

2014 年 12 月

# artus<sup>®</sup> BK Virus RG PCR Kit 使用手冊



24 (目錄編號 4514263)



96 (目錄編號 4514265)

版本 1

**IVD**

定量體外診斷

可供與 Rotor-Gene<sup>®</sup> Q 儀器搭配使用

**CE**

**REF**

4514263, 4514265

**HB**

1056823TW



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden. 德國

**R4**

**MAT**

1056823EN



Sample & Assay Technologies

## **QIAGEN Sample and Assay Technologies**

QIAGEN 是創新性樣本製備與檢測技術的領先供應商，可分離和檢測任何生物樣本的內含物。我們先進的高品質產品和服務可在從樣本製備到取得結果的整個流程中提供保障，確保取得成功。

**QIAGEN** 在下列領域設立了標準：

- DNA、RNA 和蛋白質純化
- 核酸和蛋白質檢測
- microRNA 研究和 RNAi
- 樣本製備與檢測技術自動化

我們的使命是幫助您取得卓越的成功和突破。關於更多資訊，請瀏覽 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)。

# 目錄

預期用途	<b>5</b>
摘要與說明	<b>5</b>
病原體資訊	5
程序原理	5
提供的材料	<b>6</b>
試劑組內容物	6
需要但並未提供的材料	<b>7</b>
警告和注意事項	<b>7</b>
一般注意事項	8
試劑儲存與處理	<b>8</b>
程序	<b>9</b>
DNA 分離	9
內部對照劑	9
操作程序：PCR 和資料分析	10
結果判讀	<b>16</b>
定量	16
結果	17
疑難排解指南	18
品質控制	<b>19</b>
限制	<b>19</b>
效能特性	<b>20</b>
分析靈敏度	20
專一性	20
精確度	22
穩健性	23
再現性	23
診斷評估	23
參考資料	<b>23</b>
符號	<b>23</b>

聯絡資訊  
訂購資訊

**24**  
**25**

## 預期用途

*artus* BK Virus PCR Kit 是一項體外核酸擴增測試，可用於定量人類血漿或尿液中的 BK 病毒 DNA。本診斷測試試劑組利用聚合酶鏈式反應 (Polymerase Chain Reaction, PCR)，並且配置為配合 Rotor-Gene Q 儀器使用。

備註：*artus* BK Virus RG PCR Kit 可能無法與 Rotor-Gene Q 2plex 儀器搭配使用。

## 摘要與說明

*artus* BK Virus RG PCR Kit 是即用式系統，在 Rotor-Gene Q 儀器進行聚合酶鏈式反應 (Polymerase Chain Reaction, PCR)，以檢測 BK 病毒 DNA。BK Virus RG Master 包含的試劑與酵素，用於在 Rotor-Gene Q MDx、Rotor-Gene Q 或 Rotor-Gene 6000 的 Cycling Green 螢光通道中，對 BK 病毒基因體的 274 bp 區域進行專一性擴增，以及直接檢測特定擴增子。

此外，*artus* BK Virus RG PCR Kit 還包含另一個用於識別可能 PCR 抑制的異源擴增系統。這會在 Rotor-Gene Q MDx、Rotor-Gene Q 或 Rotor-Gene 6000 的 Cycling Orange 螢光通道中，視為內部對照劑 (Internal Control, IC) 進行檢測。分析 BK Virus PCR 的偵測極限（參閱第 20 頁的「分析靈敏度」）未下降。提供了外部陽性對照組 (BK Virus RG QS 1 - 4)，用於定量病毒 DNA。詳細資訊請參閱第 16 頁的「結果判讀」。

## 病原體資訊

BK 病毒 (BKV) 是一種 DNA 病毒，屬於多瘤性病毒科，主要是在兒童時期發生初始感染，通常並沒有症狀，成人的血清盛行率高達 90%。發生初始感染後，BKV 會潛伏於腎臟細胞，在人體免疫功能缺乏時（例如移植）可能再度活化。

腎臟移植接受者的腎小管間質性腎炎和輸尿管狹窄，以及骨髓移植接受者的出血性膀胱炎，都可能與 BKV 感染有關。此外也關乎於血管病變、非感染性肺炎、腦炎、視網膜炎的疾病模式，甚至是多器官衰竭。

對於腎臟移植的患者而言，多瘤性病毒相關腎病變 (PAN) 的典型特徵為 BKV 的持續性高度複製。臨床相關感染通常僅發生於免疫抑制的個體。


## 程序原理

透過聚合酶鏈式反應 (polymerase chain reaction, PCR) 檢測病原體的依據是病原體基因組特定區段的擴增。在 *real-time* PCR 中，擴增產物透過螢光染料進行檢測。這些染料通常連結至與擴增產物專一性結合的寡核苷酸探針。由於是在 PCR 運行期間監控螢光強度（亦即，即時監測），因此在 PCR 運行後，不必再次打開反應試管，便可檢測和定量累積產物。\*

\* Mackay, I.M. (2004) Real-time PCR in the microbiology laboratory. Clin. Microbiol. Infect. **10**, 190.

## 提供的材料

### 試劑組內容物

<b>artus BK Virus RG PCR Kit</b>			<b>(24)</b>	<b>(96)</b>
目錄編號			<b>4514263</b>	<b>4514265</b>
反應次數			<b>24</b>	<b>96</b>
藍色	BK Virus RG Master		2 x 12 “個反應	8 x 12 個反應
黃色	BK Virus RG Mg-Sol <sup>†</sup>	<b>Mg-Sol</b>	400 µl	400 µl
紅色	BK Virus RG QS1 <sup>‡</sup> (1 x 10 <sup>4</sup> 副本/µl)	<b>QS</b>	200 µl	200 µl
紅色	BK Virus RG QS2 <sup>‡</sup> (1 x 10 <sup>3</sup> 副本/µl)	<b>QS</b>	200 µl	200 µl
紅色	BK Virus RG QS3 <sup>‡</sup> (1 x 10 <sup>2</sup> 副本/µl)	<b>QS</b>	200 µl	200 µl
紅色	BK Virus RG QS4 <sup>‡</sup> (1 x 10 <sup>1</sup> 副本/µl)	<b>QS</b>	200 µl	200 µl
綠色	BK Virus RG IC <sup>§</sup>	<b>IC</b>	1000 µl	2 x 1000 µl
白色	水 (PCR 級)		1000 µl	1000 µl
	使用手冊		1	1

<sup>†</sup> 鎂溶液。

<sup>‡</sup> 定量標準品。

<sup>§</sup> 內部對照劑。

## 需要但並未提供的材料

在操作化學物質時，務必穿戴合適的實驗室工作服、拋棄式手套和護目鏡。關於更多資訊，請參閱相應的安全資料表 (Safety Data Sheets, SDS)，可向產品供應商索取。

### 試劑

- DNA 分離試劑組（請參閱第 9 頁的「DNA 分離」）

### 耗材

- 帶過濾器的無菌滴管吸頭
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml，與 72-Well Rotor（目錄編號 981103 或 981106）搭配使用
- 或者：PCR Tubes, 0.2 ml，與 36-Well Rotor（目錄編號 981005 或 981008）搭配使用

### 設備

- 微量滴管（可調節）\*
- 振盪混合器\*
- 帶轉子的桌上型離心機\*，用於 2 ml 反應管
- Rotor-Gene Q Mdx、Rotor-Gene Q 或 Rotor-Gene 儀器†，具備 Cycling Green 和 Cycling Orange 螢光通道
- Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q 軟體版本 1.7.94 版以上（Rotor-Gene 6000 軟體版本 1.7.65）
- 冷卻塊（Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes，目錄編號 9018901；或 Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes，目錄編號 9018905）

## 警告和注意事項

### 供體外診斷使用

在操作化學物質時，務必穿戴合適的實驗室工作服、拋棄式手套和護目鏡。關於更多資訊，請參閱相應的安全資料表 (Safety Data Sheets, SDS)。這些安全資料表以簡潔方便的 PDF 格式在線上提供：[www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)，對於每種 QIAGEN® 試劑組和每種試劑組成分，您可以從中找到、瀏覽並列印 SDS。

