

Δεκέμβριος 2014

---

# Εγχειρίδιο ΚΙΤ *artus*<sup>®</sup> BK Virus RG PCR



24 (αρ. καταλόγου 4514263)



96 (αρ. καταλόγου 4514265)

## Έκδοση 1



Ποσοτική in vitro διάγνωση

Για χρήση με όργανα Rotor-Gene<sup>®</sup> Q



4514263, 4514265



1056823EL



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden.

ΓΕΡΜΑΝΙΑ

R4

MAT

1056823EL



## **QIAGEN Sample and Assay Technologies**

Η QIAGEN ηγείται στο χώρο πρωτοποριακών τεχνολογιών δειγμάτων και προσδιορισμών, παρέχοντας τη δυνατότητα απομόνωσης και ανίχνευσης των περιεχομένων οποιουδήποτε βιολογικού δείγματος. Τα προηγμένα, υψηλής ποιότητας προϊόντα και οι υπηρεσίες μας αποτελούν εγγύηση επιτυχίας - από το δείγμα έως το αποτέλεσμα.

### **Η QIAGEN θέτει πρότυπα:**

- στον καθαρισμό DNA, RNA και πρωτεϊνών
- στους προσδιορισμούς νουκλεϊκών οξέων και πρωτεϊνών
- στην έρευνα microRNA και RNAi
- στην αυτοματοποίηση τεχνολογιών δειγμάτων και προσδιορισμών

Αποστολή μας είναι η διασφάλιση των δικών σας επιτυχιών και επιτευγμάτων. Για περισσότερες πληροφορίες, επισκεφθείτε μας στη διεύθυνση [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Περιεχόμενο

<b>Προβλεπόμενη χρήση</b>	<b>7</b>
<b>Περίληψη και επεξήγηση</b>	<b>7</b>
Πληροφορίες για τον παθογόνο μικροοργανισμό	7
Αρχές της διαδικασίας	8
<b>Υλικά που παρέχονται</b>	<b>8</b>
Περιεχόμενα του kit	8
<b>Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται</b>	<b>9</b>
<b>Προειδοποιήσεις και Προφυλάξεις</b>	<b>9</b>
Γενικές προφυλάξεις	10
<b>Φύλαξη και χειρισμός αντιδραστηρίων</b>	<b>10</b>
<b>Διαδικασία</b>	<b>11</b>
Απομόνωση DNA	11
Πρότυπο εσωτερικού ελέγχου	11
Πρωτόκολλο	
■ PCR και ανάλυση δεδομένων	14
<b>Ερμηνεία των αποτελεσμάτων</b>	<b>21</b>
Ποσοτικοποίηση	21
Αποτελέσματα	22
Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων	23
<b>Ποιοτικός έλεγχος</b>	<b>25</b>
<b>Περιορισμοί</b>	<b>25</b>
<b>Χαρακτηριστικά απόδοσης</b>	<b>26</b>
Αναλυτική ευαισθησία	26
Ειδικότητα	27
Ακρίβεια	28
Ανθεκτικότητα	30
Επαναληψιμότητα	30
Διαγνωστική αξιολόγηση	30
<b>Βιβλιογραφία</b>	<b>30</b>
<b>Σύμβολα</b>	<b>30</b>
<b>Πληροφορίες επικοινωνίας</b>	<b>31</b>
<b>Πληροφορίες παραγγελίας</b>	<b>32</b>



## Προβλεπόμενη χρήση

Το kit *artus* BK Virus PCR είναι ένας in vitro έλεγχος ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων για την ποσοτικοποίηση DNA του ιού BK σε ανθρώπινο πλάσμα ή ούρα. Αυτό το kit διαγνωστικού ελέγχου χρησιμοποιεί την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) και είναι διαμορφωμένο για χρήση με τα όργανα Rotor--Gene Q.

**Σημείωση:** Η χρήση του kit *artus* BK Virus RG PCR δεν επιτρέπεται μαζί με όργανα Rotor-Gene Q 2plex.

## Περίληψη και επεξήγηση

Το kit *artus* BK Virus RG PCR αποτελεί ένα έτοιμο για χρήση σύστημα για την ανίχνευση DNA του ιού BK με χρήση αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) σε όργανα Rotor-Gene Q. Το BK Virus RG Master περιέχει αντιδραστήρια και ένζυμα για την ειδική ενίσχυση μίας περιοχής 274 bp του γονιδιώματος του ιού BK και για την απευθείας ανίχνευση του ειδικού προϊόντος ενίσχυσης (αμπλικόνιο) στο κανάλι φθορισμού Cycling Green του Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q, ή Rotor-Gene 6000.

Επιπλέον, το kit *artus* BK Virus RG PCR περιλαμβάνει ακόμη ένα ετερόλογο σύστημα ενίσχυσης για τη διαπίστωση τυχόν αναστολής της PCR. Το σύστημα αυτό ανιχνεύεται ως πρότυπο εσωτερικού ελέγχου (IC) στο κανάλι φθορισμού Cycling Orange του Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q, ή Rotor-Gene 6000. Το όριο ανίχνευσης της ανάλυσης PCR του ιού BK (βλέπε «Αναλυτική ευαισθησία», σελίδα 26) δεν μειώνεται. Παρέχονται εξωτερικά θετικά πρότυπα ελέγχου (BK Virus RG QS 1–4), τα οποία επιτρέπουν τον προσδιορισμό της ποσότητας του ιικού DNA. Για περισσότερες πληροφορίες, βλέπε «Ερμηνεία των αποτελεσμάτων», σελίδα 21.

## Πληροφορίες για τον παθογόνο μικροοργανισμό

Ο ιός BK (BKV) είναι ένας ιός DNA που ανήκει στους ιούς polyoma. Η πρωτοπαθής λοίμωξη συμβαίνει κυρίως κατά την παιδική ηλικία και είναι συνήθως ασυμπτωματική. Η οροεπιπολασμός στους ενηλίκους φθάνει το 90%. Μετά την πρωτοπαθή λοίμωξη, ο ιός BK παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση σε κύτταρα των νεφρών και μπορεί να επανενεργοποιηθεί σε καταστάσεις ανοσοανεπάρκειας, όπως η μεταμόσχευση.

Η λοίμωξη από τον ιό BK μπορεί να σχετιστεί με διαμεσοσωληναριακή νεφρίτιδα και ουρητηρική στένωση σε λήπτες νεφρικών μοσχευμάτων καθώς και με αιμορραγική κυστίτιδα σε λήπτες μοσχευμάτων μυελού των οστών. Έχει επίσης σχετιστεί με γνωρίσματα ασθενειών που αφορούν αγγειοπάθεια, πνευμονίτιδα, εγκεφαλίτιδα, αμφιβληστροειδίτιδα, ακόμη και πολυοργανική ανεπάρκεια.


Χαρακτηριστικός για την νεφροπάθεια που σχετίζεται με ιό polyoma (PAN), σε λήπτες νεφρικών μοσχευμάτων, είναι ο εμμένων πολλαπλασιασμός του ιού BK σε υψηλά επίπεδα. Οι κλινικά σημαντικές λοιμώξεις περιορίζονται ως επί το πλείστον σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς.

## Αρχές της διαδικασίας

Η ανίχνευση παθογόνων μικροοργανισμών με την αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR) βασίζεται στην ενίσχυση ειδικών περιοχών του γονιδιώματος του παθογόνου μικροοργανισμού. Στην PCR πραγματικού χρόνου, το προϊόν της ενίσχυσης ανιχνεύεται με φθορίζουσες χρωστικές. Αυτές είναι συνήθως συνδεδεμένες με ανιχνευτές ολιγονουκλεοτιδίων που προσδένονται ειδικά στο ενισχυμένο προϊόν. Η παρακολούθηση των εντάσεων φθορισμού κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης της PCR (δηλ. σε πραγματικό χρόνο) επιτρέπει την ανίχνευση και την ποσοτικοποίηση του συσσωρευόμενου προϊόντος χωρίς να χρειάζεται να ανοιχτούν ξανά τα σωληνάρια αντίδρασης μετά το πέρας της εκτέλεσης PCR.\*

## Υλικά που παρέχονται

### Περιεχόμενα του ΚΙΤ

<b>artus BK Virus RG PCR Kit</b>		<b>(24)</b>	<b>(96)</b>
<b>Αρ. καταλόγου</b>		<b>4514263</b>	<b>4514265</b>
<b>Αριθμός αντιδράσεων</b>		<b>24</b>	<b>96</b>
Μπλε	BK Virus RG Master	2 x 12 αντιδράσεις	8 x 12 αντιδράσεις
Κίτρινο	BK Virus RG Mg-Sol <sup>†</sup>	<b>Mg-Sol</b> 400 μl	400 μl
Κόκκινο	BK Virus RG QS 1 <sup>‡</sup> (1 x 10 <sup>4</sup> αντίγραφα/μl)	<b>QS</b> 200 μl	200 μl
Κόκκινο	BK Virus RG QS2 <sup>‡</sup> (1 x 10 <sup>3</sup> αντίγραφα/μl)	<b>QS</b> 200 μl	200 μl
Κόκκινο	BK Virus RG QS3 <sup>‡</sup> (1 x 10 <sup>2</sup> αντίγραφα/μl)	<b>QS</b> 200 μl	200 μl
Κόκκινο	BK Virus RG QS4 <sup>‡</sup> (1 x 10 <sup>1</sup> αντίγραφα/μl)	<b>QS</b> 200 μl	200 μl
Πράσινο	BK Virus RG IC <sup>§</sup>	<b>IC</b> 1.000 μl	2 x 1.000 μl
Λευκό	Νερό (βαθμού PCR)	1.000 μl	1.000 μl
	Εγχειρίδιο	 1	1

<sup>†</sup> Διάλυμα μαγνησίου.

<sup>‡</sup> Πρότυπο ποσοτικοποίησης.

<sup>§</sup> Πρότυπο εσωτερικού ελέγχου.

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

## Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται

Όταν εργάζεστε με χημικά θα πρέπει πάντοτε να φοράτε προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας (SDS), τα οποία και είναι διαθέσιμα από τον προμηθευτή του προϊόντος.

