

Prosinac 2014.

Priručnik za *artus*[®] EBV RG PCR Kit



24 (kataloški br. 4501263)



96 (kataloški br. 4501265)

Verzija 1

IVD

Kvantitativna in vitro dijagnostika

Za uporabu s instrumentima Rotor-Gene[®] Q



REF

4501263, 4501265



1046897HR



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, NJEMAČKA

R5

MAT

1046897HR



QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN je vodeći pružatelj inovativnih tehnologija uzorkovanja i ispitivanja koje omogućuju izolaciju i detekciju sadržaja bilo kojeg biološkog uzorka. Naši napredni proizvodi i usluge visoke kvalitete osiguravaju uspješno dobivanje rezultata za uzorke.

QIAGEN postavlja standarde u sljedećim područjima:

- pročišćavanje DNK, RNK i proteina
- ispitivanja nukleinskih kiselina i proteina
- istraživanje mikroRNK i RNAi
- automatizacija tehnologija uzorkovanja i ispitivanja

Naša misija jest omogućiti vam postizanje izvanrednog uspjeha i nova revolucionarna otkrića. Dodatne informacije potražite na stranici www.qiagen.com.

Sadržaj

Namjena	4
Sažetak i objašnjenje	4
Informacije o patogenu	4
Načelo postupka	4
Uključeni materijali	5
Sadržaj kompleta	5
Materijali koji su potrebni, ali nisu isporučeni	6
Upozorenja i mjere opreza	6
Opće mjere opreza	7
Pohrana i rukovanje reagensima	7
Postupak	8
Izolacija DNK	8
Interna kontrola	11
Protokol: PCR i analiza podataka	12
Tumačenje rezultata	18
Kvantifikacija	18
Sažetak	19
Vodič za rješavanje problema	21
Kontrola kvalitete	23
Ograničenja	23
Radne značajke	24
Analitička osjetljivost	24
Specifičnost	24
Ponovljivost	25
Referencije	26
Simboli	27
Kontaktни podaci	27
Informacije za naručivanje	28

Namjena

artus EBV RG PCR Kit je in vitro test na temelju amplifikacije nukleinske kiseline za kvantifikaciju DNK Epstein-Barrova virus (EBV-a) u humanoj plazmi, serumu, cerebrospinalnoj tekućini ili krvnim stanicama. U ovom kompletu za dijagnostičko testiranje primjenjuje se lančana reakcija polimerazom (polymerase chain reaction, PCR) i namijenjen je za uporabu s instrumentima Rotor-Gene Q.

Sažetak i objašnjenje

Komplet *artus* EBV RG PCR Kit sustav odmah je spreman za uporabu za detekciju DNK EBV-a primjenom lančane reakcije polimerazom (PCR) na instrumentima Rotor-Gene Q. EBV RG Master sadrži reagense i enzime za specifičnu amplifikaciju regije 97 bp EBV genoma te za izravnu detekciju specifičnog ampikona u kanalu fluorescencije Cycling Green (Cikliranje zeleno) instrumenta Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q ili Rotor-Gene 6000 odnosno u kanalu fluorescencije Cycling A.FAM™ (Cikliranje A.FAM) instrumenta Rotor-Gene 3000.

Osim toga, komplet *artus* EBV RG PCR Kit sadrži drugi heterologni sustav za amplifikaciju za detekciju moguće inhibicije PCR-a. Ta se detekcija odvija kao interna kontrola (internal control, IC) u kanalu fluorescencije Cycling Yellow (Cikliranje žuto) instrumenta Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q ili Rotor-Gene 6000 odnosno Cycling A.JOE™ (Cikliranje A.JOE) instrumenta Rotor-Gene 3000. Granica detekcije PCR reakcije za analizu EBV-a (pogledajte „Analitička osjetljivost”, stranica 24) ne smanjuje se. Isporučuju se vanjske pozitivne kontrole (EBV RG QS 1–4) koje omogućuju određivanje količine virusnog DNK. Za dodatne informacije pogledajte „Kvantifikacija”, stranica 18.

Informacije o patogenu

Epstein-Barrov virus (EBV) prenosi se oralno, uglavnom putem zaražene sline. Općenito, infekcija EBV-om, osobito ako do nje dođe u djetinjstvu, je asimptomatska. Klinički znak akutne infekcije je infektivna mononukleoza povezana s vrućicom, umorom i anginom te upalom limfnih čvorova i slezene. Kod nekih pacijenata ti se simptomi ponovno pojavljuju kronično. Teški oblici EBV infekcije mogu se pojaviti kod pacijenata s imunodeficijencijom i osoba s defektima T stanica.

Načelo postupka

Detekcija patogena lančanom reakcijom polimerazom (PCR) temelji se na amplifikaciji specifičnih regija genoma patogena. Prilikom PCR-a u stvarnom vremenu amplificirani produkt detektira se s pomoću fluorescentnih boja. One su obično vezane s oligonukleotidnim probama koje se vežu specifično za amplificirani produkt. Praćenje intenziteta fluorescencije tijekom PCR-a (tj. u stvarnom vremenu) omogućuje detekciju i kvantifikaciju akumuliranog

produkta, a da nije potrebno ponovno otvaranje reakcijskih epruveta nakon postupka PCR-a.*

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

Uključeni materijali

Sadržaj kompleta

artus EBV RG PCR Kit		(24)	(96)
Kataloški br.		4501263	4501265
Broj reakcija		24	96
Plava	EBV RG Master	2 x 12 reakcija	8 x 12 reakcija
Crvena	EBV RG QS 1* (5 x 10 ⁴ kopija/μl)	QS 200 μl	200 μl
Crvena	EBV RG QS 2* (5 x 10 ³ kopija/μl)	QS 200 μl	200 μl
Crvena	EBV RG QS 3* (5 x 10 ² kopija/μl)	QS 200 μl	200 μl
Crvena	EBV RG QS 4* (5 x 10 ¹ kopija/μl)	QS 200 μl	200 μl
Zelena	EBV RG IC [†]	IC 1000 μl	2 x 1000 μl
Bijela	Voda (za PCR)	1000 μl	1000 μl
	Priručnik	 1	1

* Standard za kvantifikaciju.

† Interna kontrola

Materijali koji su potrebni, ali nisu isporučeni

Kad radite s kemikalijama uvijek nosite odgovarajuću laboratorijsku kutu, rukavice za jednokratnu uporabu i zaštitne naočale. Više informacija potražite u odgovarajućim sigurnosno-tehničkim listovima (safety data sheet, SDS) dostupnima kod dobavljača proizvoda.

Reagensi

- Komplet za izolaciju DNK (pogledajte „Izolacija DNK”, stranica 8)

Potrošni materijali

- Sterilni vrhovi pipeta s filtrima
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, za uporabu sa 72 jažice (kat. br. 981103 ili 981106)
- Alternativno: PCR Tubes, 0.2 ml, za uporabu s rotorom s 36 jažica (kat. br. 981005 ili 981008)

Oprema

- Pipete (podesive)*
- Vorteks miješalica*
- Stolna centrifuga* s rotorom za reakcijske epruvete od 2 ml
- Instrument Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q ili Rotor-Gene* s kanalima fluorescencije za Cycling Green (Cikliranje zeleno) i Cycling Yellow (Cikliranje žuto) ili s kanalima fluorescencije za Cycling A.FAM (Cikliranje A.FAM) i Cycling A.JOE (Cikliranje A.JOE)
- Softver za Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q, inačica 1.7.94 ili novija (softver za Rotor-Gene 6000, inačica 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94; softver za Rotor-Gene 3000, inačica 6.0.23)
- Blok za hlađenje (Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes, kat. br. 9018901 ili Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes, kat. br. 9018905)

Upozorenja i mjere opreza

Za in vitro dijagnostičku namjenu

Kad radite s kemikalijama uvijek nosite odgovarajuću laboratorijsku kutu, rukavice za jednokratnu uporabu i zaštitne naočale. Više informacija potražite u odgovarajućim sigurnosno-tehničkim listovima (safety data sheet, SDS). Oni su dostupni na mreži u praktičnom i kompaktnom PDF formatu na web-adresi

* Provjerite jesu li instrumenti pregledani i kalibrirani prema preporuci proizvođača.

www.qiagen.com/safety. Ondje možete pronaći, pregledati i ispisati sigurnosno-tehnički list za svaki komplet QIAGEN® i komponentu kompleta.

Bacite otpad od uzoraka i ispitivanja u skladu s lokalnim sigurnosnim propisima.

Opće mjere opreza

Korisnik bi uvijek trebao obratiti pažnju na sljedeće:

- Upotrebljavajte sterilne vrhove pipeta s filtrima.
- Čuvajte i ekstrahirajte pozitivne materijale (uzorke, pozitivne kontrole i amplikone) odvojeno od svih drugih reagensa i dodajte ih u reakcijsku mješavinu u prostorno odvojenom objektu.
- Potpuno odmrznite sve komponente na sobnoj temperaturi (15 – 25°C) prije početka ispitivanja.
- Kada se odmrznu, komponente promiješajte (uvlačenjem u pipetu i istiskanjem iz nje ili pulsiranjem na vorteks miješalici) i kratko centrifugirajte.
- Radite brzo i držite komponente na ledu ili na bloku za hlađenje (blok za postavljanje sa 72 jažice / 96 jažica).

Pohrana i rukovanje reagensima

Komponente kompleta *artus* EBV RG PCR Kit moraju se čuvati na -15°C do -30°C i stabilne su do roka trajanja navedenog na naljepnici. Trebalo bi izbjegavati ponovljeno odmrzavanje i zamrzavanje (> 2 x) jer to može smanjiti osjetljivost testa. Ako se reagensi koriste samo povremeno, treba ih zamrznuti u alikvotima. Ne smiju se čuvati na 2 – 8°C dulje od 5 sati.