根據當地安全規定丟棄樣本和檢測廢棄物。

\* 確實按照製造商的建議檢查並校正儀器。

† artus BK Virus RG PCR Kit 可能無法與 Rotor-Gene Q 2plex 儀器搭配使用。

## 一般注意事項

使用者應始終注意以下事項：

- 使用附過濾器的無菌滴管吸頭。
- 將陽性材料（試樣、陽性對照組和擴增子）與其他所有試劑分開儲存和萃取，在空間分隔區域中將其加入反應混合液中。
- 在室溫 (15 – 25°C) 下將所有成分徹底解凍，然後再開始檢測。
- 解凍時，混合成分（透過反復上下抽吸或間歇振盪）並進行短暫的離心分離。
- 動作迅速地將成分存放在冰上或冷卻塊（72/96 孔載入塊）中。

## 試劑儲存與處理

artus BK Virus PCR Kit 的成分應存放在  $-15^{\circ}\text{C}$  至  $-30^{\circ}\text{C}$  環境中，可在標籤上所示的到期日期前保持穩定。應避免反復（超過 2 次）解凍和冷凍，因為這可能會降低檢測靈敏度。如果只是間歇性使用試劑，應將它們等量分裝冷凍。在  $2 - 8^{\circ}\text{C}$  下的存放時間不應超過 5 小時。



# 程序

## DNA 分離

EZ1 DSP Virus Kit (QIAGEN, 目錄編號 62724) \* 經驗證可由人類血漿或尿液純化病毒核酸，與 *artus* BK Virus RG PCR Kit 搭配使用。按照 *EZ1 DSP Virus Kit 使用手冊* 中的說明純化病毒 DNA，初始樣本量為 400 µl。

**備註：** *artus* BK Virus RG PCR Kit 不應與苯酚基分離方法搭配使用。

**備註：** 使用載體 RNA 對萃取效率並因此對 DNA/RNA 產量至關重要。請按照 *EZ1 DSP Virus Kit 使用手冊* 中的說明，為每個萃取添加適量的載體 RNA。

**備註：** 可直接在分離程序中使用 *artus* BK Virus RG PCR Kit 的內部對照劑（參閱第 9 頁的「內部對照劑」）。

**備註：** 我們強烈建議在使用 EZ1 DSP Virus Kit 萃取後，立即為 PCR 使用純化的病毒核酸。或者，也可在 4°C 下將溶析液存放最長 3 天，然後執行 PCR 分析。

## 內部對照劑

提供內部對照劑 (BK Virus RG IC)。這樣使用者可控制 DNA 分離程序，並檢查有無可能發生的 PCR 抑制。對於該應用，以每 1 µl 溶析體積 0.1 µl 的比例，添加內部對照劑到分離物。例如，使用 EZ1 DSP Virus Kit 時，如果以 60 µl 析出緩衝液 (AVE) 來溶析病毒核酸，則最初應添加 6 µl 的內部對照劑。

**備註：** 只應將內部對照劑和載體 RNA（參閱第 9 頁的「DNA 分離」）添加到溶解緩衝液與樣本材料的混合液，或直接添加到溶解緩衝液。

不得將內部對照劑直接添加到樣本材料。如果添加到溶解緩衝液，注意內部對照劑與溶解緩衝液 - 載體 RNA 的混合液，必須新鮮製備並立即使用（混合物存放在室溫下或冰箱中幾小時，就可能導致內部對照劑失效且萃取效率降低）。

**備註：** 請勿直接將內部對照劑和載體 RNA 添加到樣本材料中。

可以選擇性地僅使用內部對照劑，檢查有無可能發生的 PCR 抑制。對於此應用，請按照操作程序步驟 2b（第 10 頁）所述，將內部對照劑直接添加到 BK Virus RG Master 與 BK Virus RG Mg-Sol 的混合液。

\* EZ1 DSP Virus Kit 還以 CE-IVD 標記的 EASY*artus*<sup>®</sup> BK Virus RG PCR Kit 形式提供，與 *artus* BK Virus RG PCR Kit 搭配使用（參閱第 25 頁的訂購資訊）。

## 操作程序：PCR 和資料分析

### 開始前要點

- 在開始操作程序前，花時間熟悉 Rotor-Gene Q 儀器。請參閱儀器的使用者手冊。
- 確保每次 PCR 運行至少包括一個定量標準品及一個陰性對照組（水，PCR 級）。要繪製標準曲線，請在每次 PCR 運行時使用全部 4 個提供的定量標準品 (BK Virus RG QS 1 - 4)。

### 開始前需完成的事項

- 確保將冷卻塊（Rotor-Gene Q 儀器的配件）預先冷卻至 2 - 8°C。
- 每次使用前，所有試劑都需要完全解凍、混合（透過反復上下抽吸或快速振盪）並進行短暫的離心分離。

### 程序

1. 將所需數量的 PCR 試管放入冷卻塊的適配器。
  2. 如果您使用內部對照劑來監控 DNA 分離程序，並檢查有無可能發生的 PCR 抑制，請執行步驟 2a。如果您僅使用內部對照劑來檢查有無可能發生的 PCR 抑制，請執行步驟 2b。
- 2a. 內部對照劑已添加到分離液（參閱第 9 頁的「內部對照劑」）。在此情況下，請按照表 1 製備主混合液。

反應混合液通常包含除樣本外的 PCR 所需所有成分。

表 1：製備主混合液（內部對照劑用於監控 DNA 分離及檢查 PCR 抑制）

樣本數量	1	12
BK Virus RG Master	7 $\mu$ l	84 $\mu$ l
BK Virus RG Mg-Sol	3 $\mu$ l	36 $\mu$ l
BK Virus RG IC	0 $\mu$ l	0 $\mu$ l
<b>總體積</b>	<b>10 <math>\mu</math>l</b>	<b>120 <math>\mu</math>l</b>

- 2b. 內部對照劑必須直接添加到 BK Virus RG Master 與 BK Virus Mg-Sol 的混合液。在此情況下，請按照表 2 製備主混合液。

反應混合液通常包含除樣本外的 PCR 所需所有成分。

表 2：製備主混合液（內部對照劑僅用於檢查有無 PCR 抑制）

樣本數量	1	12
BK Virus RG Master	7 $\mu$ l	84 $\mu$ l
BK Virus RG Mg-Sol	3 $\mu$ l	36 $\mu$ l
BK Virus RG IC	1.5 $\mu$ l	18 $\mu$ l
<b>總體積</b>	<b>11.5 <math>\mu</math>l*</b>	<b>138 <math>\mu</math>l*</b>

\* 準備 PCR 檢測時，添加內部對照劑造成的體積增加將忽略不計。檢測系統的靈敏度不受影響。

- 將 10  $\mu$ l 主混合液移取至每個 PCR 試管。然後添加 15  $\mu$ l 的溶析樣本 DNA（參閱表 3）。相應地，必須至少使用 15  $\mu$ l 的其中一個定量標準品 (BK Virus RG QS 1 - 4) 作為陽性對照組，使用 15  $\mu$ l 的水（水，PCR 級）作為陰性對照組。

表 3：準備 PCR 檢測

樣本數量	1	12
主混合液	10 $\mu$ l	各 10 $\mu$ l
樣本	15 $\mu$ l	各 15 $\mu$ l
<b>總體積</b>	<b>25 <math>\mu</math>l</b>	<b>各 25 <math>\mu</math>l</b>

- 蓋上 PCR 試管。確保密封圈（Rotor-Gene 儀器的配件）放置在轉子頂部，以防止試管在運行期間意外打開。
- 為檢測 BK 病毒 DNA，請按照下列步驟建立溫度曲線。

