



artus[®] EBV RG PCR Kit Handbuch

 24 (Katalognr. 4501263)
 96 (Katalognr. 4501265)

Version 1



Quantitative In-vitro-Diagnostik

Zur Verwendung mit den Rotor-Gene[®] Q Thermocyclern



4501263, 4501265



1046897DE



QIAGEN GmbH, QIAGEN Straße 1, D-40724 Hilden

R5



1046897DE



QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN ist der führende Anbieter innovativer Proben- und Testtechnologien zur Isolierung und zum Nachweis von Bestandteilen aus jeder biologischen Probe. Unsere technologisch und qualitativ hochwertigen Produkte und unser exzellenter Service garantieren Erfolg von der Probenvorbereitung bis zum Ergebnis.

QIAGEN setzt Standards bei:

- Aufreinigung von DNA, RNA und Proteinen
- Testsystemen für Nukleinsäuren und Proteine
- microRNA-Forschung und RNAi
- Automatisierung von Proben- und Testtechnologien

Wir stellen Ihnen die neuesten Technologien zur Verfügung, damit Sie schnell und sicher die besten Ergebnisse erzielen können. Weitere Informationen finden Sie im Internet unter www.qiagen.com.

Inhalt

Vorgesehener Verwendungszweck	6
Zusammenfassung und Erklärung	6
Informationen zu den Erregern	6
Verfahrensprinzip	6
Mitgelieferte Materialien	7
Kit-Inhalt	7
Erforderliche, nicht mitgelieferte Materialien	7
Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen	8
Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen	8
Lagerung und Handhabung der Reagenzien	9
Durchführung	10
DNA-Isolierung	10
Interne Kontrolle	13
Protokoll: PCR und Auswertung	15
Interpretation der Ergebnisse	22
Quantifizierung	22
Ergebnisse	23
Hilfe zur Fehlerbehebung	25
Qualitätskontrolle	27
Anwendungseinschränkungen	27
Leistungsmerkmale	28
Analytische Sensitivität	28
Spezifität	29
Reproduzierbarkeit	30
Literatur	30
Symbole	31
Ansprechpartner	31
Bestellinformationen	32

Vorgesehener Verwendungszweck

Der *artus* EBV RG PCR Kit ist ein In-vitro-Test zur Quantifizierung der DNA des Epstein-Barr-Virus (EBV) in Humanplasma, Serum, Liquor oder Blutzellen mittels Nukleinsäure-Amplifikation. Dieser diagnostische Testkit verwendet die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und wurde für die Verwendung mit den Rotor-Gene Q Thermocyclern konfiguriert.

Zusammenfassung und Erklärung

Der *artus* EBV RG PCR Kit ist ein gebrauchsfertiges System für den Nachweis von EBV-DNA durch die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) auf den Rotor-Gene Q Thermocyclern. Der EBV RG Master enthält die Reagenzien und Enzyme zur spezifischen Amplifikation eines 97 bp langen Abschnitts des EBV-Genoms sowie für den direkten Nachweis dieses Amplifikats im Fluoreszenzkanal Cycling Green des Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q oder Rotor-Gene 6000 oder im Cycling A.FAM™ des Rotor-Gene 3000.

Zusätzlich enthält der *artus* EBV RG PCR Kit zum Nachweis einer möglichen PCR-Inhibition ein zweites heterologes Amplifikationssystem. Diese wird als interne Kontrolle (IC) im Fluoreszenzkanal Cycling Yellow des Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q oder Rotor-Gene 6000 oder im Cycling A.JOE™ des Rotor-Gene 3000 nachgewiesen. Dabei wird die Nachweisgrenze der analytischen EBV-PCR (siehe „Analytische Sensitivität“ auf Seite 28) nicht beeinträchtigt. Externe Positivkontrollen (EBV RG QS 1 - 4) werden mitgeliefert, mit denen die Menge der viralen DNA bestimmt werden kann. Lesen Sie hierzu bitte den Abschnitt „Quantifizierung“ auf Seite 22.

Informationen zu den Erregern

Die Übertragung des Epstein-Barr-Virus (EBV) erfolgt oral, hauptsächlich über den Speichel. Im Allgemeinen verläuft eine Infektion mit EBV symptomfrei, insbesondere, wenn sie im Kindesalter erfolgt. Klinisches Zeichen einer akuten Infektion ist eine infektiöse Mononukleose (Pfeiffer'sches Drüsenfieber) mit Fieber, Müdigkeit und Halsschmerzen sowie entzündeten Lymphknoten und entzündeter Milz. Bei manchen Patienten treten diese Symptome chronisch wieder auf. Schwere Formen einer EBV-Infektion können bei immundefizienten Patienten und Menschen mit T-Zell-Störungen auftreten.

Verfahrensprinzip


Beim Nachweis von Pathogenen mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) werden spezifische Bereiche aus dem Genom des Pathogens amplifiziert. Bei der Real-Time-PCR wird das entstandene Amplifikat mit Hilfe von Fluoreszenzfarbstoffen detektiert. Diese sind in der Regel an Oligonukleotid-Sonden gekoppelt, die spezifisch an das Amplifikat binden. Die Beobachtung des Verlaufs der Fluoreszenzintensitäten während der PCR (in Echtzeit, daher

„Real-Time-PCR“) ermöglicht Nachweis und quantitative Bestimmung des sich anreichernden Produkts, ohne die Probenröhrchen nach der PCR wieder öffnen zu müssen.*

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

Mitgelieferte Materialien

Kit-Inhalt

artus EBV RG PCR Kit			(24)	(96)
Katalognr.			4501263	4501265
Anzahl der Reaktionen			24	96
Blau	EBV RG Master		2 x 12 Reaktionen	8 x 12 Reaktionen
Rot	EBV RG QS 1* (5 x 10 ⁴ Kopien/μl)	QS	200 μl	200 μl
Rot	EBV RG QS 2* (5 x 10 ³ Kopien/μl)	QS	200 μl	200 μl
Rot	EBV RG QS 3* (5 x 10 ² Kopien/μl)	QS	200 μl	200 μl
Rot	EBV RG QS 4* (5 x 10 ¹ Kopien/μl)	QS	200 μl	200 μl
Grün	EBV RG IC [†]	IC	1.000 μl	2 x 1.000 μl
Weiß	Wasser (PCR-Qualität)		1.000 μl	1.000 μl
	Handbuch		1	1

* Quantifizierungsstandard.

† Interne Kontrolle.

Erforderliche, nicht mitgelieferte Materialien

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern (Safety Data Sheets, SDSs) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

Reagenzien

- DNA-Isolierungskit (siehe „DNA-Isolierung“ auf Seite 10)

Verbrauchsartikel

- sterile Pipettenspitzen mit Filter

- Strip-Röhrchen und Deckel, 0,1 ml, zur Verwendung mit 72-well-Rotor (Kat.-Nr. 981103 oder 981106)
- Ersatzweise: PCR-Röhrchen, 0,2 ml, zur Verwendung mit 36-well-Rotor (Kat.-Nr. 981005 oder 981008)

Ausrüstung

- Pipetten (verstellbar)*
- Laborschüttler (Vortex)*
- Tischzentrifuge* mit Rotor für 2-ml-Reaktionsgefäße
- Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q oder Rotor-Gene Thermocycler* mit Fluoreszenzkanälen für Cycling Green und Cycling Yellow oder mit Fluoreszenzkanälen für Cycling A.FAM und Cycling A.JOE
- Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q Software-Version ab 1.7.94 (Rotor-Gene 6000 Software-Version 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94; Rotor-Gene 3000 Software-Version 6.0.23)
- Kühlblock (Ladeblock 72 x 0,1-ml-Röhrchen, Kat.-Nr. 9018901, oder Ladeblock 96 x 0,2-ml-Röhrchen, Kat.-Nr. 9018905)

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

Für in-vitro-diagnostische Anwendungen

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern entnehmen (safety data sheets, SDSs). In unserer Online-Sammlung der Sicherheitsdatenblätter unter www.qiagen.com/safety finden Sie zu jedem QIAGEN® Kit und zu jeder Kit-Komponente das jeweilige SDS als PDF-Datei, die Sie einsehen und ausdrucken können.

Entsorgen Sie Proben und Ansätze gemäß Ihren örtlichen Sicherheitsvorschriften.

Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

Folgendes sollte vom Anwender immer beachtet werden:

- Sterile Pipettenspitzen mit Filter verwenden.
- Positivmaterial (Proben, Positivkontrollen, Amplifikate) räumlich getrennt von den übrigen Reagenzien aufreinigen, lagern und zur Reaktion zusetzen.

* Stellen Sie sicher, dass die Geräte gemäß den Herstellerempfehlungen geprüft und kalibriert wurden.

- Alle Komponenten vor Assay-Beginn bei Raumtemperatur (15 bis 25 °C) vollständig auftauen.
- Nach dem Auftauen die Komponenten durchmischen (durch Auf- und Abpipettieren oder stoßweises Mischen auf dem Laborschüttler [Vortex]) und dann kurz zentrifugieren.
- Arbeiten Sie zügig und halten Sie die Komponenten auf Eis oder im Kühlblock (72/96-well-Ladeblock).

Lagerung und Handhabung der Reagenzien

Die Komponenten des *artus* EBV RG PCR Kits sollten bei -15 bis -30 °C gelagert werden – unter diesen Lagerbedingungen sind sie bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren (mehr als 2-mal) sollte vermieden werden, da dadurch die Sensitivität verringert werden kann. Bei unregelmäßigem Gebrauch sollten deshalb die Reagenzien aliquotiert werden. Die Reagenzien sollten nicht länger als 5 Stunden bei 2 bis 8 °C gelagert werden.

Durchführung

DNA-Isolierung

Die in Tabelle 1 aufgeführten QIAGEN Kits sind validiert für die Aufreinigung viraler DNA aus den angegebenen humanen Probenotypen mit dem *artus* EBV RG PCR Kit. Führen Sie die Aufreinigung viraler DNA entsprechend den Anweisungen in den Kit-Handbüchern durch.

