

# artus<sup>®</sup> Borrelia LC PCR Kit

## Håndbog



24 (katalog nr. 4551063)



96 (katalog nr. 4551065)

Kvantitativ in vitro diagnostik

Til anvendelse med

*LightCycler<sup>®</sup> 1.1/1.2/1.5* og *LightCycler 2.0* instrument

Marts 2015 – version 1



4551063, 4551065



1050871DA



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND

R3

MAT

1050871DA



## QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN er den førende udbyder for innovative prøve- og testteknologier til isolering og analyse af enhver biologisk prøve. Vores højkvalitetsprodukter og en god service garanterer succes fra prøveforberedelsen til resultatet.

### **QIAGEN sætter standarder i:**

- Oprensning af DNA, RNA og proteiner
- testsystemer for nukleinsyrer og proteiner
- microRNA-forskning og RNAi
- Automatisering af prøve- og testteknologier

For at muliggøre en hurtig og sikker tilgang til de bedste resultater, stiller vi Dem de nyeste teknologier til rådighed. For mere information besøg [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) .

## Indholdsfortegnelse

<b>1. Indhold</b> .....	<b>5</b>
<b>2. Opbevaring</b> .....	<b>5</b>
<b>3. Nødvendige ekstra-materialer og instrumenter</b> .....	<b>6</b>
<b>4. Almindelige sikkerhedsregler</b> .....	<b>6</b>
<b>5. Information om smittefare</b> .....	<b>7</b>
<b>6. Princip for Real-Time PCR</b> .....	<b>7</b>
<b>7. Produktbeskrivelse</b> .....	<b>7</b>
<b>8. Protokol</b> .....	<b>8</b>
8.1 DNA-isolering .....	8
8.2 Intern Kontrol.....	9
8.3 Kvantificering.....	10
8.4 Forberedelse af PCR.....	12
8.5 Programmering af <i>LightCycler</i> instrumenterne.....	16
8.5.1 Programmering af <i>LightCycler 1.1/1.2/1.5</i> instrumentet	16
8.5.2 Programmering af <i>LightCycler 2.0</i> instrumentet .....	18
<b>9. Analyse</b> .....	<b>22</b>
9.1 Analyse af <i>LightCycler 1.1/1.2/1.5</i> instrument PCR-dataene.....	22
9.2 Analyse af <i>LightCycler 2.0</i> instrument PCR-dataene .....	25
<b>10. Fejlkilder</b> .....	<b>29</b>
<b>11. Specifikationer</b> .....	<b>31</b>
11.1 Analytisk sensitivitet .....	31
11.1.1 <i>LightCycler 1.1/1.2/1.5</i> instrumentet .....	31
11.1.2 <i>LightCycler 2.0</i> instrumentet .....	32
11.2 Specificitet.....	32

11.3	Præcision .....	34
11.4	Robusthed.....	35
11.5	Reproducerbarhed .....	36
11.6	Diagnostisk evaluering .....	36
<b>12.</b>	<b>Særlige anvisninger til brug af produktet .....</b>	<b>36</b>
<b>13.</b>	<b>Advarsler og forholdsregler .....</b>	<b>36</b>
<b>14.</b>	<b>Kvalitetskontrol .....</b>	<b>37</b>
<b>15.</b>	<b>Litteratur .....</b>	<b>37</b>
<b>16.</b>	<b>Symbolforklaring .....</b>	<b>38</b>

## artus Borrelia LC PCR Kit

Til anvendelse med *LightCycler 1.1/1.2/1.5* hhv. *LightCycler 2.0* instrumentet.

### 1. Indhold

	Påskrift og indhold	Art. Nr. 4551063 24 reaktioner	Art. Nr. 4551065 96 reaktioner
Blå	<i>Borrelia LC Master</i>	2 x 12 reaktioner	8 x 12 reaktioner
Rød	<i>Borrelia LC QS 1<sup>a</sup></i> 3 x 10 <sup>4</sup> cop/µl	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Rød	<i>Borrelia LC QS 2<sup>a</sup></i> 3 x 10 <sup>3</sup> cop/µl	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Rød	<i>Borrelia LC QS 3<sup>a</sup></i> 3 x 10 <sup>2</sup> cop/µl	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Rød	<i>Borrelia LC QS 4<sup>a</sup></i> 3 x 10 <sup>1</sup> cop/µl	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Grøn	<i>Borrelia LC IC<sup>a</sup></i>	1 x 1000 µl	2 x 1000 µl
Hvid	<i>Water (PCR grade)</i>	1 x 1000 µl	1 x 1000 µl

<sup>a</sup> QS = *Kvantificeringsstandard*  
IC = *Intern Kontrol*

### 2. Opbevaring

Komponenterne i *artus Borrelia LC PCR Kit* skal opbevares ved -15 til -30 °C og er stabile indtil den udløbsdato, der er angivet på etiketten. Gentagen optøning og nedfrysning (> 2 x) bør undgås, da sensitiviteten derved forringes. Ved uregelmæssig brug skal reagenserne derfor aliquoteres. Hvis det er nødvendigt at opbevare kittet ved +4°C, må dette tidsrum ikke vare længere end fem timer.

### 3. Nødvendige ekstra-materialer og instrumenter

- Pudderfri engangs laboratoriehandsker
- DNA-isoleringskit (se **8.1 DNA-isolering**)
- Pipetter (justerbare)
- Sterile pipettespidser med filter
- Vortex-mixer
- Bordcentrifuge med rotor til 2 ml-reaktionsbeholdere
- *Color Compensation Set* (Roche Diagnostics, kat.-nr. 2 158 850) til oprettelse af en *Crosstalk Color Compensation*-fil for *LightCycler 1.1/1.2/1.5* instrumentet
- *LightCycler Multicolor Demo Set* (kat.-nr. 03 624 854 001) for *LightCycler 2.0* instrumentet
- *LightCycler* Kapillarer (20 µl)
- *LightCycler* Cooling Block
- *LightCycler 1.1/1.2/1.5* (software version 3.5) hhv. *LightCycler 2.0* (software version 4.0) instrument
- *LightCycler* Capping Tool

### 4. Almindelige sikkerhedsregler

Følgende anvisninger skal altid overholdes af brugeren:

- Brug sterile pipettespidser med filter.
- Positivt materiale (prøver, kontroller, amplifikater) skal opbevares, oprenses og tilsættes reaktionsblandingen i et separat rum, adskilt fra de øvrige reagenser.
- Optø alle komponenter fuldstændigt ved stuetemperatur, inden testen startes.
- Bland komponenterne grundigt, og centrifuger kort.
- Der bør arbejdes hurtigt på is eller i *LightCycler* Cooling Block.

## 5. Information om smittefare

*Borrelia burgdorferi* er en bakterie, som findes i hele verden. Den overføres af skovflåten, og kan føre til lyme-borreliose. Tidlige sygdomsstadier kan helbredes spontant, men kan også føre til en kronisk infektion med bakterieresistens. Få dage eller uger efter infektionen dannes der en rødmen på huden, erythema migrans, som udgår fra indgangsstedet til dets omgivelser. I sekundærstadiet er fortrinsvist huden, det centrale og perifere nervesystem, hjertet samt bevægelsesapparatet ramt. Det kroniske sygdomsbillede (tertiær lyme-borreliose) optræder måneder til år efter infektionen og er især kendetegnet ved acrodermatitis chronica atrophicans og ved rheumatologiske symptomer i form af ledbetændelse med effusion.

## 6. Princip for Real-Time PCR

Ved pathogen diagnostik ved hjælp af polymerase kædereaktion (eng. Polymerase Chain Reaction = PCR) bliver specifikke områder af smitstofgenomet amplificeret. Detektionen foregår via Real-Time PCR ved hjælp af fluorescensfarver. Disse er som regel koblet til oligonukleotid-prober, som binder sig specifikt til PCR-produktet. Detektionen af fluorescensintensiteten i Real-Time PCR-kørslen gør det muligt at påvise og kvantificere produkterne, uden at skulle åbne prøverørene igen efter PCR-kørslen (Mackay, 2004).

## 7. Produktbeskrivelse

*artus Borrelia LC PCR Kit* er et brugsklart system til detektion af *Borrelia* DNA ved hjælp af polymerase kædereaktion (PCR) i *LightCycler* instrumentet (Roche Diagnostics). *Borrelia LC Master* indeholder reagenser og enzymer til den specifikke amplifikation af en 102 bp lang sekvens af *Borrelia*-genomet og til umiddelbar detektion af et amplifikat med *LightCycler1.1/1.2/1.5* hhv. *LightCycler 2.0* instrumentet. Derudover indeholder *artus Borrelia LC PCR Kit* et andet heterologt amplifikationssystem, som bruges til detektion af en eventuel PCR-inhibition.

