

December 2014

Håndbog til *artus*[®] HBV RG PCR-kit

 24 (katalognr. 4506263)

 96 (katalognr. 4506265)

Version 1



Kvantitativ in vitro-diagnostik

Til brug sammen med Rotor-Gene[®] Q-instrumenter



4506263, 4506265



1046920DA



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,

TYSKLAND

R4

MAT

1046920DA



Sample & Assay Technologies

QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN er den førende leverandør af innovative prøve- og analyseteknologier, som gør det muligt at isolere og detektere indholdet af enhver biologisk prøve. Vores avancerede højkvalitetsprodukter og -service garanterer succes fra prøve til resultat.

QIAGEN sætter standarder i:


- Oprensning af DNA, RNA og proteiner
- Nukleinsyre- og proteinanalyser
- mikroRNA-undersøgelser og RNAi
- Automatisering af prøve- og analyseteknologier

Det er vores mål sætte Dem i stand til at opnå enestående succes og gennembrud. Der findes flere oplysninger på www.qiagen.com.

Indhold

Kittet indeholder	6
Symbols	6
Opbevaring	7
Tilsluttet anvendelse	7
Begrænsninger af produktets anvendelse	7
Advarsler og forholdsregler	8
Kvalitetskontrol	8
Indledning	9
Princip	9
Patogeninformation	9
Ydelsesegenskaber	10
Udstyr og reagenser, der skal leveres af bruger	19
Vigtige bemærkninger	20
Almene forsigtighedsregler	20
Prøveindsamling, opbevaring og transport	20
DNA-isolering	21
Intern kontrol	22
Indstilling af tærsklen for PCR-analysen	23
Kvantitering	23
Protokol: PCR og dataanalyse	24
Fejlfindingsvejledning	33
Litteraturhenvisninger	36
Bestillingsinformation	37

Kittet indeholder

artus HBV RG PCR Kit			(24)	(96)
Katalognr.			4506263	4506265
Antal reaktioner			24	96
Blåt	HBV RG/TM Master		2 x 12 reaktioner	8 x 12 reaktioner
Rødt	HBV RG/TM QS 1* (1 x 10 ⁵ IU/μl)	QS	200 μl	200 μl
Rødt	HBV RG/TM QS 2* (1 x 10 ⁴ IU/μl)	QS	200 μl	200 μl
Rødt	HBV RG/TM QS 3* (1 x 10 ³ IU/μl)	QS	200 μl	200 μl
Rødt	HBV RG/TM QS 4* (1 x 10 ² IU/μl)	QS	200 μl	200 μl
Rødt	HBV RG/TM QS 5* (1 x 10 ¹ IU/μl)	QS	200 μl	200 μl
Grønt	HBV RG/TM IC [†]	IC	1000 μl	2 x 1000 μl
Hvidt	Vand (PCR kvalitet)		1000 μl	1000 μl
	Håndbog		1	1

* Kvantiteringsstandard.

† Intern kontrol.

Symbols



<N>

Indeholder tilstrækkelige reagenser til <N> tests



Anvendes inden



In vitro-diagnostisk medicinsk produkt











Katalognummer



Lot-nummer



Materialenummer

	Komponenter
	Indeholder
	Nummer
	Globalt varenummer
	Temperaturbegrænsning
	Producent
	Læs brugsvejledningen
	Vigtig bemærkning

Opbevaring

Komponenterne i *artus* HBV RG PCR-kittet skal opbevares ved $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ til $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ og er stabile indtil den udløbsdato, der er angivet på etiketten. Gentagne optøninger og genfrysninger (>2 x) bør undgås, da det kan reducere analysens følsomhed. Hvis reagenserne kun bruges forbigående, skal de fryses i alikvotter. Må ikke opbevares ved $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ i mere end fem timer.

Tilsigtet anvendelse

artus HBV RG PCR-kittet er en in vitro-nukleinsyreamplifikationstest til kvantitering af hepatitis B-virus (HBV) DNA i humant plasma. Dette diagnostiske test-kit udnytter polymerasekædereaktionen (PCR) og er konfigureret til brug sammen med Rotor-Gene Q-instrumenter.

Begrænsninger af produktets anvendelse

Alle reagenser kan kun anvendes til in vitro-diagnostik.

Produktet må kun anvendes af personale, som er specielt instrueret og uddannet i in vitro-diagnostiske procedurer.

Det er nødvendigt nøje at følge brugervejledningen for at opnå optimale PCR-resultater.

Bemærk nøje udløbsdatoerne, der er trykt på æsken og etiketterne til alle komponenter. Brug aldrig for gamle komponenter.

Selv om det er sjældent, kan mutationer i de stærkt konserverede områder af det virale genom, der dækkes af kittets primere og/eller probe, resultere i underkvantitering eller manglende evne til at detektere tilstedeværelsen af virusset i disse tilfælde. Analysedesignets gyldighed og ydeevne revideres med jævne mellemrum.

Advarsler og forholdsregler

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, éngangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der henvises til de relevante sikkerhedsdatablade (SDS) for yderligere information. De findes online i bekvemt og kompakt pdf-format på www.qiagen.com/safety, hvor sikkerhedsdatabladene til hvert QIAGEN®-kit og hver kitkomponent kan læses og udskrives.

Prøvepræparat- og analyseaffald bortskaffes ifølge de lokale sikkerhedsregler.

Kvalitetskontrol

I overensstemmelse med QIAGENs ISO-certificerede kvalitetsstyringssystem testes hvert lot af *artus* HBV RG PCR-kit efter fastlagte specifikationer for at sikre en ensartet produktkvalitet.

Indledning

artus HBV RG PCR-kitteter et brugsklart system til detektion af HBV-DNA ved hjælp af polymerasekædereaktion (PCR) på Rotor-Gene Q-instrumenter. HBV RG/TM Master indeholder reagenser og enzymer til specifik amplifikation af en 134 bp region af HBV-genomet og til direkte detektion af det specifikke amplicon i fluorescenskanalen Cycling Green på Rotor-Gene Q eller Rotor-Gene 6000 eller Cycling A.FAM™ på Rotor-Gene 3000.

Derudover indeholder *artus* HBV RG PCR-kittetet andet heterologt amplifikationssystem, som bruges til detektion af en eventuel PCR-inhibition. Denne detekteres som en intern kontrol (IC) i fluorescenskanalen Cycling Yellow på Rotor-Gene Q eller Rotor-Gene 6000 eller A.JOE™ på Rotor-Gene 3000. Detektionsgrænsen for den analytiske HBV-PCR (se "Analysefølsomhed", side 10) bliver derved ikke reduceret. Der leveres eksterne positive kontroller (HBV RG/TM QS 1–5), der tillader bestemmelse af mængden af viralt DNA. For yderligere information, se "Kvantitering", side 23.

Princip

Patogendetektion via polymerasekædereaktion (PCR) er baseret på amplifikation af specifikke områder af patogenets genom. Det amplificerede produkt detekteres i realtids-PCR via fluorescerende farver. Disse er i reglen knyttet til oligonucleotidprober, der bindes specifikt til det amplificerede produkt. Monitorering af fluorescensintensiteterne under PCR-kørslen (dvs. i realtid) muliggør detektion og kvantitering af det akkumulerede produkt, uden at man behøver genåbne reaktionsglassene efter PCR-kørslen.*

Patogeninformation

Hepatitis B virus (HBV) overføres hovedsageligt via blod eller blodprodukter. Men også seksuel, oral og perinatal infektion er mulig. Efter almindelige sygdomssymptomer som appetitløshed, opkastning og abdominalt besvær opstår der hos 10-20 % af de inficerede feber, exanthemer (hududslæt) samt reumatoidt led- og muskelbesvær. 2-14 dage senere udvikler der sig ikterus, som kan være forbundet med pruritus. Fulminant hepatitis forekommer hos omkring 1 % af alle inficerede patienter og er hyppigt fatalt. 5–10 % af hepatitis B-patienter udvikler kronisk leverinflammation, der kan progrediere til levercirrose eller primært levercellkarcinom.

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

Ydelsesegenskaber

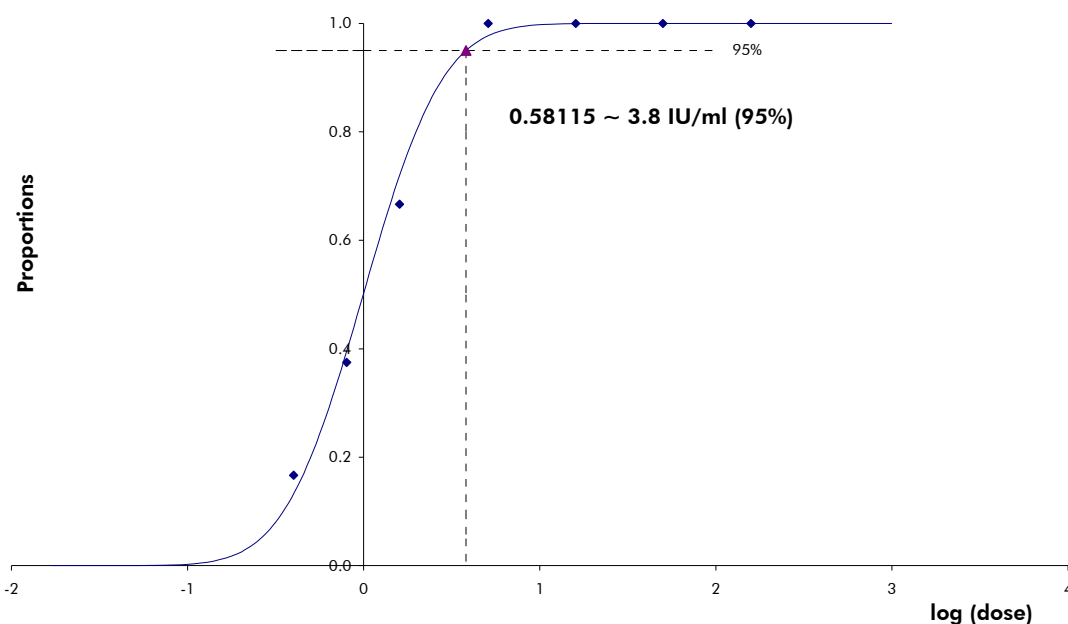
Analysefølsomhed

Til valideringen af *artus* HBV RG PCR-kittet blev både den analytiske detektionsgrænse og den analytiske detektionsgrænse med hensyn til oprensningen (sensitivitetsgrænser) bestemt. Den analytiske detektionsgrænse med hensyn til oprensningen blev bestemt ved hjælp af HBV-positive kliniske prøver med hensyn til den benyttede oprensningsmetode. Derimod blev den analytiske detektionsgrænse determineret ved hjælp af en standard af en kendt koncentration, uden kliniske prøver og uafhængigt af oprensningsmetoden.