Tabelle 1. Zur Verwendung mit dem *artus* EBV RG PCR Kit validierte Aufreinigungskits

Probenmaterial	Probenvolumen	Nukleinsäure-Isolierungskit	Katalognr. (QIAGEN)	Carrier-RNA
Serum, Plasma, Liquor	200 µl	QIAamp® DNA Mini Kit (50)	51304	nicht enthalten
Serum, Plasma	1 ml	QIAamp UltraSens® Virus Kit (50)	53704	enthalten
Blutzellen	200 µl	QIAamp DNA Blood Mini Kit (50)	51104	nicht enthalten
Plasma	400 µl	EZ1® DSP Virus Kit (48)*	62724	enthalten

* Der EZ1 DSP Virus Kit ist auch als CE-IVD-markierte EASYartus® EBV RG PCR Kits in Kombination mit dem *artus* EBV RG PCR Kit erhältlich (siehe Bestellinformationen auf Seite 32).

Hinweis: Mit Antikoagulanzen beschichtete Blutentnahmeröhrchen können zur Inhibition der PCR führen. Bei Verwendung der oben aufgeführten Isolierungskits werden solche Inhibitoren jedoch eliminiert. Eine Verwendung von heparinisiertem Blut zu vermeiden, wird empfohlen.

Hinweis: Der *artus* EBV RG PCR Kit sollte nicht mit auf Phenol basierenden Aufreinigerungsverfahren verwendet werden.

Verwendung des QIAamp DNA Blood Mini Kit oder QIAamp DNA Mini Kit

Hinweis: Der Einsatz von Carrier-RNA ist für die Effizienz der Aufreinigung und damit für die DNA-/RNA-Ausbeute von entscheidender Bedeutung. Beachten Sie bitte, dass für die Aufreinigung von Nukleinsäuren aus zellfreien Körperflüssigkeiten und Material mit geringem DNA- und RNA-Gehalt (z. B.

Liquor) die Zugabe von Carrier (RNA-Homopolymer Poly[rA], im QIAamp DNA Blood Mini Kit oder QIAamp DNA Mini Kit nicht enthalten) dringend empfohlen wird. Setzen Sie in solchen Fällen Carrier-RNA folgendermaßen an.

- Resuspendieren Sie lyophilisierte Carrier-RNA (RNA-Homopolymer Poly[rA], im QIAamp DNA Blood Mini Kit oder QIAamp DNA Mini Kit nicht enthalten) mit dem Elutionspuffer (verwenden Sie nicht Lysepuffer) des Aufreinigungskits (Puffer AE des QIAamp DNA Mini Kits und QIAamp DNA Blood Mini Kits), und setzen Sie eine Verdünnung an mit einer Konzentration von 1 µg/µl. Aliquotieren Sie die Carrier-RNA-Lösung nach Bedarf und lagern Sie diese bei -15 bis -30 °C. Vermeiden Sie wiederholtes Auftauen (mehr als 2 mal) der aliquotierten Carrier-RNA.
- Verwenden Sie 1 µg Carrier-RNA auf 100 µl Lysepuffer. Wenn das Aufreinigungsprotokoll beispielsweise 200 µl Lysepuffer vorsieht, geben Sie 2 µl Carrier-RNA (1 µg/µl) unmittelbar zum Lysepuffer hinzu (Puffer AL des QIAamp DNA Mini Kits und QIAamp DNA Blood Mini Kits). Vor jeder Aufreinigung sollte eine Mischung aus Lysepuffer und Carrier-RNA (und gegebenenfalls interner Kontrolle, siehe „Interne Kontrolle“ auf Seite 13) nach dem Pipettierschema in Tabelle 2 frisch angesetzt werden.

Tabelle 2. Pipettierschema zur Verwendung mit dem QIAamp DNA Blood Mini Kit oder QIAamp DNA Mini Kit

Anzahl Proben	1	12
Puffer AL (Lysepuffer)*	z. B., 200 µl	z. B., 2.400 µl
Carrier-RNA (1 µg/µl)	2 µl	24 µl
Gesamtvolumen	202 µl	2.424 µl
Volumen pro Aufreinigung	200 µl	je 200 µl

* Enthält Guanidinhydrochlorid; Sicherheitshinweise/-informationen finden Sie im Kit-Handbuch.

Hinweis: Verwenden Sie die zur Aufreinigung frisch angesetzte Mischung aus Lysepuffer und Carrier-RNA sofort. Eine Lagerung der Mischung ist nicht möglich.

Hinweis: Die interne Kontrolle des *artus* EBV RG PCR Kits kann bei der Aufreinigung direkt verwendet werden (siehe „Interne Kontrolle“ auf Seite 13).

Hinweis: Zur vollständigen Entfernung von Ethanol-Resten wird dringend empfohlen, den im Protokoll (*QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook*, Third Edition, April 2010, Seiten 29 und 32) empfohlenen Zentrifugationsschritt

10 durchzuführen. Erhöhen der Dauer dieser Zentrifugation auf 3 Minuten wird empfohlen.

Für größte Sensitivität des *artus* EBV RG PCR Kits wird empfohlen, die DNA in 50 µl Elutionspuffer zu eluieren.

Verwendung des QIAamp UltraSens Virus Kits

Hinweis: Der Einsatz von Carrier-RNA ist für die Effizienz der Aufreinigung und damit für die DNA-/RNA-Ausbeute von entscheidender Bedeutung. Um eine höhere Stabilität der im QIAamp UltraSens Virus Kit mitgelieferten Carrier-RNA zu erzielen, wird abweichend von den Anweisungen im Kit-Handbuch das folgende Verfahren empfohlen.

- Resuspendieren Sie die lyophilisierte Carrier-RNA vor der ersten Verwendung des Kits in 310 µl Elutionspuffer (Puffer AVE), der mit dem Kit geliefert wurde (Endkonzentration 1 µg/µl, verwenden Sie nicht Lysepuffer). Aliquotieren Sie die Carrier-RNA-Lösung nach Bedarf und lagern Sie diese bei -15 bis -30 °C. Vermeiden Sie wiederholtes Auftauen (mehr als 2 mal) der aliquotierten Carrier-RNA.
- Vor jeder Aufreinigung sollte eine Mischung aus Lysepuffer und Carrier-RNA (und gegebenenfalls interner Kontrolle, siehe „Interne Kontrolle“ auf Seite 13) nach dem Pipettierschema in Tabelle 3 frisch angesetzt werden.

Tabelle 3. Pipettierschema zur Verwendung mit dem QIAamp UltraSens Virus Kit

Anzahl Proben	1	12
Puffer AC (Lysepuffer)*	800 µl	9.600 µl
Carrier-RNA (1 µg/µl)	5,6 µl	67,2 µl
Gesamtvolumen	805,6 µl	9.667,2 µl
Volumen pro Aufreinigung	800 µl	je 800 µl

* Enthält Isopropanol; Sicherheitshinweise/-informationen finden Sie im Kit-Handbuch.

Hinweis: Verwenden Sie die zur Aufreinigung frisch angesetzte Mischung aus Lysepuffer und Carrier-RNA sofort. Eine Lagerung der Mischung ist nicht möglich.

Hinweis: Die interne Kontrolle des *artus* EBV RG PCR Kits kann bei der Aufreinigung direkt verwendet werden (siehe „Interne Kontrolle“ auf Seite 13).

Hinweis: Zur vollständigen Entfernung von Ethanol-Resten wird dringend empfohlen, die im Schritt 14 des Protokolls (*QIAamp UltraSens Virus Handbook*,

April 2010, Seite 17) beschriebene zusätzliche Zentrifugation durchzuführen. Erhöhen der Dauer dieser Zentrifugation auf 3 Minuten wird empfohlen.

Für größte Sensitivität des *artus* EBV RG PCR Kits wird empfohlen, die DNA in 50 µl Elutionspuffer zu eluieren.

Der QIAamp UltraSens Virus Kit ermöglicht eine Probenkonzentration. Bei Verwendung eines anderen Probenmaterials als Serum oder Plasma sollten Sie der Probe mindestens 50 % (v/v) negatives Humanplasma zusetzen.

Verwendung des EZ1 DSP Virus Kits

Hinweis: Der Einsatz von Carrier-RNA ist für die Effizienz der Aufreinigung und damit für die DNA-/RNA-Ausbeute von entscheidender Bedeutung. Geben Sie zu jeder Aufreinigung die geeignete Menge Carrier-RNA entsprechend den Anweisungen im *EZ1 DSP Virus Kit Handbook* hinzu.

Hinweis: Die interne Kontrolle des *artus* EBV RG PCR Kits kann bei der Aufreinigung direkt verwendet werden (siehe „Interne Kontrolle“ unten).

Hinweis: Eine sofortige Verwendung der aufgereinigten viralen Nukleinsäuren für die PCR nach der Aufreinigung mit dem EZ1 DSP Virus Kit wird dringend empfohlen. Ersatzweise können die Eluate vor der PCR-Analyse bis zu 3 Tage bei 4 °C gelagert werden.

Interne Kontrolle

Eine interne Kontrolle (EBV RG IC) wird mitgeliefert. Mit ihr kann sowohl das DNA-Isolierungsverfahren kontrolliert als auch die PCR auf mögliche Inhibition überprüft werden. Bei Verwendung des EZ1 DSP Virus Kits zur Aufreinigung muss die interne Kontrolle unter Beachtung der Anweisungen im *EZ1 DSP Virus Kit Handbook* zugegeben werden. Bei Verwendung des QIAamp UltraSens Virus Kits, des QIAamp DNA Blood Mini Kits oder des QIAamp DNA Mini Kits geben Sie die interne Kontrolle in einem Verhältnis von 0,1 µl pro 1 µl Elutionsvolumen zur Aufreinigung hinzu. Beispielsweise wird die DNA bei Verwendung des QIAamp UltraSens Virus Kits in 50 µl Puffer AVE eluiert. Folglich sollten anfänglich 5 µl der internen Kontrolle zugesetzt werden. Die Menge der eingesetzten internen Kontrolle ist nur abhängig vom Elutionsvolumen.

Hinweis: Die interne Kontrolle und Carrier-RNA (siehe „DNA-Isolierung“ auf Seite 10) dürfen nur zu der Mischung aus Lysepuffer und Probenmaterial oder direkt zum Lysepuffer zugesetzt werden.

