

# Εγχειρίδιο κιτ *artus*<sup>®</sup> HCV RG RT-PCR



24 (αρ. καταλόγου 4518263)



96 (αρ. καταλόγου 4518265)

Έκδοση 1

**IVD**

Ποσοτική in vitro διάγνωση

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



**REF**

4518263, 4518265



1049309EL



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,

GERMANIA

R5

**MAT**

1049309EL



## **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**

Περιεχόμενα του κιτ	4
<b>Σύμβολα</b>	<b>4</b>
<b>Αποθήκευση</b>	<b>5</b>
<b>Προβλεπόμενη χρήση</b>	<b>5</b>
<b>Ειδικές υποδείξεις για τη χρήση του προϊόντος</b>	<b>6</b>
<b>Ποιοτικός έλεγχος</b>	<b>6</b>
<b>Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις</b>	<b>6</b>
<b>Εισαγωγή</b>	<b>8</b>
Αρχή λειτουργίας	8
Πληροφορίες για τον παθογόνο μικροοργανισμό	8
Χαρακτηριστικά απόδοσης	10
<b>Εξοπλισμός και αντιδραστήρια που προμηθεύεται ο χρήστης</b>	<b>20</b>
<b>Σημαντικές σημειώσεις</b>	<b>21</b>
Γενικές προφυλάξεις	21
Συλλογή, φύλαξη και μεταφορά δειγμάτων	21
Απομόνωση RNA	23
Εσωτερικός μάρτυρας	23
Ποσοτικοποίηση	24
Πρωτόκολλο: PCR και ανάλυση δεδομένων	25
<b>Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων</b>	<b>35</b>
<b>Βιβλιογραφία</b>	<b>38</b>
<b>Πληροφορίες παραγγελίας</b>	<b>39</b>

## Περιεχόμενα του ΚΙΤ

<i>artus</i> HCV RG RT-PCR Kit (Κιτ <i>artus</i> HCV RG RT-PCR)		(24)	(96)
Αρ. καταλόγου		4518263	4518265
Αριθμός αντιδράσεων		24	96
Μπλε	Hep. C Virus RG Master A	2 x 12 αντιδράσεις	8 x 12 αντιδράσεις
Βιολετί	Hep. C Virus RG Master B	2 x 12 αντιδράσεις	8 x 12 αντιδράσεις
Κόκκινο	Hep. C Virus RG QS 1* (10 <sup>4</sup> IU/μl)	<b>QS</b> 200 μl	200 μl
Κόκκινο	Hep. C Virus RG QS 2* (10 <sup>3</sup> IU/μl)	<b>QS</b> 200 μl	200 μl
Κόκκινο	Hep. C Virus RG QS 3* (10 <sup>2</sup> IU/μl)	<b>QS</b> 200 μl	200 μl
Κόκκινο	Hep. C Virus RG QS 4* (10 <sup>1</sup> IU/μl)	<b>QS</b> 200 μl	200 μl
Πράσινο	Hep. C 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

\* Πρότυπο ποσοτικοποίησης.

† Εσωτερικός μάρτυρας.

## Σύμβολα



<N>

Περιέχει αντιδραστήρια που επαρκούν για <N> δοκιμασίες





Ημερομηνία λήξης



In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν



Αριθμός καταλόγου

<b>LOT</b>	Αριθμός παρτίδας
<b>MAT</b>	Αριθμός υλικού
<b>COMP</b>	Συστατικά
<b>CONT</b>	Περιέχει
<b>NUM</b>	Αριθμός
<b>GTIN</b>	Διεθνής Κωδικός Μονάδων Εμπορίας
	Περιορισμός θερμοκρασίας
	Κατασκευαστής
	Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης
	Σημαντική σημείωση

## Αποθήκευση

Τα συστατικά του kit *artus* HCV RG RT-PCR θα πρέπει να φυλάσσονται στους  $-30^{\circ}\text{C}$  έως  $-15^{\circ}\text{C}$  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  $2-8^{\circ}\text{C}$  δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τις 5 ώρες.

## Προβλεπόμενη χρήση

Το kit *artus* HCV RG RT-PCR είναι ένας *in vitro* έλεγχος ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων για την ποσοτικοποίηση του RNA του ιού της ηπατίτιδας C (HCV) σε ανθρώπινο πλάσμα. Αυτό το kit διαγνωστικού ελέγχου χρησιμοποιεί την αντίστροφη μεταγραφή-αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (RT-PCR) και είναι διαμορφωμένο για χρήση μαζί με τα όργανα Rotor-Gene Q. Η δοκιμασία μπορεί να ποσοτικοποιήσει RNA του HCV στο εύρος  $65 - 1 \times 10^6$  HCV IU/ml.

**i** Η χρήση του kit *artus* HCV RG RT-PCR δεν επιτρέπεται μαζί με όργανα Rotor-Gene Q 2plex.

Το kit *artus* HCV RG RT-PCR προορίζεται για χρήση σε συνδυασμό με την εκάστοτε κλινική εκδήλωση και άλλους εργαστηριακούς δείκτες για την πρόγνωση της νόσου και για χρήση ως βοήθημα στην αξιολόγηση της απόκρισης του ιού σε αντιρετροϊκή αγωγή, όπως αυτή μετράται από μεταβολές των επιπέδων RNA του HCV σε πλάσμα EDTA. Το kit *artus* HCV RG RT-PCR δεν προορίζεται για χρήση ως εξέταση διαλογής για HCV ή ως διαγνωστικός έλεγχος για την επιβεβαίωση λοίμωξης από HCV.

## Ειδικές υποδείξεις για τη χρήση του προϊόντος

Η χρήση όλων των αντιδραστηρίων επιτρέπεται αποκλειστικά για *in vitro* διαγνωστικούς σκοπούς.

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 kit, 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.

## Ποιοτικός έλεγχος

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

## Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

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 kit και συστατικό των kit της QIAGEN®.

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

## Εισαγωγή

Το kit *artus* HCV RG RT-PCR αποτελεί ένα έτοιμο-για-χρήση σύστημα για την ανίχνευση RNA του ιού HCV με χρήση αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) σε όργανα Rotor-Gene Q. Τα Hep. C Virus RG Master A και B περιέχουν αντιδραστήρια και ένζυμα για την αντίστροφη μεταγραφή και την ειδική ενίσχυση μίας περιοχής 240 bp του γονιδιώματος HCV 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, ή Cycling A.FAM™ (πηγή 470 nm, ανιχνευτής 510 nm) του Rotor-Gene 3000.

Επιπλέον, το kit *artus* HCV RG RT-PCR περιλαμβάνει ακόμη ένα ετερόλογο σύστημα ενίσχυσης για τη διαπίστωση τυχόν αναστολής της PCR. Το σύστημα αυτό ανιχνεύεται ως εσωτερικός μάρτυρας (IC) στο κανάλι φθορισμού Cycling Orange του Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q, ή Rotor-Gene 6000, ή Cycling A.ROX™ (πηγή 585 nm, ανιχνευτής 610 nm) του Rotor-Gene 3000. Το όριο ανίχνευσης της ανάλυσης HCV RT-PCR (βλέπε «Αναλυτική ευαισθησία», σελίδα 10) δεν μειώνεται. Παρέχονται εξωτερικοί θετικοί μάρτυρες (Hep. C Virus RG QS 1–4), οι οποίοι καθιστούν δυνατό τον προσδιορισμό της ποσότητας του ιικού RNA. Για περισσότερες πληροφορίες, βλέπε «Ποσοτικοποίηση», σελίδα 24.

## Αρχή λειτουργίας

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.\*

## Πληροφορίες για τον παθογόνο μικροοργανισμό

Η ηπατίτιδα C είναι μία φλεγμονή του ήπατος, προκαλούμενη από τον ομώνυμο ιό. Σε αντίθεση με τους άλλους ιούς ηπατίτιδας (A, B, D ή E), η λοίμωξη με τον ιό της ηπατίτιδας C (HCV) οδηγεί σε πολλές περιπτώσεις σε χρόνια ηπατική νόσο. Η λοίμωξη με τον ιό HCV παραμένει συχνά ασυμπτωματική για σχετικά μεγάλο χρονικό διάστημα. Για το λόγο αυτό, οι περισσότεροι ασθενείς δεν γνωρίζουν πως έχουν προσβληθεί από τον ιό HCV. Η θεραπεία είναι ωστόσο ιδιαίτερος αποτελεσματική στα πολύ πρώιμα στάδια της νόσου. Προς το παρόν, η ιντερφερόνη α (σε συνδυασμό με ριμπαβιρίνη) είναι η μόνη αποδεδειγμένα αποτελεσματική θεραπεία. Είναι



όμως επίσης γνωστό, πως μόνο ορισμένοι ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C ανταποκρίνονται στη θεραπεία με ιντερφερόνη. Επομένως, κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, αυτή η ακριβή θεραπευτική αγωγή των ασθενών μπορεί να μην είναι ευνοϊκή και να συνοδεύεται από βαριές παρενέργειες, όπως η αποδυνάμωση του ανοσοποιητικού συστήματος, οδηγώντας έτσι σε εξάρσεις νοσημάτων (π.χ. επιχείλιος έρπης, έρπης ζωστήρας)

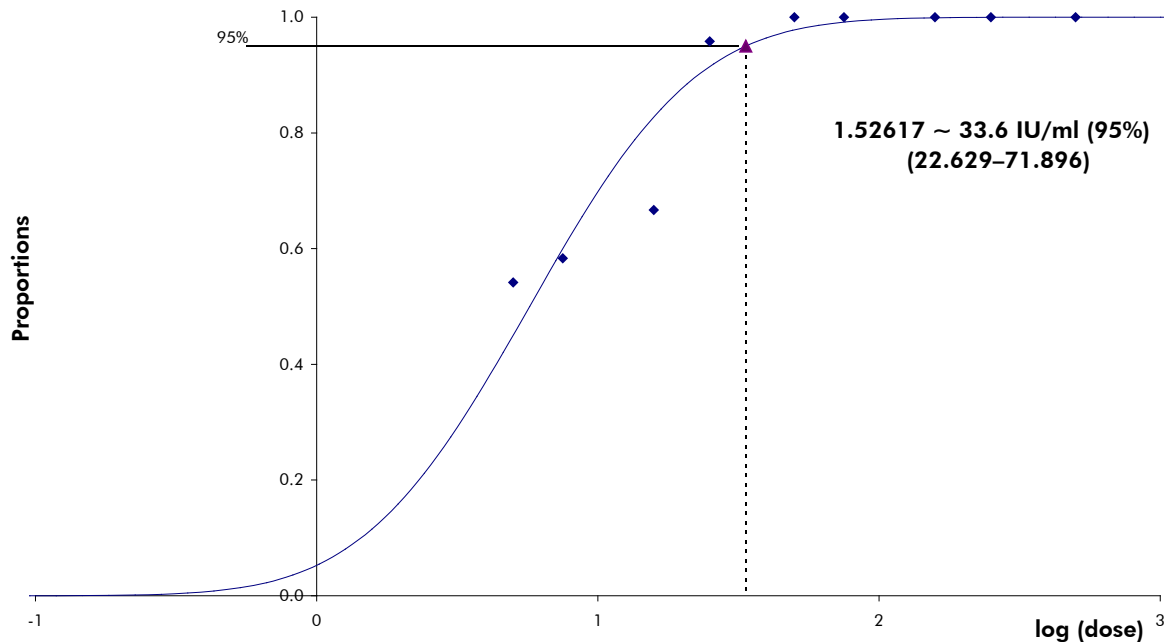
\* Mackay, I.M. (2004) Real-time PCR in the microbiology laboratory. Clin. Microbiol. Infect. 10, 190.