設定一般檢測參數	圖 1、2、3
熱啟動酶的初始活化	圖 4
擴增 DNA	圖 5
調整螢光通道靈敏度	圖 6
開始運行	圖 7

關於所有規格，請參閱 Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q 軟體版本 1.7.94 及 Rotor-Gene 6000 軟體版本 1.7.65。關於 Rotor-Gene 儀器程式設計的更多資訊，請參閱儀器使用者手冊。插圖中使用粗黑體將這些設定框出。提供適用於 Rotor-Gene Q 儀器的插圖。

6. 首先，開啟「New Run Wizard」（新執行精靈）對話方塊（圖 1）。核取「Locking Ring Attached」（已連接鎖環）方塊，然後按一下「Next」（下一步）。

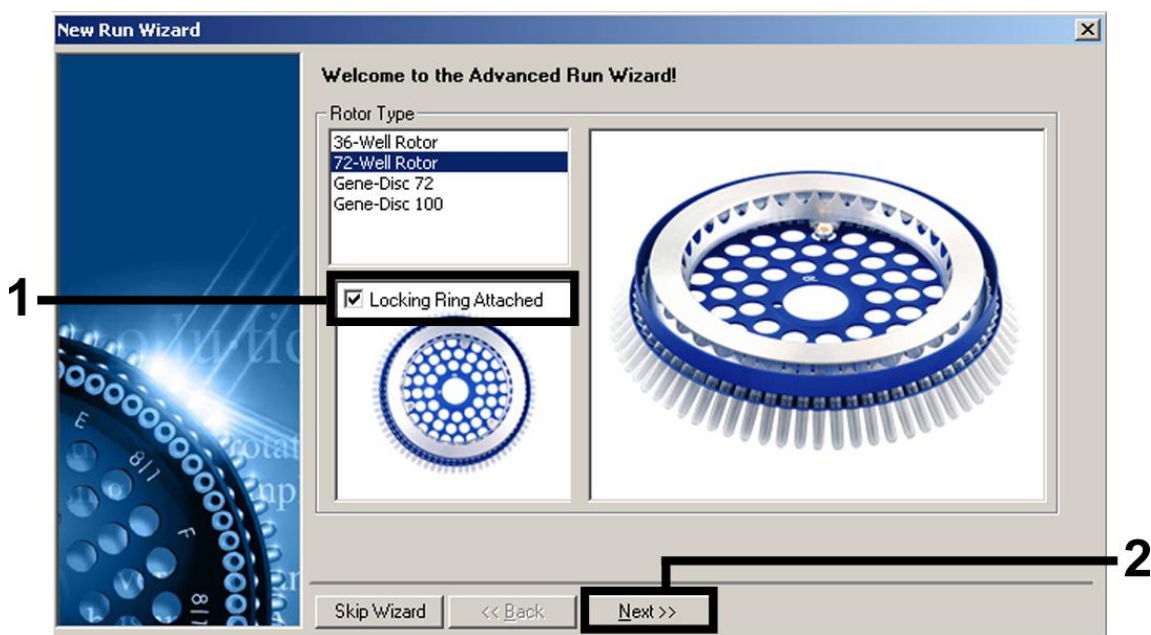


圖 1：「New Run Wizard」（新運行精靈）對話方塊。

7. 選取 50 作為 PCR 反應體積，並按一下「Next」（下一步）（圖 2）。

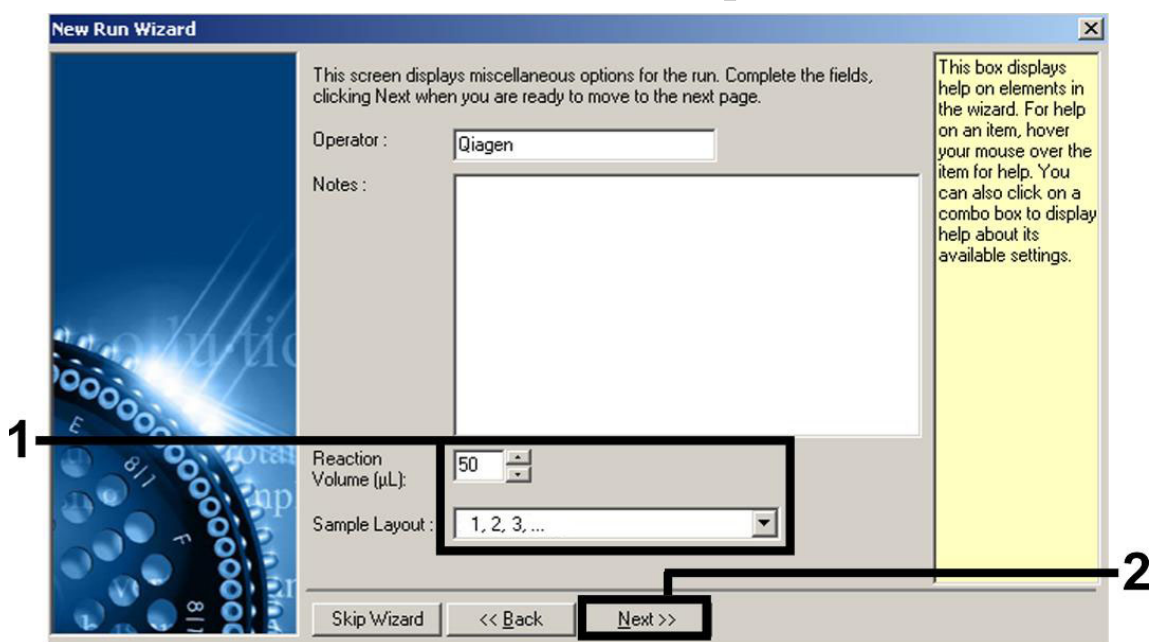


圖 2：設定一般檢測參數。

備註：雖然實際反應體積為 25  $\mu$ l，請確認在 Rotor-Gene 軟體中選取 50 作為反應體積。

- 按一下下一個「New Run Wizard」（新運行精靈）對話方塊中的「Edit Profile」（編輯曲線）按鈕（圖 3），並按照圖 3 至圖 5 所示設定溫度曲線。