Postupak

Izolacija DNK

Kompleti tvrtke QIAGEN navedeni u tablici 1 odobreni su za pročišćavanje virusne DNK u navedenim vrstama humanih uzoraka za primjenu u kombinaciji s kompletom *artus* EBV RG PCR Kit. Provedite pročišćavanje virusne DNK u skladu s uputama u priručnicima kompleta.

Tablica 1. Kompleti za pročišćavanje odobreni za uporabu s kompletom *artus* EBV RG PCR Kit

Materijal uzorka	Količina uzorka	Komplet za izolaciju nukleinske kiseline	Kataloški broj (QIAGEN)	RNK nosač
Serum, plazma, cerebrospinalna tekućina	200 µl	QIAamp® DNA Mini Kit (50)	51304	Nije uključeno
Serum, plazma	1 ml	QIAamp UltraSens® Virus Kit (50)	53704	Uključeno
Krvne stanice	200 µl	QIAamp DNA Blood Mini Kit (50)	51104	Nije uključeno
Plazma	400 µl	EZ1® DSP Virus Kit (48)*	62724	Uključeno

* Komplet EZ1 DSP Virus Kit također je dostupan kao EASY*artus*® EBV RG PCR Kit s oznakom CE-IVD, u kombinaciji s kompletom *artus* EBV RG PCR Kit (pogledajte stranicu 28 za informacije o naručivanju).

Napomena: epruvete za uzimanje krvi obložene antikoagulansima mogu inhibirati PCR. Međutim, ti će se inhibitori ukloniti korištenjem gore navedenih kompleta za izolaciju. Preporučujemo da ne upotrebljavate heparinsku krv.

Napomena: komplet *artus* EBV RG PCR Kit ne bi se trebao koristiti u kombinaciji s metodama za izolaciju na bazi fenola.

Korištenje kompleta QIAamp DNA Blood Mini Kit ili kompleta QIAamp DNA Mini Kit

Napomena: korištenje RNK nosača ključno je za učinkovitu ekstrakciju, a time i za prinos DNK/RNK. Imajte na umu da se dodavanje nosača (RNK homopolimer Poly[rA], koji nije uključen u QIAamp DNA Blood Mini Kit ni u

QIAamp DNA Mini Kit) preporuča za ekstrakciju nukleinskih kiselina iz tjelesnih tekućina koje ne sadrže stanice i materijala s malim količinama DNK ili RNK (npr., cerebrospinalna tekućina). U tim slučajevima, pripremi RNK nosač na način naveden u nastavku.

- Resuspendirajte liofilizirani RNK nosač (RNK homopolimer Poly[rA], koji nije uključen u QIAamp DNA Blood Mini Kit ni u QIAamp DNA Mini Kit) s pomoću pufera za eluiranje (ne koristite pufer za liziranje) kompleta za ekstrakciju (Buffer AE u kompletu QIAamp DNA Mini Kit i QIAamp DNA Blood Mini Kit) i pripremite razrjeđivanje koncentracije 1 µg/µl. Podijelite tu otopinu RNK nosača u dovoljan broj alikvota koji vam je potreban i čuvajte ih na -15 do -30°C. Nemojte više puta odmrzavati (>2 x) alikvot RNK nosača.
- Upotrijebite 1 µg RNK nosača na 100 µl pufera za liziranje. Na primjer, ako se u protokolu ekstrakcije koristi 200 µl pufera za liziranje, dodajte 2 µl RNK nosača (1 µg/µl) izravno u pufer za liziranje (Buffer AL u kompletu QIAamp DNA Mini Kit i QIAamp DNA Blood Mini Kit). Prije početka svake ekstrakcije treba pripremiti svježu mješavinu pufera za liziranje i RNK nosača (i interne kontrole ako je primjenjivo, pogledajte „Interna kontrola”, stranica 11) prema shemi pipetiranja u tablici 2.

Tablica 2. Shema pipetiranje za korištenje s kompletom QIAamp DNA Blood Mini Kit ili kompletom QIAamp DNA Mini Kit

Broj uzoraka	1	12
Buffer AL (pufer za liziranje)*	npr. 200 µl	npr. 2400 µl
RNK nosač (1 µg/µl)	2 µl	24 µl
Ukupni volumen	202 µl	2424 µl
Volumen po ekstrakciji	200 µl	200 µl za svaki

* Sadrži gvanidin hidroklorid; pogledajte priručnik kompleta za sigurnosne informacije.

Napomena: svježe pripremljenu mješavinu pufera za liziranje i RNK nosača odmah upotrijebite za ekstrakciju. Pohrana mješavine nije moguća.

Napomena: interna kontrola kompleta *artus* EBV RG PCR Kit može se izravno koristiti u postupku izolacije (pogledajte „Interna kontrola”, stranica 11).

Napomena: preporučamo izvođenje preporučenog koraka centrifugiranja: koraka 10 u protokolu (*priručnik za QIAamp DNA Mini i Blood Mini (QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook)*, treće izdanje, travanj 2010., stranice 29 i 32) za uklanjanje ostatka etanola. Preporučamo povećanje vremena centrifugiranja na 3 minute.

Preporučamo eluiranje DNK u 50 µl pufera za eluiranje kako biste dobili najveću osjetljivost kompleta *artus* EBV RG PCR Kit.

Korištenje kompleta QIAamp UltraSens Virus Kit

Napomena: korištenje RNK nosača ključno je za učinkovitu ekstrakciju, a time i za prinos DNK/RNK. Za povećanje stabilnosti RNK nosača isporučenog s kompletom QIAamp UltraSens Virus Kit preporučamo sljedeći postupak koji se razlikuje od uputa u priručniku kompleta.

- Prije prve uporabe kompleta resuspendirajte liofilizirani RNK nosač u 310 µl pufera za eluiranje (Buffer AVE) isporučenog s kompletom (konačna koncentracija 1 µg/µl, nemojte upotrebljavati pufer za eluiranje). Podijelite tu otopinu RNK nosača u dovoljan broj alikvota koji vam je potreban i čuvajte ih na -15 do -30°C. Nemojte više puta odmrzavati (>2 x) alikvot RNK nosača.
- Prije početka svake ekstrakcije treba pripremiti svježu mješavinu pufera za liziranje i RNK nosača (i interne kontrole ako je primjenjivo, pogledajte „Interna kontrola”, stranica 11) prema shemi pipetiranja u tablici 3.

Tablica 3. Shema pipetiranja za korištenje s kompletom QIAamp UltraSens Virus Kit

Broj uzoraka	1	12
Buffer AC (pufer za liziranje)*	800 µl	9600 µl
RNK nosač (1 µg/µl)	5,6 µl	67,2 µl
Ukupni volumen	805,6 µl	9667,2 µl
Volumen po ekstrakciji	800 µl	800 µl za svaki

* Sadrži izopropanol; pogledajte priručnik kompleta za sigurnosne informacije.

Napomena: svježe pripremljenu mješavinu pufera za liziranje i RNK nosača odmah upotrijebite za ekstrakciju. Pohrana mješavine nije moguća.

Napomena: interna kontrola kompleta *artus* EBV RG PCR Kit može se izravno koristiti u postupku izolacije (pogledajte „Interna kontrola”, stranica 11).

Napomena: preporučamo izvođenje dodatnog centrifugiranja opisanog u koraku 14 u protokolu (*priručnik za QIAamp UltraSens Virus (QIAamp UltraSens Virus Handbook)*, travanj 2010., stranica 17) za uklanjanje ostatka etanola. Preporučamo povećanje vremena centrifugiranja na 3 minute.

Preporučamo eluiranje DNK u 50 µl pufera za eluiranje kako biste dobili najveću osjetljivost kompleta *artus* EBV RG PCR Kit.

Komplet QIAamp UltraSens Virus Kit omogućuje dobivanje koncentrata uzorka. Ako upotrebljavate materijal uzorka koji nije serum ili plazma, dodajte barem 50 % (v/v) negativne humane plazme u uzorak.

Korištenje kompleta EZ1 DSP Virus Kit

Napomena: korištenje RNK nosača ključno je za učinkovitu ekstrakciju, a time i za prinos DNK/RNK. Dodajte odgovarajuću količinu RNK nosača u skladu s uputama u *priručniku za EZ1 DSP Virus Kit (EZ1 DSP Virus Kit Handbook)*.

Napomena: interna kontrola kompleta *artus* EBV RG PCR Kit može se izravno koristiti u postupku izolacije (pogledajte „Interna kontrola”, dolje).

Napomena: preporučamo korištenje pročišćenih nukleinskih kiselina za PCR odmah nakon ekstrakcije s pomoću kompleta EZ1 DSP Virus Kit. Eluati se također mogu čuvati na 4°C do 3 dana prije PCR analize.

Interna kontrola

Interna kontrola (EBV RG IC) isporučuje se u kompletu. To korisniku omogućuje kontrolu postupka izolacije DNK i provjeru moguće inhibicije PCR-a. Kada se komplet EZ1 DSP Virus Kit koristi za ekstrakciju, interna kontrola mora se dodati u skladu s uputama u *priručniku za EZ1 DSP Virus Kit*. Kada koristite QIAamp UltraSens Virus Kit, QIAamp DNA Blood Mini Kit ili QIAamp DNA Mini Kit, dodajte internu kontrolu tijekom izoliranja u omjeru od 0,1 µl po volumenu eluiranja od 1 µl. Na primjer ako koristite QIAamp UltraSens Virus Kit, DNK se eluira u 50 µl Buffer AVE. Stoga se na početku treba dodati 5 µl interne kontrole. Količina interne kontrole koja se koristi ovisi isključivo o volumenu eluiranja.

Napomena: interna kontrola i RNK nosač (pogledajte „Izolacija DNK”, stranica 8) smiju se dodati samo u mješavinu pufera za liziranje i materijala uzorka ili izravno u pufer za liziranje.