## Χαρακτηριστικά απόδοσης

### Αναλυτική ευαισθησία

Για να προσδιοριστεί η αναλυτική ευαισθησία του kit *artus* HCV RG RT-PCR, προετοιμάστηκε τυπική σειρά αραιώσης από 10 IU/μl έως ονομαστικά 0,0316 IU/μl *in vitro* μεταγεγραμμένων αντιγράφων RNA και υποβλήθηκε σε ανάλυση με το kit *artus* HCV RG RT-PCR. Η δοκιμασία εκτελέστηκε σε 3 διαφορετικές ημέρες σε 8 θυγατρικούς κλώνους. Ο προσδιορισμός των αποτελεσμάτων έγινε με τη βοήθεια ανάλυσης *probit*. Το αναλυτικό όριο ανίχνευσης του kit *artus* HCV RG RT-PCR είναι 0,19 IU/μl ( $p = 0,05$ ). Αυτό σημαίνει ότι 0,19 IU/μl ανιχνεύεται με πιθανότητα 95%.

Η αναλυτική ευαισθησία λαμβάνοντας υπόψη τον καθαρισμό (kit QIAamp<sup>®</sup> DSP Virus) του kit *artus* HCV RG RT-PCR σε όργανα Rotor-Gene προσδιορίστηκε με χρήση μιας σειράς αραιώσης του Διεθνούς Προτύπου για το RNA του ιού HCV του Π.Ο.Υ. από 500 έως την ονομαστική τιμή 5 HCV IU/ml με εμβολιασμό σε κλινικά δείγματα πλάσματος. Αυτά υποβλήθηκαν σε εκχύλιση RNA με το kit QIAamp DSP Virus (όγκος εκχύλισης: 0,5 ml, όγκος έκλουσης: 25 μl). Καθεμιά από τις 9 αραιώσεις αναλύθηκε με το kit *artus* HCV RG RT-PCR σε 3 διαφορετικές ημέρες σε 8 θυγατρικούς κλώνους. Ο προσδιορισμός των αποτελεσμάτων έγινε με τη βοήθεια ανάλυσης *probit*. Μια γραφική αναπαράσταση της ανάλυσης *probit* παρουσιάζεται στην Εικόνα 1. Το όριο ανίχνευσης της ανάλυσης λαμβάνοντας υπόψη τον καθαρισμό του kit *artus* HCV RG RT-PCR σε συνδυασμό με όργανα Rotor-Gene είναι 33,6 IU/ml ( $p = 0,05$ ). Αυτό σημαίνει ότι 33,6 IU/ml ανιχνεύονται με πιθανότητα 95%.



**Εικόνα 1. Ανάλυση probit: HCV (Rotor-Gene 3000).** Αναλυτική ευαισθησία λαμβάνοντας υπόψη τον καθαρισμό (κιτ QIAamp DSP Virus, QIAGEN) του κιτ *artus* HCV RG RT-PCR στο όργανο Rotor-Gene 3000.

## Ειδικότητα

Η ειδικότητα του κιτ *artus* HCV RG RT-PCR διασφαλίζεται κατά κύριο λόγο από την επιλογή των εκκινήτων και των ανιχνευτών, καθώς και από την τήρηση αυστηρών συνθηκών για την αντίδραση. Οι εκκινήτες 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 υπότυπων και γονότυπων συνεπώς διασφαλίστηκε.

Η εγκυρότητα της ειδικότητας αξιολογήθηκε με τη χρήση 100 διαφορετικών δειγμάτων πλάσματος, τα οποία ήταν αρνητικά στον HCV. Αυτά δεν παρήγαγαν κανένα σήμα με τους ειδικούς για HCV ενισχυτές και ανιχνευτές, που περιλαμβάνονται στα Hep. C Virus RG Masters.

Ελέγχθηκε μία πιθανή διασταυρούμενη-αντιδραστικότητα του κιτ *artus* HCV RG RT-PCR με χρήση της ομάδας μαρτύρων που παρατίθεται στον Πίνακα 2. Κανένας από τους εξεταζόμενους παθογόνους παράγοντες δεν προκάλεσε αντίδραση. Δεν παρουσιάστηκαν διασταυρούμενες αντιδραστικότητες σε μεικτές λοιμώξεις.

**Πίνακας 1. Εξέταση της ειδικότητας σχετικών γονότυπων**

Ιός	Γονότυποι	Προέλευση	HCV (Cycling Green/ A.FAM)	Εσωτερικός μάρτυρας (Cycling Orange/ A.ROX)
Ιός ηπατίτιδας C	1	NIBSC, HemaCare, University of Essen	+	+
Ιός ηπατίτιδας C	2	NIBSC, HemaCare, University of Essen	+	+
Ιός ηπατίτιδας C	3	NIBSC, HemaCare, University of Essen	+	+
Ιός ηπατίτιδας C	4	NIBSC, HemaCare, University of Essen	+	+
Ιός ηπατίτιδας C	5	NIBSC, HemaCare, University of Essen	+	+
Ιός ηπατίτιδας C	6	NIBSC, HemaCare, University of Essen	+	+

**Πίνακας 2. Έλεγχος της ειδικότητας του kit με δυνητικώς διασταυρούμενα αντιδρώντα παθογόνα**

<b>Ομάδα μαρτύρων</b>	<b>HCV (Cycling Green/ A.FAM)</b>	<b>Εσωτερικός μάρτυρας (Cycling Orange/ A.ROX)</b>
Ανθρώπινος ιός ανοσοανεπάρκειας (HIV) 1	–	+
Ιός ηπατίτιδας A	–	+
Ιός ηπατίτιδας B	–	+
Ανθρώπινος ιός έρπητα 1 (ιός απλού έρπητα 1)	–	+
Ανθρώπινος ιός έρπητα 2 (ιός απλού έρπητα 2)	–	+
Ανθρώπινος ιός έρπητα 3 (ιός ανεμοβλογιάς-ζωστήρα)	–	+
Ανθρώπινος ιός έρπητα 5 (κυτταρομεγαλοϊός)	–	+

Ο πίνακας συνεχίζεται στην επόμενη σελίδα

## Πίνακας 2. Συνέχεια

<b>Ομάδα μαρτύρων</b>	<b>HCV (Cycling Green/ A.FAM)</b>	<b>Εσωτερικός μάρτυρας (Cycling Orange/ A.ROX)</b>
Ανθρώπινος ιός T-κυτταρικής λευχαιμίας τύπος 1 και τύπος 2	–	+
Ανθρώπινος ιός έρπητα 6A	–	+
Ανθρώπινος ιός έρπητα 6B	–	+
Ανθρώπινος ερπητοϊός 8 (ερπητοϊός σαρκώματος Kaposi)	–	+
Εντεροϊός	–	+
Παρβοϊός B19	–	+
Δάγκειος πυρετός	–	+
Κίτρινος πυρετός	–	+

<i>Aspergillus flavus</i>	–	+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	–	+
<i>Candida albicans</i>	–	+
<i>Chlamydia trachomatis</i>	–	+
<i>Cryptosporidium parvum</i>	–	+
<i>Filobasidiella neoformans</i>	–	+
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	–	+
<i>Pneumocystis carinii</i>	–	+
<i>Staphylococcus</i> sp.	–	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	–	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	–	+

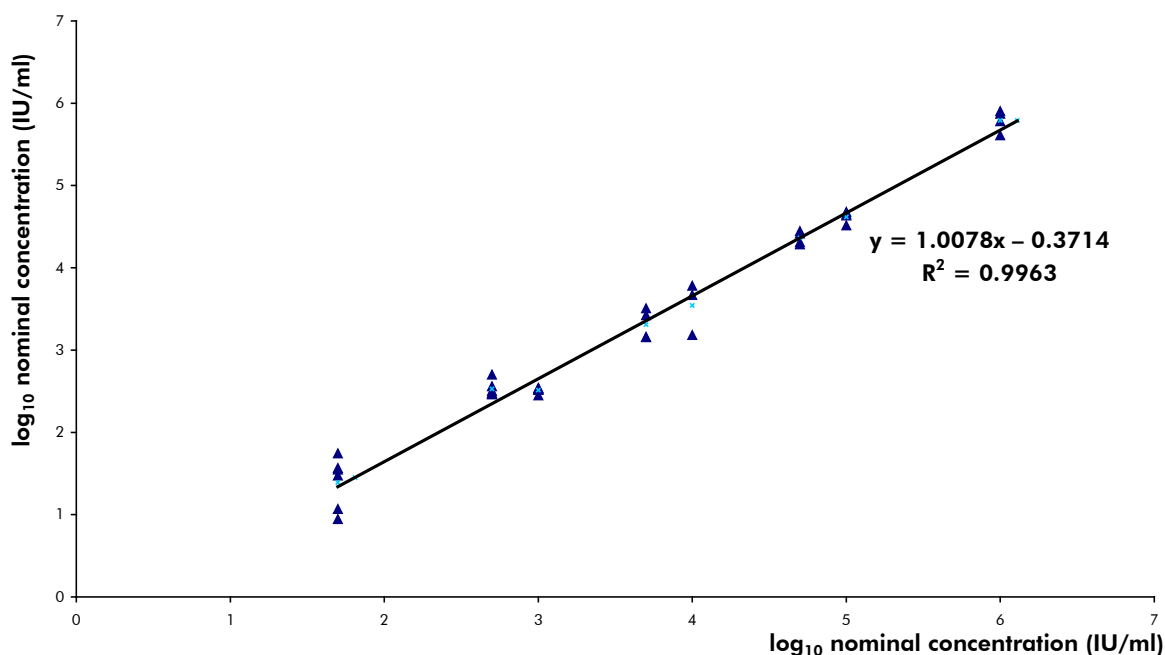
### Γραμμικό εύρος της ποσοτικοποίησης

Το γραμμικό εύρος (αναλυτική μέτρηση) του kit *artus* HCV RG RT-PCR προσδιορίστηκε αναλύοντας μια σειρά αραιώσεων ενός μεταγραφήματος *in vitro* του HCV από  $1 \times 10^7$  IU/μl έως 1 IU/μl. Προηγουμένως έγινε βαθμονόμηση της σειράς αραιώσεων έναντι του Διεθνούς Προτύπου για το RNA του ιού HCV του Π.Ο.Υ.

Κάθε αραιώση εξετάστηκε σε θυγατρικούς κλώνους ( $n = 8$ ) με χρήση του kit *artus* HCV RG RT-PCR στα όργανα Rotor-Gene.

Το γραμμικό εύρος του kit *artus* HCV RG RT-PCR προσδιορίστηκε ότι καλύπτει συγκεντρώσεις από 1 IU/μl μέχρι τουλάχιστον  $1 \times 10^7$  IU/μl.

Το γραμμικό εύρος λαμβάνοντας υπόψη τον καθαρισμό του kit *artus* HCV RG RT-PCR προσδιορίστηκε αναλύοντας δείγματα της Acrometrix. Ο καθαρισμός διενεργήθηκε σε θυγατρικούς κλώνους ( $n = 6$ ) από 50 IU/ml έως  $10^3$  IU/ml και σε θυγατρικούς κλώνους ( $n = 4$ ) από  $5 \times 10^3$  IU/ml έως  $10^6$  IU/ml με χρήση του kit QIAamp DSP Virus (όγκος εκχύλισης: 0,5 ml, όγκος έκλουσης: 25 μl). Καθένα από τα δείγματα αναλύθηκε με χρήση του kit *artus* HCV RG RT-PCR σε όργανα Rotor-Gene. Το γραμμικό εύρος λαμβάνοντας υπόψη τον καθαρισμό του kit *artus* HCV RG RT-PCR προσδιορίστηκε ότι καλύπτει συγκεντρώσεις από 65 IU/ml μέχρι τουλάχιστον  $10^6$  IU/ml (βλέπε Εικόνα 2).