PCR-produkt	Valg af fluorescenskanalerne	
	<i>LightCycler 1.1/1.2/1.5</i> instrument	<i>LightCycler 2.0</i> instrument
<i>Borrelia</i>	F1	530
<i>Borrelia LC IC</i>	F2	610

Amplifikationen og detektionen af denne *Interne Kontrol (IC)* nedsætter ikke påvisningsgrænsen af den analytiske *Borrelia* PCR (se **11.1 Analytisk sensitivitet**). Der vedlægges eksterne positive kontroller (*Borrelia LC QS 1 - 4*), som bruges til kvantificering af smitstoffet. Læs dertil afsnittet **8.3 Kvantificering**.

## 8. Protokol

### 8.1 DNA-isolering

DNA-isoleringskits tilbydes af forskellige producenter. Prøvevolumener til DNA-isoleringsproceduren afhænger af den benyttede protokol. Tilsæt den anbefalede prøvemængde til oprensningen og udfør DNA-isoleringen efter producentens forskrift. Følgende isoleringskit anbefales:

Prøvemateriale	DNA-isoleringskit	Katalog-nummer	producent	Carrier RNA
hudbiopsier, synovialvæske, CSF, blod, skovflåter, kultur	QIAamp DNA Mini Kit (50)	51 304	QIAGEN	ikke indeholdt

- Anvendelsen af **carrier-RNA** er af afgørende betydning for oprensningens effektivitet og dermed for DNA-/RNA-udbyttet. Hvis det anvendte isoleringskit ikke indeholder carrier-RNA, anbefales der ved oprensningen af nukleinsyrer af cellefri kropsvæsker eller materialer med ringe DNA-/RNA-indhold (f.eks. CSF), en tilsætning af carrier-RNA (RNA-homopolymer Poly(A), Amersham Biosciences, kat.-nr. 27-4110-01). Følg så venligst den følgende fremgangsmåde:
  - Hertil resuspenderes den lyophiliserede carrier-RNA i elueringsbufferen (ikke i lysisbuffer) af isoleringskittet (f.eks. AE-buffer



fra QIAamp DNA Mini Kit) og fremstilles en fortynding med en koncentration på 1 µg/µl. Lav derefter af carrier-RNA-løsningen et for Deres egne krav passende antal aliquoter, som skal opbevares ved -20°C. Undgå gentagen optøning (>2 x) af carrier-RNA-aliquoten.

- b) Per oprensning skal der tilsættes 1 µg carrier-RNA per 100 µl lysisbuffer. Bestemmer ekstraktionsprotokollen f.eks. 200 µl per oprenset prøve, så tilsæt 2 µl af carrier-RNA (1 µg/µl) direkte til lysisbufferen. Før begyndelsen af oprensningen skal blandingen af lysisbuffer og carrier-RNA (og i givent tilfælde *Intern Kontrol*, se **8.2 Intern Kontrol**) fremstilles frisk efter det følgende pipetteringsskema.

Antal prøver	1	12
Lysisbuffer	f.eks. 200 µl	f.eks. 2.400 µl
Carrier-RNA (1 µg/µl)	2 µl	24 µl
<b>Samlet volumen</b>	<b>202 µl</b>	<b>2.424 µl</b>
<b>Volumen for oprensningen</b>	<b>200 µl</b>	<b>hver 200 µl</b>

- c) Den frisk fremstillede lysisbuffer skal tilsættes oprensningen med det samme. Det er ikke muligt at opbevare blandingen.
- Der anbefales at eluere DNA'en i 50 µl elueringsbuffer for at opnå den højeste sensitivitet af *artus* Borrelia LC PCR Kit.
  - Bruger man en oprensningsprotokol med **ethanolholdige** vaskebuffer, anbefales det, at man udfører et ekstra centrifugeringstrin (tre minutter, 13.000 rpm) for at fjerne ethanolrester. Dette forhindrer eventuelle PCR-inhibitioner.
  - *artus* Borrelia LC PCR Kit er ikke egnet til oprensningskørsler, som arbejder på basis af **phenol**.

**Vigtigt:** Den *Interne Kontrol* til *artus* Borrelia LC PCR Kit kan anvendes direkte i oprensningen (se **8.2 Intern Kontrol**).

## 8.2 Intern Kontrol

Der vedlægges en *Intern Kontrol* (*Borrelia LC IC*). Med denne er det muligt at kontrollere **både oprensningen af DNA og en mulig inhibition af PCR** (se

Fig. 1). Til denne anvendelse tilsættes den *Interne Kontrol* i et forhold der svarer til 0,1 µl pr. 1 µl elueringsvolumen til oprensningen. Hvis De for eksempel anvender QIAamp DNA Mini Kit og eluerer DNA i 50 µl AE-buffer, skal der tilsættes 5 µl af den *Interne Kontrol*. Mængden af den anvendte *Interne Kontrol* er **kun** afhængig af elueringsvolumenet. Den *Interne Kontrol* og carrier-RNA (se **8.1 DNA-isolering**) må kun tilsættes

- til blandingen af lysisbuffer og prøvemateriale eller
- direkte til lysisbufferen.

Den *Interne Kontrol* må ikke direkte tilsættes prøvematerialet. Ved tilsætning til lysisbufferen skal der sørges for at blandingen af den *Interne Kontrol* og lysisbuffer/carrier-RNA forberedes frisk og tilsættes med det samme (at opbevare blandingen ved stuetemperatur eller i køleskabet kan allerede efter få timer føre til fravær af den *Interne Kontrol* og til en reduceret oprensningseffektivitet). Pipetter den *Interne Kontrol* og carrier-RNA **ikke** direkte i prøvematerialet.

Optionalt kan den *Interne Kontrol* anvendes **udelukkende til kontrol af en mulig PCR-inhibition** (se Fig. 2). Til denne anvendelse tilsættes pr. testblanding 0,5 µl af den *Interne Kontrol* direkte til 15 µl *Borrelia LC Master*. Brug til hver PCR-reaktion 15 µl af den således fremstillede Master Mix<sup>\*</sup> og tilsæt derefter 5 µl af den oprensede prøve. Ved udførelsen af en kørsel med flere prøver er det nødvendigt at øge de krævede mængder af *Borrelia LC Master* og af den *Interne Kontrol* svarende til prøvetallet (se **8.4 Forberedelse af PCR**).

### 8.3 Kvantificering

De vedlagte *Kvantificeringsstandarder* (*Borrelia LC QS 1 - 4*) behandles som en allerede oprenset prøve og anvendes i samme volumen (5 µl). For at udarbejde en standardkurve i *LightCycler* instrumentet, tilsættes alle fire medleverede *Kvantificeringsstandarder* på følgende måde:

---

<sup>\*</sup> Volumenforhøjelsen, som opstår på grund af tilsætning af den *Interne Kontrol*, er irrelevant. Sensitiviteten for detektionssystemet påvirkes ikke.

### **LightCycler 1.1/1.2/1.5 instrumentet**

Definer venligst *Borrelia LC QS 1 - 4* i *Sample Loading Screen* som standarder og indtast de angivne koncentrationer (se *LightCycler Operator's Manual*, version 3.5, chapter B, 2.4. Sample Data Entry).

### **LightCycler 2.0 instrumentet**

For at definere standarderne, aktiveres venligst funktionen *Analysis Type* i menubaren af vinduet *Samples* og vælges *Absolute Quantification*. Nu kan *Borrelia LC QS 1 - 4* defineres som standarder og de tilsvarende koncentrationer kan indtastes (se *LightCycler Operator's Manual*, version 4.0, chapter 2.2 Entering Sample Information). Sørg for at funktionen *Enable Controls* **ikke er aktiveret**, fordi dette ellers fører til indskrænkninger i udvalget af analyse-optionerne ved data-analysen (se **9.2 Analyse af PCR-dataene på LightCycler 2.0 instrumentet**).

Denne standardkurve kan derudover anvendes til senere kvantificeringer, hvis mindst en standard af **en** defineret koncentration medføres i den aktuelle kørsel. Hertil er det nødvendigt at importere den tidligere udarbejdede standardkurve (se *LightCycler Operator's Manual*, version 3.5, chapter B, 4.2.5. Quantification with an External Standard Curve hhv. version 4.0, chapter 4.2.2 Saving a Standard Curve). Der kan opstå afvigelse i resultatet på grund af variationen mellem PCR-kørslerne ved denne form for kvantificering.