### Αντιδραστήρια

- Κιτ απομόνωσης DNA (βλέπε «Απομόνωση DNA», σελίδα 11)

### Αναλώσιμα

- Στείρα ρύγχη πιπέτας με φίλτρο
- Strip Tubes and Caps (Σωληνάρια και καπάκια ταινιών), 0,1 ml, για χρήση με στροφέα 72 φρεατίων (αριθμός καταλόγου 981103 ή 981106)
- Εναλλακτικά: PCR Tubes (Σωληνάρια PCR), 0,2 ml, για χρήση με στροφέα 36 φρεατίων (αριθμός καταλόγου 981005 ή 981008)

### Εξοπλισμός

- Πιπέτες (ρυθμιζόμενες)\*
- Αναδευτήρας τύπου vortex\*
- Επιτραπέζια φυγόκεντρος\* με στροφέα για σωληνάρια αντίδρασης των 2 ml
- Όργανο Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q, ή Rotor-Gene\*<sup>†</sup> με κανάλια φθορισμού για Cycling Green και Cycling Orange
- Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q με έκδοση λογισμικού 1.7.94 ή μεταγενέστερη (Rotor-Gene 6000 με έκδοση λογισμικού 1.7.65)
- Cooling block (Τεμάχιο ψύξης) (τεμάχιο φόρτωσης 72 σωληναρίων των 0,1 ml, αριθμός καταλόγου 9018901 ή τεμάχιο φόρτωσης 96 σωληναρίων των 0,2 ml, αριθμός καταλόγου 9018905)

## Προειδοποιήσεις και Προφυλάξεις

Για διαγνωστική χρήση in vitro

Όταν εργάζεστε με χημικά θα πρέπει πάντοτε να φοράτε προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες παρακαλείστε να ανατρέξετε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας (SDS). Αυτά τα δελτία είναι διαθέσιμα online σε εύχρηστη μορφή PDF στη διεύθυνση [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) όπου και μπορείτε να βρείτε, να προβάλλετε και να εκτυπώσετε τα δελτία SDS για κάθε κιτ και συστατικό των κιτ της QIAGEN.

\* Βεβαιωθείτε πως τα όργανα έχουν ελεγχθεί και βαθμονομηθεί σύμφωνα με τις συστάσεις του κατασκευαστή.

Η χρήση του κιτ *artus* BK Virus RG PCR δεν επιτρέπεται μαζί με όργανα Rotor-Gene Q 2plex.

Απορρίψτε τα απόβλητα δειγμάτων και προσδιορισμών σύμφωνα με τις εκάστοτε τοπικές διατάξεις ασφαλείας.

## Γενικές προφυλάξεις

Ο χρήστης πρέπει πάντοτε να λαμβάνει υπόψη του τα ακόλουθα σημεία:

- Χρησιμοποιείτε στείρα ρύγχη πιπέτας με φίλτρο.
- Φυλάσσετε και λαμβάνετε θετικά υλικά (δείγματα, θετικά πρότυπα ελέγχου και προϊόντα πολλαπλασιασμού) χωριστά από όλα τα υπόλοιπα αντιδραστήρια και προσθέτετέ τα στο μείγμα αντίδρασης σε χωρικά διαχωρισμένη εγκατάσταση.
- Αποψύχετε σχολαστικά όλα τα συστατικά σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) πριν από την έναρξη του προσδιορισμού.
- Μετά την απόψυξη, αναμίξτε τα συστατικά (πιέζοντας την πιπέτα επαναλαμβανόμενα προς τα επάνω και προς τα κάτω ή με παλμική ανάδευση (vortex)) και φυγοκεντρήστε σύντομα.
- Εργάζεστε γρήγορα και διατηρείτε τα συστατικά σε πάγο ή μέσα στο τεμάχιο ψύξης (τεμάχιο φόρτωσης 72/96 φρεατίων).

## Φύλαξη και χειρισμός αντιδραστηρίων

Τα συστατικά του kit *artus* BK Virus PCR θα πρέπει να φυλάσσονται στους -15°C έως -30°C και είναι σταθερά έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα. Θα πρέπει να αποφεύγεται η επαναλαμβανόμενη απόψυξη και κατάψυξη (>2 φορές) διότι μπορεί να επιφέρει έκπτωση της ευαισθησίας του προσδιορισμού. Για το λόγο αυτό, εάν η χρήση δεν είναι τακτική, τα αντιδραστήρια θα πρέπει να καταψύχονται σε κλάσματα. Η φύλαξη στους 2–8°C δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τις 5 ώρες.



## Διαδικασία

### Απομόνωση DNA

Το κιτ EZ1 DSP Virus (QIAGEN, αρ. καταλόγου 62724)\* έχει επικυρωθεί για τον καθαρισμό ιικών νουκλεϊκών οξέων από ανθρώπινο πλάσμα ή ούρα, για χρήση μαζί με το κιτ *artus* BK Virus RG PCR. Εκτελέστε τον καθαρισμό του ιικού DNA σύμφωνα με τις οδηγίες στο εγχειρίδιο κιτ EZ1 DSP Virus (*EZ1 DSP Virus Kit Handbook*).

**Σημείωση:** Η χρήση του κιτ *artus* BK Virus RG PCR δεν επιτρέπεται μαζί με μεθόδους απομόνωσης με βάση τη φαινόλη.

**Σημείωση:** Η χρήση φορέα RNA είναι κρίσιμης σημασίας για την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης και επομένως για την απόδοση DNA/RNA. Προσθέστε την κατάλληλη ποσότητα φορέα RNA σε κάθε εκχύλιση ακολουθώντας τις οδηγίες στο εγχειρίδιο κιτ EZ1 DSP Virus (*EZ1 DSP Virus Kit Handbook*).

**Σημείωση:** Το πρότυπο εσωτερικού ελέγχου του κιτ *artus* BK Virus RG PCR μπορεί να χρησιμοποιηθεί απευθείας στη διαδικασία απομόνωσης (βλέπε «Πρότυπο εσωτερικού ελέγχου», σελίδα 11).

**Σημείωση:** Συνιστούμε επισταμένως τη χρήση των κεκαθαμένων νουκλεϊκών οξέων για PCR αμέσως μετά την εκχύλιση με χρήση του κιτ EZ1 DSP Virus. Εναλλακτικά, τα εκλούσματα μπορούν να φυλαχθούν για έως 3 ημέρες στους 4°C πριν από την ανάλυση PCR.

### Πρότυπο εσωτερικού ελέγχου

Παρέχεται ένα πρότυπο εσωτερικού ελέγχου (BK Virus RG IC). Με τη βοήθειά του, ο χρήστης παρακολουθεί τη διαδικασία απομόνωσης DNA και ελέγχει τυχόν αναστολή της PCR. Για αυτήν την εφαρμογή, προσθέστε το πρότυπο εσωτερικού ελέγχου στην απομόνωση, σε αναλογία 0,1 μl ανά 1 μl όγκου έκλουσης. Για παράδειγμα, χρησιμοποιώντας το κιτ EZ1 DSP Virus, εάν τα ιικά νουκλεϊκά οξέα εκλούνται σε 60 μl ρυθμιστικού διαλύματος έκλουσης (AVE), τότε αρχικά θα πρέπει να προστεθούν 6 μl του προτύπου εσωτερικού ελέγχου.

**Σημείωση:** Το πρότυπο εσωτερικού ελέγχου και ο φορέας RNA (βλέπε «Απομόνωση DNA», σελίδα 11) πρέπει να προστίθενται μόνο στο μείγμα ρυθμιστικού διαλύματος λύσης και υλικού δείγματος ή απευθείας στο ρυθμιστικό διάλυμα λύσης.

\* Το κιτ EZ1 DSP Virus είναι επίσης διαθέσιμο με τη μορφή των κιτ EASYartus® BK Virus RG PCR με σήμανση CE για IVD, σε συνδυασμό με το κιτ *artus* BK Virus RG PCR (βλέπε σελίδα 32 για πληροφορίες παραγγελίας).

Το πρότυπο εσωτερικού ελέγχου δεν πρέπει να προστίθεται στο υλικό δείγματος απευθείας. Εάν προστεθεί στο ρυθμιστικό διάλυμα λύσης, παρακαλούμε σημειώστε ότι το μείγμα προτύπου εσωτερικού ελέγχου και ρυθμιστικού διαλύματος λύσης–φορέα RNA πρέπει να παρασκευάζεται φρέσκο και να χρησιμοποιείται αμέσως (η φύλαξη του μείγματος σε θερμοκρασία δωματίου ή στο ψυγείο για μόνο μερικές ώρες μπορεί να οδηγήσει σε αποτυχία του προτύπου εσωτερικού ελέγχου και μειωμένη αποτελεσματικότητα εκχύλισης).

**Σημείωση:** Μην προσθέτετε το πρότυπο εσωτερικού ελέγχου και το φορέα RNA απευθείας στο υλικό του δείγματος.

Προαιρετικά, το πρότυπο εσωτερικού ελέγχου μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποκλειστικά για τον έλεγχο τυχόν αναστολής της PCR. Για αυτήν την εφαρμογή, προσθέστε το πρότυπο εσωτερικού ελέγχου απευθείας στο μείγμα BK Virus RG Master και BK Virus RG Mg-Sol, όπως περιγράφεται στο βήμα 2β του πρωτοκόλλου (σελίδα 15).

## Πρωτόκολλο: PCR και ανάλυση δεδομένων

### Σημαντικές υποδείξεις πριν από την έναρξη

- Αφιερώστε χρόνο για να εξοικειωθείτε με το όργανο Rotor-Gene Q προτού ξεκινήσετε το πρωτόκολλο. Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήσης του οργάνου.
- Βεβαιωθείτε ότι τουλάχιστον ένα πρότυπο ποσοτικοποίησης καθώς και ένα αρνητικό πρότυπο ελέγχου (νερό, βαθμού PCR) συμπεριλαμβάνονται ανά εκτέλεση PCR. Για τη δημιουργία τυπικής καμπύλης, χρησιμοποιήστε και τα 4 παρεχόμενα πρότυπα ποσοτικοποίησης (BK Virus RG QS 1–4) για κάθε εκτέλεση PCR.

### Απαραίτητες ενέργειες πριν από την έναρξη

- Βεβαιωθείτε ότι το τεμάχιο ψύξης (προαιρετικό εξάρτημα του οργάνου Rotor-Gene Q) έχει προψυχθεί στους 2–8°C.
- Πριν από κάθε χρήση, όλα τα αντιδραστήρια θα πρέπει να αποψύχονται πλήρως, να αναμειγνύονται (με επαναλαμβανόμενη πίεση προς τα επάνω και προς τα κάτω της πιπέτας ή με ταχεία ανάδευση σε αναδευτήρα τύπου vortex) και να φυγοκεντρώνονται σύντομα.