**Εικόνα 2. Γραμμικό εύρος του kit *artus* HCV RG RT-PCR.** Υπολογισμός του γραμμικού εύρους λαμβάνοντας υπόψη τον καθαρισμό. Η ευθεία γραμμή προσδιορίστηκε με γραμμική παλινδρόμηση των  $\log_{10}$  υπολογιζόμενων συγκεντρώσεων με τις  $\log_{10}$  ονομαστικές συγκεντρώσεις. Η εξίσωση της γραμμής παλινδρόμησης περιλαμβάνεται στην εικόνα.

## Ακρίβεια

Τα δεδομένα ακρίβειας για το kit *artus* HCV RG RT-PCR στα όργανα Rotor-Gene επιτρέπουν την εξακρίβωση της ολικής διακύμανσης (ολική διασπορά) της ανάλυσης. 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 εσωτερικού μάρτυρα.

Τα δεδομένα ακρίβειας του kit *artus* HCV RG RT-PCR συλλέχθηκαν με χρήση του προτύπου ποσοτικοποίησης της χαμηλότερης συγκέντρωσης (QS 4, 10 IU/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 3). Επιπλέον, τα δεδομένα ακρίβειας για τα ποσοτικά αποτελέσματα σε IU/μl προσδιορίστηκαν με χρήση των αντίστοιχων τιμών  $C_T$  (βλέπε Πίνακα 4). Με βάση αυτά τα αποτελέσματα, η γενική στατιστική διασπορά οποιουδήποτε δείγματος με την αναφερθείσα

συγκέντρωση είναι 1,52% ( $C_T$ ) ή 25,71% (συγκέντρωση), και 0,75% ( $C_T$ ) για την ανίχνευση του εσωτερικού μάρτυρα. Οι τιμές αυτές βασίζονται στο σύνολο των επιμέρους τιμών των εξεταζομένων μεταβλητοτήτων.

**Πίνακας 3. Δεδομένα ακρίβειας με βάση τις τιμές  $C_T$**

	Τιμή $C_T$	Τυπική απόκλιση	Συντελεστής διακύμανσης (%)
Μεταβλητότητα εντός του προσδιορισμού: Hep. C Virus RG QS 4	32,81	0,09	0,28
Μεταβλητότητα εντός του προσδιορισμού: Hep. C Virus RG IC	30,04	0,08	0,27
Μεταβλητότητα μεταξύ προσδιορισμών: Hep. C Virus RG QS 4	32,14	0,5	1,57
Μεταβλητότητα μεταξύ προσδιορισμών: Hep. C Virus RG IC	30,23	0,22	0,71
Μεταβλητότητα μεταξύ παρτίδων: Hep. C Virus RG QS 4	32,56	0,48	1,46
Μεταβλητότητα μεταξύ παρτίδων: Hep. C Virus RG IC	30,28	0,24	0,78
Συνολική διασπορά: Hep. C Virus RG QS 4	32,41	0,49	1,52
Συνολική διασπορά: Hep. C Virus RG IC	30,29	0,29	0,75

**Πίνακας 4. Δεδομένα ακρίβειας στη βάση των ποσοτικών αποτελεσμάτων (σε IU/μl)**

	Τυπική απόκλιση	Διασπορά	Συντελεστής διακύμανσης (%)
Μεταβλητότητα εντός του προσδιορισμού:	0,64	0,41	6,34



Hep. C Virus RG QS 4			
Μεταβλητότητα μεταξύ προσδιορισμών: Hep. C Virus RG QS 4	1,00	1,00	9,93
Μεταβλητότητα μεταξύ παρτίδων: Hep. C Virus RG QS 4	3,92	15,34	37,35
Συνολική διασπορά: Hep. C Virus RG QS 4	2,63	6,93	25,71

### Ανθεκτικότητα

Η επικύρωση της ανθεκτικότητας επιτρέπει τον καθορισμό του συνολικού ποσοστού αποτυχίας του κιτ *artus* HCV RG RT-PCR. Εμβολιάσθηκαν 100 HCV αρνητικά δείγματα πλάσματος με 2 IU/μl όγκου έκλουσης μάρτυρα RNA του HCV (περίπου τριπλάσια συγκέντρωση του αναλυτικού ορίου ευαισθησίας). Μετά από εκχύλιση με χρήση του κιτ QIAamp DSP Virus, τα δείγματα αυτά αναλύθηκαν με το κιτ *artus* HCV RG RT-PCR. Το ποσοστό αποτυχίας για τον HCV ανήλθε, για το σύνολο των δειγμάτων, στο 0%. Επιπλέον, η ανθεκτικότητα του εσωτερικού μάρτυρα αξιολογήθηκε με τον καθαρισμό και ανάλυση των 100 HCV αρνητικών δειγμάτων πλάσματος. Το συνολικό ποσοστό αποτυχίας ανήλθε στο 0%. Δεν παρατηρήθηκαν αναστολές. Για το λόγο αυτό, η ανθεκτικότητα του κιτ *artus* HCV RG RT-PCR είναι  $\geq 99\%$ .

### Αναπαραγωγιμότητα

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

### Διαγνωστική αξιολόγηση

Το κιτ *artus* HCV RG RT-PCR αξιολογήθηκε σε μια μελέτη. Συγκρίνοντας το κιτ *artus* HCV RG RT-PCR με τη δοκιμασία COBAS<sup>®</sup> TaqMan<sup>®</sup> HCV, 276 δείγματα πλάσματος αναλύθηκαν αναδρομικά. Όλα τα δείγματα πλάσματος είχαν προηγουμένως αναλυθεί σε θετικά ή αρνητικά με χρήση της δοκιμασίας COBAS TaqMan HCV για διάγνωση ρουτίνας.

RNA από HCV για την εξέταση του κιτ *artus* HCV RG RT-PCR απομονώθηκε με χρήση του κιτ QIAamp DSP Virus, και διενεργήθηκε ανάλυση στο όργανο Rotor-Gene 6000. Για συγκριτική εξέταση με τη δοκιμασία COBAS TaqMan HCV, RNA από HCV αναλύθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή που παρέχονται στο ένθετο της συσκευασίας. Τα αποτελέσματα που

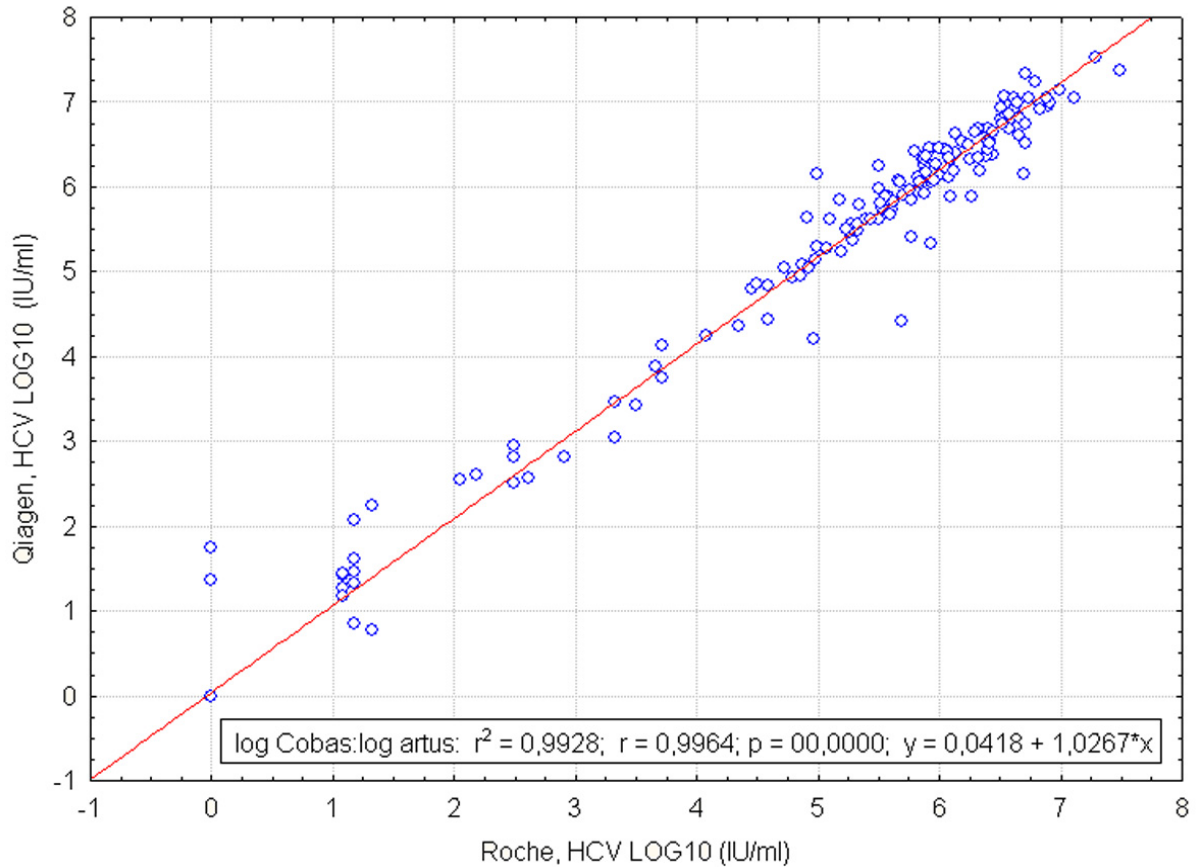
ελήφθησαν με χρήση του κιτ *artus* HCV RG PCR συγκρίθηκαν με εκείνα της δοκιμασίας COBAS TaqMan HCV (βλέπε Πίνακα 5 και Εικόνα 3).

137 από τα 139 δείγματα που ήταν θετικά με τη δοκιμασία COBAS TaqMan HCV ήταν επίσης θετικά με το κιτ *artus* HCV RG RT-PCR. Και τα 137 δείγματα που ήταν αρνητικά με τη δοκιμασία COBAS TaqMan HCV ήταν επίσης αρνητικά με το κιτ *artus* HCV RG RT-PCR.

Εάν τα αποτελέσματα της δοκιμασίας COBAS TaqMan HCV λαμβάνονται ως αναφορά, η διαγνωστική ευαισθησία είναι 100%, και η διαγνωστική ειδικότητα είναι 98,6%.

**Πίνακας 5. Αποτελέσματα των 276 δειγμάτων πλάσματος EDTA που αναλύθηκαν αναδρομικά**

		Δοκιμασία COBAS TaqMan HCV		
		+	-	Σύνολο
<b>Κιτ <i>artus</i> HCV RG RT-PCR</b>	+	137	2	139
	-	0	137	137



**Εικόνα 3. Σύγκριση της δοκιμασίας COBAS TaqMan HCV (Roche, HCV· με καθαρισμό δείγματος με χρήση του συστήματος COBAS AmpliPrep) με το κιτ *artus* HCV RG RT-PCR Kit (QIAGEN, HCV· με καθαρισμό δείγματος με χρήση του κιτ QIAamp DSP Virus).** Η συσχέτιση των ποσοτικών αποτελεσμάτων και από τα δύο συστήματα δοκιμασίας (Πίνακας 5) αναλύθηκε μέσω γραμμικής παλινδρόμησης. Τα αποτελέσματα από τα δύο κιτ παρουσιάζονται σε ένα γράφημα (νεφελόγραμμα) ΧΥ με κλίμακα log–log.

