



Håndbog til *artus*[®] HCV RG RT-PCR-kit

 24 (Katalognr. 4518263)
 96 (Katalognr. 4518265)

Version 1

IVD

Kvantitativ in vitro-diagnostik

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



REF

4518263, 4518265



1049309DA



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,

TYSKLAND

R5

MAT

1049309DA



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 dig i stand til at opnå enestående succes og gennembrud. Der findes flere oplysninger på www.qiagen.com.

Indhold

Kittet indeholder	4
Symbols	4
Opbevaring	5
Tilsligtet anvendelse	5
Begrænsninger af produktets anvendelse	6
Kvalitetskontrol	6
Advarsler og forholdsregler	6
Indledning	7
Princip	7
Patogeninformation	7
Ydelsesegenskaber	8
Udstyr og reagenser, der skal leveres af bruger	17
Vigtige bemærkninger	18
Almene forsigtighedsregler	18
Prøveindsamling, opbevaring og transport	18
RNA-isolering	20
Intern kontrol	20
Kvantitering	21
Protokol: PCR og dataanalyse	22
Fejlfindingsvejledning	32
Litteraturhenvisninger	35
Bestillingsinformation	36

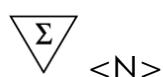
Kittet indeholder

artus HCV RG RT-PCR-kit			(24)	(96)
Katalognr.			4518263	4518265
Antal reaktioner			24	96
Blåt	Hep. C Virus RG Master A		2 x 12 reaktioner	8 x 12 reaktioner
Violet	Hep. C Virus RG Master B		2 x 12 reaktioner	8 x 12 reaktioner
Rødt	Hep. C Virus RG QS 1* (10 ⁴ IU/μl)	QS	200 μl	200 μl
Rødt	Hep. C Virus RG QS 2* (10 ³ IU/μl)	QS	200 μl	200 μl
Rødt	Hep. C Virus RG QS 3* (10 ² IU/μl)	QS	200 μl	200 μl
Rødt	Hep. C Virus RG QS 4* (10 ¹ IU/μl)	QS	200 μl	200 μl
Grønt	Hep. C Virus RG IC [†]	IC	1000 μl	2 x 1000 μl
Hvidt	Vand (PCR kvalitet)		1000 μl	1000 μl
	Håndbog		1	1

* Kvantiteringsstandard.

† Intern kontrol.

Symbols



Indeholder tilstrækkelige reagenser til <N> tests



Anvendes inden



In vitro-diagnostisk medicinsk produkt











Katalognummer



Lot-nummer



Materialenummer


	Komponenter
	Indeholder
	Nummer
	Globalt handelsvarenummer
	Temperaturbegrænsning
	Producent
	Læs brugsvejledningen
	Vigtig bemærkning

Opbevaring

Komponenterne i *artus* HCV RG RT-PCR-kittet skal opbevares ved -30 °C til -15 °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 aliquotter. Må ikke opbevares ved 2-8 °C i mere end fem timer.

Tilsigtet anvendelse

artus HCV RG RT-PCR-kittet er en in vitro nukleinsyreamplifikationstest til kvantitering af hepatitis C-virus (HCV) RNA i humant plasma. Dette diagnostiske testkit benytter revers transkriptions kædereaktion (RT-PCR) og er konfigureret til brug sammen med Rotor-Gene Q-instrumenter. Testen kan kvantitere HCV-RNA i området 65 - 1 x 10⁶ HCV IU/ml.

 *artus* HCV RG RT-PCR-kittet må ikke anvendes sammen med Rotor-Gene Q 2plex-instrumenter.

artus HCV RG RT-PCR-kittet er beregnet til anvendelse i forbindelse med klinisk præsentation og andre laboratoriemarkører for sygdomsprognoсе og til brug som hjælp ved vurdering af viral respons på antiviral behandling målt ved ændringer i HCV-RNA-niveauer i humant EDTA plasma. *artus* HCV RG RT-PCR-

kittet er ikke beregnet til brug som screeningstest for HCV eller som en diagnostisk test til bekræftelse af HCV-infektion.

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 absolut nødvendigt, at protokollen overholdes nøje, 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.

Kvalitetskontrol

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

Advarsler og forholdsregler

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker 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 findes, læses og udskrives.

Kassér prøve- og analyseaffald i henhold til de lokale sikkerhedsbestemmelser.

Indledning

artus HCV RG RT-PCR-kittet udgør et brugsklart system til detektion af HCV-DNA- ved hjælp af polymerasekædereaktion (PCR) på Rotor-Gene Q-instrumenter. Hep. C Virus RG Master A og B indeholder reagenser og enzymer til revers transkription og specifik amplifikation af en 240 bp region af HCV-genomet og til direkte detektion af det specifikke amplikon i fluorescenskanalen Cycling Green af Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q eller Rotor-Gene 6000 eller Cycling A.FAM™ (kilde 470 nm, detektor 510 nm) af Rotor-Gene 3000.

Desuden indeholder *artus* HCV RG RT-PCR-kittet et ekstra heterologt amplifikationssystem til identifikation af mulig PCR-inhibition. Denne detekteres som en intern kontrol (IC) i fluorescenskanalen Cycling Orange på Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q eller Rotor-Gene 6000 eller A.ROX™ (kilde 585 nm, detektor 610 nm) af Rotor-Gene 3000. Detektionsgrænsen for den analytiske HCV RT-PCR (se "Analysefølsomhed", side 8) er ikke reduceret. Der leveres eksterne positive kontroller (Hep. C Virus RG QS 1-4), som tillader bestemmelse af mængden af viralt RNA. For yderligere information, se "Kvantitering", side 21.

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 C er en leverbetændelse forårsaget af viruset af samme navn. I modsætning til de øvrige hepatitis-virus af samme navn - A, B, D eller E, medfører infektion med hepatitis C-virus (HCV) i et stort antal tilfælde til kronisk leversygdom. En infektion med HCV giver ofte ingen symptomer i relativt lang tid. Derfor er de fleste patienter ikke klare over deres HCV-infektion. Men behandlingen er yderst effektiv i de tidligste stadier af sygdommen. I dag er interferon α (i kombination med Ribavirin) den eneste godkendte, effektive behandling. Det er dog også kendt, at kun visse kroniske hepatitis C-patienter responderer på interferon-behandling. Derfor kan denne dyre patientbehandling under visse omstændigheder være ugunstig og have

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

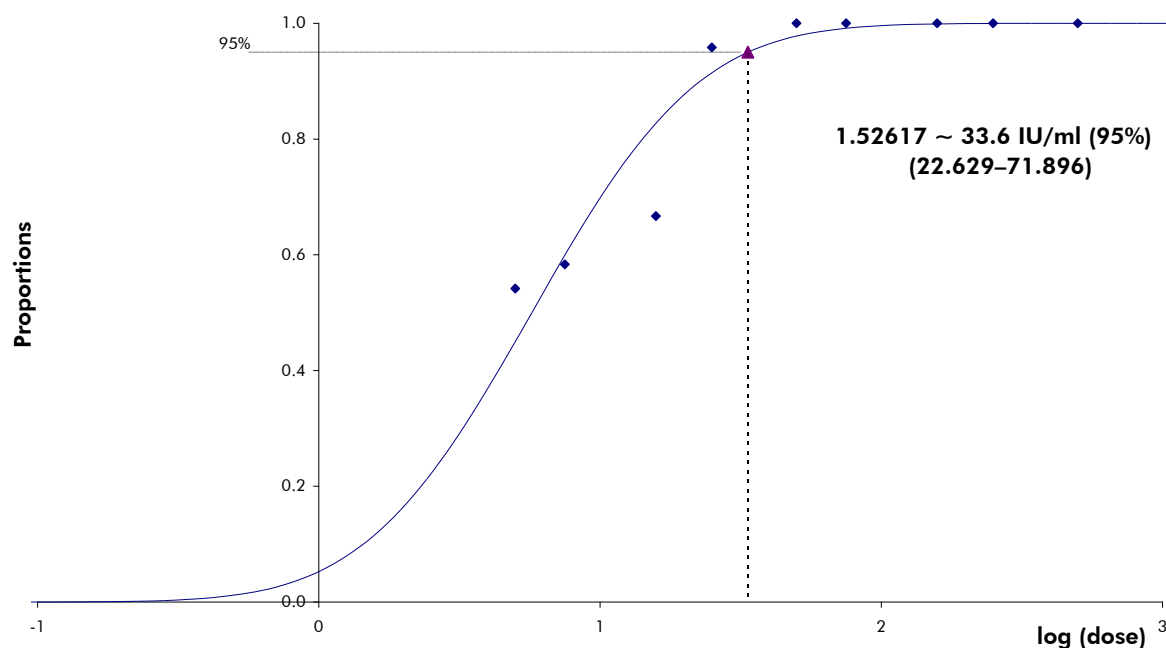
alvorlige bivirkninger, så som nedbrydning af immunsystemet, hvilket medfører forværringer (f.eks. forkølelsessår, udslæt).