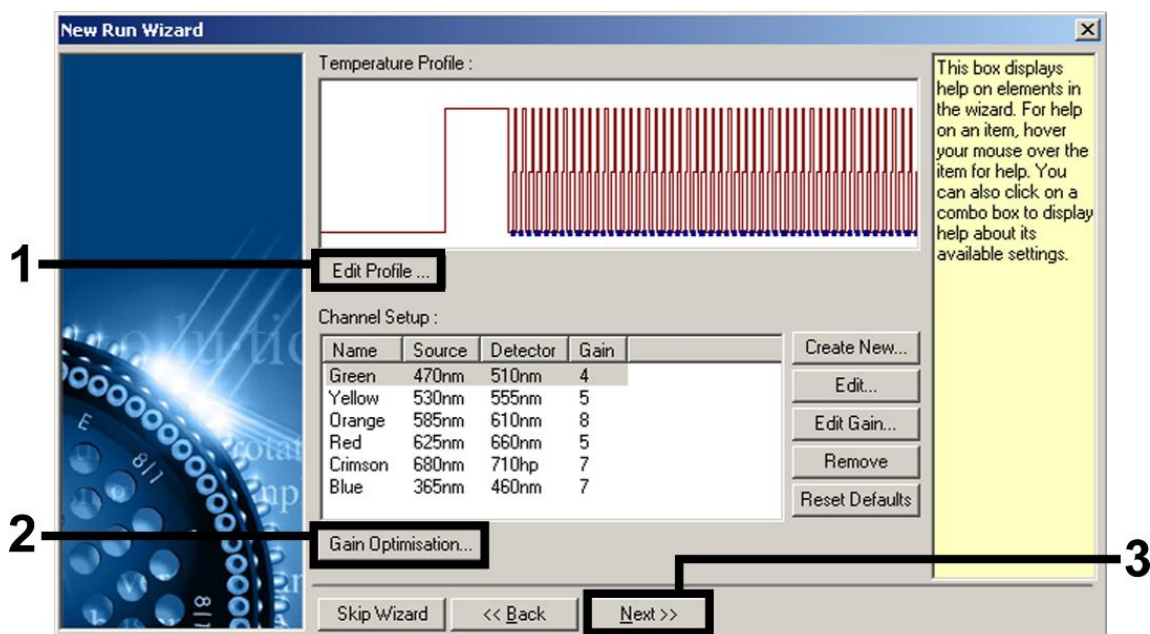


圖 3：編輯曲線。

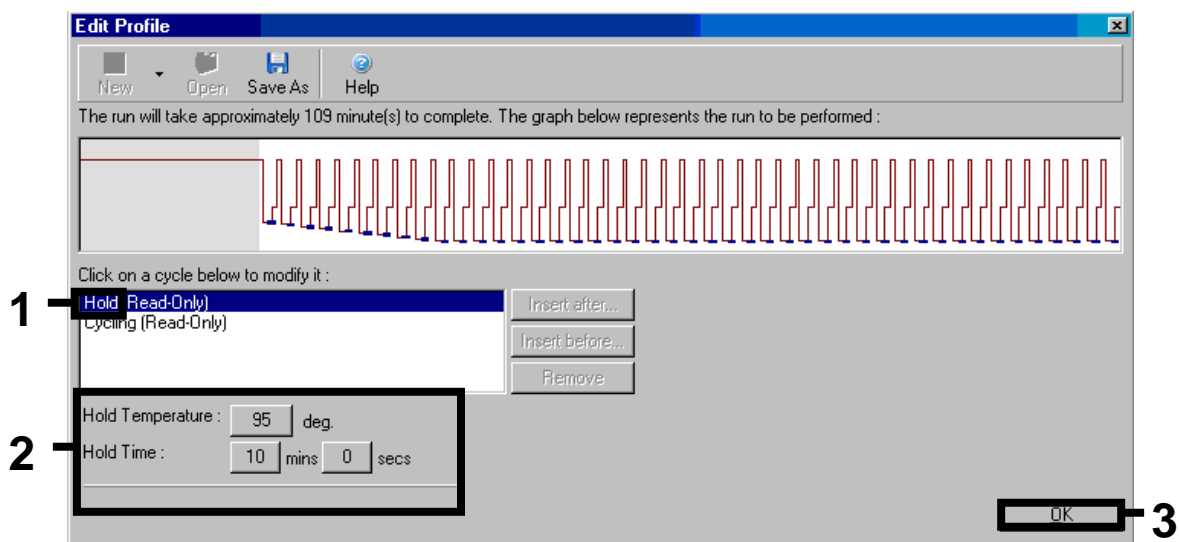


圖 4：熱啟動酶的初始活化。

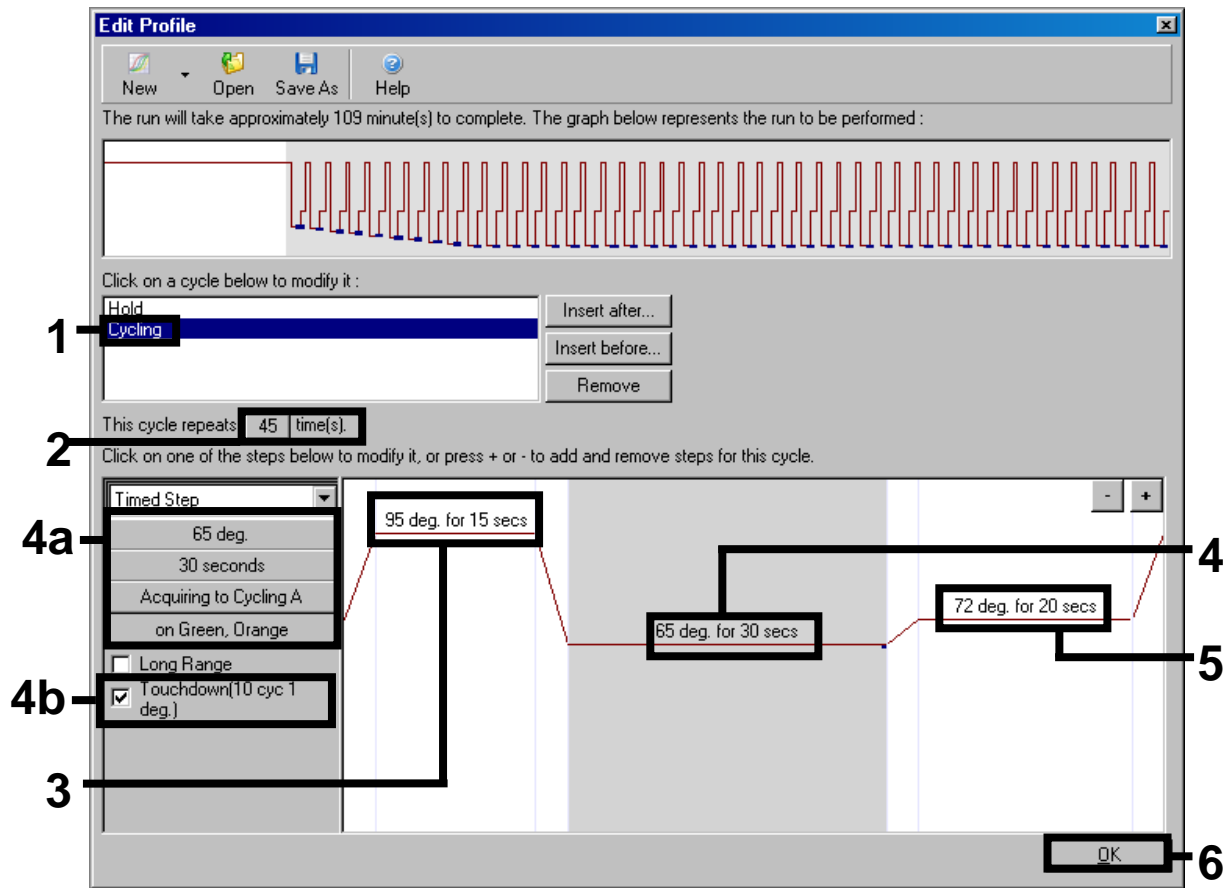


圖 5：擴增 DNA。確保在黏合步驟將遞減功能啟用 10 個循環。

9. 需要按照 PCR 試管內的螢光強度，確定螢光通道的檢測範圍。按一下「New Run Wizard」（新運行精靈）對話方塊中的「Gain Optimisation」（增益最佳化）（參閱圖 3），開啟「Auto-Gain Optimisation Setup」（自動增益最佳化設定）對話方塊。將校準溫度設定為 65，以符合擴增程序的黏合溫度（圖 6）。