Interna kontrola ne smije se izravno dodati u materijal uzorka. Ako ste je dodali u pufer za liziranje, imajte na umu da se mješavina interne kontrole, pufera za liziranje i RNK nosača mora pripremiti svježja i upotrijebiti odmah (pohrana mješavine na sobnoj temperaturi ili u hladnjaku samo nekoliko sati može dovesti do neuspješnog rezultata interne kontrole i smanjene učinkovitosti ekstrakcije).

Napomena: nemojte dodavati internu kontrolu i RNK nosač izravno u materijal uzorka.

Interna kontrola opcionalno se može koristiti za provjeru moguće inhibicije PCR-a. Za tu primjenu internu kontrolu dodajte izravno u EBV RG Master, kao što je opisano u koraku 2b protokola (stranica 13).

Protokol: PCR i analiza podataka

Važne točke prije započinjanja

- Uzmite se vremena za upoznavanje s instrumentom Rotor-Gene Q prije započinjanja protokola. Proučite korisnički priručnik instrumenta.
- Pobrinite se da su barem jedan standard za kvantifikaciju i barem jedna negativna kontrola (voda, za PCR) uključeni u svaku PCR analizu. Za dobivanje standardne krivulje upotrijebite sva 4 isporučena standarda za kvantifikaciju (EBV RG QS 1–4) za svaku PCR analizu.

Postupci koje treba napraviti prije započinjanja

- Pobrinite se da je blok za hlađenje (pribor za instrument Rotor-Gene Q) ohlađen na 2 – 8°C.
- Prije svake uporabe reagense treba potpuno odmrznuti, promiješati (uvlačenjem u pipetu i istiskanjem iz nje više puta ili brzim miješanjem na vorteks miješalici) te kratko centrifugirati.

Postupak

1. Postavite željeni broj PCR epruveta u adaptere na bloku za hlađenje.
2. Ako upotrebljavate internu kontrolu za praćenje postupka izolacije DNK i provjeru moguće inhibicije PCR-a, pridržavajte se koraka 2a. Ako internu kontrolu upotrebljavate isključivo za provjeru inhibicije PCR-a, pridržavajte se koraka 2b.
- 2a. Interna kontrola već je dodana prilikom izolacije (pogledajte „Interna kontrola”, stranica 11). U tom slučaju, pripremite glavnu mješavinu u skladu s tablicom 4.

Reakcijska mješavina obično sadrži sve komponente potrebne za PCR osim uzorka.

Tablica 4. Priprema glavne mješavine (interna kontrola koristi se za nadzor izolacije DNK i provjeru inhibicije PCR-a)

Broj uzoraka	1	12
EBV RG Master	30 µl	360 µl
EBV RG IC	0 µl	0 µl
Ukupni volumen	30 µl	360 µl

- 2b. Interna kontrola mora se dodati izravno u mješavinu EBV RG Master. U tom slučaju, pripremite glavnu mješavinu u skladu s tablicom 5.**

Reakcijska mješavina obično sadrži sve komponente potrebne za PCR osim uzorka.

Tablica 5. Priprema glavne mješavine (interna kontrola koristi se isključivo za provjeru inhibicije PCR-a)

Broj uzoraka	1	12
EBV RG Master	30 µl	360 µl
EBV RG IC	2 µl	24 µl
Ukupni volumen	32 µl*	384 µl*

* Povećanje volumena uzrokovano dodavanjem interne kontrole zanemaruje se prilikom pripreme PCR ispitivanja. Nema negativan utjecaj na sustav za detekciju.

- 3. Pipetirajte 30 µl glavne mješavine u svaku PCR epruvetu. Zatim dodajte 20 µl eluiranog uzorka DNK (pogledajte tablicu 6). U skladu s time, 20 µl barem jednog standarda za kvantifikaciju (EBV RG QS 1–4) mora se koristiti kao pozitivna kontrola, a 20 µl vode (voda za PCR) mora se koristiti kao negativna kontrola.**

Tablica 6. Priprema PCR ispitivanja

Broj uzoraka	1	12
Glavna mješavina	30 µl	30 µl za svaki
Uzorak	20 µl	20 µl za svaki
Ukupni volumen	50 µl	50 µl za svaki

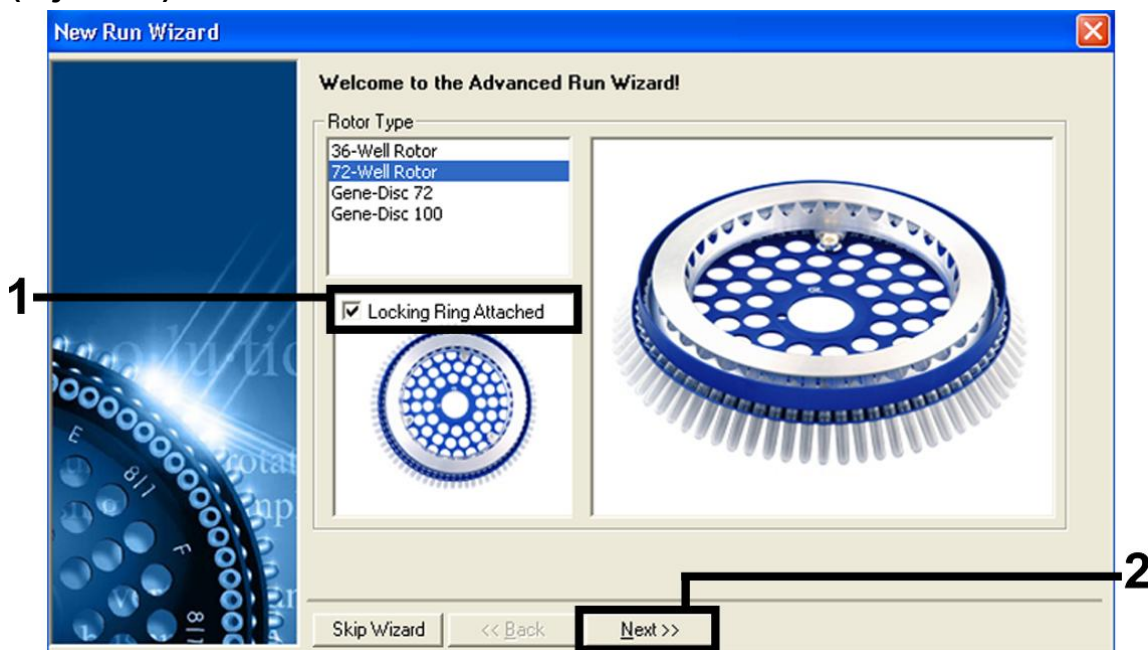
- 4. Zatvorite PCR epruvete. Pobrinite se da je prsten za zaključavanje (pribor instrumenta Rotor-Gene) postavljen na rotor kako bi se spriječilo slučajno otvaranje epruveta tijekom analize.**

5. Za detekciju DNK EBV-a izradite temperaturni profil prema sljedećim koracima.

Postavljanje općih parametara ispitivanja	Slike 1, 2, 3
Početna aktivacija enzima za <i>hot-start</i>	Slika 4
Amplifikacija DNK (<i>touchdown</i> PCR)	Slika 5
Prilagođavanje osjetljivosti kanala fluorescencije	Slika 6
Pokretanje postupka	Slika 7

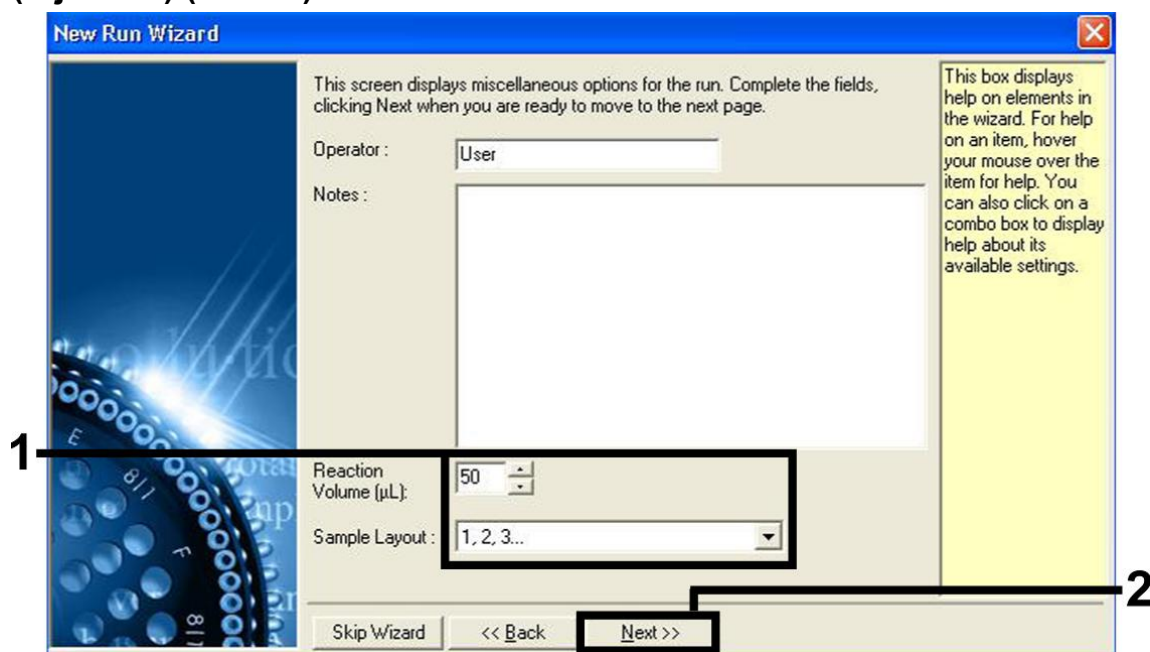
Sve specifikacije odnose se na softver za Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q, inačica 1.7.94, softver za Rotor-Gene 6000, inačice 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94 te softver za Rotor-Gene 3000, inačica 6.0.23. Dodatne informacije o programiranju instrumenata Rotor-Gene potražite u korisničkom priručniku instrumenta. Na ilustracijama te su postavke označene podebljanim crnim okvirom. Uključene se ilustracije za instrumente Rotor-Gene Q. U slučajevima kada su drugačije vrijednosti potrebne za Rotor-Gene 3000, te se razlike opisuju u tekstu.