Ydelsesegenskaber

Analysefølsomhed

For at bestemme analysefølsomheden for *artus* HCV RG RT-PCR-kittet blev en standardfortyndingsserie fra 10 IU/ μ l til nominelt 0,0316 IU/ μ l in vitro-transkriberede RNA-kopier analyseret med *artus* HCV RG RT-PCR-kittet. Testene blev gennemført på 3 forskellige dage med 8 replika. Resultaterne blev udarbejdet ved hjælp af en probitanalyse. Den analytiske detektionsgrænse for *artus* HCV RG RT-PCR-kittet er 0,19 IU/ μ l ($p = 0,05$). Det vil sige, at der er 95 % sandsynlighed for, at 0,19 IU/ μ l vil blive detekteret.

Den analytiske sensitivitet med hensyn til oprensningen (QIAamp[®] DSP Virus-kit) af *artus* HCV RG RT-PCR-kittet på Rotor-Gene-instrumenter blev bestemt med en fortyndingsrække af WHO International HCV-DNA Standard fra 500 til nominelt 5 HBV IU/ml i kliniske plasmaprøver. Disse blev underkastet en RNA-oprensning med QIAamp DSP Virus Kit (ekstraktionsvolumen: 0,5 ml, elueringsvolumen: 25 μ l). Hver af de 9 fortyndinger blev analyseret med *artus* HCV RG RT-PCR-kittet på 3 forskellige dage med hver 8 replika. Resultaterne blev udarbejdet ved hjælp af en probitanalyse. En grafisk illustration af probitanalysen er vist i figur 1. Den analytiske detektionsgrænse med hensyn til oprensningen af *artus* HCV RG RT-PCR-kittet i kombination med Rotor-Gene-instrumenter er 33,6 IU/ml ($p = 0,05$). Det vil sige, at der er 95 % sandsynlighed for, at 33,6 IE/ml vil blive detekteret.



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

Specificitet

Specificiteten for *artus* HCV RG RT-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. Detekterbarheden for alle relevante undertyper og genotyper er således blevet sikret.

Desuden blev specificiteten valideret med 100 forskellige HCV-negative plasmaprøver. Disse genererede ikke nogen signaler med HCV-specifikke primere og prober, som indgår i Hep. C Virus RG Masters.

En potentiel kryds-reaktivitet i *artus* HCV RG RT PCR-kittet blev testet med den kontrolgruppe, der er angivet i tabel 2. Ingen af de testede patogener har været reaktive. Der viste sig ingen krydsreaktiviteter ved blandede infektioner.

Tabel 1. Testning af relevante genotypers specificitet

Virus	Genotype	Kilde	HCV (Cycling Green/ A.FAM)	Intern kontrol (Cycling Orange/ A.ROX)
Hepatitis C-virus	1	NIBSC, HemaCare, Essen Universitet	+	+
Hepatitis C-virus	2	NIBSC, HemaCare, Essen Universitet	+	+
Hepatitis C-virus	3	NIBSC, HemaCare, Essen Universitet	+	+
Hepatitis C-virus	4	NIBSC, HemaCare, Essen Universitet	+	+
Hepatitis C-virus	5	NIBSC, HemaCare, Essen Universitet	+	+
Hepatitis C-virus	6	NIBSC, HemaCare, Essen Universitet	+	+

Tabel 2. Testning af kittets specificitet med potentielt krydsreaktive patogener

Kontrolgruppe	HCV (Cycling Green/ A.FAM)	Intern kontrol (Cycling Orange/A.ROX)
Humant immundefektvirus 1	-	+
Hepatitis A-virus	-	+
Hepatitis B-virus	-	+
Humant herpesvirus 1 (herpes simplex-virus 1)	-	+
Humant herpesvirus 2 (herpes simplex-virus 2)	-	+
Humant herpesvirus 3 (varicella-zoster-virus)	-	+

Humant herpesvirus 5 (cytomegalovirus)	-	+
--	---	---

Tabellen fortsættes på næste side

Tabel 2. Fortsat

Kontrolgruppe	HCV (Cycling Green/ A.FAM)	Intern kontrol (Cycling Orange/A.ROX)
Human T-celleleukæmivirus type 1 og type 2	-	+
Humant herpesvirus 6A	-	+
Humant herpesvirus 6B	-	+
Humant herpesvirus 8 (Kaposis sarkom herpes)	-	+
Enterovirus	-	+
Parvovirus B19	-	+
Dengue feber	-	+
Gul feber	-	+
<i>Aspergillus flavus</i>	-	+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	+
<i>Candida albicans</i>	-	+
<i>Chlamydia trachomatis</i>	-	+
<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	+
<i>Filobasidiella neoformans</i>	-	+
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-	+
<i>Pneumocystis carinii</i>	-	+
<i>Staphylococcus sp.</i>	-	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	-	+

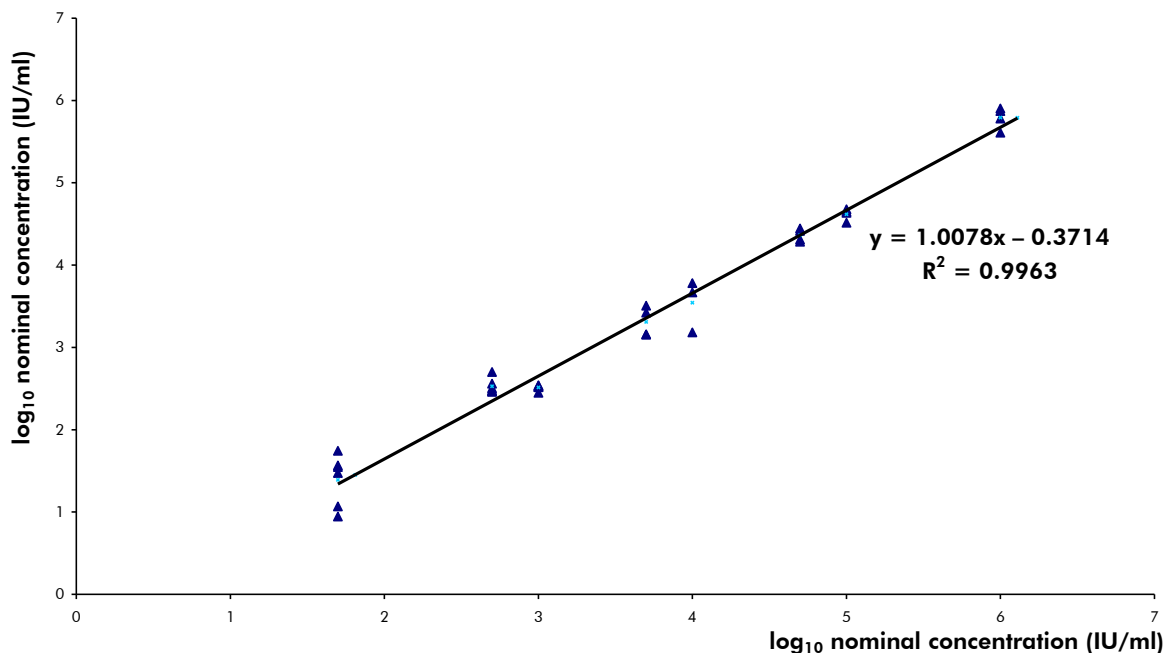
Det lineære område af kvantificeringen

Det lineære område (analytisk måling) af *artus* HCV RG RT-PCR-kittet blev bestemt ved at analysere en fortyndingsrække af en HCV in vitro transkript fra 1×10^7 IU/ μ l til 1 IU/ μ l. Fortyndingsrækken blev i forvejen kalibreret imod den "WHO 1st International HCV DNA Standard".

Ethvert fortyndingstrin blev testet i replika ($n = 8$) med *artus* HCV RG RT-PCR-kittet på Rotor-Gene-instrumenter.

Det lineære område af kvantificeringen af *artus* HCV RG RT-PCR-kittet omfatter dermed koncentrationer fra 1 IU/ μ l til minimum 1×10^7 IU/ μ l.