### Διαδικασία

1. Τοποθετήστε τον επιθυμητό αριθμό σωληναρίων PCR στους προσαρμογείς του τεμαχίου ψύξης.
  2. Εάν χρησιμοποιείτε το πρότυπο εσωτερικού ελέγχου για την παρακολούθηση της διαδικασίας απομόνωσης DNA και τον έλεγχο ως προς τυχόν αναστολή της PCR, ακολουθήστε το βήμα 2α. Εάν χρησιμοποιείτε το πρότυπο εσωτερικού ελέγχου αποκλειστικά για τον έλεγχο αναστολής της PCR, ακολουθήστε το βήμα 2β.
- 2α. Το πρότυπο εσωτερικού ελέγχου έχει ήδη προστεθεί στην απομόνωση (βλέπε «Πρότυπο εσωτερικού ελέγχου», σελίδα 11). Σε αυτήν την περίπτωση, προετοιμάστε ένα μείγμα master, σύμφωνα με τον Πίνακα 1.**

Το μείγμα αντίδρασης περιέχει τυπικά όλα τα συστατικά που απαιτούνται για την PCR, εκτός από το δείγμα.

**Πίνακας 1. Προετοιμασία του μείγματος master (το πρότυπο εσωτερικού ελέγχου χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση της απομόνωσης DNA και τον έλεγχο της αναστολής PCR)**

<b>Αριθμός δειγμάτων</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
BK Virus RG Master	7 μl	84 μl
BK Virus RG Mg-Sol	3 μl	36 μl
BK Virus RG IC	0 μl	0 μl
<b>Συνολικός όγκος</b>	<b>10 μl</b>	<b>120 μl</b>

- 2β. Το πρότυπο εσωτερικού ελέγχου πρέπει να προστεθεί απευθείας στο μείγμα BK Virus RG Master και BK Virus RG Mg-Sol. Σε αυτήν την περίπτωση, προετοιμάστε ένα μείγμα master, σύμφωνα με τον Πίνακα 2.**

Το μείγμα αντίδρασης περιέχει τυπικά όλα τα συστατικά που απαιτούνται για την PCR, εκτός από το δείγμα.

**Πίνακας 2. Προετοιμασία του μείγματος master (το πρότυπο εσωτερικού ελέγχου χρησιμοποιείται αποκλειστικά για τον έλεγχο της αναστολής PCR)**

<b>Αριθμός δειγμάτων</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
BK Virus RG Master	7 μl	84 μl
BK Virus RG Mg-Sol	3 μl	36 μl
BK Virus RG IC	1,5 μl	18 μl
<b>Συνολικός όγκος</b>	<b>11,5 μl*</b>	<b>138 μl*</b>

\* Η αύξηση του όγκου λόγω της προσθήκης του προτύπου εσωτερικού ελέγχου δεν λαμβάνεται υπόψη κατά την προετοιμασία του προσδιορισμού PCR. Η ευαισθησία του συστήματος ανίχνευσης δεν επηρεάζεται.

- 3. Διανείμετε με πιπέτα 10 μl του μείγματος master σε κάθε σωληνάριο PCR. Στη συνέχεια προσθέστε 15 μl του εκλουσμένου DNA δείγματος (βλέπε Πίνακα 3). Αντίστοιχα, θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν 15 μl τουλάχιστον ενός από τα πρότυπα ποσοτικοποίησης (BK Virus RG QS 1–4) ως θετικό πρότυπο ελέγχου και 15 μl νερού (νερό, βαθμού PCR) ως αρνητικό πρότυπο ελέγχου.**

**Πίνακας 3. Προετοιμασία της αντίδρασης PCR**

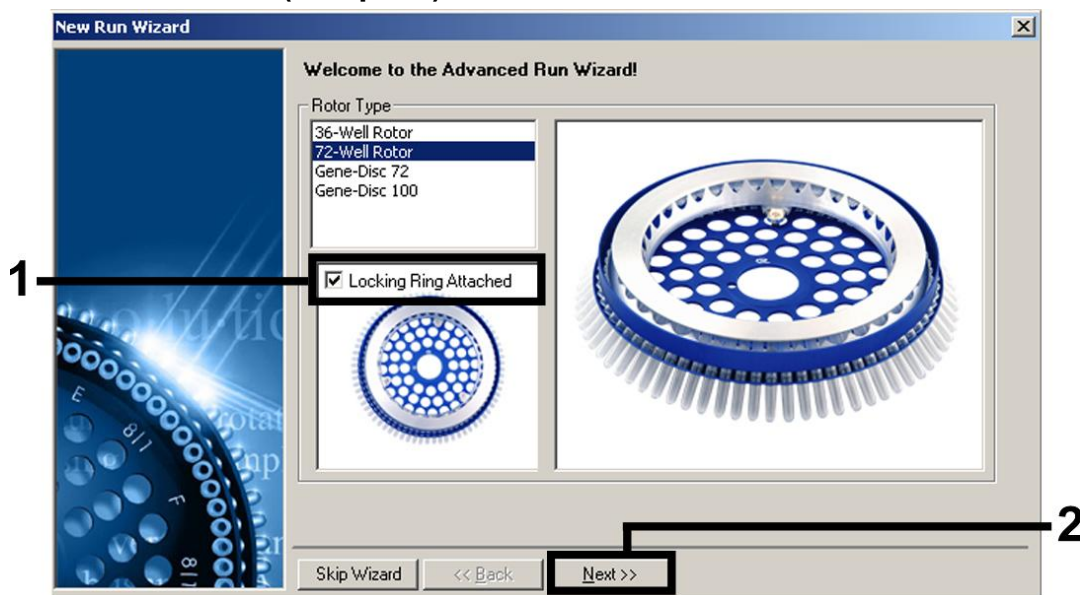
<b>Αριθμός δειγμάτων</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
Μείγμα master	10 µl	ανά 10 µl
Δείγμα	15 µl	ανά 15 µl
<b>Συνολικός όγκος</b>	<b>25 µl</b>	<b>ανά 25 µl</b>

4. Κλείστε τα σωληνάρια PCR. Βεβαιωθείτε πως ο δακτύλιος ασφάλισης (προαιρετικό εξάρτημα του οργάνου Rotor-Gene) έχει τοποθετηθεί επάνω από το στροφέα για την αποτροπή του ακούσιου ανοίγματος των σωληναρίων κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης.
5. Για την ανίχνευση DNA από ιό BK, δημιουργήστε ένα θερμοκρασιακό προφίλ σύμφωνα με τα ακόλουθα βήματα.

<b>Ρύθμιση των γενικών παραμέτρων του προσδιορισμού</b>	<b>Σχήματα 1, 2, 3</b>
<b>Αρχική ενεργοποίηση του ενζύμου hot-start</b>	<b>Σχήμα 4</b>
<b>Ενίσχυση του DNA</b>	<b>Σχήμα 5</b>
<b>Προσαρμογή της ευαισθησίας του καναλιού φθορισμού</b>	<b>Σχήμα 6</b>
<b>Έναρξη της εκτέλεσης</b>	<b>Σχήμα 7</b>

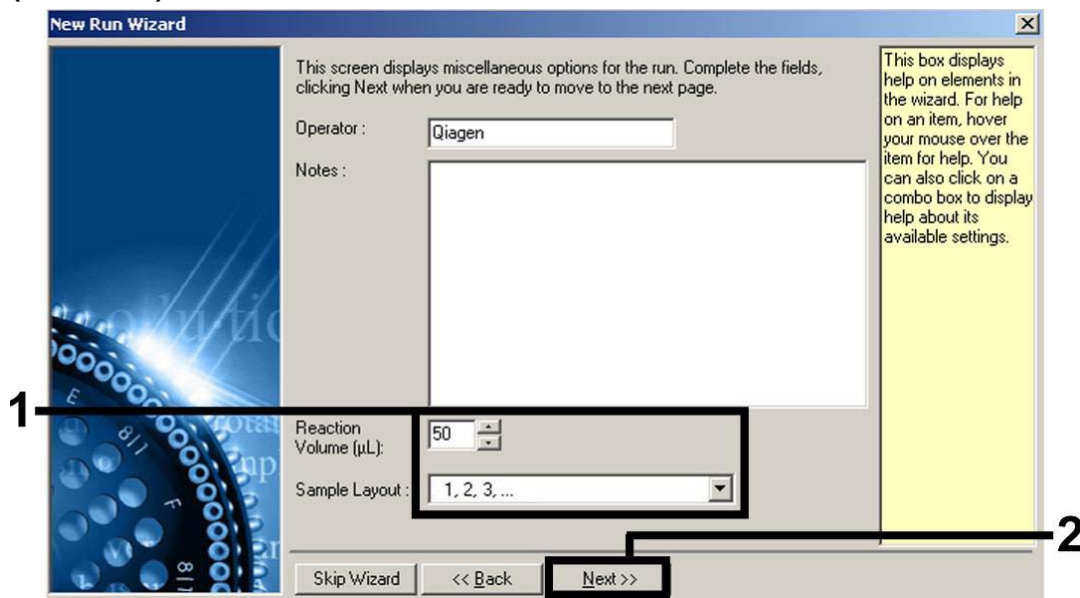
Όλες οι προδιαγραφές αναφέρονται στο Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q με έκδοση λογισμικού 1.7.94, και στο Rotor-Gene 6000 με έκδοση λογισμικού 1.7.65. Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τον προγραμματισμό των οργάνων Rotor-Gene παρακαλείστε να ανατρέξετε στο εγχειρίδιο χρήσης του οργάνου. Στις απεικονίσεις, οι ρυθμίσεις αυτές πλαισιώνονται με έντονο μαύρο χρώμα. Περιλαμβάνονται απεικονίσεις για τα όργανα Rotor-Gene Q.

6. Ανοίξτε κατ'αρχήν το πλαίσιο διαλόγου «NEW RUN WIZARD» (Οδηγός νέας εκτέλεσης) (Εικόνα 1). Επιλέξτε το πλαίσιο «LOCKING RING ATTACHED» (Προσαρτημένος δακτύλιος ασφάλισης) και κάντε κλικ στο «NEXT» (Επόμενο).



Εικόνα 1. Το πλαίσιο διαλόγου «NEW RUN WIZARD».

7. Επιλέξτε 50 ως τον όγκο αντίδρασης PCR και κάντε κλικ στο «NEXT» (Εικόνα 2).

