/30 atau 13,3%, $p = 0,021$).

Studi ini menemukan bahwa penerima dengan respons QF-CMV pra-transplantasi nonreaktif yang menerima organ dari donor seropositif CMV berisiko replikasi CMV sepuluh kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan penerima dengan respons QF-CMV pra-transplantasi reaktif (OR yang disesuaikan 10,49, 95% CI 1,88–58,46). Oleh karena itu, uji kadar QF-CMV pra-transplantasi dapat berguna dalam memprediksi risiko replikasi CMV pasca-transplantasi dan dengan demikian memungkinkan individualisasi penanganan infeksi CMV setelah transplantasi organ padat.

Sejumlah studi lain yang meneliti pendeteksian respons sel T CD8⁺ khusus CMV pada QF-CMV dalam suatu kohort penerima transplantasi telah dilakukan (2, 3, 5, 9, 10, 15, 16) atau saat ini sedang berlangsung di seluruh dunia.

Pedoman konsensus internasional mengenai pengelolaan cytomegalovirus dalam transplantasi organ padat

Pentingnya pemantauan imun khusus CMV telah diketahui dan dipublikasikan dalam *Updated International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid Organ Transplantation* (12) (Pedoman Konsensus Internasional Terbaru Mengenai Pengelolaan Cytomegalovirus dalam Transplantasi Organ Padat). Pedoman internasional ini, yang dikembangkan oleh panel ahli tentang CMV dan transplantasi organ padat, yang disusun oleh Bagian Penyakit Menular dari The Transplantation Society, mewakili pedoman konsensus berdasarkan bukti dan pendapat ahli tentang pengelolaan CMV termasuk: diagnostik, imunologi, pencegahan dan pengobatan.

Pedoman ini menyimpulkan bahwa “Pemantauan imun terhadap respons sel T khusus CMV dapat memprediksi individu yang berisiko terkena penyakit CMV pasca-transplantasi dan mungkin berguna dalam memandu profilaksis dan terapi pencegahan” (12).

Selain itu, pedoman ini juga memberikan rekomendasi mengenai kualitas uji kadar pemantauan imun yang ideal, yang meliputi:

- Kemampuan untuk menilai kuantitas dan fungsi sel T CD4⁺ dan CD8⁺ penerima transplantasi
- Kemampuan untuk mengukur IFN- γ
- Mudah dilakukan, hemat, dan dapat diperbanyak
- Memiliki waktu penyelesaian yang sangat cepat
- Memungkinkan spesimen untuk diangkut dengan mudah ke laboratorium rujukan khusus

Secara kasatmata, QF-CMV memenuhi semua kriteria yang ditentukan oleh pedoman ini dan mewakili satu-satunya uji kadar pemantauan imun terstandardisasi yang mampu mendeteksi IFN- γ , khususnya untuk CMV.

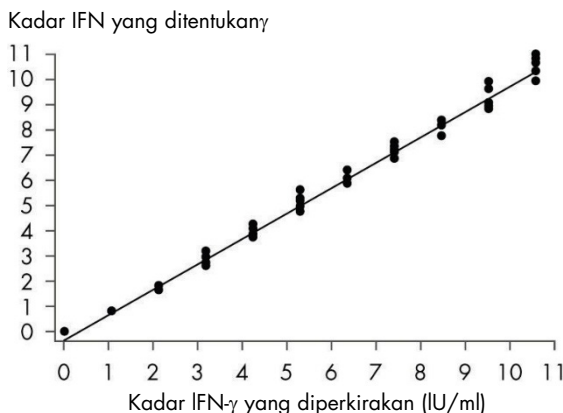
Karakteristik Kinerja Uji Kadar

QF-CMV ELISA menggunakan rekombinan IFN- γ standar manusia, yang telah diuji kadar terhadap sediaan IFN- γ (Ref NIH: Gxg01-902-535). Hasil untuk sampel pengujian dilaporkan dalam Satuan Internasional (IU) tergantung pada kurva standar yang disiapkan oleh pengujian pengenceran standar sekunder yang tersedia dengan kit.