6. Prvo otvorite dijaloški okvir „New Run Wizard” (Čarobnjak za pokretanje novog postupka) (slika 1). Označite okvir „Locking Ring Attached” (Prsten za zaključavanje pričvršćen) i kliknite „Next” (Sljedeće).



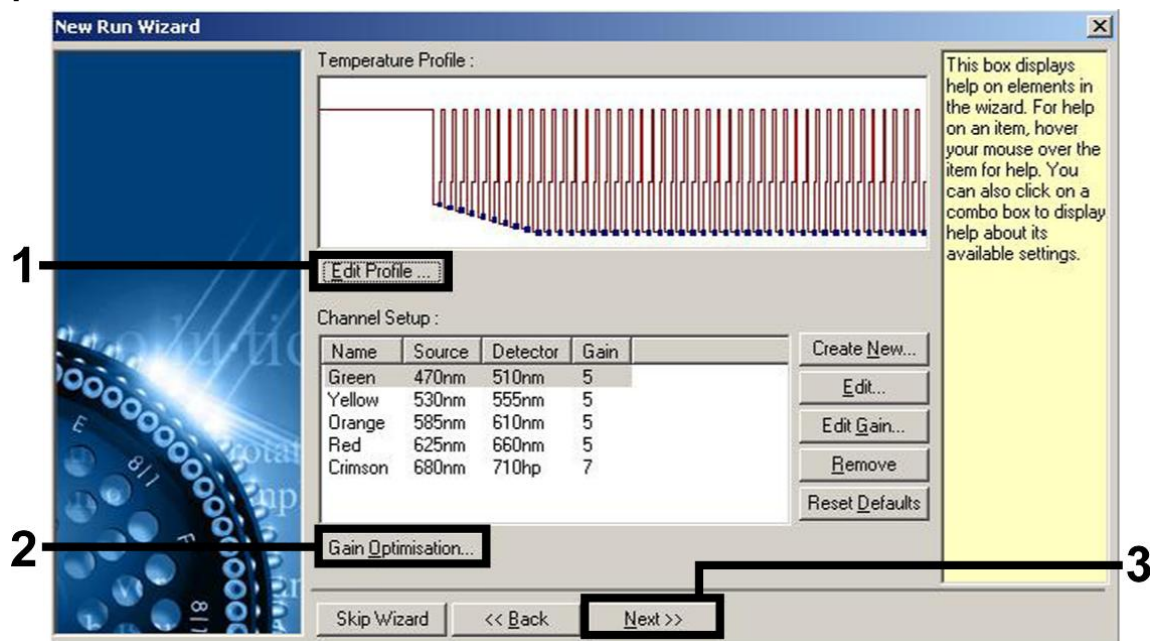
Slika 1. Dijaloški okvir „New Run Wizard” (Čarobnjak za pokretanje novog postupka).

7. Odaberite 50 kao reakcijski volumen za PCR pa kliknite „Next” (Sljedeće) (slika 2).

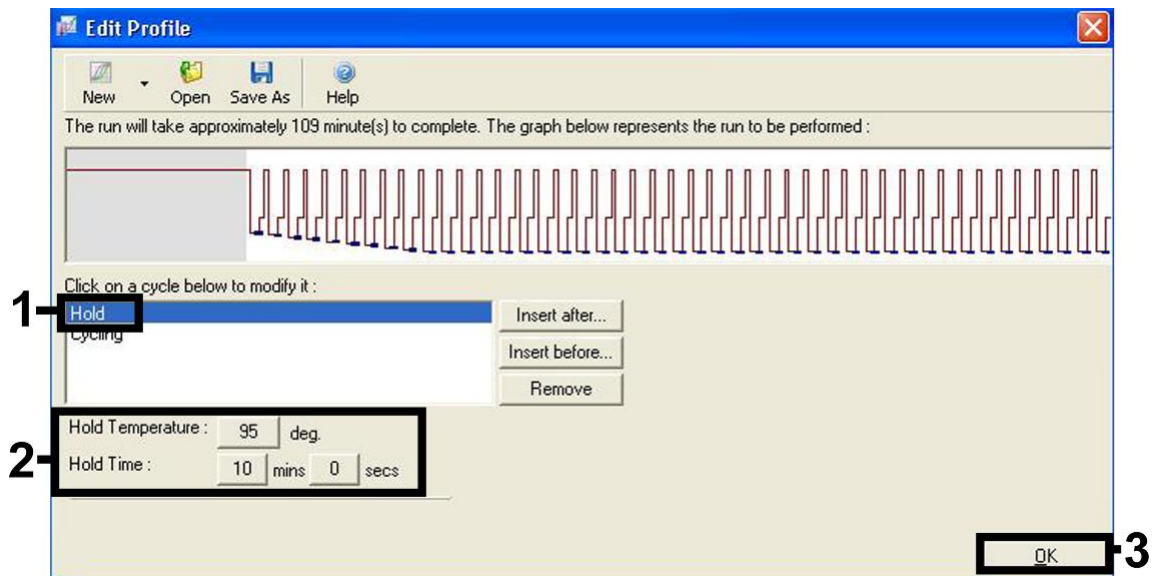


Slika 2. Postavljanje općih parametara ispitivanja.

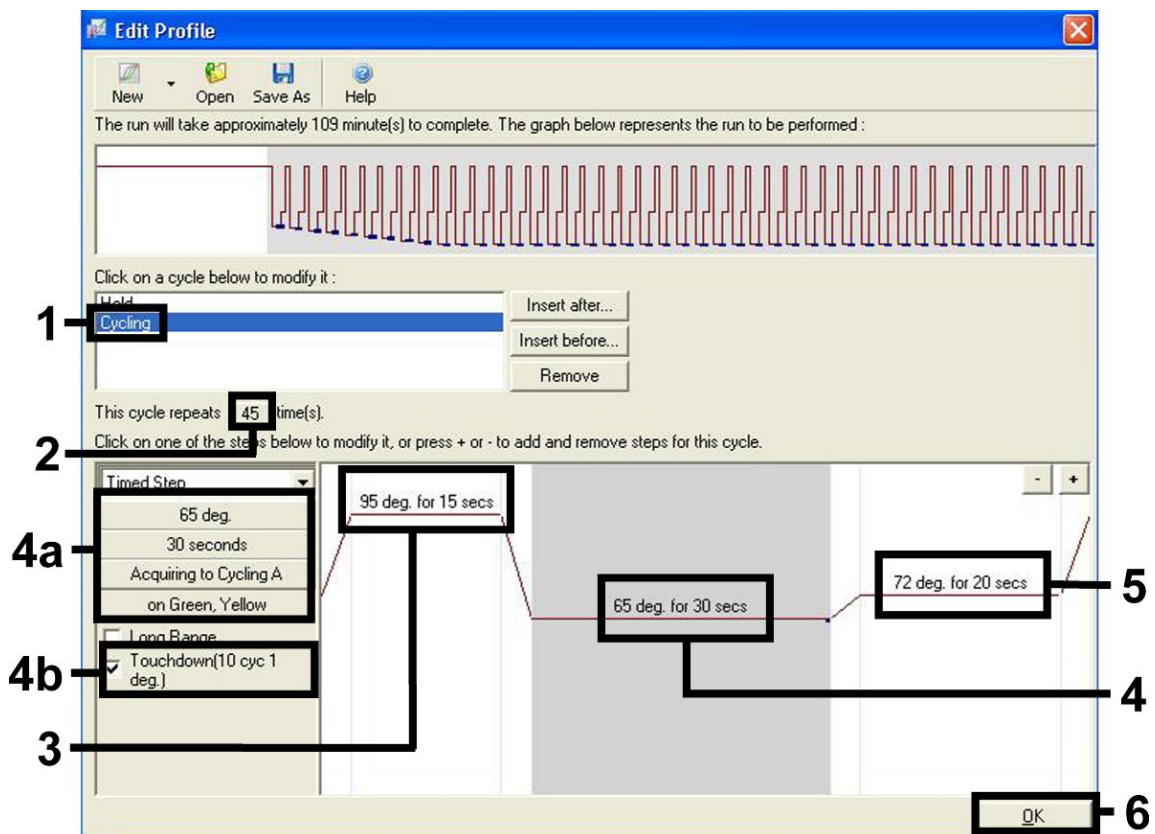
8. Kliknite gumb „Edit Profile” (Uredi profil) na sljedećem dijaloškom okviru u sklopu „New Run Wizard” (Čarobnjak za pokretanje novog postupka) (slika 3) pa programirajte temperaturni profil kao što je prikazano na slikama 3–5.



Slika 3. Uređivanje profila.