## Εξοπλισμός και αντιδραστήρια που προμηθεύεται ο χρήστης

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.

- Κιτ απομόνωσης RNA (βλέπε «Απομόνωση RNA», σελίδα 23)
- Πιπέτες (ρυθμιζόμενες)\*
- Στείρα ρύγχη πιπέτας με φίλτρο
- Αναδευτήρας τύπου vortex\*
- Επιτραπέζια φυγόκεντρος\* με στροφέα για σωληνάρια αντίδρασης των 2 ml
- Όργανο Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q ή Rotor-Gene\* με κανάλια φθορισμού για τα Cycling Green και Cycling Orange ή με κανάλια φθορισμού για τα Cycling A.FAM και Cycling A.ROX
- Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q με έκδοση λογισμικού 1.7.94 ή υψηλότερη (Rotor-Gene 6000 με έκδοση λογισμικού 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94· Rotor-Gene 3000 με έκδοση λογισμικού 6.0.23)
- Strip Tubes and Caps (Σωληνάρια και καπάκια ταινιών), 0,1 ml, για χρήση με στροφέα 72 φρεατίων (αρ. καταλόγου 981103 ή 981106)
- Εναλλακτικά: PCR Tubes (Σωληνάρια PCR), 0,2 ml, για χρήση με στροφέα 36 φρεατίων (αρ. καταλόγου 981005 ή 981008)
- Cooling block (Τεμάχιο ψύξης) (τεμάχιο φόρτωσης 72 σωληναρίων των 0,1 ml, αρ. καταλόγου 9018901, ή τεμάχιο φόρτωσης 96 σωληναρίων των 0,2 ml, αρ. καταλόγου 9018905)

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

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

# Σημαντικές σημειώσεις

## 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, θετικούς μάρτυρες 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).

## Συλλογή, φύλαξη και μεταφορά δειγμάτων

❶ Όλα τα δείγματα να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά.

Μόνο τα ακόλουθα υλικά δείγματος είναι επιτρεπτά, για τα οποία πρέπει να τηρούνται αυστηρά οι ακόλουθοι κανόνες και ειδικές οδηγίες σχετικά με τη συλλογή, τη μεταφορά και τη φύλαξη.

❶ Τα στοιχεία που υπάρχουν μέχρι τώρα καταδεικνύουν το μείγμα πλάσμα-EDTA ή πλάσμα-κιτρικό ως το καταλληλότερο υλικό δείγματος για την ανίχνευση του HCV. Για το λόγο αυτό, συνιστάται να χρησιμοποιείτε αυτά τα υλικά σε συνδυασμό με το kit *artus* HCV RG RT-PCR.

Η εσωτερική τεκμηρίωση της εγκυρότητας του kit *artus* HCV RG RT-PCR έγινε με ανθρώπινα δείγματα πλάσματος-EDTA. Άλλα υλικά δείγματος δεν έχουν επαληθευτεί. Χρησιμοποιείτε αποκλειστικά το συνιστώμενο kit απομόνωσης RNA (βλέπε «Απομόνωση RNA», σελίδα 23) για την προετοιμασία των δειγμάτων.

Κατά τη χρήση ορισμένων υλικών δειγμάτων πρέπει να τηρούνται αυστηρά συγκεκριμένες οδηγίες σχετικές με τη συλλογή, τη μεταφορά και την φύλαξη.

## Συλλογή δειγμάτων

Κάθε αιματοληψία έχει σαν αποτέλεσμα τον τραυματισμό αιμοφόρων αγγείων (αρτηρίες, φλέβες, τριχοειδή αγγεία). Επιτρέπεται μόνο η χρήση αβλαβούς και αποστειρωμένου υλικού. Για τη λήψη αίματος διατίθενται υλικά μίας χρήσης. Κατά την παρακέντηση των φλεβών δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται πολύ

λεπτές τριχοειδείς βελόνες. Η λήψη φλεβικού αίματος πρέπει να πραγματοποιείται σε κατάλληλα μέρη της καμπής του αγκώνα, του αντιβραχιόνιου ή της ράχης του καρπού. Το αίμα παραλαμβάνεται με τυποποιημένα σωληνάρια (κόκκινο κάλυμμα, Sarstedt ή ομοιότυπα σωληνάρια άλλου κατασκευαστή). Πρέπει να λαμβάνεται όγκος 5–10 ml αίματος EDTA. Τα σωληνάρια πρέπει να αναδεύονται με ανατροπή αμέσως μετά τη δειγματοληψία (8 x, χωρίς ανατάραξη).

**i** Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ηπαρινισμένα ανθρώπινα δείγματα (βλέπε «Παρεμβαλλόμενες ουσίες», σελίδα 22).

### **Αποθήκευση δειγμάτων**

Το πλήρες αίμα πρέπει να διαχωρίζεται σε πλάσμα και κυτταρικά συστατικά με φυγοκέντρηση για 20 λεπτά στα 800–1.600 x g εντός 6 ωρών. Το διαχωρισμένο πλάσμα πρέπει να μεταφερθεί σε αποστειρωμένα σωληνάρια πολυπροπυλενίου. Η ευαισθησία της εξέτασης μπορεί να μειωθεί μέσω κατάψυξης ρουτίνας ή μακροχρόνιας φύλαξης των δειγμάτων. Το ενθυλακωμένο RNA του ιού είναι σταθερό για πολλές ημέρες όταν αποθηκεύεται στους 4°C, για εβδομάδες όταν αποθηκεύεται στους -20°C, αλλά και για μήνες όταν αποθηκεύεται στους -70°C.\*

### **Μεταφορά δειγμάτων**

Το υλικό των δειγμάτων θα πρέπει κατ' αρχήν να μεταφέρεται σε άθραυστο δοχείο μεταφοράς. Κατ' αυτόν τον τρόπο μπορεί να αποτραπεί ο εν δυνάμει κίνδυνος μόλυνσης λόγω διαφυγής του δείγματος. Τα δείγματα θα πρέπει να μεταφέρονται σύμφωνα με τις τοπικές και εθνικές οδηγίες για τη μεταφορά παθογόνων υλικών.†

Τα δείγματα πρέπει να αποστέλλονται εντός 6 ωρών. Δεν συνιστάται αποθήκευση των δειγμάτων στον τόπο λήψης τους. Ταχυδρομική αποστολή είναι δυνατή, σύμφωνα με τις νομικές υποδείξεις για τη μεταφορά παθογόνου υλικού. Συνιστούμε τη μεταφορά των δειγμάτων με υπηρεσία ταχυμεταφορών (courier). Τα δείγματα αίματος πρέπει να αποστέλλονται ψυχόμενα (2–8°C) και εκείνα του διαχωρισμένου πλάσματος σε κατάψυξη (-15 έως -30°C).

### **Παρεμβαλλόμενες ουσίες**

Τα αυξημένα επίπεδα χολερυθρίνης ( $\leq 15$  mg/dl) και λιπιδίων ( $\leq 800$  mg/dl) και τα αιμολυτικά δείγματα δεν επηρεάζουν το σύστημα. Η ηπαρίνη ( $\leq 10$  IU/ml) επηρεάζει την PCR. Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται δείγματα τα οποία έχουν συλλεχθεί σε σωληνάρια που περιέχουν ηπαρίνη ως αντιπηκτικό. Επίσης δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται δείγματα ασθενών που υποβάλλονται σε αγωγή με ηπαρίνη.

\* Arbeitskreis Blut, V17 (09.1997), Bundesgesundheitsblatt 11/1997, σελ. 452–456.

† International Air Transport Association (Διεθνής Ένωση Αεροπορικών Μεταφορών, IATA). Dangerous Goods Regulations (Κανονισμοί περί Επικίνδυνων Εμπορευμάτων).

## Απομόνωση RNA

Το kit QIAamp DSP Virus (QIAGEN, αρ. καταλόγου 60704) έχει επικυρωθεί για τον καθαρισμό ιικού RNA από ανθρώπινο πλάσμα για χρήση μαζί με το kit *artus* HCV RG RT-PCR. Εκτελέστε τον καθαρισμό του ιικού RNA σύμφωνα με τις οδηγίες στο εγχειρίδιο kit QIAamp DSP Virus (*QIAamp DSP Virus Kit Handbook*).

**i** Η χρήση φορέα RNA είναι κρίσιμης σημασίας για την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης και επομένως για την απόδοση DNA/RNA. Για την αύξηση της σταθερότητας του φορέα RNA που παρέχεται με το kit QIAamp DSP Virus, συνιστούμε να ακολουθείτε τις πληροφορίες σχετικά με την ανασύσταση και τη φύλαξη του φορέα RNA που δίνονται στο εγχειρίδιο οδηγιών («Προετοιμασία αντιδραστηρίων και ρυθμιστικών διαλυμάτων»).

**i** Ο εσωτερικός μάρτυρας του kit *artus* HCV RG RT-PCR μπορεί να χρησιμοποιηθεί απευθείας στη διαδικασία απομόνωσης (βλέπε «Εσωτερικός μάρτυρας», παρακάτω). Βεβαιωθείτε ότι συμ-περιλαμβάνετε στη διαδικασία ένα αρνητικό δείγμα πλάσματος στον καθαρισμό. Το αντίστοιχο σήμα του εσωτερικού μάρτυρα χρησιμεύει ως βάση για την αξιολόγηση του καθαρισμού

## Εσωτερικός μάρτυρας

Μαζί παραδίδεται και ένας εσωτερικός μάρτυρας (Hep. C Virus RG IC). Με τη βοήθειά του, ο χρήστης παρακολουθεί τη διαδικασία απομόνωσης RNA και ελέγχει τυχόν αναστολή της PCR. Για αυτήν την εφαρμογή, προσθέστε τον εσωτερικό μάρτυρα στην απομόνωση, σε αναλογία 0,1 μl ανά 1 μl όγκου έκλουσης. Για παράδειγμα, με χρήση του kit QIAamp DSP Virus, το RNA εκλύεται σε 60 μl ρυθμιστικού διαλύματος έκλουσης (AVE). Επομένως, αρχικά θα πρέπει να προστεθούν 6 μl του εσωτερικού μάρτυρα.

**i** Ο εσωτερικός μάρτυρας και ο φορέας RNA (βλέπε «Απομόνωση RNA», παραπάνω) πρέπει να προστίθενται μόνο στο μείγμα ρυθμιστικού διαλύματος λύσης και υλικού δείγματος ή απευθείας στο ρυθμιστικό διάλυμα λύσης.

Ο εσωτερικός μάρτυρας δεν πρέπει να προστίθεται στο υλικό δείγματος απευθείας. Εάν προστεθεί στο ρυθμιστικό διάλυμα λύσης, παρακαλούμε σημειώστε ότι το μείγμα εσωτερικού μάρτυρα 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 εσωτερικού μάρτυρα και μειωμένη αποτελεσματικότητα εκχύλισης).