**Bemærk:** *Kvantificeringsstandarderne* er defineret som kopier/ $\mu$ l. Til omregning af værdierne, som blev udarbejdet ved hjælp af standardkurven i kopier/ml prøvemateriale, skal følgende formel anvendes:

$$\text{resultat (kopier/ml)} = \frac{\text{resultat (kopier/\mu l)} \times \text{elueringsvolumen (\mu l)}}{\text{prøvevolumen (ml)}}$$

Bemærk, at der principielt skal tilsættes det oprindelige prøvevolumen i den ovennævnte formel. Dette skal tages i betragtning, hvis prøvevolumenet blev forandret før nukleinsyre-oprensningen (f.eks. at den blev indsnævret ved

centrifugering eller forhøjet ved at den blev fyldt op på det volumen, som kræves for oprensningen).

**Vigtigt:** For simplificering af den kvantitative analyse med *artus*-systemer på *LightCycler 1.1/1.2/1.5* hhv. *LightCycler 2.0* instrumentet, findes under [www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX](http://www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX) en vejledning (**Technical Note for quantitation on the *LightCycler 1.1/1.2/1.5* or *LightCycler 2.0* instrument**).

## 8.4 Forberedelse af PCR

Sørg for, at Cooling Block med de tilhørende adaptere (tilbehør til *LightCycler* instrumentet) er kølet ned til cirka +4°C. Sæt det nødvendige antal *LightCycler* kapillarer til de planlagte reaktioner ind i adapterne til Cooling Block'en. Bemærk, at hver PCR-kørsel medfører mindst en *Kvantificeringsstandard* samt en negativ kontrol (*Water, PCR grade*). Til udarbejdelse af en standardkurve anvendes per PCR-kørsel alle vedlagte *kvantificeringsstandarder (Borrelia LC QS 1 - 4)*. Alle reagenser skal optøs fuldstændigt ved stuetemperatur, blandes godt (gentagen pipettering eller kort vortexen) og centrifugeres kort.

For tilfældet, at de **både** vil kontrollere **oprensningen af DNA og en mulig inhibition af PCR**, skal den *Interne Kontrol* tilsættes oprensningen i forvejen (se **8.2 Intern Kontrol**). Brug dertil følgende pipetteringsskema (se endvidere den skematiske oversigt i Fig. 1):

	Antal prøver	1	12
1. Opsætning af Master Mix	<i>Borrelia LC Master</i>	15 µl	180 µl
	<i>Borrelia LC IC</i>	0 µl	0 µl
	<b>Samlet volumen</b>	<b>15 µl</b>	<b>180 µl</b>
2. Opsætning af PCR-reaktion	Master Mix	15 µl	for hver 15 µl
	Prøve	5 µl	for hver 5 µl
	<b>Samlet volumen</b>	<b>20 µl</b>	<b>for hver 20 µl</b>

Hvis De **udelukkende** vil anvende den *Interne Kontrol til kontrol af en mulig PCR-Inhibition*, skal den tilsættes direkte til *Borrelia LC Master*. Brug i dette

tilfælde følgende pipetteringsskema (se endvidere den skematiske oversigt i Fig. 2):

	<b>Antal prøver</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
<b>1. Opsætning af Master Mix</b>	<i>Borrelia LC Master</i>	15 µl	180 µl
	<i>Borrelia LC IC</i>	0,5 µl	6 µl
	<b>Samlet volumen</b>	<b>15,5 µl*</b>	<b>186 µl</b>
<b>2. Opsætning af PCR-reaktion</b>	Master Mix	15 µl	for hver 15 µl
	Prøve	5 µl	for hver 5 µl
	<b>Samlet volumen</b>	<b>20 µl</b>	<b>for hver 20 µl</b>

Pipetter 15 µl af Master Mix i PCR-plastikreservoiret til hver af kapillarerne. Derefter tilsættes 5 µl af eluatet fra DNA-isoleringen. Tilsvarende skal 5 µl af mindst en af *Kvantificeringsstandarderne (Borrelia LC QS 1 - 4)* anvendes som positiv kontrol, og som negativ kontrol tilsættes 5 µl vand (*Water, PCR grade*). Luk kapillarerne. For at overføre opsætningen fra plasticreservoiret til kapillarerne, centrifugeres adapterne med kapillarerne i en bordcentrifuge i ti sekunder ved maksimalt 400 x g (2,000 rpm).

---

\* Volumenforhøjelsen, som opstår på grund af tilsætning af *Intern Kontrol*, er irrelevant. Sensitiviteten for detektionssystemet påvirkes ikke.

## Tilsætning af *Intern kontrol* til oprensningen

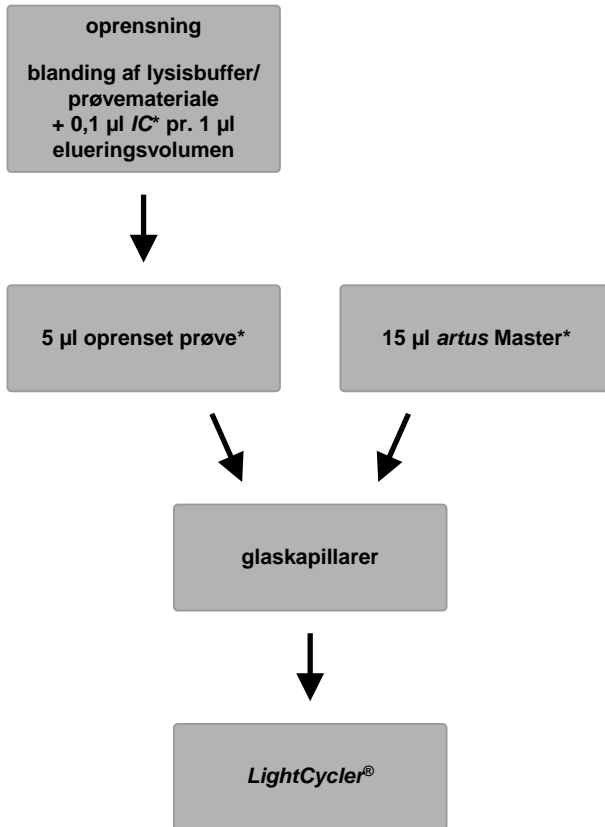


Fig. 1: Skematisk arbejdsforløb til kontrol af oprensning og PCR-inhibition.

\*Det er yderst vigtigt at sørge for, at de anvendte opløsninger er fuldstændigt optøet, blandet godt og centrifugeret kort.

## Tilsætning af *Intern Kontrol* til *artus Master*

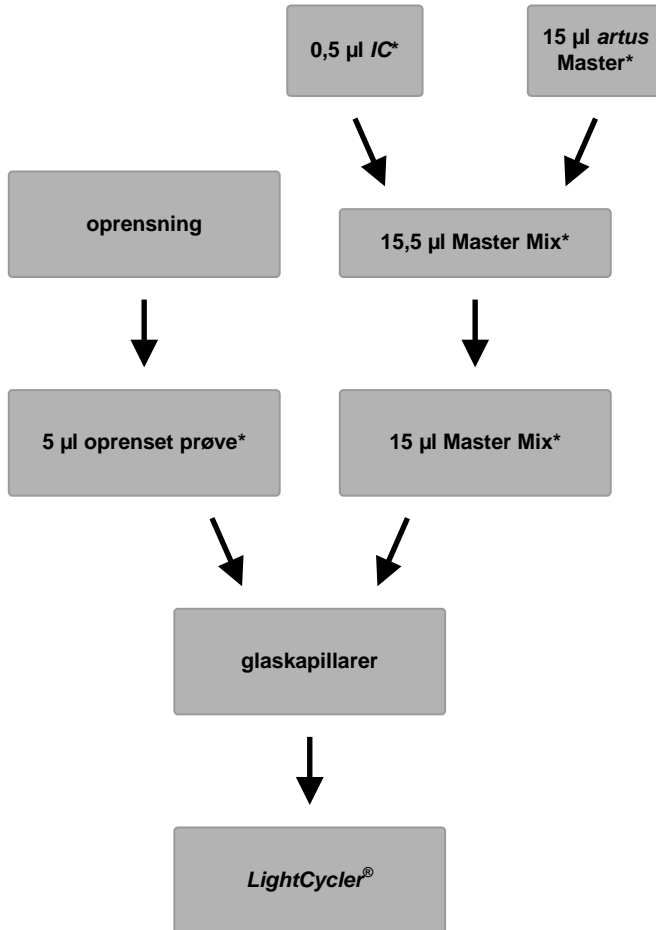


Fig. 2: Skematisk arbejdsforløb til kontrol af PCR-inhibition.

\*Det er yderst vigtigt at sørge for, at de anvendte opløsninger er fuldstændigt optøet, blandet godt og centrifugeret kort.

