

Наръчник за *artus*[®] HBV RG PCR Кит



24 (каталожен номер 4506263)



96 (каталожен номер 4506265)

Версия 1

IVD

Количествено определяне за ин витро диагностична употреба

Да се използва с Rotor-Gene[®] Q инструменти



REF

4506263, 4506265



1046920BG



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ГЕРМАНИЯ

R4

MAT

1046920BG



QIAGEN Иновативни технологии за експериментален анализ

QIAGEN е водещ доставчик на иновативни технологии за експериментален анализ, предоставящ възможности за изолиране и определяне съдържанието на биологични проби от всякакъв произход. Нашите модерни, висококачествени продукти и услуги гарантират успех от пробата до самия резултат.

QIAGEN поставя стандарти за:


- Пречистване на ДНК, РНК и протеини
- Анализ на нуклеинови киселини и белтъци
- Микро РНК изследвания и РНК интерференция
- Автоматизация на експерименталните технологии

Мисията ни е да ви помогнем да постигнете изключителни успехи и научни постижения. За повече информация посетете www.qiagen.com.

Съдържание

Съдържание на кита	4
Символи	4
Съхранение	5
Предназначение	5
Ограничения при използване на продукта	5
Предупреждения и предпазни мерки	6
Качествен контрол	6
Въведение	7
Принцип	7
Информация за патогена	7
Работни характеристики	8
Оборудване и реактиви, които трябва да се осигурят от потребителя	18
Важни забележки	19
Общи предпазни мерки	19
Вземане на проба, съхранение и транспортиране	19
Изолиране на ДНК	20
Вътрешна контрола	21
Задаване на праг за PCR анализи	22
Количествено определяне	22
Протокол: PCR и анализ на данните	24
Наръчник за отстраняване на проблеми	34
Референции	37
Информация за поръчки	38

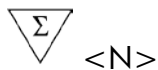
Съдържание на кита

artus HBV RG PCR кит		(24)	(96)
Каталожен номер		4506263	4506265
Брой реакции		24	96
Син	HBV RG/TM Master	2 x 12 реакции	8 x 12 реакции
Червен	HBV RG/TM QS 1* (1 x 10 ⁵ IU/μl)	QS 200 μl	200 μl
Червен	HBV RG/TM QS 2* (1 x 10 ⁴ IU/μl)	QS 200 μl	200 μl
Червен	HBV RG/TM QS 3* (1 x 10 ³ IU/μl)	QS 200 μl	200 μl
Червен	HBV RG/TM QS 4* (1 x 10 ² IU/μl)	QS 200 μl	200 μl
Червен	HBV RG/TM QS 5* (1 x 10 ¹ IU/μl)	QS 200 μl	200 μl
Зелен	HBV RG/TM IC [†]	IC 1000 μl	2 x 1000 μl
Бял	Вода (PCR клас)	1000 μl	1000 μl
	Наръчник	 1	1

* Стандарт за количествено определяне.

† Вътрешна контрола.

СИМВОЛИ



Съдържа реактиви, достатъчни за <N> броя тестове



Използвай с



Медицинско средство за ин витро диагностициране



Каталожен номер










Номер на партида



Номер на материал



Компоненти

	Съдържа
	Номер
	Номер на компонента за световна търговия
	Температурно ограничение
	Производител
	Консултирайте се с инструкциите за употреба
	Важна забележка

Съхранение

Компонентите на *artus* HBV RG PCR кит трябва да се съхраняват при температури от -15°C до -30°C и те трябва да се поддържат постоянни до изтичането на срока на годност, посочен на етикета. Повтарящо се размразяване и замразяване (повече от два пъти) трябва да се избягва, тъй като това ще намали чувствителността на реактивите за анализа. Ако реактивите се използват епизодично, те трябва да се съхраняват замразени на порции. Съхранението при температури между 2°C и 8°C не трябва да продължава повече от 5 часа.

Предназначение

artus HBV RG PCR китът е тест за ин витро размножаване на нуклеинова киселина за количествено определяне на ДНК на вирус Хепатит В (HBV) в човешка плазма. Този кит за диагностичен тест използва полимеразна верижна реакция (PCR) и е конфигуриран за използване с Rotor-Gene Q инструменти.

Ограничения при използване на продукта

Всички реактиви трябва да се използват само за ин витро диагностични изследвания.

Продуктът трябва да се използва от персонал, който е специално инструктиран и обучен за извършване на ин витро диагностични процедури.

Необходимо е стриктно спазване на указанията от наръчника за потребителя за постигане на оптимални PCR резултати.

Трябва да се обръща внимание на сроковете на годност, принтирани на кутията и на етикетите на всички компоненти. Не използвайте компоненти с изтекъл срок на годност.

Въпреки, че са редки, мутациите в силно защитени райони на вирусния геном, обхванати от праймерите в китовите и/или сонда могат да доведат до отчитане на понижено количествено присъствие или пропуск при отчитане наличието на вирус в тези случаи. Валидността и представянето на дизайна на анализа се преглеждат и оценяват през определени интервали.

Предупреждения и предпазни мерки

Когато работите с химикали, винаги носете подходящо лабораторно облекло, ръкавици за еднократна употреба и предпазни очила. За повече информация прочетете съответните таблици с данни за безопасността на материалите (SDSs), предоставени от доставчика на продукта.

Те са достъпни в интернет в удобен и компактен PDF формат на адрес www.qiagen.com/safety , където можете да намерите, прегледате и принтирате данни за безопасността на материалите (SDS) за всеки QIAGEN® кит и компонент на кит.

Изхвърляйте пробите и отпадъците от анализите в съответствие с местните процедури и наредби за безопасност.

Контрол на качеството

В съответствие с QIAGEN's ISO-сертифицираната система за контрол на качеството, всяка партида от *artus* HBV RG PCR китове се тества според предварително определени спецификации, за да се осигури постоянно качество на продукта.

Въведение

artus HBV RG PCR китът представлява готова за използване система за откриване на HBV ДНК чрез прилагане на полимеразна верижна реакция (PCR) с Rotor-Gene Q инструменти. HBV RG/TM Master съдържа реактиви и ензими за специфично размножаване на 134 bp регион на геномът Хепатит В (HBV), и за директно откриване на специфичен апликон (amplicon) във флуоресцентен канал Cycling Green на Rotor-Gene Q или Rotor-Gene 6000, или канал Cycling A.FAM™ на Rotor-Gene 3000.

В допълнение, *artus* HBV RG PCR кит съдържа втора хетероложна размножаваща система за откриване на възможно PCR инхибиране. Това се установява с вътрешна контрола (IC) във флуоресцентен канал Cycling Yellow на инструменти Rotor-Gene Q или Rotor-Gene 6000, или канал A.JOE™ на инструмент Rotor-Gene 3000. Лимитът на детекция на аналитичния HBV PCR (вижте “Аналитична чувствителност”, на стр. 8) не е намален. Доставени са външни положителни контроли (HBV RG/TM QS 1–5), с които може да се определя количеството на вирусната ДНК. За повече информация, прочетете “Количествено определяне”, на стр. 22.

Принцип

Откриването на патоген чрез полимеразна верижна реакция (PCR) се основава на размножаване на специфични региони на патогенния геном. При „real-time PCR“ апаратите размноженият продукт се открива чрез флуоресцентни багрила. Те обикновено са свързани с олигонуклеотидни сонди, които са съединени по специфичен начин към размножения продукт. Следенето на интензитета на флуоресценция по време на PCR опит (например, в реално време) позволява акумулирания продукт да се открива и определя количествено без да се налага да се отварят реакционните епруветки след приключването на PCR опита.*

Информация за патогена

Вирусът Хепатит В (HBV) основно се предава по кръвен път или от кръвни продукти. Обаче, също така са възможни и гинекологични, орални и перинатални заразявания. След общо неразположение, включително загуба на апетит, повръщане и коремни проблеми, около 10-20% от пациентите развиват треска, екзантема (кожен обрив), както и ревматоидни и мускулни проблеми. От 2 до 14 дни по-късно се развива жълтеница, която може да бъде придружена от сърбеж. Фулминантен хепатит се среща при около 1% от всички заразени пациенти и той често е фатален. От 5 до 10% от пациентите с Хепатит В развиват хронично чернодробно възпаление, което може да прогресира до цироза на черния дроб или първичен чернодробен клетъчен карцином.

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

Работни характеристики

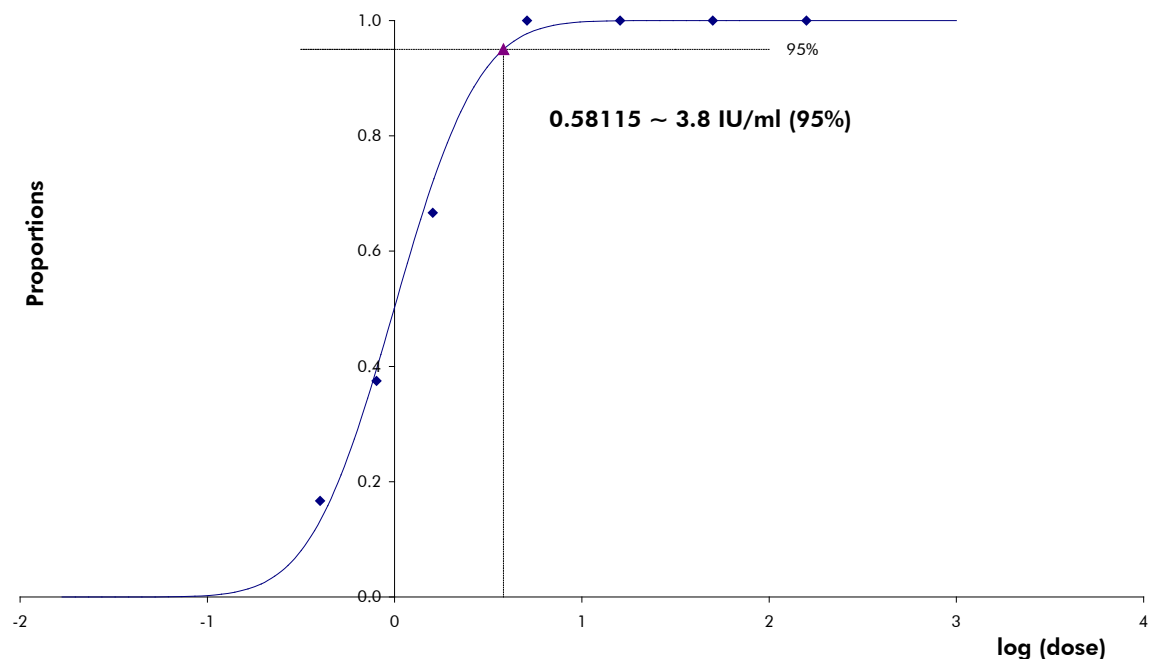
Аналитична чувствителност

Аналитичният лимит на детекция както и аналитичния лимит на детекция от гледна точка на пречистването (граница на чувствителност) на *artus* HBV RG PCR кит бяха оценени. Аналитичният лимит на детекция от гледна точка на пречистването е определен като са използвани HBV-положителни клинични проби в комбинация с определен метод на извличане. За разлика от първия, аналитичния лимит на детекция е определен без да се използват клинични проби, независимо от избория метод на извличане като е използван стандарт с известна концентрация.