Antibodi heterofil (misalnya, manusia anti-tikus) dalam serum atau plasma pasien tertentu diketahui menyebabkan gangguan pada imunoasai. Efek antibodi heterofil pada QF-CMV ELISA dikurangi dengan menambahkan serum tikus normal ke Pengencer Hijau dan menggunakan fragmen antibodi monoklonal F(ab')₂ sebagai antibodi penangkap IFN- γ yang dilapisi pada sumuran pelat mikro.

Batas deteksi QF-CMV ELISA adalah 0,065 IU/ml, dan tidak ada bukti efek kait dosis-tinggi (prozona) dengan konsentrasi IFN- γ hingga 10.000 IU/ml. Antibodi QF-CMV ELISA terbukti tidak bereaksi menyilang dengan sitokin yang diuji, termasuk IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL10, dan IL12.

QF-CMV ELISA telah terbukti linear dengan meletakkan lima replikat 11 kelompok plasma konsentrasi IFN- γ yang diketahui secara acak pada pelat ELISA. Garis regresi linear memiliki kemiringan $1,002 \pm 0,011$ dan koefisien korelasi 0,99 (Gambar 7).



Gambar 7. Profil linearitas QF-CMV ELISA ditentukan dari pengujian lima replikat 11 sampel plasma konsentrasi IFN- γ yang diketahui.

Reproduksibilitas QF-CMV ELISA diperkirakan dengan menguji 20 sampel plasma dengan berbagai konsentrasi IFN- γ dalam tiga replikat, di tiga laboratorium, dalam tiga hari secara tidak berurutan, oleh tiga operator. Dengan demikian, masing-masing sampel diuji 27 kali, dalam sembilan pelaksanaan uji kadar independen. Satu sampel merupakan kontrol Nil dan memiliki konsentrasi IFN- γ yang dihitung 0,08 (95% CI 0,07–0,09) IU/ml. Dari 19 sampel plasma sisa, rentang konsentrasinya adalah 0,33 (95% CI 0,31–0,34) hingga 7,7 IU/ml (95% CI 7,48–7,92).

Ketidaktepatan dalam rangkaian atau intra-uji kadar diperkirakan dengan merata-rata %CV untuk setiap plasma pengujian yang mengandung IFN- γ dari setiap pelat yang diproses ($n = 9$) dan berkisar dari 4,1 hingga 9,1%CV. Rata-rata dalam rangkaian %CV ($\pm 95\%$ CI) adalah 6,6% \pm 0,6%. Plasma IFN- γ nol rata-rata memiliki 14,1%CV.

Ketidaktepatan total atau antar-uji kadar ditentukan dengan membandingkan 27 konsentrasi IFN- γ yang dihitung untuk setiap sampel plasma dan berkisar dari 6,6 hingga 12,3%CV. Keseluruhan rata-rata %CV (\pm 95% CI) adalah 8,7% \pm 0,7%. Plasma IFN- γ nol menunjukkan 26,1%CV. Tingkat variasi ini sudah diperkirakan karena konsentrasi IFN- γ yang dihitung rendah dan variasi di sekitar rendahnya perkiraan konsentrasi akan lebih besar dari variasi untuk konsentrasi yang lebih tinggi.

Informasi Teknis

Hasil yang tidak tentu

Hasil tak pasti dapat terkait dengan kondisi imun pasien yang diuji, tetapi juga dapat terkait dengan sejumlah faktor teknis:

- Lebih dari 16 jam sejak pengambilan darah ke inkubasi pada suhu 37 °C
- Penyimpanan darah berada di luar rentang suhu yang dianjurkan (22 °C ± 5 °C)
- Pencampuran tabung penampung darah yang kurang memadai
- Pencucian pelat ELISA yang tidak selesai

Jika diduga timbul masalah teknis pada pengambilan atau penanganan sampel darah, ulangi seluruh pengujian QF-CMV dengan spesimen darah baru. Pengulangan pengujian ELISA pada plasma yang distimulasi dapat dilakukan jika diduga ada penyimpangan prosedural dengan pengujian ELISA. Hasil tak pasti (dari nilai Mitogen yang rendah) tidak diharapkan untuk berubah pada pengulangan, kecuali terdapat kesalahan pada pengujian ELISA.