Det lineære område med hensyn til oprensningen af *artus* HCV RG RT-PCR-kittet blev bestemt ved analyse af prøver fra Acrometrix. Oprensningen blev udført i replika ($n = 6$) fra 50 IU/ml til 10^3 IU/ml og i replika ($n = 4$) fra 5×10^3 IU/ml til 10^6 IU/ml ved hjælp af QIAamp DSP Virus-kittet (ekstraktionsvolumen: 0,5 ml, elueringsvolumen: 25 μ l). Hver af prøverne blev analyseret med *artus* HCV RG RT-PCR-kittet på Rotor-Gene-instrumenter. Det lineære område med hensyn til oprensningen af *artus* HCV RG RT-PCR-kittet omfatter dermed koncentrationer fra 65 IU/ μ l til minimum 10×6^2 IU/ μ l (se figur 2).



Figur 2. Lineært område for *artus* HCV RG RT-PCR-kittet. Beregning af det lineære område med hensyn til oprensningen. 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

Præcisionsdata for *artus* HCV RG RT-PCR-kittet tillader bestemmelse af totalvariansen (samlet spredning) af testsystemet. 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* HCV RG RT-PCR-kittet på baggrund af kvantificeringsstandarder med den laveste koncentration (QS 4; 10 IU/ μ l). Testene blev foretaget med 8 replika. Præcisionsdata blev beregnet på basis af C_T -værdierne af amplifikationskurverne (C_T : tærskelcyklus, se tabel 3). Desuden blev præcisionsdata for kvantitative resultater i IU/ μ l bestemt ved hjælp af de tilsvarende C_T -værdier (se tabel 4). Baseret på disse resultater er den samlede statistiske spredning af enhver given prøve med den nævnte koncentration 1,52 % (C_T) eller 25,71 % (koncentration) og 0,75 % (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

	C_T - værdi	Standardafvigelse	Variationskoefficient (%)
Variabilitet inden for analysen: Hep. C Virus RG QS 4	32,81	0,09	0,28
Variabilitet inden for analysen: Hep. C Virus RG IC	30,04	0,08	0,27
Variabilitet mellem analyser: Hep. C Virus RG QS 4	32,14	0,5	1,57

Variabilitet mellem analyser: Hep. C Virus RG IC	30,23	0,22	0,71
Variabilitet mellem batches: Hep. C Virus RG QS 4	32,56	0,48	1,46
Variabilitet mellem batches: Hep. C Virus RG IC	30,28	0,24	0,78
Total varians: Hep. C Virus RG QS 4	32,41	0,49	1,52
Total varians: Hep. C Virus RG IC	30,29	0,29	0,75

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

	Standardafvigelse	Varians	Variationskoefficient (%)
Variabilitet inden for analysen: Hep. C Virus RG QS 4	0,64	0,41	6,34
Variabilitet mellem analyser: Hep. C Virus RG QS 4	1,00	1,00	9,93
Variabilitet mellem batches: Hep. C Virus RG QS 4	3,92	15,34	37,35

Total varians:			
Hep. C Virus	2,63	6,93	25,71
RG QS 4			

Robusthed

Kontrol af robustheden bruges til bestemmelsen af den samlede udskillelsesrate for *artus* HCV RG RT-PCR-kittet. For at verificere robustheden fik 100 HCV-negative plasmaprøver tilsat 2 IU/ μ l elueringsvolumen HCV-kontrol-RNA (cirka tre gange koncentrationen af den analytiske sensitivitetsgrænse). Efter oprensningen med QIAamp DSP Virus Kit blev disse prøver analyseret med *artus* HCV RG RT-PCR-kittet. Fejlraten udgjorde for alle HCV-prøver 0 %. Robustheden af den interne kontrol blev yderligere kontrolleret gennem oprensning og analyse af 100 HCV-negative plasmaprøver. Den samlede fejlrate var 0 %. Der observeredes ingen inhibition. Dermed er robustheden for *artus* HCV RG RT-PCR-kittet ≥ 99 %.

Reproducerbarhed

Dataene for reproducerbarheden registreres for at kunne foretage en regelmæssig vurdering af effekten af *artus* HCV RG RT-PCR-kittet samt for en sammenligning med effekten af andre produkter. Disse data indhentes ved deltagelse i standardiserede præstationsprogrammer.

Diagnostisk evaluering

artus HCV RG RT-PCR-kittet blev vurderet i et studie. Ved sammenligning af *artus* HCV RG RT-PCR-kittet med COBAS[®] TaqMan[®] HCV Test blev 276 plasmaprøver analyseret retrospektivt. Alle plasmaprøver blev foranalyseret positive eller negative ved hjælp af COBAS TaqMan HCV Test til rutinediagnosticering.

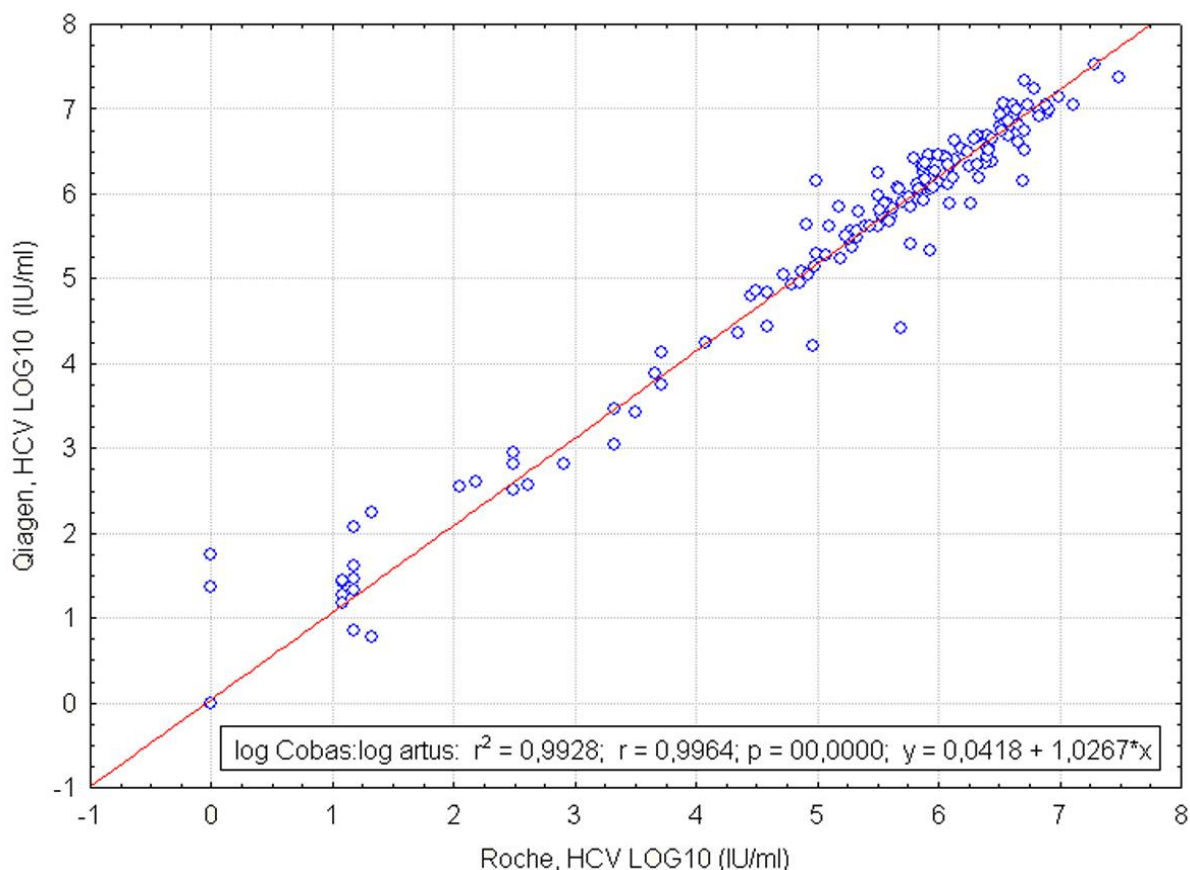
HCV-RNA'et til test af *artus* HCV RG RT-PCR-kittet blev isoleret ved hjælp af QIAamp DSP Virus-kittet, og analysen blev udført på Rotor-Gene 6000-instrumentet. Til sammenlignende test med COBAS TaqMan HCV Assay blev HCV-RNA analyseret ifølge producentens anvisninger i indlægssedlen. De resultater, der blev opnået med *artus* HCV RG PCR-kittet, blev sammenlignet med resultaterne af COBAS TaqMan HCV Test (se tabel 5 og figur 3).