## 8.5 Programmering af *LightCycler* instrumenterne

### 8.5.1 Programmering af *LightCycler 1.1/1.2/1.5* instrumentet

Til detektion af *Borrelia*-DNA udarbejder De på Deres *LightCycler 1.1/1.2/1.5* instrument en temperaturprofil som i de følgende tre arbejdsstrin (se Fig. 3 - 5).

- A. Initial aktivering af Hot Start enzymet Fig. 3
- B. Amplifikation af DNA Fig. 4
- C. Køling Fig. 5

Læg især mærke til indstillingerne for *Analysis Mode*, *Cycle Program Data* og *Temperature Targets*. Af hensyn til overskueligheden er indstillingerne, der skal foretages, fremhævet med sorte rammer i figurerne. Anvisninger til programmering af *LightCycler 1.1/1.2/1.5* instrumentet kan findes i *LightCycler Operator's Manual*.

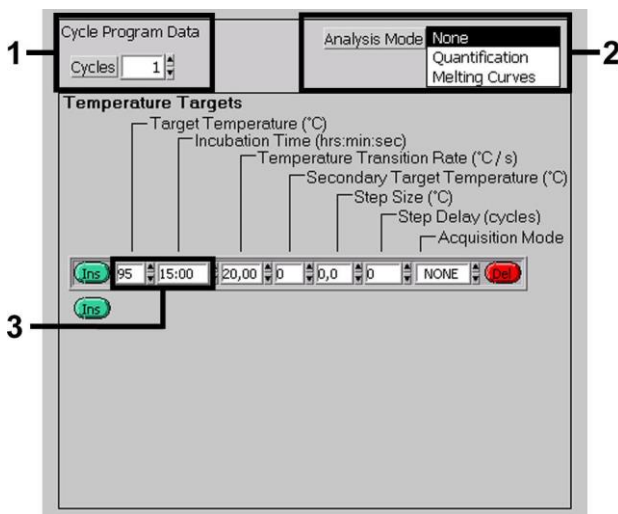


Fig. 3: Initial aktivering af Hot Start enzymet.



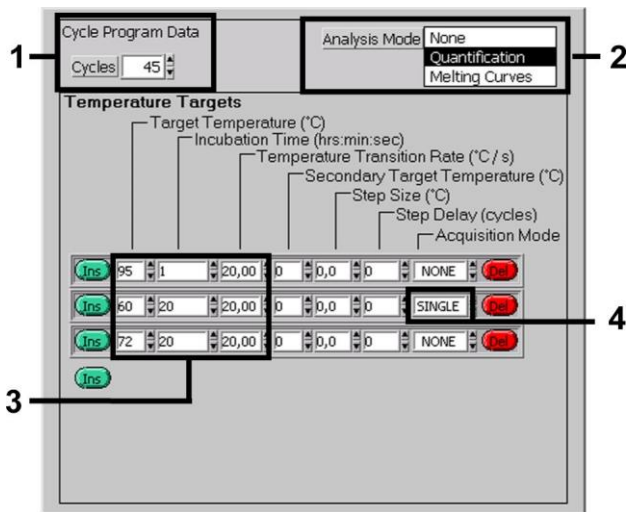


Fig. 4: Amplifikation af DNA.

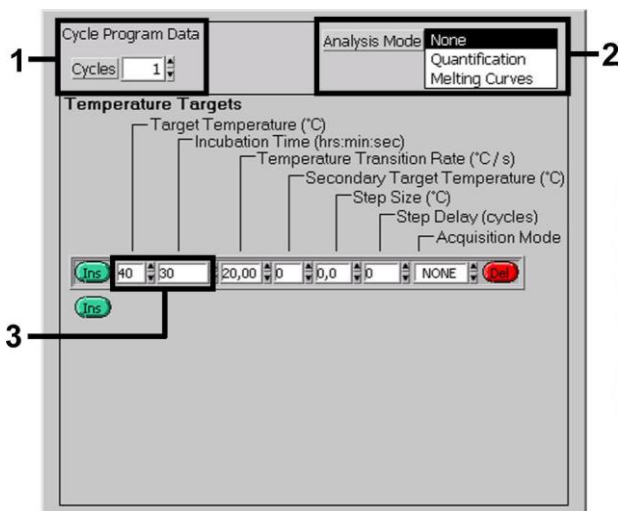


Fig. 5: Køling.

## 8.5.2 Programmering af *LightCycler 2.0* instrumentet

For at programmere en PCR-kørsel med *LightCycler 2.0* instrumentet aktiveres venligst i menubaren optionen *New* og derefter vælges *LightCycler Experiment*.

Derefter kan der oprettes en temperaturprofil til detektion af *Borrelia*-DNA på Deres *LightCycler 2.0* instrument, som består af de følgende tre arbejdsstrin (se Fig. 6 - 8).

- A. Initial aktivering af Hot Start enzymet Fig. 6
- B. Amplifikation af DNA Fig. 7
- C. Køling Fig. 8

Vær særlig opmærksom på de indstillinger der er fremhævet med sorte rammer i de følgende illustrationer. Videregående informationer vedrørende programmering af *LightCycler 2.0* instrumentet findes i *LightCycler Operator's Manual*.

Bemærk, at der først skal indtastes antallet af de for denne PCR-kørsel forberedte kapillarer (*Max. Seek Pos.*) (se Fig. 6).

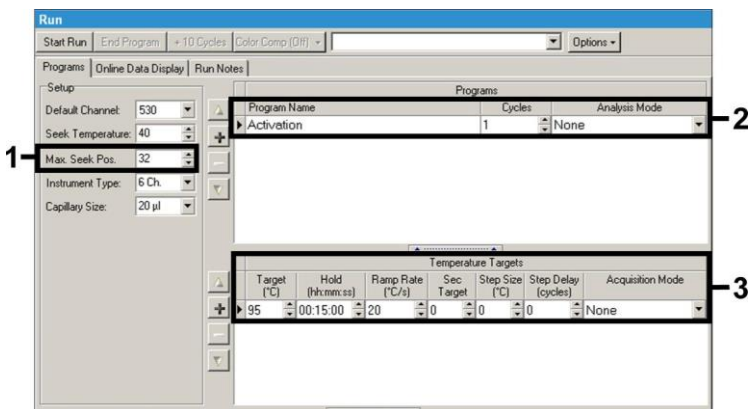


Fig. 6: Initial aktivering af Hot Start enzymet.

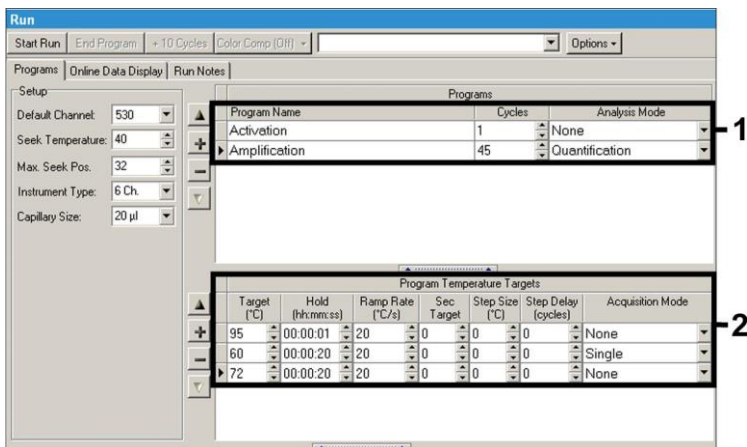


Fig. 7: Amplifikation af DNA.

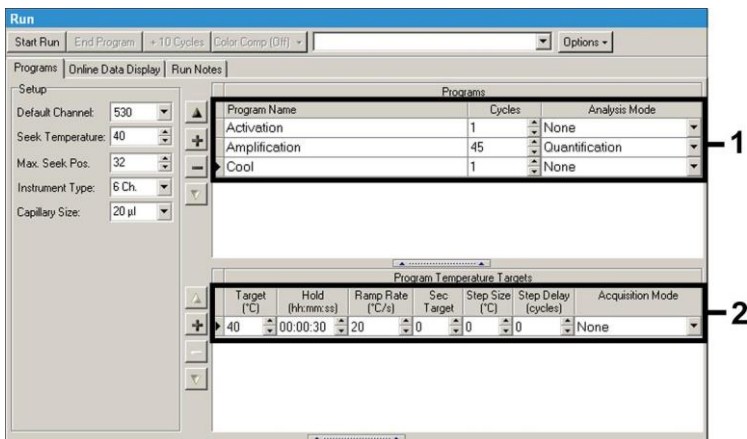


Fig. 8: Køling.

For at indtaste prøvespecifikationerne aktiveres venligst funktionen *Samples*.

- Først indtastes i vinduet *Capillary View* den totale sum af PCR-opsætningerne, som er planlagt for PCR-kørslen (*Sample Count*).
- Derefter kan der tildeles navne til prøverne under *Sample Name*.

