

Prosinec 2014

---

# Příručka pro sadu *artus*<sup>®</sup> HBV RG PCR



24 (katalogové č. 4506263)



96 (katalogové č. 4506265)

Verze 1



In vitro diagnostikum pro kvantitativní stanovení

Pro použití s přístrojem Rotor-Gene<sup>®</sup> Q



4506263, 4506265



1046920CS



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,

NĚMECKO

R4

MAT

1046920CS



---

Sample & Assay Technologies

## **QIAGEN Sample and Assay Technologies**

QIAGEN je vedoucím poskytovatelem inovativních technologií přípravy vzorků a analýz, které umožňují izolaci a detekci obsahu jakéhokoliv biologického vzorku. Naše pokročilé, vysoce kvalitní produkty a služby Vám zajistí spolehlivý výsledek.

### **QIAGEN určuje standardy:**


- v purifikaci DNA, RNA a proteinů
- v analýzách nukleových kyselin a proteinů
- ve výzkumu microRNA a RNAi
- v automatizaci technologií pro přípravu vzorků a jejich analýz.

Naší misí je umožnit Vám dosáhnout vynikajících výsledků a technických úspěchů. Více informací naleznete na [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).



<b>Obsah</b>	
<b>Složení sady</b>	<b>6</b>
<b>Symboly</b>	<b>6</b>
<b>Uchovávání</b>	<b>7</b>
<b>Zamýšlené použití</b>	<b>7</b>
<b>Omezení pro použití produktu</b>	<b>7</b>
<b>Varování a bezpečnostní opatření</b>	<b>8</b>
<b>Řízení jakosti</b>	<b>8</b>
<b>Úvod</b>	<b>9</b>
Princip	9
Informace o patogenu	9
Charakteristiky chování	10
<b>Vybavení a reagentie, které má zajistit uživatel</b>	<b>18</b>
<b>Důležité poznámky</b>	<b>19</b>
Všeobecná bezpečnostní opatření	19
Odběr, skladování a přeprava vzorků	19
Izolace DNA	20
Interní kontrola	21
Nastavení mezní hodnoty pro PCR analýzu	22
Kvantifikace	22
<b>Protokol: PCR a analýza dat</b>	<b>23</b>
<b>Řešení problémů</b>	<b>32</b>
<b>Literatura</b>	<b>35</b>
<b>Informace o způsobu objednávání</b>	<b>36</b>

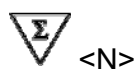
## Složení sady

<b>artus HBV RG PCR Kit</b>		<b>(24)</b>	<b>(96)</b>
<b>Katalogové č.</b>		<b>4506263</b>	<b>4506265</b>
<b>Počet reakcí</b>		<b>24</b>	<b>96</b>
Modrá	HBV RG/TM Master	2 x 12 reakcí	8 x 12 reakcí
Červená	HBV RG/TM QS 1* (1 x 10 <sup>5</sup> IU/μl)	<b>QS</b> 200 μl	200 μl
Červená	HBV RG/TM QS 2* (1 x 10 <sup>4</sup> IU/μl)	<b>QS</b> 200 μl	200 μl
Červená	HBV RG/TM QS 3* (1 x 10 <sup>3</sup> IU/μl)	<b>QS</b> 200 μl	200 μl
Červená	HBV RG/TM QS 4* (1 x 10 <sup>2</sup> IU/μl)	<b>QS</b> 200 μl	200 μl
Červená	HBV RG/TM QS 5* (1 x 10 <sup>1</sup> IU/μl)	<b>QS</b> 200 μl	200 μl
Zelená	HBV RG/TM IC <sup>†</sup>	<b>IC</b> 1000 μl	2 x 1000 μl
Bílá	Voda (v kvalitě vhodné pro PCR)	1000 μl	1000 μl
	Příručka	 1	1

\* Kvantifikační standard.

† Interní kontrola.

## Symbols



Obsahuje reagentie pro <N> testů



Použijte do



Prostředek zdravotnické techniky pro in vitro diagnostiku



Katalogové číslo










Číslo šarže



Číslo materiálu



Díly

	Obsahuje
	Počet
	Globální číslo obchodní položky GTIN
	Teplotní rozmezí
	Výrobce
	Další informace viz návod k použití
	Důležitá poznámka

## Uchovávání

Komponenty sady *artus* HBV RG PCR se skladují při teplotě  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  a mají trvanlivost do data uvedeného na štítku. Zabraňte opakovanému rozmrazení a zmrazení ( $> 2x$ ), snižuje se tím senzitivita analýzy. Pokud se reagentie mají používat pouze občasně, je nutné je zmrazit v alikvotních množstvích. Uchovávání při  $2\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$  by nemělo překročit dobu pěti hodin.

## Zamýšlené použití

Sada *artus* HBV RG PCR je test amplifikace nukleových kyselin in vitro pro kvantifikaci DNA viru hepatitidy B (HBV) v lidské EDTA plazmě. Tato diagnostická sada využívá polymerázovou řetězovou reakci (PCR) a je konfigurována pro použití s přístroji Rotor-Gene Q.

## Omezení pro použití produktu

Všechny reagentie se smí používat výhradně pro diagnostiku in vitro.

Produkt by měli používat pouze pracovníci, kteří jsou speciálně poučeni a vyškoleni v metodice diagnostiky in vitro.

Přesné dodržování protokolu je bezpodmínečně nutné k dosažení optimálních výsledků PCR.

Dbejte na konec doby použitelnosti uvedený na balení a na štítcích jednotlivých komponent. Nepoužívejte reagentie s prošlou trvanlivostí.