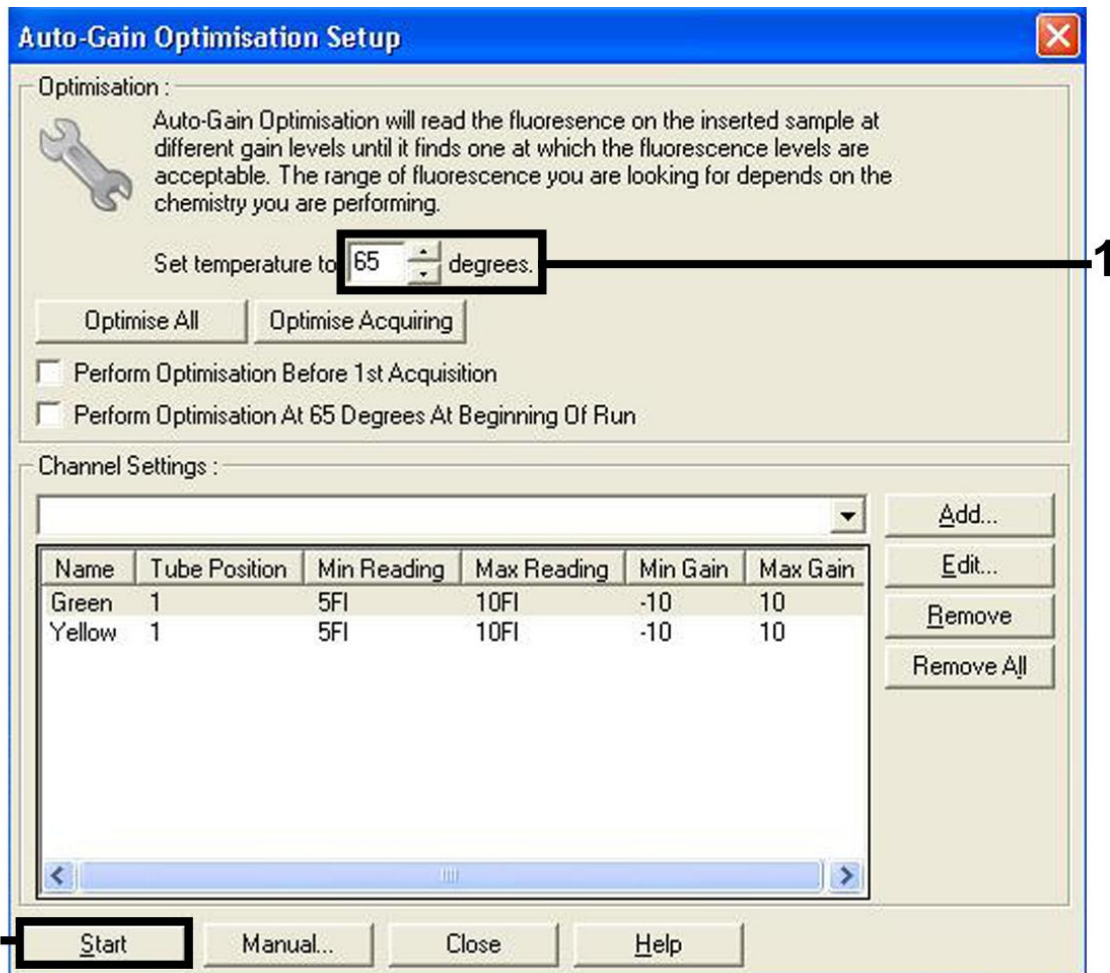


Slika 4. Početna aktivacija enzima za *hot-start*.



Slika 5. Amplifikacija DNK. Obavezno aktivirajte funkciju *touchdown* za deset ciklusa u koraku sparivanja. Imajte na umu da će se u softveru instrumenta Rotor-Gene 3000 fluorescentne boje definirati kao „FAM/Sybr, JOE”.

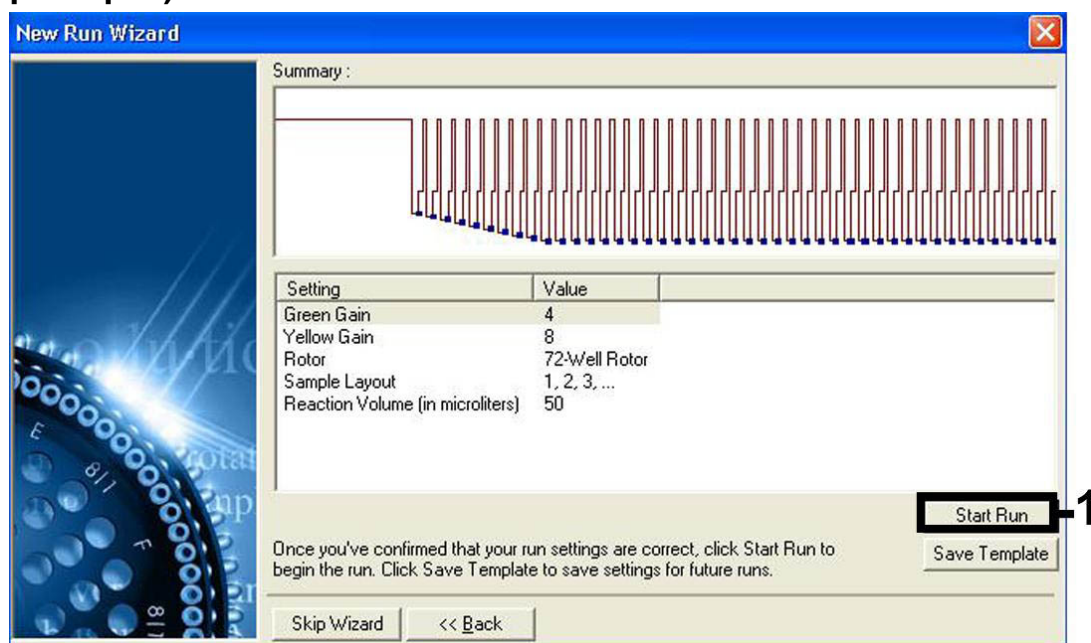
9. Raspon detekcije kanala fluorescencije mora se odrediti u skladu intenzitetima fluorescencije u PCR epruvetama. Kliknite „Gain Optimisation” (Optimizacija pojačanja) u sklopu dijaloškog okvira „New Run Wizard” (Čarobnjak za pokretanje novog postupka) (pogledajte sliku 3) za otvaranje dijaloškog okvira „Auto-Gain Optimisation Setup” (Postavke automatske optimizacije pojačanja). Postavite temperaturu optimizacije na 65 kako bi se podudarala s temperaturom sparivanja u sklopu programa amplifikacije (slika 6).



Slika 6. Prilagođavanje osjetljivosti kanala fluorescencije. Imajte na umu da će se u softveru instrumenta Rotor-Gene 3000 fluorescentne boje definirati kao „FAM/Sybr” i „JOE”.

10. Vrijednosti pojačanja određene kalibracijom kanala automatski se spremaju i navode se u posljednjem prozoru izbornika u procesu

programiranja postupka (slika 7). Kliknite „Start Run” (Pokreni postupak).



Slika 7. Pokretanje postupka. Imajte na umu da će se u softveru instrumenta Rotor-Gene 3000 fluorescentne boje definirati kao „FAM/Sybr” i „JOE”.

Tumačenje rezultata

Kvantifikacija

Priloženi standardi za kvantifikaciju (EBV RG QS 1–4) obrađuju se kao prethodno pročišćeni uzorci i koristi se jednaki volumen (20 µl). Za generiranje standardne krivulje na instrumentima Rotor-Gene Q trebaju se koristiti sva 4 standarda za kvantifikaciju i u dijaloškom okviru „Edit Samples” (Uredi uzorke) definirati kao standardi s određenim koncentracijama (pogledajte korisnički priručnik instrumental).

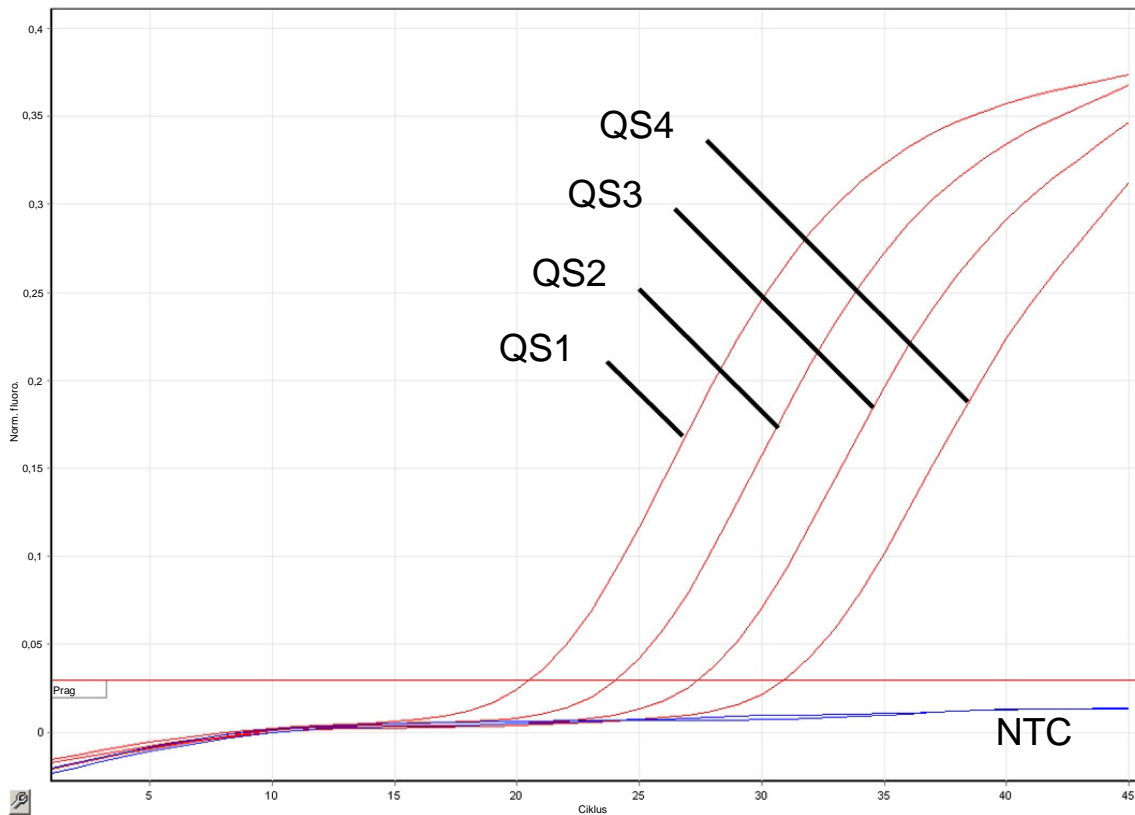
Napomena: standardi za kvantifikaciju definiraju se kao kopije/µl. Za pretvaranje vrijednosti određenih s pomoću standardne krivulje u kopije/ml materijala uzorka treba primijeniti sljedeću jednadžbu:

$$\text{rezultat (kopije/ml)} = \frac{\text{rezultat (kopije/}\mu\text{l)} \times \text{volumen eluiranja (}\mu\text{l)}}{\text{volumen uzorka (ml)}}$$