Til bestemmelsen af den analytiske sensitivitet for *artus* HBV RG PCR-kittet blev der udarbejdet en fortyndingsrække af 10 til nominelt 0,0003 HBV IU/ μ l. Denne blev derefter analyseret ved hjælp af *artus* HBV RG PCR-kittet på Rotor-Gene-instrumenter. Undersøgelserne blev gennemført på tre forskellige dage med otte replikater. Resultaterne blev bestemt med en probitanalyse. Den analytiske detektionsgrænse for *artus* HBV RG PCR-kittet i kombination med Rotor-Gene 3000 er 0,02 IU/ μ l ($p = 0,05$). Det vil sige, at der er 95 % sandsynlighed for, at 0,02 IU/ μ l vil blive detekteret.

Ækvivalens mellem Rotor-Gene 3000 og Rotor-Gene Q/6000 er vist på grundlag af tekniske specifikationer, som er bekræftet ved sammenligning af analyseydelse. Probitanalyser blev udført parallelt på begge systemer. Den analytiske detektionsgrænse på Rotor-Gene Q/6000 ligger inden for konfidensintervallet for Rotor-Gene 3000. Derfor kan *artus* HBV RG PCR-kittet anvendes til detektion af HBV-DNA på Rotor-Gene Q/6000 med tilsvarende sensitivitet.

Den analytiske sensitivitet med hensyn til oprensningen (QIAamp[®] DSP Virus-kit) af *artus* HBV RG PCR-kittet blev bestemt med en fortyndingsrække af "1st International HBV DNA Standard" (WHO) fra 158 til nominelt 0,4 HBV IU/ml i kliniske plasmaprøver. Disse blev underkastet en DNA-oprensning med QIAamp DSP Virus Kit (ekstraktionsvolumen: 0,5 ml, eleringsvolumen: 26 μ l). Hver af de 7 fortyndinger blev analyseret med *artus* HBV RG PCR-kittet på 3 forskellige dage med hver 8 replikater. Resultaterne blev bestemt med en probitanalyse. En grafisk illustration af probitanalysen er vist i figur 1. Den analytiske detektionsgrænse med hensyn til oprensningen af *artus* HBV RG PCR-kittet i kombination med Rotor-Gene 3000 er 3,8 IU/ml ($p = 0,05$). Det vil sige, at der er 95 % sandsynlighed for, at 3,8 IE/ml vil blive detekteret.



Figur 1. Probitanalyse: HBV (Rotor-Gene 3000). Analytisk sensitivitet med hensyn til oprensningen (QIAamp DSP Virus-kit, QIAGEN) for *artus* HBV RG PCR-kittet på Rotor-Gene 3000.

Specificitet

Specificiteten for *artus* HBV RG PCR-kittet sikres først og fremmest gennem udvalget af primere og prober samt ved valget af stringente reaktionsbetingelser. Primere og prober blev kontrolleret for mulige homologier med alle sekvenser, der er publiceret i genbanker, med sekvenssammenligningsanalyse. Detektérbarheden for alle relevante genotyper er således sikret ved en databasejustering og ved en PCR-kørsel på Rotor-Gene-instrumenter med følgende genotyper (se tabel 1).

Tabel 1. Testning af relevante genotypers specificitet

Virus	Genotype	Kilde	HBV (Cycling Green eller A.FAM)	Intern kontrol (Cycling Yellow eller A. JOE)
HBV	A (USA)	Teragenix*	+	+
HBV	B (Indonesien)	Teragenix	+	+
HBV	C (Indonesien)	Teragenix	+	+
HBV	C (Venezuela)	Teragenix	+	+
HBV	D (USA)	Teragenix	+	+
HBV	E (Elfenbenskysten)	Teragenix	+	+
HBV	F (Venezuela)	Teragenix	+	+
HBV	G (USA)	Teragenix	+	+
HBV	H (Nicaragua)	Teragenix	+	+

* Teragenix Corporation, Florida, USA.

For yderligere specificitetstestning anvendtes HBV-stammer med kendte sekvensforskelle i pre-core området af HBV-genomet (HBV Pre-Core Mutant Panel, Teragenix, Florida, USA). Alle 9 pre-core mutant-stammer i dette panel kunne detekteres med *artus* HBV RG PCR-kittet.

Desuden blev specificiteten valideret med 100 forskellige HBV-negative plasmaprøver. Disse genererede ikke nogen signaler med HBV-specifikke primerer og prober, som indgår i HBV RG/TM Master.

En potentiel krydsreaktivitet i *artus* HBV RG PCR-kittet blev testet med den kontrolgruppe, der er angivet i tabel 2 (side 13). Ingen af de testede patogener har været reaktive. Der viste sig ingen krydsreaktiviteter ved blandede infektioner.

Lineært område

Det lineære område (analytisk måling) af *artus* HBV RG PCR-kittet blev bestemt ved at analysere en fortyndingsrække af HBV-quantiteringsstandarder over et koncentrationsområde fra 1×10^8 IU/ μ l to 1×10^{-2} IU/ μ l. Fortyndingsrækken blev i forvejen kalibreret imod WHO 1st International HBV DNA Standard.

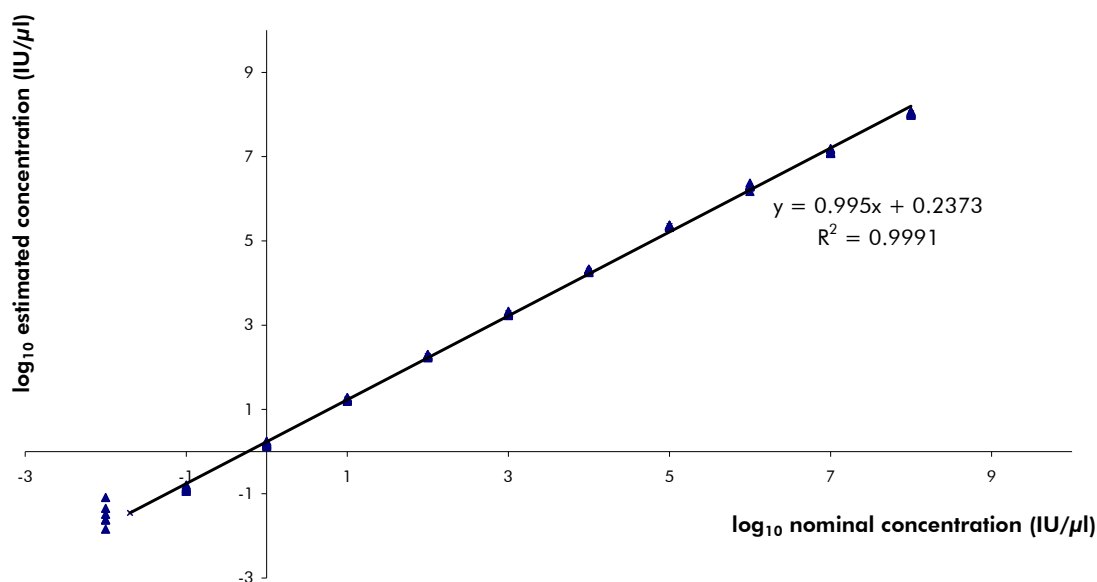
Ethvert fortyndingstrin blev testet i replikater (n = 8 for koncentrationer $\geq 1 \times 10^0$ IU/ μ l, n = 16 for koncentrationer $< 1 \times 10^0$ IU/ μ l) med *artus* HBV RG PCR-kittet på Rotor-Gene-instrumenter.

Tabel 2. Testning af kittets specificitet med potentielt krydsreaktive patogener

Kontrolgruppe	HBV (Cycling Green eller Cycling A.FAM)	Intern kontrol (Cycling Yellow eller A. JOE)
Humant herpesvirus 1 (Herpes-simplex-virus 1)	–	+
Humant herpesvirus 2 (Herpes-simplex-virus 2)	–	+
Humant herpesvirus 3 (Varizella-zoster-virus)	–	+
Humant herpesvirus 4 (Epstein-Barr-virus)	–	+
Humant herpesvirus 5 (Zytomegalovirus)	–	+
Humant herpesvirus 6	–	+
Humant immundefektvirus 1	–	+
Hepatitis A-virus	–	+
Hepatitis C-virus	–	+
Parvovirus B19	–	+
Gul feber virus	–	+
Human T-celleleukæmivirus type 1 og type 2	–	+
Coxsackie virus B3	–	+
Dengue virus 1–4	–	+
<i>Escherichia coli</i>	–	+

Det lineære område af *artus* HBV RG PCR-kittet blev bestemt til at dække koncentrationer fra 0,02 IU/ μ l til minimum 1×10^8 IU/ μ l (figur 2).

Under antagelsen, at QIAamp DSP Virus-kittet benyttes til DNA-ekstraktion, kan *artus* HBV RG TM PCR-kittet omfatte et lineært område fra 1,1 IU/ml til minimum 4×10^9 IU/ml.



Figur 2. Det lineære område af *artus* HBV RG PCR-kittet. Beregning af det lineære område. Den lige linje blev bestemt ved en lineær regression af de beregnede log₁₀-koncentrationer med de nominelle log₁₀-koncentrationer. Formlen for regressionslinjen er medtaget i figuren.