Die interne Kontrolle darf nicht direkt zum Probenmaterial zugesetzt werden. Bei Zugabe zum Lysepuffer beachten Sie bitte, dass die Mischung aus interner Kontrolle und Lysepuffer–Carrier-RNA frisch angesetzt und sofort verwendet werden muss (Lagerung der Mischung bei Raumtemperatur oder gekühlt für nur wenige Stunden kann bereits zum Versagen der internen Kontrolle und zu einer Beeinträchtigung der Aufreinigungseffizienz führen).

Hinweis: Geben Sie die interne Kontrolle und die Carrier-RNA nicht direkt zum Probenmaterial hinzu.

Optional kann die interne Kontrolle ausschließlich zur Kontrolle einer möglichen PCR-Inhibition verwendet werden. Für diese Anwendung geben Sie die interne Kontrolle direkt zu dem EBV RG Master hinzu, wie in Arbeitsschritt 2b des Protokolls beschrieben (Seite 16).

Protokoll: PCR und Auswertung

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Machen Sie sich vor Beginn des Protokolls mit dem Thermocycler Rotor-Gene Q vertraut. (Siehe Anwenderhandbuch des Geräts.)
- Achten Sie darauf, dass in jedem PCR-Lauf mindestens ein Quantifizierungsstandard und eine Negativkontrolle (Wasser, PCR-Qualität) mitgeführt werden. Zur Erstellung einer Standardkurve verwenden Sie bei jedem PCR-Lauf alle 4 mitgelieferten Quantifizierungsstandards (EZV RG QS 1 – 4).

Vor Beginn durchzuführende Arbeiten

- Achten Sie darauf, dass der Kühlblock (Zubehör zum Rotor-Gene Q Thermocycler) auf 2 bis 8 °C vorgekühlt ist.
- Alle Reagenzien sollten vor Testbeginn vollständig bei Raumtemperatur aufgetaut, gut durchmischt (mehrfaches Auf- und Abpipettieren oder kurzes Vortex-Mischen) und anschließend anzentrifugiert werden.

Verfahren

- 1. Setzen Sie die gewünschte Anzahl PCR-Röhrchen in die Adapter des Kühlblocks ein.**
- 2. Wenn Sie die interne Kontrolle verwenden, um das DNA-Aufreinigungsverfahren zu überwachen und eine mögliche PCR-Inhibition zu kontrollieren, folgen Sie Arbeitsschritt 2a. Wenn Sie die interne Kontrolle ausschließlich verwenden, um eine mögliche PCR-Inhibition zu kontrollieren, folgen Sie Arbeitsschritt 2b.**
- 2a. Die interne Kontrolle wurde der Aufreinigung schon zugesetzt (siehe „Interne Kontrolle“ auf Seite 13). Setzen Sie in diesem Fall eine Master-Mischung nach Tabelle 4 an.**

Die Reaktionsmischung enthält typischerweise alle für die PCR benötigte Komponenten außer der Probe.

Tabelle 4. Ansetzen der Master-Mischung (interne Kontrolle wird zum Überwachen der DNA-Aufreinigung und zum Kontrollieren einer PCR-Inhibition verwendet)

Anzahl Proben	1	12
EBV RG Master	30 μ l	360 μ l
EBV RG IC	0 μ l	0 μ l
Gesamtvolumen	30 μl	360 μl

- 2b. Die interne Kontrolle muss der Mischung des EBV RG Masters direkt zugesetzt werden. Setzen Sie in diesem Fall eine Master-Mischung nach Tabelle 5 an.**

Die Reaktionsmischung enthält typischerweise alle für die PCR benötigte Komponenten außer der Probe.

Tabelle 5. Ansetzen der Master-Mischung (interne Kontrolle wird ausschließlich zum Kontrollieren einer PCR-Inhibition verwendet)

Anzahl Proben	1	12
EBV RG Master	30 μ l	360 μ l
EBV RG IC	2 μ l	24 μ l
Gesamtvolumen	32 μl*	384 μl*

* Die Volumenzunahme durch Zugabe der internen Kontrolle wird beim Ansetzen des PCR-Assays vernachlässigt. Die Sensitivität des Detektionssystems wird dadurch nicht beeinträchtigt.

- 3. Pipettieren Sie 30 μ l der Master-Mischung in jedes PCR-Röhrchen. Geben Sie dann 20 μ l eluierte Proben-DNA hinzu (siehe Tabelle 6). Dementsprechend müssen 20 μ l mindestens eines der Quantifizierungsstandards (EBV RG QS 1 – 4) als eine Positivkontrolle und 20 μ l Wasser (Wasser, PCR-Qualität) als eine Negativkontrolle verwendet werden.**

Tabelle 6. Ansetzen des PCR-Assays

Anzahl Proben	1	12
Master mix (Master-Mischung)	30 μ l	je 30 μ l
Probe	20 μ l	je 20 μ l
Gesamtvolumen	50 μl	je 50 μl

- 4. Verschließen Sie die PCR-Röhrchen. Setzen Sie unbedingt den Schließring (locking ring, Zubehör des Rotor-Gene) auf den Rotor, um ein unbeabsichtigtes Öffnen der Reaktionsgefäße während des Laufs zu verhindern.**
- 5. Erstellen Sie zum Nachweis der EBV-DNA ein Temperaturprofil gemäß den folgenden Arbeitsschritten.**

Einstellen allgemeiner Assay-Parameter	Abbildungen 1, 2, 3
Initiale Aktivierung des Hot-Start-Enzyms	Abbildung 4
Amplifikation der DNA (Touchdown-PCR)	Abbildung 5
Einstellen der Sensitivität der Fluoreszenzkanäle	Abbildung 6
Starten des Laufs	Abbildung 7

Alle Angaben beziehen sich auf die Rotor-Gene Q MDx/ Rotor-Gene Q Software-Version 1.7.94, Rotor-Gene 6000 Software-Versionen 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94 und Rotor-Gene 3000 Software-Version 6.0.23. Einzelheiten zur Programmierung des Rotor-Gene Thermocyclers entnehmen Sie bitte dem Anwenderhandbuch des Geräts. Die jeweiligen Einstellungen sind in den Abbildungen durch schwarze Rahmen hervorgehoben. Die Abbildungen umfassen auch Rotor-Gene Q Thermocycler. Wo für den Rotor-Gene 3000 Thermocycler abweichende Werte erforderlich sind, ist dies im Text beschrieben.

6. Öffnen Sie zunächst das Dialogfeld „New Run Wizard“ (Assistent für neuen Lauf) (Abb. 1). Markieren Sie das Kontrollkästchen „Locking Ring Attached“ (Schließring angebracht) und klicken Sie dann auf „Next“ (Weiter).

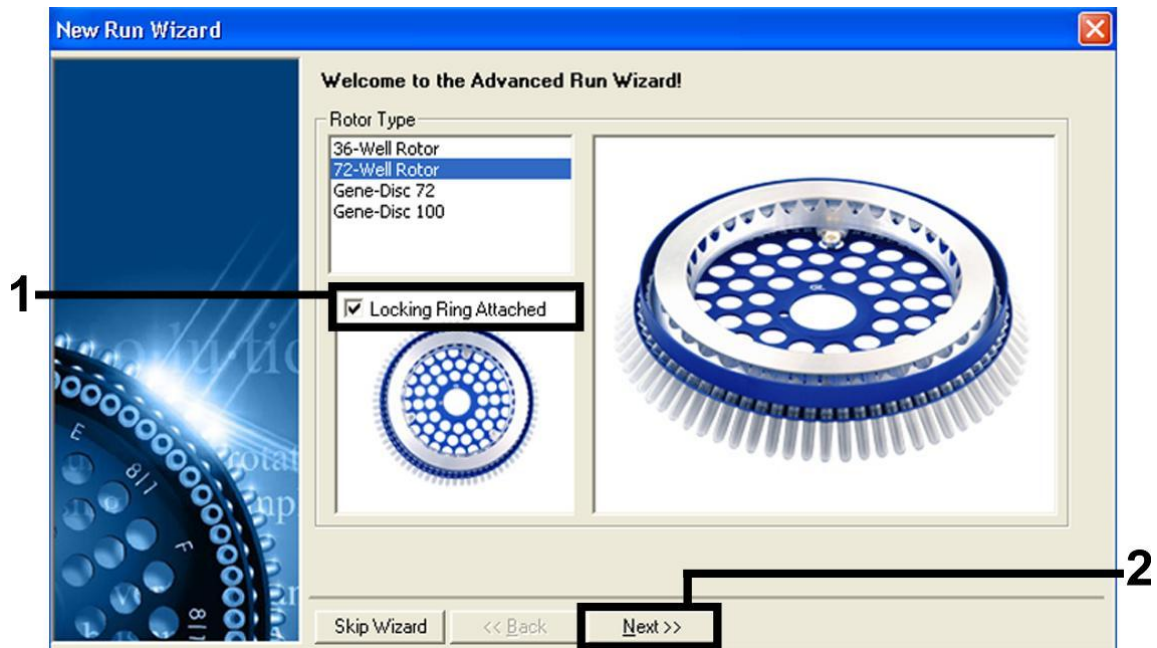


Abbildung 1. Das Dialogfeld „New Run Wizard“.