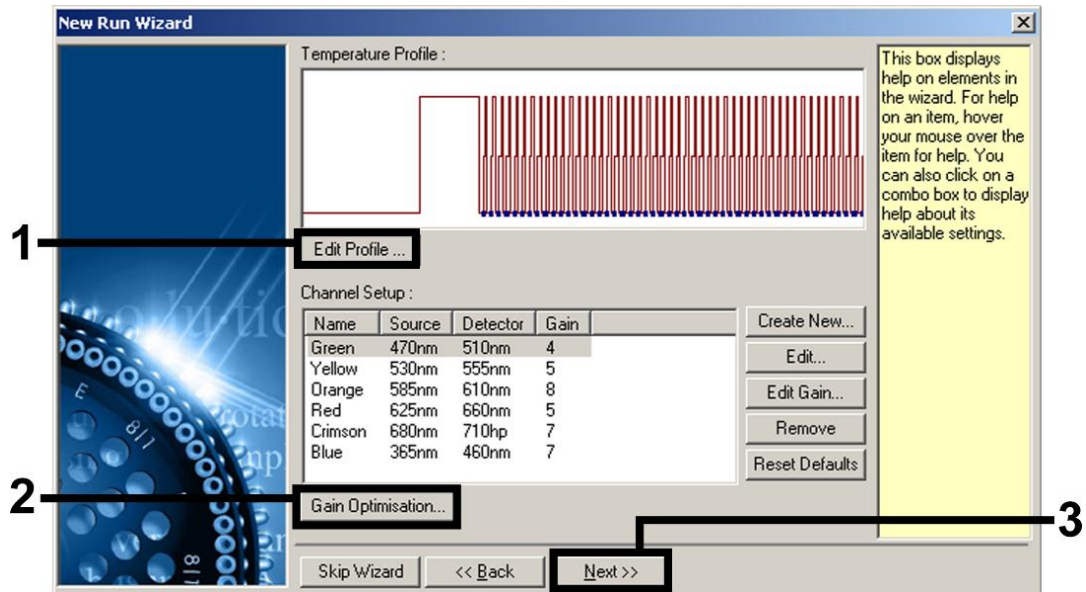


Εικόνα 2. Ρύθμιση των γενικών παραμέτρων του προσδιορισμού.

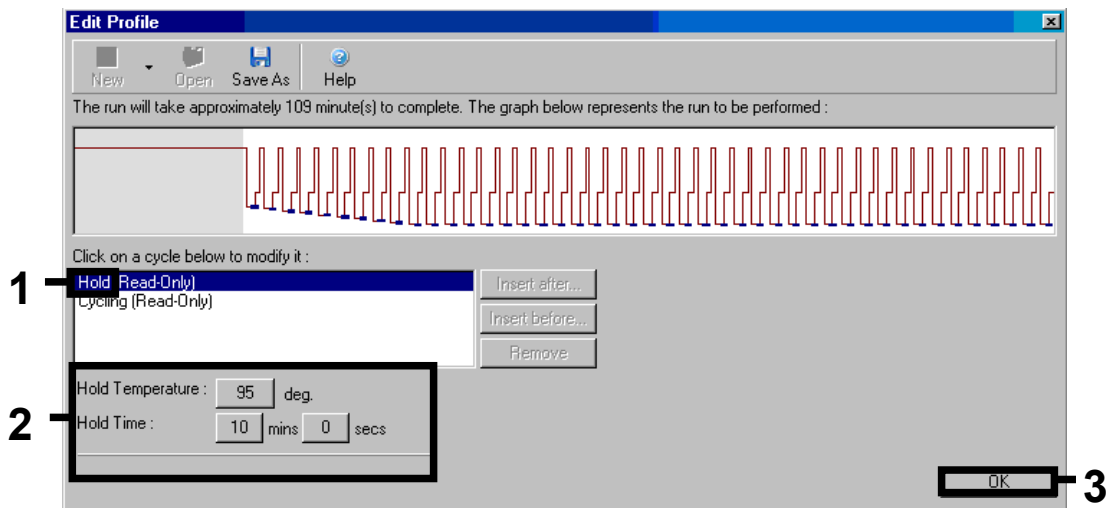
**Σημείωση:** Αν και ο όγκος φυσικής αντίδρασης είναι 25 µl, βεβαιωθείτε ότι επιλέξατε 50 για τον όγκο αντίδρασης στο λογισμικό του Rotor-Gene.

8. Κάντε κλικ στο κουμπί «EDIT PROFILE» (Επεξεργασία προφίλ) στο ακόλουθο πλαίσιο διαλόγου «NEW RUN WIZARD» (Εικόνα 3) και

προγραμματίστε το θερμοκρασιακό προφίλ με τον τρόπο που φαίνεται στις Εικόνες 3–5.

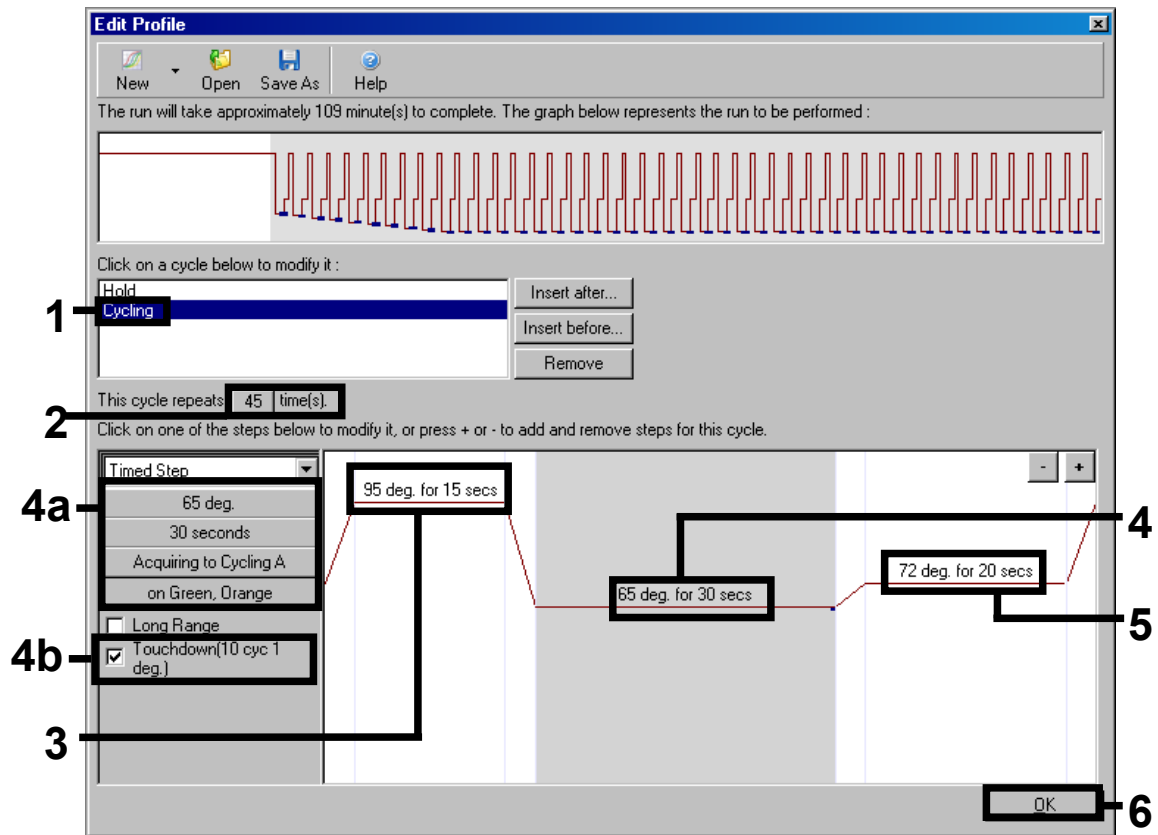


Εικόνα 3. Επεξεργασία του προφίλ.



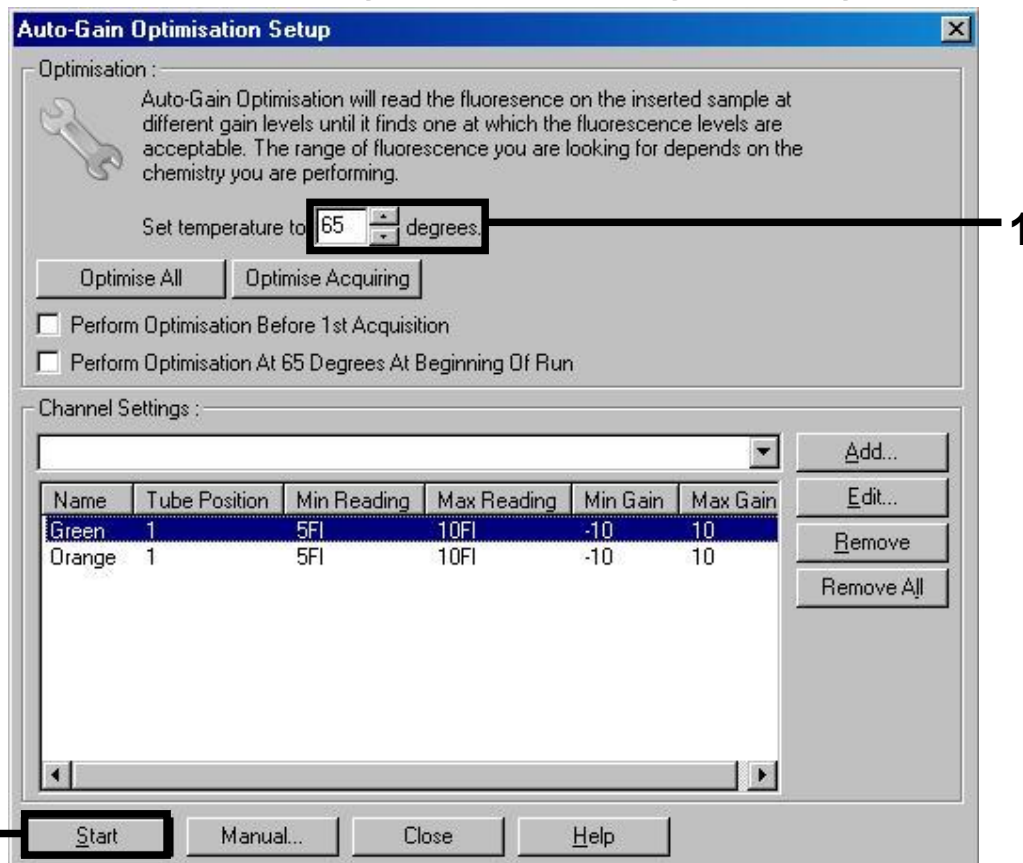
Εικόνα 4. Αρχική ενεργοποίηση του ενζύμου hot-start.