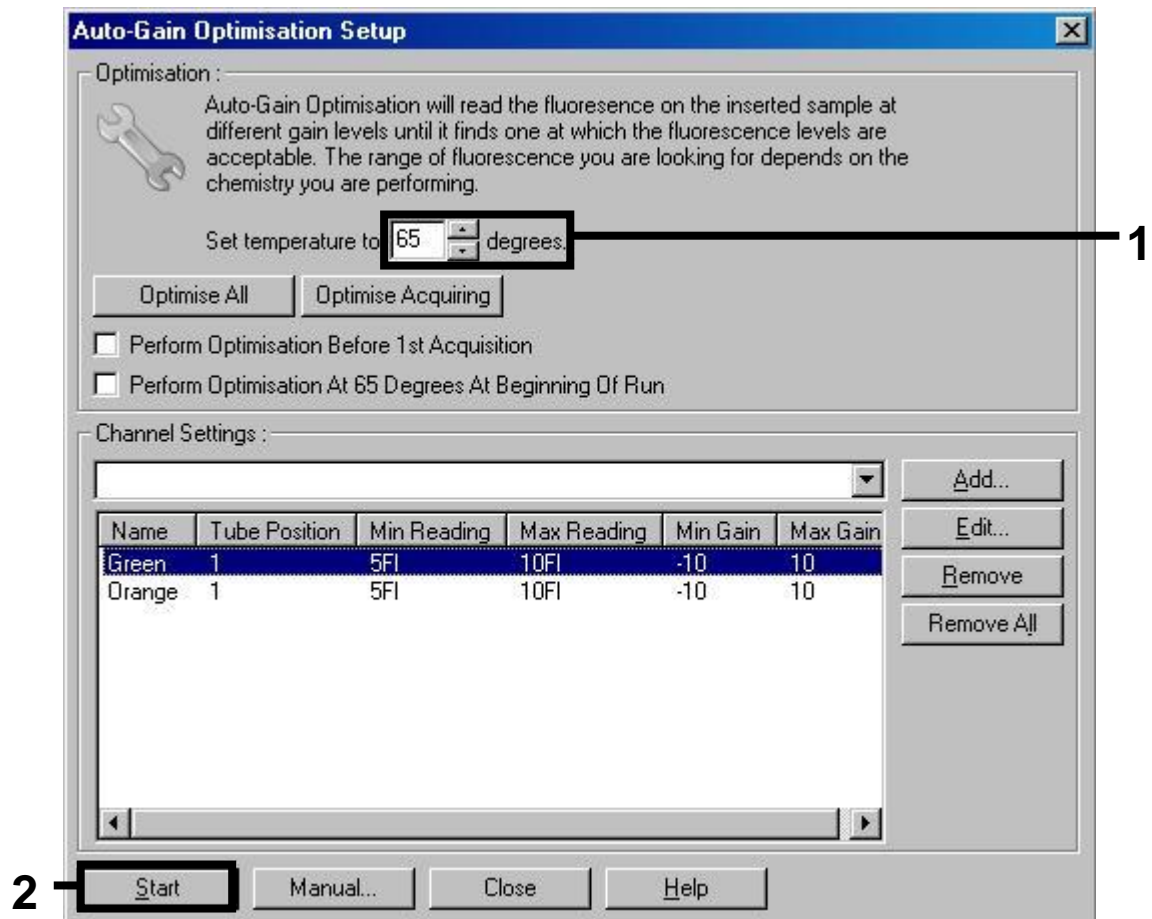


圖 6：調整螢光通道靈敏度。

10. 通道校準確定的增益值將自動儲存，並列於設定程序的最後一個功能表視窗中（圖 7）。按一下「**Start Run**」（開始運行）。

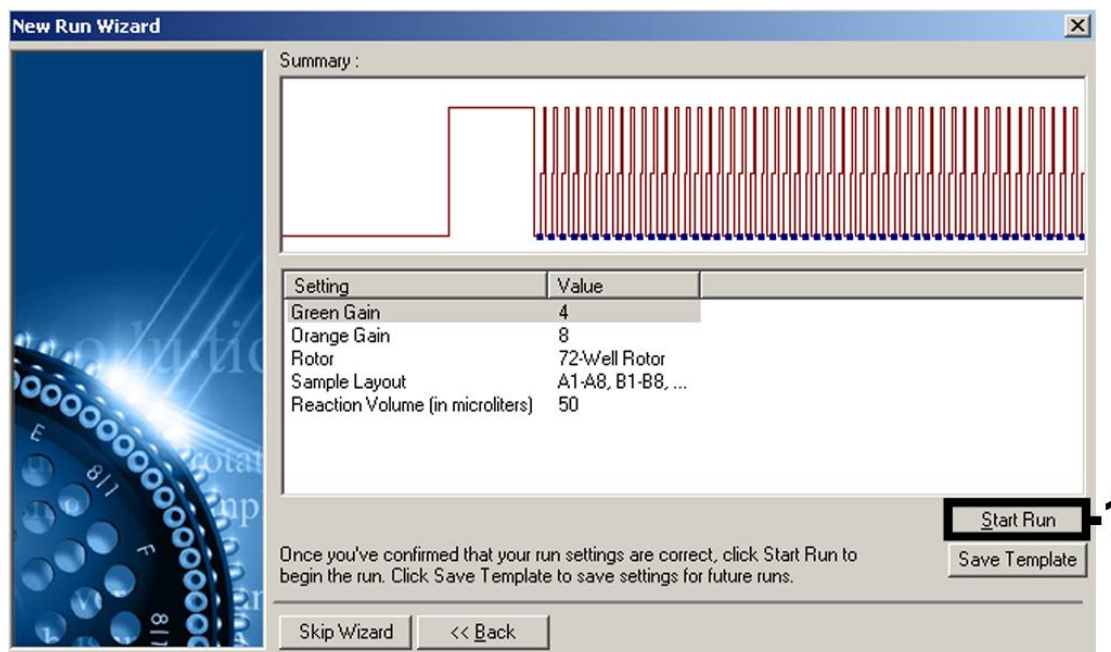


圖 7：開始運行。

## 結果判讀

### 定量

隨附的定量標準品 (BK Virus RG QS 1 - 4) 視為之前純化的樣本，並使用相同的體積 (15  $\mu\text{l}$ )。要在 Rotor-Gene Q 儀器上生成標準曲線，所有 4 個定量標準品都應使用，並在「**Edit Samples**」（編輯樣本）對話方塊中定義為具有指定濃度的標準品（參閱儀器的使用者手冊）。

**備註：** 定量標準品定義為副本/ $\mu\text{l}$ 。應運用以下公式將使用標準曲線確定的值轉換為樣本材料的副本/ml：

$$\text{結果 (副本/ml)} = \frac{\text{結果 (副本/}\mu\text{l)} \times \text{溶析體積 (}\mu\text{l)}}{\text{樣本體積 (ml)}}$$

原則上，應在以上公式中輸入初始樣本體積。若樣本體積在核酸萃取前發生變化時（例如，透過離心減少體積，或透過向分離所需的體積進行添加增加體積），需要將此考慮在內。



## 結果

圖 8 和圖 9 提供了陽性和陰性 PCR 反應的範例。

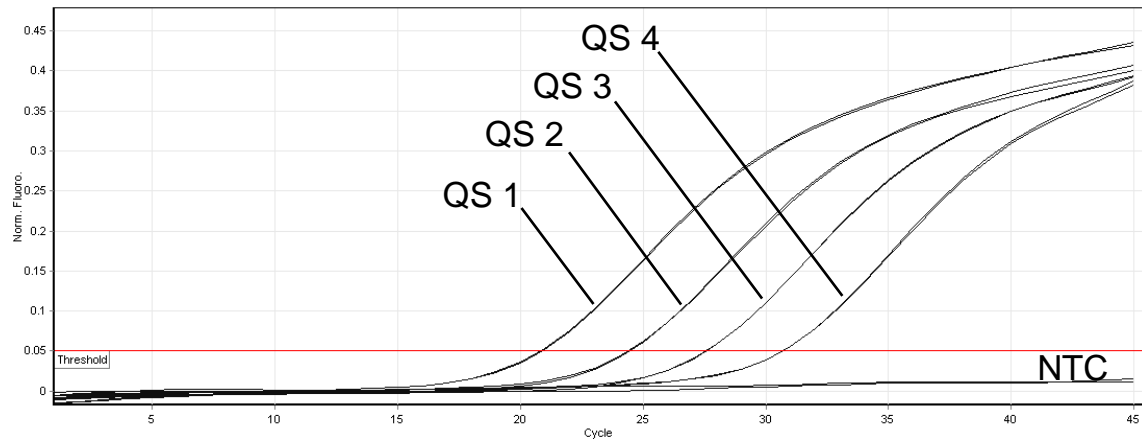


圖 8：檢測 **Cycling Green** 螢光通道中的定量標準品 (BK Virus RG QS 1 - 4)。  
NTC：無模板對照組 (陰性對照組)。