- Vælg derefter under *Selected Channels* fluorescenskanalerne 530 til detektion af den analytiske *Borrelia*-PCR og 610 til påvisning af den *Interne Kontrol*-PCR.
- For at definere standarderne og for at tildele de tilsvarende koncentrationer vælges venligst under *Analysis Type* optionen *Absolute Quantification* (se **8.3 Kvantificering**).
- Sørg for, at funktionen *Enable Controls* **ikke** er aktiveret, fordi dette ellers fører til indskrænkninger i udvalget af analyse-optionerne ved data-analysen (*Fit Points*-modus står ellers ikke til rådighed, se **9.2 Analyse af LightCycler 2.0 instrument PCR-dataene**). Under *Target Name* kan til de udvalgte fluorescenskanaler 530 og 610 tildeles målsekvenserne (*Borrelia* hhv. *Intern Kontrol*), som skal detekteres. Det kan gøres lettere at indtaste feltet *Target Name* med funktionen *Auto Copy...* Definitionen af *Target Name* gør oversigten lettere, den er dog ikke tvingende nødvendigt for data-analysen.
- For at oprette en standardkurve ved data-analysen, skal *kvantificeringsstandarderne* defineres med de tilsvarende koncentrationer. For dette vælges *Standard* under *Sample Type* og de tilsvarende koncentrationer indtastes under *Concentration*.
- Den programmerede temperaturprofil kan gemmes på computerens harddisk, for at anvende den til efterfølgende løb. Hertil aktiveres under menuen *File* funktionen *Save As...* I vinduet, som derefter åbner sig, vælges under *Templates and Macros* fortegnelsen *Run Templates* og der gemmes dataene under et egnet navn.
- For at starte PCR-kørslen, skiftes til feltet *Run* og aktiveres funktionen *Start Run* (se Fig. 9). Efter angivelsen af mål-stedet for at gemme dataene, startes PCR-programmet.

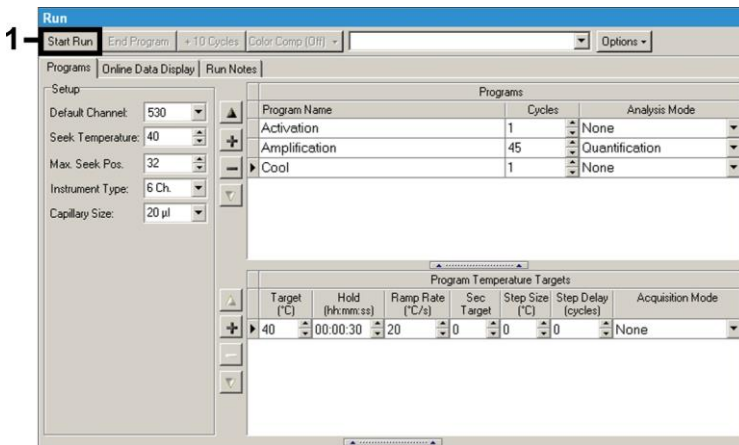


Fig. 9: Start af PCR-kørslen.

## 9. Analyse

### 9.1 Analyse af *LightCycler 1.1/1.2/1.5* instrument PCR-dataene

For at analysere PCR-dataene, som blev udvundet med *LightCycler 1.1/1.2/1.5* instrumentet, anbefaler vi anvendelsen af *LightCycler Software Version 3.5*.

Ved multifarve-analyser optræder interferenser mellem fluorescens-kanalerne. Softwaren til *LightCycler 1.1/1.2/1.5* instrumentet indeholder en fil med betegnelsen *Color Compensation File*, som kompenserer for disse interferenser. Åbn denne fil før, under eller lige efter PCR-kørslen ved aktivering af *Choose CCC File* eller *Select CC Data*. Hvis der ikke er installeret en *Color Compensation File*, udarbejdes den ifølge anvisningerne i *LightCycler Operator's Manual*. Efter aktiveringen af *Color Compensation File* fremkommer separate signaler i fluorescenskanalerne F1, F2 og F3. Til analysen af PCR-resultaterne, der udvindes med *artus Borrelia LC PCR Kit*, vælges visningsfunktionen F1 til den analytiske *Borrelia*-PCR, hhv. F2 for PCR'en af den *Interne Kontrol*. For analysen af kvantitative kørsler er det yderst vigtigt at følge afsnittet **8.3 Kvantificering** samt **Technical Note for quantitation on the *LightCycler 1.1/1.2/1.5* or *LightCycler 2.0* instrument** på [www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX](http://www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX).

Følgende resultater er mulige:

1. I fluorescens-kanalen F1 detekteres et signal.

**Analysens resultat er positivt: Prøven indeholder *Borrelia* DNA.**

I dette tilfælde er detektionen af et signal i kanalen F2 uvæsentlig, da høje udgangskoncentrationer af *Borrelia*-DNA (positivt signal i kanalen F1) kan føre til et reduceret og tilmed helt udeblivende fluorescens-signal af den *Interne Kontrol* i kanalen F2 (konkurrence).

2. I fluorescens-kanalen F1 detekteres der ikke noget signal, men kun i kanalen F2 (signal for *Interne Kontrol*).

**I prøven kan der ikke påvises *Borrelia*-DNA. Den kan således betragtes som negativ.**

Ved negativ *Borrelia*-PCR udelukker det detekterede *Intern Kontrol*-signal muligheden for en PCR-inhibition.

3. Hverken i kanalen F1 eller i kanalen F2 detekteres der et signal.

**Et udsagn er ikke muligt.**

Information om fejlkilder og afhjælpning er angivet under **10. Fejlkilder**.

Eksempler på positive og negative PCR-reaktioner er angivet i Fig. 10 og Fig. 11.

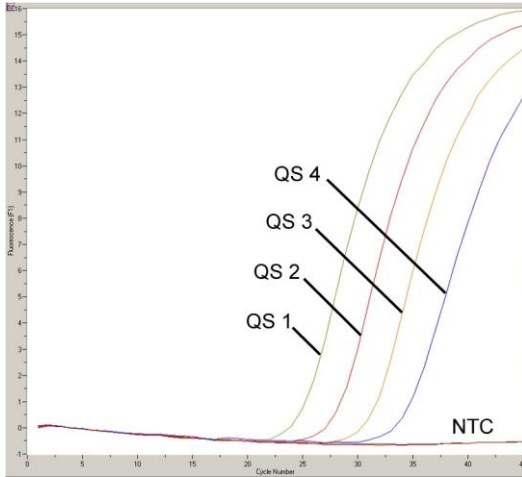


Fig. 10: Detektion af *Kvantificeringsstandarder (Borrelia LC QS 1 - 4)* i fluorescens-kanalen F1 af *LightCycler 1.1/1.2/1.5* instrumentet. NTC: non-template control (negativkontrol).

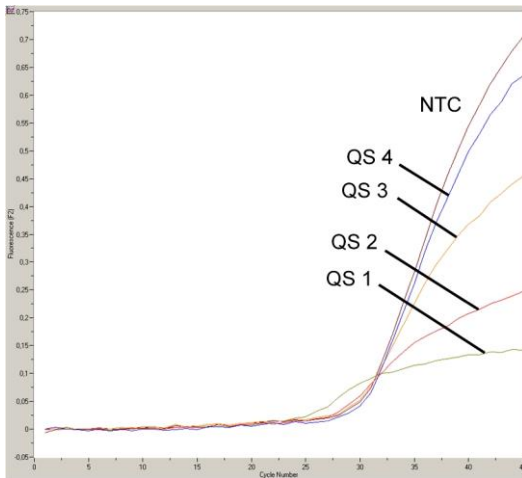


Fig. 11: Detektion af den *Interne Kontrol (IC)* i fluorescens-kanalen F2 af *LightCycler 1.1/1.2/1.5* instrumentet ved samtidig amplifikation af *Kvantificeringsstandarder (Borrelia LC QS 1 - 4)*. NTC: non-template control (negativkontrol).



## 9.2 Analyse af *LightCycler 2.0* instrument PCR-dataene

For at analysere PCR-dataene, som blev indhentet med *LightCycler 2.0* instrumentet, anbefaler vi anvendelsen af *LightCycler Software Version 4.0*. Bemærk venligst også anvisningerne i *LightCycler 2.0 instrument Operator's Manual Version 4.0*.