Præcision

artus HBV RG PCR-kit-præcisionsdata tillader bestemmelse af analysens totale varians. Den totale varians består af variabilitet inden for analysen (variabiliteten af flere resultater af prøver med samme koncentration inden for et eksperiment), variabiliteten mellem prøverne (variabiliteten af flere resultater af analysen genereret på forskellige instrumenter af samme type af forskellige operatører inden for et laboratorium) og variabiliteten mellem batches (variabiliteten af flere resultater af analysen ved brug af forskellige batches). De opnåede data blev brugt til at bestemme standardafvigelsen, variansen og variationskoefficienten for den patogenspecifikke og den interne kontrol-PCR.

Disse præcisionsdata blev bestemt for *artus* HBV RG PCR-kittet på baggrund af kvantiteringsstandarder med den laveste koncentration (QS 5; 10 IU/ μ l). Testningen blev foretaget med 8 replikater. Præcisionsdata blev beregnet på basis af C_T-værdierne af amplifikationskurverne (C_T: tærskelcyklus, se tabel 3, side 15). Desuden blev præcisionsdata for kvantitative resultater i IU/ μ l bestemt

ved hjælp af de tilsvarende C_T -værdier (tabel 4). Baseret på disse resultater er den samlede statistiske spredning af enhver given prøve med den nævnte koncentration 1,29 % (C_T) eller 8,99 % (koncentration) og 1,87 % (C_T) for detektion af den interne kontrol. Disse værdier er baseret på den samlede mængde af alle enkelte værdier for de bestemte variabiliteter.

Tabel 3. Præcisionsdata på basis af C_T -værdierne

	Standardafvigelse	Varians	Variationskoefficient (%)
Variabilitet inden for analysen: HBV RG/TM QS 5	0,09	0,01	0,32
Variabilitet inden for analysen: Intern kontrol	0,10	0,01	1,06
Variabilitet mellem analyser: HBV RG/TM QS 5	0,14	0,02	0,49
Variabilitet mellem analyser: Intern kontrol	0,29	0,08	1,00
Variabilitet mellem batches: HBV RG/TM QS 5	0,38	0,15	1,39
Variabilitet mellem batches: Intern kontrol	0,62	0,39	2,23
Total varians: HBV RG/TM QS 5	0,36	0,13	1,29
Total varians: Intern kontrol	0,52	0,27	1,87

Tabel 4. Præcisionsdata på basis af de kvantitative resultater (i IU/ μ l)

	Standardafvigelse	Varians	Variationskoefficient (%)
Variabilitet inden for analysen: HBV RG/TM QS 5	0,93	0,87	9,28
Variabilitet mellem analyser: HBV RG/TM QS 5	0,79	0,63	7,92
Variabilitet mellem batches: HBV RG/TM QS 5	1,03	1,05	10,21
Total varians: HBV RG/TM QS 5	0,90	0,81	8,99

Robusthed

Kontrol af robustheden bruges til bestemmelsen af den samlede udskillelsesrate for *artus* HBV RG PCR-kittet. For at verificere robustheden fik 100 HBV-negative plasmaprøver tilsat 0,05 IU/ μ l elueringsvolumen HBV-kontrol-DNA (cirka tre gange koncentrationen af den analytiske sensitivitetsgrænse). Efter oprensningen med QIAamp DSP Virus-kittet (se "DNA-isolering", side 21) blev disse prøver analyseret med *artus* HBV RG PCR-kittet. Fejlraten for HBV udgjorde for alle prøver 0%. Robustheden af den interne kontrol blev yderligere kontrolleret gennem oprensning og analyse af 100 HBV negative plasmaprøver. Den samlede udskillelsesrate udgjorde 0%. Der blev ikke observeret nogen hæmninger. Dermed er robustheden for *artus* HBV RG PCR-kittet \geq 99 %.

Reproducerbarhed

Dataene for reproducerbarheden registreres for at kunne foretage en regelmæssig vurdering af effekten af *artus* HBV RG PCR-kittet samt for en

sammenligning med effekten af andre produkter. Disse data indhentes ved deltagelse i standardiserede præstationsprogrammer.

Diagnostisk evaluering

artus HBV RG PCR-kittet blev sammenlignet med COBAS® TaqMan® HBV Assay i et studie af to uafhængige testlaboratorier. Der blev undersøgt 287 retrospektive og prospektive plasmaprøver.

HBV-DNA'et til test af *artus* HBV RG PCR-kittet blev isoleret ved hjælp af QIAamp DSP Virus-kittet, og analysen blev udført på Rotor-Gene 3000-instrumentet. Til sammenlignende test med COBAS TaqMan HBV Assay blev HBV-DNA isoleret ifølge producentens anvisninger i indlægssedlen. De resultater, der blev opnået med *artus* HBV RG PCR-kittet, blev sammenlignet med resultaterne af COBAS TaqMan HBV Assay.

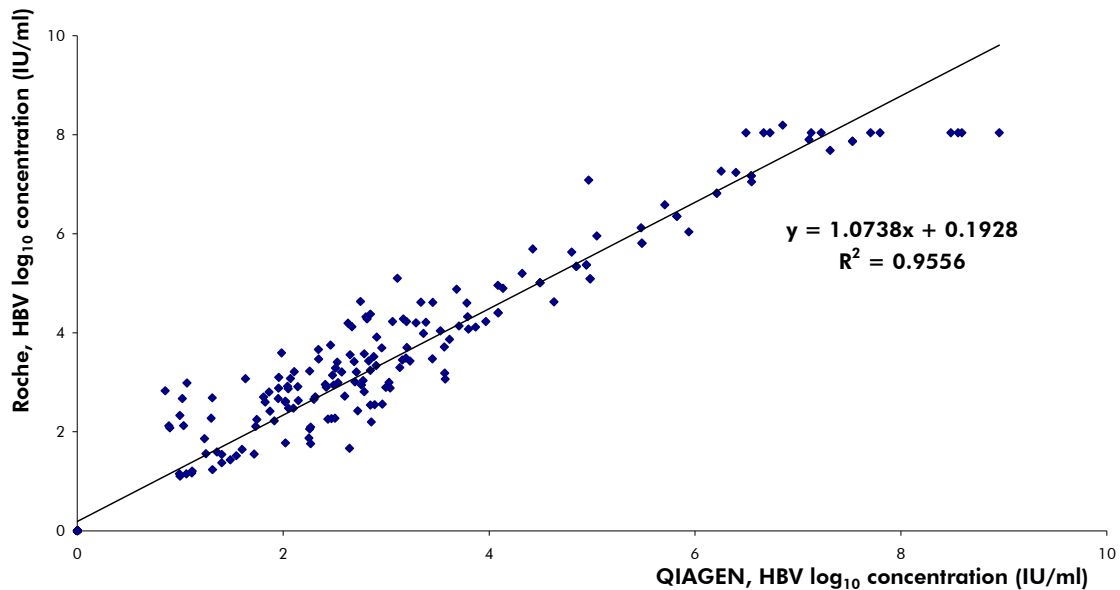
Til sammenligning med resultaterne fra COBAS TaqMan HBV Assay som referenceassay kunne der bestemmes en diagnostisk sensitivitet for *artus* HBV RG PCR-kittet på 100 % og en diagnostisk specificitet på 97 % for totaliteten af alle plasmaprøver. Resultaterne er gengivet i tabel 5.

Tabel 5. Resultater af det sammenlignende valideringsstudie.

		COBAS TaqMan HBV Assay		
		+	-	Samlet
<i>artus</i> HBV RG PCR-kit	+	186	3	189
	-	0	98	98

Yderligere test af de tre diskrepante prøver bekræftede resultaterne af *artus* HBV RG PCR-kittet. Det kan derfor antages, at diskrepansen er betinget af den højere sensitivitet af *artus* HBV RG PCR-kittet.

Korrelationen af de kvantitative resultater af begge testsystemer blev analyseret ved hjælp af en lineær regression. Resultaterne af begge kit er vist til sammenligning i figur 3.



Figur 3. Sammenligning af COBAS TaqMan HBV Assay (Roche, HBV; med prøveoprensning med High Pure system) med artus HBV RG PCR-kittet (QIAGEN, HBV; med prøveoprensning med QIAamp DSP Virus-kittet). Korrelationen af de kvantitative resultater af begge testsystemer (tabel 5) blev analyseret ved hjælp af en lineær regression. Resultaterne fra begge kit er vist i et XY-diagram (spredningsdiagram) med log-log-skala.

Udstyr og reagenser, der skal leveres af bruger

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, éngangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der findes mere information i de tilhørende sikkerhedsdatablade (material safety data sheets, SDSs), som kan fås hos den pågældende leverandør.

- DNA-isoleringskit (se "DNA-isolering", side 21)
- Pipetter (justerbare)*
- Sterile pipettespidser med filtre
- Vortex-mixer*
- Bordcentrifuge* med rotor til 2 ml reagensglas
- Rotor-Gene Q- eller Rotor-Gene-instrument* med fluorescenskanaler til Cycling Green og Cycling Yellow eller med fluorescenskanaler til Cycling A.FAM og Cycling A.JOE
- Rotor-Gene Q softwareversion 1.7.94 (Rotor-Gene 6000 softwareversion 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94, Rotor-Gene 3000 softwareversion 6.0.23) eller nyere
- Striprør og hætter, 0,1 ml til brug med 72-brøndsrotor (katalognr. 981103 eller 981106)
- Alternativt: PCR-rør, 0,2 ml, til brug med 36-brøndsrotor (katalognr. 981005 eller 981008)
- Køleblok (påfyldningsblok 72 x 0,1 ml rør, katalognr. 9018901, eller påfyldningsblok 96 x 0,2 ml rør, katalognr. 9018905)

* Sørg for, at instrumenterne regelmæssigt kontrolleres og kalibreres efter producentens anvisninger.

Vigtige bemærkninger

Almene forsigtighedsregler

Brugeren skal altid være opmærksom på følgende:

- Brug sterile pipettespidser med filtre.
- Positivt materiale (prøver, positive kontroller, amplifikater) skal opbevares og oprenses adskilt fra de øvrige reagenser og tilsættes reaktionsblandingen i et separat rum.
- Optø alle komponenter grundigt ved stuetemperatur (15–25 °C), før en analyse påbegyndes.
- Når komponenterne er optøet, blandes de (ved at pipettere op og ned flere gange eller med en pulsvortexblanding) og centrifugeres kort.
- Arbejd hurtigt, og hold PCR-komponenterne på is eller i køleblokken (72/96-brønds påfyldningsblok).