**i** Μην προσθέτετε τον εσωτερικό μάρτυρα και το φορέα RNA απευθείας στο υλικό του δείγματος.

Προαιρετικά, ο εσωτερικός μάρτυρας μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποκλειστικά για τον έλεγχο τυχόν αναστολής της PCR. Για αυτήν την εφαρμογή, προσθέστε

τον εσωτερικό μάρτυρα απευθείας στο μείγμα Hep. C Virus RG Master A και Hep. C Virus RG Master B, όπως περιγράφεται στο βήμα 2β του πρωτοκόλλου (σελίδα 26).

## Ποσοτικοποίηση

Τα εσώκλειστα πρότυπα ποσοτικοποίησης (Hep. C Virus RG QS 1–4) αντιμετωπίζονται ως προηγουμένως καθαρισμένα δείγματα και χρησιμοποιείται ο ίδιος όγκος (20 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).

**i** Τα πρότυπα ποσοτικοποίησης ορίζονται ως IU/μl.\* Για τη μετατροπή των τιμών που έχουν καθοριστεί με βάση την πρότυπη καμπύλη σε IU/ml υλικού δείγματος πρέπει να εφαρμόζεται ο ακόλουθος τύπος:

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

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)

\* Το πρότυπο έχει βαθμονομηθεί με χρήση του 1ου Διεθνούς Προτύπου για τον HCV (Π.Ο.Υ.).



# Πρωτόκολλο: PCR και ανάλυση δεδομένων

## **i** Σημαντικές υποδείξεις πριν από την έναρξη

- Προτού ξεκινήσετε τη διαδικασία, διαβάστε «Σημαντικές σημειώσεις», σελίδες 21–24.
- 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 ένας αρνητικός μάρτυρας (νερό, βαθμού PCR) συμπεριλαμβάνονται ανά εκτέλεση PCR. Για την παραγωγή πρότυπης καμπύλης, χρησιμοποιήστε και τα 4 παρεχόμενα πρότυπα ποσοτικοποίησης (Hep. C 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 τον εσωτερικό μάρτυρα για την παρακολούθηση της διαδικασίας απομόνωσης RNA και τον έλεγχο ως προς τυχόν αναστολή της PCR, ακολουθήστε το βήμα 2α. Εάν χρησιμοποιείτε τον εσωτερικό μάρτυρα αποκλειστικά για τον έλεγχο αναστολής της PCR, ακολουθήστε το βήμα 2β.
- 2α. Ο εσωτερικός μάρτυρας έχει ήδη προστεθεί στην απομόνωση (βλέπε «Εσωτερικός μάρτυρας», σελίδα 23). Σε αυτήν την περίπτωση, προετοιμάστε ένα μείγμα master, σύμφωνα με τον Πίνακα 6.

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

**Πίνακας 6. Προετοιμασία του μείγματος master (ο εσωτερικός μάρτυρας χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση της απομόνωσης RNA και τον έλεγχο της αναστολής PCR)**

<b>Αριθμός δειγμάτων</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
Hep. C Virus RG Master A	12 μl	144 μl
Hep. C Virus RG Master B	18 μl	216 μl
Hep. C Virus RG IC	0 μl	0 μl
<b>Συνολικός όγκος</b>	<b>30 μl</b>	<b>360 μl</b>

- 2β. Ο εσωτερικός μάρτυρας πρέπει να προστίθεται απευθείας στο μείγμα Hep. C Virus Master A και Hep. C Virus Master B. Σε αυτήν την περίπτωση, προετοιμάστε ένα μείγμα master, σύμφωνα με τον Πίνακα 7.

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

**Πίνακας 7. Προετοιμασία του μείγματος master (ο εσωτερικός μάρτυρας χρησιμοποιείται αποκλειστικά για τον έλεγχο της αναστολής PCR)**

<b>Αριθμός δειγμάτων</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
Hep. C Virus RG Master A	12 μl	144 μl
Hep. C Virus RG Master B	18 μl	216 μl
Hep. C Virus RG IC	2 μl	24 μl
<b>Συνολικός όγκος</b>	<b>32 μl</b>	<b>384 μl</b>

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

3. Διανείμετε με πιπέτα 30 μl του μείγματος master σε κάθε σωληνάριο PCR. Στη συνέχεια προσθέστε 20 μl του εκλουσμένου RNA δείγματος (βλέπε Πίνακα 8). Αντίστοιχα, θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν 20 μl τουλάχιστον ενός από τα πρότυπα

ποσοτικοποίησης (Hep. C Virus RG QS 1–4) ως θετικός μάρτυρας και 20 μl νερού (νερό, βαθμού PCR) ως αρνητικός μάρτυρας.

**Πίνακας 8. Προετοιμασία της αντίδρασης PCR**

<b>Αριθμός δειγμάτων</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
Μείγμα master	30 μl	ανά 30 μl
Δείγμα	20 μl	ανά 20 μl
<b>Συνολικός όγκος</b>	<b>50 μl</b>	<b>ανά 50 μl</b>

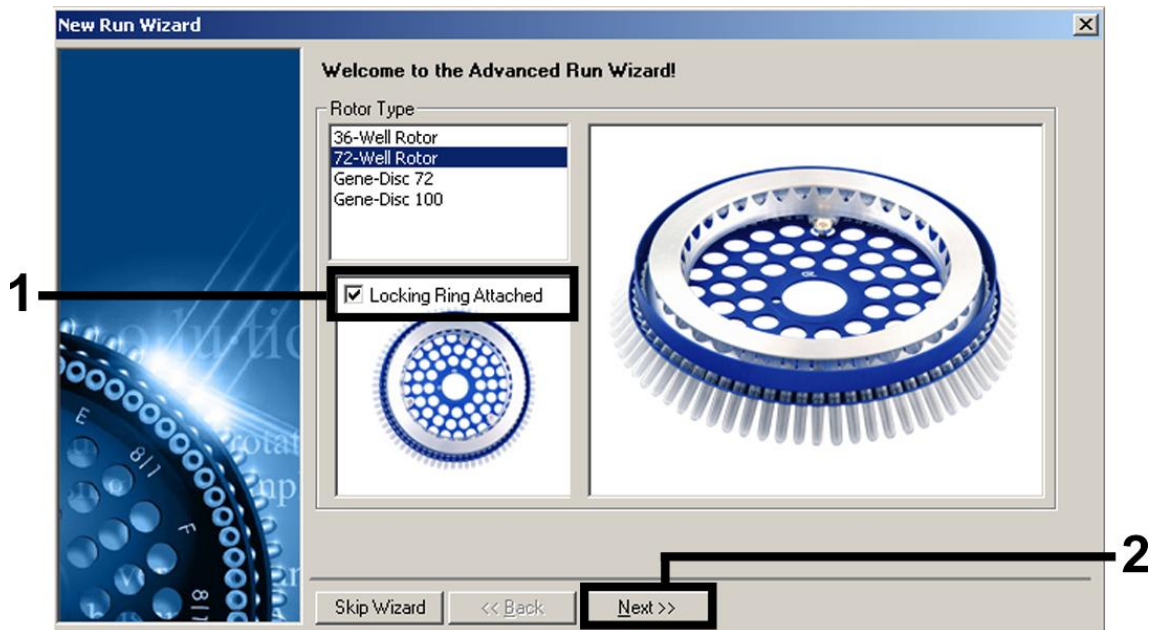
4. Κλείστε τα σωληνάρια PCR. Βεβαιωθείτε ότι ο δακτύλιος ασφάλισης (προαιρετικό εξάρτημα του οργάνου Rotor-Gene) έχει τοποθετηθεί επάνω από το στροφέα για την αποτροπή του ακούσιου ανοίγματος των σωληναρίων κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης.
5. Για την ανίχνευση RNA από HCV, δημιουργήστε ένα θερμοκρασιακό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

<b>Ρύθμιση των γενικών παραμέτρων του προσδιορισμού</b>	<b>Σχήματα 4, 5, 6</b>
<b>Αντίστροφη μεταγραφή του RNA</b>	<b>Σχήμα 7</b>
<b>Αρχική ενεργοποίηση του ενζύμου hot-start</b>	<b>Σχήμα 8</b>
<b>Ενίσχυση του cDNA</b>	<b>Σχήμα 9</b>
<b>Προσαρμογή της ευαισθησίας του καναλιού φθορισμού</b>	<b>Σχήμα 10</b>
<b>Έναρξη της εκτέλεσης</b>	<b>Σχήμα 11</b>

Όλες οι προδιαγραφές αναφέρονται στο Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q με έκδοση λογισμικού 1.7.94, Rotor;-Gene 6000 με εκδόσεις λογισμικού 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94, και Rotor;-Gene 3000 με έκδοση λογισμικού 6.0.23. 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. Όπου απαιτούνται διαφορετικές τιμές για το Rotor-Gene 3000, αυτές οι διαφορές περιγράφονται στο κείμενο.

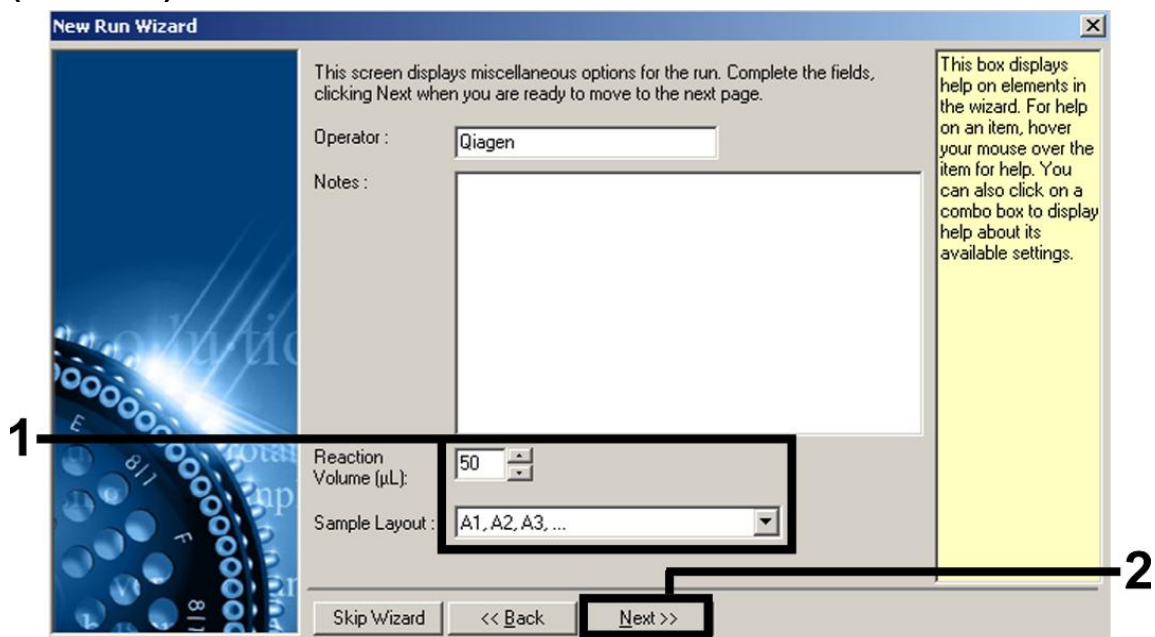
6. **Ανοίξτε καταρχήν το πλαίσιο διαλόγου «NEW RUN WIZARD» (οδηγός νέας εκτέλεσης) (Εικόνα 4). Επιλέξτε το πλαίσιο «LOCKING RING**

ATTACHED» (προσαρτημένος δακτύλιος ασφάλισης) και κάντε κλικ στο «NEXT» (επόμενο).