Følg ved analysen af PCR-dataene venligst de følgende arbejdsstrin (se Fig. 12)

- Aktiver i menubaren funktionen *Analysis* og vælg funktionen *Absolute Quantification*, som skal bruges til principielt alle analyser af amplifikationsdata, der blev genereret med *artus LC PCR Kit*.
- *LightCycler* software version 4.0 indeholder en fil, som kaldes *Color Compensation File*, der kompenserer signal-interferencer mellem fluorescenskanalerne. Denne fil skal åbnes før, under eller efter PCR-kørslen ved at aktivere funktionen *Color Comp (On/Off)* og lige efter *Select Color Compensation* (se Fig. 12). Hvis der ikke er installeret en *Color Compensation File*, så oprettes filen ved hjælp af vejledningen i *LightCycler Operator's Manual*.
- Efter aktivering af *Color Compensation File* fremkommer separate signaler i de enkelte fluorescenskanaler. For at analysere PCR-resultaterne, som blev indhentet med *artus Borrelia LC PCR Kit*, vælges venligst visningsfunktionen 530 for den analytiske *Borrelia* PCR hhv. 610 for PCR'en af den *Interne Kontrol*.

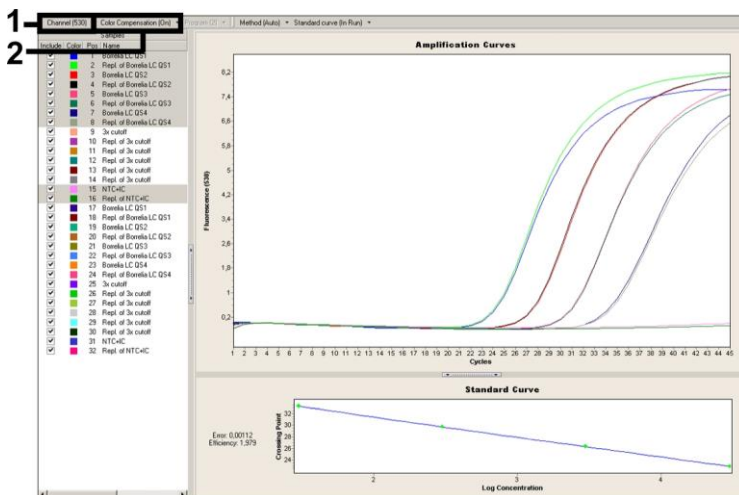


Fig. 12: Aktivering af *Color Compensation File* og valg af fluorimeterkanalen.

For analysen af kvantitative kørsler bemærk venligst afsnittet **8.3 Kvantificering og Technical Note for quantitation on the *LightCycler 1.1/1.2/1.5 or LightCycler 2.0* instrument** på [www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX](http://www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX).

Efter afslutningen af indstillingerne for analyse-optionerne kan der opstå de følgende resultater:

1. I fluorescens-kanalen 530 detekteres et signal.

**Resultatet af analysen er positivt: Prøven indeholder *Borrelia*-DNA.**

I dette tilfælde er detektion af et signal i kanalen 610 uvæsentlig, da høje udgangskoncentrationer af *Borrelia*-DNA (positivt signal i kanalen 530) kan føre til et reduceret og tilmed helt udeblivende fluorescens-signal af den *Interne Kontrol* i kanalen 610 (konkurrence).

2. I fluorescens-kanalen 530 detekteres ikke noget signal, men kun i kanalen 610 (signal af den *Interne Kontrol*).

**I prøven kan der ikke påvises *Borrelia*-DNA. Den kan således betragtes som negativ.**

Ved negativ *Borrelia*-PCR udelukker det detekterede *Intern Kontrol*-signal muligheden for en PCR-inhibition.

3. Hverken i kanalen 530 eller i kanalen 610 detekteres der et signal.

**Et diagnostisk udsagn er ikke muligt.**

Information om fejlkilder og afhjælpning er angivet under **10. Fejlkilder**.

Eksempler på positive og negative PCR-reaktioner er angivet i Fig. 13 og Fig. 14.

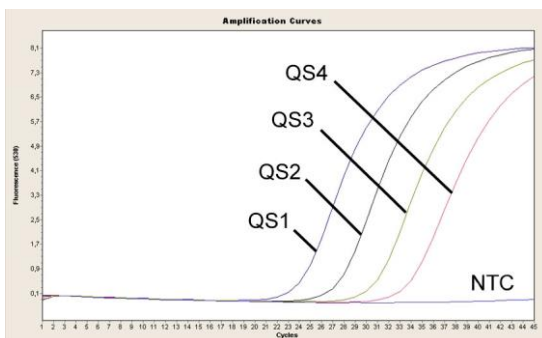


Fig. 13: Detektion af *Kvantificeringsstandarder (Borrelia LC QS 1 - 4)* i fluorescens-kanalen 530 af *LightCycler 2.0* instrumentet. NTC: non-template control (Negativkontrol).

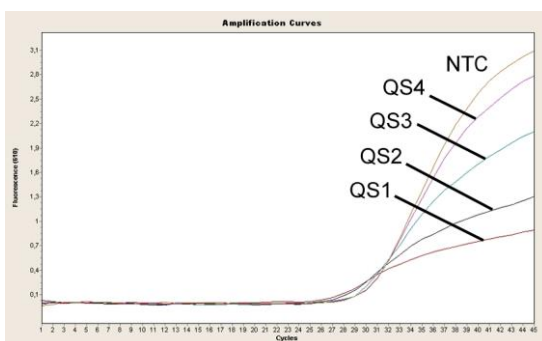


Fig. 14: Detektion af den *Interne Kontrol (IC)* i fluorescens-kanalen 610 af *LightCycler 2.0* instrumentet ved samtidig amplifikation af *Kvantificeringsstandarderne (Borrelia LC QS 1 - 4)*. NTC: non-template control (Negativkontrol).

## 10. Fejkilder

### Intet fluorescenssignal ved positivkontrollerne (*Borrelia LC QS 1 - 4*) i fluorescenskanalen F1 hhv. 530:

- Valget af fluorescenskanalen ved PCR-data-analysen svarer ikke til angivelserne i protokollen.
  - Vælg for data-analysen fluorescenskanalen F1 hhv. 530 for den analytiske *Borrelia*-PCR og fluorescenskanalen F2 hhv. 610 for PCR'en af den *Interne Kontrol*.
- Fejl i programmeringen af temperaturprofilen for *LightCycler 1.1/1.2/1.5* hhv. *LightCycler 2.0* instrumentet.
  - Sammenlign temperaturprofilen med angivelserne i protokollen (se **8.5 Programmering af *LightCycler* instrumenterne**).
- Fejl i sammensætningen af PCR-reaktionen.
  - Kontrollér arbejdsrinnene ved hjælp af pipetteringsskemaet (se **8.4 Forberedelse af PCR**) og gentag i givent tilfælde PCR'en.
- Betingelserne for opbevaring af en eller flere af kittets komponenter svarede ikke til de i **2. Opbevaring** angivne forskrifter eller holdbarhedsdatoen for *artus Borrelia LC PCR Kit* blev overtrådt.
  - Kontrollér venligst både betingelserne for opbevaring og holdbarhedsdatoen (se på kit-etiketten) af reagenserne og anvend i givent tilfælde et nyt kit.

### Svagt eller fraværende signal fra den *Interne Kontrol* i fluorescenskanalen F2 hhv. 610 og samtidig fravær af et signal i kanalen F1 hhv. 530:

- PCR-betingelserne svarer ikke til protokollen.
  - Kontrollér betingelserne (se foroven) og gentag i givent tilfælde PCR'en med korrigerede indstillinger.
- PCR'en er blevet inhiberet.
  - Sørg for, at De anvender en af os anbefalet oprensningsmetode (se **8.1 DNA-isolering**) og hold Dem nøje til producentens anvisninger.

- Kontrollér, at der ved DNA-oprensningen, før gennemførelsen af elueringen, blev gennemført det anbefalede centrifugeringstrin til den fuldstændige fjernelse af ethanol-rester (se **8.1 DNA-isolering**).
- Der foreligger tab af DNA forårsaget af oprensningen.
  - Hvis den *Interne Kontrol* blev tilsat oprensningen, kan fravær af signalet fra den *Interne Kontrol* betyde, at der foreligger tab af DNA forårsaget af oprensningen. Sørg for, at De anvender en af os anbefalet oprensningsmetode (se **8.1 DNA-isolering**) og hold Dem nøje til producentens anvisninger.
- Betingelserne for opbevaring af en eller flere af kittets komponenter svarer ikke til de i **2. Opbevaring** angivne forskrifter eller holdbarhedsdatoen af *artus* Borrelia LC PCR Kit blev overtrådt.
  - Kontrollér venligst både betingelserne for opbevaring og holdbarhedsdatoen (se på kit-etiketten) af reagenserne og anvend i givent tilfælde et nyt kit.