V ojedinělých případech mohou mutace ve vysoce konzervovaných oblastech virového genomu, které jsou pokryty primery a/nebo sondami soupravy, vést k nedostatečné kvantifikaci nebo k selhání detekce přítomnosti viru. Validita a účinnost testu jsou pravidelně kontrolovány.

## **Varování a bezpečnostní opatření**

Při práci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní plášť, rukavice na jedno použití a ochranné brýle. Další informace jsou uvedeny v odpovídajících bezpečnostních listech (BL). Bezpečnostní listy jsou k dispozici online v pohodlném a kompaktním formátu PDF na stránkách [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), kde můžete nalézt, zobrazit a vytisknout BL pro každou sadu QIAGEN® a pro každou komponentu těchto sad.

Odpad ze vzorků a rozborů likvidujte podle místních bezpečnostních předpisů.

## **Řízení jakosti**

V souladu se systémem managementu jakosti společnosti QIAGEN certifikovaným podle norem ISO byla každá šarže sady *artus* HBV RG PCR testována podle předem stanovených specifikací, aby byla zaručena jednotná kvalita produktu.

## Úvod

Sada *artus* HBV RG PCR je systém k přímému použití pro průkaz DNA viru hepatitidy B pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) v přístrojích Rotor-Gene Q. HBV RG/TM Master obsahuje reagensie a enzymy pro specifickou amplifikaci úseku 134 bp genomu viru HBV a také pro bezprostřední detekci specifického amplifikátu ve fluorescenčním kanálu Cycling Green přístroje Rotor-Gene Q nebo Rotor-Gene 6000, případně kanálu Cycling A.FAM™ přístroje Rotor-Gene 3000.

Kromě toho sada *artus* HBV RG PCR obsahuje druhý heterologní amplifikační systém pro průkaz potenciální inhibice PCR. Tento systém je detekován jako interní kontrola (IC) ve fluorescenčním kanálu Cycling Yellow přístroje Rotor-Gene Q nebo Rotor-Gene 6000, případně kanálu A.JOE™ přístroje Rotor-Gene 3000. Limit detekce analytické HBV PCR (viz „Analytická senzitivita“, strana 10) přitom není negativně ovlivněn. Spolu s produktem se dodávají externí pozitivní kontroly (HBV RG/TM QS 1–5), pomocí nichž lze určit množství virové DNA. Další informace viz “Kvantifikace”, strana 22.

## Princip

Průkaz původce pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) je založen na amplifikaci specifické oblasti genomu původce. Detekce probíhá při PCR v reálném čase pomocí fluorescenčních barviv. Barviva jsou zpravidla vázaná na oligonukleotidové sondy, které se vážou specificky na PCR amplifikát. Detekce intenzity fluorescence v průběhu PCR v reálném čase umožňuje průkaz a kvantifikaci kumulujícího se produktu, aniž by bylo nutné po PCR znovu otevírat reakční zkumavky.\*

## Informace o patogenu

Virus hepatitidy B (HBV) se přenáší převážně krví, případně krevními produkty. Infekci je možné získat také pohlavním stykem, orální cestou nebo perinatálně. Po celkovém pocitu nemoci spojeném s nechutenstvím, zvracením a abdominálními potížemi se u 10 až 20 % infikovaných osob dostavuje horečka, exantém (kožní vyrážka) a revmatoidní bolesti kloubů a svalů. Po 2 až 14 dnech se vyvine ikterus, který může být doprovázen pruritem. Fulminantní akutní hepatitida se vyskytuje u 1% všech infikovaných osob a často končí smrtí. U 5 až 10 % všech pacientů s hepatitidou B dochází k chronickému zánětu jater, který může vést k rozvoji jaterní cirhózy, případně primárního hepatocelulárního karcinomu.

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



## Charakteristiky chování

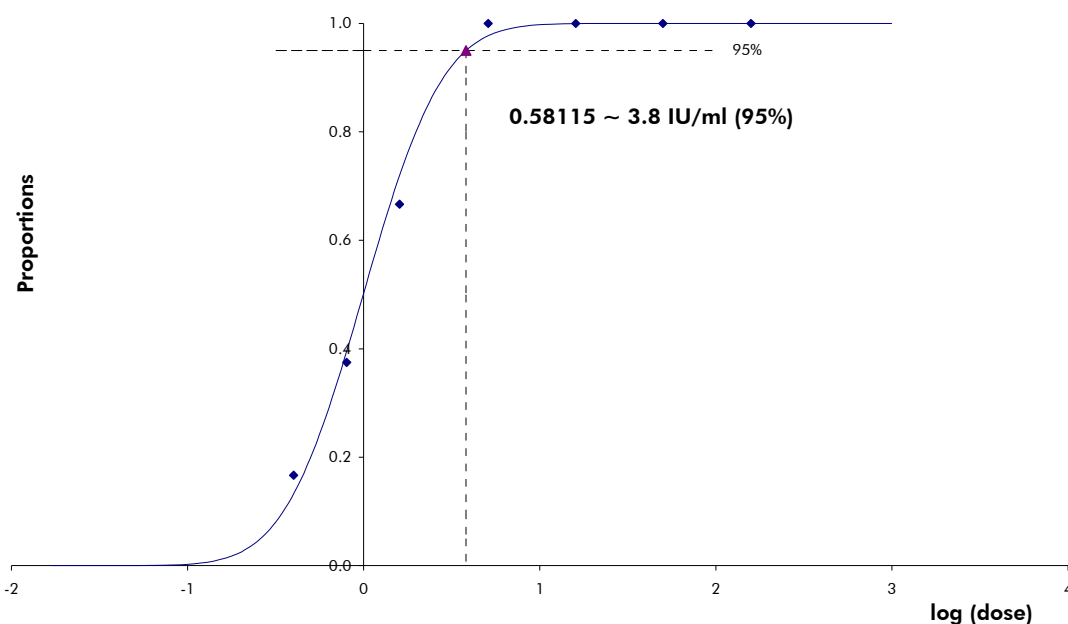
### Analytická senzitivita

Pro validaci sady *artus* HBV RG PCR byl určen jak analytický limit detekce, tak analytický limit detekce s přihlédnutím k izolaci (limit senzitivity). Analytický limit detekce s ohledem na izolaci byl určen na základě HBV pozitivních klinických vzorků a s přihlédnutím na použité metody izolace. Analytický limit detekce byl naproti tomu determinován na základě standardu známé koncentrace, bez klinických vzorků a nezávisle na metodě izolace.