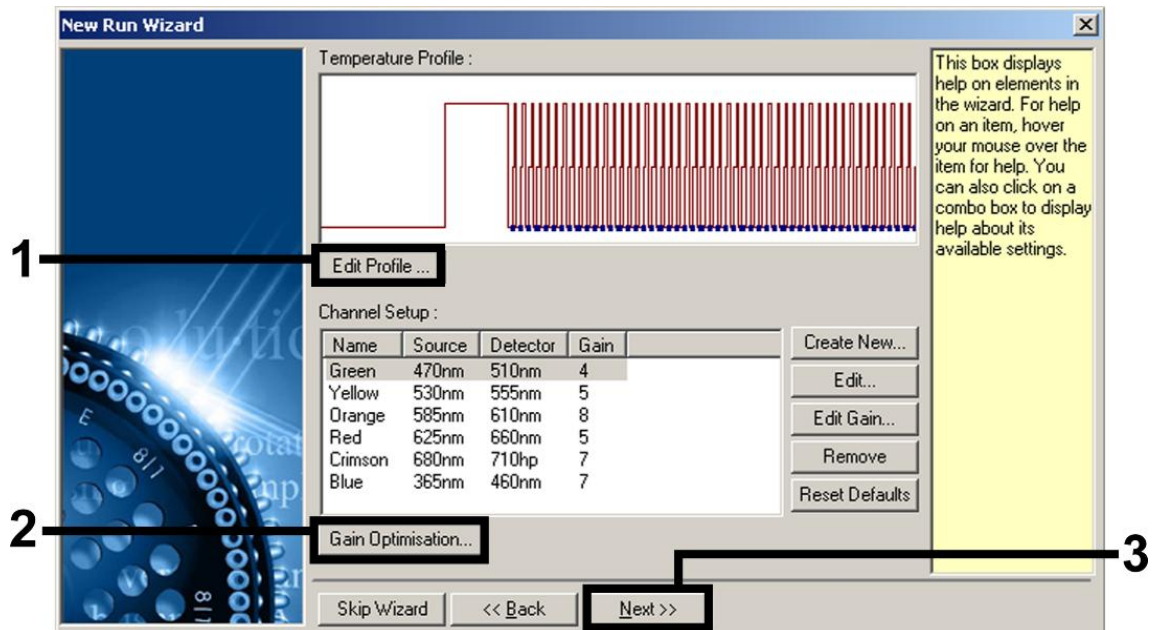
Εικόνα 4. Το πλαίσιο διαλόγου «NEW RUN WIZARD».

7. Επιλέξτε 50 ως τον όγκο αντίδρασης PCR και κάντε κλικ στο «NEXT» (Εικόνα 5).

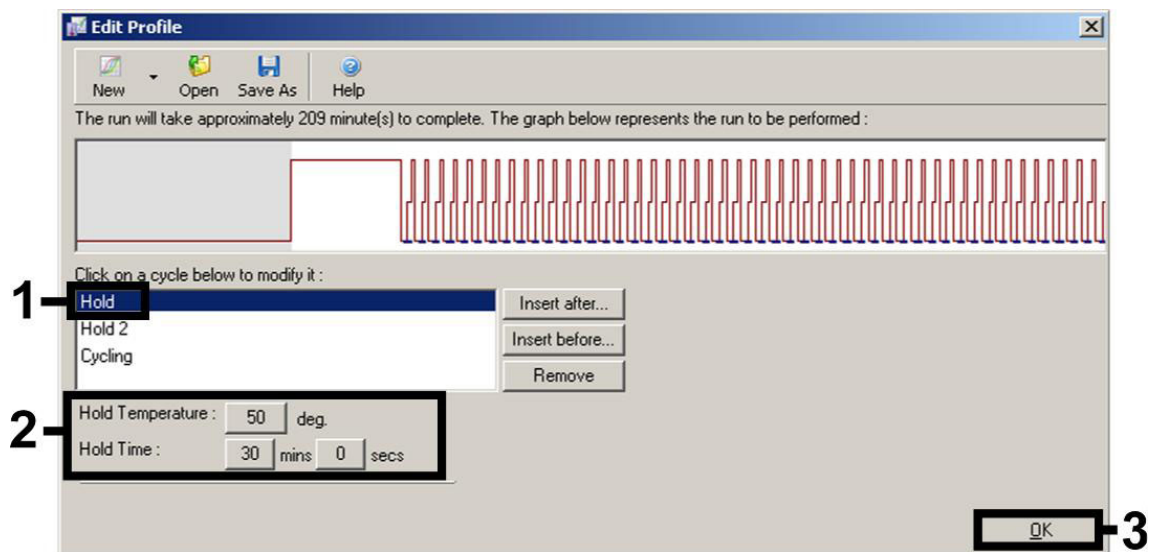


Εικόνα 5. Ρύθμιση των γενικών παραμέτρων του προσδιορισμού.

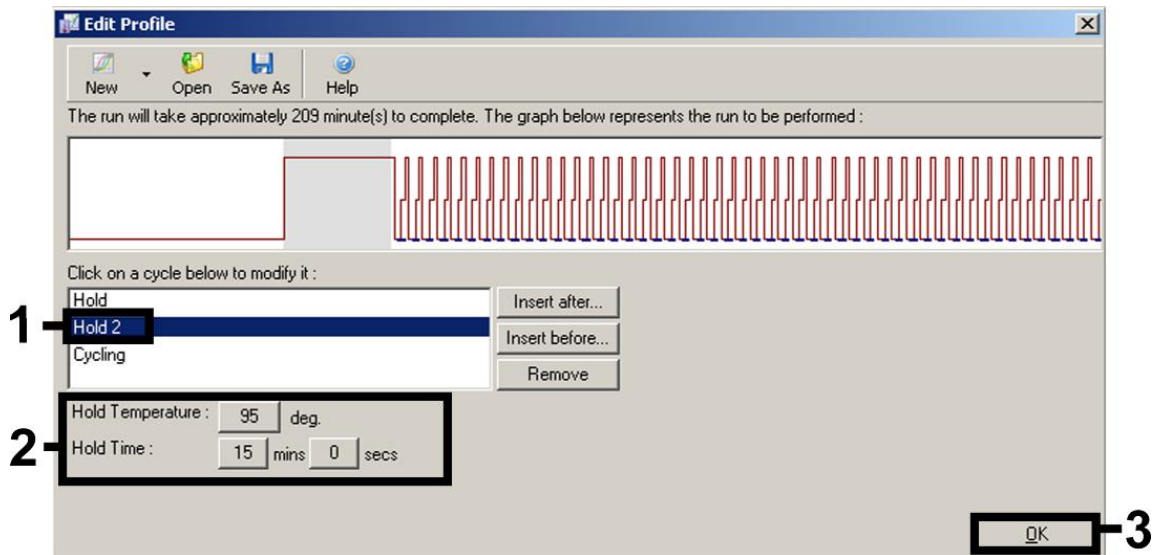
8. Κάντε κλικ στο κουμπί «EDIT PROFILE» (επεξεργασία προφίλ) στο ακόλουθο πλαίσιο διαλόγου «NEW RUN WIZARD» (Εικόνα 6) και προγραμματίστε το θερμοκρασιακό προφίλ με τον τρόπο που φαίνεται στις Εικόνες 6–9.



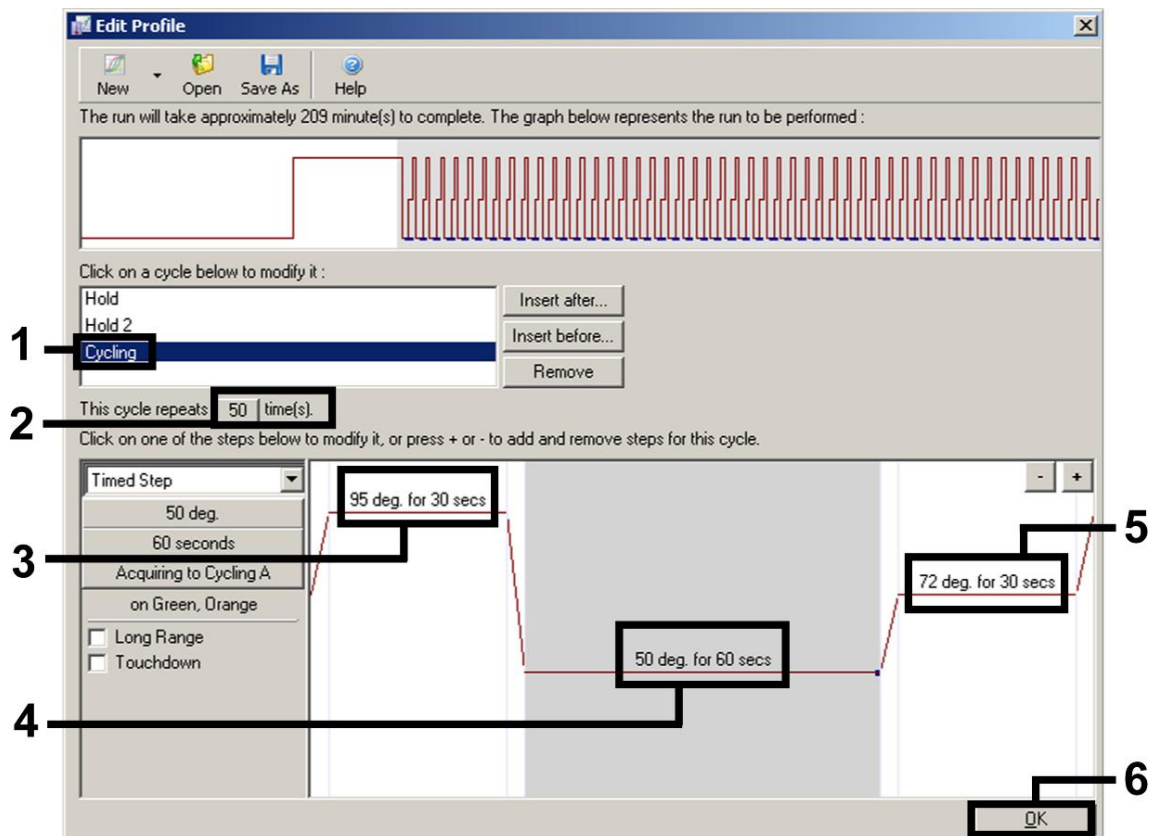
Εικόνα 6. Επεξεργασία του προφίλ.



Εικόνα 7. Αντίστροφη μεταγραφή του RNA.