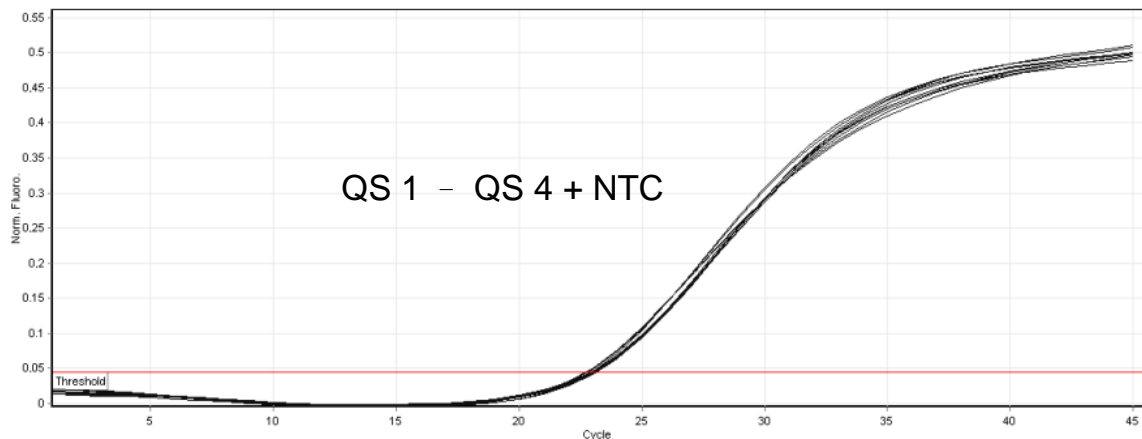


圖 9：檢測 **Cycling Orange** 螢光通道中的內部對照劑 (internal control, IC)，並同時擴增定量標準品 (BK Virus RG QS 1 - 4)。  
NTC：無模板對照組 (陰性對照組)。

在 **Cycling Green** 螢光通道檢測到訊號。

分析的結果為陽性：樣本包含 **BK 病毒 DNA**。

在此情況下，並非必須在 **Cycling Orange** 通道中檢測到訊號，因為高初始濃度的 BK 病毒 DNA (**Cycling Green** 通道中陽性訊號) 可能導致 **Cycling Orange** 通道中內部對照劑的螢光訊號減少或缺少 (競爭)。

在 **Cycling Green** 螢光通道未檢測到訊號。同時，來自內部對照劑的訊號出現在 **Cycling Orange** 通道中。

在樣本中未檢測到 **BK 病毒 DNA**，可將其視為陰性。

如果是陰性 BK Virus PCR，檢測到內部對照劑訊號可以排除發生 PCR 抑制的可能性。

在 **Cycling Green** 或 **Cycling Orange** 通道中未檢測到訊號。  
無法就結果得出結論。

關於錯誤來源及其解決方案的資訊，請參閱下方的「疑難排解指南」。

## 疑難排解指南

本疑難排解指南對解決所有發生的問題都可能有用。關於更多資訊，請參閱我們技術支援中心的常見問題頁面：[www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx)。如果您對本使用手冊中的資訊和操作程序，或對樣本和檢測技術有任何問題，QIAGEN 技術服務部的科學家將樂意為您解答（聯絡資訊請參閱封底或瀏覽網站 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)）。

### 意見和建議

---

#### **Cycling Green** 螢光通道中沒有陽性對照組 (BK Virus RG QS 1 – 4) 訊號

- |   |  |
|---|--|
| a) 選擇用於 PCR 資料分析的螢光通道不符合操作程序。               | 對於資料分析，選擇 <b>Cycling Green</b> 螢光通道進行 BK Virus PCR 分析，選擇 <b>Cycling Orange</b> 螢光通道進行內部對照劑 PCR 分析。 |
| b) Rotor-Gene 儀器溫度曲線的設定不正確                  | 將溫度曲線與操作程序相比較。請參閱第 10 頁的「操作程序：PCR 和資料分析」。  |
| c) PCR 設定錯誤                                 | 透過移取方案檢查您的工作步驟，如有必要，重複 PCR。請參閱第 10 頁的「操作程序：PCR 和資料分析」。   |
| d) 一個或多個試劑組成分的儲存條件與「試劑儲存與處理」（第 8 頁）部分的說明不一致 | 檢查試劑的儲存條件和有效期限（參見試劑組標籤），必要時使用新的試劑組。  |
| e) <i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit 已過期     | 檢查試劑的儲存條件和有效期限（參見試劑組標籤），必要時使用新的試劑組。  |

#### 使用 **artus BK Virus RG PCR Kit** 純化的陰性或尿液血漿樣本，**Cycling Orange** 螢光通道中內部對照劑的訊號微弱或沒有訊號，同時 **Cycling Green** 通道中沒有訊號

- |                  |                                      |
|------------------|--------------------------------------|
| a) PCR 條件不符合操作程序 | 檢查 PCR 條件（見上文），必要時使用更正後的設定重複 PCR 分析。 |
| b) PCR 受到抑制      | 確保您採用建議的分離方法，並嚴格遵循製造商的說明。            |

## 意見和建議

- c) DNA 在萃取期間損失 如果向萃取添加了內部對照劑，沒有內部對照劑訊號可能表示 DNA 在萃取期間損失。確保您採用建議的分離方法（參閱第 9 頁的「DNA 分離」），並嚴格遵循製造商的說明。
- d) 一個或多個試劑組成分的儲存條件與「試劑儲存與處理」（第 8 頁）部分的說明不一致 檢查試劑的儲存條件和有效期限（參見試劑組標籤），必要時使用新的試劑組。
- e) *artus* BK Virus RG PCR Kit 已過期 檢查試劑的儲存條件和有效期限（參見試劑組標籤），必要時使用新的試劑組。

### 分析 PCR 的 **Cycling Green** 螢光通道中的陰性對照組訊號

- a) PCR 準備期間發生污染 使用新的試劑進行二重複 PCR。  
如果可能，在加入待檢測樣本後直接蓋上 PCR 試管。  
確保在最後才移取陽性對照組。  
工作區和儀器務必定期清潔消毒。
- b) 萃取期間發生了污染 使用新試劑重複待測樣本的萃取和 PCR 分析。  
工作區和儀器務必定期清潔消毒。

## 品質控制

依照 QIAGEN 的 ISO 認證品質管制系統，每批 *artus* BK Virus RG PCR Kit 已針對預定品質標準進行了檢測，以確保產品品質一致。

## 限制

本產品只能由在體外診斷程序方面經過專門指導和訓練的人員使用。

必須嚴格遵守使用者手冊要求，才能獲得最佳 PCR 結果。

應注意所有成分的外盒和標籤上列印的有效期限。請勿使用過期成分。

病毒基因組受試劑組引子及/或探針覆蓋的高度保留區段內的突變儘管罕見，但確有可能導致定量不足，或在這些情況下未能檢測到病毒的存在。檢測設計的有效性和效能將定期修訂。

## 效能特性

### 分析靈敏度

為確認 *artus* BK Virus RG PCR Kit 的分析靈敏度，建立了標準序列稀釋，由 10 至標稱 0.001 副本當量/ $\mu\text{l}$ ，以 *artus* BK Virus RG PCR Kit 在 Rotor-Gene 6000 上進行了分析。在 3 個不同日期對 8 個重複樣品進行測試，透過概率單位分析確定結果。在圖 10 顯示 Rotor-Gene 6000 執行的概率單位分析之圖示。*artus* BK Virus RG PCR Kit 與 Rotor-Gene Q MDx/Q/6000 搭配使用時，分析偵測極限為 0.195 副本/ $\mu\text{l}$  ( $p = 0.05$ )。這個結果表示檢測到 0.195 副本/ $\mu\text{l}$  概率為 95%。