Prøveindsamling, opbevaring og transport

- ⓘ Alle prøver skal behandles som potentielt infektiøst materiale.
- ⓘ Hidtil foreliggende data viser, at EDTA- eller citrat-plasma er de prøvematerialer, som er bedst egnede til detektion af HBV. Vi anbefaler derfor, at disse materialer anvendes med *artus* HBV RG PCR-kittet.

Den interne validering af *artus* HBV RG PCR-kittet blev gennemført med EDTA-plasma. Andre prøvematerialer er ikke valideret. De bedes udelukkende anvende det anbefalede DNA-isolerings-kit (se "DNA-isolering", side 21).

*Ved brug af visse prøvematerialer skal specifikke vejledninger vedrørende indsamling, transport og opbevaring skal nøje overholdes.

Prøveudtagning

Enhver blodprøve forårsager en skade på blodkar (arterier, vener, kapillærer). Der bør kun anvendes uskadeligt og sterilt materiale. Til udtagning af blodprøver findes der egnede engangsmaterialer. Til venepunkturen må der ikke benyttes for fine kanyler. Udtagning af venøst blod skal ske i passende dele af albuebøjningen, underarmen eller håndryggen. Blod skal udtages med standard prøverør (rød hætte, Sarstedt eller tilsvarende rør fra anden producent). Der skal udtages et volumen på 5–10 ml EDTA blod. Rørene skal blandes højt oppe direkte efter prøveudtagningen (8 x, må ikke omrystes).

- ⓘ Prøver fra hepariniserede personer må ikke anvendes (se "Forstyrrende substanser", nedenfor).

Opbevaring af prøver

Fuldblod skal separeres i plasma og cellulære komponenter ved centrifugering i 20 minutter ved 800–1600 x g inden for 6 timer. Det isolerede plasma skal overføres til sterile polypropylenrør. Analysens følsomhed kan reduceres, hvis prøverne rutinemæssigt fryses eller opbevares i længere tid. Virus-indkapslet DNA er stabilt i dage, hvis det opbevares ved 4°C, i uger hvis det opbevares ved –20°C, og endog i måneder og år, hvis det opbevares ved –70°C.*

Transport af prøver

Prøvemateriale skal principielt transporteres i en knusningssikker transportbeholder. Dermed kan en potentiel infektionsfare som følge af udlækkende prøvemateriale undgås. Prøverne skal transporteres efter de gyldige lokale og statslige forskrifter vedrørende transporten af sygdomsfremkaldende stoffer.†

Prøverne skal afsendes inden for 6 timer. Vi anbefaler ikke, at prøven opbevares på afgangsstedet. Det er muligt at sende prøverne med post i henhold til de lovbefalede vejledninger i transport af patogen materiale. Vi anbefaler, at prøven transporteres med kurer. Blodprøverne skal sendes på køl (2–8 °C) og separeret plasma i dybfrossen tilstand (–15 til –30 °C).

Forstyrrende substanser

Forhøjede bilirubin- (≤ 15 mg/dl) og lipidværdier (≤ 800 mg/dl) såvel som hæmolytiske prøver påvirker ikke systemet. Heparin (≥ 10 IE/ml) påvirker PCR. Prøver, der er indsamlet i rør, der indeholder heparin som antikoagulant, bør ikke anvendes. Prøver fra hepariniserede patienter må heller ikke anvendes.

DNA-isolering

QIAamp DSP Virus-kittet (QIAGEN, kat. nr. 60704) er valideret til viral DNA-oprensning fra humant plasma til brug sammen med *artus* HBV RG PCR-kittet. Udfør den virale DNA-oprensning i henhold til anvisningerne i *HÝndbog til QIAamp DSP Virus Spin-kit*.

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

† International Air Transport Association (Den internationale lufttransport-sammenslutning) (IATA). Dangerous Goods Regulations (Regler vedrørende transport af farligt gods).

i Anvendelsen af carrier-RNA er af afgørende betydning for oprensningens effektivitet og dermed for DNA-/RNA-udbyttet. For at opnå en højere stabilitet af den i QIAamp DSP Virus Kit vedlagte carrier-RNA bør angivelserne for rekonstruktion og opbevaring af carrier-RNA i brugsanvisningen ("Preparing reagents and buffers") følges.

i Den interne kontrol til *artus* HBV RG PCR-kittet kan bruges direkte i isoleringsproceduren (se "Intern kontrol", nedenfor). Sørg for at medføre en negativ plasmaprøve i oprensningen. Signalet af den deri indeholdte interne kontrol er grundlaget for oprensningens vurdering.

Intern kontrol

Der vedlægges en intern kontrol (HBV RG/TM IC). Dette giver brugeren mulighed for både at kontrollere DNA-isoleringsproceduren og kontrollere for mulig PCR-hæmning. Til denne anvendelse tilsættes den interne kontrol i et forhold, der svarer til 0,1 μ l pr. 1 μ l elueringsvolumen til oprensningen. Ved brug af f.eks. QIAamp DSP Virus-kittet elueres DNA'et i 60 μ l elueringsbuffer (AVE). Derfor bør 6 μ l af den interne kontrol tilsættes initialt. Mængden af den anvendte interne kontrol er kun afhængig af elueringsvolumenet.

i Den interne kontrol og carrier-RNA (se "DNA-isolering", side 21) bør kun tilsættes blandingen af lysisbuffer og prøvemateriale eller direkte til lysisbufferen.

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

i Pipetter ikke den interne kontrol og carrier-RNA direkte i prøvematerialet.

For at kunne vurdere en oprensning som en succes skal C_T -værdien af den interne kontrol af en negativ plasmaprøve, der er behandlet under oprensningen (QIAamp DSP Virus-kit), ligge ved $C_T = 29 \pm 3$ (tærskel: 0,03) på Rotor-Gene Q-instrumenter. Den angivne spredning betinges af apparaternes og oprensningernes varians. En højere afvigelse tyder på problemer med oprensningen. I dette tilfælde skal denne kontrolleres og I givent tilfælde valideres igen. Hvis der skulle opstå yderligere spørgsmål eller problemer, kontakt da venligst QIAGENs tekniske service.

Alternativt kan den interne kontrol anvendes udelukkende til kontrol af en mulig PCR-inhibition. Til denne anvendelse tilsættes den interne kontrol direkte til HBV RG/TM Master som beskrevet i trin 2b i protokollen (side 25).

Indstilling af tærsklen for PCR-analysen

De optimale tærskelindstillinger for en given kombination af Rotor-Gene Q-instrumentet og *artus* RG PCR-kittet skal sættes empirisk ved at teste hver individuel kombination, eftersom det er en relativ værdi, afhængig af den generelle diagnostiske arbejdsgang. Som udgangspunkt kan tærsklen indstilles på en præliminær værdi på 0,04 til analysen af den første PCR-kørsel, men denne værdi skal finindstilles i en komparativ analyse af de næste kørsler af arbejdsgangen. Tærsklen skal indstilles manuelt lige over baggrundssignalet for de negative kontroller og negative prøver. Tærskelmiddelværdien, som beregnes ud fra disse eksperimenter, vil sandsynligvis fungere for de fleste kørsler, men brugeren skal alligevel gennemgå den genererede tærskelværdi med jævne mellemrum. Tærskelværdien vil sædvanligvis ligge i intervallet 0,03–0,05 og skal afrundes til højst tre decimaler.

Kvantitering

De vedlagte kvantiteringsstandarder (HBV RG/TM QS 1–5) behandles som en allerede oprenset prøve og anvendes i samme volumen (20 µl). For at generere en standardkurve på Rotor-Gene Q-instrumenter bør alle 5 kvantiteringsstandarder bruges og defineres i dialogboksen "Edit Samples" (Rediger prøver) som standarder med de specificerede koncentrationer (se instrumentets brugervejledning).

i Kvantiteringsstandarderne defineres som IU/µl.* Til omregning af værdierne, der blev udarbejdet på baggrund af standardkurven i IU/ml prøvemateriale, skal følgende formel anvendes:

$$\text{Resultat (IU/ml)} = \frac{\text{Resultat (IU/}\mu\text{l)} \times \text{Elueringsvolumen (}\mu\text{l)}}{\text{Prøvevolumen (ml)}}$$

Det initiale prøvevolumen skal altid indsættes i ovenstående formel. Det skal tages i betragtning, når prøvevolumen ændres før nukleinsyreekstraktionen (f.eks. reduktion af volumenet ved centrifugering eller øgning af volumenet ved at tilsætte det nødvendige volumen til isolationen).

* Standarden er kalibreret ved hjælp af 1st International HBV-standard (WHO).

Protokol: PCR og dataanalyse

i Vigtige anvisninger før start

- Før proceduren påbegyndes, bør "Vigtige bemærkninger", side 20–23 gennemlæses.
- Tag dig tid til at lære Rotor-Gene Q at kende, før du starter protokollen. Se brugervejledningen til instrumentet.
- Sørg for, at mindst en kvantiteringsstandard og en negativ kontrol (vand, PCR-kvalitet) er med i hver PCR-kørsel. For at generere en standardkurve bruges alle 5 kvantiteringsstander, der medfølger (HBV, RG/TM QS 1–5) for hver PCR-kørsel.

Ting, der skal gøres før start

- Sørg for, at køleblokken (tilhører til Rotor-Gene Q-instrumentet) er forkølet til 2–8°C.
- Alle reagenser skal, inden testen startes, optøs fuldstændigt ved stuetemperatur, blandes godt (gentagen pipettering eller kort vortexen) og centrifugeres kort.