Pro určení analytické senzitivity sady *artus* HBV RG PCR byla vytvořena řada ředění od 10 do nominálně 0,0003 HBV IU/μl. Ta byla následně analyzována za použití sady *artus* HBV RG PCR v přístrojích Rotor-Gene. Experimenty byly provedeny ve 3 různých dnech formou osminásobných určení. Výsledky byly zjištěny probitovou analýzou. Analytický limit detekce sady *artus HBV RG PCR* v kombinaci s přístrojem Rotor-Gene 3000 je 0,02 IU/μl ( $p = 0,05$ ). To znamená, že je s 95% pravděpodobností detekováno 0,02 IU/μl.

Ekvivalence přístrojů Rotor-Gene 3000 a Rotor-Gene Q/6000 byla prokázána na základě technických specifikací potvrzených srovnáním analytického výkonu. Probitové analýzy byly provedeny u obou systémů současně. Analytický limit detekce u přístroje Rotor-Gene Q/6000 leží v mezích intervalu spolehlivosti přístroje Rotor-Gene 3000. Sadu *artus* HBV RG PCR lze tudíž použít k průkazu HBV DNA na přístroji Rotor-Gene Q/6000 s obdobnou senzitivitou.

Analytická senzitivita s ohledem na izolaci (sada QIAamp<sup>®</sup> DSP Virus) sady *artus* HBV RG PCR byla určena řadou ředění 1. mezinárodního standardu HBV organizace WHO (1st International HBV standard) od 158 do nominálně 0,4 HBV IU/ml v klinických vzorcích plazmy. Tyto vzorky byly podrobeny izolaci DNA pomocí QIAamp DSP Virus Kit (extrakční objem: 0,5 ml, eluční objem: 26 μl). Každé ze 7 ředění bylo analyzováno za užití sady *artus* HBV RG PCR ve 3 různých dnech formou osminásobných určení. Výsledky byly zjištěny probitovou analýzou. Grafické znázornění probitové analýzy naleznete v obrázku 1. Analytický limit detekce s ohledem na izolaci sady *artus* HBV RG PCR v kombinaci s přístrojem Rotor-Gene 3000 je 3,8 IU/ml ( $p = 0,05$ ). To znamená, že je s 95% pravděpodobností detekováno 3,8 IU/ml.



**Obrázek 1. Probitová analýza: HBV (Rotor-Gene 3000).** Analytická senzitivita s ohledem na izolaci (sada QIAamp DSP Virus, QIAGEN) sady *artus* HBV RG PCR na přístroji Rotor-Gene 3000.

### Specifická

Specifická sady *artus* HBV RG PCR je v první řadě zaručena výběrem primerů a sond, jakož i volbou přísných reakčních podmínek. Primery a sondy byly na základě sekvenční analýzy přezkoušeny na eventuální homologie se všemi sekvencemi publikovanými v genových bankách. Detekovatelnost všech relevantních genotypů tak byla zajištěna na základě sladění databáze a běhu PCR na přístrojích Rotor-Gene s následujícími genotypy (viz tabulka 1).

**Tabulka 1. Testování specifity relevantních genotypů**

<b>Virus</b>	<b>Genotyp</b>	<b>Zdroj</b>	<b>HBV (Cycling Green nebo A.FAM)</b>	<b>Interní kontrola (Cycling Yellow nebo A. JOE)</b>
HBV	A (USA)	Teragenix*	+	+
HBV	B (Indonésie)	Teragenix	+	+
HBV	C (Indonésie)	Teragenix	+	+
HBV	C (Venezuela)	Teragenix	+	+
HBV	D (USA)	Teragenix	+	+
HBV	E (Pobřeží slonoviny)	Teragenix	+	+
HBV	F (Venezuela)	Teragenix	+	+
HBV	G (USA)	Teragenix	+	+
HBV	H (Nikaragua)	Teragenix	+	+

\* Teragenix Corporation, Florida, USA.

Pro další testování specifity byly použity HBV kmeny, u kterých jsou známy sekvenční rozdíly v pre-core oblasti genomu HBV (HBV Pre-Core Mutant Panel, Teragenix, Florida, USA). Všechny 9 pre-core mutantních kmenů tohoto panelu bylo pomocí sady *artus* HBV RG PCR prokázáno.

Specifita byla navíc validována pomocí 100 různých HBV negativních vzorků plazmy, které spolu se specifickými primery a sondami pro HBV zahrnutými ve směsi HBV RG/TM Master nevytvářejí žádný signál.

Ke kontrole potenciální křížové reaktivity sady *artus* HBV RG PCR byla zkoumána kontrolní skupina uvedená v tabulce 2 (strana 13). Žádný z testovaných původců nebyl reaktivní. Při smíšených infekcích se nevyskytly žádné křížové reaktivity.