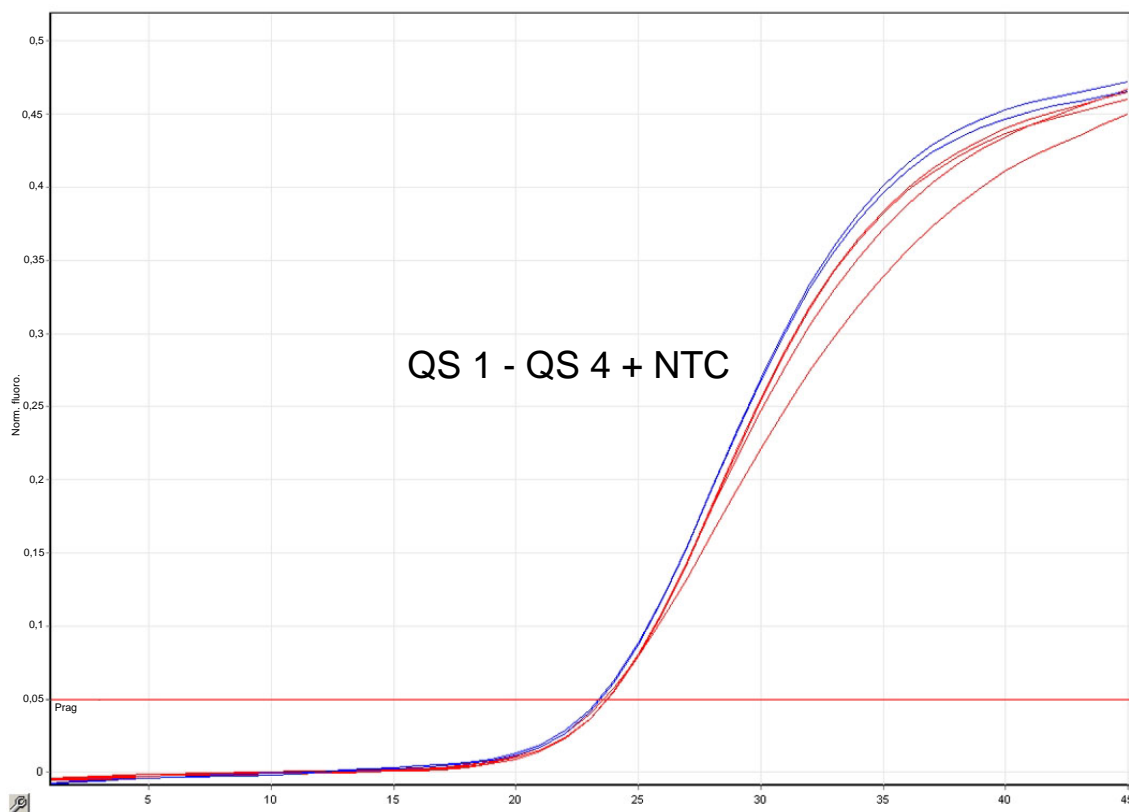
U gornju jednadžbu načelno treba unijeti početni volumen uzorka. To treba razmotriti kada se volumen uzorka promijeni prije ekstrakcije nukleinske kiseline (npr. smanjenje volumena uslijed centrifugiranja ili povećanje volumena dodavanjem volumena potrebnog za izolaciju).

Sažetak

Primjeri pozitivnih i negativnih PCR reakcija prikazuju se na slici 8 odnosno slici 9.



Slika 8. Detekcija standarda za kvantifikaciju (EBV RG QS 1–4) u kanalu fluorescencije Cycling Green (Cikliranje zeleno). NTC: no template control (kontrola bez uzorka) (negativna kontrola).



Slika 9. Detekcija interne kontrole (IC) u kanalu fluorescencije Cycling Yellow (Cikliranje žuto) uz istovremenu amplifikaciju standarda za kvantifikaciju (EBV RG QS 1–4). NTC: no template control (kontrola bez uzorka) (negativna kontrola).

Signal se detektira u kanalu fluorescencije Cycling Green (Cikliranje zeleno).

Rezultat analize pozitivan je: uzorak sadrži DNK EBV-a.

U tom slučaju, detekcija signala u kanalu Cycling Yellow (Cikliranje žuto) nepotrebna je, budući da visoke početne koncentracije DNK EBV-a (pozitivni signal u kanalu Cycling Green (Cikliranje zeleno)) mogu dovesti do smanjenog ili odsutnog signala fluorescencije interne kontrole u kanalu Cycling Yellow (Cikliranje žuto) (natjecanje).

Napomena: na instrumentu Rotor-Gene 3000 relevantni kanali su Cycling A.FAM (Cikliranje A.FAM) za pozitivni signal i Cycling A.JOE (Cikliranje A.JOE) za internu kontrolu.

U kanalu fluorescencije Cycling Green (Cikliranje zeleno) nije detektiran signal. Istovremeno, signal interne kontrole javlja se u kanalu the Cycling Yellow (Cikliranje žuto).

U uzorku se ne može detektirati DNK EBV-a. Uzorak se može smatrati negativnim.

U slučaju negativne PCR reakcije na EBV, detektirani signal interne kontrole isključuje mogućnost inhibicije PCR-a.

Napomena: na instrumentu Rotor-Gene 3000, relevantni kanali su Cycling A.JOE (Cikliranje A.JOE) za internu kontrolu i Cycling A.FAM (Cikliranje A.FAM) za detekciju odsustva signala.

**Signal se ne detektira ni u kanalu Cycling Green (Cikliranje zeleno) ni u kanalu Cycling Yellow (Cikliranje žuto).
Nije moguće utvrditi konačni rezultat.**

Informacije koje se odnose na izvore i rješavanje pogrešaka možete pronaći u „Vodič za rješavanje problema”, stranica 21.

Napomena: na instrumentu Rotor-Gene 3000 relevantni kanali su Cycling A.FAM (Cikliranje A.FAM) i Cycling A.JOE (Cikliranje A.JOE).

Vodič za rješavanje problema

Ovaj vodič za rješavanje problema može biti koristan pri rješavanju bilo kojih problema koji mogu nastati. Za više informacija pogledajte i stranicu s najčešćim pitanjima u našem centru za tehničku podršku:

www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Znanstvenici u tehničkoj službi društva QIAGEN uvijek će rado odgovoriti na sva pitanja koja možda imate vezano uz informacije i protokole u ovom priručniku ili tehnologije uzorkovanja i ispitivanja (informacije za kontakt potražite na poleđini ili posjetite www.qiagen.com).

Komentari i prijedlozi

Nije dobiven signal s pomoću pozitivnih kontrola (EBV RG QS 1–4) u kanalu fluorescencije Cycling Green (Cikliranje zeleno) ili Cycling A.FAM (Cikliranje A.FAM)

- | | |
|---|--|
| a) Odabrani kanal fluorescencije za analizu PCR podataka nije u skladu s protokolom | Za analizu podataka odaberite kanal fluorescencije Cycling Green (Cikliranje zeleno) ili Cycling A.FAM (Cikliranje A.FAM) za PCR analizu EBV-a i kanal fluorescencije Cycling Yellow (Cikliranje žuto) ili Cycling A.JOE (Cikliranje A.JOE) za PCR interne kontrole. |
| b) Neispravno programiranje temperaturnog profila na instrumentu Rotor-Gene | Usporedite temperaturni profil s protokolom. Pogledajte „Protokol: PCR i analiza podataka”, stranica 12. |
| c) Neispravna konfiguracija PCR-a | Provjerite svoje radne korake prema shemi pipetiranja te po potrebi ponovite PCR. Pogledajte „Protokol: PCR i analiza podataka”, stranica 12. |

Komentari i prijedlozi

- d) Uvjeti pohrane za jednu komponentu kompleta ili više njih nisu bili u skladu s uputama navedenima u „Pohrana i rukovanje reagensima” (stranica 7) Provjerite uvjete pohrane i rok trajanja (proučite naljepnicu kompleta) reagensa i po potrebi upotrijebite novi komplet.
- e) Kompletu *artus* EBV RG PCR Kit istekao je rok trajanja Provjerite uvjete pohrane i rok trajanja (proučite naljepnicu kompleta) reagensa i po potrebi upotrijebite novi komplet.

Slabi signal ili odsustvo signala interne kontrole u kanalu fluorescencije Cycling Yellow (Cikliranje žuto) ili Cycling A.JOE (Cikliranje A.JOE) te istovremeno odsustvo signala u kanalu Cycling Green (Cikliranje zeleno) ili Cycling A.FAM (Cikliranje A.FAM)

- a) Uvjeti PCR-a nisu u skladu s protokolom Provjerite uvjete PCR-a (gore navedene) i po potrebi ponovite PCR uz ispravne postavke.
- b) PCR reakcija je inhibirana Pobrinite se da koristite preporučene metode izolacije i strogo se pridržavate uputa proizvođača.