137 af 139 prøver, der blev testet positive med COBAS TaqMan HCV Test, var også positive med *artus* HCV RG RT-PCR-kittet. Alle 137 prøver, der blev testet negative med COBAS TaqMan HCV Test, var også negative med *artus* HCV RG RT-PCR-kittet.

Hvis resultaterne af COBAS TaqMan HCV Test ruges som reference, er den diagnostiske følsomhed 100 %, og den diagnostiske specificitet er 98,6 %.

Tabel 5. Resultaterne af de 276 analyserede retrospektive EDTA-plasmaprøver

		COBAS TaqMan HCV Test		
		+	-	Samlet
artus HCV RG RT-PCR-kit	+	137	2	139
	-	0	137	137



Figur 3. Sammenligning af COBAS TaqMan HCV Test (Roche, HCV; med prøveoprensning med COBAS AmpliPrep system) med artus HCV RG RT-PCR-kittet (QIAGEN, HCV; 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, engangshandsker 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.

- RNA-isoleringskit (se "RNA-isolering", side 20)
- Pipetter (justerbare)*
- Sterile pipettespidser med filtre
- Vortex-mixer*
- Bordcentrifuge* med rotor til 2 ml reagensglas
- Rotor-Gene Q Mdx-, Rotor-Gene Q- eller Rotor-Gene-instrument*[†] med fluorescenskanaler til Cycling Green og Cycling Orange eller med fluorescenskanaler til Cycling A.FAM og Cycling A.ROX
- Rotor-Gene Q Mdx/Rotor-Gene Q-softwareversion 1.7.94 eller nyere (Rotor-Gene 6000 softwareversion 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94, Rotor-Gene 3000 softwareversion 6.0.23)
- Striprør og hætter, 0,1 ml, til brug med 72-brøndsrotor (katalognr. 981103 eller 981106)
- Alternativ mulighed: PCR-rør, 0,2 ml, til brug med 36-brøndsrotor (katalognr. 981005 eller 981008)
- Cooling block (Loading Block 72 x 0,1 ml rør, katalognr. 9018901 eller Loading Block 96 x 0,2 ml rør, katalognr. 9018905)

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

[†] *artus* HCV RG RT-PCR-kittet må ikke anvendes sammen med Rotor-Gene Q 2plex-instrumenter.

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

i Alle prøver skal behandles som potentielt smittefarlige.

Det er kun tilladt at bruge følgende prøvematerialer, og følgende regler og specifikke vejledninger vedrørende indsamling, transport og opbevaring skal nøje overholdes.

i Hidtil foreliggende data viser, at EDTA- eller citrat-plasma er de prøvematerialer, som er bedst egnet til detektion af HCV. Vi anbefaler derfor, at disse materialer anvendes med *artus* HCV RG RT-PCR-kittet.

Den interne validering af *artus* HCV RG RT-PCR-kittet blev gennemført med prøver af humant EDTA-plasma. Andre prøvematerialer er ikke valideret. Du bør udelukkende bruge det anbefalede RNA-isolerings-kit (se "RNA-isolering", side 20) til klargøring af prøver.

Ved brug af visse prøvematerialer skal specifikke vejledninger vedrørende indsamling, transport og opbevaring 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).

i Prøver fra hepariniserede personer må ikke anvendes (se "Forstyrrende substanser", side 19).

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. Effekten af testen kan nedsættes, når prøverne nedfryses flere gange og opbevares i en længere tid. Virus-indkapslet RNA 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. Det anbefales ikke at prøven opbevares på aftagelsesstedet. Transport som almindelig postforsendelse er mulig, dog skal forskrifterne for opbevaring overholdes under transporten. Vi anbefaler, at prøven transporteres med kurer. Blodprøverne skal sendes på køl (2-8 °C) og separeret plasma i dybfrosen 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.

* 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).

RNA-isolering

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

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* HCV RG RT-PCR-kittet kan bruges direkte i isoleringsproceduren (se "Intern kontrol" nedenfor). Sørg for også at behandle en negativ plasmaprøve i oprensningen. Signalet af den deri indeholdte interne kontrol er grundlaget for oprensningens vurdering

Intern kontrol

Der medfølger en intern kontrol (Hep. C Virus RG IC). Dette giver brugeren mulighed for både at kontrollere RNA-isoleringsproceduren og kontrollere for mulig PCR-inhibition. 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 RNA'et i 60 μ l elueringsbuffer (AVE). Derfor bør 6 μ l af den interne kontrol tilsættes initialt.

i Den interne kontrol og carrier-RNA (se "RNA-isolering" herover) 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. Alternativt kan den interne kontrol anvendes udelukkende til kontrol af en mulig PCR-inhibition. Til denne anvendelse tilsættes den interne kontrol direkte til blandingen af Hep. C Virus RG Master A og Hep. C Virus RG Master B som beskrevet i trin 2b i protokollen (side 23).

Kvantitering

De medfølgende kvantiteringsstandarder (Hep. Virus RG QS 1-4) behandles som en allerede oprenset prøve og anvendes i samme volumen (20 μ l). For at generere en standardkurve på Rotor-Gene Q-instrumenter bør alle 4 kvantiteringsstandarder bruges og defineres i dialogboksen "Edit Samples" (Rediger prøver) som standarder med de specificerede koncentrationer (se instrumentets brugervejledning).

i Kvantiteringsstandarderne defineres som IU/ μ l.* Følgende formel skal anvendes til at omregne de værdier, som er bestemt ved hjælp af standardkurven, til IE/ml prøvemateriale:

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

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

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

Protokol: PCR og dataanalyse

Vigtige anvisninger før start

- Før proceduren påbegyndes, bør "Vigtige bemærkninger", side 18-21 gennemlæses.
- Brug tid på at blive fortrolig med Rotor-Gene Q-instrumentet, før protokollen startes. 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 medfølgende 4 kvantiteringsstandarder (Hep. C Virus RG QS 1-4) til hver PCR-kørsel.

Ting, der skal gøres før start

- Sørg for, at køleblokken (tilbehør 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 du anvender den interne kontrol til at monitorere oprensningen af RNA og til at kontrollere en eventuel inhibition af PCR, følges trin 2a. Hvis du 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 20). I dette tilfælde klargøres en Master Mix ifølge tabel 6.**

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

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

Antal prøver	1	12
Hep. C Virus RG Master A	12 μ l	144 μ l
Hep. C Virus RG Master B	18 μ l	216 μ l
Hep. C Virus RG IC	0 μ l	0 μ l
Totalt volumen	30 μl	360 μl

- 2b. Den interne kontrol skal tilsættes direkte til blandingen af Hep. C Virus Master A og Hep. C Virus Master B. 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 PCR-inhibition)

Antal prøver	1	12
Hep. C Virus RG Master A	12 μ l	144 μ l
Hep. C Virus RG Master B	18 μ l	216 μ l
Hep. C Virus RG 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-RNA (se tabel 8). Der skal tilsvarende bruges 20 μ l af mindst én af kvantiteringsstandarderne (Hep. Virus RG QS 1-4) som positiv kontrol og 20 μ l vand (vand, PCR-kvalitet) som negativ kontrol.**