7. Wählen Sie als Volumen der PCR-Reaktion „50“ und klicken Sie auf „Next“ (Abb. 2).

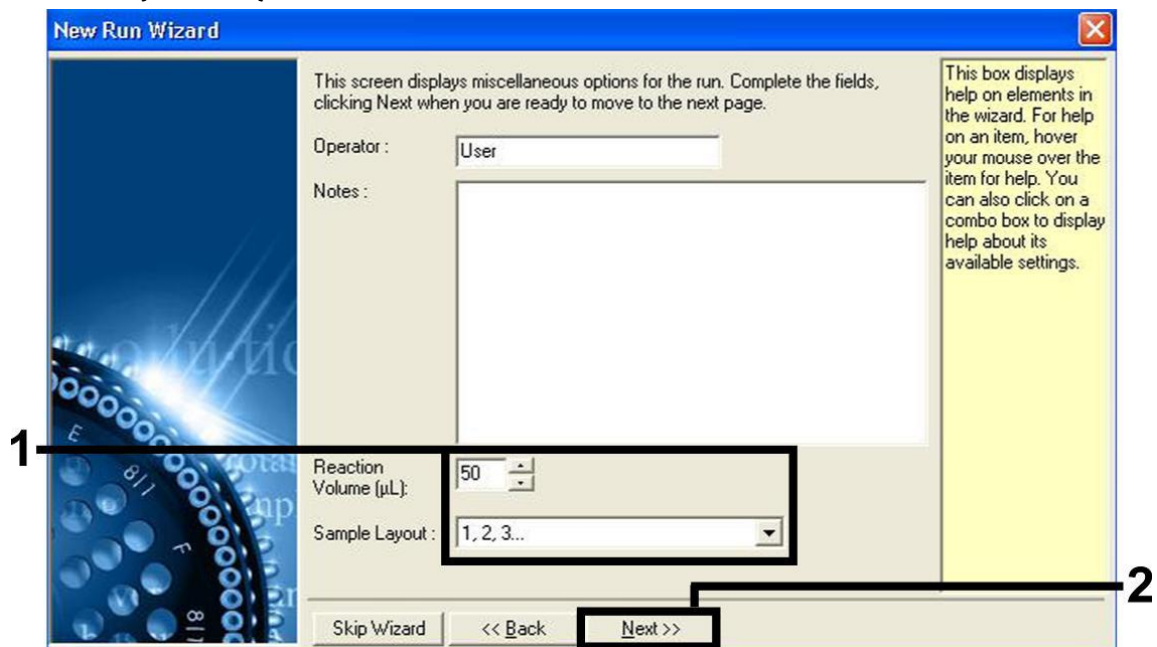


Abbildung 2. Einstellen allgemeiner Assay-Parameter.

8. Klicken Sie im nächsten Dialogfeld „New Run Wizard“ (Abb. 3) auf die Schaltfläche „Edit Profile“ (Profil bearbeiten) und programmieren Sie das Temperaturprofil wie in Abb. 3 bis 5 gezeigt.

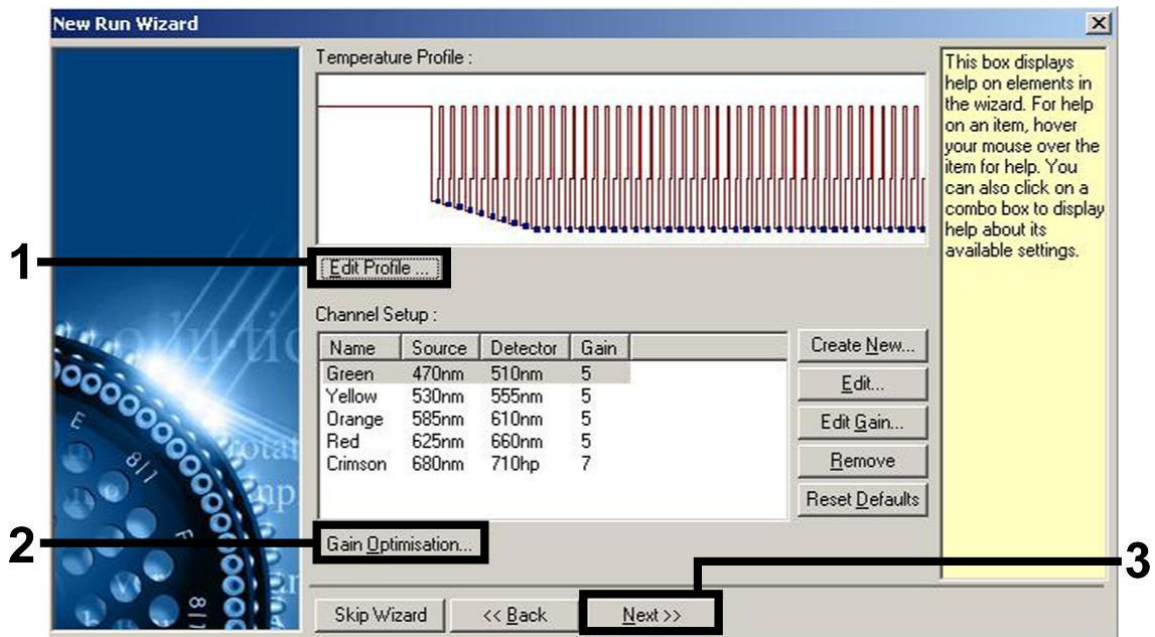


Abbildung 3. Bearbeiten des Profils.

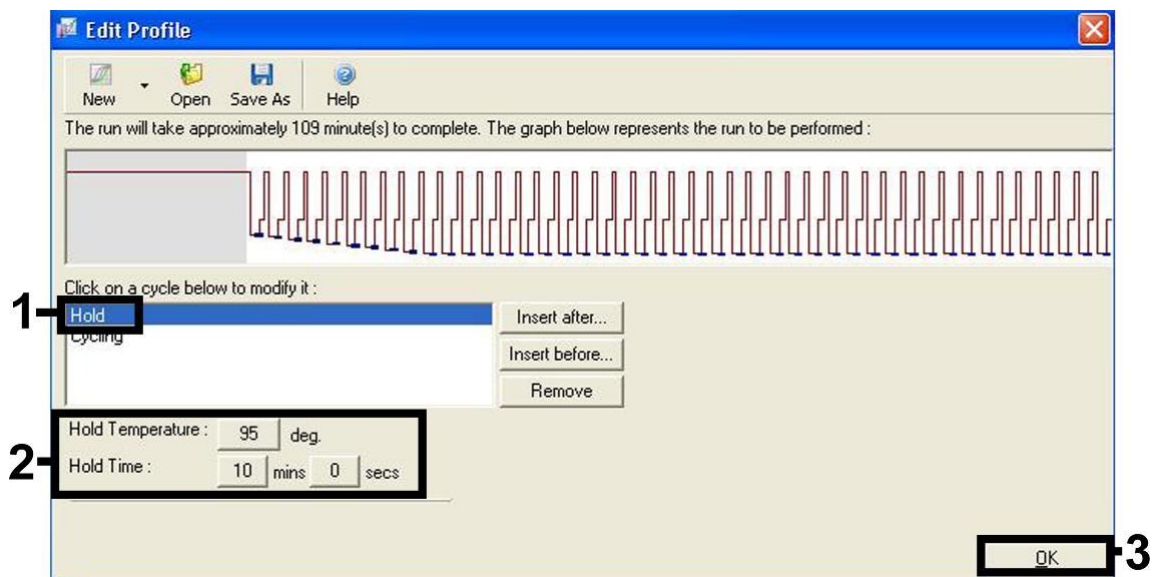


Abbildung 4. Initiale Aktivierung des Hot-Start-Enzyms.

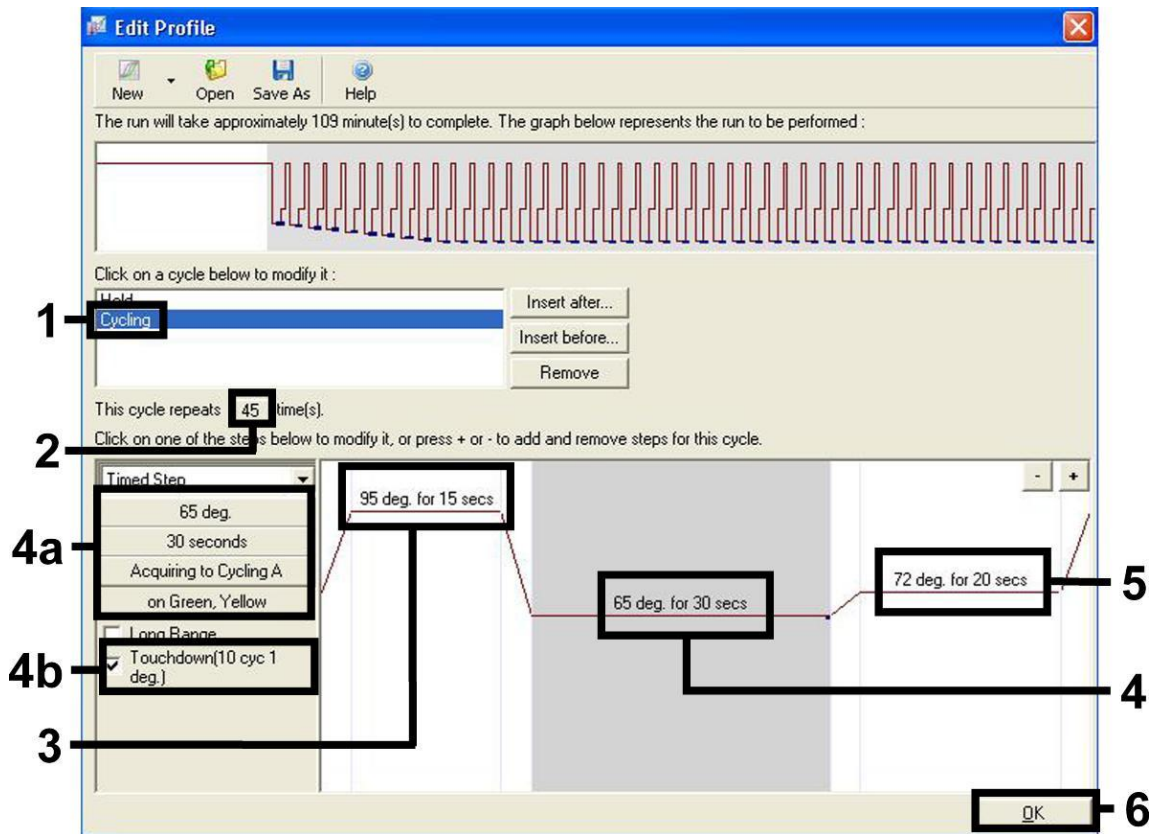


Abbildung 5. Amplifikation der DNA. Aktivieren Sie unbedingt die Touchdown-Funktion für 10 Zyklen im Annealing-Schritt. Beachten Sie, dass die Software auf dem Rotor-Gene 3000 Thermocycler die Fluoreszenzfarbstoffe als „FAM/Sybr, JOE“ definiert.