При определянето на аналитичната чувствителност на *artus* HBV RG PCR кит бяха подготвени разредени серии от 10 до номиналните 0.0003 HBV IU/μl и анализирани с *artus* HBV RG PCR кит на Rotor-Gene инструменти. Тестовите бяха проведени в 3 различни дни по 8 повторения. Резултатите бяха определени чрез „probit“ анализ. Аналитичният лимит на детекция на *artus* HBV RG PCR кит в комбинация с Rotor-Gene 3000 е 0.02 IU/μl ($p = 0.05$). Това означава, че има 95% вероятност съдържание от 0.02 IU/μl да бъде отчетено.

Еквивалентността между Rotor-Gene 3000 и Rotor-Gene Q/6000 е показана на основата на техническите характеристики, потвърдени чрез аналитично сравнение на работата на двата инструмента. „Probit“ анализът беше направен на двете системи паралелно. Аналитичният лимит на детекция на Rotor-Gene Q/6000 е в рамките на доверителния интервал на Rotor-Gene 3000. Следователно, *artus* HBV RG PCR кита може да се използва за откриване на ДНК на Хепатит В с инструмента Rotor-Gene Q/6000 с подобна чувствителност.

Аналитичната чувствителност от гледна точка на пречистването (QIAamp® DSP Virus кит) на *artus* HBV RG PCR кит беше определена чрез използване на разредени серии според първия международен стандарт за HBV (WHO) от 158 до номинална концентрация 0.4 HBV IU/ml напръскани в клинични плазмени проби. Те бяха подложени на ДНК екстракция чрез използване на QIAamp DSP Virus кит (обем на извличане: 0.5 ml, обем на елуиране: 26 μl). Всяка от седемте разредени проби беше анализирана с *artus* HBV RG PCR кит през три различни дни по 8 повторения. Резултатите бяха определени чрез „probit“ анализ. Графична илюстрация на „probit“ анализът е показана на Фигура 1. Аналитичният лимит на детекция от гледна точка на пречистването на *artus* HBV RG PCR кит в комбинация с инструмент Rotor-Gene 3000 е 3.8 IU/ml ($p = 0.05$). Това означава, че има 95% вероятност съдържание от 3.8 IU/ml да бъде отчетено.



Фигура 1. Probit анализ: Вирус Хепатит В (Rotor-Gene 3000). Аналитична чувствителност от гледна точка на пречистването (QIAamp DSP Virus кит, QIAGEN) на *artus* HBV RG PCR кит с инструмент Rotor-Gene 3000.

Специфичност

Специфичността на *artus* HBV RG PCR кита на първо място е осигурена от избора на праймери и сонди, както и от избора на строги условия на реакцията. Праймерите и пробите са проверени за възможни хомолози за всички секвенции, публикувани в генни банки чрез анализ, при който се сравняват секвенциите. Откриваемостта на всички съответстващи генотипа по този начин е осигурена чрез сравняване на базите с данни и PCR опити с инструменти Rotor-Gene със следните генотипове (вижте Таблица 1).

Таблица 1. Тестване на специфичността на съответните генотипове

Вирус	Генотип	Източник	HBV канал (Cycling Green или A.FAM)	Вътрешна контрола (Cycling Yellow или A. JOE)
HBV	A (САЩ)	Teragenix*	+	+
HBV	B (Индонезия)	Teragenix	+	+
HBV	C (Индонезия)	Teragenix	+	+
HBV	C (Венецуела)	Teragenix	+	+
HBV	D (САЩ)	Teragenix	+	+
HBV	E (Бряг на слоновата кост)	Teragenix	+	+
HBV	F (Венецуела)	Teragenix	+	+
HBV	G (САЩ)	Teragenix	+	+
HBV	H (Никарагуа)	Teragenix	+	+

* Корпорация „Терагеникс“, Флорида, САЩ.

За по-нататъшно тестване на специфичността бяха използвани щамове на вируса Хепатит В с известни различия в секвенциите в пред-ядрения регион („pre-core“) на HBV генома (HBV Pre-Core мутационен панел, Терагеникс, Флорида, САЩ). Всичките 9 пред-ядрени мутационни щамове от този панел могат да бъдат открити като се използва *artus* HBV RG PCR кит.

Нещо повече, специфичността беше валидирана със 100 различни HBV отрицателни плазмени проби. Те не генерират никакви сигнали при прилагане на HBV специфичните праймери и сонди, включени в HBV RG/TM Master.

Бяха проведени тестове за вероятни кръстосани реакции на *artus* HBV RG PCR кита чрез използване на контролната група, вписана в Таблица 2 (стр. 12). Никой от тестваните патогени не показва реактивност. Не се наблюдаваха кръстосани реакции при смесени инфекции.

Линеен обхват

Линейният обхват (аналитично измерване) на *artus* HBV RG PCR кит беше определен чрез анализиране на разредени серии от HBV стандарт за количествено определяне в диапазона от 1×10^8 IU/ μ l до 1×10^{-2} IU/ μ l.

Сериите на разреждане бяха калибрирани според първия международен стандарт WHO за ДНК на Хепатит В.

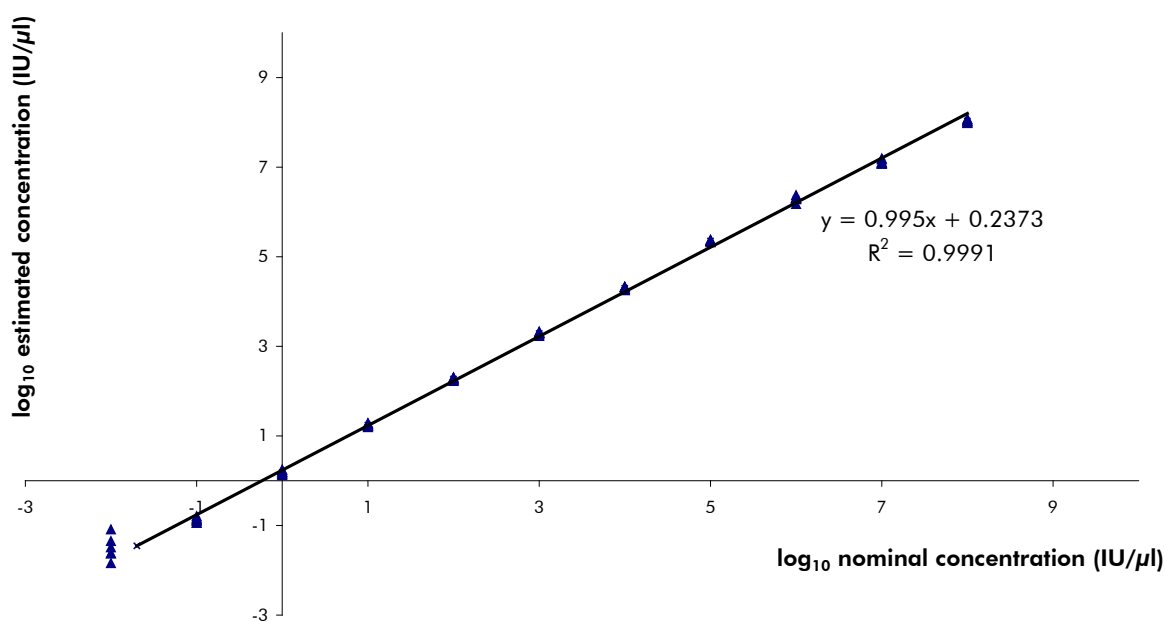
Всяка разредена проба беше тествана многократно (n = 8 при концентрации по-големи или равни на 1×10^0 IU/ μ l; n = 16 при концентрации по-малки от 1×10^0 IU/ μ l) с използване на *artus* HBV RG PCR кит на Rotor-Gene инструменти.

Таблица 2. Тестване на специфичността на кита с патогени, при които има вероятност за отчитане на кръстосани реакции

Контролна група	HBV канал (Cycling Green или Cycling A.FAM)	Вътрешна контрола (Cycling Yellow или Cycling A.JOE)
Human herpes virus 1 (Вирус Херпес Симплекс 1)	–	+
Human herpes virus 2 (Вирус Херпес Симплекс 2)	–	+
Human herpes virus 3 (Вирус Варицела -зостер)	–	+
Human herpes virus 4 (Вирус Epstein-Barr)	–	+
Human herpes virus 5 (Цитомегаловирус)	–	+
Човешки херпес вирус 6	–	+
Човешки имунодефицитен вирус 1	–	+
Вирус Хепатит А	–	+
Вирус Хепатит С	–	+
Парвовирус В19	–	+
Вирус на Жълта треска	–	+
Човешка Т-клетъчна левкемия – вирусен тип 1 и 2	–	+
Коксаки вирус В3	–	+
Dengue вирус 1–4	–	+
<i>Ешерихия коли</i>	–	+

Линейният обхват на *artus* HBV RG PCR кита беше определен за покрива концентрации от 0.02 IU/μl до поне 1 x 10⁸ IU/μl (Фигура 2).

При допускането, че QIAamp DSP Virus кит се използва за извличане на ДНК, *artus* HBV RG PCR кита покрива линеен обхват от 1.1 IU/ml до поне 4 x 10⁹ IU/ml.



Фигура 2. Линеен обхват на *artus* HBV RG PCR кит. Изчисляване на линейния обхват. Правата линия беше определена чрез линейна регресия на \log_{10} изчислени концентрации с \log_{10} номинални концентрации. Уравнението на регресионната линия е показано на фигурата.

Точност

Данните за точността на *artus* HBV RG PCR кит дават възможност за определяне на общата вариация на анализа. Общата вариация се състои от интра-анализна променливост (променливост на множеството резултати от проби с еднаква концентрация при провеждане на един експеримент), интер-анализна променливост (променливост на множество резултати от анализ, генериран на различни инструменти от един и същи тип от различни оператори в една лаборатория) и интер-партидна променливост (променливост на множеството резултати от анализ, при който са използвани различни партиди). Получените данни са използвани за определяне на стандартното отклонение, вариацията и коефициента на вариация при PCR обработка на специфичен патоген и вътрешна контрола.

Данните за точността на *artus* HBV RG PCR кит са събрани като е приложен стандарта за количествено определяне на най-ниската концентрация (QS 5; 10 IU/μl). Тестовите бяха проведени с 8 повторения. Данните за точността бяха изчислени на базата на C_T стойностите на кривите на намножаване (C_T : праг на цикъла, вижте Таблица 3, на стр. 14). В допълнение, данните за точността на количествените резултати в IU/μl бяха определени чрез използване на съответните C_T стойности (Таблица 4). Въз основа на тези резултати, общото статистическо разпределение на дадена проба с посочената концентрация е 1.29% (C_T)

или 8.99% (концентрация), и 1.87% (C_T) за откриване на вътрешната контрола. Тези стойности бяха базирани на съвкупността на всички единични стойности на определените променливи.