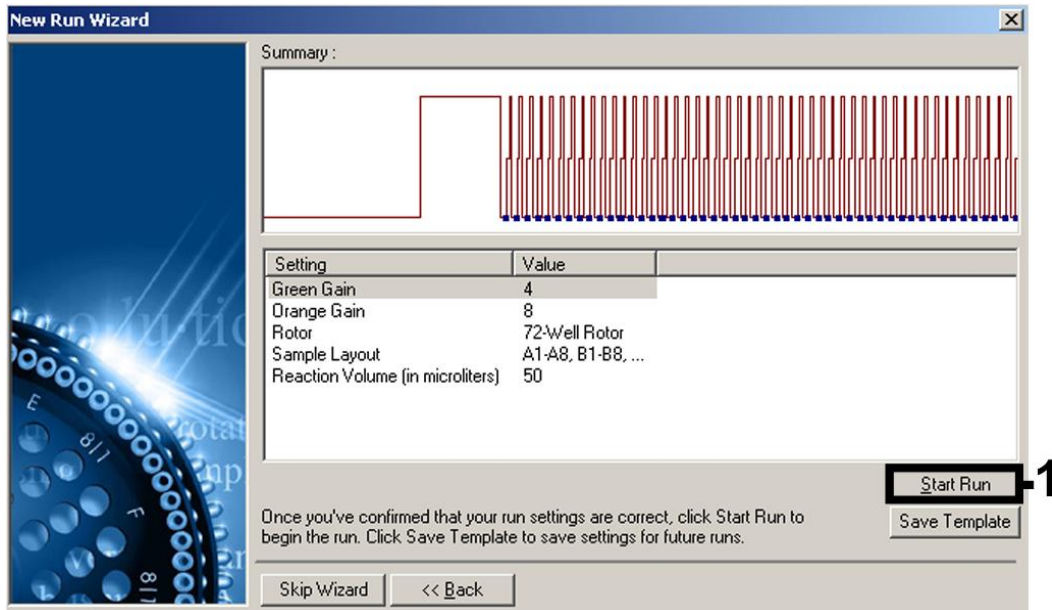
**Εικόνα 5. Ενίσχυση του DNA.** Βεβαιωθείτε πως έχετε ενεργοποιήσει τη λειτουργία touchdown για 10 κύκλους στο βήμα ANNEALING (Ανασύνδεσης).

9. Τό εύρος ανίχνευσης των καναλιών φθορισμού πρέπει να καθοριστεί σύμφωνα με τις εντάσεις φθορισμού στα σωληνάρια PCR. Κάντε κλικ στο «GAIN OPTIMISATION» (Βελτιστοποίηση απολαβής) στο πλαίσιο διαλόγου «NEW RUN WIZARD» (Βλέπε Εικόνα 3) για να ανοίξετε το πλαίσιο διαλόγου «AUTO-GAIN OPTIMISATION SETUP» (Ρύθμιση παραμέτρων αυτόματης βελτιστοποίησης απολαβής). Ρυθμίστε τη θερμοκρασία βαθμονόμησης στο 65 για να αντιστοιχεί στη θερμοκρασία ανασύνδεσης του προγράμματος ενίσχυσης (Εικόνα 6).



Εικόνα 6. Προσαρμογή της ευαισθησίας του καναλιού φθορισμού.

10. Οι τιμές απολαβής που καθορίζονται από τη βαθμονόμηση του καναλιού αποθηκεύονται αυτομάτως και παρατίθενται στο τελευταίο παράθυρο μενού της διαδικασίας προγραμματισμού (Εικόνα 7). Κάντε κλικ στο «START RUN» (Εκκίνηση εκτέλεσης).



Εικόνα 7. Έναρξη της εκτέλεσης.

## Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

### Ποσοτικοποίηση

Τα εσώκλειστα πρότυπα ποσοτικοποίησης (BK Virus RG QS 1–4) αντιμετωπίζονται ως προηγούμενως καθαρισμένα δείγματα και χρησιμοποιείται ο ίδιος όγκος (15 µl). Για να δημιουργήσετε μία πρότυπη καμπύλη σε όργανα Rotor-Gene Q θα πρέπει να χρησιμοποιήσετε και τα 4 πρότυπα ποσοτικοποίησης και να τα ορίσετε στο πλαίσιο διαλόγου «EDIT SAMPLES» (Επεξεργασία δειγμάτων) ως πρότυπα με τις συγκεκριμένες συγκεντρώσεις (Βλέπε εγχειρίδιο χρήσης του οργάνου).

**Σημείωση:** Τα πρότυπα ποσοτικοποίησης ορίζονται ως αντίγραφα/µl. Η παρακάτω εξίσωση πρέπει να χρησιμοποιηθεί για τη μετατροπή των τιμών που προσδιορίζονται με χρήση της πρότυπης καμπύλης σε αντίγραφα/ml του υλικού δείγματος:

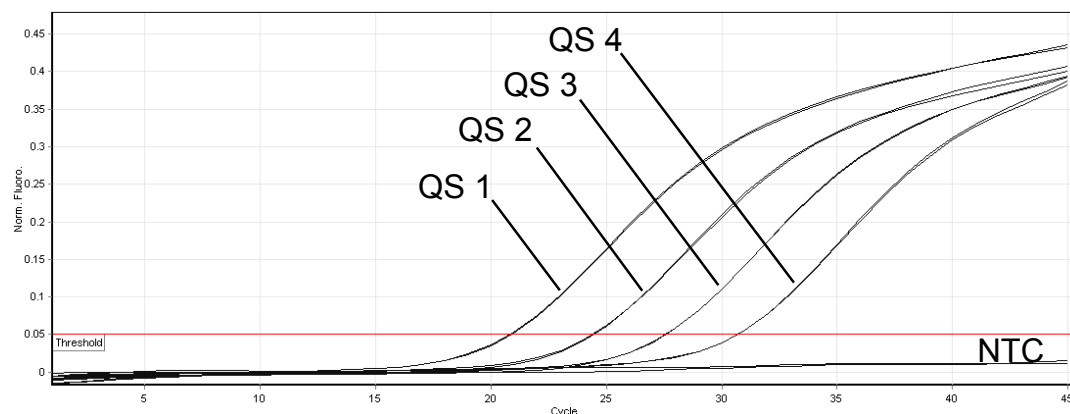
$$\text{Αποτέλεσμα (αντίγραφα/ml)} = \frac{\text{Αποτέλεσμα (αντίγραφα/µl)} \times \text{Όγκος έκλουσης (µl)}}{\text{Όγκος δείγματος (ml)}}$$

Κατ' αρχήν, ο αρχικός όγκος δείγματος πρέπει να καταχωρηθεί στην παραπάνω εξίσωση. Αυτό πρέπει να ληφθεί υπόψη σε περίπτωση τροποποίησης του όγκου δείγματος πριν από την εκχύλιση του νουκλεϊκού

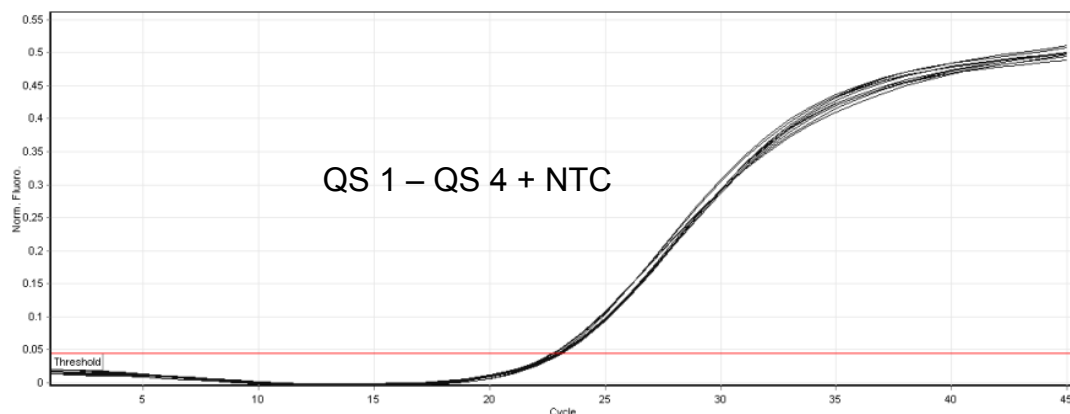
οξέος (π.χ., μείωση του όγκου με φυγοκέντρηση ή αύξηση του όγκου με προσθήκη του απαιτούμενου για την απομόνωση όγκου).

## Αποτελέσματα

Παραδείγματα θετικών και αρνητικών αντιδράσεων PCR παρέχονται στην Εικόνα 8 και στην Εικόνα 9.



**Εικόνα 8. Ανίχνευση των προτύπων ποσοτικοποίησης (BK Virus RG QS 1–4) στο κανάλι φθορισμού Cycling Green. NTC: No template control (αρνητικό πρότυπο ελέγχου).**



**Εικόνα 9. Ανίχνευση του προτύπου εσωτερικού ελέγχου (IC) στο κανάλι φθορισμού Cycling Orange με ταυτόχρονη ενίσχυση των προτύπων ποσοτικοποίησης (BK Virus RG QS 1–4). NTC: No template control (αρνητικό πρότυπο ελέγχου).**

Ένα σήμα ανιχνεύεται στο κανάλι φθορισμού Cycling Green. Το αποτέλεσμα της ανάλυσης είναι θετικό: το δείγμα περιέχει DNA από ιό BK.

Σε αυτήν την περίπτωση, η ανίχνευση ενός σήματος στο κανάλι Cycling Orange μπορεί να αγνοηθεί, και αυτό διότι υψηλές αρχικές συγκεντρώσεις DNA από ιό BK (θετικό σήμα στο κανάλι Cycling Green) μπορούν να οδηγήσουν σε μείωση ή απώλεια σήματος φθορισμού του προτύπου εσωτερικού ελέγχου στο κανάλι Cycling Orange (ανταγωνισμός).

**Στο κανάλι φθορισμού Cycling Green δεν ανιχνεύεται σήμα. Ταυτόχρονα, εμφανίζεται σήμα του προτύπου εσωτερικού ελέγχου στο κανάλι Cycling**

## Orange.

**Στο δείγμα δεν υπάρχει ανιχνεύσιμο DNA από ιό BK. Το δείγμα μπορεί να θεωρηθεί αρνητικό.**

Στην περίπτωση αρνητικής PCR για τον ιό BK, το ανιχνευμένο σήμα του προτύπου εσωτερικού ελέγχου αποκλείει το ενδεχόμενο αναστολής της PCR.

**Κανένα σήμα δεν ανιχνεύεται στο κανάλι Cycling Green ή στο κανάλι Cycling Orange.**

**Η λήψη αποτελέσματος δεν είναι δυνατή.**

Πληροφορίες σχετικά με τις πηγές σφαλμάτων και την επίλυσή τους θα βρείτε στο «Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων», παρακάτω.

## Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων

Αυτός ο οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων μπορεί να σας βοηθήσει στην επίλυση οποιωνδήποτε προβλημάτων που ενδεχομένως προκύψουν. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στη σελίδα Frequently Asked Questions (Συχνές ερωτήσεις) του Κέντρου τεχνικής υποστήριξης της εταιρείας μας: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Οι επιστήμονες των Τεχνικών Υπηρεσιών QIAGEN είναι πάντοτε πρόθυμοι(-ες) να απαντήσουν σε οποιεσδήποτε απορίες σας σχετικά με τις πληροφορίες και τα πρωτόκολλα αυτού του εγχειριδίου ή τεχνολογίες δειγμάτων και προσδιορισμών (για πληροφορίες επικοινωνίας, βλ. οπισθόφυλλο ή επισκεφθείτε μας στη διεύθυνση [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

### Σχόλια και προτάσεις

---

#### **Απουσία σήματος με θετικά πρότυπα ελέγχου (BK Virus RG QS 1–4) στο κανάλι φθορισμού Cycling Green**

- |  |  |
|--|--|
| α) Το επιλεγμένο κανάλι φθορισμού για ανάλυση δεδομένων PCR δεν συμμορφώνεται με το πρωτόκολλο | Για ανάλυση δεδομένων επιλέξτε το κανάλι φθορισμού Cycling Green για την ανάλυση PCR για ιό BK και το κανάλι φθορισμού Cycling Orange για την PCR προτύπου εσωτερικού ελέγχου. |
| β) Λανθασμένος προγραμματισμός του θερμοκρασιακού προφίλ στο όργανο Rotor--Gene                | Συγκρίνετε το προφίλ θερμοκρασίας με το πρωτόκολλο. Βλέπε «Πρωτόκολλο: PCR και ανάλυση δεδομένων», σελίδα 14.  |
| γ) Λανθασμένη διαμόρφωση της PCR   | Ελέγξτε τα βήματα του σχήματος διανομής με πιπέτα και επαναλάβετε την PCR εάν είναι απαραίτητο. Βλέπε «Πρωτόκολλο: PCR και ανάλυση δεδομένων», σελίδα 14.                      |

## Σχόλια και προτάσεις

---

- δ) Οι συνθήκες φύλαξης για ένα ή περισσότερα συστατικά του kit δεν ήταν σύμφωνες με τις οδηγίες της ενότητας «Φύλαξη και χειρισμός αντιδραστηρίων» (σελίδα 10) Ελέγξτε τις συνθήκες φύλαξης και την ημερομηνία λήξης (βλ. ετικέτα του kit) των αντιδραστηρίων και χρησιμοποιήστε νέο kit, εάν χρειαστεί.
- ε) Το kit *artus* BK Virus RG PCR έχει λήξει Ελέγξτε τις συνθήκες φύλαξης και την ημερομηνία λήξης (βλ. ετικέτα του kit) των αντιδραστηρίων και χρησιμοποιήστε νέο kit, εάν χρειαστεί.

**Αδύναμο σήμα ή απουσία σήματος του προτύπου εσωτερικού ελέγχου ενός αρνητικού δείγματος πλάσματος ή ούρων που υποβλήθηκε σε διαδικασία καθαρισμού με χρήση του kit *artus* BK Virus RG PCR στο κανάλι φθορισμού *Cycling Orange* και ταυτόχρονη απουσία σήματος στο κανάλι *Cycling Green***

- α) Οι συνθήκες PCR δεν συμμορφώνονται με το πρωτόκολλο Ελέγξτε τις συνθήκες PCR (βλ. παραπάνω) και επαναλάβετε την PCR με διορθωμένες ρυθμίσεις, εάν είναι απαραίτητο.
- β) Συνέβη αναστολή της PCR Βεβαιωθείτε πως χρησιμοποιείτε τη συνιστώμενη μέθοδο απομόνωσης και ακολουθήστε προσεκτικά τις οδηγίες του κατασκευαστή.
- γ) Χάθηκε DNA κατά την εκχύλιση Εάν το πρότυπο εσωτερικού ελέγχου προστέθηκε στην εκχύλιση, η απουσία σήματος του προτύπου εσωτερικού ελέγχου μπορεί να υποδεικνύει απώλεια κατά την εκχύλιση. Βεβαιωθείτε ότι χρησιμοποιείτε τη συνιστώμενη μέθοδο απομόνωσης (βλέπε «Απομόνωση DNA», σελίδα 11) και ακολουθήστε πιστά τις οδηγίες του κατασκευαστή.
- δ) Οι συνθήκες φύλαξης για ένα ή περισσότερα συστατικά του kit δεν ήταν σύμφωνες με τις οδηγίες της ενότητας «Φύλαξη και χειρισμός αντιδραστηρίων» (σελίδα 10) Ελέγξτε τις συνθήκες φύλαξης και την ημερομηνία λήξης (βλ. ετικέτα του kit) των αντιδραστηρίων και χρησιμοποιήστε νέο kit, εάν χρειαστεί.

## Σχόλια και προτάσεις

---

- ε) Το κιτ *artus* BK Virus RG PCR έχει λήξει Ελέγξτε τις συνθήκες φύλαξης και την ημερομηνία λήξης (βλ. ετικέτα του κιτ) των αντιδραστηρίων και χρησιμοποιήστε νέο κιτ, εάν χρειαστεί.

### Σήματα με τα αρνητικά πρότυπα ελέγχου στο κανάλι φθορισμού **Cycling Green** της ανάλυσης PCR

- α) Συνέβη επιμόλυνση κατά την προετοιμασία της PCR Επαναλάβετε την PCR με νέα αντιδραστήρια σε αντίγραφο.  
Εάν είναι εφικτό, κλείστε τα σωληνάρια PCR αμέσως μετά την προσθήκη του δείγματος που θα υποβληθεί σε έλεγχο.  
Βεβαιωθείτε πως τα θετικά πρότυπα ελέγχου διανέμονται με πιπέτα τελευταία.  
Βεβαιωθείτε πως ο χώρος εργασίας και τα όργανα απολυμαίνονται σε τακτά χρονικά διαστήματα.
- β) Συνέβη επιμόλυνση κατά την εκχύλιση Επαναλάβετε την εκχύλιση και την PCR του δείγματος που θα υποβληθεί σε έλεγχο, χρησιμοποιώντας νέα αντιδραστήρια.  
Βεβαιωθείτε πως ο χώρος εργασίας και τα όργανα απολυμαίνονται σε τακτά χρονικά διαστήματα.

## Ποιοτικός έλεγχος

Σε συμμόρφωση με το πιστοποιημένο με ISO Σύστημα Διαχείρισης Ποιότητας της QIAGEN, κάθε παρτίδα του κιτ *artus* BK Virus RG PCR ελέγχεται ως προς τις προκαθορισμένες προδιαγραφές για την διασφάλιση ομοιογενούς ποιότητας των προϊόντων.

## Περιορισμοί

Το προϊόν πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο από ειδικά καταρτισμένο και εκπαιδευμένο προσωπικό στις *in vitro* διαγνωστικές διαδικασίες.

Για βέλτιστα αποτελέσματα της PCR απαιτείται αυστηρή συμμόρφωση με το εγχειρίδιο χρήσης.

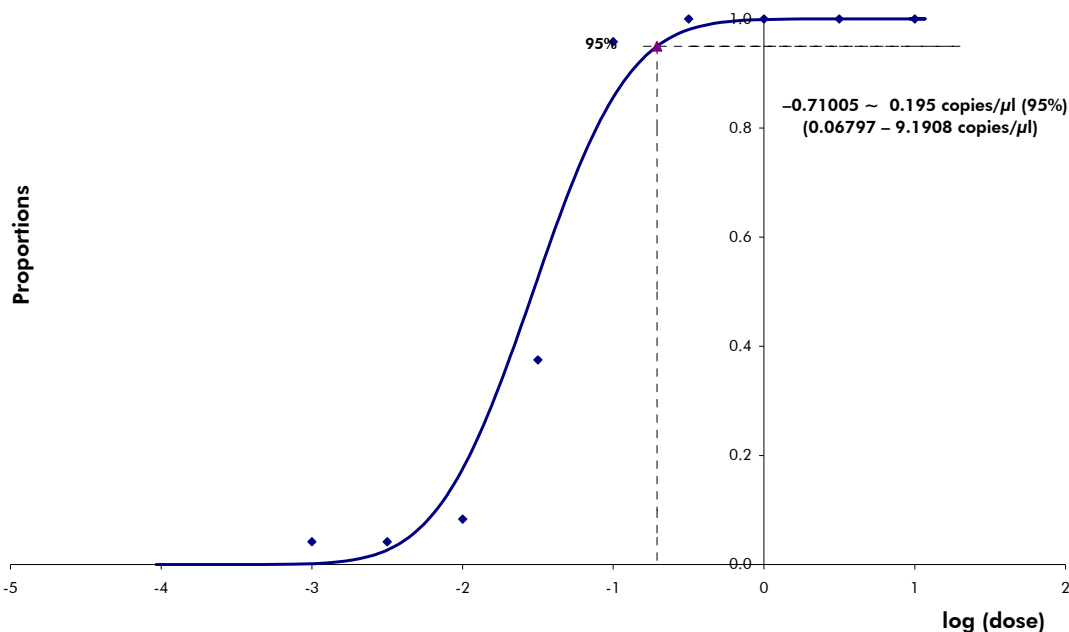
Δώστε προσοχή στις ημερομηνίες λήξης που αναγράφονται στο κουτί και στις ετικέτες όλων των συστατικών. Μη χρησιμοποιείτε τα συστατικά μετά την ημερομηνία λήξης τους.

Αν και σπάνιες, οι μεταλλάξεις εντός των εξαιρετικά συντηρημένων περιοχών του ιικού γονιδιώματος που καλύπτονται από τους εκκινητές και/ή τον ανιχνευτή του κιτ, μπορούν να έχουν ως αποτέλεσμα χαμηλότερες ποσοτικές τιμές ή αδυναμία ανίχνευσης της παρουσίας του ιού στις περιπτώσεις αυτές. Η εγκυρότητα και η απόδοση της σχεδίασης του προσδιορισμού αναθεωρούνται ανά τακτά διαστήματα.

## Χαρακτηριστικά απόδοσης

### Αναλυτική ευαισθησία

Για τον καθορισμό της αναλυτικής ευαισθησίας του κιτ *artus* BK Virus RG PCR, προετοιμάστηκε τυπική σειρά αραιώσης από 10 έως ονομαστικά 0,001 ισοδύναμα αντιγράφων/μλ και υποβλήθηκε σε ανάλυση στο Rotor-Gene 6000 σε συνδυασμό με το κιτ *artus* BK Virus RG PCR. Η δοκιμασία εκτελέστηκε σε 3 διαφορετικές ημέρες σε 8 θυγατρικούς κλώνους. Η εξαγωγή των αποτελεσμάτων έγινε με τη βοήθεια ανάλυσης Probit. Μια γραφική αναπαράσταση της ανάλυσης probit στο Rotor-Gene 6000 παρουσιάζεται στην Εικόνα 10. Το όριο ανίχνευσης της ανάλυσης του κιτ *artus* BK Virus RG PCR σε συνδυασμό με το Rotor-Gene Q MDx/Q/6000 είναι 0,195 αντίγραφα/μλ ( $p = 0,05$ ). Αυτό σημαίνει ότι 0,195 αντίγραφα/μλ ανιχνεύονται με πιθανότητα 95%.