9. Der Messbereich der Fluoreszenzkanäle muss auf die Fluoreszenzintensität in den PCR-Ansätzen abgestimmt werden. Klicken Sie im Dialogfeld „New Run Wizard“ auf „Gain Optimisation“ (Optimierung der Verstärkung), um das Dialogfeld (siehe Abb. 3) „Auto-Gain Optimisation Setup“ (Einrichten der Optimierung der automatischen Verstärkung) zu öffnen. Stellen Sie die Kalibrierungstemperatur auf „65“, damit sie der Annealing-Temperatur des Amplifikationsprogramms entspricht (Abb. 6).

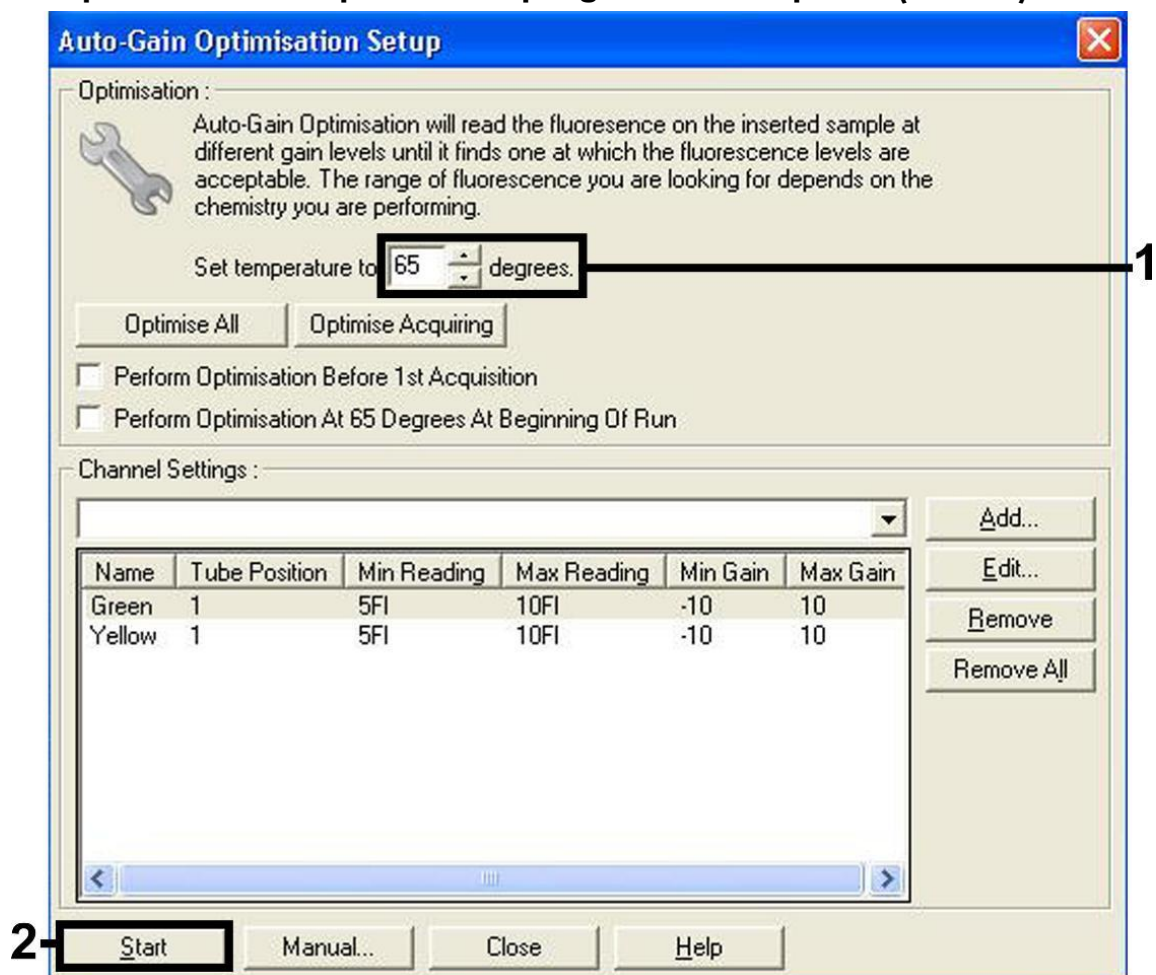


Abbildung 6. Einstellen der Sensitivität der Fluoreszenzkanäle. Beachten Sie, dass die Software auf dem Rotor-Gene 3000 Thermocycler die Fluoreszenzfarbstoffe als „FAM/Sybr“ und „JOE“ definiert.

10. Die bei der Kalibrierung der Kanäle ermittelten Verstärkungswerte werden automatisch gespeichert und im letzten Menüfenster des Programmierverfahrens aufgeführt (Abb. 7). Klicken Sie auf „Start Run“ (Lauf starten).

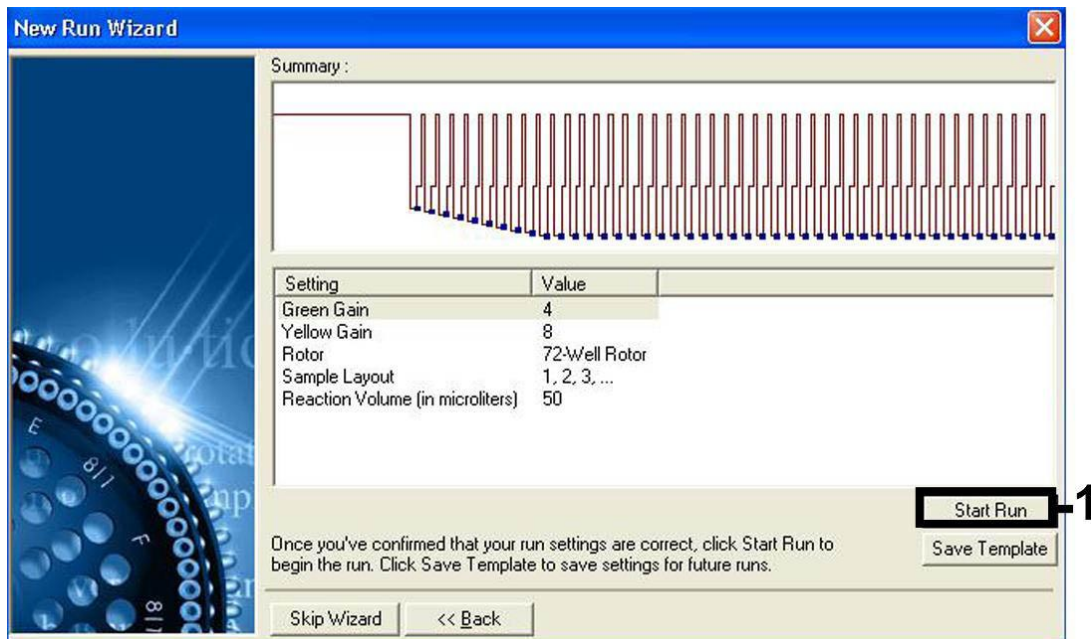


Abbildung 7. Starten des Laufs. Beachten Sie, dass die Software auf dem Rotor-Gene 3000 Thermocycler die Fluoreszenzfarbstoffe als „FAM/Sybr“ und „JOE“ definiert.

Interpretation der Ergebnisse

Quantifizierung

Die mitgelieferten Quantifizierungsstandards (EBV RG QS 1 – 4) werden wie eine bereits aufgereinigte Probe behandelt und im gleichen Volumen eingesetzt (20 µl). Um eine Standardkurve auf dem Rotor-Gene Q Thermocycler zu erstellen, setzen Sie bitte alle 4 Quantifizierungsstandards ein und definieren Sie diese im Dialogfeld „Edit Samples“ (Proben bearbeiten) als Standards mit den angegebenen Konzentrationen (siehe Gerätehandbuch).

Hinweis: Die Quantifizierungsstandards sind in Kopien/µl definiert. Zur Umrechnung der anhand der Standardkurve ermittelten Werte in Kopien/ml Probenmaterial muss die folgende Gleichung angewendet werden:

$$\text{Ergebnis (Kopien/ml)} = \frac{\text{Ergebnis (Kopien/}\mu\text{l)} \times \text{Elutionsvolumen (}\mu\text{l)}}{\text{Probenvolumen (ml)}}$$

Es sollte grundsätzlich das anfängliche Probenvolumen in die oben stehende Gleichung eingesetzt werden. Darauf ist zu achten, wenn das Probenvolumen vor der Nukleinsäure-Aufreinigung verändert wurde (z. B. Volumenreduktion

durch Zentrifugieren oder Volumenerhöhung durch Auffüllen auf das zur Isolierung erforderliche Volumen).

Ergebnisse

Beispiele für PCR-Reaktionen mit positiven und negativen Ergebnissen sind in Abb. 8 und Abb. 9 gezeigt.