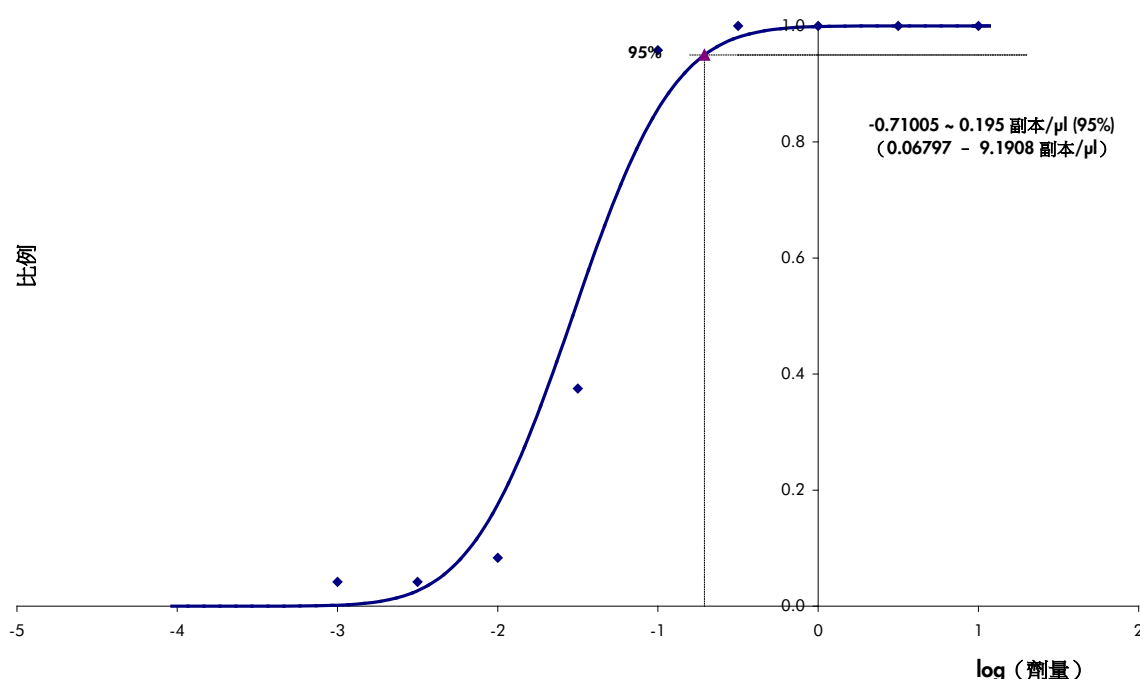


圖 10：概率單位分析：BK Virus (Rotor-Gene 6000)。 *artus* BK Virus RG PCR Kit 在 Rotor-Gene 6000 上的分析靈敏度。

### 專一性

*artus* BK Virus PCR Kit 的專一性主要透過選擇引子和探針，以及選擇嚴格的反應條件來確保。透過序列比較分析，檢查引子和探針是否存在與基因庫中所有已公佈序列同源的可能性，透過資料庫比對，以及使用下列病毒株（請參閱表 4）在 Rotor-Gene 儀器運行 PCR，因此可以確保所有相關病毒株的可檢測性。

表 4：相關病毒株專一性的測試

病毒	病毒株	來源	BK 病毒 (Cycling Green)	內部對照劑 (Cycling Orange)
BK 病毒	Dunlop	ATCC*	+	+
BK 病毒	Gardner	ATCC	+	+
BK 病毒	AB269822	Geneart	+	+
BK 病毒	S72390	Geneart	+	+

\* 美國標準生物品收藏中心。

此外，還透過 30 種不同的 BK 病毒陰性血漿樣本驗證專一性。這些樣本未與 BK Virus RG Master 內的 BK 病毒特定引子和探針產生任何訊號。

使用表 5 所列對照組測試了 artus BK Virus RG PCR Kit 的潛在交叉反應性。所有受測病原體均未產生反應。混合感染未出現交叉反應。

表 5：檢測試劑組對潛在交叉反應病原體的專一性

對照組	BK 病毒 (Cycling Green)	內部對照劑 (Cycling Orange)
巨細胞病毒	-	+
艾巴病毒	-	+
人類疱疹病毒 1 (單純疱疹病毒 1)	-	+
人類疱疹病毒 2 (單純疱疹病毒 2)	-	+
人類疱疹病毒 3 (水痘帶狀疱疹病毒)	-	+
人類疱疹病毒 6	-	+
JC 病毒	-	+
猿猴空泡病毒 40	-	+
<i>Candida albicans</i>	-	+

## 精確度

使用 Rotor-Gene 儀器取得 *artus* BK Virus RG PCR Kit 的精確度資料，並確認檢測的總變異。總變異包括檢測內變異（單次實驗中，相同濃度樣本多個結果間的變異）、檢測間變異（單一實驗室中，不同操作員操作同類型的不同儀器，取得多個檢測結果間的變異），以及批次間變異（使用不同批次取得多個結果檢測間的變異）。使用所得的資料確認特定病原體和內部對照劑 PCR 的標準差、變異和變異係數。

經由檢測最低濃度的定量標準品（QS 4； $1 \times 10^1$  副本/ $\mu\text{l}$ ），收集了 *artus* BK Virus RG PCR 的精確度資料。對 8 個重複樣品進行測試。依據擴增曲線（ $C_T$ ：閾值循環，參閱表 6）的  $C_T$  值，計算出精確度資料。依據這些結果，任何具有上述濃度樣本的內部對照劑檢測，其整體統計分布為 2.11%（ $C_T$ ）和 3.59%（ $C_T$ ），這些數值是由已測得變異的所有單一數值加總取得。

表 6：基於  $C_T$  值的精確度資料

	$C_T$ 值	標準差	變異係數 (%)
檢測內變異： BK Virus RG QS 4	29.45	0.17	0.56
檢測內變異： 內部對照劑	24.31	0.12	0.49
檢測間變異： BK Virus RG QS 4	29.42	0.25	0.85
檢測間變異： 內部對照劑	23.30	0.77	3.30
批次間變異： BK Virus RG QS 4	30.31	0.64	2.10
批次間變異： 內部對照劑	22.53	0.40	1.78
總變異： BK Virus RG QS 4	29.80	0.63	2.11
總變異： 內部對照劑	23.12	0.83	3.59

## 穩健性

穩健性驗證可確認 *artus* BK Virus RG PCR Kit 的總失敗率。在 30 份 BK 病毒陰性樣本中加入 1 副本/ $\mu$ l 溶析體積的 BK 病毒對照組 DNA（約分析靈敏度限值的 5 倍濃度）。使用 EZ1<sup>®</sup> DSP Virus Kit 萃取後（請參閱第 9 頁的「DNA 分離」），以 *artus* BK Virus RG PCR Kit 分析這些樣本。所有 30 份樣本的失敗率為 0%。此外，經由純化並分析 30 份 BK Virus 陰性樣本，評估內部對照劑的穩健性，總失敗率為 0%。未觀察到抑制現象。因此，*artus* BK Virus RG PCR Kit 的穩健性是  $\geq 99\%$ 。

## 再現性

再現性資料可定期評估 *artus* BK Virus RG PCR Kit 效能，以及與其他產品進行效率比較。這些資料是透過參加既有的技術能力計畫而取得。

## 診斷評估

目前，*artus* BK Virus RG PCR Kit 正在進行一系列的評估研究。

## 參考資料

QIAGEN 擁有一個大型、最新的線上資料庫，內容為與 QIAGEN 產品相關的科技出版物。全面查詢搜尋幫您找到所需文件，您既可以輸入關鍵字，也可輸入應用、研究領域、標題等進行查找。

如果您想獲得完整的參考清單，請瀏覽 QIAGEN 線上資料庫 [www.qiagen.com/RefDB/search.asp](http://www.qiagen.com/RefDB/search.asp) 或與 QIAGEN 技術服務部或當地經銷商聯絡。

## 符號



含有足夠進行 <N> 次測試的試劑



用於








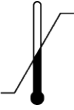


體外診斷醫療器材



目錄編號



批號

	材料編號
	成分
	內含物
	數量
	全球交易品項識別代碼
	溫度限制
	製造商
	參閱使用說明

## 聯絡資訊

關於技術支援和更多資訊，請瀏覽 [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) 網頁上的技術支援中心，或致電 QIAGEN 技術服務部門或當地經銷商（請參閱本手冊背面或瀏覽 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)）。