### **Lineární oblast kvantifikace**

Lineární oblast kvantifikace (analytické měření) sady *artus* HBV RG PCR byla určena analýzou řady ředění kvantifikačního standardu HBV v rozsahu koncentrace od  $1 \times 10^8$  IU/ $\mu$ l do  $1 \times 10^{-2}$  IU/ $\mu$ l. Řada ředění byla kalibrována vůči 1. mezinárodnímu standardu HBV DNA organizace WHO (WHO 1st International HBV DNA Standard).

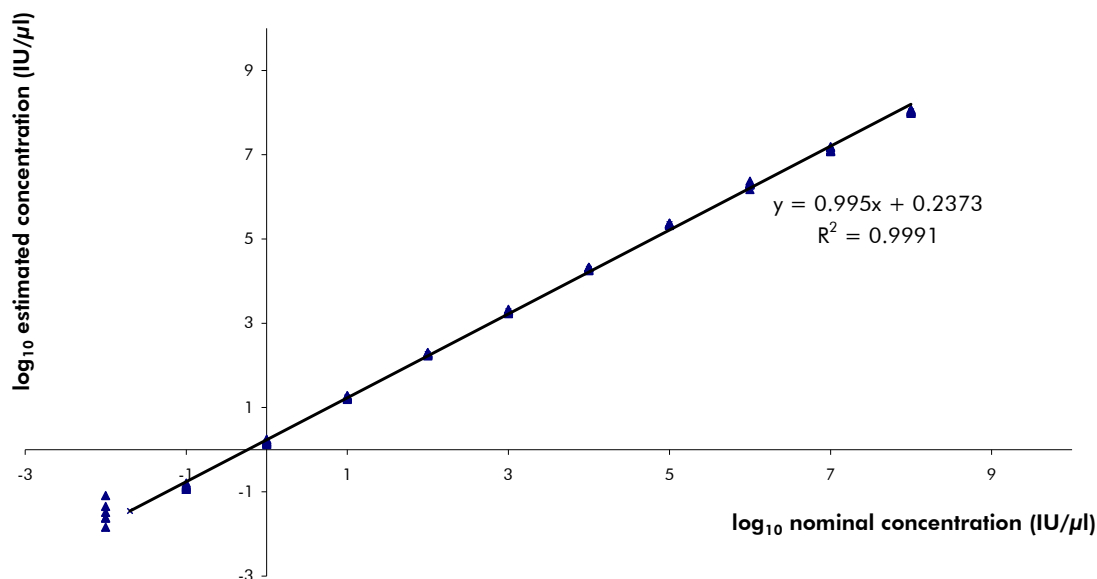
Každá fáze ředění byla testována v replikátech (n = 8 pro koncentrace  $\geq 1 \times 10^0$  IU/ $\mu$ l; n = 16 pro koncentrace  $< 1 \times 10^0$  IU/ $\mu$ l) pomocí sady *artus* HBV RG PCR v přístrojích Rotor-Gene.

**Tabulka 2. Testování specifity diagnostické soupravy pomocí potenciálně křížově reaktivních patogenů**

Kontrolní skupina	HBV (Cycling Green nebo Cycling A.FAM)	Interní kontrola (Cycling Yellow nebo Cycling A.JOE)
Lidský herpesvirus 1 (herpes simplex virus 1)	–	+
Lidský herpesvirus 2 (herpes simplex virus 2)	–	+
Lidský herpesvirus 3 (virus varicella zoster)	–	+
Lidský herpesvirus 4 (virus Epsteina a Barrové)	–	+
Lidský herpesvirus 5 (cytomegalovirus)	–	+
Lidský herpesvirus 6	–	+
Virus lidské imunodeficiency 1	–	+
Virus hepatitidy A	–	+
Virus hepatitidy C	–	+
Parvovirus B19	–	+
Virus žluté horečky	–	+
Lidský virus leukémie T-buněk typu 1 a 2	–	+
Coxsackie virus B3	–	+
Dengue virus 1–4	–	+
<i>Escherichia coli</i>	–	+

Lineární oblast kvantifikace sady *artus* HBV RG PCR se dle výsledků vztahuje na koncentrace od 0,02 IU/ $\mu$ l do minimálně  $1 \times 10^8$  IU/ $\mu$ l (obrázek 2).

Za předpokladu, že bude pro extrakci DNA použita sada QIAamp DSP Virus, může sada *artus* HBV RG PCR pokrývat lineární oblast kvantifikace od 1,1 IU/ml do minimálně  $4 \times 10^9$  IU/ml.



**Obrázek 2. Lineární oblast kvantifikace sady *artus* HBV RG PCR** Výpočet lineární oblasti kvantifikace. Přímka byla stanovena lineární regrese log<sub>10</sub> vypočítaných koncentrací s log<sub>10</sub> nominálními koncentracemi. Rovnice regresních přímek je zahrnuta v obrázku.

## Přesnost

Údaje o přesnosti pro sadu *artus* HBV RG PCR umožňují stanovit celkovou variabilitu testovacího systému. Tato celková variabilita se skládá z intraassay variability (variabilita výsledků vzorků stejné koncentrace v rámci jednoho pokusu), z interassay variability (variabilita výsledků rozboru generovaných na různých přístrojích stejného typu a provedených různými osobami v jedné laboratoři) a z interbatch variability (variabilita výsledků rozboru za užití různých šarží). Získaná data byla použita k vypočítání standardní odchylky, variance a koeficientu variace jak pro specifickou PCR původce, tak i pro PCR interní kontroly.