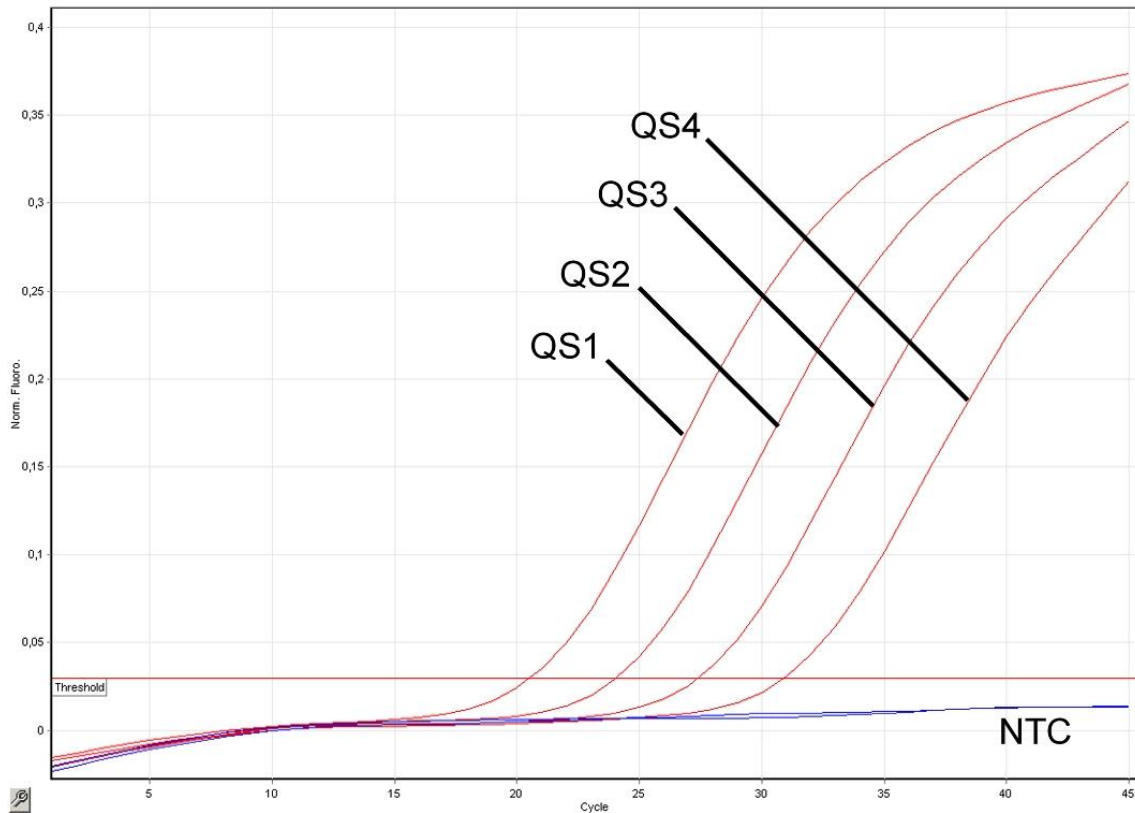


Abbildung 8. Nachweis der Quantifizierungsstandards (EBV RG QS 1 – 4) im Fluoreszenzkanal Cycling Green. NTC: No template control (Kontrolle ohne Template) (Negativkontrolle).

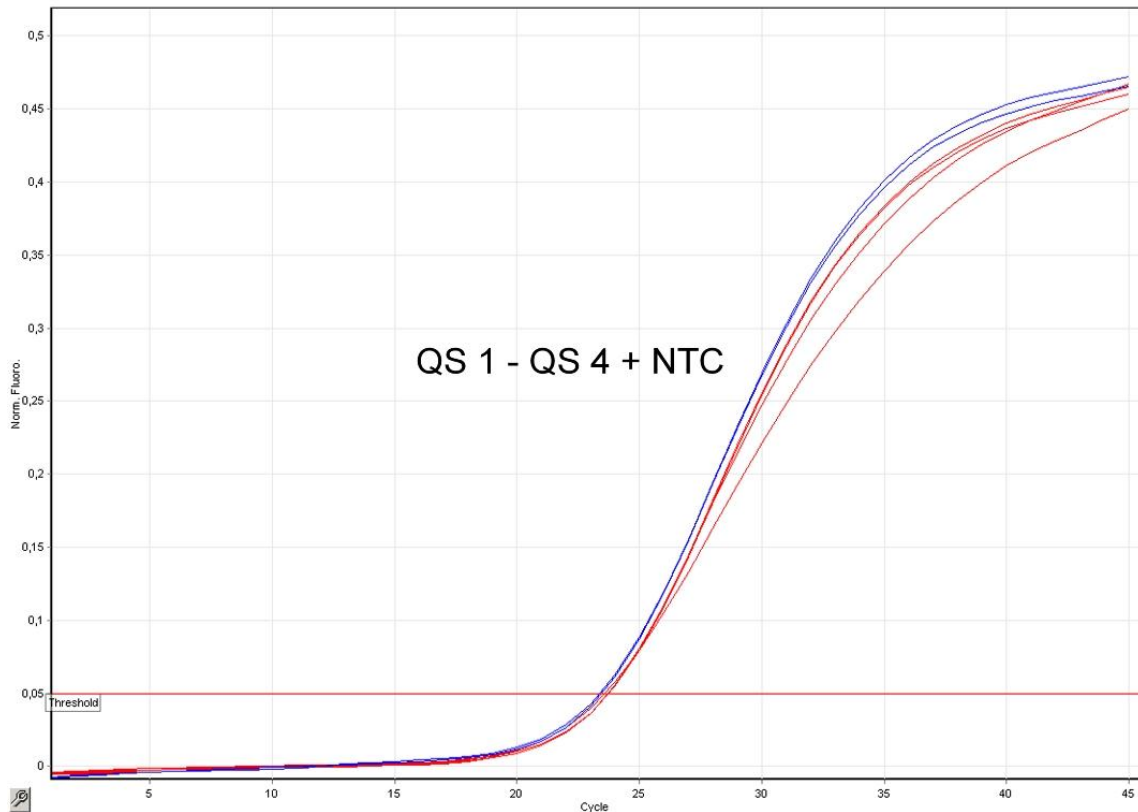


Abbildung 9. Detektion der internen Kontrolle (IC) im Fluoreszenzkanal Cycling Yellow bei gleichzeitiger Amplifikation der Quantifizierungsstandards (EBV RG QS 1 -4). NTC: Kontrolle ohne Template (Negativkontrolle).

**Im Fluoreszenzkanal Cycling Green wird ein Signal detektiert.
Das Ergebnis der Analyse ist positiv: Die Probe enthält EBV-DNA.**

In diesem Fall ist die Detektion eines Signals im Kanal Cycling Yellow unmaßgeblich, da eine hohe Ausgangskonzentration von EBV-DNA (positives Signal im Kanal Cycling Green) zu einem abgeschwächten oder ausbleibenden Fluoreszenzsignal der internen Kontrolle im Kanal Cycling Yellow führen kann (Kompetition).

Hinweis: Auf dem Rotor-Gene 3000 Thermocycler sind die relevanten Kanäle Cycling A.FAM für das positive Signal und Cycling A.JOE für die interne Kontrolle.

**Im Fluoreszenzkanal Cycling Green wird kein Signal detektiert.
Gleichzeitig erscheint ein Signal von der internen Kontrolle im Kanal Cycling Yellow.
In der Probe ist keine EBV-DNA nachweisbar. Sie kann daher als negativ angesehen werden.**

Bei negativer EBV-PCR schließt das detektierte Signal der internen Kontrolle die Möglichkeit einer PCR-Inhibition aus.

Hinweis: Auf dem Rotor-Gene 3000 Thermocycler sind die relevanten Kanäle Cycling A.JOE für die interne Kontrolle und Cycling A.FAM für das Fehlen eines Signals.

Weder im Kanal Cycling Green noch im Kanal Cycling Yellow wird ein Signal detektiert.

Eine Aussage zum Ergebnis ist nicht möglich.

Informationen zu Fehlerquellen und deren Beseitigung finden Sie unter „Hilfe zur Fehlerbehebung“ auf Seite 25.

Hinweis: Auf dem Rotor-Gene 3000 Thermocycler sind die relevanten Kanäle Cycling A.FAM und Cycling A.JOE.

Hilfe zur Fehlerbehebung

In diesem Kapitel finden Sie nützliche Hinweise, die Ihnen bei der Lösung eventuell auftretender Probleme helfen können. Weitere Informationen finden Sie auch auf der Seite „Frequently Asked Questions“ unseres Support-Centers unter: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Außerdem beantworten die Wissenschaftler des Technischen Service bei QIAGEN gerne Ihre Fragen zu den Angaben und Protokollen in diesem Handbuch sowie zu Probenvorbereitungs- und Testtechnologien allgemein (Möglichkeiten der Kontaktaufnahme finden Sie auf der Rückseite dieses Handbuchs und im Internet unter www.qiagen.com).

Kommentare und Vorschläge

Kein Signal bei den Positivkontrollen (EBV RG QS 1 - 4) im Fluoreszenzkanal Cycling Green oder Cycling A.FAM

- | | |
|---|--|
| a) Der ausgewählte Fluoreszenzkanal für die PCR-Datenanalyse entspricht nicht dem Protokoll | Wählen Sie bei der Datenanalyse den Fluoreszenzkanal Cycling Green oder Cycling A.FAM für die analytische EBV-PCR und den Fluoreszenzkanal Cycling Yellow oder Cycling A.JOE für die PCR der internen Kontrolle aus. |
| b) Programmierung des Temperaturprofils für den Rotor-Gene Thermocycler ist nicht korrekt | Vergleichen Sie das Temperaturprofil mit dem Protokoll. Siehe „Protokoll: PCR und Auswertung“ auf Seite 15. |
| c) Fehlerhafte Konfiguration der PCR | Überprüfen Sie Ihre Arbeitsschritte mit Hilfe des Pipettierschemas und wiederholen Sie ggf. die PCR. Siehe „Protokoll: PCR und Auswertung“ auf Seite 15. |

Kommentare und Vorschläge

- d) Die Lagerbedingungen einer oder mehrerer Komponenten des Kits entsprachen nicht den Anweisungen in „Lagerung und Handhabung der Reagenzien“ (Seite 9) Überprüfen Sie sowohl die Lagerbedingungen als auch das Verfallsdatum der Reagenzien (s. Etikett des Kits) und verwenden Sie gegebenenfalls einen neuen Kit.
- e) Das Verfallsdatum des *artus* EBV RG PCR Kits ist abgelaufen Überprüfen Sie sowohl die Lagerbedingungen als auch das Verfallsdatum der Reagenzien (s. Etikett des Kits) und verwenden Sie gegebenenfalls einen neuen Kit.

Schwaches oder ausbleibendes Signal der internen Kontrolle im Fluoreszenzkanal Cycling Yellow oder Cycling A.JOE bei gleichzeitiger Abwesenheit eines Signals im Kanal Cycling Green oder Cycling A.FAM

- a) Die PCR-Bedingungen entsprechen nicht dem Protokoll Überprüfen Sie die PCR-Bedingungen (siehe oben) und wiederholen Sie gegebenenfalls die PCR mit korrigierten Einstellungen.
- b) Die PCR wurde inhibiert Stellen Sie sicher, dass Sie das von uns empfohlene Aufreinigungsverfahren benutzen und halten Sie sich exakt an die Anweisungen des Herstellers.
- Vergewissern Sie sich, dass bei Verwendung des QIAamp DNA Mini Kits, QIAamp DNA Blood Mini Kits oder QIAamp UltraSens Virus Kits während der DNA-Aufreinigung der zusätzliche empfohlene Zentrifugationsschritt zur vollständigen Entfernung von Ethanol-Resten vor der Elution durchgeführt wurde (siehe „DNA-Isolierung“ auf den Seiten 10 und 12).
- c) DNA ging bei der Aufreinigung verloren Wenn die interne Kontrolle bei der Aufreinigung zugegeben wurde, kann ein Ausbleiben des Signals der internen Kontrolle bedeuten, dass DNA während der Aufreinigung verloren ging. Verwenden Sie unbedingt das empfohlene Aufreinigungsverfahren (siehe „DNA-Isolierung“ auf Seite 10) und halten Sie sich exakt an die Anweisungen des Herstellers.