Таблица 3. Данни за точността на основата на C_T стойностите

	Стандартно отклонение	Вариране	Коефициент на вариация (%)
Интра-анализна променливост: HBV RG/TM QS 5	0.09	0.01	0.32
Интра-анализна променливост: Вътрешна контрола	0.10	0.01	1.06
Интер-анализна променливост: HBV RG/TM QS 5	0.14	0.02	0.49
Интер-анализна променливост: Вътрешна контрола	0.29	0.08	1.00
Интер-партидна променливост: HBV RG/TM QS 5	0.38	0.15	1.39
Интер-партидна променливост: Вътрешна контрола	0.62	0.39	2.23
Обща вариация: HBV RG/TM QS 5	0.36	0.13	1.29
Обща вариация: Вътрешна контрола	0.52	0.27	1.87

Таблица 4. Данни за точността на основата на количествените резултати (в IU/μl)

	Общо отклонение	Вариране	Коефициент на вариация (%)
Интра-анализна променливост: HBV RG/TM QS 5	0.93	0.87	9.28
Интер-анализна променливост: HBV RG/TM QS 5	0.79	0.63	7.92
Интер-партидна променливост: HBV RG/TM QS 5	1.03	1.05	10.21
Обща вариация: HBV RG/TM QS 5	0.90	0.81	8.99

Безпроблемна работа на кита

Потвърждението на безпроблемната работа позволява определяне на общия процент на възникване на проблеми при *artus* HBV RG PCR китове. За да се потвърди безпроблемната работа на кита, 100 отрицателни към Хепатит В плазмени проби бяха напръскани с 0.05 IU/μl елуиран обем на контролна ДНК на Хепатит В (приблизителна тройна концентрация на лимита на аналитична чувствителност). След извличането чрез използване на QIAamp DSP Virus кит (Вижте “Изолиране на ДНК” на стр. 20), тези проби бяха анализирани с *artus* HBV RG PCR кит. При всичките проби с Хепатит В процентът на поява на проблеми беше 0%. В допълнение, безпроблемната работа на вътрешната контрола беше оценена чрез пречистване и анализиране на 100 отрицателни към Хепатит В плазмени проби. Общият процент на отчитане на проблеми беше 0%. Не се наблюдаваха инхибирания. Поради това, твърдим, че процентът на безпроблемна работа на *artus* HBV RG PCR кита е $\geq 99\%$.

Възпроизводимост

Данните за възпроизводимостта позволяват да се извършва периодична оценка на *artus* HBV RG PCR кита, както и да се сравнява неговата ефикасност с тази на други продукти. Тези данни са получени чрез участие в установени програми за пригодност.

Диагностична оценка

При направеното проучване в 2 независими лаборатории *artus* HBV RG PCR кит беше сравнен с COBAS® TaqMan® HBV анализ. За тази цел бяха тествани 287 ретроспективни и проспективни плазмени проби.

Беше изолирана ДНК на вирус Хепатит В за тестване на *artus* HBV RG PCR кит чрез използване на QIAamp DSP Virus кит, и анализът беше извършен на Rotor-Gene 3000 инструмент. За сравнение на тестовете с COBAS TaqMan HBV анализ беше изолирана ДНК на вирус Хепатит В според инструкциите на производителя, предоставени в опаковката. Получените резултати при използване на *artus* HBV RG PCR кит бяха сравнени с тези при анализа COBAS TaqMan HBV.

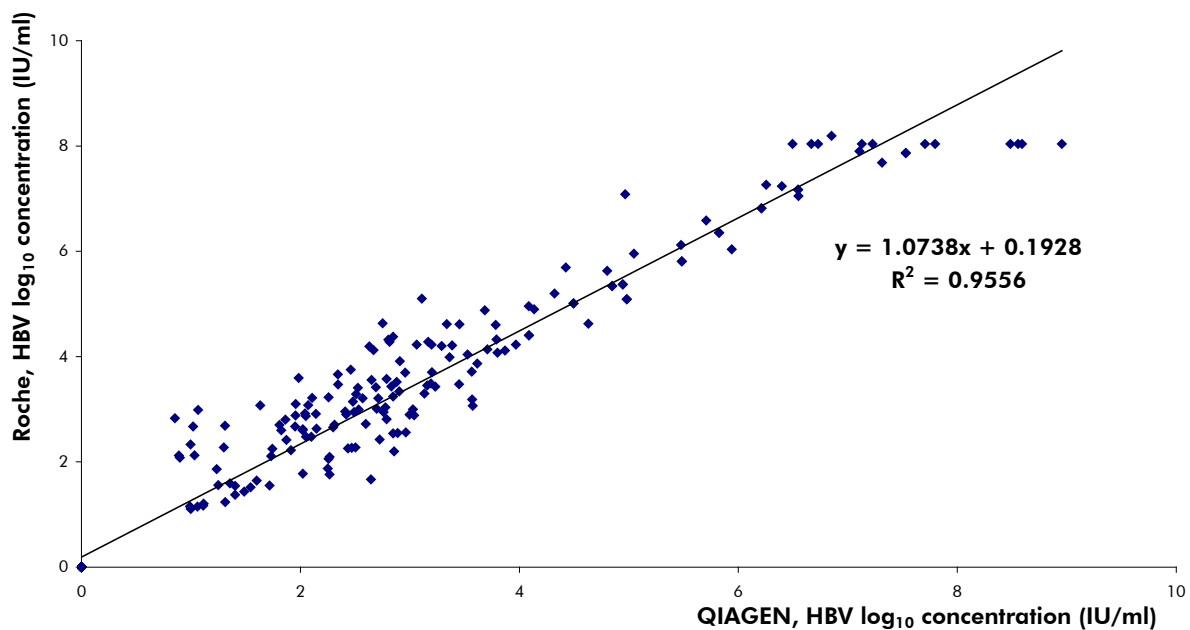
В сравнение с резултатите, събрани с COBAS TaqMan HBV анализ като проба за сравнение, беше определена диагностичната чувствителност на *artus* HBV RG PCR кита на 100% и диагностичната специфичност на 97% за всичките плазмени проби. Тези резултати са представени в Таблица 5.

Таблица 5. Резултати от сравнително валидиращо проучване

		COBAS TaqMan HBV анализ		
		+	-	Общо
<i>artus</i> HBV RG PCR кит	+	186	3	189
	-	0	98	98

По-нататъшното тестване на 3 произволни проби потвърди резултатите на *artus* HBV RG PCR кита. Затова може да се предположи, че несъответствието се дължи на по-високата чувствителност на *artus* HBV RG PCR кита.

Връзката между количествените резултати при двете системи за тестване бяха анализирани с линейна регресия. Резултатите от двата кита са показани за сравнение на Фигура 3.



Фигура 3. Сравнение на COBAS TaqMan HBV анализ (Roche, HBV; с пречистване на проби чрез система за отлично пречистване High Pure system) с *artus* HBV RG PCR кит (QIAGEN, HBV; с пречистване на проби чрез QIAamp DSP Virus кит). Връзката между количествените резултати от двете системи за тестване (Таблица 5) беше анализирана чрез линейна регресия. Резултатите от двата кита са показани в XY (разпределение) графика с log–log скала.

Оборудване и реактиви, които трябва да се осигурят от потребителя

Когато работите с химикали, винаги носете подходящо лабораторно облекло, ръкавици за еднократна употреба и предпазни очила. За повече информация прочетете съответните таблици с данни за безопасността на материалите (SDSs), предоставени от доставчика на продукта.

- Кит за изолиране на ДНК (вижте “Изолиране на ДНК”, стр. 20)
- Пипети (регулируеми)*
- Стерилни пипетни типчета с филтри
- Вортекс смесител*
- Настолна центрофуга* с ротор за 2 ml реакционни епруветки
- Rotor-Gene Q или Rotor-Gene инструмент* с флуоресцентни канали за Cycling Green и Cycling Yellow или с флуоресцентни канали за Cycling A.FAM и Cycling A.JOE
- Rotor-Gene Q софтуерна версия 1.7.94 (Rotor-Gene 6000 софтуерни версии 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94; Rotor-Gene 3000 софтуерна версия 6.0.23) или по-нова.
- Стрипчета и капачки, 0.1 ml, за използване с 72-ямков ротор (каталожен номер 981103 или 981106)
- Алтернативно: PCR епруветки, 0.2 ml, за използване с 36-ямков ротор (каталожен номер 981005 или 981008)
- Охладителен блок (Блок за зареждане на 72 x 0.1 ml епруветки, каталожен номер 9018901, или Блок за зареждане на 96 x 0.2 ml епруветки, каталожен номер 9018905)

* Уверете се, инструментите са били проверени и калибрирани според препоръките на производителя.

Важни забележки


Общи предпазни мерки

Потребителят винаги трябва да отделя внимание на следното:

- Да използва стерилни пипетни филтърни типчета.
- Да съхранява и изважда положителни материали (проби, положителни контроли и апликони) отделно от всички други реактиви и да ги добавя към реакционната смес в пространствено отделено съоръжение.
- Размразявайте всички компоненти при стайна температура (15–25°C) преди да започнете опита.
- Когато се размразят, смесете компонентите (чрез повтарящо се накапване нагоре надолу или чрез импулсно смесване с Вортекс) и центрофугирайте за кратко.
- Работете бързо и пазете компонентите върху лед или в охладителен блок (72/96-ямков блок за зареждане).

Вземане на проби, съхранение и транспортиране

 Всички проби трябва да се възприемат като потенциално заразен материал.

 Текущите проучвания сочат EDTA или цитратна плазма като най-подходящи пробни материали за откриване на вирус Хепатит В. Затова, ние Ви препоръчваме да използвате тези материали с *artus* HBV RG PCR кит.

Вътрешното валидиране на *artus* HBV RG PCR кит беше извършено чрез използване на човешки EDTA плазмени проби. Други пробни материали не са валидирани. Моля, използвайте само препоръчаният кит за изолиране на нуклеинова киселина (вижте “ДНК изолиране”, стр. 20) за подготовка на проби.

При използването на определени материали за проби трябва да се спазват точно конкретните инструкции относно събиране, транспортиране и съхранение.

Всяко изтегляне на кръв причинява нараняване на кръвоносните съдове (артерии, вени, капиляри). Трябва да се използва само безвреден и стерилен материал. Предлагат се подходящи консумативи за еднократна употреба за вземане на кръв. За венозни пункции не трябва да се използват игли за капиляри, тъй като те са прекалено фини. Венозната кръв трябва да се изтегля от подходящи участъци, близо до сгъвката на лакътя, предмишницата или задната част на ръката. Кръвта трябва да се

взема в стандартни епруветки за събиране на проби (с червена капачка, Sarstedt или подобни епруветки, предлагани от друг производител). Трябва да се изтегля 5–10 ml EDTA кръв. Епруветките да се разклащат над главата директно след вземането на пробата (8 пъти, ня разбърквайте).

i Не трябва да се използват проби от хепаринизирани лица (вижте “Интерфериращи вещества”).

Съхранение на пробите

Цялата кръв трябва да се раздели на плазма и клетъчни компоненти чрез центрофугиране за 20 минути при 800–1600 x g в рамките на 6 часа. Изолираната плазма трябва да се прехвърли в стерилни полипропиленови епруветки. Чувствителността на анализа може да бъде намалена, ако замразите пробите по навик или ги съхранявате за по-дълъг период от време. Вирусната ДНК в капсулата е стабилна за дни, ако се съхранява при 4°C, за седмици, ако се съхранява при –20°C, и дори за месеци и години, ако се съхранява при –70°C.*

Транспортиране на пробите

Пробите по принцип трябва да се транспортират в нечуплив транспортен контейнер. По този начин може да се избегне потенциалната опасност от изтичане на заразен материал. Пробите трябва да се транспортират като се спазват местните и национални инструкциите за транспортиране на патогенен материал.[†]

Пробите трябва да се транспортират в рамките на 6 часа. Ние не Ви препоръчваме да съхранявате пробите там, където те са били взети. Възможно е пробите да се изпращат по пощата, като се спазват законовите инструкции за транспортиране на патогенен материал. Ние Ви препоръчваме да изпращате пробите по куриер. Кръвните проби трябва да се транспортират охладени (2–8°C), а отделената плазма дълбоко замразена (–15 до –30°C).