Tabel 8. Opsætning af PCR-reaktion

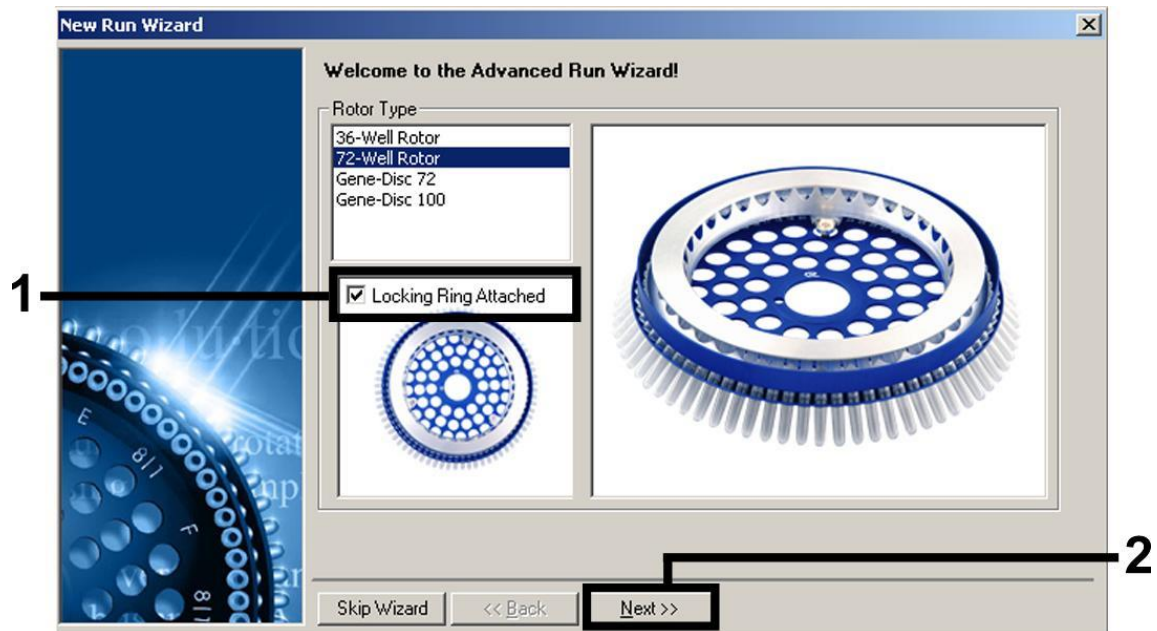
Antal prøver	1	12
Master-blanding	30 µl	30 µl hver
Prøve	20 µl	20 µl hver
Totalt volumen	50 µl	50 µl hver

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. **Til detektion af HCV-RNA oprettes en temperaturprofil i henhold til de følgende trin.**

Indstilling af generelle analyseparametre	Figur 4, 5, 6
Revers transkription af RNA	Figur 7
Indledende aktivering af hot-start enzymet	Figur 8
Amplifikation af cDNA'et	Figur 9
Justering af fluorescenskanalens følsomhed	Figur 10
Start af kørsel	Figur 11

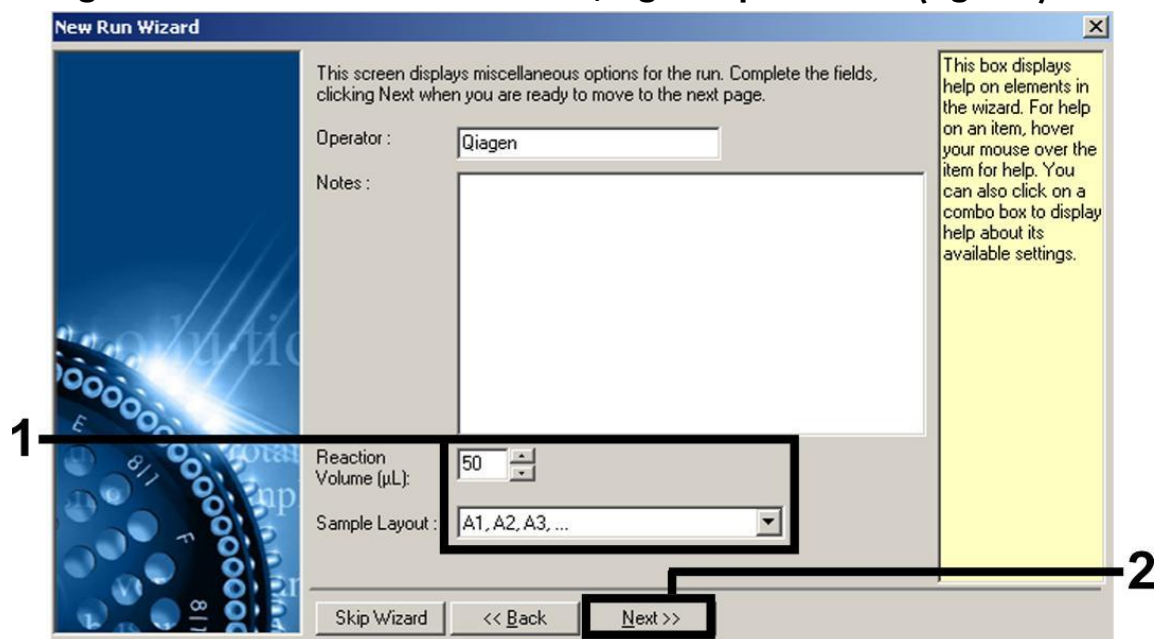
Alle specifikationer henviser til Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q softwareversion 1.7.94 (Rotor-Gene 6000 softwareversion 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94 og Rotor-Gene 3000 softwareversion 6.0.23). Yderligere oplysninger om programmering af Rotor-Gene Q-instrumenter kan ses i instrumentets brugervejledning. I illustrationerne 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).



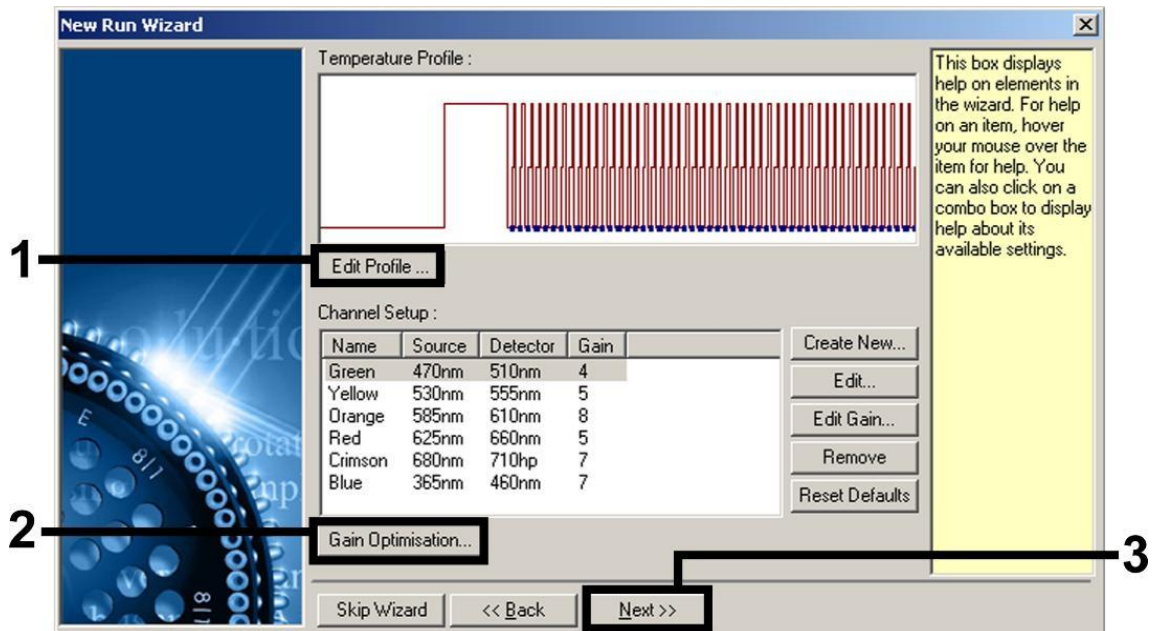
Figur 4. Dialogboksen "New Run Wizard".

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

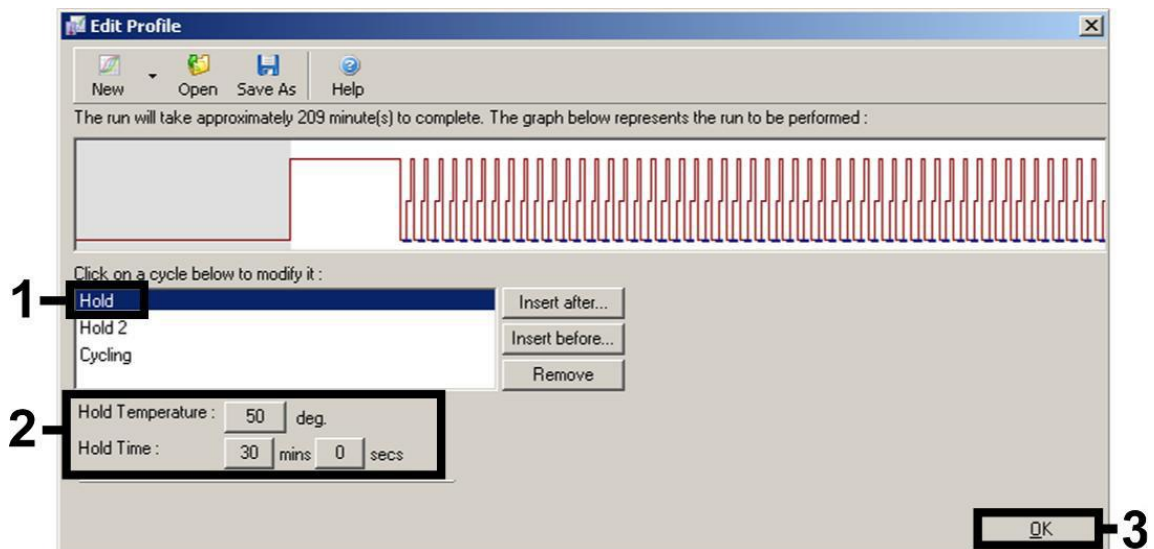


Figur 5. Indstilling af generelle analyseparametre.