Procedure

1. Anbring det ønskede antal PCR-rør i køleblokkens adaptere.
2. Hvis De anvender den interne kontrol til at monitorere oprensningen af DNA og til at kontrollere en eventuel inhibition af PCR, følges trin 2a. Hvis De kun anvender den interne kontrol til at kontrollere en inhibition af PCR, følges trin 2b.
 - 2a. Den interne kontrol er allerede tilsat oprensningen (se "Intern kontrol", side 22). I dette tilfælde klargøres en Master Mix ifølge tabel 6.

Tabel 6. Klargøring af Master Mix (intern kontrol anvendes til at monitorere DNA-oprensning og kontrollere for hæmning af PCR)

Antal prøver	1	12
HBV RG/TM Master	30 µl	360 µl
HBV RG/TM IC	0 µl	for hver 0 µl*
Totalt volumen	30 µl	for hver 360 µl*

2b. Den interne kontrol skal tilsættes direkte til HBV RG/TM Master. I dette tilfælde klargøres en Master Mix ifølge tabel 7.

Reaktionsblandingen indeholder typisk alle de komponenter, der skal anvendes til PCR, undtagen prøven.

Tabel 7. Klargøring af Master Mix (intern kontrol anvendes kun til at kontrollere for hæmning af PCR)

Antal prøver	1	12
HBV RG/TM Master	30 μ l	360 μ l
HBV RG/TM IC	2 μ l	24 μ l
Totalt volumen	32 μl*	384 μl*

* Volumenforhøjelsen, som opstår på grund af den interne kontrol, er irrelevant. Sensitiviteten for detektionssystemet påvirkes ikke.

3. Pipetter 30 μ l af Master Mix i hvert PCR-rør. Tilsæt derefter 20 μ l af det eluerede prøve-DNA (se tabel 8). Tilsvarende skal 20 μ l af mindst en af kvantiteringsstandarderne (HBV RG/TM QS 1–5) anvendes som positiv kontrol og 20 μ l vand (vand, PCR-kvalitet) som negativ kontrol.

Tabel 8. Opsætning af PCR-reaktion

Antal prøver	1	12
Master-blanding	30 μ l	for hver 30 μ l*
Prøve	20 μ l	for hver 20 μ l*
Totalt volumen	50 μl	for hver 50 μl*

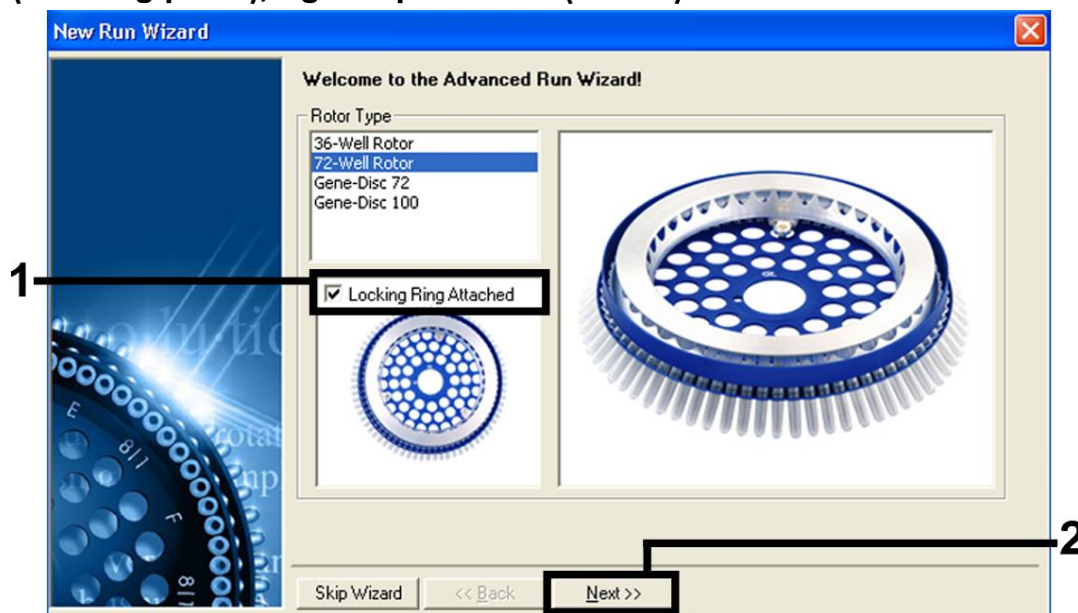
4. Luk PCR-rørene. Sørg for, at låseringen (tilbehør til Rotor-Gene-instrumentet) er placeret oven på rotoren for at forebygge utilsigtet åbning af rørene under kørslen.

5. For detektion af HBV DNA oprettes en temperaturprofil i henhold til de følgende trin.

Indstilling af generelle analyseparametre	Figur 4, 5, 6
Indledende aktivering af hot-start enzymet	Figur 7
Amplifikation af DNA'et	Figur 8
Justering af fluorescenskanalens følsomhed	Figur 9
Start af kørsel	Figur 10

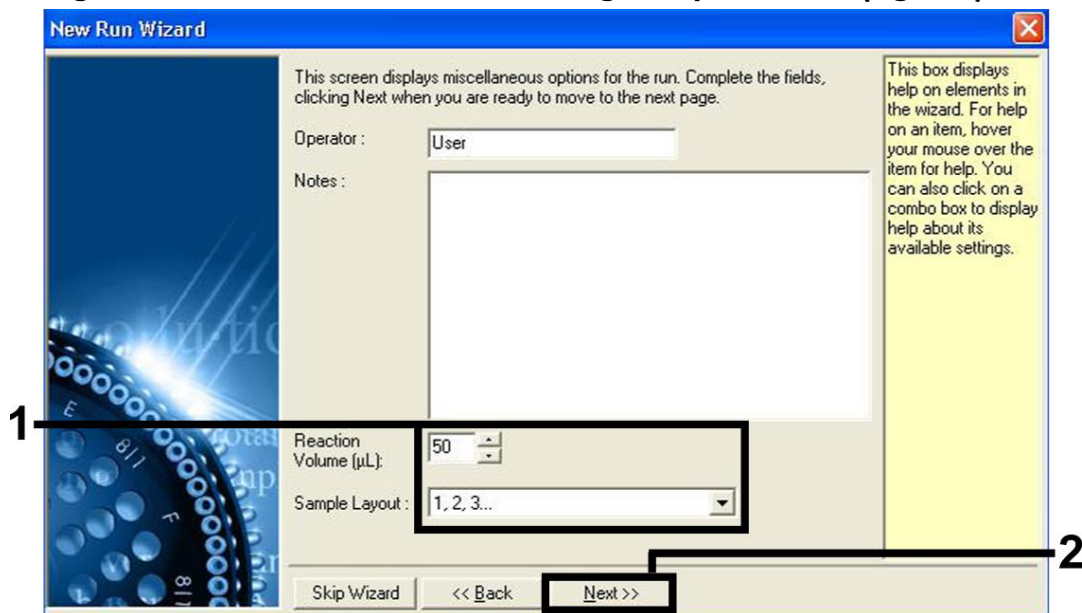
Alle specifikationer henviser til Rotor-Gene Q softwareversion 1.7.94 (Rotor-Gene 6000 softwareversion 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94, Rotor-Gene 3000 softwareversion 6.0.23). Yderligere oplysninger om programmering af Rotor-Gene Q-instrumenter kan ses i instrumentets brugervejledning. I illustrationerne er disse illustrationer indrammet med en fed, sort streg. Der er illustrationer til Rotor-Gene Q-instrumenter. Når der skal anvendes andre værdier til Rotor-Gene 3000, er forskellene beskrevet i teksten.

6. Åbn først dialogboksen "New Run Wizard" (Hjælp til ny kørsel) (Figur 4). Marker afkrydsningsfeltet "Locking Ring Attached" (Låsering påsat), og klik på "Next" (Næste).



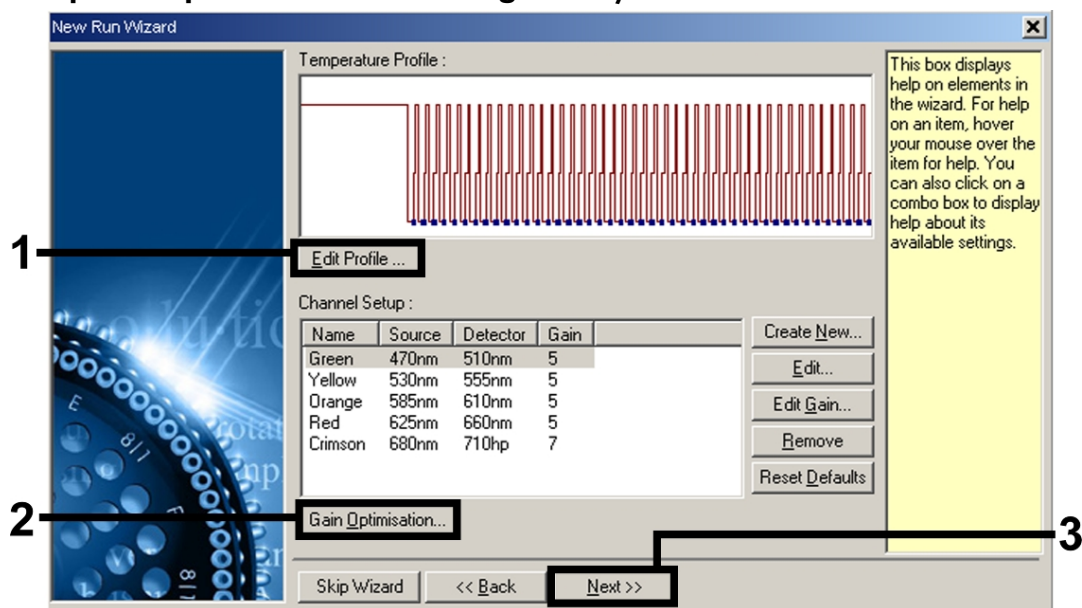
Figur 4. Dialogboksen "New Run Wizard".