Sampel plasma membeku

Jika gumpalan fibrin muncul dengan penyimpanan sampel plasma jangka panjang, sentrifugasi sampel untuk mengendapkan material gumpalan dan memudahkan pemipetan plasma.

Panduan Pemecahan Masalah

Panduan pemecahan masalah ini dapat berguna dalam memecahkan masalah yang mungkin muncul. Untuk informasi lebih lanjut, lihat juga Informasi Teknis yang tersedia di www.QuantiFERON.com. Untuk informasi kontak, lihat sampul belakang.

Komentar dan saran

Pembacaan densitas optik rendah untuk standar	
a) Pengenceran standar mengalami kesalahan	Pastikan pengenceran Kit Standar disediakan dengan tepat sesuai QF-CMV ELISA Package Insert.
b) Penggunaan pipet mengalami kesalahan	Pastikan pipet dikalibrasi dan digunakan sesuai dengan petunjuk produsen.
c) Suhu inkubasi terlalu rendah	Inkubasi ELISA harus dilakukan pada suhu ruang ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$).
d) Waktu inkubasi terlalu singkat	Inkubasi pelat dengan konjugat, standar, dan sampel harus selama 120 ± 5 menit. Larutan Enzim Substrat diinkubasi pada pelat selama 30 menit.
e) Filter pembaca pelat yang tidak tepat digunakan	Pelat harus menunjukkan 450 nm dengan filter referensi antara 620 hingga 650 nm.
f) Reagen terlalu dingin	Semua reagen, kecuali Konjugat Konsentrat 100x, harus dibiarkan dalam suhu ruang sebelum memulai uji kadar. Hal ini memerlukan waktu sekitar 1 jam.
g) Kit/komponen telah kedaluwarsa	Pastikan kit digunakan sebelum tanggal kedaluwarsa. Pastikan Standar yang direkonstitusi dan Konjugat Konsentrat 100x digunakan dalam waktu 3 bulan setelah tanggal rekonstitusi.

Pengembangan warna nonspesifik

a) Pencucian pelat yang belum selesai	Cuci pelat setidaknya enam kali dengan 400 μl /sumuran dapar pencuci. Mungkin diperlukan lebih dari enam siklus pencucian, tergantung pada pencuci yang digunakan. Waktu rendam sekurangnya 5 detik antar siklus harus diterapkan.
b) Lintas kontaminasi sumuran ELISA	Berhati-hatilah saat menggunakan pipet dan mencampur sampel untuk mengurangi risiko.
c) Kit/komponen telah kedaluwarsa	Pastikan kit digunakan sebelum tanggal kedaluwarsa. Pastikan Standar yang direkonstitusi dan Konjugat Konsentrat 100x digunakan dalam waktu 3 bulan setelah tanggal rekonstitusi.

Komentar dan saran

d) Larutan Enzim Substrat terkontaminasi	Buang substrat jika terdapat perubahan warna biru. Pastikan penampung reagen bersih digunakan.
e) Pencampuran plasma dalam tabung sentrifugasi sebelum diambil	Pastikan sampel plasma diambil secara hati-hati dari atas gel tanpa menyedot dan mengeluarkannya, berhati-hatilah untuk tidak mengganggu material pada permukaan gel.