**Et signal ved negativkontrollerne i fluorescenskanalen F1 hhv. 530 af den analytiske PCR:**

- Der foreligger en kontamination ved forberedelserne af PCR'en.
  - Gentag PCR'en med ubrugte reagenser i replikater.
  - Luk, hvis muligt, hvert af de enkelte PCR-beholdere direkte efter tilsætningen af den prøve der skal undersøges.
  - Pipettér principielt positiv-kontrollerne sidst.
  - Sørg for at arbejdsbordene og apparaterne regelmæssigt dekontamineres.
- Der foreligger en kontamination forårsaget af oprensningen.
  - Gentag oprensningen og PCR'en for de prøver der skal undersøges under anvendelse af ubrugte reagenser.
  - Sørg for at arbejdsbordene og apparaterne regelmæssigt dekontamineres.

Hvis der yderligere skulle opstå spørgsmål eller problemer, kontakt venligst vores tekniske service.

## 11. Specifikationer

### 11.1 Analytisk sensitivitet

#### 11.1.1 *LightCycler 1.1/1.2/1.5* instrumentet

Til bestemmelsen af den analytiske sensitivitet af *artus* Borrelia LC PCR Kit under anvendelse af *LightCycler 1.1/1.2/1.5* instrumentet blev der udarbejdet en fortyndingsrække af genomisk *B. burgdorferi*-DNA (DSMZ 4681-30) fra 36,5 til nominelt 0,0115 *Borrelia*-kopier/ $\mu$ l. Denne blev derefter analyseret med *artus* Borrelia LC PCR Kit. Undersøgelserne blev gennemført på tre forskellige dage med otte replikater. Resultatet blev beregnet ved hjælp af en probit-analyse. Dens grafiske analyse er vist i Fig. 15. Den analytiske detektionsgrænse for *artus* Borrelia LC PCR Kit sammen med *LightCycler 1.1/1.2/1.5* instrumentet ligger således ved 3,34 kopier/ $\mu$ l ( $p = 0,05$ ). Det betyder, at 3,34 kopier/ $\mu$ l kan detekteres med 95 % sandsynlighed.

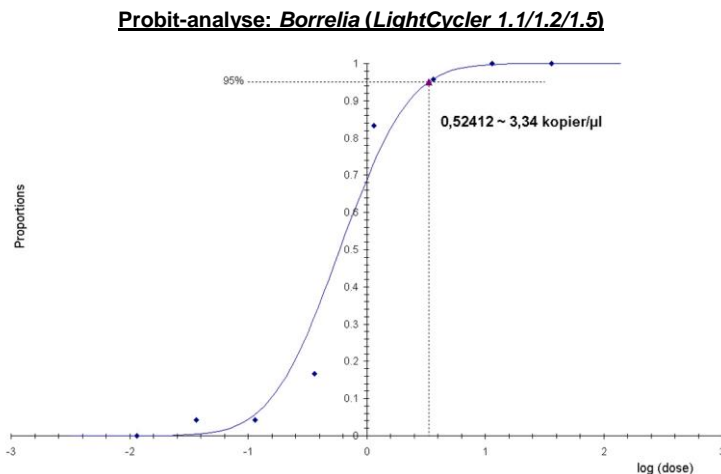


Fig. 15: Analytisk sensitivitet for *artus* Borrelia LC PCR Kit under anvendelse af *LightCycler 1.1/1.2/1.5* instrumentet.

### 11.1.2 *LightCycler 2.0* instrumentet

Til bestemmelsen af den analytiske sensitivitet af *artus* Borrelia LC PCR Kit under anvendelse af *LightCycler 2.0* instrumentet blev der udarbejdet en fortyndingsrække af genomisk *B. burgdorferi*-DNA (DSMZ 4681-30) fra 36,5 til nominelt 0,0115 *Borrelia*-kopier/ $\mu$ l. Denne blev derefter analyseret med *artus* Borrelia LC PCR Kit. Undersøgelserne blev gennemført på tre forskellige dage med otte replikater. Resultatet blev beregnet ved hjælp af en probit-analyse. Dens grafiske analyse er vist i Fig. 16. Den analytiske detektionsgrænse for *artus* Borrelia LC PCR Kit sammen med *LightCycler 2.0* instrumentet ligger således ved 2,76 kopier/ $\mu$ l ( $p = 0,05$ ). Det betyder at 2,76 kopier/ $\mu$ l kan detekteres med 95 % sandsynlighed.

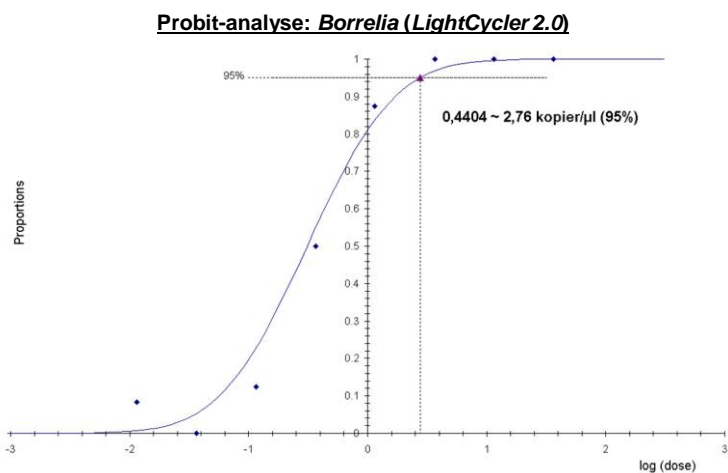


Fig. 16: Analytisk sensitivitet af *artus* Borrelia LC PCR Kit under anvendelse af *LightCycler 2.0* instrumentet.

## 11.2 Specifitet

Specifiteten for *artus* Borrelia LC PCR Kit sikres først og fremmest igennem udvalget af primere og prober samt ved valget af stringente reaktionsbetingelser. Primerne og proberne blev kontrolleret for eventuelle homologier til alle i genbanker publicerede sekvenser ved hjælp af en



sekvenssammenlignings-analyse. Herved blev også detekterbarheden for alle *Borrelia*-species kontrolleret (Smitstof af lyme-borreliose og smitstof af tilbagefaldsfeber).

Specificitetens validering blev derudover foretaget på 32 forskellige *borrelia* negative CSF-prøver, som ikke genererede et signal med de i *Borrelia LC Master* integrerede *Borrelia* specifikke primere og prober.

De i Tabel 1 opførte species blev derudover bekræftet med en PCR på *LightCycler* instrumentet.

Tabel 1: Specificitetstest af *Borrelia*-species.

<i>Borrelia</i> -species	kilde	<i>Borrelia</i> (F1 hhv. 530)	Interne Kontrolle (F2 hhv. 610)
<i>B. burgdorferi</i>	DSMZ <sup>¶</sup>	+	+
<i>B. garinii</i>	DSMZ <sup>¶</sup>	+	+
<i>B. afzelii</i>	DSMZ <sup>¶</sup>	+	+
<i>B. valaisiana</i> <sup>*</sup>	INSTAND <sup>¶</sup>	+	+
<i>B. hermsii</i>	QIAGEN <sup>¶</sup>	+	+

<sup>¶</sup>DSMZ: Tysk stammesamling af mikroorganismer og cellekulturer, Braunschweig  
INSTAND: INSTAND e. V., Düsseldorf  
QIAGEN: QIAGEN GmbH, Hilden

Til bestemmelsen af specificiteten for *artus Borrelia LC PCR Kit* blev den i Tabel 2 angivne kontrolgruppe undersøgt for krydsreaktivitet. Ingen af de testede smitstoffer var reaktive.

---

<sup>\*</sup> Patogeniteten af *B. valaisiana* bekræftes gennem flere studier (se 15. Litteratur).

Tabel 2: Specificitetstest af kittet med potentielle krydsreaktive prøver.

Kontrolgruppe	<i>Borrelia</i> (F1 hhv. 530)	<i>Intern Kontrol</i> (F2 hhv. 610)
<i>Treponema phagedenis</i>	-	+
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	-	+
<i>Chlamydia trachomatis</i>	-	+
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-	+
<i>Bordetella pertussis</i>	-	+
<i>Escherichia coli</i> K12	-	+
<i>Salmonella typhi</i>	-	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	+
<i>Legionella pneumophila</i>	-	+
<i>Legionella longbeachae</i>	-	+
<i>Bacillus anthracis</i>	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+
<i>Candida albicans</i>	-	+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	+
Human genomisk DNA	-	+

### 11.3 Præcision

Præcisionsdata for *artus* *Borrelia* LC PCR Kit blev berget under anvendelse af *LightCycler* 1.1/1.2/1.5 instrumentet og tillader en bestemmelse af totalvariansen (samlet spredning) af testsystemet. Denne totalvarians består af **Intra-assay variationen** (spredning af prøver med samme koncentration inden for en forsøgsopsætning), af **Inter-assay variationen** (spredning der forekommer pga. forskellige personer inden for et laboratorium, der udfører analysen på forskellige apparater af samme type) og af **Inter-lot variationen** (spredning ved benyttelse af forskellige lots). Via dette bliver såvel standardafvigelsen, variansen og variationskoefficienten for både den smitstof-specifikke- og *Intern Kontrol*-PCR'en beregnet.