Údaje o přesnosti byly pro sadu *artus* HBV RG PCR stanoveny na základě kvantifikačního standardu s nejnižší koncentrací (QS 5; 10 IU/μl). Experimenty byly provedeny formou osminásobných určení. Údaje o přesnosti byly vypočítány na základě hodnot C<sub>T</sub> amplifikačních křivek (C<sub>T</sub>: prahový cyklus, viz tabulka 3, strana 15). Pomocí odpovídajících hodnot C<sub>T</sub> byly navíc určeny údaje o přesnosti pro kvantitativní výsledky v IU/μl (tabulka 4). Na základě těchto výsledků činí celkový statistický rozptyl libovolného vzorku uvedené koncentrace 1,29 % (C<sub>T</sub>), resp. 8,99 % (koncentrace) a 1,87 % (C<sub>T</sub>) pro průkaz

interní kontroly. Tyto hodnoty se zakládají na souhrnu všech dílčích hodnot zjištěných variabilit.

**Tabulka 3. Data o přesnosti na základě hodnot C<sub>T</sub>**

	<b>Směrodatná odchylka</b>	<b>Variance</b>	<b>Koeficient variance (%)</b>
Variabilita v rámci jednoho pokusu: HBV RG/TM QS 5	0,09	0,01	0,32
Variabilita v rámci jednoho pokusu: Interní kontrola	0,10	0,01	1,06
Variabilita mezi různými pokusy: HBV RG/TM QS 5	0,14	0,02	0,49
Variabilita mezi různými pokusy: Interní kontrola	0,29	0,08	1,00
Variabilita mezi různými šaržemi: HBV RG/TM QS 5	0,38	0,15	1,39
Variabilita mezi různými šaržemi: Interní kontrola	0,62	0,39	2,23
Celková variabilita: HBV RG/TM QS 5	0,36	0,13	1,29
Celková variabilita: Interní kontrola	0,52	0,27	1,87

**Tabulka 4. Údaje o přesnosti na základě kvantitativních hodnot (v IU/μl)**

	<b>Směrodatná odchylka</b>	<b>Variance</b>	<b>Koeficient variace (%)</b>
Variabilita v rámci jednoho pokusu: HBV RG/TM QS 5	0,93	0,87	9,28
Variabilita mezi různými pokusy: HBV RG/TM QS 5	0,79	0,63	7,92
Variabilita mezi různými šaržemi: HBV RG/TM QS 5	1,03	1,05	10,21
Celková variabilita: HBV RG/TM QS 5	0,90	0,81	8,99

### **Robustnost**

Přezkoušení robustnosti slouží k stanovení celkové četnosti chyb sady *artus* HBV RG PCR. Za tímto účelem bylo 100 HBV negativních vzorků plazmy smíšeno s 0,05 IU/μl elučního objemu kontrolní HBV DNA (přibližně trojnásobná koncentrace analytického limitu senzitivity). Po izolaci pomocí sady QIAamp DSP Virus (viz „Izolace DNA“, strana 20) byly tyto vzorky analyzovány s využitím sady *artus* HBV RG PCR. Četnost chyb pro HBV činila u všech vzorků 0 %. Robustnost interní kontroly byla dodatečně přezkoušena izolací a analýzou 100 HBV negativních vzorků plazmy. Celková četnost chyb činila 0%. Inhibice nebyly pozorovány. Robustnost sady *artus* HBV RG PCR činí tedy  $\geq 99$  %.

### **Reprodukovatelnost**

Údaje o reprodukovatelnosti jsou pořizovány za účelem pravidelného hodnocení výkonnosti sady *artus* HBV RG PCR a výkonnostního srovnání s ostatními produkty. Tyto údaje jsou získávány na základě účastí v uznávaných programech pro výkonnostní hodnocení.

### **Diagnostické hodnocení**

Ve studii 2 nezávislých laboratoří byla sada *artus* HBV RG PCR porovnána s COBAS<sup>®</sup> TaqMan<sup>®</sup> HBV Assay. Za tímto účelem bylo testováno 287 retrospektivních a prospektivních vzorků plazmy.

HBV DNA určená pro testování se sadou *artus* HBV RG PCR byla izolována pomocí sady QIAamp DSP Virus. Analýza byla provedena v přístroji Rotor-Gene 3000. Pro srovnávací testy s COBAS TaqMan HBV Assay byla HBV

DNA izolována podle údajů výrobce uvedených v příbalových informacích. Výsledky získané pomocí sady *artus* HBV RG PCR byly porovnány s výsledky COBAS TaqMan HBV Assay.

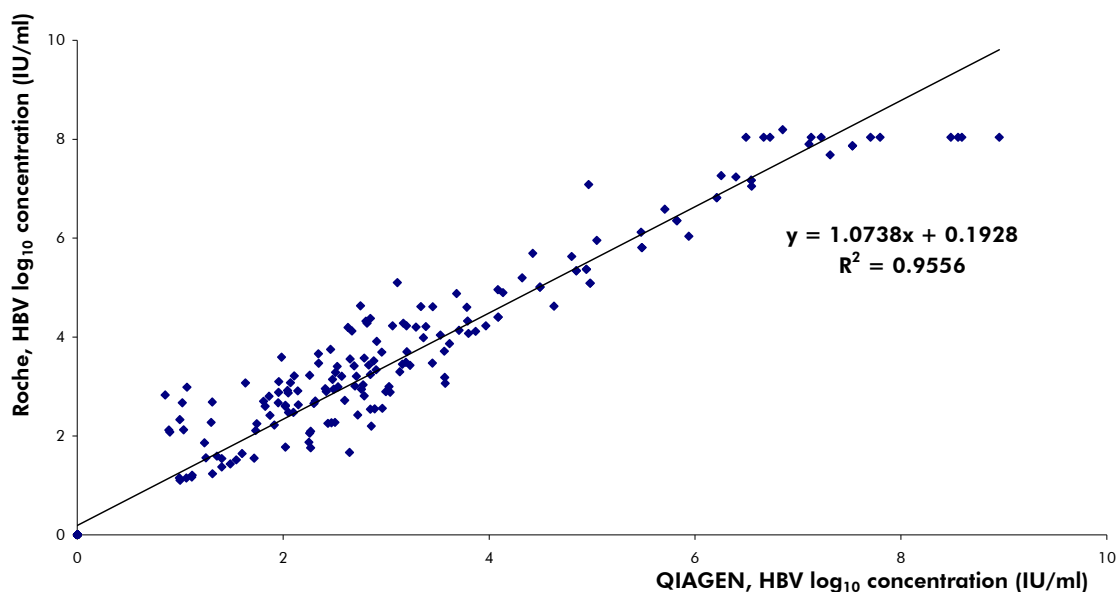
V porovnání s výsledky COBAS TaqMan HBV Assay, které slouží jako reference, činí u všech zkoumaných plazmových vzorků diagnostická senzitivita sady *artus* HBV RG PCR 100 % a diagnostická specifická 97 %. Výsledky jsou znázorněny v tabulce 5.