7. Vælg 50 for PCR-reaktionsvolumen, og klik på "Next" (figur 5).

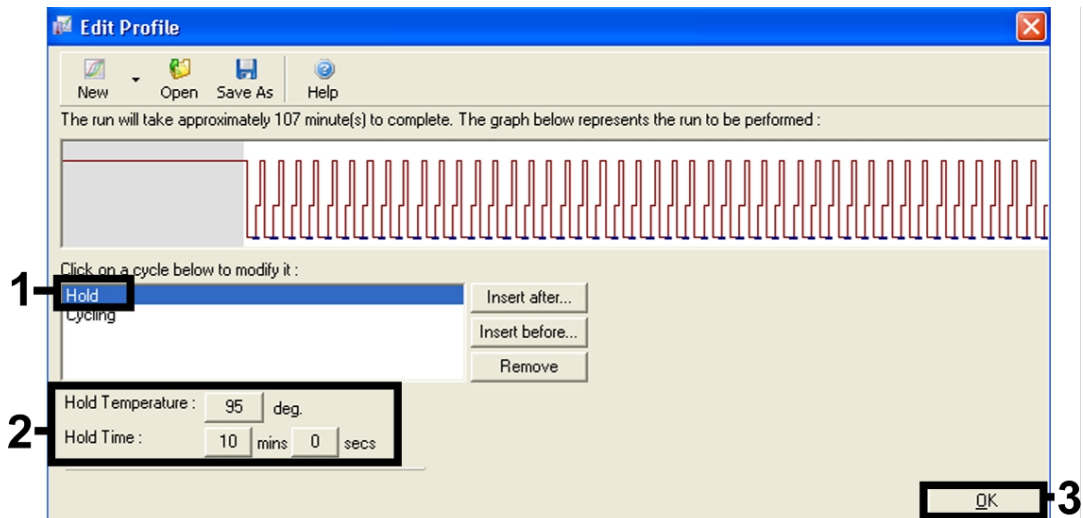


Figur 5. Indstilling af generelle analyseparametre.

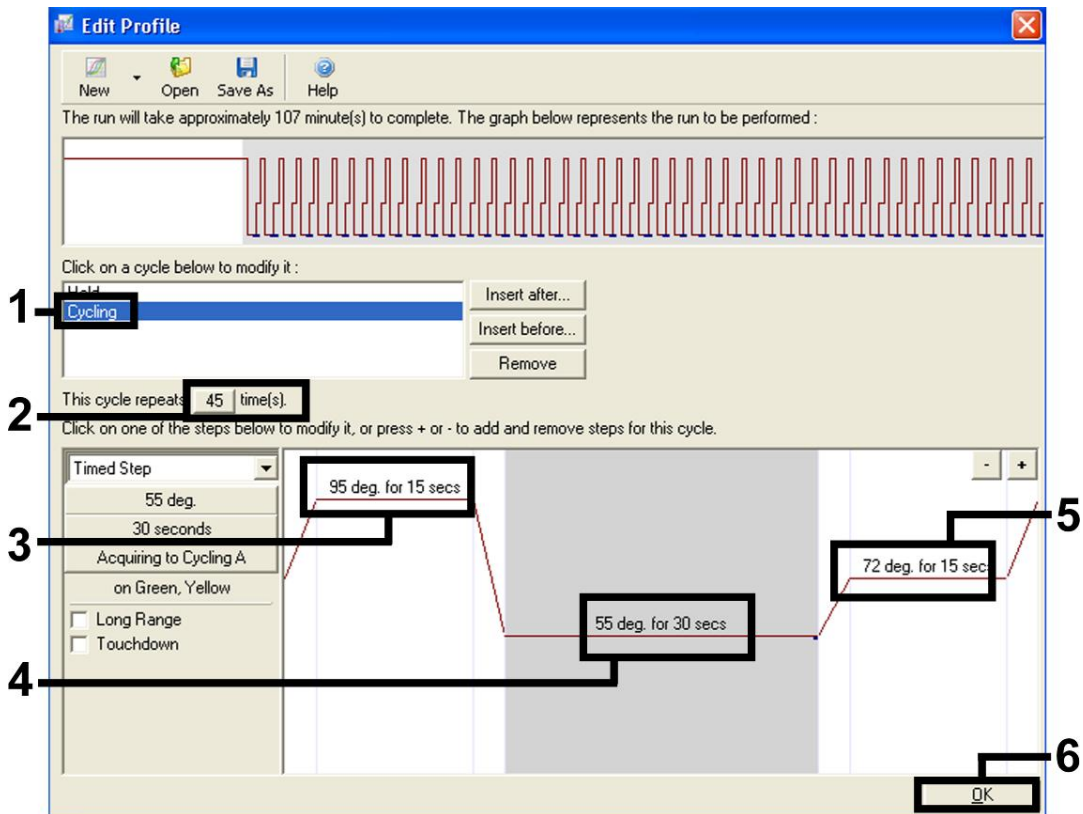
8. Klik på knappen "Edit Profile" (Regiger profil) i den næste dialogboks "New Run Wizard" (Figur 6) og programmer temperaturprofilen som vist i Figur 6-8).



Figur 6. Redigering af profilen.



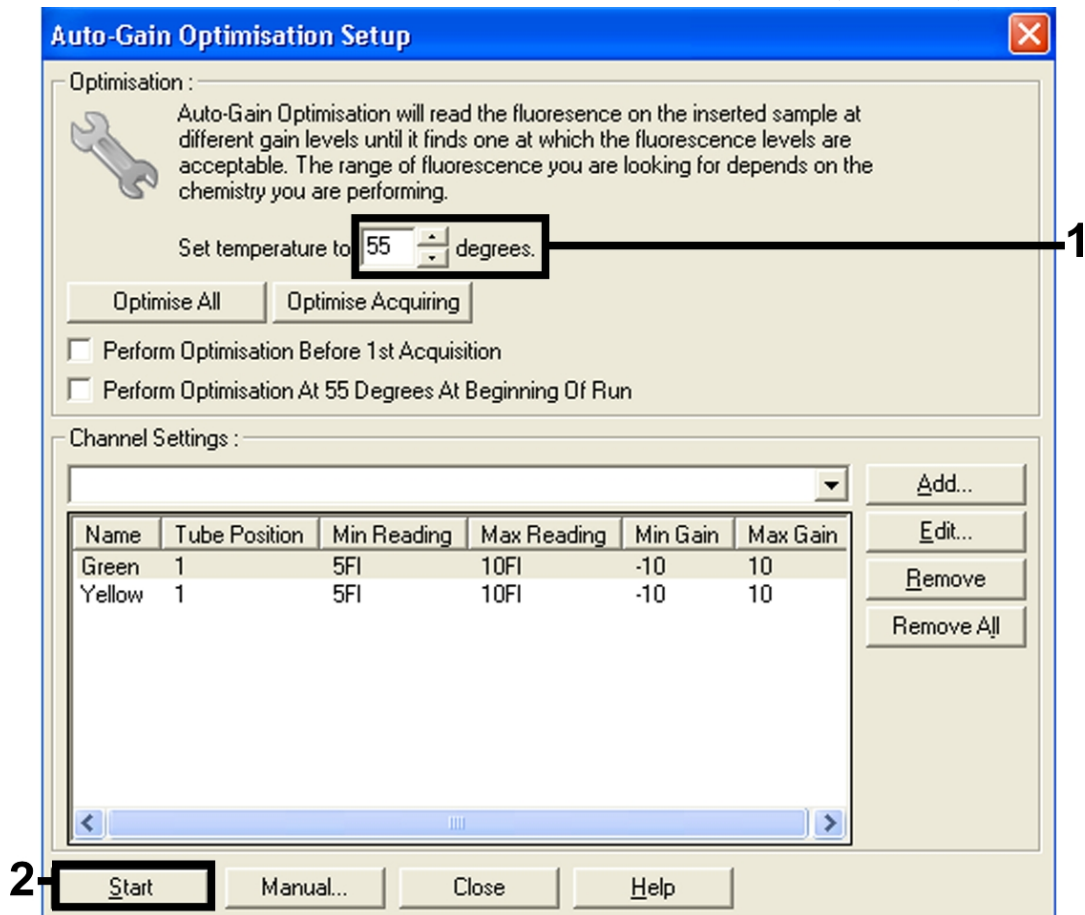
Figur 7. Indledende aktivering af hot-start enzymet.



Figur 8. Amplifikation af DNA'et. Bemærk, at softwaren på Rotor-Gene 3000 vil definere fluorescensfarver som "FAM/Sybr, JOE".

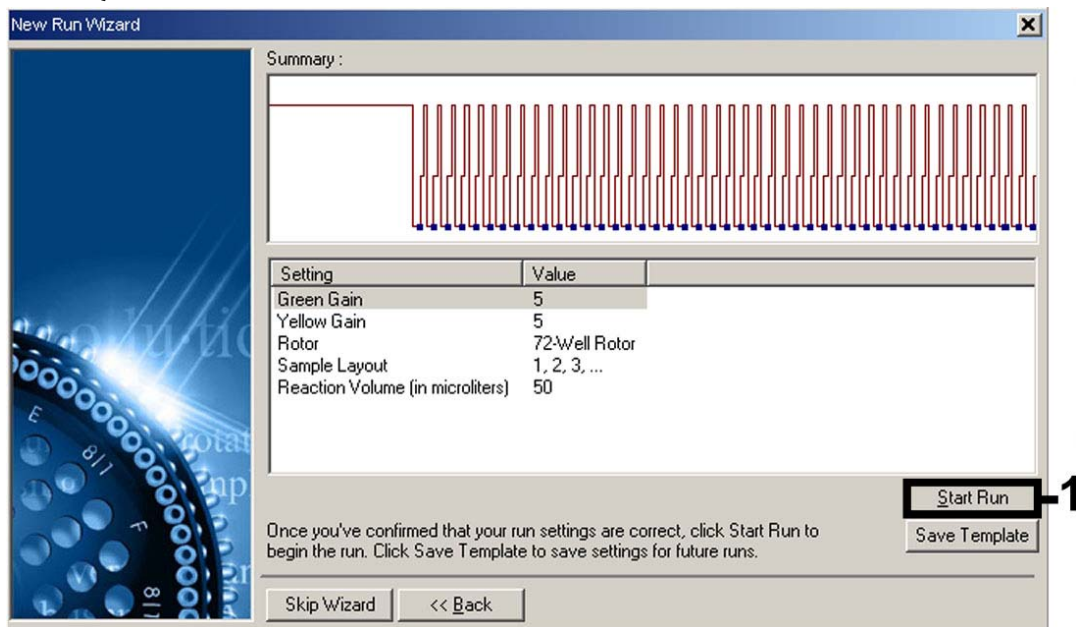
9. **Detektionsområdet for fluorescenskanalerne skal bestemmes i henhold til fluorescensintensiteterne i PCR-rørene. Klik på "Gain-Optimisation" (Gain-optimering) i dialogboksen "New Run Wizard" (se figur 6) for at åbne dialogboksen "Auto-Gain Optimisation Setup" (Opsætning af automatisk gain-optimering). Indstil**

kalibreringstemperaturen til 55 for at matche
amplifikationsprogrammets afhærdningstemperatur (Figur 9).