Kommentare und Vorschläge

- d) Die Lagerbedingungen einer oder mehrerer Komponenten des Kits entsprachen nicht den Anweisungen in „Lagerung und Handhabung der Reagenzien“ (Seite 9) Überprüfen Sie sowohl die Lagerbedingungen als auch das Verfallsdatum der Reagenzien (s. Etikett des Kits) und verwenden Sie gegebenenfalls einen neuen Kit.
- e) Das Verfallsdatum des *artus* EBV RG PCR Kits ist abgelaufen Überprüfen Sie sowohl die Lagerbedingungen als auch das Verfallsdatum der Reagenzien (s. Etikett des Kits) und verwenden Sie gegebenenfalls einen neuen Kit.

Signale bei den Negativkontrollen im Fluoreszenzkanal Cycling Green oder Cycling A.FAM der analytischen PCR

- a) Kontamination bei Vorbereitung der PCR Wiederholen Sie die PCR mit Replikaten mit noch unbenutzten Reagenzien.
Verschließen Sie die einzelnen PCR-Gefäße nach Möglichkeit jeweils direkt nach Zugabe der zu untersuchenden Probe.
Pipettieren Sie die Positivkontrollen grundsätzlich zuletzt.
Achten Sie darauf, dass Arbeitsflächen und Geräte regelmäßig dekontaminiert werden.
- b) Kontamination bei der Aufreinigung Wiederholen Sie Aufreinigung und PCR der zu untersuchenden Proben unter Verwendung noch unbenutzter Reagenzien.
Achten Sie darauf, dass Arbeitsflächen und Geräte regelmäßig dekontaminiert werden.

Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagementsystem von QIAGEN wird jede Charge des *artus* EBV RG PCR Kits nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

Anwendungseinschränkungen

Alle Reagenzien dürfen ausschließlich zur In-vitro-Diagnostik verwendet werden.

Die Anwendung des Produkts muss durch Personal erfolgen, das speziell in Verfahren unterrichtet und ausgebildet wurde, die unter Verwendung von In-vitro-Diagnostika durchgeführt werden.

Die genaue Einhaltung der Anweisungen des Benutzerhandbuchs ist erforderlich, um optimale PCR-Ergebnisse zu erhalten.

Die auf der Verpackung und den Etiketten der einzelnen Komponenten angegebenen Verfallsdaten sind zu beachten. Abgelaufene Reagenzien dürfen nicht benutzt werden.

Selten auftretende Mutationen innerhalb der von den Primern und/oder der Sonde des Kits abgedeckten hochkonservierten Bereichen des Virengensoms können, wenn sie vorliegen, zu einer Unterbestimmung führen oder dazu, dass die Anwesenheit des Virus nicht detektiert wird. Validität und Leistung des Tests werden regelmäßig überprüft, um bei Bedarf Veränderungen vornehmen zu können.

Leistungsmerkmale

Analytische Sensitivität

Zum Bestimmen der analytischen Sensitivität des *artus* EBV RG PCR Kits wurde eine Verdünnungsreihe von 31,6 bis 0,01 und von 100 bis nominal 0,03 EBV-Kopieäquivalenten/ μ l angesetzt und mit dem *artus* EBV RG PCR Kit auf dem Rotor-Gene 6000 bzw. dem Rotor-Gene 3000 Thermocycler analysiert. Die Untersuchungen wurden an drei verschiedenen Tagen in Form von Achtfach-Bestimmungen durchgeführt. Die Ergebnisse sind mit Hilfe einer Probit-Analyse ermittelt worden. Abbildung 10 zeigt eine grafische Darstellung der Probit-Analyse auf dem Rotor-Gene 6000 Thermocycler. Die analytische Nachweisgrenze des *artus* EBV RG PCR Kits in Kombination mit dem Rotor-Gene Q MDx/Q/6000 und dem Rotor-Gene 3000 Thermocycler beträgt 1,02 Kopien/ μ l ($p = 0,05$) bzw. 3,8 Kopien/ μ l ($p = 0,05$). Dies bedeutet, dass 1,02 Kopien/ μ l oder 3,8 Kopien/ μ l mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % nachgewiesen werden können.

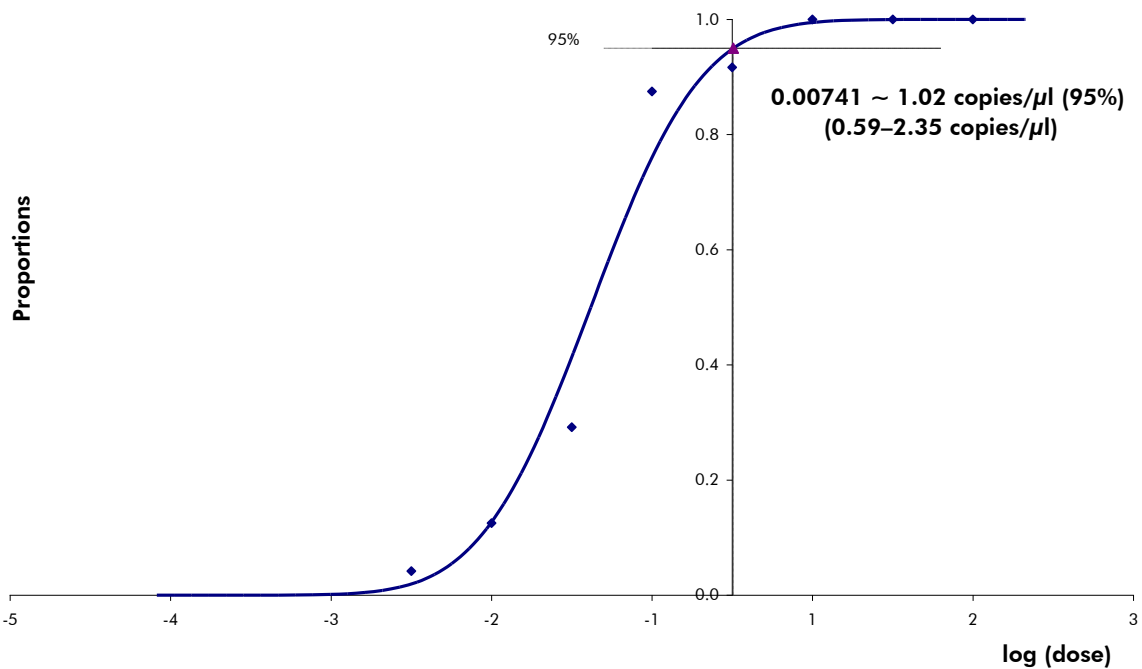


Abbildung 10. Probit-Analyse: EBV (Rotor-Gene 6000). Analytische Sensitivität des *artus* EBV RG PCR Kits auf dem Rotor-Gene 6000 Thermocycler.

Spezifität

Die Spezifität des *artus* EBV RG PCR Kits wird in erster Linie durch die Auswahl der Primer und Sonden sowie die Wahl stringenter Reaktionsbedingungen gewährleistet. Die Primer und Sonden sind anhand einer Sequenzvergleichsanalyse auf eventuelle Homologien zu allen in Genbanken publizierten Sequenzen überprüft worden. Die Nachweisbarkeit aller relevanten Genotypen ist dadurch sichergestellt.

Die Validierung der Spezifität erfolgte zudem an 6 verschiedenen EBV-negativen Serumproben. Bei diesen wurde mit den im EBV RG Master enthaltenen EBV-spezifischen Primern und Sonden kein Signal erzeugt.

Für die Überprüfung einer potentiellen Kreuzreaktivität des *artus* EBV RG PCR Kits wurde die in Tabelle 7 aufgeführte Gruppe von Kontrollen untersucht. Bei keinem der getesteten Erreger trat eine Reaktion auf.

Tabelle 7. Spezifitätstest des Kits mit potenziell kreuzreaktiven Pathogenen

Kontrollgruppe	EBV (Cycling Green oder Cycling A.FAM)	Interne Kontrolle (Cycling Yellow oder Cycling A. JOE))
Humanes Herpesvirus 1 (Herpes-simplex-Virus 1)	–	+
Humanes Herpesvirus 2 (Herpes-simplex-Virus 2)	–	+
Humanes Herpesvirus 3 (Varicella-Zoster-Virus)	–	+
Humanes Herpesvirus 5 (Zytomegalievirus)	–	+
Humanes T-lymphotropes Virus 1	–	+
Humanes T-lymphotropes Virus 2	–	+

Reproduzierbarkeit

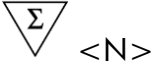












Die Daten zur Reproduzierbarkeit erlauben eine regelmäßige Leistungsbewertung des *artus* EBV RG PCR Kits sowie einen Effizienzvergleich mit anderen Produkten. Diese Daten werden durch die Teilnahme an etablierten Ringversuchsprogrammen erhoben.

Literatur

QIAGEN führt eine umfangreiche und aktuelle Online-Datenbank mit wissenschaftlichen Publikationen, in denen die Anwendung von QIAGEN Produkten beschrieben wird. Umfassende Suchoptionen ermöglichen Ihnen das Auffinden der für Sie interessanten Artikel durch eine einfache Stichwortsuche oder durch Eingabe von Anwendung, Forschungsgebiet, Titel usw.

Zugang zur vollständigen Literaturliste haben Sie online über die QIAGEN Reference Database unter www.qiagen.com/RefDB/search.asp. Alternativ können Sie sich an den Technischen Service bei QIAGEN oder an Ihren örtlichen Distributor wenden.