**Tabulka 5. Výsledky srovnávací validační studie**

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

Další analýza 3 diskrepantních vzorků potvrdila výsledky sady *artus* HBV RG PCR. Lze tudíž předpokládat, že diskrepance je podmíněna vyšší senzitivitou sady *artus* HBV RG PCR.

Korelace kvantitativních výsledků obou testovacích systémů byla analyzována pomocí lineární regrese. Porovnání výsledků obou sad je znázorněno na obrázku 3.



**Obrázek 3. Porovnání sady COBAS TaqMan HBV Assay (Roche, HBV; purifikace vzorku provedena s využitím systému High Pure) se sadou *artus* HBV RG PCR (QIAGEN, HBV; purifikace vzorku provedena s využitím sady QIAamp DSP Virus). Korelace kvantitativních výsledků obou testovacích systémů (tabulka 5) byla analyzována pomocí lineární regrese. Výsledky obou sad jsou znázorněny v rozptylovém diagramu XY se stupnicí log/log.**



## Vybavení a reagensie, které má zajistit uživatel

Při práci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní plášť, rukavice na jedno použití a ochranné brýle. Další informace jsou uvedeny v příslušných bezpečnostních listech (BL), které lze získat od dodavatele produktu.

- Sada k izolaci DNA (viz „Izolace DNA“, strana 20)
- Pipety (nastavitelné)\*
- Sterilní pipetovací špičky s filtrem
- Třepačka vortex\*
- Stolní centrifuga s rotorem pro 2ml reakční zkumavky
- Přístroj Rotor-Gene Q nebo Rotor-Gene\* s fluorescenčními kanály Cycling Green a Cycling Yellow nebo s fluorescenčními kanály Cycling A.FAM a Cycling A.JOE
- Verze softwaru Rotor-Gene Q 1.7.94 (verze softwaru Rotor-Gene 6000: 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94; verze softwaru Rotor-Gene 3000: 6.0.23) a vyšší
- Zkumavky v stripech s uzávěry, 0,1 ml, pro použití s 72jamkovým rotorem (kat. čís. 981103 nebo 981106)
- Alternativně: Zkumavky PCR, 0,2 ml, pro použití s 36jamkovým rotorem (kat. čís. 981005 nebo 981008)
- Chladicí blok (vkládací blok 72 x 0,1ml zkumavky, kat. čís. 9018901, nebo vkládací blok 96 x 0,2ml zkumavky, kat. čís. 9018905)

\* Ujistěte se, že byly přístroje kontrolovány a kalibrovány podle doporučení výrobce.


## Důležité poznámky


### Všeobecná bezpečnostní opatření

Uživatel by měl dbát na následující:

- Používejte sterilní pipetovací špičky s filtrem.
- Skladujte, izolujte a přidávejte pozitivní materiál (vzorky, pozitivní kontroly a amplifikáty) do reakční směsi na jiném místě než ostatní reagenty.
- Všechny komponenty před počátkem analýzy úplně rozmrazte při pokojové teplotě (15–25 °C).
- Následně komponenty řádně promíchejte (opakovaný náběr pipetou a vypuštění pipety nebo pulzní třepačka) a krátce centrifugujte.
- Pracujte rychle a udržujte komponenty na ledu nebo v chladičím bloku (72- / 96jamkový vkladací blok).

### Odběr, skladování a přeprava vzorků

 Se všemi vzorky se musí zacházet jako s potenciálně infekčními.


 Dosud známé údaje prokazují EDTA nebo citrátovou plazmu jako nejvhodnější vzorek pro průkaz HBV. Doporučujeme tedy používat tyto materiály se sadou *artus* HBV RG PCR.

Interní validace sady *artus* HBV RG PCR byla provedena pomocí lidské EDTA plazmy. Jiné materiály vzorků nejsou validovány. Prosím používejte pro přípravu vzorku pouze doporučenou sadu k izolaci DNA (viz „Izolace DNA“, strana 20).

Při užití některých materiálů vzorků je nezbytné dodržovat následující předpisy pro odběr, skladování a přepravu.

#### Odběr vzorků

Každý odběr krve je podmíněn narušením krevních cest (tepny, žíly, kapiláry). Používat se smí pouze nezávadný a sterilní materiál. Pro odběr krve by měly být k dispozici odpovídající jednorázové pomůcky. K punkci žil by se neměly používat příliš jemné kapilární jehly. Odběr žilní krve by měl být proveden na vhodných místech v oblasti loketní jamky, předloktí nebo na hřbetu ruky. Krev odebírejte do standardních odběrových zkumavek (červený uzávěr, Sarstedt nebo ekvivalentní zkumavky jiných výrobců). Odeberte 5–10 ml EDTA krve. Zkumavky by měly být bezprostředně po odběru promíchány opakovaným obracením (8x, netřepat).