Интерфериращи вещества

Повишените нива на билирубин (≤ 15 mg/dl) и липиди (≤ 800 mg/dl) и хемолитични проби не оказват влияние върху системата. Хепаринът (≥ 10 IU/ml) оказва въздействие върху PCR. Пробите, които са събрани в епруветки, съдържащи хепарин като антикоагулант, не трябва да се използват. Също така, не трябва да се използват проби от хепаринизирани пациенти.

Изолиране на ДНК

QIAamp DSP Virus китът (QIAGEN, каталожен номер 60704) е валидиран за пречистване на вирусна ДНК от човешка плазма за приложение с *artus* HBV RG PCR кит. Извършете пречистването на вирусна ДНК според инструкциите в наръчника за *QIAamp DSP Virus* кит.

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

† Международна асоциация на въздушните превозвачи (IATA). Наредби и указания за превоз на опасни товари.

i Използването на преносител на РНК е критично за ефикасността на извличането и следователно за добива на ДНК/РНК. За да се повиши стабилността на преносителя на РНК, доставен в QIAamp DSP Virus кита, ние препоръчваме да работите според информацията за разтваряне и съхранение на преносителя на РНК, дадена в ръководството с инструкции (“Подготвяне на реактиви и буфери”).

i Вътрешната контрола на *artus* HBV RG PCR кит може да се използва директно при процедурата за изолиране (вижте “Вътрешна контрола”, по-надолу). Уверете се, че обработвате съвместно и отрицателна плазмена проба при пречистването. Кореспондиращият сигнал на вътрешната контрола служи за основа за оценка на пречистването.

Вътрешна контрола

Доставена е вътрешна контрола (HBV RG/TM IC). Тя дава възможност на потребителя едновременно да контролира процедурата по изолиране на ДНК и да проверява за възможно PCR инхибиране. За тази цел, добавете вътрешната контрола към изолираното вещество в съотношение от 0.1 µl на 1 µl елуиран обем. Например, при използването на QIAamp DSP Virus кит, ДНК е елуирана в 60 µl елуиращ буфер (AVE). Следователно, 6 µl от вътрешната контрола трябва да се добавят първоначално. Количеството от вътрешната контрола, което да се използва, зависи само от обема на елуата.

i Вътрешната контрола и преносителят на РНК (вижте “Изолиране на ДНК”, стр. 20) трябва да се добавят само към сместа от лизисен буфер и пробата или директно към лизисния буфер.

Вътрешната контрола не трябва да се добавя директно към пробата. Ако я добавяте към лизисния буфер моля да отбележите, че сместа от вътрешна контрола и лизисен буфер- преносител на РНК трябва да е прясно приготвена и да се използва веднага (съхраняването на сместа на стайна температура или в хладилник само за няколко часа може да доведе до проблем с вътрешната контрола и намалена ефикасност на извличането).

i Не добавяйте вътрешната контрола и преносителя на РНК директно към пробата.

Пречистването се счита за успешно, когато C_T стойността на вътрешната контрола на отрицателната плазмена проба, която е обработвана по време на пречистването (QIAamp DSP Virus кит) достигне $C_T = 29 \pm 3$ (праг: 0.03) с използване на Rotor-Gene Q инструменти. Установеното разпространение се основава на вариацията на инструмента и на пречистването. По-големите отклонения показват, че има проблем при пречистването. В този случай пречистването трябва да се провери и ако е необходимо, да се потвърди втори път. Ако имате някакви допълнителни въпроси или ако установите проблеми, моля да се обърнете към техническия сервизен център на QIAGEN.

Вътрешната контрола може евентуално да се използва за проверка на вероятно PCR инхибиране. За тази цел, добавете вътрешната контрола директно към HBV RG/TM Master, както е описано в стъпка 2b на протокола (страница 25).

Настройване на праг за PCR анализ

Настройването на оптималният праг за дадена комбинация от Rotor-Gene Q инструмент и *artus* RG PCR кит трябва да се определи емпирично чрез извършване на тестове на всяка отделна комбинация, понеже тя е относителна стойност, зависеща от общия диагностичен работен процес. Като начало, за прагова стойност може да се използва предварително определената такава 0.04 за анализа на първия PCR опит, но тя трябва да се регулира прецизно в сравнителен анализ при следващите опити от работния процес. Прагът трябва да се зададе ръчно точно над фоновия сигнал на отрицателните контроли и отрицателните проби. Значимата прагова стойност, изчислена от тези експерименти би давала най-добри резултати при голяма част от бъдещите опити, но потребителят въпреки това трябва регулярно да преразглежда и актуализира праговата стойност. Праговата стойност обикновено е в интервала от 0.03 до 0.05 и тя трябва да се закръглява до не повече от три знака след десетичната запетая.

Количествено определяне

Приложените стандарти за количествено определяне (HBV RG/TM QS 1–5) се обработват като предходните пречистени проби и за тях се използва същия обем (20 μ l). За генериране на стандартна крива с Rotor-Gene Q инструменти, трябва да се използват всичките пет количествени стандарта и да се дефинират в диалоговата кутия “Редактиране на проби” като стандарти със специфична концентрация (вижте ръководството за потребителя на инструмента).

ⓘ Стандартите за количествено определяне са дефинирани като IU/μl.* Трябва да се приложи следната формула за конвертиране на стойностите, определени чрез използване на стандартна крива в IU/ml от материала за пробата:

$$\text{Резултат (IU/ml)} = \frac{\text{Резултат (IU/}\mu\text{l)} \times \text{Елуиран обем (}\mu\text{l)}}{\text{Обем на пробата (ml)}}$$

По принцип първоначалният обем на пробата трябва да се въведе в посочената по-нагоре формула. Това трябва да се има предвид, когато обема на пробата е бил променен преди извличането на нуклеинова киселина (например при намаляване на обема при центрофугиране и увеличаване на обема при добавяне на допълнителен обем, необходим за изолиране).

* Стандартът е калибриран като е използван Първият международен стандарт за Хепатит В (WHO).

Протокол: PCR и анализ на данните

Важни точки преди стартиране

- Преди да започнете процедурата, прочетете “Важни забележки” на страници 19–22.
- Отделете време, за да се запознаете с Rotor-Gene Q преди да стартирате протокола. Прочетете ръководството за потребителя на инструмента.
- Уверете се, че поне един стандарт за количествено определяне, както и поне една отрицателна контрола (вода, PCR клас) са включени към PCR опита. За да генерирате крива на стандартите, използвайте всичките пет стандарта за количествено определяне, които са доставени (HBV RG/TM QS 1–5) при всеки PCR опит.

Действия, които трябва да извършвате преди стартиране

- Уверете се, че охладителният блок (аксесоар към Rotor-Gene Q инструмента) е предварително охладен до температури 2–8°C.
- Преди всяко използване, всички реактиви трябва да се размразят напълно, да се смесят (чрез повтарящо се накапване нагоре надолу или чрез бърза обработка с Вортекс) и да се центрофугират за кратко.

Процедура

1. Поставете необходимия брой PCR епруветки в адаптерите на охладителния блок.
 2. Ако използвате вътрешна контрола за следене на процедурата по изолиране на ДНК и за проверка за вероятни PCR инхибирания, следвайте стъпка 2a. Ако използвате вътрешна контрола изключително и само за проверка за вероятни PCR инхибирания, следвайте стъпка 2b.
- 2a. Вътрешната контрола вече е била добавена към изолирания материал (вижте “Вътрешна контрола”, на страница 21). В този случай, подгответе смес Мастер микс според Таблица 6.

Таблица 6. Подготовка на мастер микс (вътрешна контрола, която се използва за следене на изолирането на ДНК и проверка за PCR инхибиране)

Брой проби	1	12
HBV RG/TM Master	30 µl	360 µl
HBV RG/TM IC	0 µl	0 µl всяка
Общ обем	30 µl	360 µl всяка

- 2b. Вътрешната контрола трябва да се добави директно към HBV RG/TM Master. В този случай, подгответе сместа „мастер микс“ съгласно указанията от Таблица 7.**

Реакционната смес обикновено съдържа всички необходими компоненти за PCR с изключение на пробата.

Таблица 7. Подготовка на мастер микс (вътрешна контрола, която се използва само за проверка за PCR инхибиране)

Брой проби	1	12
HBV RG/TM Master	30 µl	360 µl
HBV RG/TM IC	2 µl	24 µl
Общ обем	32 µl*	384 µl*

* Увеличеният обем поради добавяне на вътрешната контрола не се взема под внимание при подготовката на PCR анализа. Чувствителността на системата за откриване не се нарушава.

- 3. Накапете по 30 µl от сместа „мастер микс“ във всяка PCR епруветка. След това добавете 20 µl от елуираната ДНК проба (вижте Таблица 8). Съответно, трябва да се използват 20 µl от поне един от стандартите за количествено определяне (HBV RG/TM QS 1–5) като положителна контрола и 20 µl вода (Вода, PCR клас) като отрицателна контрола.**

Таблица 8. Подготовка на PCR опит

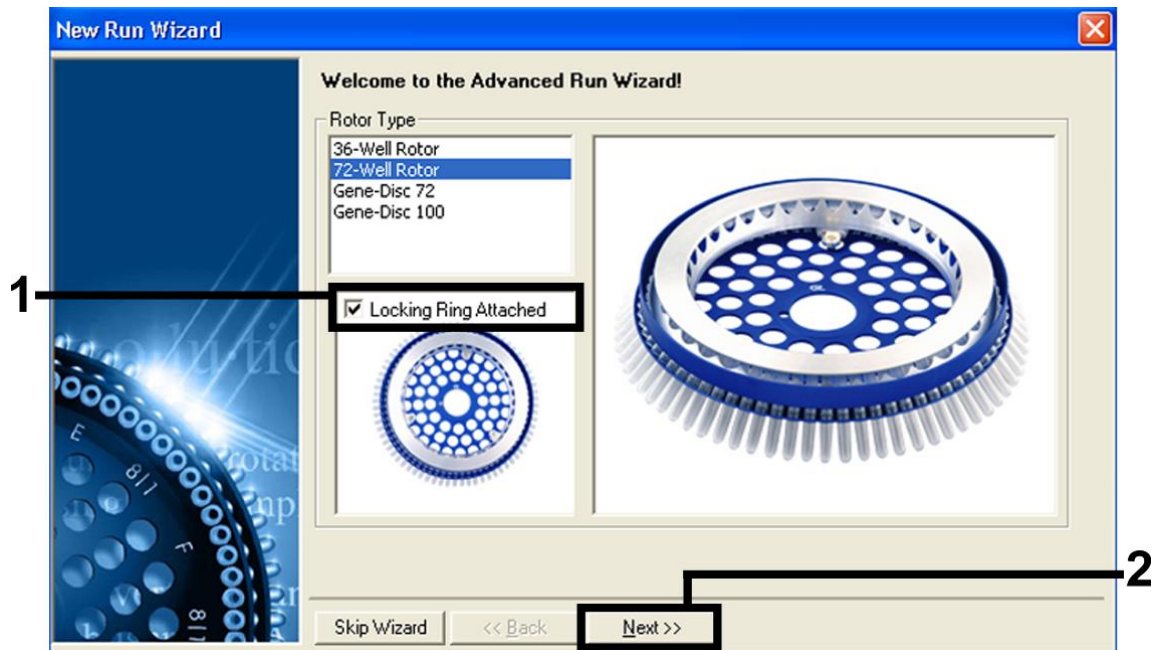
Брой проби	1	12
Смес „Master mix“	30 µl	30 µl всяка
Проба	20 µl	20 µl всяка
Общ обем	50 µl	50 µl всяка

4. Затворете PCR епруветките. Уверете се, че заключващият пръстен (аксесоар на Rotor-Gene инструмент) е поставен отгоре на ротора, за да възпрепятства инцидентно отваряне на епруветките по време на обработката.
5. За откриване на ДНК на вирус Хепатит В, създайте температурен профил като следвате следните стъпки.