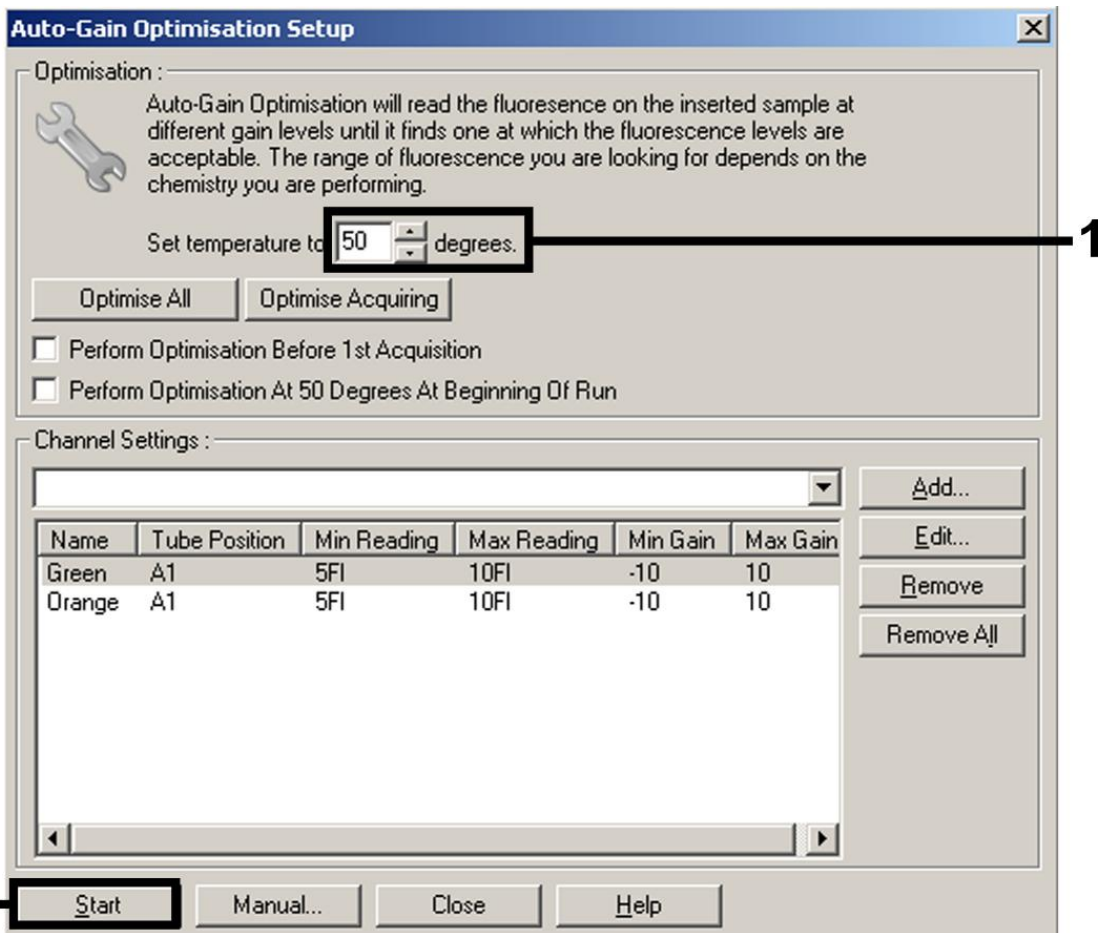
Εικόνα 8. Αρχική ενεργοποίηση του ενζύμου hot-start.



Εικόνα 9. Ενίσχυση του cDNA. Σημειώστε ότι, στο Rotor-Gene 3000, το λογισμικό θα καθορίζει τις φθορίζουσες χρωστικές ως «FAM/Sybr, ROX».

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 50 για να αντιστοιχεί στη

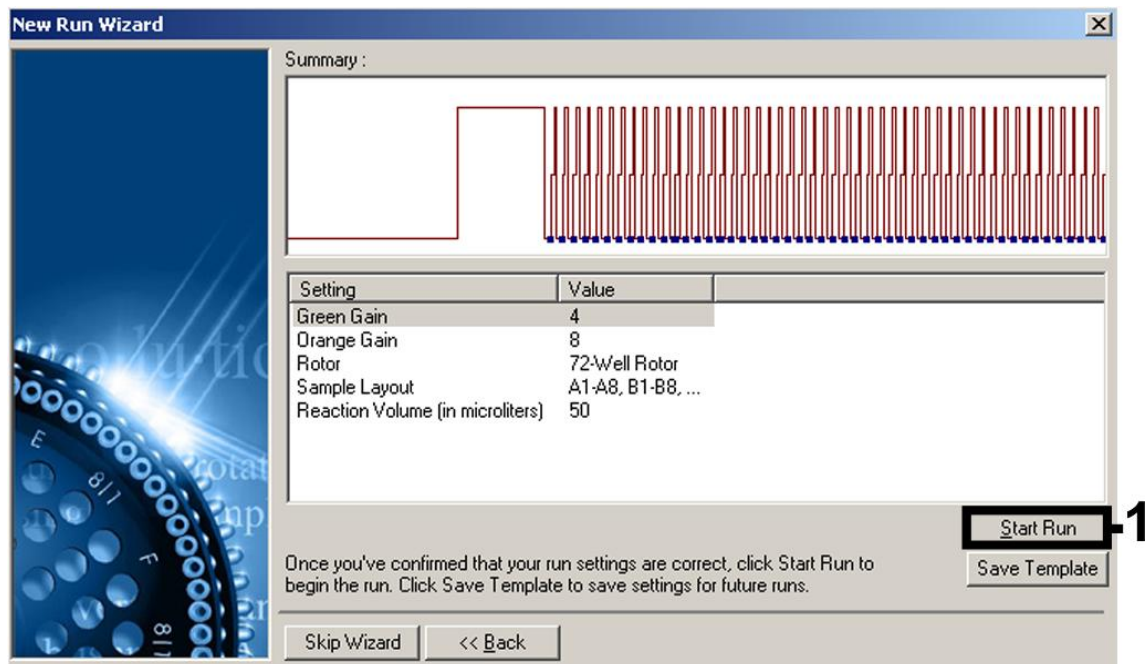
θερμοκρασία ανασύνδεσης του προγράμματος ενίσχυσης (Εικόνα 10).



**Εικόνα 10.** Προσαρμογή της ευαισθησίας του καναλιού φθορισμού. Σημειώστε ότι, στο Rotor-Gene 3000, το λογισμικό θα καθορίζει τις φθορίζουσες χρωστικές ως «FAM/Sybr» και «ROX».



10. Οι τιμές απολαβής που καθορίζονται από τη βαθμονόμηση του καναλιού αποθηκεύονται αυτομάτως και παρατίθενται στο τελευταίο παράθυρο μενού της διαδικασίας προγραμματισμού (Εικόνα 11). Κάντε κλικ στο «START RUN» (εκκίνηση εκτέλεσης).



Εικόνα 11. Έναρξη της εκτέλεσης. Σημειώστε ότι, στο Rotor-Gene 3000, το λογισμικό θα καθορίζει τις φθορίζουσες χρωστικές ως «FAM/Sybr» και «ROX».

11. Μόλις ολοκληρωθεί η εκτέλεση, προχωρήστε σε ανάλυση των δεδομένων. Τα ακόλουθα αποτελέσματα (11α, 11β και 11γ) είναι διαθέσιμα.

Παραδείγματα θετικών και αρνητικών αντιδράσεων PCR παρέχονται στην Εικόνα 12 και στην Εικόνα 13.

Ο Πίνακας 9 παρουσιάζει κατευθυντήριες οδηγίες για την ερμηνεία των ποσοτικών αποτελεσμάτων.

- 11α. Ανιχνεύτηκε σήμα στο κανάλι φθορισμού **Cycling Green**.

Το αποτέλεσμα της ανάλυσης είναι θετικό: το δείγμα περιέχει RNA από HCV.

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



Σημειώστε ότι, στο Rotor-Gene 3000, τα αντίστοιχα κανάλια είναι Cycling A.FAM για το θετικό σήμα και Cycling A.ROX για τον εσωτερικό μάρτυρα.



**11β. Στο κανάλι φθορισμού Cycling Green δεν ανιχνεύεται σήμα.**

**Ταυτόχρονα, εμφανίζεται σήμα του εσωτερικού μάρτυρα στο κανάλι Cycling Orange.**

**Στο δείγμα δεν υπάρχει ανιχνεύσιμο RNA του HCV. Το δείγμα μπορεί να θεωρηθεί αρνητικό.**

Στην περίπτωση αρνητικής RT-PCR για τον HCV, το ανιχνευμένο σήμα του εσωτερικού μάρτυρα αποκλείει το ενδεχόμενο αναστολής της RT-PCR.

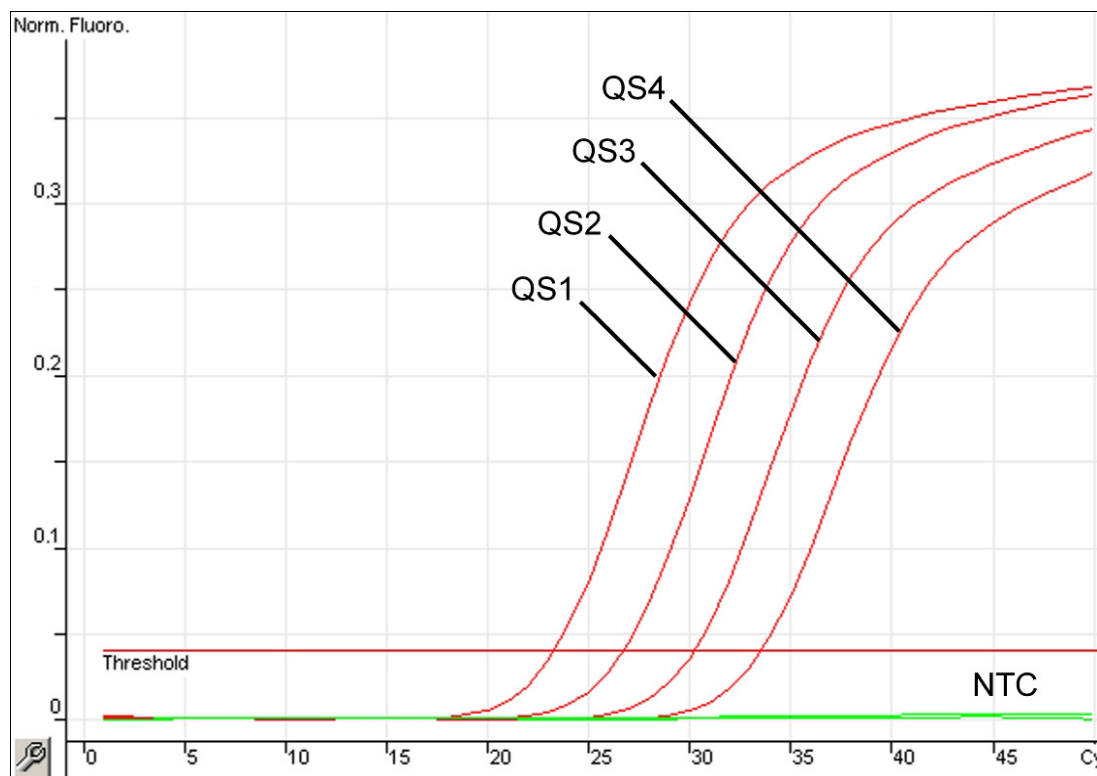
**i** Σημειώστε ότι, στο Rotor-Gene 3000, τα αντίστοιχα κανάλια είναι Cycling A.ROX για τον εσωτερικό μάρτυρα και απουσία σήματος για το Cycling A.FAM.