Latar belakang tinggi

a) Pencucian pelat yang belum selesai	Cuci pelat setidaknya enam kali dengan 400 µl/sumuran dapar pencuci. Mungkin diperlukan lebih dari enam siklus pencucian, tergantung pada pencuci yang digunakan. Waktu rendam sekurangnya 5 detik antar siklus harus diterapkan.
b) Suhu inkubasi terlalu tinggi	Inkubasi ELISA harus dilakukan pada suhu ruang ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$).
c) Kit/komponen telah kedaluwarsa	Pastikan kit digunakan sebelum tanggal kedaluwarsa. Pastikan Standar yang direkonstitusi dan Konjugat Konsentrat 100x digunakan dalam waktu 3 bulan setelah tanggal rekonstitusi.
d) Larutan Enzim Substrat terkontaminasi	Buang substrat jika terdapat perubahan warna biru. Pastikan penampung reagen bersih digunakan.

Kurva standar dan variabilitas duplikat nonlinear

a) Pencucian pelat yang belum selesai	Cuci pelat setidaknya enam kali dengan 400 µl/sumuran dapar pencuci. Mungkin diperlukan lebih dari enam siklus pencucian, tergantung pada pencuci yang digunakan. Waktu rendam sekurangnya 5 detik antar siklus harus diterapkan.
b) Pengenceran standar mengalami kesalahan	Pastikan pengenceran kit standar disediakan dengan tepat sesuai Brosur Kemasan.
c) Pencampuran yang tidak sempurna	Campur reagen secara merata dengan inversi atau vorteks ringan sebelum ditambahkan ke pelat.
d) Teknik penggunaan pipet yang tidak sesuai atau mengalami gangguan saat pengaturan uji kadar	Penambahan sampel dan standar harus dilakukan secara terus-menerus. Semua reagen harus disiapkan sebelum memulai uji kadar.

Informasi produk dan panduan teknis tersedia secara gratis dari QIAGEN, via distributor Anda, atau dengan mengunjungi www.QuantiFERON.com.















Referensi

1. Manuel, O., et al. (2013) Assessment of cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity for the prediction of cytomegalovirus disease in high-risk solid-organ transplant recipients: a multicenter cohort study. *Clin. Infect. Dis.* 56, 817.
2. Walker, S., et al. (2007) Ex vivo monitoring of human cytomegalovirus-specific CD8⁺ T-cell responses using QuantiFERON-CMV. *Transpl. Infect. Dis.* 9, 165.
3. Westall, G.P., et al. (2008) Linking CMV serostatus to episodes of CMV reactivation following lung transplantation by measuring CMV reactivation following lung transplantation by measuring CMV-specific CD8⁺ T cell immunity. *Am. J. Transplant.* 8, 1749.
4. Kumar, D., et al. (2009) Cell-mediated immunity to predict cytomegalovirus disease in high-risk solid organ transplant recipients. *Am. J. Transpl.* 9, 1214.
5. Lachmanova, A.I., et al. (2010) QuantiFERON-CMV test in prediction of cytomegalovirus infection after kidney transplantation. *Transpl. Proc.* 42, 3574.
6. Lisboa, L.F., et al. (2012) Clinical utility of cytomegalovirus cell-mediated immunity in transplant recipients with cytomegalovirus viremia. *Transplant.* 93, 195.
7. Weseslindtner, L., et al. (2012) Prospective analysis of human cytomegalovirus DNAemia and specific CD8⁺ T-cell responses in lung transplant recipients. *Am. J. Transplant.* 12, 2172.
8. Cantisán, S., et al. (2013) Pre-transplant interferon- γ secretion by CMV-specific CD8⁺ T cells informs the risk of CMV replication after transplantation. *Am. J. Transplant.* 13, 738.
9. Fleming, T., et al. (2010) Ex vivo monitoring of human cytomegalovirus-specific CD8⁺ T-cell responses using the QuantiFERON-CMV assay in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients attending an Irish Hospital. *J. Med. Virol.* 82, 433.
10. Clari, M.A., et al. (2012) Performance of the QuantiFERON-cytomegalovirus (CMV) assay for detection and estimation of the magnitude and functionality of the CMV-specific interferon-producing CD8⁺ T-cell response in allogeneic stem cell transplant recipients. *Clin. Vaccine Immunol.* 19, 791.