Задаване на общите параметри на опита	Фигури 4, 5, 6
Първоначално активиране на ензим за горещ старт	Фигура 7
Намножаване на ДНК	Фигура 8
Регулиране на чувствителността на флуоресцентният канал	Фигура 9
Стартиране на опита	Фигура 10

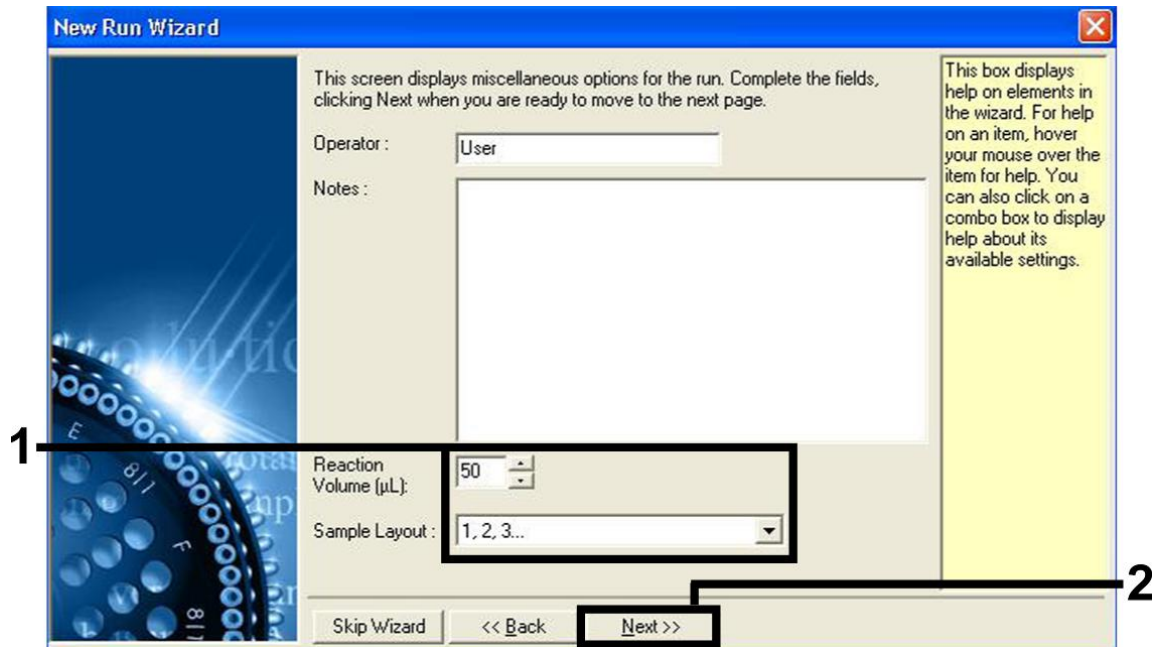
Всички спецификации се отнасят за Rotor-Gene Q софтуерна версия 1.7.94, Rotor-Gene 6000 софтуерни версии 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94, и Rotor-Gene 3000 софтуерна версия 6.0.23. При нужда от допълнителна информация за програмиране на Rotor-Gene инструменти можете да прочетете ръководството за потребителя на инструмента. На илюстрациите тези настройки са оградени с удебелени черни линии. Включени са илюстрации за Rotor-Gene Q инструменти. Когато се изискват различни стойности за Rotor-Gene 3000, тези разлики са описани в текста.

6. Първо, отворете диалоговия прозорец “New Run Wizard” (Фигура 4). Маркирайте кутийката “Locking Ring Attached” с отметка и натиснете “Next”.



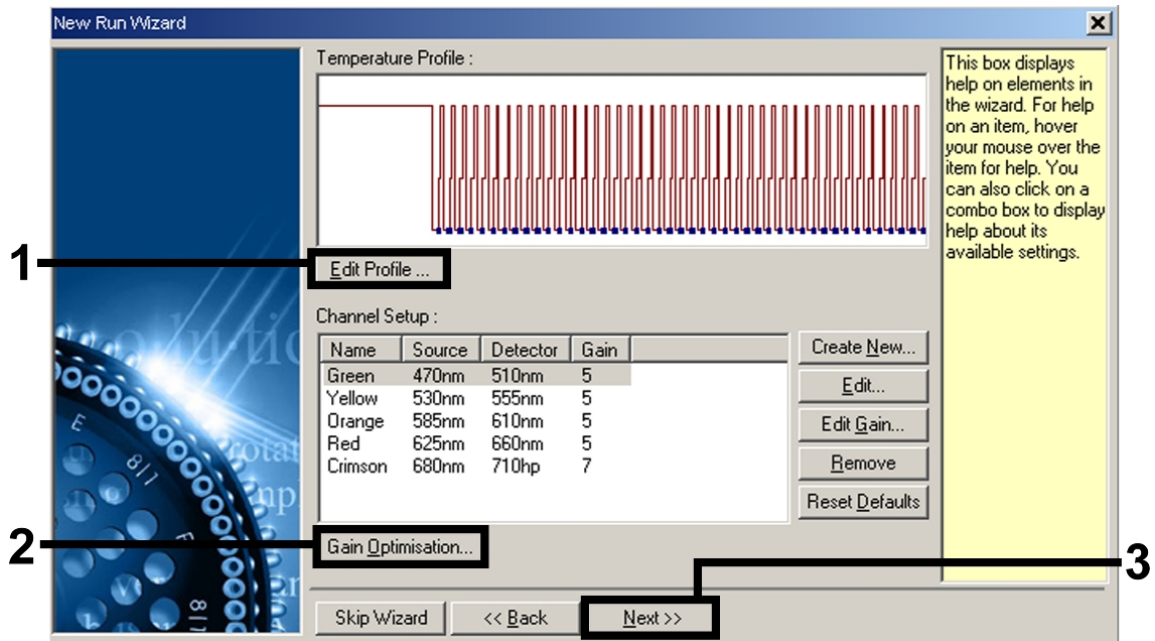
Фигура 4. Диалогов прозорец “New Run Wizard”.

7. Изберете 50 за PCR реакционен обем и кликнете върху “Next” (Фигура 5).

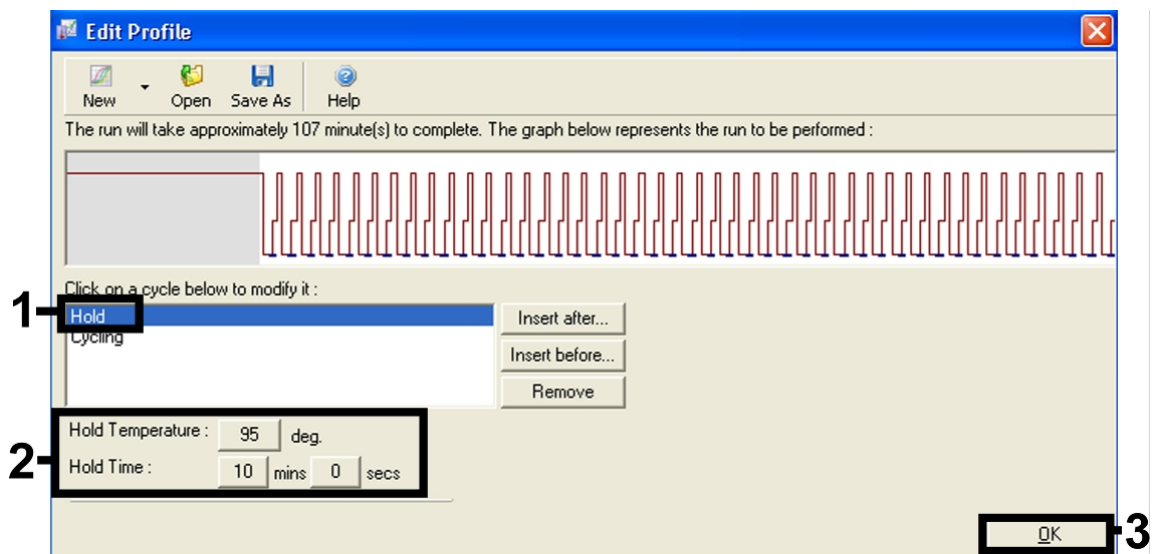


Фигура 5. Задаване на общи параметри на опита

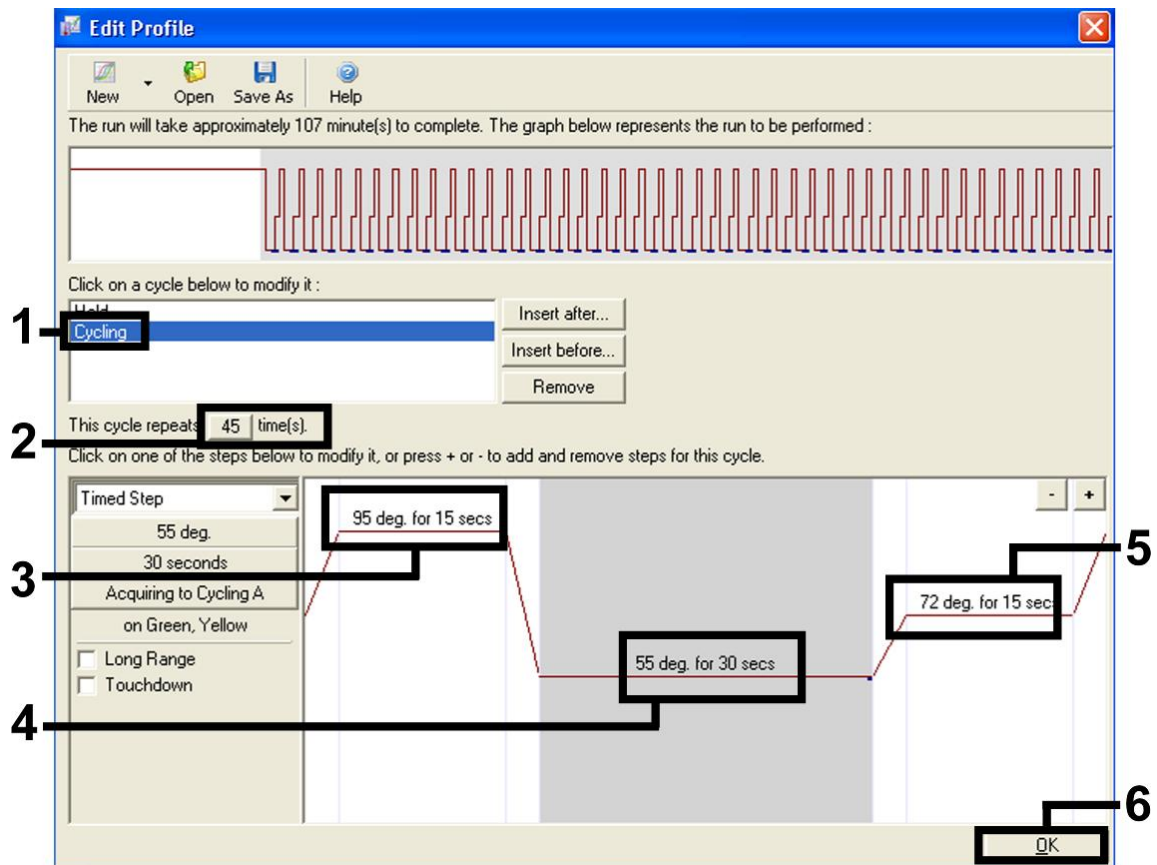
8. Кликнете върху бутона “Edit Profile” в следващия диалогов прозорец “New Run Wizard” (Фигура 6), и програмирайте температурният профил, както е показано на Фигури 6–8).