Symbole

	Inhalt ausreichend für <N> Assays
	Verfallsdatum
	In-vitro-Diagnostikum
	Katalognummer
	Chargennummer
	Materialnummer
	Komponenten
	Enthält
	Anzahl
	Internationale Artikelnummer
	Zulässiger Temperaturbereich
	Hersteller
	Beachten Sie die Anwendungshinweise

Ansprechpartner

Technische Hinweise und weitere Informationen finden Sie in unserem Technical Support Center im Internet unter www.qiagen.com/Support. Sie können außerdem unseren Technischen Service anrufen oder sich an Ihren örtlichen Distributor wenden (siehe hintere Umschlagseite oder im Internet unter www.qiagen.com).

Bestellinformationen

Produkt	Inhalt	Katalognr.
<i>artus</i> EBV RG PCR Kit (24)	Für 24 Reaktionen: Master, 4 Quantifizierungsstandards, interne Kontrolle, Wasser (PCR-Qualität)	4501263
<i>artus</i> EBV RG PCR Kit (96)	Für 96 Reaktionen: Master, 4 Quantifizierungsstandards, interne Kontrolle, Wasser (PCR-Qualität)	4501265
EASYartus EBV RG PCR Kits — zur vollständig CE-IVD-konformen, integrierten und automatisierten Probenaufreinigung und Pathogendetektion		
EASYartus EBV RG PCR Kit 1	Für 48 Präparationen viraler Nukleinsäuren und 24 Assays: 1 x EZ1 DSP Virus Kit, 1 x <i>artus</i> EBV RG PCR Kit (24)	EA10123
EASYartus EBV RG PCR Kit 2	Für 48 Präparationen viraler Nukleinsäuren und 48 Assays: 1 x EZ1 DSP Virus Kit, 2 x <i>artus</i> EBV RG PCR Kit (24)	EA10124
EZ1 DSP Virus Kit — zur automatisierten gleichzeitigen Aufreinigung viraler DNA und RNA aus 1 bis 14 humanen Serum-, Plasma- oder Liquorproben		
EZ1 DSP Virus Kit (48)	Für 48 Präparationen viraler Nukleinsäuren: Vorgefüllte Reagenzienkartuschen, Einmal-Spitzenhalter, Einmal-Filterspitzen, Probenröhrchen, Elutionsröhrchen, Puffer, Carrier-RNA	62724
QIAamp DNA Mini Kit — zur Aufreinigung genomischer und viraler DNA aus Gewebe und anderen Proben		
QIAamp DNA Mini Kit (50)	Für 50 DNA-Präparationen: 50 QIAamp Mini Spin Columns, QIAGEN Proteinase K, Reagenzien, Puffer, Sammelröhrchen (2 ml)	51304

Produkt	Inhalt	Katalognr.
QIAamp UltraSens Virus Kit — zur Konzentration und Isolierung viraler DNA und RNA aus Serum und Plasma		
QIAamp UltraSens Virus Kit (50)	Für 50 Präparationen viraler Nukleinsäuren: 50 QIAamp Mini Spin Columns, Proteinase K, Carrier-RNA, Sammelröhrchen (2 ml), Puffer	53704
QIAamp DNA Blood Mini Kit — zur Aufreinigung von bis zu 12 µg genomischer, mitochondrischer oder viraler DNA aus Blut und ähnlichen Körperflüssigkeiten		
QIAamp DNA Blood Mini Kit (50)	Für 50 DNA-Mini-Präparationen: 50 QIAamp Mini Spin Columns, QIAGEN Protease, Reagenzien, Puffer, Sammelröhrchen (2 ml)	51104
Rotor-Gene Q MDx und Zubehör		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Echtzeit-PCR-Cycler mit 5 Kanälen (grün, gelb, orange, rot, dunkelrot), Laptop-Computer, Software, Zubehör: umfasst 1 Jahr Garantie auf Teile und Arbeit, ohne Installation und Schulung	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Echtzeit-PCR-Cycler mit 5 Kanälen (grün, gelb, orange, rot, dunkelrot), Laptop-Computer, Software, Zubehör: umfasst 1 Jahr Garantie auf Teile und Arbeit, Installation und Schulung	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Echtzeit-PCR-Cycler und HRM-Analysator (für hochauflösende Schmelzkurvenanalyse) mit 5 Kanälen (grün, gelb, orange, rot, dunkelrot) plus HRM-Kanal, Laptop, Software, Zubehör: umfasst 1 Jahr Garantie auf Teile und Arbeit, ohne Installation und Schulung	9002032

Produkt	Inhalt	Katalognr.
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Echtzeit-PCR-Cycler und HRM-Analysator (für hochauflösende Schmelzkurvenanalyse) mit 5 Kanälen (grün, gelb, orange, rot, dunkelrot) plus HRM-Kanal, Laptop, Software, Zubehör: umfasst 1 Jahr Garantie auf Teile und Arbeit, Installation und Schulung	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Echtzeit-PCR-Thermocycler mit 6 Kanälen (blau, grün, gelb, orange, rot, dunkelrot), umfasst Laptop-Computer, Software, Zubehör: umfasst 1 Jahr Garantie auf Teile und Arbeit, ohne Installation und Schulung	9002042
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Echtzeit-PCR-Thermocycler mit 6 Kanälen (blau, grün, gelb, orange, rot, dunkelrot), umfasst Laptop-Computer, Software, Zubehör: umfasst 1 Jahr Garantie auf Teile und Arbeit, Installation und Schulung	9002043
Rotor-Gene Q MDx 2plex Platform	Echtzeit-PCR-Cycler mit 2 Kanälen (grün, gelb), Laptop-Computer, Software, Zubehör: umfasst 1 Jahr Garantie auf Teile und Arbeit, ohne Installation und Schulung	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex System	Echtzeit-PCR-Cycler mit 2 Kanälen (grün, gelb), Laptop-Computer, Software, Zubehör: umfasst 1 Jahr Garantie auf Teile und Arbeit, Installation und Schulung	9002003
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM Platform	Echtzeit-PCR-Cycler und HRM-Analysator (für hochauflösende Schmelzkurvenanalyse) mit 2 Kanälen (grün, gelb) plus HRM-Kanal, Laptop, Software, Zubehör: umfasst 1 Jahr Garantie auf Teile und Arbeit, ohne Installation und Schulung	9002012

Produkt	Inhalt	Katalognr.
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM System	Echtzeit-PCR-Cycler und HRM-Analysator (für hochauflösende Schmelzkurvenanalyse) mit 2 Kanälen (grün, gelb) plus HRM-Kanal, Laptop, Software, Zubehör: umfasst 1 Jahr Garantie auf Teile und Arbeit, Installation und Schulung	9002013
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Aluminium-Block für manuelles Ansetzen der Reaktion mit einer Einkanal-Pipette in 72 x 0,1-ml-Röhrchen	9018901
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Aluminium-Block für manuelles Ansetzen der Reaktion in einem 8 x 12 Standard-Array mit 96 x 0,2-ml-Röhrchen	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 Streifen mit je 4 Röhrchen und Deckeln, für 1.000 Reaktionen	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 × 250 Streifen mit je 4 Röhrchen und Deckeln, für 10.000 Reaktionen	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1.000 dünnwandige Röhrchen für 1.000 Reaktionen	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1.000 dünnwandige Röhrchen für 10.000 Reaktionen	981008

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische rechtliche Hinweise finden Sie im Handbuch des jeweiligen QIAGEN-Kits. Handbücher und Gebrauchsanweisungen zu QIAGEN-Kits sind unter www.qiagen.com abrufbar oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder bei Ihrem örtlichen Distributor angefordert werden.

Der Erwerb dieses Produkts berechtigt den Käufer zur Nutzung des Produkts in der humanmedizinischen In-vitro-Diagnostik. Eine allgemeine Patent- oder sonstige Lizenz, welche über vorgenanntes Nutzungsrecht des Käufers dieses Produkts hinausgeht, wird nicht gewährt.

Marken: QIAGEN®, QIAamp®, artus®, EASYartus®, EZ1®, Rotor-Gene®, UltraSens® (QIAGEN Group); FAM™, JOE™ (Life Technologies); SYBR® (Molecular Probes, Inc.).

Eingeschränkte Nutzungsvereinbarung

Mit Nutzung dieses Produkts erkennen Käufer und Anwender des artus EBV RG PCR Kits die folgenden Bedingungen an:

1. Der artus EBV RG RCR Kit darf nur gemäß den Angaben im artus *EBV RG RCR Kit Handbuch* und mit den Komponenten, die im Kit geliefert werden, verwendet werden. QIAGEN gewährt im Rahmen Ihrer Eigentumsrechte keinerlei Lizenz, die zum Kit gehörenden Komponenten mit anderen Komponenten, die nicht zum Kit gehören, zu verwenden oder zu kombinieren, mit Ausnahme der im artus *EBV RG PCR Kit Handbuch* und in zusätzlichen, im Internet unter www.qiagen.com verfügbaren, Protokollen beschriebenen Anwendungen.
2. Über die ausdrücklich erwähnten Lizenzanwendungen hinaus übernimmt QIAGEN keinerlei Garantie dafür, dass dieser Kit und/oder die mit ihm durchgeführten Anwendungen die Rechte Dritter nicht verletzen.
3. Dieser Kit und seine Komponenten sind für die einmalige Verwendung lizenziert und dürfen nicht wiederverwendet, wiederaufgearbeitet oder weiterverkauft werden.
4. QIAGEN lehnt außer der ausdrücklich gewährten Lizenzgewährung jede weitere Lizenzgewährung ab, sowohl ausdrücklich als auch konkludent.
5. Käufer und Anwender des Kits stimmen zu, keinerlei Schritte zu unternehmen oder anderen die Einleitung von Schritten zu gestatten, die zu unerlaubten Handlungen im obigen Sinne führen könnten oder solche erleichtern könnten. QIAGEN kann die Verbote dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung an jedem Ort gerichtlich geltend machen und wird sämtliche Ermittlungs- und Gerichtskosten, inklusive Anwaltsgebühren, zurückfordern, die ihr bei der Geltendmachung dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung oder irgendeines ihrer geistigen Eigentumsrechte im Zusammenhang mit dem Kit und/oder dessen Komponenten entstehen.

Aktualisierte Nutzungs- und Lizenzbedingungen können im Internet unter www.qiagen.com nachgelesen werden.

© 2009-2014 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

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)