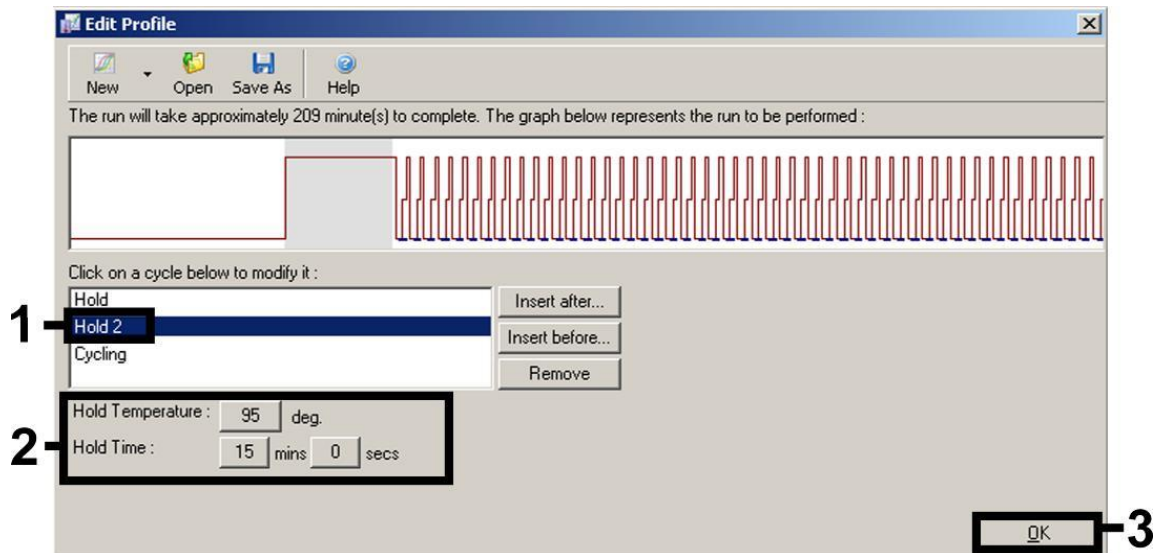
8. Klik på knappen "Edit Profile" (Rediger profil) i den næste dialogboks "New Run Wizard" (figur 6) og programmer temperaturprofilen som vist i figur 6-9).



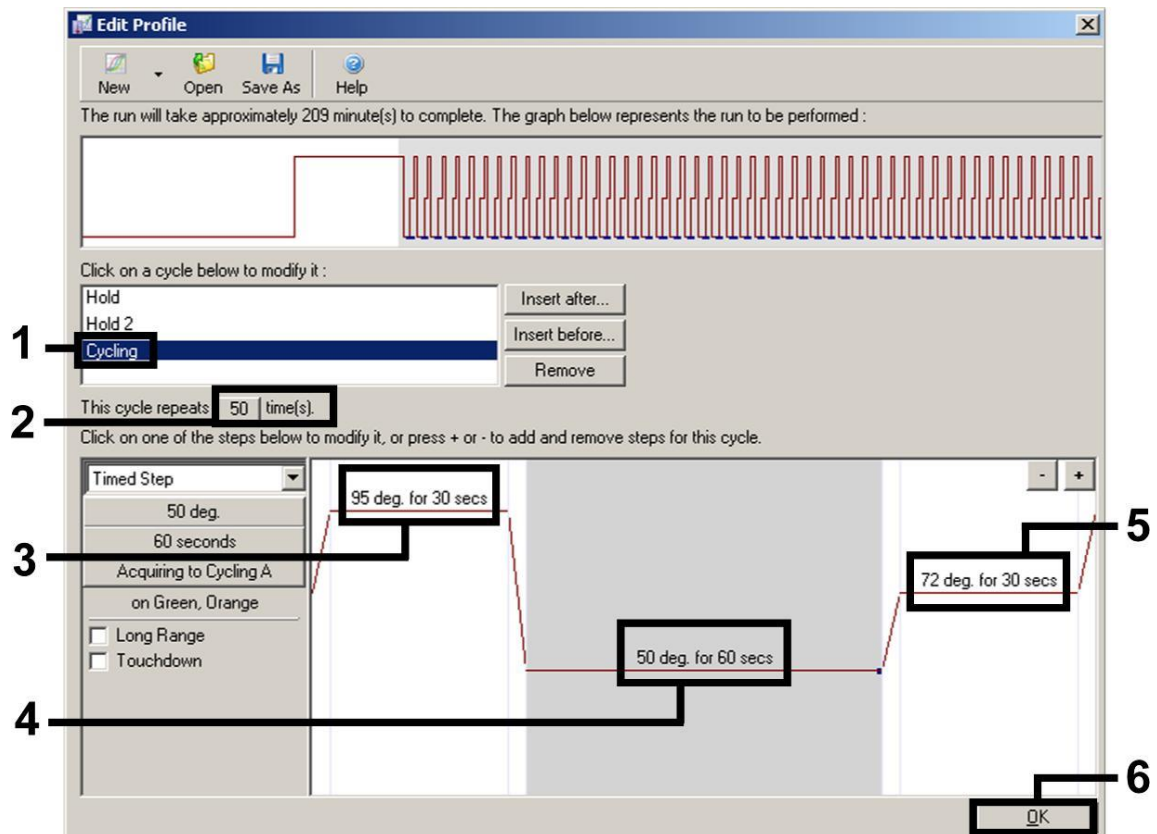
Figur 6. Redigering af profilen.



Figur 7. Revers transkription af RNA.

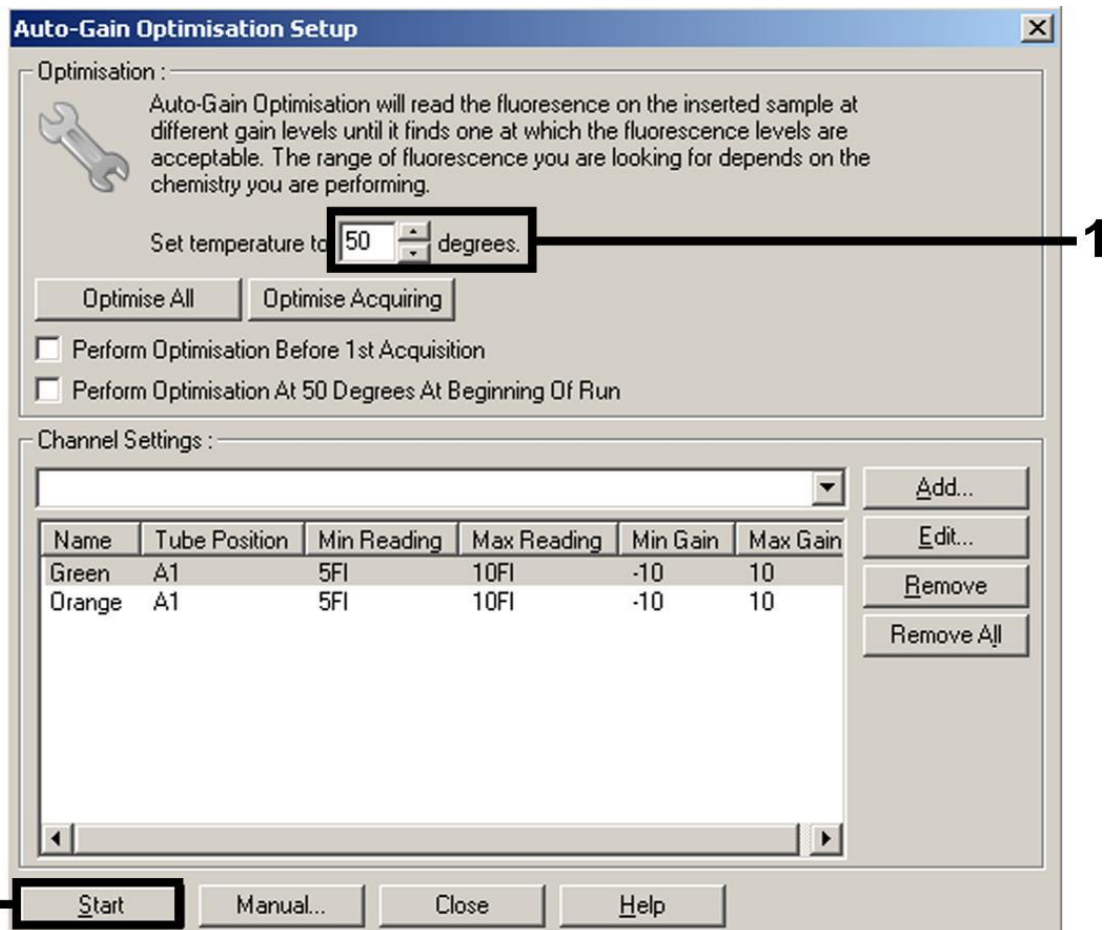


Figur 8. Indledende aktivering af hot-start enzymet.