Figur 9. Justering af fluorescenskanalens følsomhed. Bemærk, at softwaren på Rotor-Gene 3000 vil definere fluorescensfarver som "FAM/Sybr" og "JOE".

- 10. Gain-værdierne, der bestemmes af kanalkalibreringen, gemmes automatisk og angives i det sidste menuvindue i programmeringsproceduren (figur 10). Klik på "Start Run" (Start kørsel).**



Figur 10. Start kørslen. Bemærk, at softwaren på Rotor-Gene 3000 vil definere fluorescensfarver som "FAM/Sybr" og "JOE".

- 11. Når kørslen er færdig, analyseres data. Følgende resultater (11a, 11b og 11c) er mulige.**

Eksempler på positive og negative PCR-reaktions er givet i Figur 11 og Figur 12.

- 11a. Der er detekteret et signal i fluorescenskanalen Cycling Green. Analysens resultat er positivt: prøven indeholder HBV DNA.**

I så tilfælde er detektion af et signal i kanalen Cycling Yellow unødvendigt, idet høje initiale koncentrationer af HBV DNA (positivt signal i Cycling Green-kanalen) kan medføre reducedret eller manglende fluorescenssignal af den interne kontrol i Cycling Yellow-kanalen (konkurrence).

i Bemærk, at de relevante kanaler på Rotor-Gene 3000 er Cycling A.FAM for det positive signal og Cycling A.JOE for den interne kontrol.

11b. Der er ikke detekteret noget signal i fluorescenskanalen Cycling Green. Samtidig vises et signal fra den interne kontrol i Cycling Yellow-kanalen.

Intet HBV DNA kan detekteres i prøven. Den kan betragtes som negativ.

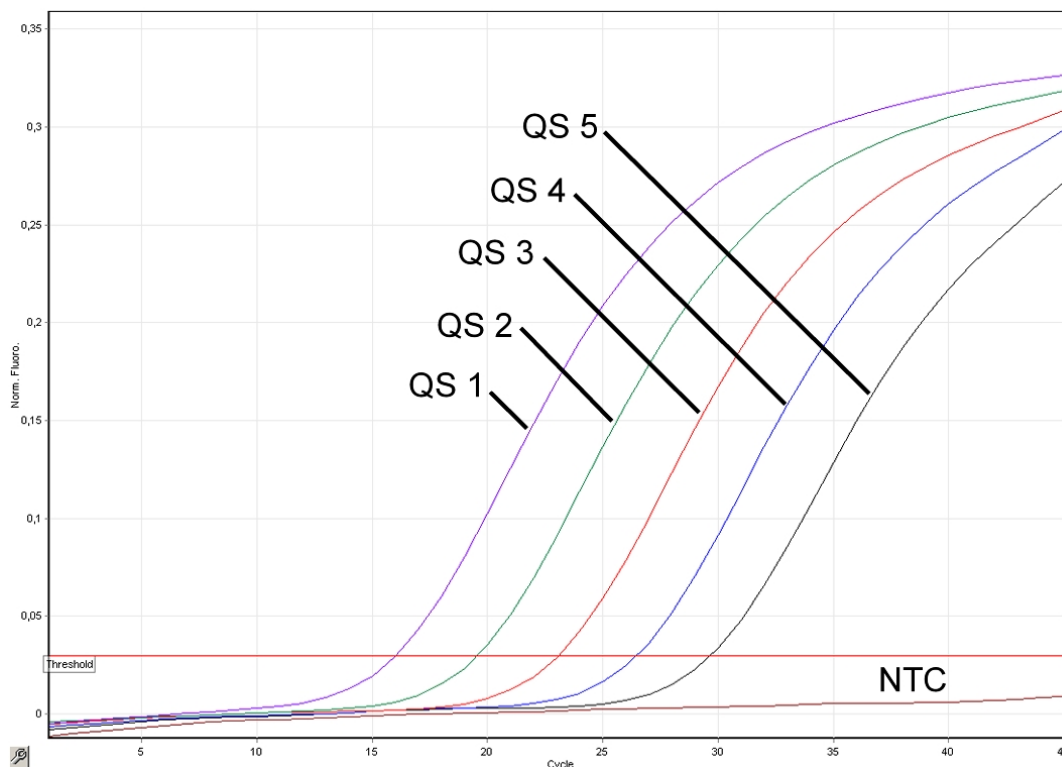
I tilfælde af en negativ HBV PCR udelukker det detekterede signal af den interne kontrol muligheden for PCR-hæmning.

i Bemærk, at de relevante kanaler på Rotor-Gene 3000 er Cycling A.JOE for den interne kontrol og intet signal for Cycling A.FAM.

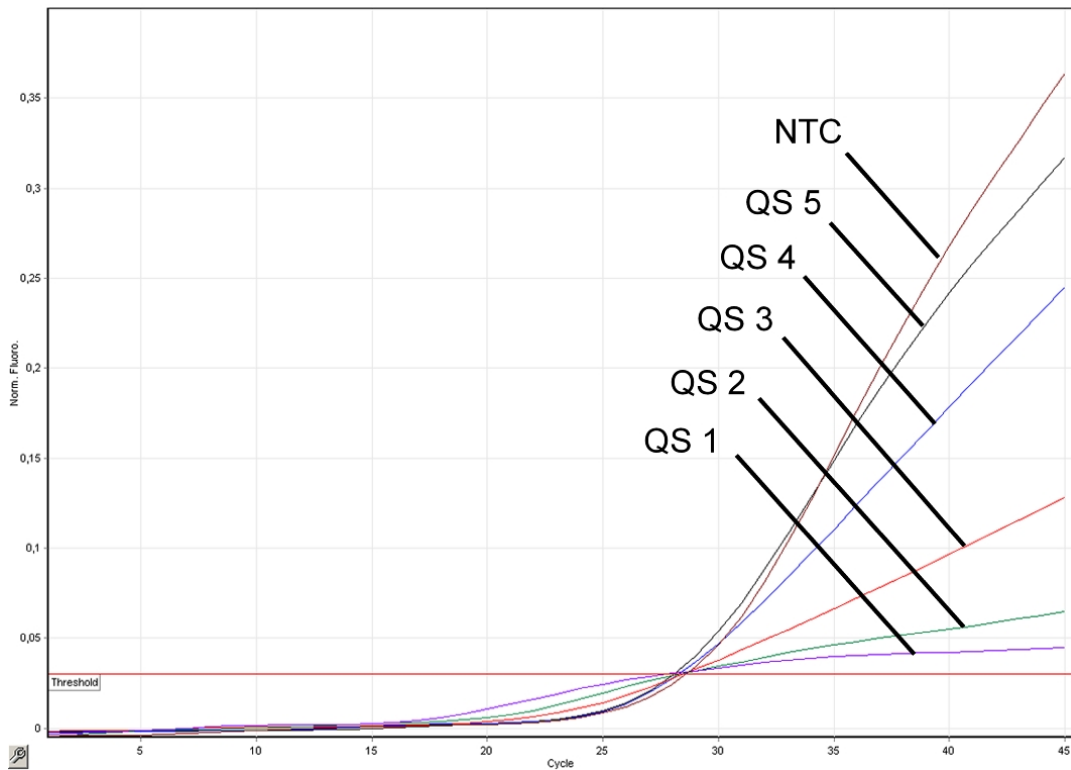
11c. Intet signal detekteret i Cycling Green- eller Cycling Yellow-kanalen. Der kan ikke udledes noget resultat.

Information vedrørende fejlkilder og deres løsning kan findes i "Fejlfindingsvejledning", side 33.

i Bemærk, at de relevante kanaler på Rotor-Gene 3000 er Cycling A.FAM og Cycling A.JOE.



Figur 11. Detektion af kvantiteringsstandarderne (HBV RG/TM QS 1–5) i fluorescenskanalen Cycling Green. NTC: Ingen skabelonkontrol (negativ kontrol).



Figur 12. Detektion af den interne kontrol (IC) i fluorescenskanalen Cycling Yellow med samtidig amplifikation af kvantiteringsstandarderne (HBV RG/TM QS 1-5). NTC: Ingen skabelonkontrol (negativ kontrol).






Fejlfindingsvejledning

I denne fejlfindingsvejledning kan der findes brugbare henvisninger, som kan hjælpe ved løsningen af eventuelle problemer. Der findes desuden flere informationer på siden "Frequently Asked Questions" [Hyppigt stillede spørgsmål] hos vores tekniske supportcenter:

www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Derudover svarer personalet fra QIAGENS tekniske service gerne på spørgsmål vedrørende informationen og protokollerne i denne håndbog eller prøve- og analyseteknologier (kontaktinformation: se bagsiden, eller besøg www.qiagen.com).