Фигура 6. Редактиране на профила.

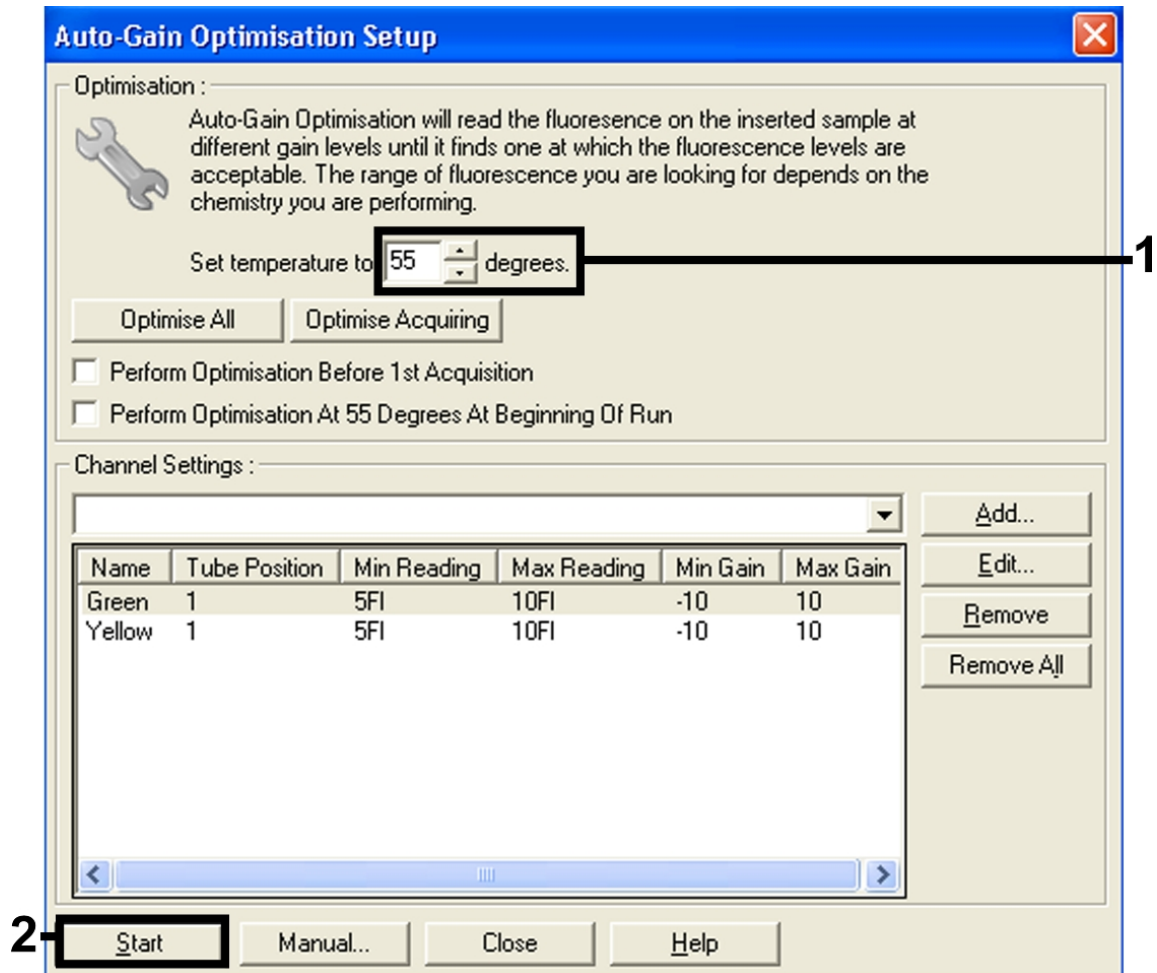


Фигура 7. Първоначално активиране на ензима за горещ старт



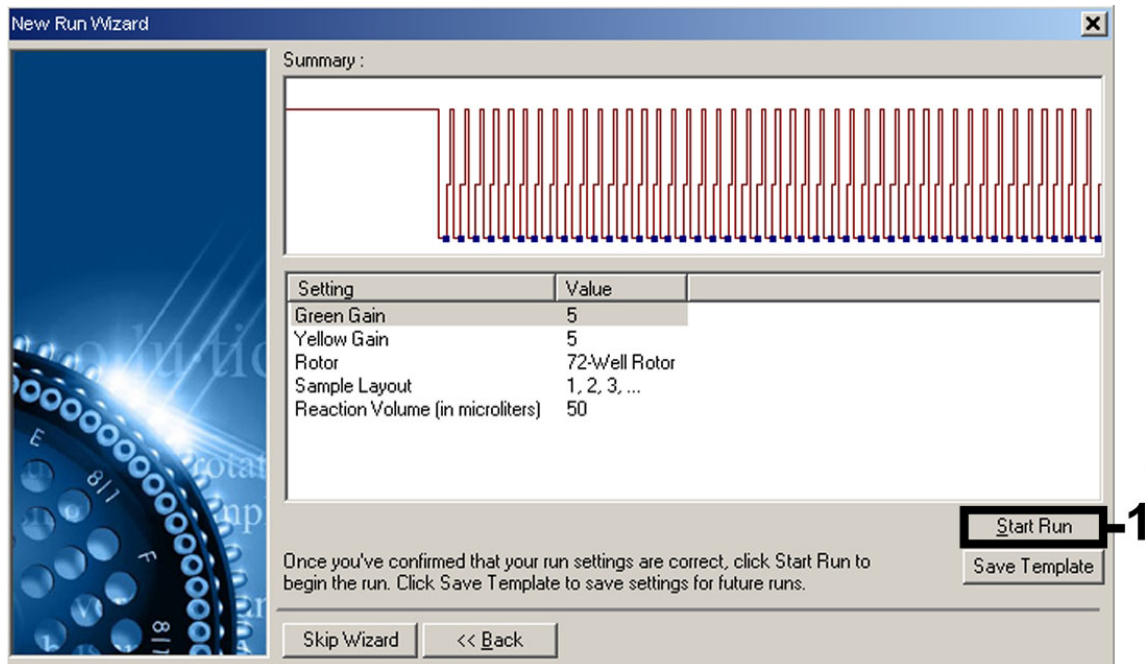
Фигура 8. Намножаване на ДНК. Отбележете, че на Rotor-Gene 3000 инструмент, софтуерът ще дефинира флуоресцентните багила като “FAM/Sybr, JOE”.

9. Диапазонът на отчитане на флуоресцентните канали трябва да се определи според флуоресцентните интензитети в PCR епруветките. Кликнете върху “Gain Optimisation” (постигане на оптимизация) в диалоговия прозорец “New Run Wizard” (вижте Фигура 6), за да отворите диалоговия прозорец “Auto-Gain Optimisation Setup”. Настройте температурата за калибриране на 55, за да съответства на температурата за полепване от програмата за намножаване (Фигура 9).



Фигура 9. Регулиране на чувствителността на флуоресцентния канал. Отбележете, че при инструментите Rotor-Gene 3000, софтуерът ще определя флуоресцентните багрила като “FAM/Sybr” и “JOE”.

10. Получените стойности, определени при калибрирането на канала се запазват автоматично и се появяват в списък в последния прозорец на менюто от програмната процедура (Фигура 10). Кликнете върху “Start Run”.



Фигура 10. Стартиране на опита. Отбележете, че при инструментите Rotor-Gene 3000, софтуерът ще определя флуоресцентните багрила като “FAM/Sybr” и “JOE”.

11. След приключване на опита, анализирайте данните. Възможно е да получите следните резултати (11a, 11b и 11c).

Примери за положителни и отрицателни PCR реакции са дадени на Фигура 11 и Фигура 12.

- 11a. Отчита се сигнал във флуоресцентен канал „Cycling Green“. Резултатът от анализа е положителен: пробата съдържа ДНК на вирус Хепатит В.

В този случай, откриването на сигнал в канала „Cycling Yellow“ не е задължително, тъй като поради високите първоначални концентрации на ДНК на вирус Хепатит В (положителен сигнал в канала „Cycling Green“) може флуоресцентния сигнал на вътрешната контрола в канала „Cycling Yellow“ (състезание) да е намален или въобще да липсва.

i Отбележете, че при инструментите Rotor-Gene 3000, съответните канали са „Cycling A.FAM“ за положителният сигнал и „Cycling A.JOE“ за вътрешната контрола.

11b. Не се отчита сигнал във флуоресцентен канал „Cycling Green“. В същото време се появява сигнал от вътрешната контрола в канала „Cycling Yellow“.

В пробата не се открива ДНК на вирус Хепатит В. Тя може да се счита за отрицателна.