-
11. Singh, K.P., et al. (2007) Human cytomegalovirus (CMV)-specific CD8⁺ T-cell responses are reduced in HIV-infected individuals with a history of CMV disease despite CD4⁺ T-cell recovery. *Clin. Immunol.* 124, 200.
 12. Kotton, C.N., et al. (2013) Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. *Transplant.* 96, 333.
 13. Kotton, C.N. (2010) Management of cytomegalovirus infection in solid organ transplantation. *Nat. Rev. Nephrol.* 6, 711.
 14. Torre-Cisneros, J., et al. (2011). GESITRA-SEIMC/REIPI recommendations for the management of cytomegalovirus infection in solid-organ transplant patients. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 29, 735.
 15. Giulieri, S., Manuel, O. (2011) QuantiFERON-CMV assay for the assessment of cytomegalovirus cell-mediated immunity. *Expert. Rev. Mol. Diagn.* 11, 17.
 16. Crough, T., Khanna, R. (2009). Immunobiology of human cytomegalovirus: from bench to bedside. *Clin. Microbiol. Rev.* 22, 76.

Simbol

Simbol berikut ini mungkin terdapat di kemasan dan label:

Simbol	Definisi simbol
	Berisi reagen yang cukup untuk reaksi <N>
	Gunakan sebelum
	Tanda CE
	Perangkat medis diagnostik in vitro
	Nomor katalog
	Nomor lot
	Nomor materi
	Nomor Barang Perdagangan Global
	Batas suhu
	Jangan gunakan kembali
	Jauhkan dari sinar matahari
	Baca petunjuk penggunaan
	Produsen
	Perwakilan resmi di Masyarakat Eropa

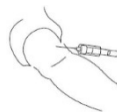
Informasi Kontak

Untuk bantuan teknis dan informasi lebih lanjut, silakan lihat Pusat Dukungan Teknis kami di www.qiagen.com/Support, hubungi 00800-22-44-6000, atau hubungi salah satu Departemen Layanan Teknis QIAGEN atau distributor lokal (lihat sampul belakang atau kunjungi www.qiagen.com).

Ringkasan Prosedur Pengujian ELISA

Tahap 1: Inkubasi darah

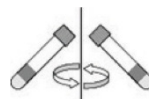
1. Ambil darah pasien ke dalam tabung penampung darah dan campur dengan mengocoknya sepuluh (10) kali dengan cukup kuat guna memastikan bahwa seluruh bagian dalam permukaan tabung telah terlapisi darah untuk melarutkan antigen pada dinding tabung.



2. Inkubasi tabung secara tegak lurus pada suhu $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 16 hingga 24 jam.



3. Setelah inkubasi, sentrifugasi tabung selama 15 menit pada 2000–3000 RCF (*g*) untuk memisahkan plasma dan sel darah merah.



4. Setelah sentrifugasi, hindari menambah atau mengurangi penggunaan pipet atau mencampur plasma dengan cara apa pun sebelum mengambilnya. Selalu berhati-hatilah agar tidak mengacaukan material pada permukaan gel.



Tahap 2: IFN- γ ELISA

1. Seimbangkan komponen ELISA, kecuali Konjugat 100x Konsentrat, pada suhu ruang selama setidaknya 60 menit.

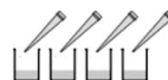


2. Rekonstitusi Kit Standar hingga 8,0 IU/ml dengan air distilasi atau air deionisasi. Siapkan empat (4) pengenceran standar.

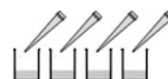


3. Rekonstitusi Konjugat 100x Konsentrat teriofilisasi dengan air distilasi atau air deionisasi.

4. Siapkan konjugat berdaya kerja dalam Pengencer Hijau dan tambahkan 50 µl ke semua sumuran.



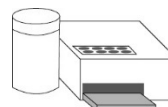
5. Tambahkan 50 µl sampel plasma pengujian dan 50 µl standar pada sumuran yang sesuai. Campur menggunakan pengocok.