## 訂購資訊

產品	內容物	目錄編號
<i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit (24)	24 次反應：預混合液、4 個定量標準品、內部對照劑、鎂溶液、水（PCR 級）	4514263
<i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit (96)	96 次反應：預混合液、4 個定量標準品、內部對照劑、鎂溶液、水（PCR 級）	4514265
<b>EASY<i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit — 用於完全符合 CE-IVD 標準的整合式自動化樣本純化和病原體檢測</b>		
EASY <i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit 1	48 次病毒核酸製備和 24 次檢測：1 個 EZ1 DSP Virus Kit、1 個 <i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit (24)	EA11423
EASY <i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit 2	48 次病毒核酸製備和 48 次檢測：1 個 EZ1 DSP Virus Kit、2 個 <i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit (24)	EA11424
<b>EZ1 DSP Virus Kit — 用於自動化同時純化 1 - 14 個人類血漿、血清或腦脊髓液樣本中的病毒 DNA 和 RNA</b>		
EZ1 DSP Virus Kit (48)	48 次病毒核酸製備：預充式試劑盒、拋棄式吸頭支架、拋棄式過濾吸頭、樣本試管、溶析試管、緩衝液、載體 RNA	62724
<b>Rotor-Gene Q MDx 和配件</b>		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Real-time PCR 循環儀具有 5 個通道（綠色、黃色、橙色、紅色、深紅色）、筆記型電腦、軟體、配件：包含為期 1 年的零件維修保固，不含安裝和訓練	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Real-time PCR 循環儀具有 5 個通道（綠色、黃色、橙色、紅色、深紅色）、筆記型電腦、軟體、配件：包含為期 1 年的零件維修保固及人力服務、安裝和訓練	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Real-time PCR cyclers 和 High Resolution Melt analyzer，具有 5 個通道（綠色、黃色、橙色、紅色、深紅色），外加 HRM 通道、筆記型電腦、軟體、配件：為期 1 年的零件保固及人工，不含安裝和培訓	9002032

產品	內容物	目錄編號
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Real-time PCR 系統和高解析度解離分析儀具有 5 個通道（綠色、黃色、橙色、紅色和深紅色）加 HRM 通道、筆記型電腦、軟體、配件：包含為期 1 年的零件維修保固及人力服務、安裝和訓練	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Real-time PCR 儀器具有 6 個通道（藍色、綠色、黃色、橙色、紅色、深紅色），包括筆記型電腦、軟體、配件：包含為期 1 年的零件維修保固和人力服務，不含安裝和訓練	9002042
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Real-time PCR 儀器具有 6 個通道（藍色、綠色、黃色、橙色、紅色、深紅色），包括筆記型電腦、軟體、配件：包含為期 1 年的零件維修保固及人力服務、安裝和訓練	9002043
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	帶有 72 x 0.1 ml 試管的鋁塊，使用單通道微量滴管進行人工反應設定	9018901
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	用於在標準 8 x 12 陣列（使用 96 個 0.2 ml 試管）中進行手動反應設定的鋁塊	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 個 4 連排管和蓋子，可用於 1000 次反應	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 個 4 連排管和蓋子，可用於 10,000 次反應	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 個薄壁試管，可用於 1000 次反應	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 個薄壁試管，可用於 10,000 次反應	981008

最新的授權資訊和個別產品的免責聲明，請參閱各 QIAGEN 試劑組使用手冊或使用者手冊。QIAGEN 試劑組使用手冊和使用者手冊可從 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 下載，或向 QIAGEN 技術服務部或您當地經銷商索取。

此頁刻意留白

此頁刻意留白

本產品允許購買者將其用於執行人類體外診斷的診斷服務。除此特定的購買使用權之外，未授予任何非具體的專利或其他許可。

商標：QIAGEN®、artus®、EASYartus®、EZ1®、Rotor-Gene® (QIAGEN Group)。

#### 有限授權合約

使用本產品表示 artus BK Virus RG PCR Kit 的購買者或使用者同意以下條款：

1. artus BK Virus RG PCR Kit 只能按照 artus BK Virus RG PCR Kit 使用手冊與試劑組內包含的成分搭配使用。不得將本試劑組隨附的成分與任何未包含在本試劑組中的成分搭配或整合使用，QIAGEN 未在其智慧財產權下授予任何此等許可，除非在 artus BK Virus RG PCR Kit 使用手冊或 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 上提供的其他操作程序中另有說明。
2. 除了特別聲明的許可外，QIAGEN 不保證本試劑組和/或其使用不會侵犯第三方的權利。
3. 本試劑組及其成分僅供一次使用，不得重複使用、翻新或再銷售。
4. 除了特別聲明的許可外，QIAGEN 明確否認全部明示或暗示的任何其他許可。
5. 本試劑組的購買者和使用者同意不會採取或允許他人採取可導致或促成以上所禁止行為的任何措施。QIAGEN 可在任何法院申請強制執行此有限授權協定的禁止事項，並應取得在強制執行此有限授權協定，或本試劑組和/或其成分相關的任何智慧財產權的任何行動過程中，所產生的所有調查和訴訟費用，包括律師費。

更新版授權條款請瀏覽 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)。

© 2009-2014 QIAGEN，保留所有權利。

**www.qiagen.com**

**Australia** ■ Orders 1-800-243-800 ■ Fax 03-9840-9888 ■ Technical 1-800-243-066

**Austria** ■ Orders 0800-28-10-10 ■ Fax 0800-28-10-19 ■ Technical 0800-28-10-11

**Belgium** ■ Orders 0800-79612 ■ Fax 0800-79611 ■ Technical 0800-79556

**Brazil** ■ Orders 0800-557779 ■ Fax 55-11-5079-4001 ■ Technical 0800-557779

**Canada** ■ Orders 800-572-9613 ■ Fax 800-713-5951 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

**China** ■ Orders 86-21-3865-3865 ■ Fax 86-21-3865-3965 ■ Technical 800-988-0325

**Denmark** ■ Orders 80-885945 ■ Fax 80-885944 ■ Technical 80-885942

**Finland** ■ Orders 0800-914416 ■ Fax 0800-914415 ■ Technical 0800-914413

**France** ■ Orders 01-60-920-926 ■ Fax 01-60-920-925 ■ Technical 01-60-920-930 ■ Offers 01-60-920-928

**Germany** ■ Orders 02103-29-12000 ■ Fax 02103-29-22000 ■ Technical 02103-29-12400

**Hong Kong** ■ Orders 800 933 965 ■ Fax 800 930 439 ■ Technical 800 930 425

**Ireland** ■ Orders 1800 555 049 ■ Fax 1800 555 048 ■ Technical 1800 555 061

**Italy** ■ Orders 800-789-544 ■ Fax 02-334304-826 ■ Technical 800-787980

**Japan** ■ Telephone 03-6890-7300 ■ Fax 03-5547-0818 ■ Technical 03-6890-7300

**Korea (South)** ■ Orders 080-000-7146 ■ Fax 02-2626-5703 ■ Technical 080-000-7145

**Luxembourg** ■ Orders 8002-2076 ■ Fax 8002-2073 ■ Technical 8002-2067

**Mexico** ■ Orders 01-800-7742-639 ■ Fax 01-800-1122-330 ■ Technical 01-800-7742-436

**The Netherlands** ■ Orders 0800-0229592 ■ Fax 0800-0229593 ■ Technical 0800-0229602

**Norway** ■ Orders 800-18859 ■ Fax 800-18817 ■ Technical 800-18712

**Singapore** ■ Orders 1800-742-4362 ■ Fax 65-6854-8184 ■ Technical 1800-742-4368

**Spain** ■ Orders 91-630-7050 ■ Fax 91-630-5145 ■ Technical 91-630-7050

**Sweden** ■ Orders 020-790282 ■ Fax 020-790582 ■ Technical 020-798328

**Switzerland** ■ Orders 055-254-22-11 ■ Fax 055-254-22-13 ■ Technical 055-254-22-12

**UK** ■ Orders 01293-422-911 ■ Fax 01293-422-922 ■ Technical 01293-422-999

**USA** ■ Orders 800-426-8157 ■ Fax 800-718-2056 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