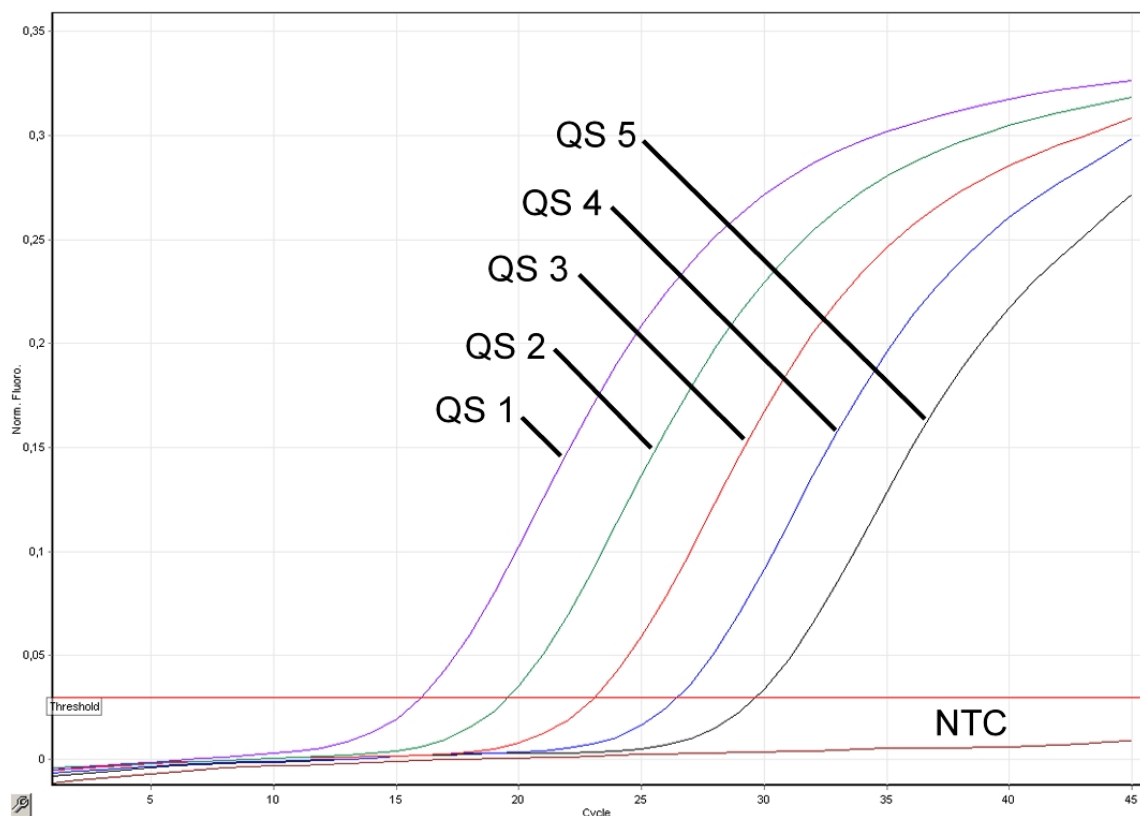
В случай на отрицателен PCR опит към вирус Хепатит В, отчетеният сигнал на вътрешната контрола изключва възможността за PCR инхибиране.

i Отбележете, че при инструментите Rotor-Gene 3000, съответните канали са „Cycling A.JOE“ за вътрешната контрола и при тях липсва сигнал за „Cycling A.FAM“.

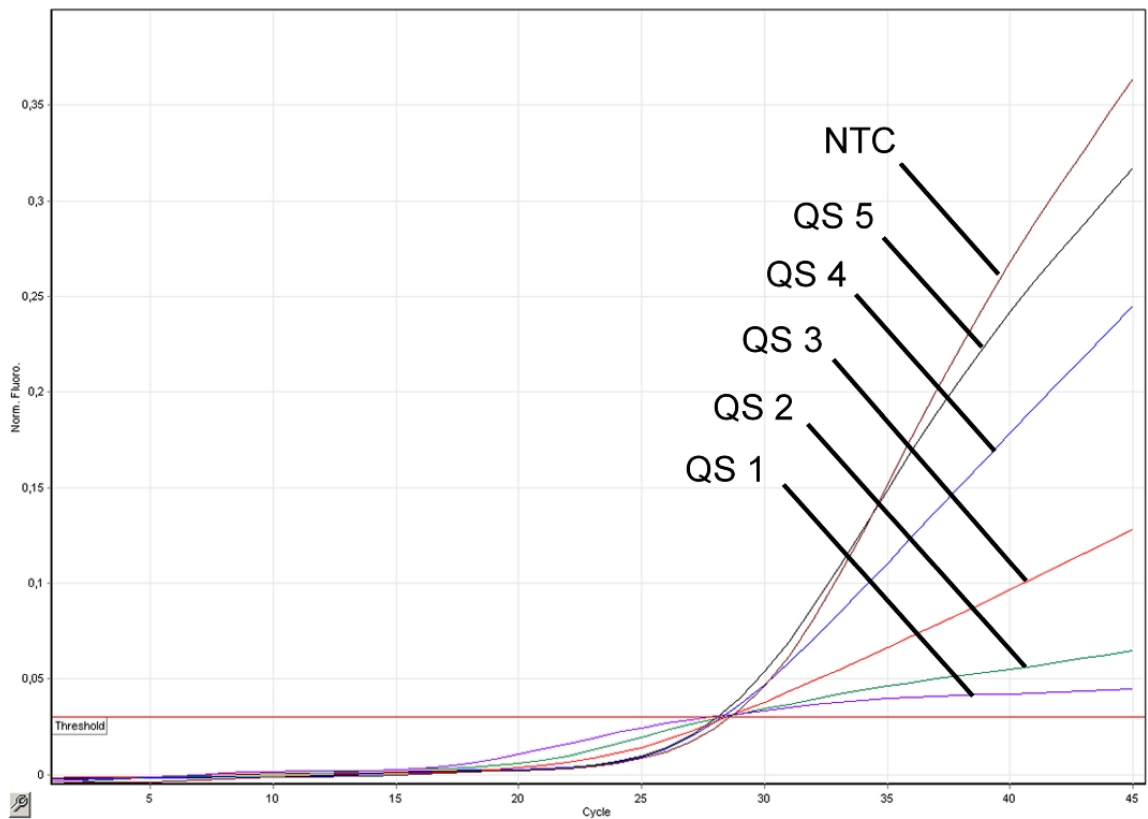
11c. Не се отчита сигнал в каналите „Cycling Green“ или „Cycling Yellow“. Не може да се заключи, че е получен резултат.

Информация за източниците на грешки и начините за тяхното отстраняване може да се намери в “Ръководство за отстраняване на проблеми” на стр. 34.

i Отбележете, че при инструментите Rotor-Gene 3000, съответните канали са „Cycling A.FAM“ и „Cycling A.JOE“.



Фигура 11. Откриване на стандарти за количествено определяне (HBV RG/TM QS 1–5) във флуоресцентен канал „Cycling Green“. NTC: Контрол без матрица (отрицателна контрола).



Фигура 12. Откриване на вътрешната контрола (IC) във флуоресцентен канал „Cycling Yellow“ с едновременно намножаване на стандарти за количествено определяне (HBV RG/TM QS 1–5). NTC: Контрола без матрица (отрицателна контрола).

Ръководство за отстраняване на проблеми


Този ръчник може да Ви бъде полезен за решаването на проблеми, които възникват. За повече информация вижте също интернет страницата с често задавани въпроси, поддържана от нашия технически център: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Учените от техническия център на QIAGEN винаги с радост ще отговорят на Вашите въпроси, свързани с информацията и протокола в този ръчник или за иновативните технологии за експериментален анализ (вижте “Информация за контакти” на последната страница или посетете www.qiagen.com).

Коментари и предложения






Липсва сигнал при положителните контроли (HBV RG/TM QS 1–5) във флуоресцентен канал „Cycling Green“ или „Cycling A.FAM“

- a) Избраният флуоресцентен канал за PCR анализ на данните не отговаря на протокола
- ⓘ За анализиране на данните изберете флуоресцентен канал „Cycling Green“ или „Cycling A.FAM“ за аналитичен PCR на вирус Хепатит В и флуоресцентен канал „Cycling Yellow“ или „Cycling A.JOE“ за PCR на вътрешната контрола.
- b) Неправилно програмира не на температурният профил на инструмент Rotor-Gene
- ⓘ Сравнете температурният профил с протокола. Вижте “Протокол: PCR и анализ на данните”, стр. 24.
- c) Неправилна конфигурация на PCR
- ⓘ Проверете и сравнете Вашите работни стъпки със схемата на накапване. Повторете PCR опита, ако е необходимо. Вижте “Протокол: PCR и анализ на данните”, стр. 24.
- d) Условието на съхранение на един и повече компоненти на кита не отговарят на инструкциите, дадени в “Съхранение” (стр. 5)
- ⓘ Проверете условията на съхранение и срока на годност (вижте етикета на кита) на реактивите и използвайте нов кит, ако е необходимо.

Коментари и предложения

- е) Срокът на годност на *artus* HBV RG PCR кит е изтекъл  Проверете условията на съхранение и срока на годност (вижте етикета на кита) на реактивите и използвайте нов кит, ако е необходимо.

Наличие на слаб сигнал или липса на сигнал от вътрешната контрола от отрицателна плазмена проба, подложена на процес на пречистване с QIAamp DSP Virus кит ($C_T = 29 \pm 3$; праг, 0.03) във флуоресцентен канал „Cycling Yellow“ или „Cycling A.JOE“ и същевременно липса на сигнал в канал „Cycling Green“ или „Cycling A.FAM“.

- а) PCR условията не отговарят на протокола  Проверете PCR условията (вижте по-нагоре) и повторете PCR опита с коригирани настройки, ако е необходимо.
- б) PCR опитът е инхибиран.  Уверете се, че използвате препоръчания метод на изолиране и спазвате стриктно инструкциите, дадени от производителя.
- в) ДНК е изгубена по време на извличането  Ако е добавена вътрешна контрола при извличането, липсата на сигнал от вътрешната контрола сочи, че ДНК е изгубена по време на извличането. Уверете се, че използвате препоръчания метод на изолиране (вижте „ДНК изолиране“, стр. 20) и спазвайте точно инструкциите, дадени от производителя.
- д) Условията за съхранение на един или няколко компонента от кита не отговарят на инструкциите, дадени в параграф „Съхранение“ (стр. 5)  Проверете условията на съхранение и срока на годност (вижте етикета на кита) на реактивите и използвайте нов кит, ако е необходимо.
- е) Срокът на годност на *artus* HBV RG PCR кит е изтекъл.  Проверете условията на съхранение и срока на годност (вижте етикета на кита) на реактивите и използвайте нов кит, ако е необходимо.

Коментари и предложения

Сигнали от отрицателните контроли във флуоресцентен канал „Cycling Green“ или „Cycling A.FAM“ на аналитичен PCR

- a) Замърсяване при подготовката на PCR
- ⓘ Повторете PCR опита с нови реактиви с повторения.
 - ⓘ Ако е възможно, затваряйте PCR епруветките веднага след добавянето на пробите, които ще се тестват.
 - ⓘ Уверете се, че сте накапали положителните контроли последни.
 - ⓘ Уверете се, че работното място и инструментите се почистват периодично.
- b) Замърсяване по време на извличането
- ⓘ Повторете извличането и PCR опита с пробата, която се тества като използвате нови реактиви.
 - ⓘ Уверете се, че работното място и инструментите се почистват периодично.

Референции

Фирма QIAGEN поддържа обширна, актуална база с данни в интернет с научни публикации, използващи QIAGEN продукти. Опциите за подробно търсене Ви позволяват да откривате статиите, от които се нуждаете, или чрез обикновено търсене с помощта на клавиатурата, или чрез точно посочване на приложението, зоната за търсене, заглавието и т.н.

За да видите пълният списък на референциите, посетете референтната база с данни на QIAGEN на адрес www.qiagen.com/RefDB/search.asp, обърнете се към техническия сервиз на QIAGEN, или към местния дистрибутор.