Εικόνα 10. Ανάλυση Probit: Ιός BK (Rotor-Gene 6000). Αναλυτική ευαισθησία για τον HSV-1 του κιτ *artus* BK Virus RG PCR στο Rotor-Gene 6000.



## Ειδικότητα

Η ειδικότητα του kit *artus* BK Virus PCR διασφαλίζεται κατά κύριο λόγο από την επιλογή των εκκινητών και των ανιχνευτών, καθώς και από την τήρηση αυστηρών συνθηκών για την αντίδραση. Οι εκκινητές και οι ανιχνευτές ελέγχθηκαν ως προς πιθανές ομολογίες με όλες τις δημοσιευμένες ακολουθίες σε τράπεζες γονιδίων μέσω ανάλυσης σύγκρισης ακολουθιών. Η ανιχνευσιμότητα όλων των σχετικών στελεχών διασφαλίστηκε με ευθυγράμμιση βάσης δεδομένων και μία εκτέλεση PCR σε όργανα Rotor-Gene με τα ακόλουθα στελέχη (βλέπε Πίνακα 4).

**Πίνακας 4. Εξέταση της ειδικότητας σχετικών στελεχών**

Ιός	Στέλεχος	Προέλευση	Ιός BK (Cycling Green)	Πρότυπο εσωτερικού ελέγχου (Cycling Orange)
Ιός BK	Dunlop	ATCC*	+	+
Ιός BK	Gardner	ATCC	+	+
Ιός BK	AB269822	Geneart	+	+
Ιός BK	S72390	Geneart	+	+

\* American Type Culture Collection.

Εκτός αυτού, η ειδικότητα επαληθεύτηκε με 30 διαφορετικά αρνητικά για τον ιό BK δείγματα πλάσματος. Αυτά δεν παρήγαγαν κανένα σήμα με τους ειδικούς για τον ιό BK ενισχυτές και ανιχνευτές, που περιλαμβάνονται στο BK Virus RG Master.

Ελέγχθηκε μία πιθανή διασταυρούμενη αντιδραστικότητα του kit *artus* BK Virus RG PCR με χρήση της ομάδας προτύπων ελέγχου που παρατίθεται στον Πίνακα 5. Κανένας από τους εξεταζόμενους παθογόνους παράγοντες δεν προκάλεσε αντίδραση. Δεν παρουσιάστηκαν διασταυρούμενες αντιδραστικότητες σε μεικτές λοιμώξεις.

**Πίνακας 5. Έλεγχος της ειδικότητας του kit με δυνητικώς διασταυρούμενα αντιδρώντα παθογόνα**

<b>Ομάδα ελέγχου</b>	<b>Ιός BK (Cycling Green)</b>	<b>Πρότυπο εσωτερικού ελέγχου (Cycling Orange)</b>
Κυτταρομεγαλοϊός	–	+
Ιός Epstein-Barr	–	+
Ανθρώπινος ιός έρπητα 1 (ιός απλού έρπητα 1)	–	+
Ανθρώπινος ιός έρπητα 2 (ιός απλού έρπητα 2)	–	+
Ανθρώπινος ιός έρπητα 3 (ιός varicella-zoster)	–	+
Ανθρώπινος ιός έρπητα 6	–	+
Ιός JC	–	+
Ιός πιθήκου 40	–	+
<i>Candida albicans</i>	–	+

## **Ακρίβεια**

Τα δεδομένα ακρίβειας του kit *artus* BK Virus RG PCR συλλέχθηκαν με τη βοήθεια οργάνων Rotor-Gene και παρέχουν τη δυνατότητα καθορισμού της ολικής διακύμανσης του προσδιορισμού. Η ολική διασπορά αποτελείται από τη μεταβλητότητα εντός του προσδιορισμού (μεταβλητότητα πολλαπλών αποτελεσμάτων δειγμάτων της ίδιας συγκέντρωσης, στα πλαίσια ενός πειράματος), τη μεταβλητότητα μεταξύ διαφορετικών προσδιορισμών (μεταβλητότητα πολλαπλών αποτελεσμάτων του προσδιορισμού που παρήχθησαν σε διαφορετικά όργανα του ίδιου τύπου από διαφορετικούς χειριστές εντός του ίδιου εργαστηρίου) και τη μεταβλητότητα μεταξύ των παρτίδων (μεταβλητότητα πολλαπλών αποτελεσμάτων του προσδιορισμού με χρήση περισσότερων παρτίδων). Τα ληφθέντα δεδομένα χρησιμοποιήθηκαν για τον καθορισμό της τυπικής απόκλισης, της διασποράς και του συντελεστή διακύμανσης για το ειδικό παθογόνο και την PCR προτύπου εσωτερικού ελέγχου.

Τα δεδομένα ακρίβειας εξετάστηκαν, για το kit *artus* BK Virus RG PCR, βάσει του προτύπου ποσοτικοποίησης με τη χαμηλότερη συγκέντρωση (QS 4,  $1 \times 10^1$  αντίγραφα/μl). Η δοκιμασία εκτελέστηκε με 8 θυγατρικούς κλώνους. Τα

δεδομένα ακρίβειας υπολογίστηκαν με βάση τις τιμές  $C_T$  των καμπυλών ενίσχυσης ( $C_T$ : κύκλος κατωφλίου, βλέπε Πίνακα 6). Με βάση αυτά τα αποτελέσματα, η γενική στατιστική διασπορά οποιουδήποτε δείγματος με την αναφερθείσα συγκέντρωση είναι 2,11% ( $C_T$ ) και 3,59% ( $C_T$ ) για την ανίχνευση του προτύπου εσωτερικού ελέγχου. Οι τιμές αυτές βασίζονται στο σύνολο των επιμέρους τιμών των εξεταζομένων μεταβλητοτήτων.

**Πίνακας 6. Δεδομένα ακρίβειας με βάση τις τιμές  $C_T$**

	Τιμή $C_T$	Τυπική απόκλιση	Συντελεστής διακύμανσης (%)
Μεταβλητότητα εντός του προσδιορισμού: BK Virus RG QS 4	29,45	0,17	0,56
Μεταβλητότητα εντός του προσδιορισμού: Πρότυπο εσωτερικού ελέγχου	24,31	0,12	0,49
Μεταβλητότητα μεταξύ προσδιορισμών: BK Virus RG QS 4	29,42	0,25	0,85
Μεταβλητότητα μεταξύ προσδιορισμών: Πρότυπο εσωτερικού ελέγχου	23,30	0,77	3,30
Μεταβλητότητα μεταξύ παρτίδων: BK Virus RG QS 4	30,31	0,64	2,10
Μεταβλητότητα μεταξύ παρτίδων: Πρότυπο εσωτερικού ελέγχου	22,53	0,40	1,78
Συνολική διασπορά: BK Virus RG QS 4	29,80	0,63	2,11
Συνολική διασπορά: Πρότυπο εσωτερικού ελέγχου	23,12	0,83	3,59

## Ανθεκτικότητα

Η επικύρωση της ανθεκτικότητας επιτρέπει τον καθορισμό του συνολικού ποσοστού αποτυχίας του kit *artus BK Virus RG PCR*. 30 αρνητικά στον ιό BK δείγματα ορού εμβολιάσθηκαν με 1 αντίγραφο/μl όγκου έκλουσης DNA προτύπου ελέγχου του ιού BK (περίπου πενταπλάσια συγκέντρωση του αναλυτικού ορίου ευαισθησίας). Μετά από εκχύλιση με χρήση του kit EZ1<sup>®</sup> DSP Virus (βλέπε «Απομόνωση DNA», σελίδα 11), τα δείγματα αυτά αναλύθηκαν με το kit *artus BK Virus RG PCR*. Το ποσοστό αποτυχίας ανήλθε, για το σύνολο των 30 δειγμάτων, στο 0%. Επιπλέον, η ανθεκτικότητα του προτύπου εσωτερικού ελέγχου αξιολογήθηκε με τον καθαρισμό και ανάλυση των 30 αρνητικών στον ιό BK δειγμάτων. Το συνολικό ποσοστό αποτυχίας ανήλθε στο 0%. Δεν παρατηρήθηκαν αναστολές. Για το λόγο αυτό, η ανθεκτικότητα του kit *artus BK Virus RG PCR* είναι  $\geq 99\%$ .

## Επαναληψιμότητα

Τα δεδομένα αναπαραγωγιμότητας παρέχουν τη δυνατότητα τακτικής αξιολόγησης της απόδοσης του kit *artus BK Virus RG PCR* καθώς και μία σύγκριση της αποτελεσματικότητας με άλλα προϊόντα. Αυτά τα δεδομένα λαμβάνονται από τη συμμετοχή σε καθιερωμένα προγράμματα επάρκειας.

## Διαγνωστική αξιολόγηση

Επί του παρόντος, το kit *artus BK Virus RG PCR* υποβάλλεται σε μια σειρά μελετών αξιολόγησης.

## Βιβλιογραφία

Η QIAGEN διατηρεί μία μεγάλη, ενημερωμένη online βάση δεδομένων επιστημονικών δημοσιεύσεων στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν προϊόντα της QIAGEN. Με τις εύχρηστες δυνατότητες αναζήτησης μπορείτε να βρείτε τα άρθρα που αναζητάτε – είτε με απλή αναζήτηση λέξης-κλειδιού ή ορίζοντας την εφαρμογή, τον ερευνητικό τομέα, τον τίτλο κτλ.

Για ένα πλήρη κατάλογο της βιβλιογραφίας, επισκεφθείτε την online βιβλιογραφική βάση δεδομένων της QIAGEN (Reference Database) στη διεύθυνση [www.qiagen.com/RefDB/search.asp](http://www.qiagen.com/RefDB/search.asp) ή επικοινωνήστε με το Τμήμα τεχνικής υποστήριξης της QIAGEN ή τον τοπικό σας αντιπρόσωπο.