Kada koristite QIAamp DNA Mini Kit, QIAamp DNA Blood Mini Kit ili QIAamp UltraSens Virus Kit, provjerite je li izveden preporučeni dodatni korak centrifugiranja tijekom izoliranja DNK prije eluiranja kako biste uklonili ostatke etanola (pogledajte „Izolacija DNK”, stranice 8 i 10).
- c) DNK je izgubljena tijekom ekstrakcije Ako je interna kontrola dodana prilikom ekstrakcije, odsustvo signala interne kontrole može ukazivati na gubitak DNK tijekom ekstrakcije. Pobrinite se da koristite preporučene metode izolacije (pogledajte „Izolacija DNK”, stranica 8) i strogo se pridržavate uputa proizvođača.
- d) Uvjeti pohrane za jednu komponentu kompleta ili više njih nisu bili u skladu s uputama navedenima u „Pohrana i rukovanje reagensima” (stranica 7) Provjerite uvjete pohrane i rok trajanja (proučite naljepnicu kompleta) reagensa i po potrebi upotrijebite novi komplet.

Komentari i prijedlozi

- e) Kompletu *artus* EBV RG PCR Kit istekao je rok trajanja
- Provjerite uvjete pohrane i rok trajanja (proučite naljepnicu kompleta) reagensa i po potrebi upotrijebite novi komplet.

Signali dobiveni negativnim kontrolama u kanalu fluorescencije Cycling Green (Cikliranje zeleno) ili Cycling A.FAM (Cikliranje A.FAM) tijekom PCR analize

- a) Došlo je do kontaminacije tijekom pripreme PCR-a
- Ponovite PCR s novim reagensima u ponavljanjima.
- Ako je moguće, zatvorite PCR epruvete neposredno nakon dodavanja uzorka za testiranje.
- Pozitivne kontrole obavezno pipetirajte posljednje.
- Obavezno dekontaminirajte radni prostor i instrumente u redovitim intervalima.
- b) Došlo je do kontaminacije tijekom ekstrakcije
- Ponovite ekstrakciju i PCR uzorka koji će se testirati s novim reagensima.
- Obavezno dekontaminirajte radni prostor i instrumente u redovitim intervalima.

Kontrola kvalitete

U skladu sa sustavom za upravljanje kvalitetom društva QIAGEN certificiranim u skladu s normom ISO, svaka serija kompleta *artus* EBV RG PCR Kit ispituje se prema unaprijed određenim specifikacijama kako bi se osigurala dosljedna kvaliteta proizvoda.

Ograničenja

Svi reagensi mogu se upotrebljavati isključivo za in vitro dijagnostiku.

Proizvod smije upotrebljavati samo osoblje koje je primilo posebne upute i obuku za in vitro dijagnostičke postupke.

Strogo pridržavanje uputa iz korisničkog priručnika neophodno je za dobivanje optimalnih rezultata PCR-a.

Potrebno je obratiti pozornost na rokove trajanja koji su otisnuti na kutiji i naljepnicama svih komponenti. Nemojte upotrebljavati komponente kojima je istekao rok trajanja.

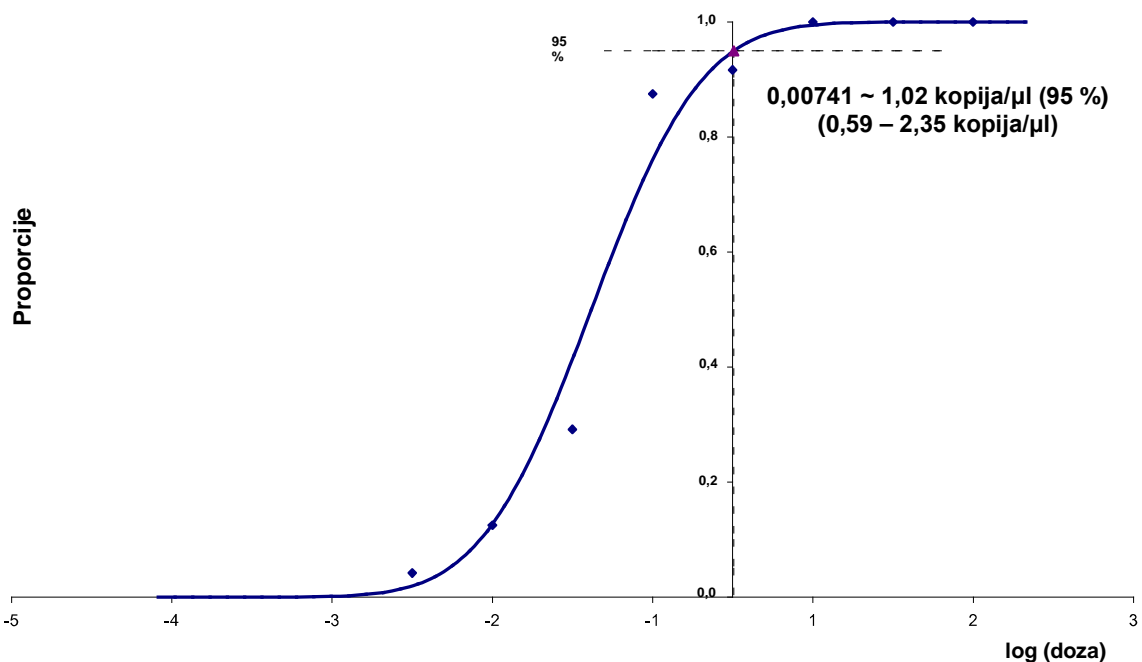
Iako rijetke, mutacije unutar visoko konzerviranih regija genoma virusa koje obuhvaćaju početnice i/ili probe kompleta mogu uzrokovati otkrivanje manje

količine ili neotkrivanje prisutnosti virusa. Valjanost i učinkovitost ispitivanja revidiraju se u redovitim intervalima.

Radne značajke

Analitička osjetljivost

Za određivanje analitičke osjetljivosti kompleta *artus* EBV RG PCR Kit, postavljen je niz razrjeđivanja od 31,6 do 0,01 te od 100 do nominalnih 0,03 EBV ekvivalenta kopije/ μ l i analiziran je na instrumentu Rotor-Gene 6000 odnosno Rotor-Gene 3000 u kombinaciji s kompletom *artus* EBV RG PCR Kit. Testiranje je izvedeno 3 različita dana u 8 ponavljanja. Rezultati su utvrđeni probit analizom. Grafički prikaz probit analize na instrumentu Rotor-Gene 6000 prikazuje se na slici 10. Granica analitičke detekcije kompleta *artus* EBV RG PCR Kit na instrumentu Rotor-Gene Q MDx/Q/6000 i instrumentu Rotor-Gene 3000 iznosi 1,02 kopija/ μ l ($p = 0,05$) odnosno 3,8 kopija/ μ l ($p = 0,05$). To znači da postoji 95 % vjerojatnosti da će se detektirati 1,02 kopija/ μ l ili 3,8 kopija/ μ l.



Slika 10. Probit analiza: EBV (Rotor-Gene 6000). Analitička osjetljivost kompleta *artus* EBV RG PCR Kit na instrumentu Rotor-Gene 6000.

Specifičnost

Specifičnost kompleta *artus* EBV RG PCR Kit prije svega se osigurava odabirom početnica i probi te uspostavljanjem strogih uvjeta reakcije. Početnice i probe provjerene su usporednom analizom sekvenci kako bi se utvrdilo ima li mogućih homologija sa svim sekvencama objavljenim u

bankama gena. Time se osigurala mogućnost detektiranja svih relevantnih genotipa.

Osim toga, specifičnost je potvrđena s pomoću 6 različitih uzoraka seruma negativnih na EBV. Oni nisu generirali nikakve signale s početnicama i probama specifičnima na EBV koji su uključeni u EBV RG Master.

Provedeno je testiranje na potencijalnu križnu reaktivnost kompleta *artus* EBV RG PCR Kit s pomoću grupe kontrola navedenih u tablici 7. Nijedan od testiranih patogena nije bio reaktivan.

Tablica 7. Testiranje specifičnosti kompleta s potencijalno križno reaktivnim patogenima

Grupa kontrola	EBV (Cycling Green (Cikliranje zeleno) ili Cycling A.FAM (Cikliranje A.FAM))	Interna kontrola (Cycling Yellow (Cikliranje žuto) ili Cycling A.JOE (Cikliranje A.JOE))
Humani herpes virus 1 (virus herpesa simplex 1)	–	+
Humani herpes virus 2 (virus herpesa simplex 2)	–	+
Humani herpes virus 3 (virus Varicella-zoster)	–	+
Humani herpes virus 5 (citomegalovirus)	–	+
Virus humane leukemije T stanica 1	–	+
Virus humane leukemije T stanica 2	–	+

Ponovljivost

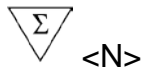
Podaci o ponovljivosti omogućuju redovitu procjenu učinkovitosti kompleta *artus* EBV RG PCR Kit te učinkovitu usporedbu s drugim proizvodima. Ti su podaci dobiveni sudjelovanjem u uspostavljenim programima za ocjenjivanje učinkovitosti.

Referencije

Tvrtka QIAGEN održava veliku, ažuriranu internetsku bazu podataka znanstvenih publikacija u kojima se koriste proizvodi tvrtke QIAGEN. Sveobuhvatne opcije pretraživanja omogućuju vam da pronađete članke koji su vam potrebni jednostavnim pretraživanjem ključnih riječi ili navođenjem određene primjene, područja istraživanja, naslova itd.

Za potpuni popis referencija posjetite referentnu bazu podataka tvrtke QIAGEN putem interneta na stranici www.qiagen.com/RefDB/search.asp ili se obratite tehničkoj službi tvrtke QIAGEN ili svojem lokalnom distributeru.