Информация за поръчки

Продукт	Съдържание	Каталожен номер
<i>artus</i> HBV RG PCR кит (24)	За 24 реакции: Master, 5 стандарта за количествено определяне, Вътрешна контрола, Вода (PCR клас)	4506263
<i>artus</i> HBV RG PCR кит (96)	За 96 реакции: Master, 5 стандарта за количествено определяне, Вътрешна контрола, Вода (PCR клас)	4506265
QIAamp DSP Virus кит — за пречистване на вирусни нуклеинови киселини от човешка плазма за ин витро диагностични цели		
QIAamp DSP Virus кит	За 50 подготовки: QIAamp MinElute® центрофужни колони, буфери, реактиви, епруветки, колонни разширители и вакуумни конектори VacConnectors.	60704
Rotor-Gene Q MDx — за IVD-валидиран PCR анализ в реално време за клинични приложения		
Rotor-Gene Q MDx 5plex система	PCR апарат за използване в реално време с 5 канала (зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен), лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда, инсталиране и обучение	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex платформа	PCR апарат за използване в реално време с 5 канала (зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен), лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда. Инсталирането и обучението не са включени.	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM система	PCR апарат за използване в реално време и Анализатор на разделянето с висока резолюция с 5 канала (зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен) плюс HRM канал, лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда, инсталиране и обучение	9002033

Продукт	Съдържание	Каталожен номер
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM платформа	PCR апарат за използване в реално време и Анализатор на разделянето с висока резолюция с 5 канала (зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен) плюс HRM канал, лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда. Инсталирането и обучението не са включени.	9002032
Rotor-Gene Q MDx 6plex система	PCR апарат за използване в реално време с 6 канала (син, зелен, жълт, оранжев, червен и пурпурен), включително лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда, инсталиране и обучение.	9002043
Rotor-Gene Q MDx 6plex платформа	PCR апарат за използване в реално време с 6 канала (син, зелен, жълт, оранжев, червен и пурпурен), включително лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда. Инсталирането и обучението не са включени.	9002042
Rotor-Gene Q MDx 2plex система	PCR апарат за използване в реално време с 2 канала (зелен, жълт), лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда, инсталиране и обучение	9002003
Rotor-Gene Q MDx 2plex платформа	PCR апарат за използване в реално време и Анализатор на разделянето с висока резолюция с 2 канала (зелен, жълт) плюс HRM канал, лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда. Инсталирането и обучението не са включени.	9002002

Продукт	Съдържание	Каталожен номер
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM система	PCR апарат за използване в реално време и Анализатор на разделянето с висока резолюция с 2 канала (зелен, жълт) плюс HRM канал, лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда, инсталиране и обучение	9002013
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM платформа	PCR апарат за използване в реално време и Анализатор на разделянето с висока резолюция с 2 канала (зелен, жълт) плюс HRM канал, лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда. Инсталирането и обучението не са включени	9002012
Rotor-Gene Q — за изключително представяне при PCR обработка в реално време		
Rotor-Gene Q 5plex система	PCR апарат за използване в реално време с 5 канала (зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен), лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда, инсталиране и обучение	9001640
Rotor-Gene Q 5plex платформа	PCR апарат за използване в реално време с 5 канала (зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен), лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда. Инсталирането и обучението не са включени.	9001570
Rotor-Gene Q 5plex HRM система	PCR апарат за използване в реално време и Анализатор на разделянето с висока резолюция с 5 канала (зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен) плюс HRM канал, лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда, инсталиране и обучение	9001650

Продукт	Съдържание	Каталожен номер
Rotor-Gene Q 5plex HRM платформа	PCR апарат за използване в реално време и Анализатор на разделянето с висока резолюция с 5 канала (зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен) плюс HRM канал, лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда. Инсталирането и обучението не са включени.	9001580
Rotor-Gene Q 6plex система	PCR апарат за използване в реално време с 6 канала (син, зелен, жълт, оранжев, червен и пурпурен), включително лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда, инсталиране и обучение	9001660
Rotor-Gene Q 6plex платформа	PCR апарат за използване в реално време с 6 канала (син, зелен, жълт, оранжев, червен и пурпурен), включително лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда. Инсталирането и обучението не са включени.	9001590
Rotor-Gene Q 2plex система	PCR апарат за използване в реално време с 2 канала (зелен, жълт), лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда, инсталиране и обучение	9001620
Rotor-Gene Q 2plex платформа	PCR апарат за използване в реално време и Анализатор на разделянето с висока резолюция с 2 канала (зелен, жълт) плюс HRM канал, лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда. Инсталирането и обучението не са включени.	9001550

Продукт	Съдържание	Каталожен номер
Rotor-Gene Q 2plex HRM система	PCR апарат за използване в реално време и Анализатор на разделянето с висока резолюция с 2 канала (зелен, жълт) плюс HRM канал, лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда, инсталиране и обучение	9001630
Rotor-Gene Q 2plex HRM платформа	PCR апарат за използване в реално време и Анализатор на разделянето с висока резолюция с 2 канала (зелен, жълт) плюс HRM канал, лаптоп компютър, софтуер, аксесоари, 1-годишна гаранция на частите и труда. Инсталирането и обучението не са включени.	9001560
Rotor-Gene Q аксесоари		
Блок за зареждане на 72 x 0.1 ml епруветки	Алуминиев блок за ръчно настройване на реакцията с пипети с един канал в 72 x 0.1 ml епруветки	9018901
Блок за зареждане на 96 x 0.2 ml епруветки	Алуминиев блок за ръчно настройване на реакцията в стандартни 8 x 12 масиви като се използват 96 x 0.2 ml епруветки	9018905
Стрипчета и капачки, 0.1 ml (250)	250 стрипчета с по 4 епруветки и капачки за 1000 реакции	981103
Стрипчета и капачки, 0.1 ml (2500)	10 x 250 стрипчета с по 4 епруветки и капачки 10,000 реакции	981106
PCR епруветки, 0.2 ml (1000)	1000 тънкостенни епруветки за 1000 реакции	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 тънкостенни епруветки за 1000 реакции	981008

За актуална информацията за лиценза и специфични за продукта оповестявания, вижте съответния наръчник за QIAGEN кита или ръководството за употреба. Наръчниците за китове QIAGEN и ръководствата за експлоатация са достъпни на интернет страницата www.qiagen.com. Също така, Вие можете да изпратите запитване до техническия сервиз на QIAGEN или към местния дистрибутор.

Закупуването на този продукт Ви позволява да го използвате за извършване на ин витро човешка диагностика. С неговото закупуване не се предоставя общ патент или други лицензи, освен специфичните права на използване, произтичащи от покупката.

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

artus HBV RG PCR китът и QIAamp DSP Virus китът са с CE-маркировка за диагностични китове съгласно Европейската директива за ин витро диагностика 98/79/EC. Не се предлагат във всички страни.

Ограничено лицензионно споразумение

Със закупуването и използването на този продукт всеки купувач или потребител на *artus* HBV RG PCR кит се съгласява за следното:

1. *artus* HBV RG PCR китът може да се използва само в съответствие с Наръчника за *artus HBV RG PCR кит* и да се използва само с компонентите, съдържащи се в кита. QIAGEN не предоставя лиценз за никое от своите интелектуални права за използване или включване на компонентите на този кит към други компоненти, които не са включени в този кит, както е описано в Наръчника *artus HBV RG PCR Kit Handbook* и в допълнителните протоколи налични на www.qiagen.com.
2. При всякакви други условия, различни от изрично посочените в лицензите, QIAGEN не дава гаранция, че този кит и/или неговата употреба(и) няма да наруши правата на трети лица.
3. Този кит и неговите компоненти са лицензирани за еднократна употреба и не могат да се използват повече от веднъж, да се почистват или препродават.
4. QIAGEN изрично отхвърля всякакви други лицензи, преки или косвени, освен тези, които са изрично одобрени.
5. Купувачът или потребителят на кита се съгласява да не предприема или да позволява на някой друг да предприема стъпки, които биха довели до или до улесняване на каквито и да било действия, посочени като забранени по-нагоре. QIAGEN е в правото си да налага забрани по този ограничен лиценз във всеки съд, и ще си възстановява всички съдебни разходи и разходи за разследвания, включително хонорари на адвокати, при действия за изпълнение на настоящото лицензно споразумение или за защита на своите интелектуални права, свързани с този кит и/или неговите компоненти.

Актуални условия на лицензите можете да намерите на www.qiagen.com.

© 2009–2014 QIAGEN, Всички права са запазени.

www.qiagen.com

Австралия ■ Телефон за поръчки 1-800-243-800 ■ Факс 03-9840-9888 ■ Технически сервиз 1-800-243-066
Австрия ■ Телефон за поръчки 0800-28-10-10 ■ Факс 0800-28-10-19 ■ Технически сервиз 0800-28-10-11
Белгия ■ Телефон за поръчки 0800-79612 ■ Факс 0800-79611 ■ Технически сервиз 0800-79556
Бразилия ■ Телефон за поръчки 0800-557779 ■ Факс 55-11-5079-4001 ■ Технически сервиз 0800-557779
Канада ■ Телефон за поръчки 800-572-9613 ■ Факс 800-713-5951 ■ Технически сервиз 800-DNA-PREP (800-362-7737)
Китай ■ Телефон за поръчки 86-21-3865-3865 ■ Факс 86-21-3865-3965 ■ Технически сервиз 800-988-0325
Дания ■ Телефон за поръчки 80-885945 ■ Факс 80-885944 ■ Технически сервиз 80-885942
Финландия ■ Телефон за поръчки 0800-914416 ■ Факс 0800-914415 ■ Технически сервиз 0800-914413
Франция ■ Телефон за поръчки 01-60-920-926 ■ Факс 01-60-920-925 ■ Технически сервиз 01-60-920-930 ■ За оферти 01-60-920-928
Германия ■ Телефон за поръчки 02103-29-12000 ■ Факс 02103-29-22000 ■ Технически сервиз 02103-29-12400
Хонг Конг ■ Телефон за поръчки 800 933 965 ■ Факс 800 930 439 ■ Технически сервиз 800 930 425
Ирландия ■ Телефон за поръчки 1800 555 049 ■ Факс 1800 555 048 ■ Технически сервиз 1800 555 061
Италия ■ Телефон за поръчки 800-789-544 ■ Факс 02-334304-826 ■ Технически сервиз 800-787980
Япония ■ Телефон 03-6890-7300 ■ Факс 03-5547-0818 ■ Технически сервиз 03-6890-7300
Южна Корея ■ Телефон за поръчки 080-000-7146 ■ Факс 02-2626-5703 ■ Технически сервиз 080-000-7145
Люксембург ■ Телефон за поръчки 8002-2076 ■ Факс 8002-2073 ■ Технически сервиз 8002-2067
Мексико ■ Телефон за поръчки 01-800-7742-639 ■ Факс 01-800-1122-330 ■ Технически сервиз 01-800-7742-436
Холандия ■ Телефон за поръчки 0800-0229592 ■ Факс 0800-0229593 ■ Технически сервиз 0800-0229602
Норвегия ■ Телефон за поръчки 800-18859 ■ Факс 800-18817 ■ Технически сервиз 800-18712
Сингапур ■ Телефон за поръчки 1800-742-4362 ■ Факс 65-6854-8184 ■ Технически сервиз 1800-742-4368
Испания ■ Телефон за поръчки 91-630-7050 ■ Факс 91-630-5145 ■ Технически сервиз 91-630-7050
Швеция ■ Телефон за поръчки 020-790282 ■ Факс 020-790582 ■ Технически сервиз 020-798328
Швейцария ■ Телефон за поръчки 055-254-22-11 ■ Факс 055-254-22-13 ■ Технически сервиз 055-254-22-12
Великобритания ■ Телефон за поръчки 01293-422-911 ■ Факс 01293-422-922 ■ Технически сервиз 01293-422-999
САЩ ■ Телефон за поръчки 800-426-8157 ■ Факс 800-718-2056 ■ Технически сервиз 800-DNA-PREP (800-362-7737)