**11γ. Κανένα σήμα δεν ανιχνεύεται στο κανάλι Cycling Green ή στο κανάλι Cycling Orange.**

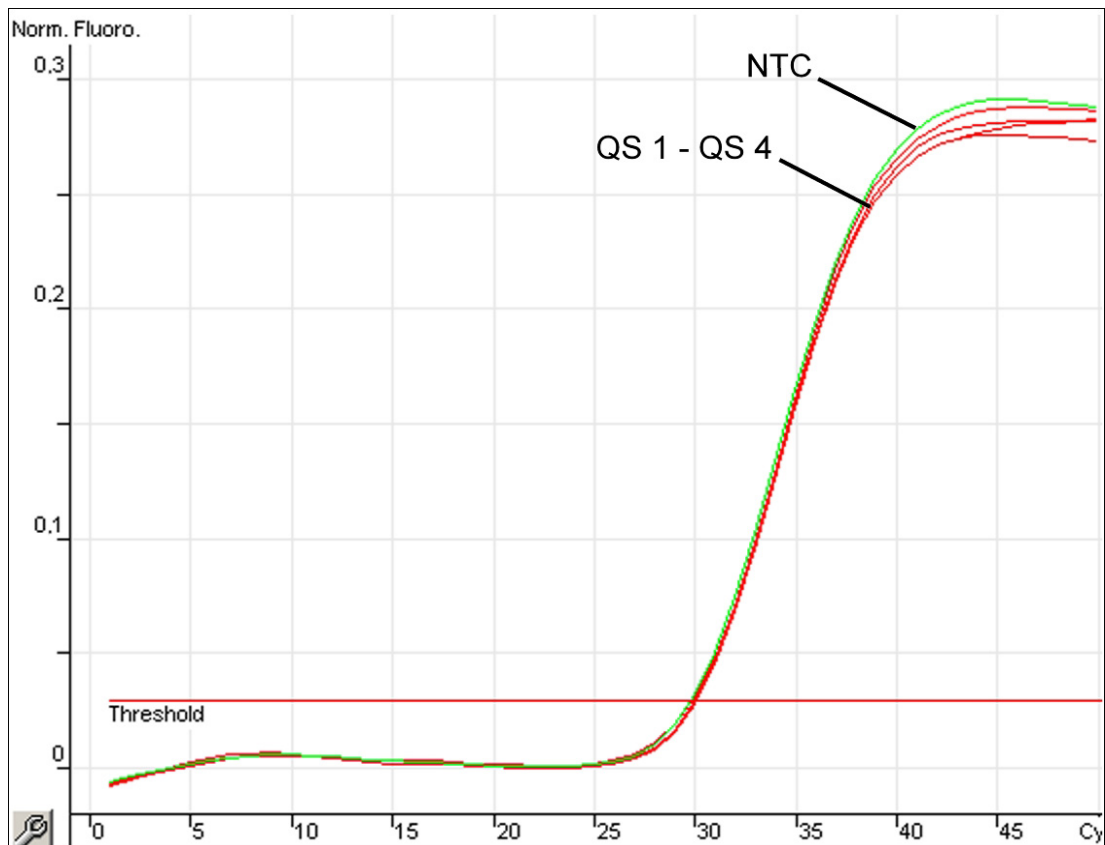
**Η λήψη αποτελέσματος δεν είναι δυνατή.**

Πληροφορίες σχετικά με τις πηγές σφαλμάτων και την επίλυσή τους θα βρείτε στο «Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων», σελίδα 35.

**i** Σημειώστε ότι, στο Rotor-Gene 3000, τα αντίστοιχα κανάλια είναι Cycling A.FAM και Cycling A.ROX.



**Εικόνα 12. Ανίχνευση των προτύπων ποσοτικοποίησης (Hep. C Virus RG QS 1–4) στο κανάλι φθορισμού Cycling Green. NTC: No template control (αρνητικός μάρτυρας).**



**Εικόνα 13.** Ανίχνευση του εσωτερικού μάρτυρα (IC) στο κανάλι φθορισμού Cycling Orange με ταυτόχρονη ενίσχυση των προτύπων ποσοτικοποίησης (Hep. C Virus RG QS 1–4). NTC: No template control (αρνητικός μάρτυρας).

### Πίνακας 9. Ερμηνεία των ποσοτικών αποτελεσμάτων

Αποτέλεσμα	Ερμηνεία
HCV RNA >34 IU/ml	Το αποτέλεσμα βρίσκεται εντός του καθορισμένου εύρους δοκιμασίας. Η πιθανότητα ανίχνευσης RNA από HCV είναι >95%. Το θετικό αποτέλεσμα δοκιμασίας είναι στατιστικά διασφαλισμένο.
HCV RNA <34 IU/ml	Το αποτέλεσμα βρίσκεται εκτός του καθορισμένου εύρους δοκιμασίας. Η αναπαραγωγικότητα του θετικού αποτελέσματος δεν είναι διασφαλισμένη.
Αρνητικό για RNA από HCV	Δεν ανιχνεύθηκε RNA από HCV.






## 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 θετικούς μάρτυρες (Hep. C Virus RG QS 1–4) στο κανάλι φθορισμού Cycling Green ή Cycling A.FAM**

- α) Το επιλεγμένο κανάλι φθορισμού για ανάλυση δεδομένων PCR δεν συμμορφώνεται με το πρωτόκολλο  Για ανάλυση δεδομένων επιλέξτε το κανάλι φθορισμού Cycling Green ή Cycling A.FAM για την ανάλυση HCV RT-PCR και το κανάλι φθορισμού Cycling Orange ή Cycling A.ROX για την RT-PCR εσωτερικού μάρτυρα.
- β) Λανθασμένος προγραμματισμός του προφίλ θερμοκρασίας στο όργανο Rotor-Gene  Συγκρίνετε το προφίλ θερμοκρασίας με το πρωτόκολλο. Βλέπε «Πρωτόκολλο: PCR και ανάλυση δεδομένων», σελίδα 25.
- 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 25.
- δ) Οι συνθήκες φύλαξης για ένα ή περισσότερα συστατικά του kit δεν ήταν σύμφωνες με τις οδηγίες της ενότητας «Αποθήκευση» (σελίδα 5)  Ελέγξτε τις συνθήκες φύλαξης και την ημερομηνία λήξης (βλ. ετικέτα του kit) των αντιδραστηρίων και χρησιμοποιήστε νέο kit, εάν είναι απαραίτητο.
- ε) Το kit *artus* HCV RG RT-PCR έχει λήξει  Ελέγξτε τις συνθήκες φύλαξης και την ημερομηνία λήξης (βλ. ετικέτα του kit) των αντιδραστηρίων και χρησιμοποιήστε νέο kit, εάν είναι απαραίτητο.

## Σχόλια και προτάσεις

---

### Ασθενές σήμα ή απουσία σήματος του εσωτερικού μάρτυρα στο κανάλι φθορισμού **Cycling Orange** ή **Cycling A.ROX** και ταυτόχρονη απουσία σήματος στο κανάλι **Cycling Green** ή **Cycling A.FAM**

- α) Οι συνθήκες PCR δεν συμμορφώνονται με το πρωτόκολλο
- ⓘ Ελέγξτε τις συνθήκες της PCR (βλέπε ανωτέρω) και επαναλάβετε την PCR με διορθωμένες ρυθμίσεις, εάν είναι απαραίτητο.
- β) Συνέβη αναστολή της PCR
- ⓘ Βεβαιωθείτε ότι χρησιμοποιείτε τη συνιστώμενη μέθοδο απομόνωσης και ακολουθήστε προσεκτικά τις οδηγίες του κατασκευαστή.
- ⓘ Βεβαιωθείτε ότι κατά την απομόνωση του RNA έχει εκτελεστεί το επιπλέον προτεινόμενο βήμα φυγοκέντρησης, για την απόλυτη απομάκρυνση των καταλοίπων αιθανόλης πριν από την έκλυση (βλέπε «Απομόνωση RNA», σελίδα 23).
- γ) Χάθηκε RNA κατά την εκχύλιση
- ⓘ Εάν ο εσωτερικός μάρτυρας προστέθηκε στην εκχύλιση, η απουσία σήματος του εσωτερικού μάρτυρα μπορεί να υποδεικνύει απώλεια RNA κατά την εκχύλιση. Βεβαιωθείτε ότι χρησιμοποιείτε τη συνιστώμενη μέθοδο απομόνωσης (βλέπε «Απομόνωση RNA», σελίδα 23) 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 «Αποθήκευση» (σελίδα 5)
- ⓘ Ελέγξτε τις συνθήκες φύλαξης και την ημερομηνία λήξης (βλ. ετικέτα του kit) των αντιδραστηρίων και χρησιμοποιήστε νέο kit, εάν είναι απαραίτητο.
- ε) Το kit *artus* HCV RG RT-PCR έχει λήξει
- ⓘ Ελέγξτε τις συνθήκες φύλαξης και την ημερομηνία λήξης (βλ. ετικέτα του kit) των αντιδραστηρίων και χρησιμοποιήστε νέο kit, εάν είναι απαραίτητο.

## Σχόλια και προτάσεις

---

### Σήματα με τους αρνητικούς μάρτυρες στο κανάλι φθορισμού Cycling Green ή Cycling A.FAM της ανάλυσης PCR

α) Συνέβη επιμόλυνση κατά την προετοιμασία της PCR

ⓘ Επαναλάβετε την PCR με νέα αντιδραστήρια κατ' επανάληψη.

ⓘ Εάν είναι εφικτό, κλείστε τα σωληνάρια PCR αμέσως μετά την προσθήκη του δείγματος που θα υποβληθεί σε έλεγχο.

ⓘ Βεβαιωθείτε πως οι θετικοί μάρτυρες διανέμονται με πιπέτα τελευταίοι.

ⓘ 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 των εξεταζόμενων δειγμάτων με τη χρησιμοποίηση νέων αντιδραστηρίων.

ⓘ Βεβαιωθείτε πως ο χώρος εργασίας και τα όργανα απολυμαίνονται σε τακτά χρονικά διαστήματα.

## 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.

## Πληροφορίες παραγγελίας

Προϊόν	Περιεχόμενα	Αρ. καταλ.
<i>artus</i> HCV RG RT-PCR Kit (24)	Για 24 αντιδράσεις: 2 Master, 4 πρότυπα ποσοτικοποίησης, εσωτερικός μάρτυρας, νερό (βαθμού PCR)	4518263
<i>artus</i> HCV RG RT-PCR Kit (96)	Για 96 αντιδράσεις: 2 Master, 4 πρότυπα ποσοτικοποίησης, εσωτερικός μάρτυρας, νερό (βαθμού PCR)	4518265
<b>QIAamp DSP Virus Kit — για τον καθαρισμό ιικών νουκλεϊκών οξέων από ανθρώπινο πλάσμα για in vitro διαγνωστικούς σκοπούς</b>		
QIAamp DSP Virus Kit	Για 50 παρασκευές: Στήλες περιδίνισης QIAamp MinElute <sup>®</sup> , ρυθμιστικά διαλύματα, αντιδραστήρια, σωληνάρια, επεκτάσεις στήλης και σύνδεσμοι VacConnector	60704
<b>Rotor-Gene Q MDx και παρελκόμενα</b>		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	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, δεν περιλαμβάνεται εγκατάσταση και κατάρτιση	9002022
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

Προϊόν	Περιεχόμενα	Αρ. καταλ.
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
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



Προϊόν	Περιεχόμενα	Αρ. καταλ.
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 1.000 αντιδράσεις	981008

Για τις τρέχουσες πληροφορίες άδειας και αποπονήσεις 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

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®, QIAamp®, *artus*®, MinElute®, Rotor-Gene® (Όμιλος QIAGEN Group); COBAS®, TaqMan® (Όμιλος Roche); FAM™, ROX™ (Life Technologies Corporation); SYBR® (Molecular Probes, Inc.).

#### Άδεια περιορισμένης χρήσης

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

1. Η χρήση του kit *artus* HCV RG RT-PCR επιτρέπεται μόνο σύμφωνα με το *Εγχειρίδιο kit artus HCV RG RT-PCR* 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 HCV RG RT-PCR* 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 οποιοσδήποτε 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 οποιοδήποτε 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).

© 2015 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)