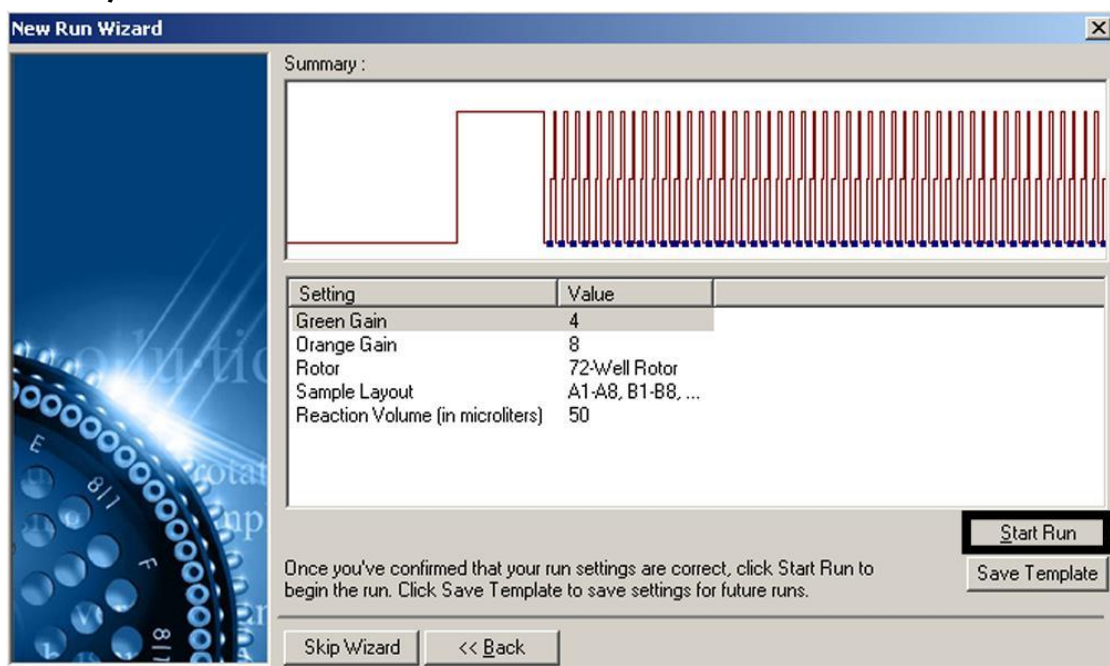
Figur 9. Amplifikation af cDNA'et. Bemærk, at softwaren på Rotor-Gene 3000 vil definere fluorescensfarver som "FAM/Sybr, ROX".

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 50 for at matche amplifikationsprogrammets afhærdningstemperatur (figur 10).



Figur 10. Justering af fluorescenskanalens følsomhed. Bemærk, at softwaren på Rotor-Gene 3000 vil definere fluorescensfarver som "FAM/Sybr" og "ROX".

10. Gain-værdierne, der bestemmes af kanalkalibreringen, gemmes automatisk og angives i det sidste menuvindue i programmeringsproceduren (figur 11). Klik på "Start Run" (Start kørsel).



Figur 11. Start kørslen. Bemærk, at softwaren på Rotor-Gene 3000 vil definere fluorescensfarver som "FAM/Sybr" og "ROX".

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

Eksempler på positive og negative PCR-reaktioner er givet i figur 12 og figur 13.

Tabel 9 indeholder retningslinjer vedrørende tolkning af kvantitative resultater.

- 11a. Der er detekteret et signal i fluorescenskanalen Cycling Green. Analysens resultat er positivt: prøven indeholder HCV-RNA.

I dette tilfælde er detektion af et signal i kanalen Cycling Orange unødvendigt, idet høje indledende koncentrationer af HCVRNA (positivt signal i Cycling Green-kanalen) kan medføre reduceret eller manglende fluorescenssignal fra den interne kontrol i Cycling Orange-kanalen (konkurrence).



Bemærk, at de relevante kanaler på Rotor-Gene 3000 er Cycling A.FAM for det positive signal og Cycling A.ROX 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 Orange-kanalen.

I prøven kan der ikke påvises HCV-RNA. Den kan betragtes som negativ.

I tilfælde af en negativ HCV RT-PCR udelukker det detekterede signal af den interne kontrol muligheden for RT-PCR-inhibition.

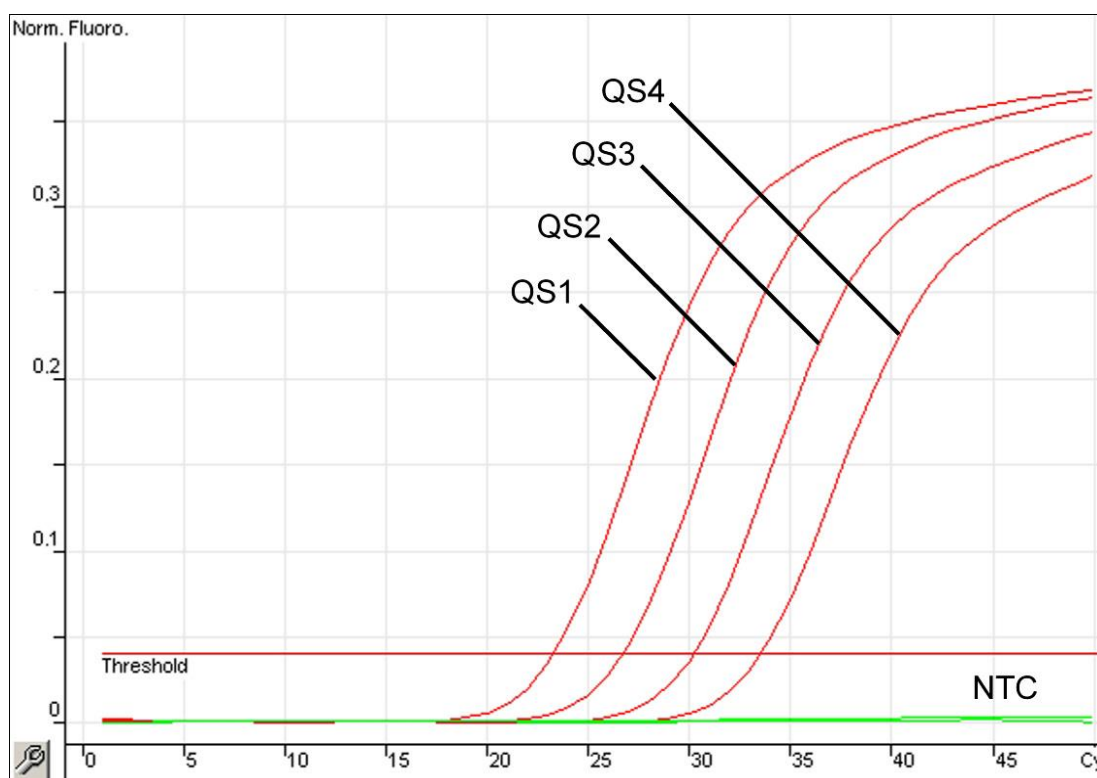
i Bemærk, at de relevante kanaler på Rotor-Gene 3000 er Cycling A.ROX for den interne kontrol og intet signal for Cycling A.FAM.

11c. Intet signal detekteret i Cycling Green eller Cycling Orange-kanalerne.