Kommentarer og forslag

Intet signal ved positive kontroller (HBV RG/TM QS 1–5) i fluorescenskanal Cycling Green eller Cycling A.FAM

- | | |
|---|---|
| a) Den valgte fluorescenskanal for PCR-dataanalyse stemmer ikke overens med protokollen |  Ved dataanalyse vælges fluorescenskanalen Cycling Green eller Cycling A.FAM til analytisk HBV PCR og fluorescenskanalen Cycling Yellow eller Cycling A.JOE til den interne kontrol PCR. |
| b) Ukorrekt programmering af temperaturprofilen for Rotor-Gene-instrument |  Sammenlign temperaturprofilen med protokollen. Se "Protokol: PCR og dataanalyse", side 24. |
| c) Ukorrekt konfiguration af PCR |  Kontrollér Deres arbejdsstrin ved hjælp af pipetteringsskemaet, og gentag i givet fald PCR'en. Se "Protokol: PCR og dataanalyse", side 24. |
| d) Opbevaringsbetingelserne for en eller flere kitkomponenter var ikke i overensstemmelse med de instruktioner, der er angivet i "Opbevaring", (side 7) |  Kontroller opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit. |
| e) <i>artus</i> HBV RG PCR-kit er udløbet |  Kontroller opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit. |

Kommentarer og forslag

Svagt eller intet signal fra den interne kontrol af en negativ plasmaprøve underkastet oprensning med QIAamp DSP Virus-kit ($C_T = 29 \pm 3$, tærskel, 0,03) i fluorescenskanalen Cycling Yellow eller Cycling A.JOE og samtidigt fravær af signal i kanalen Cycling Green eller Cycling A.FAM

- a) PCR-betingelserne stemmer ikke overens med protokollen ① Kontroller PCR-betingelserne (se ovenfor), og gentag om nødvendigt PCR med korrigerede indstillinger.
- b) PCR blev hæmmet ① Sørg for, at De bruger den anbefalede isoleringsmetode og følger producentens vejledning nøje.
- c) DNA gik tabt under ekstraktionen ① Hvis den interne kontrol er tilsat til ekstraktionen, kan et manglende signal fra den interne kontrol være tegn på tab af DNA under ekstraktionen. Sørg for, at De bruger den anbefalede isoleringsmetode (se "DNA-isolering", side 21) og følger producentens vejledning nøje.
- d) Opbevaringsbetingelserne for en eller flere kitkomponenter var ikke i overensstemmelse med de instruktioner, der er angivet i "Opbevaring", (side 7) ① Kontroller opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit.
- e) *artus* HBV RG PCR-kit er udløbet ① Kontroller opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit.

Kommentarer og forslag

Signaler med de negative kontroller i fluorescenskanalen Cycling Green eller Cycling A.FAM eller i den analytiske PCR

- a) Kontamination under klargøring af PCR
- ① Gentag PCR med de nye reagenser i replika.
 - ① Luk om muligt PCR-rørene umiddelbart efter tilsætning af den prøve, der skal testes.
 - ① Positiv-kontrollerne skal pipetteres til sidst.
 - ① Sørg for, at arbejdspladsen og instrumenterne dekontamineres jævnligt.
- b) Der forekom kontamination under ekstraktion
- ① Gentag ekstraktion og PCR for den prøve, der skal testes, med nye reagenser.
 - ① Sørg for, at arbejdspladsen og instrumenterne dekontamineres jævnligt.

Litteraturhenvisninger

QIAGEN vedligeholder en stor, ajourført onlinedatabase med videnskabelige publikationer, hvor QIAGENS produkter er anvendt. De avancerede søgefunktioner gør det muligt at finde de artikler, du har brug for, enten med en simpel nøgleordssøgning eller ved at angive applikation, forskningsområde, titel osv.

En fuldstændig referenceliste kan fås ved at besøge QIAGENS referencedatabase online på www.qiagen.com/RefDB/search.asp eller kontakte QIAGENS tekniske service eller den lokale forhandler.

Bestillingsinformation

Produkt	Indhold	Kat. nr.
artus HBV RG PCR Kit (24)	Til 24 reaktioner: Master, 5 kvantiteringsstandarder, intern kontrol, vand (PCR-kvalitet)	4506263
artus HBV RG PCR Kit (96)	Til 96 reaktioner: Master, 5 kvantiteringsstandarder, intern kontrol, vand (PCR-kvalitet)	4506265
QIAamp DSP Virus-kit — til oprensning af virale nukleinsyrer fra humant plasma til in vitro-diagnostiske formål		
QIAamp DSP Virus Kit	Til 50 klargøringer: QIAamp MinElute [®] spin-spalter, buffere, reagenser, spaltekstendere og VacConnectors	60704
Rotor-Gene Q MDx — til IVD-valideret PCR-analyse i realtid til klinisk anvendelse		
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Realtids-PCR-cycler med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet), bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Realtids-PCR-cycler med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet), bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Realtids-PCR-cycler og Højopløselig smelteanalysator med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002033

Produkt	Indhold	Kat. nr.
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Realtids-PCR-cycler og Højopløselig smelteanalysator med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9002032
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Realtids-PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grøn, gul, orange, rød, violet), inkl. bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002043
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Realtids-PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grøn, gul, orange, rød, violet), inkl. bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9002042
Rotor-Gene Q MDx 2plex System	Realtids-PCR-cycler med 2 kanaler (grøn, gul), bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002003
Rotor-Gene Q MDx 2plex Platform	Realtids-PCR-cycler og Højopløselig smelteanalysator med 2 kanaler (grøn, gul) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM System	Realtids-PCR-cycler og Højopløselig smelteanalysator med 2 kanaler (grøn, gul) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002013

Produkt	Indhold	Kat. nr.
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM Platform	Realtids-PCR-cycler og Højopløselig smelteanalysator med 2 kanaler (grøn, gul) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9002012
Rotor-Gene Q — for enestående ydeevne i realtids-PCR		
Rotor-Gene Q 5plex System	Realtids-PCR-cycler med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet), bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9001640
Rotor-Gene Q 5plex Platform	Realtids-PCR-cycler med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet), bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9001570
Rotor-Gene Q 5plex HRM System	Realtids-PCR-cycler og Højopløselig smelteanalysator med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9001650
Rotor-Gene Q 5plex HRM Platform	Realtids-PCR-cycler og Højopløselig smelteanalysator med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9001580
Rotor-Gene Q 6plex System	Realtids-PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grøn, gul, orange, rød, violet), inkl. bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9001660

Produkt	Indhold	Kat. nr.
Rotor-Gene Q 6plex Platform	Realtids-PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grøn, gul, orange, rød, violet), inkl. bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9001590
Rotor-Gene Q 2plex System	Realtids-PCR-cycler med 2 kanaler (grøn, gul), bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9001620
Rotor-Gene Q 2plex Platform	Realtids-PCR-cycler og Højopløselig smelteanalysator med 2 kanaler (grøn, gul) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9001550
Rotor-Gene Q 2plex HRM System	Realtids-PCR-cycler og Højopløselig smelteanalysator med 2 kanaler (grøn, gul) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9001630
Rotor-Gene Q 2plex HRM Platform	Realtids-PCR-cycler og Højopløselig smelteanalysator med 2 kanaler (grøn, gul) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør, 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9001560
Rotor-Gene Q-tilbehør		
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Aluminiumsblok til manuel opsætning af reaktion med en etkanalspipette i 72 x 0,1 ml rør	9018901
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Aluminiumsblok til manuel opsætning af reaktion i et standard 8 x 12-array med 96 x 0,2 ml rør	9018905

Produkt	Indhold	Kat. nr.
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 strips a 4 rør og hætter til 1000 reaktioner	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 strips a 4 rør og hætter til 10.000 reaktioner	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 tyndvæggede rør til 1000 reaktioner	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 tyndvæggede rør til 1000 reaktioner	981008

For opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises til den aktuelle QIAGEN-kit-håndbog eller -brugervejledning. QIAGEN kit-håndbøger og brugervejledninger kan findes på www.qiagen.com eller kan rekvireres fra QIAGENs tekniske serviceafdeling eller den lokale leverandør.

Ved købet af dette produkt erhverver brugeren tilladelse til at bruge det til udførelse af diagnostiske serviceydelser til human in vitro-diagnostik. Derved gives intet generelt patent eller nogen anden tilladelse af nogen art ud over denne specifikke brugsret.

Varemærker: QIAGEN®, QIAamp®, artus®, MinElute®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); COBAS®, TaqMan® (Roche Group); FAM™, JOE™, SYBR® (Life Technologies Corporation).

artus HBV RG PCR-kittet og QIAamp DSP Virus-kittet er CE-mærkede diagnostiske kit i overensstemmelse med EU's direktiv om medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik 98/79/EØF. Ikke tilgængeligt i alle lande.

Aftale om begrænset licens

Brug af dette produkt betyder, at enhver køber eller bruger af artus HBV RG PCR-kittet accepterer følgende vilkår:

1. *Artus HBV RG PCR-kittet må kun bruges i overensstemmelse med artus HBV RG PCR-kit-håndbogen, og kun med de komponenter, der følger med kittet. QIAGEN giver ingen licens, under nogen intellektuel ejendomsret, til at bruge eller inkorporere komponenterne i dette kit med komponenter, der ikke er inkluderet i dette kit, undtagen som beskrevet i artus HBV RG PCR-kit-håndbogen og yderligere protokoller, som er tilgængelige på www.qiagen.com.*
2. Ud over de udtrykkeligt givne licenser giver QIAGEN ingen garanti for, at dette kit og/eller brugen af det ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
3. Dette kit og dets komponenter er under licens til engangsbrug og må ikke genbruges, gendannes eller videresælges.
4. QIAGEN afviser specifikt alle andre licenser, udtrykte eller underforståede, end dem, der udtrykkeligt er angivet.
5. Køberen og brugeren af kittet indvilliger i ikke at tage, eller lade andre tage, skridt, der kunne føre til, eller fremme, handlinger, der forbydes ovenfor. QIAGEN kan håndhæve forbuddene i denne begrænsede licensaftale i enhver ret, og vil inddrive alle undersøgelses- og retsomkostninger, herunder advokatsalærer, i ethvert søgsmål for at håndhæve denne begrænsede licensaftale samt alle deres intellektuelle ejendomsrettigheder i forbindelse med kittet og/eller komponenterne deri.

For opdaterede licensbetingelser henvises der til www.qiagen.com.

© 2009–2014 QIAGEN. Alle rettigheder forbeholdes.

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)