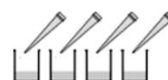
6. Inkubasi selama 120 menit pada suhu ruang.



7. Cuci sumuran sekurangnya 6 kali dengan dapar pencucian sebanyak 400 µl/sumuran.



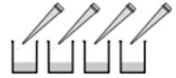
8. Tambahkan Larutan Enzim Substrat sebanyak 100 µl ke sumuran. Campur menggunakan pengocok.



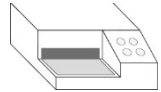
9. Inkubasi selama 30 menit pada suhu ruang.



10. Tambahkan Larutan Penghenti Enzim sebanyak 50 μ l ke semua sumuran. Campur menggunakan pengocok.



11. Hasil pembacaan pada 450 nm dengan filter referensi 620 nm hingga 650 nm.



12. Analisislah hasil tersebut.



Riwayat Revisi Buku Pegangan

Dokumen	Perubahan	Tanggal
L1075110-R06	Bahan yang diperlukan tetapi tidak disediakan, menambahkan tutup pelat, halaman 9	Oktober 2019

Halaman ini sengaja dikosongkan

Halaman ini sengaja dikosongkan

Merek Dagang: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (QIAGEN Group); Excel®, Microsoft® (Microsoft); ProClin® (Rohm and Haas Co.); SeraQuest™ (Quest International, Inc.).

Perjanjian Lisensi Terbatas QuantiFERON-CMV ELISA

Dengan menggunakan produk ini, setiap pembeli atau pengguna produk menyetujui ketentuan berikut:

1. Produk hanya boleh digunakan sesuai dengan protokol yang disediakan bersama produk dan buku pegangan ini dan hanya digunakan dengan komponen yang terdapat di dalam panel saja. QIAGEN tidak memberikan lisensi apa pun berdasarkan kekayaan intelektualnya untuk menggunakan atau menggabungkan komponen yang tersedia dengan panel ini dengan komponen apa pun yang tidak termasuk dalam panel ini kecuali jika dijelaskan dalam protokol yang disediakan dengan produk, buku pegangan ini, dan protokol tambahan yang tersedia di www.qiagen.com. Beberapa protokol tambahan ini telah disediakan oleh pengguna QIAGEN untuk pengguna QIAGEN. Protokol-protokol tersebut belum diuji secara menyeluruh atau dioptimalkan oleh QIAGEN. QIAGEN tidak memberikan garansi atau menjamin bahwa pihaknya tidak melanggar hak pihak ketiga.
2. Selain daripada lisensi yang dinyatakan secara tegas, QIAGEN tidak membuat jaminan bahwa kit ini dan/atau penggunaannya tidak melanggar hak-hak pihak ketiga.
3. Panel ini serta komponennya dilisensikan untuk penggunaan satu kali dan tidak boleh digunakan kembali, diperbarui, atau dijual kembali.
4. QIAGEN secara khusus menyanggah segala lisensi lain, yang dinyatakan secara tegas maupun tersirat selain yang dinyatakan secara tegas di atas.
5. Pembeli dan pengguna panel setuju untuk tidak mengambil atau mengizinkan orang lain mengambil langkah apa pun yang dapat menyebabkan atau mendukung tindakan apa pun yang dilarang di atas. QIAGEN dapat memberlakukan larangan Perjanjian Lisensi Terbatas ini di Pengadilan mana pun, dan akan memulihkan semua biaya investigasi dan Pengadilannya, termasuk biaya pengacara, dalam tindakan apa pun untuk menegakkan Perjanjian Lisensi Terbatas ini atau hak kekayaan intelektualnya yang terkait dengan panel dan/atau komponennya.

Untuk persyaratan lisensi yang diperbarui, lihat www.qiagen.com.

© 2019 QIAGEN, hak cipta dilindungi undang-undang.