 Vzorky osob, kterým byl podán heparin, se nesmí používat (viz „Látky narušující **stanovení**“, dole).

## **Skladování vzorků**

Plná krev by měla být během 6 hodin rozdělena na plazmu a buněčné elementy centrifugací při 800–1600 x g po dobu 20 minut. Oddělená plazma musí být přenesena do sterilních polypropylenových zkumavek. Výkonnost testu může být opakovaným zmrazováním nebo delším skladováním vzorků narušena. DNA obsaženou ve viru lze při 4 °C skladovat po dobu několika dní, při –20 °C několik týdnů a při –70 °C měsíce až roky.\*

## **Přeprava vzorků**

Vzorky by měly být přepravovány zásadně v nerozbitných transportních nádobách, aby se zabránilo eventuálnímu nebezpečí infekce při úniku vzorku. Vzorky musí být zasílány podle platných místních a státních předpisů pro přepravu látek vyvolávajících nákazu.†

Přeprava nesmí trvat déle než šest hodin. Skladování na místě odběru se nedoporučuje. Transport poštou je možný, musí se však dbát na zákonné předpisy. Doporučujeme přepravu vzorků kurýrem. Krevní vzorky by měly být zasílány chlazené (2–8 °C) a oddělená plazma hluboce zmrazená (–15 až –30 °C).

## **Látky narušující stanovení**

Zvýšené hodnoty bilirubinu ( $\geq 15$  mg/dl) a lipidů ( $\geq 800$  mg/dl) stejně jako hemolytické vzorky systém neovlivňují. Heparin ( $\geq 10$  IU/ml) reakci PCR nepříznivě ovlivňuje. Vzorky, které byly odebrány do zkumavek, které obsahují heparin jako antikoagulant, nesmí být použity. Stejně tak se nesmí používat vzorky heparinizovaných osob.

## **Izolace DNA**

Sada QIAamp DSP Virus (QIAGEN, kat. čís. 60704) je validována pro purifikaci virové DNA z lidské plazmy pro použití se sadou *artus* HBV RG PCR. Purifikaci virové DNA proveďte podle pokynů v příručce pro sadu QIAamp DSP Virus (*QIAamp DSP Virus Kit Handbook*).

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

† International Air Transport Association (Mezinárodní asociace leteckých dopravců) (IATA). Dangerous Goods Regulations (Předpisy pro přepravu nebezpečného zboží).

① Užití nosičové RNA má rozhodující význam pro efektivitu izolace a tím i pro výtěžek DNA/RNA. Pro větší stabilitu nosičové RNA dodávané spolu se sadou QIAamp DSP Virus postupujte podle údajů o rekonstituci a skladování nosičové RNA uvedených v návodu k použití („Preparing reagents and buffers“).

① Interní kontrolu sady *artus* HBV RG PCR lze vložit přímo do izolace (viz „Interní kontrola“ níže). Dbejte na to, aby byl při izolaci zpracován také negativní vzorek plazmy. Jemu odpovídající signál interní kontroly je podkladem pro vyhodnocení izolace.

## Interní kontrola

Spolu s produktem se dodává interní kontrola (HBV RG/TM IC). Uživatel má tak možnost kontrolovat jak izolaci DNA, tak také možnou inhibici PCR. Pro tuto aplikaci přidejte k izolaci interní kontrolu v poměru 0,1 µl na 1 µl elučního objemu. Jestliže používáte například sadu QIAamp DSP Virus a eluujete DNA v 60 µl elučního pufru (AVE), přidejte na začátku 6 µl interní kontroly. Množství vkládané interní kontroly závisí pouze na elučním objemu.

① Interní kontrola a nosičová RNA (viz „Izolace DNA“, strana 20) by měly být přidávány pouze ke směsi lyzačního pufru a vzorku nebo přímo k lyzačnímu pufru.

Interní kontrola nesmí být přidána přímo ke vzorku. Upozorňujeme, že při přidávání k lyzačnímu pufru musíte směs interní kontroly a lyzačního pufru / nosičové RNA připravit vždy čerstvou a ihned použít (skladování směsi při pokojové teplotě nebo v lednici může již po několika hodinách vést k selhání interní kontroly a ke snížení efektivity izolace).

① Interní kontrolu a nosičovou RNA nepipetujte přímo do vzorku.

Aby byla izolace hodnocena jako úspěšná, musí hodnota  $C_T$  interní kontroly negativního vzorku plazmy zpracovávaného při izolaci (sada QIAamp DSP Virus) za použití přístroje Rotor-Gene Q dosahovat  $C_T = 29 \pm 3$  (mezní hodnota: 0,03). Uvedená variabilita je podmíněná přístrojovou variabilitou a variabilitou izolace. Větší odchylka poukazuje na problémy s izolací. V tomto případě musí být izolace přezkoušena a popřípadě nově validována. Pokud se vyskytnou další otázky nebo problémy, kontaktujte prosím Technické služby QIAGEN.


Volitelně lze interní kontrolu použít výhradně ke kontrole možné inhibice PCR. V tomto případě přidejte interní kontrolu přímo ke směsi HBV RG/TM Master, jak popisuje krok 2b protokolu (strana 24).