## Σύμβολα














<N>

Περιέχει αντιδραστήρια που επαρκούν για <N> δοκιμασίες



Ημερομηνία λήξης

	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Αριθμός καταλόγου
	Αριθμός παρτίδας
	Αριθμός υλικού
	Συστατικά
	Περιέχει
	Αριθμός
	Διεθνής Κωδικός Μονάδων Εμπορίας
	Περιορισμός θερμοκρασίας
	Κατασκευαστής
	Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης

## Πληροφορίες επικοινωνίας

Για θέματα τεχνικής υποστήριξης και περαιτέρω πληροφορίες, επισκεφθείτε το Κέντρο Τεχνικής Υποστήριξης στη διεύθυνση [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) ή επικοινωνήστε τηλεφωνικά με κάποιο από τα Τμήματα Τεχνικής Εξυπηρέτησης της QIAGEN ή με τους τοπικούς αντιπροσώπους (βλ. οπισθόφυλλο ή επισκεφθείτε τη διεύθυνση [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Πληροφορίες παραγγελίας

Προϊόν	Περιεχόμενα	Αρ. καταλ.
<i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit (24)	Για 24 αντιδράσεις: Master, 4 πρότυπα ποσοτικοποίησης, πρότυπο εσωτερικού ελέγχου, διάλυμα μαγνησίου, νερό (βαθμού PCR)	4514263
<i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit (96)	Για 96 αντιδράσεις: Master, 4 πρότυπα ποσοτικοποίησης, πρότυπο εσωτερικού ελέγχου, διάλυμα μαγνησίου, νερό (βαθμού PCR)	4514265
<b>Κιτ EASY<i>artus</i> BK Virus RG PCR — για αυτοματοποιημένο καθαρισμό δείγματος και ανίχνευση παθογόνων σε πλήρη συμμόρφωση με τις απαιτήσεις CE για IVD</b>		
EASY <i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit 1	Για 48 προετοιμασίες ιικών νουκλεϊκών οξέων και 24 προσδιορισμούς: 1 x EZ1 DSP Virus Kit, 1 x <i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit (24)	EA11423
EASY <i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit 2	Για 48 προετοιμασίες ιικών νουκλεϊκών οξέων και 48 προσδιορισμούς: 1 x κιτ EZ1 DSP Virus, 2 x κιτ <i>artus</i> BK Virus RG PCR (24)	EA11424
<b>Κιτ EZ1 DSP Virus — για αυτοματοποιημένο, ταυτόχρονο καθαρισμό ιικού DNA και RNA από 1–14 δείγματα ανθρώπινου πλάσματος, ορού, ή ENY</b>		
EZ1 DSP Virus Kit (48)	Για 48 προετοιμασίες ιικών νουκλεϊκών οξέων: Προγεμισμένες φύσιγγες αντιδραστηρίων, υποδοχές ρυγχών μίας χρήσης, αναλώσιμα ρύγχη με φίλτρο, σωληνάρια δείγματος, σωληνάρια έκλουσης, ρυθμιστικά διαλύματα, φορέας RNA	62724
Rotor-Gene Q MDx και παρελκόμενα		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Κυκλοποιητής PCR πραγματικού χρόνου με 5 κανάλια (πράσινο, κίτρινο, πορτοκαλί, κόκκινο, μπροντώ), φορητός υπολογιστής, λογισμικό, παρελκόμενα: περιλαμβάνει εγγύηση 1 έτους στα εξαρτήματα και την εργασία, δεν περιλαμβάνεται εγκατάσταση και κατάρτιση	9002022

Προϊόν	Περιεχόμενα	Αρ. καταλ.
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Κυκλοποιητής PCR πραγματικού χρόνου με 5 κανάλια (πράσινο, κίτρινο, πορτοκαλί, κόκκινο, μπορντώ), φορητός υπολογιστής, λογισμικό, παρελκόμενα: περιλαμβάνει εγγύηση 1 έτους στα εξαρτήματα και την εργασία, εγκατάσταση και κατάρτιση	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Κυκλοποιητής PCR πραγματικού χρόνου και αναλυτής Melt υψηλής ανάλυσης με 5 κανάλια (πράσινο, κίτρινο, πορτοκαλί, κόκκινο, μπορντώ) και κανάλι HRM, φορητός υπολογιστής, λογισμικό, παρελκόμενα: περιλαμβάνει εγγύηση 1 έτους στα εξαρτήματα και την εργασία, δεν περιλαμβάνεται εγκατάσταση και κατάρτιση	9002032
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Κυκλοποιητής PCR πραγματικού χρόνου και αναλυτής Melt υψηλής ανάλυσης με 5 κανάλια (πράσινο, κίτρινο, πορτοκαλί, κόκκινο, μπορντώ) και κανάλι HRM, φορητός υπολογιστής, λογισμικό, παρελκόμενα: περιλαμβάνει εγγύηση 1 έτους στα εξαρτήματα και την εργασία, εγκατάσταση και κατάρτιση	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Όργανο PCR πραγματικού χρόνου με 6 κανάλια (μπλε, πράσινο, κίτρινο, πορτοκαλί, κόκκινο, μπορντώ), συμπεριλαμβάνεται φορητός υπολογιστής, λογισμικό, παρελκόμενα: περιλαμβάνει εγγύηση 1 έτους στα εξαρτήματα και την εργασία, εγκατάσταση και κατάρτιση δεν συμπεριλαμβάνονται	9002042

Προϊόν	Περιεχόμενα	Αρ. καταλ.
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Όργανο PCR πραγματικού χρόνου με 6 κανάλια (μπλε, πράσινο, κίτρινο, πορτοκαλί, κόκκινο, μπορντώ), συμπεριλαμβάνεται φορητός υπολογιστής, λογισμικό, παρελκόμενα: περιλαμβάνει εγγύηση 1 έτους στα εξαρτήματα και την εργασία, εγκατάσταση και κατάρτιση	9002043
Loading Block 72 x 0,1 ml Tubes	Τεμάχιο αλουμινίου για χειροκίνητη προετοιμασία της αντίδρασης με μία πιπέτα μονού αυλού σε 72 σωληνάρια του 0,1 ml.	9018901
Loading Block 96 x 0,2 ml Tubes	Τεμάχιο αλουμινίου για χειροκίνητη προετοιμασία της αντίδρασης σε τυπική διάταξη 8 x 12 με χρήση 96 σωληναρίων των 0,2 ml.	9018905
Strip Tubes and Caps, 0,1 ml (250)	250 ταινίες των 4 σωληναρίων και καπακιών για 1.000 αντιδράσεις	981103
Strip Tubes and Caps, 0,1 ml (2.500)	10 x 250 ταινίες των 4 σωληναρίων και καπακιών για 10.000 αντιδράσεις	981106
PCR Tubes, 0,2 ml (1.000)	1.000 σωληνάρια λεπτού τοιχώματος για 1.000 αντιδράσεις	981005
PCR Tubes, 0,2 ml (10.000)	10 x 1.000 σωληνάρια λεπτού τοιχώματος για 10.000 αντιδράσεις	981008

Για τις τρέχουσες πληροφορίες άδειας και αποποιήσεις σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στο σχετικό εγχειρίδιο ή οδηγίες χρήσης του kit QIAGEN. Οι οδηγίες ή τα εγχειρίδια χρήσης των kit QIAGEN είναι διαθέσιμα στο [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ή μπορούν να ζητηθούν από τις τεχνικές υπηρεσίες της QIAGEN ή από τον τοπικό σας διανομέα.



Αυτή η σελίδα έχει παραμείνει σκοπίμως κενή

Αυτή η σελίδα έχει παραμείνει σκοπίμως κενή

Η αγορά αυτού του προϊόντος παρέχει στον αγοραστή τη δυνατότητα της χρήσης του για την εκτέλεση διαγνωστικών υπηρεσιών για in vitro διάγνωση σε ανθρώπους. Με τον παρόν δεν παρέχεται κανένα γενικό δικαίωμα ευρεσιτεχνίας ή άλλη άδεια οποιουδήποτε είδους, εκτός από το παρόν, συγκεκριμένο δικαίωμα χρήσης από την αγορά.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, *artus*®, *EASyartus*®, *EZ1*®, *Rotor-Gene*® (Όμιλος QIAGEN).

Άδεια περιορισμένης χρήσης

Η χρήση αυτού του προϊόντος ισοδυναμεί με την αποδοχή από πλευράς οποιουδήποτε αγοραστή ή χρήστη του kit *artus* BK Virus RG PCR των εξής όρων:

1. Η χρήση του kit *artus* BK Virus RG PCR επιτρέπεται μόνο σύμφωνα με το εγχειρίδιο kit *artus* BK Virus RG PCR (*artus BK Virus RG PCR Kit Handbook*) και μόνο μαζί με τα συστατικά που περιέχει το kit. Η QIAGEN δεν παρέχει άδεια χρήσης υπό οποιαδήποτε πνευματική ιδιοκτησία της για τη χρήση ή ενσωμάτωση των παρεχόμενων συστατικών αυτού του kit σε οποιαδήποτε συστατικά που δεν περιλαμβάνονται σε αυτά τα kit, εκτός και αν περιγράφεται διαφορετικά στο εγχειρίδιο kit *artus* BK Virus RG PCR (*artus BK Virus RG PCR Kit Handbook*) και πρόσθετα πρωτόκολλα στη διεύθυνση [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).
2. Με την εξαίρεση των ρητά αναφερόμενων αδειών, η QIAGEN δεν παρέχει καμία εγγύηση πως αυτό το kit και/ή η χρήση(εις) του δεν παραβιάζουν τα δικαιώματα τρίτων.
3. Αυτό το kit και τα συστατικά του φέρουν άδεια χρήσης για μία μόνο χρήση και δεν επιτρέπεται η επανάχρηση, η εκ νέου επεξεργασία ή η μεταπώλησή του.
4. Η QIAGEN αποποιείται ειδικά οποιοσδήποτε άλλες άδειες, ρητές ή έμμεσες εκτός από αυτές που αναφέρονται ρητά.
5. Ο αγοραστής ή ο χρήστης του kit συμφωνεί να μην προβεί και να μην επιτρέψει σε κανέναν άλλο να προβεί σε οποιασδήποτε ενέργειες που θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε ή να διευκολύνουν οποιοσδήποτε πράξεις που απαγορεύονται σύμφωνα με τα προαναφερθέντα. Η QIAGEN διατηρεί το δικαίωμα να επιβάλλει τις απαγορεύσεις της παρούσας Άδειας περιορισμένης χρήσης σε οποιοδήποτε δικαστήριο και θα αποζημιωθεί για όλες τις δαπάνες ανάκρισης και δικαστηρίου, συμπεριλαμβανομένων των δαπανών υπεράσπισης στο πλαίσιο οποιασδήποτε ενέργειας για την επιβολή αυτής της Άδειας περιορισμένης χρήσης ή οποιοσδήποτε των πνευματικών δικαιωμάτων της σχετικά με το kit και/ή τα συστατικά του.

Για τους ενημερωμένους όρους της άδειας, βλ. [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2009–2014 QIAGEN, με την επιφύλαξη κάθε δικαιώματος.

---

[www.qiagen.com](http://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)