Disse præcisionsdata blev bestemt for *artus* *Borrelia* LC PCR Kit ved hjælp af en fortynding af genomisk *B. burgdorferi* DNA (DSMZ 4681-30) med en koncentration af 36,5 kopier/µl. Undersøgelserne blev udført med otte

replikater. Resultaterne af præcisionsdataene blev beregnet på grundlag af amplifikationskurvens Ct-værdier (Ct: *threshold cycle*, se Tabel 3). Således omfatter den samlede variation af en prøve med den oplyste koncentration 0,94 % (Ct), til detektionen af den *Intern Kontrol* 1,68 % (Ct). Disse værdier baserer på helheden af alle enkeltværdiernes konstaterede variationer.

Tabel 3: Præcisionsdata på grundlag af Ct-værdierne.

	Standard-afvigelse	Varians	Variationskoefficient [%]
Intra-assay variation: <i>Borrelia</i> gDNA (36,5 cop/μl)	0,20	0,04	0,59
Intra-assay variation: <i>Intern Kontrol</i>	0,09	0,01	0,29
Inter-assay variation: <i>Borrelia</i> gDNA (36,5 cop/μl)	0,23	0,06	0,69
Inter-assay variation: <i>Intern Kontrol</i>	0,39	0,15	1,28
Inter-lot variation: <i>Borrelia</i> gDNA (36,5 cop/μl)	0,31	0,10	0,92
Inter-lot variation: <i>Intern Kontrol</i>	0,62	0,38	2,04
Totalvarians: <i>Borrelia</i> gDNA (36,5 cop/μl)	0,32	0,10	0,94
Totalvarians: <i>Intern Kontrol</i>	0,51	0,26	1,68

## 11.4 Robusthed

Kontrol af robustheden bruges til bestemmelse af den samlede udskillelsesrate for *artus Borrelia* LC PCR Kit. Hertil blev benyttet 32 *borrelia* negative CSF-prøver blandet med hver 10 kopier/μl elueringsvolumen *Borrelia*-kontrol-DNA (tredobbelt koncentration af den analytiske sensitivitetegrænse). Efter oprensning med QIAamp DNA Mini Kit (se **8.1 DNA-isolering**) blev disse prøver analyseret med *artus Borrelia* LC PCR Kit. Fejlraten for *Borrelia* udgjorde for alle prøver 0 %. Robustheden for den *Interne Kontrol* blev yderligere kontrolleret igennem oprensningen og analysen af 32 *Borrelia* negative CSF-prøver. Den samlede

fejlrater udgjorde 0 %. Inhibitioner blev ikke observeret. Dermed er robustheden for *artus* Borrelia LC PCR Kit  $\geq 99$  %.

## 11.5 Reproducerbarhed

Data for reproducerbarheden registreres for at kunne foretage en regelmæssig vurdering af effekten af *artus* Borrelia LC PCR Kit samt for en sammenligning med effekten af andre produkter ved deltagelse i ringforsøg.

## 11.6 Diagnostisk evaluering

*artus* Borrelia LC PCR Kit evalueres for tiden i flere studier.

## 12. Særlige anvisninger til brug af produktet

- Alle reagenser må udelukkende anvendes til in vitro diagnostik.
- Kun personale, der er specielt undervist og uddannet i in-vitro-diagnostika-proceduren, bør anvende dette udstyr.
- Det er absolut nødvendigt at protokollen overholdes nøje, for at opnå optimale PCR-reaktioner.
- Holdbarhedsdatoerne for de enkelte komponenter, der er angivet på emballagen og etiketterne, skal overholdes. Udløbne reagenser må ikke benyttes.

## 13. Advarsler og forholdsregler

Der henvises til de relevante sikkerhedsdatablade (SDS) for yderligere information. Disse findes som kompakt og brugervenlig PDF-fil under [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety).

## 14. Kvalitetskontrol

I overensstemmelse med det ISO 9001 og ISO 13485-certificerede kvalitetsmanagement-system fra QIAGEN blev ethvert lot af *artus* Borrelia LC PCR Kit testet imod givne specifikationer for at sikre en ensartet produktkvalitet.

## 15. Litteratur

- (1) Mackay IM. Real-time PCR in the microbiology laboratory. Clin. Microbiol. Infect. 2004; 10 (3): 190 - 212.
- (2) Rijpkema SG, Tazelaar DJ, Molkenboer MJ, Noordhoek GT, Plantinga G, Schouls LM, Schellekens JF. Detection of *Borrelia afzelii*, *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii* and group VS116 by PCR in skin biopsies of patients with erythema migrans and acrodermatitis chronica atrophicans. Clin Microbiol Infect., 1997; 3 (1): 109 – 116.
- (3) Ryffel K et al. OspA heterogeneity of *Borrelia valaisiana* confirmed by phenotypic and genotypic analyses. BMC Infect Dis., 2003; 3 (1): 14.
- (4) Ryffel K et al. Scored antibody reactivity determined by immunoblotting shows an association between clinical manifestations and presence of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii*, *B. afzelii*, and *B. valaisiana* in humans. J Clin Microbiology, 1999; 37 (12): 4086 - 4092.

## 16. Symbolforklaring



holdbar til



lotnummer



producent



katalognummer



materialenummer



håndbog



In-vitro-diagnostisk medicinprodukt



Ethanol



Globalt varenummer



<N>

indhold er tilstrækkeligt for <N> tests



tilladelig temperaturområde

**QS**

*Kvantificeringsstandard*

**IC**

*Intern Kontrol*

Denne side er forsætlig uden tekst

#### artus Borrelia LC PCR Kit

The purchase of this product allows the purchaser to use it for the performance of diagnostic services for human in vitro diagnostics. No general patent or other license of any kind other than this specific right of use from purchase is granted hereby.

#### Trademarks and Disclaimers

QIAGEN®, QIAamp®, artus®, (QIAGEN Group); LightCycler® (Roche Group).

Registered names, trademarks, etc. used in this document, even when not specifically marked as such, are not to be considered unprotected by law.

The artus Borrelia LC PCR Kit is a CE-marked diagnostic kit according to the European In Vitro Diagnostic Directive 98/79/EC. Not available in all countries.

The QIAamp DNA Mini Kit is intended for general laboratory use. No claim or representation is intended to provide information for the diagnosis, prevention, or treatment of a disease.

#### Limited License Agreement

Use of this product signifies the agreement of any purchaser or user of the artus Borrelia LC PCR Kit to the following terms:

1. The artus Borrelia LC PCR Kit may be used solely in accordance with the artus *Borrelia LC PCR Kit Handbook* and for use with components contained in the Kit only. QIAGEN grants no license under any of its intellectual property to use or incorporate the enclosed components of this Kit with any components not included within this Kit except as described in the artus *Borrelia LC PCR Kit Handbook* and additional protocols available at [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).
2. Other than expressly stated licenses, QIAGEN makes no warranty that this Kit and/or its use(s) do not infringe the rights of third-parties.
3. This Kit and its components are licensed for one-time use and may not be reused, refurbished, or resold.
4. QIAGEN specifically disclaims any other licenses, expressed or implied other than those expressly stated.
5. The purchaser and user of the Kit agree not to take or permit anyone else to take any steps that could lead to or facilitate any acts prohibited above. QIAGEN may enforce the prohibitions of this Limited License Agreement in any Court, and shall recover all its investigative and Court costs, including attorney fees, in any action to enforce this Limited License Agreement or any of its intellectual property rights relating to the Kit and/or its components.

For updated license terms, see [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2015 QIAGEN, all rights reserved.



**www.qiagen.com**

**Australia** ■ Orders 03-9840-9800 ■ 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

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

**China** ■ Orders 021-51345678 ■ Fax 021-51342500 ■ Technical 021-51345678

**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 02-33430411 ■ Fax 02-33430426 ■ Technical 800-787980

**Japan** ■ Telephone 03-5547-0811 ■ Fax 03-5547-0818 ■ Technical 03-5547-0811

**Korea (South)** ■ Orders 1544 7145 ■ Fax 1544 7146 ■ Technical 1544 7145

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

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

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

**Singapore** ■ Orders 65-67775366 ■ Fax 65-67785177 ■ Technical 65-67775366

**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)

1050871DA 151018268



**Sample & Assay Technologies**