Simboli



Sadržava reagensa dovoljno za <N> testova



Upotrijebiti do



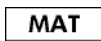
In vitro dijagnostički medicinski uređaj



Kataloški broj



Broj šarže



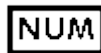
Broj materijala



Komponente



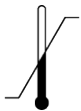
Sadržava



Broj



Global Trade Item Number (globalni broj trgovačke jedinice)



Ograničenja temperature



Proizvođač



Prije upotrebe pročitajte upute

Kontaktни podaci

Za tehničku pomoć i više informacija posjetite naš Centar za tehničku pomoć na www.qiagen.com/Support ili se obratite jednom od tehničkih odjela tvrtke QIAGEN ili lokalnim distributerima (pogledajte poledinu ili posjetite stranicu www.qiagen.com).

Informacije za naručivanje

Proizvod	Sadržaj	Kat. br.
<i>artus</i> EBV RG PCR Kit (24)	Za 24 reakcije: glavna mješavina, 4 standarda za kvantifikaciju, interna kontrola, voda (za PCR)	4501263
<i>artus</i> EBV RG PCR Kit (96)	Za 96 reakcije: glavna mješavina, 4 standarda za kvantifikaciju, interna kontrola, voda (za PCR)	4501265
EASY<i>artus</i> EBV RG PCR Kits — za integrirano automatizirano pročišćavanje uzoraka i detekciju patogena u potpunosti sukladno s CE-IVD		
EASY <i>artus</i> EBV RG PCR Kit 1	Za 48 priprema nukleinskih kiselina virusa i 24 ispitivanja: 1 x EZ1 DSP Virus Kit, 1 x <i>artus</i> EBV RG PCR Kit (24)	EA10123
EASY <i>artus</i> EBV RG PCR Kit 2	Za 48 priprema nukleinskih kiselina virusa i 48 ispitivanja: 1 x EZ1 DSP Virus Kit, 2 x <i>artus</i> EBV RG PCR Kit (24)	EA10124
EZ1 DSP Virus Kit — za automatizirano, istovremeno pročišćavanje DNK i RNK virusa od 1–14 uzoraka seruma, plazme ili cerebrospinalne tekućine		
EZ1 DSP Virus Kit (48)	Za 48 priprema nukleinskih kiselina virusa: unaprijed napunjeni ulošci reagensa, držači jednokratnih vrhova, jednokratni vrhovi s filtrima, epruvete za uzorke, epruvete za eluiranje, puferi, RNK nosač	62724
QIAamp DNA Mini Kit — za pročišćavanje genomske i virusne DNK iz tkiva i drugih uzoraka		
QIAamp DNA Mini Kit (50)	Za 50 priprema DNK: 50 spin kolona QIAamp Mini, QIAGEN proteaza K, reagensi, puferi, epruvete za prikupljanje (2 ml)	51304

Proizvod	Sadržaj	Kat. br.
QIAamp UltraSens Virus Kit — za dobivanje koncentrata i izolaciju virusne DNK i RNK iza seruma i plazme		
QIAamp UltraSens Virus Kit (50)	Za 50 priprema nukleinskih kiselina virusa: 50 QIAamp Mini spin kolona, proteaza K, RNK nosača, epruveta za prikupljanje (2 ml), pufera	53704
QIAamp DNA Blood Mini Kit — za pročišćavanje do 12 µg genomske, mitohondrijske ili virusne DNK iz krvi i drugih tjelesnih tekućina		
QIAamp DNA Blood Mini Kit (50)	Za 50 mini priprema DNK: 50 QIAamp Mini spin kolona, QIAGEN proteaza, reagensa, pufera, epruveta za prikupljanje (2 ml)	51104
Instrument Rotor-Gene Q MDx i pribor		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	PCR cikler u stvarnom vremenu s 5 kanala (zeleni, žuti, narančasti, crveni, tamnocrveni), prijenosno računalo, softver, pribor: uključuje 1-godišnje jamstvo na dijelove i rad, instalacija i obuka nisu uključene	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	PCR cikler u stvarnom vremenu s 5 kanala (zeleni, žuti, narančasti, crveni, tamnocrveni), prijenosno računalo, softver, pribor: uključuje 1-godišnje jamstvo na dijelove te rad, instalaciju i obuku	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	PCR cikler u stvarnom vremenu i analizator taljenja velike razlučivosti s 5 kanala (zeleni, žuti, narančasti, crveni, tamnocrveni) plus HRM kanal, prijenosno računalo, softver, pribor: uključuje 1-godišnje jamstvo na dijelove i rad, instalacija i obuka nisu uključene	9002032

Proizvod	Sadržaj	Kat. br.
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	PCR cikler u stvarnom vremenu i analizator taljenja velike razlučivosti s 5 kanala (zeleni, žuti, narančasti, crveni, tamnocrveni) plus HRM kanal, prijenosno računalo, softver, pribor: uključuje 1-godišnje jamstvo na dijelove te rad, instalaciju i obuku	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Instrument za PCR u stvarnom vremenu s 6 kanala (plavi, zeleni, žuti, narančasti, crveni, tamnocrveni) kanal, uključujući prijenosno računalo, softver, pribor: uključuje 1-godišnje jamstvo na dijelove i rad, instalacija i obuka nisu uključene	9002042
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Instrument za PCR u stvarnom vremenu s 6 kanala (plavi, zeleni, žuti, narančasti, crveni, tamnocrveni), uključujući prijenosno računalo, softver, pribor: uključuje 1-godišnje jamstvo na dijelove i rad, instalacija i obuka	9002043
Rotor-Gene Q MDx 2plex Platform	PCR cikler u stvarnom vremenu s 2 kanala (zeleni, žuti), prijenosno računalo, softver, pribor: uključuje 1-godišnje jamstvo na dijelove i rad, instalacija i obuka nisu uključene	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex System	PCR cikler u stvarnom vremenu s 2 kanala (zeleni, žuti), prijenosno računalo, softver, pribor: uključuje 1-godišnje jamstvo na dijelove te rad, instalaciju i obuku	9002003
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM Platform	PCR cikler u stvarnom vremenu i analizator taljenja velike razlučivosti s 2 kanala (zeleni, žuti) plus HRM kanal, prijenosno računalo, softver, pribor: uključuje 1-godišnje jamstvo na dijelove i rad, instalacija i obuka nisu uključene	9002012

Proizvod	Sadržaj	Kat. br.
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM System	PCR cikler u stvarnom vremenu i analizator taljenja velike razlučivosti s 2 kanala (zeleni, žuti) plus HRM kanal, prijenosno računalo, softver, pribor: uključuje 1-godišnje jamstvo na dijelove te rad, instalaciju i obuku	9002013
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Aluminijski blok za ručno postavljanje reakcije s jednokanalnom pipetom sa 72 epruvete od 0,1 ml	9018901
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Aluminijski blok za ručno postavljanje reakcije sa standardnim rasporedom 8 x 12 s 96 epruveta od 0,2 ml	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 stripova od 4 epruvete i čepova za 1000 reakcija	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 stripova od 4 epruvete i čepova za 10.000 reakcija	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 epruveta s tankim stijenkama za 1000 reakcija	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 epruveta s tankim stijenkama za 10.000 reakcija	981008

Ažurirane informacije o licenciranju i izjave specifične za proizvod pogledajte u odgovarajućem priručniku za QIAGEN komplet ili priručniku za korisnika. Priručnici za QIAGEN komplete i korisnički priručnici su dostupni na www.qiagen.com ili ih možete zatražiti od Tehničkih službi tvrtke QIAGEN ili vašeg lokalnog distributera.

Kupnjom ovog proizvoda kupcu se omogućuje korištenje proizvoda za izvođenje dijagnostičkih postupaka za humanu in vitro dijagnostiku. Ovime se ne daje pravo na opći patent ili bilo koja druga licencija osim specifičnog prava uporabe ostvarenog kupnjom.

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

Ugovor o ograničenoj licenciji

Uporabom ovog proizvoda svaki kupac ili korisnik proizvoda *artus* EBV RG PCR Kit pristaje na sljedeće uvjete:

1. Komplet *artus* EBV RG PCR Kit smije se upotrebljavati isključivo u skladu s *priručnikom za artus EBV RG PCR Kit* i upotrebljavati samo s komponentama uključenima u komplet. QIAGEN ne daje nikakvu licenciju za svoje intelektualno vlasništvo za upotrebu ili ugrađivanje komponenata ovog kompleta s bilo kojom komponentom koja nije sadržana u ovom kompletu, osim kako je opisano u *priručniku za artus EBV RG PCR Kit*, koji se nalaze u ovom priručniku i drugim protokolima dostupnima na web-mjestu www.qiagen.com.
2. Osim izričito navedenih licencija, QIAGEN ne jamči da ovaj komplet i/ili njegova upotreba ne krši prava trećih strana.
3. Ovaj komplet i njegove komponente licencirani su samo za jednokratnu upotrebu i ne smiju se ponovno upotrebljavati, prerađivati niti preprodavati.
4. QIAGEN se odriče svih drugih licencija, izričitih ili impliciranih, osim onih koje su izričito navedene.
5. Kupac i korisnik ovog kompleta potvrđuju da neće dopustiti drugim osobama poduzimanje koraka koji bi mogli dovesti do kršenja gore navedenih odredbi ili omogućiti njihovo kršenje. QIAGEN može provesti zabrane navedene u ovom Ugovoru o ograničenoj licenciji na bilo kojem sudu te će potraživati sve sudske troškove i troškove postupka istraživanja, uključujući troškove odvjetnika, za svaku radnju s ciljem provedbe ovog Ugovora o ograničenoj licenciji ili bilo kojeg svojeg prava intelektualnog vlasništva povezanog s kompletom i/ili njegovim komponentama.

Ažurirane uvjete licencije potražite na adresi www.qiagen.com.

© 2009–2014 QIAGEN, sva prava pridržana.

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)