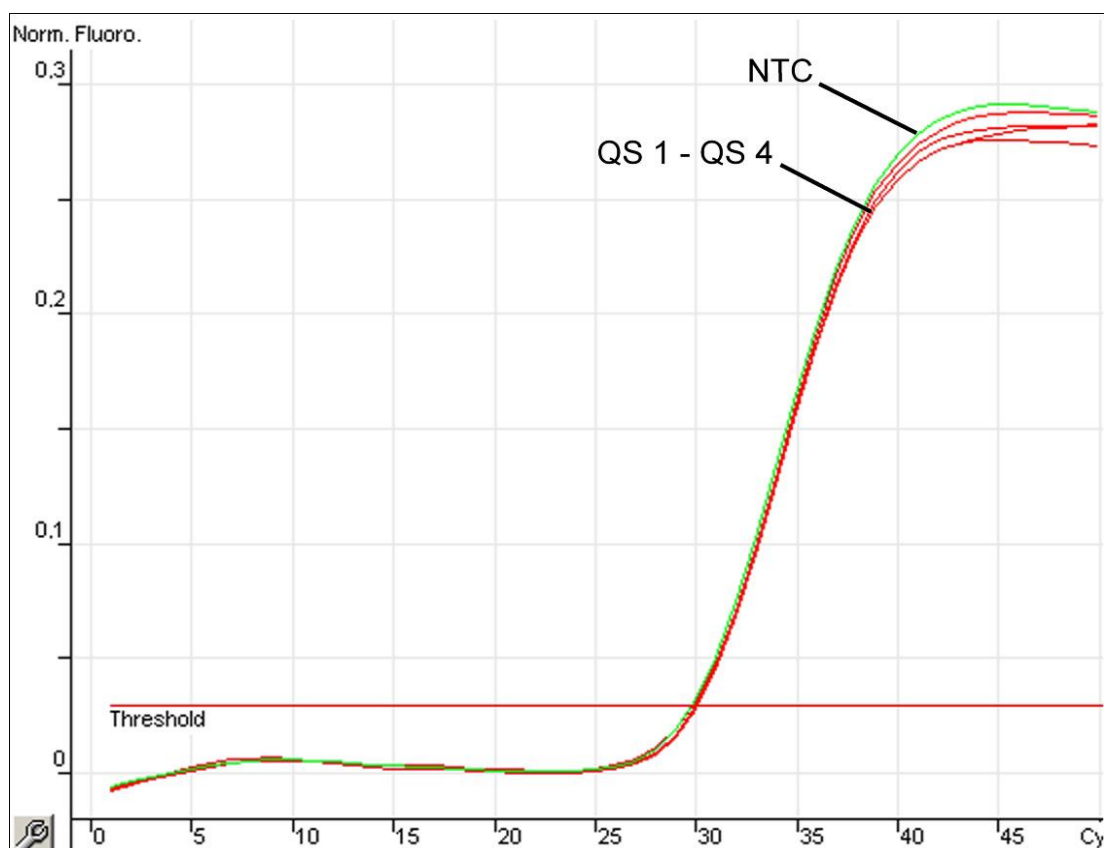
Der kan ikke udledes noget resultat.

Information vedrørende fejlkilder og deres løsning kan findes i "Fejlfindingsvejledning", side 32.

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



Figur 12. Detektion af kvantiteringsstandarderne (Hep. C Virus RG QS 1-4) i fluorescenskanalen Cycling Green. NTC: Ingen skabelonkontrol (negativ kontrol).



Figur 13. Detektion af den interne kontrol (IC) i fluorescenskanalen Cycling Orange med samtidig amplifikation af kvantiteringsstandarderne (Hep. C Virus RG QS 1-4). NTC: Ingen skabelonkontrol (negativ kontrol).

Tabel 9. Tolkning af kvantitative resultater

Resultat	Tolkning
HCV-RNA >34 IU/ml	Resultatet ligger inden for det bestemte testområde. Detektionssandsynligheden for HCV-RNA is >95 %. Det positive testresultat er statistisk sikret.
HCV-RNA <34 IU/ml	Resultatet ligger uden for det bestemte testområde. Reproducerbarheden af det positive resultat er ikke garanteret.
HCV-RNA negativ	Intet HCV-RNA blev detekteret.






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 (Hep. C Virus RG QS 1-4) i fluorescenskanalen 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 HCV RT-PCR og fluorescenskanalen Cycling Orange eller Cycling A.ROX til den interne kontrol RT-PCR. |
| b) Ukorrekt programmering af temperaturprofilen for Rotor-Gene-instrumentet |  Sammenlign temperaturprofilen med protokollen. Se "Protokol: PCR og dataanalyse", side 22. |
| c) Ukorrekt konfiguration af PCR |  Kontrollér dine arbejdsstrin ved hjælp af pipetteringsskemaet, og gentag PCR, hvis det er nødvendigt. Se "Protokol: PCR og dataanalyse", side 22. |
| d) Opbevaringsbetingelserne for en eller flere kitkomponenter var ikke i overensstemmelse med de instruktioner, der er angivet i "Opbevaring" (side 5) |  Kontrollér opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit. |
| e) <i>artus</i> HCV RG RT-PCR-kittet er udløbet |  Kontrollér opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit. |

Kommentarer og forslag

Svagt eller intet signal fra den interne kontrol i fluorimeterkanalen Cycling Orange eller Cycling A.ROX og samtidigt fravær af signal i kanalen Cycling Green eller Cycling A.FAM

- a) PCR-betingelserne stemmer ikke overens med protokollen
- ⓘ Kontrollér PCR-betingelserne (se herover), og gentag om nødvendigt PCR med korrigerede indstillinger.
- b) PCR blev hæmmet
- ⓘ Sørg for at bruge den anbefalede isoleringsmetode, og følg producentens vejledning nøje.
- ⓘ Sørg for, at det anbefalede ekstra centrifugeringstrin er udført under RNA-isoleringen før eluering for at fjerne evt. rester af ethanol (se "RNA-isolering", side 20).
- c) Der foreligger tab af RNA forårsaget af oprensningen
- ⓘ Hvis den interne kontrol er tilsat til ekstraktionen, kan et manglende signal fra den interne kontrol være tegn på tab af RNA under ekstraktionen. Sørg for at bruge den anbefalede isoleringsmetode (se "RNA-isolering", side 20), og følg producentens vejledning nøje.
- d) Opbevaringsbetingelserne for en eller flere kitkomponenter var ikke i overensstemmelse med de instruktioner, der er angivet i "Opbevaring" (side 5)
- ⓘ Kontrollér opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit.
- e) *artus* HCV RG RT-PCR-kittet er udløbet
- ⓘ Kontrollér 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) Der er sket en kontamination under klargøring af PCR
- ① Gentag PCR med 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 en 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.
<i>artus</i> HCV RG RT-PCR-kit (24)	Til 24 reaktioner: 2 Masters, 4 kvantiteringsstandarder, intern kontrol, vand (PCR-kvalitet)	4518263
<i>artus</i> HCV RG RT-PCR-kit (96)	Til 96 reaktioner: 2 Masters, 4 kvantiteringsstandarder, intern kontrol, vand (PCR-kvalitet)	4518265
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, spalte-ekstendere og VacConnectors	60704
Rotor-Gene Q MDx og tilbehør		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Realtids-PCR-cycler med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet), bærbar computer, software, tilbehør: Inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn. Installation og uddannelse ikke inkluderet	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Realtids-PCR-cycler med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet), bærbar computer, software, tilbehør: Inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002023
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: Inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn. Installation og uddannelse ikke inkluderet	9002032

Produkt	Indhold	Kat. nr.
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: Inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Realtids-PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grøn, gul, orange, rød, violet), inkl. bærbar computer, software, tilbehør: Inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn. Installation og uddannelse ikke inkluderet	9002042
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Realtids-PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grøn, gul, orange, rød, violet), inkl. bærbar computer, software, tilbehør: Inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002043
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
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.

Denne side skal være tom

Ved køb af dette produkt må køber anvende det til at udføre diagnostiske tjenester til human in vitro-diagnostik. Der gives ikke hermed noget generelt patent eller anden form for licens end denne specifikke brugsret via købet.

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

Aftale om begrænset licens

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

1. *artus* HCV RG RT-PCR-kittet må kun bruges i overensstemmelse med håndbogen til *artus* HCV RG RT-PCR-kittet, 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 håndbogen til *artus* HCV RG RT-PCR-kit 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 retsomsomkostninger, 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.

© 2015 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)