## Nastavení mezní hodnoty pro PCR analýzu

Optimální nastavení mezní hodnoty pro danou kombinaci přístroje Rotor-Gene Q a sady *artus* RG PCR by mělo být empiricky stanoveno testováním každé individuální kombinace, protože se jedná o relativní hodnotu závislou na celkovém diagnostickém pracovním postupu. Pro začátek může být mezní hodnota nastavena na úvodní hodnotu 0,04 pro analýzu prvního PCR běhu. Tato hodnota by ale měla být doladěna v komparativní analýze dalších běhů v pracovním schématu. Mezní hodnota by měla být nastavena manuálně těsně nad signál pozadí negativních kontrol a negativních vzorků. Průměrná mezní hodnota vypočítaná z těchto pokusů by měla s velkou pravděpodobností platit i pro většinu následujících běhů. Uživatel by přesto měl generované mezní hodnoty pravidelně kontrolovat. Mezní hodnota se pohybuje obvykle mezi 0,03–0,05 a měla by se zaokrouhlovat na maximálně tři desetinná místa.

## Kvantifikace

S kvantifikačními standardy (HBV RG/TM QS 1–5) dodávanými spolu s produktem se zachází stejně jako s již izolovanými vzorky a přidávají se ve stejném objemu (20 µl). Standardní křivku na přístroji Rotor-Gene Q vytvoříte tak, že použijete všech 5 kvantifikačních standardů, definujete je v dialogovém okně „Edit Samples“ (Upravit vzorky) jako standardy a zadáte odpovídající koncentrace (viz uživatelská příručka k přístroji).

 Kvantifikační standardy jsou definovány jako IU/µl.\* Pro přepočtení hodnot získaných pomocí standardní křivky na IU/ml vzorku se používá následující vzorec:

$$\text{Výsledek (IU/ml)} = \frac{\text{výsledek (IU/}\mu\text{l)} \times \text{eluční objem (}\mu\text{l)}}{\text{objem vzorku (ml)}}$$

Do výše uvedeného vzorce se dosazuje zásadně původní objem vzorku. Toto se musí zohlednit, byl-li objem vzorku před izolací nukleových kyselin pozměněn (např. redukce objemu centrifugací nebo jeho zvýšení naplněním na objem požadovaný pro izolaci).

\* Standard byl kalibrován pomocí 1. mezinárodního standardu HBV (WHO; „1st International HBV standard“).

# Protokol: PCR a analýza dat

## Důležité body před zahájením

- Před začátkem procesu si přečtěte „Důležité poznámky“, strany 19–22.
- Před zahájením protokolu si najdete čas a seznamte se s přístrojem Rotor-Gene Q. Viz uživatelská příručka k přístroji.
- Dbejte na to, aby byl do každého běhu PCR zahrnut alespoň jeden kvantifikační standard a jedna negativní kontrola (voda v kvalitě vhodné pro PCR). Pro vytvoření standardní křivky použijte u každého běhu PCR všech 5 kvantifikačních standardů (HBV RG/TM QS 1–5) dodávaných spolu s produktem.

## Věci, které je nutné udělat před zahájením

- Ověřte, že je chladicí blok (příslušenství přístroje Rotor-Gene Q) předem vychlazen na 2–8 °C.
- Všechny reagensie se musí před začátkem testu zcela rozmrazit při pokojové teplotě, musí být dobře promíchány (opakovaný náběh pipetou a vypuštění pipety nebo krátký vortex) a následně centrifugovány.

## Postup

1. Umístěte požadovaný počet zkumavek PCR do adaptérů chladicího bloku.
  2. Chcete-li pomocí interní kontroly sledovat jak izolaci DNA, tak možnou inhibici PCR, postupujte podle kroku 2a. Chcete-li interní kontrolu použít výhradně ke kontrole inhibice PCR, postupujte podle kroku 2b.
- 2a. Interní kontrola již byla přidána k izolaci (viz „Interní kontrola“, strana 21). V tomto případě připravte směs Master Mix podle tabulky 6.

**Tabulka 6. Příprava směsi Master Mix (interní kontrola použita ke sledování izolace DNA a ke kontrole inhibice PCR)**

Počet vzorků	1	12
HBV RG/TM Master	30 µl	360 µl
HBV RG/TM IC	0 µl	po 0 µl
<b>Celkový objem</b>	<b>30 µl</b>	<b>po 360 µl</b>

**2b. Interní kontrola musí být přidána přímo k HBV RG/TM Master. V tomto případě připravte směs Master Mix podle tabulky 7.**

Reakční směs obvykle obsahuje všechny komponenty potřebné pro PCR kromě vzorku.

**Tabulka 7. Příprava směsi Master Mix (interní kontrola použitá výhradně ke kontrole inhibice PCR)**

<b>Počet vzorků</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
HBV RG/TM Master	30 µl	360 µl
HBV RG/TM IC	2 µl	24 µl
<b>Celkový objem</b>	<b>32 µl*</b>	<b>384 µl*</b>

\* Zvýšení objemu podmíněné přidáním interní kontroly se při přípravě reakce PCR nezohledňuje. Senzitivita detekčního systému není omezena.

- 3. Odměřte pipetou do každé zkumavky PCR 30 µl směsi Master Mix. Poté přidejte 20 µl eluátu z izolace DNA (viz tabulka 8). Obdobně musíte přidat jako pozitivní kontrolu 20 µl alespoň jednoho kvantifikačního standardu (HBV RG/TM QS 1–5) a jako negativní kontrolu 20 µl vody v kvalitě vhodné pro PCR (Water, PCR grade).**

**Tabulka 8. Příprava PCR reakce**

<b>Počet vzorků</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
Master Mix	30 µl	po 30 µl
Vzorek	20 µl	po 20 µl
<b>Celkový objem</b>	<b>50 µl</b>	<b>po 50 µl</b>

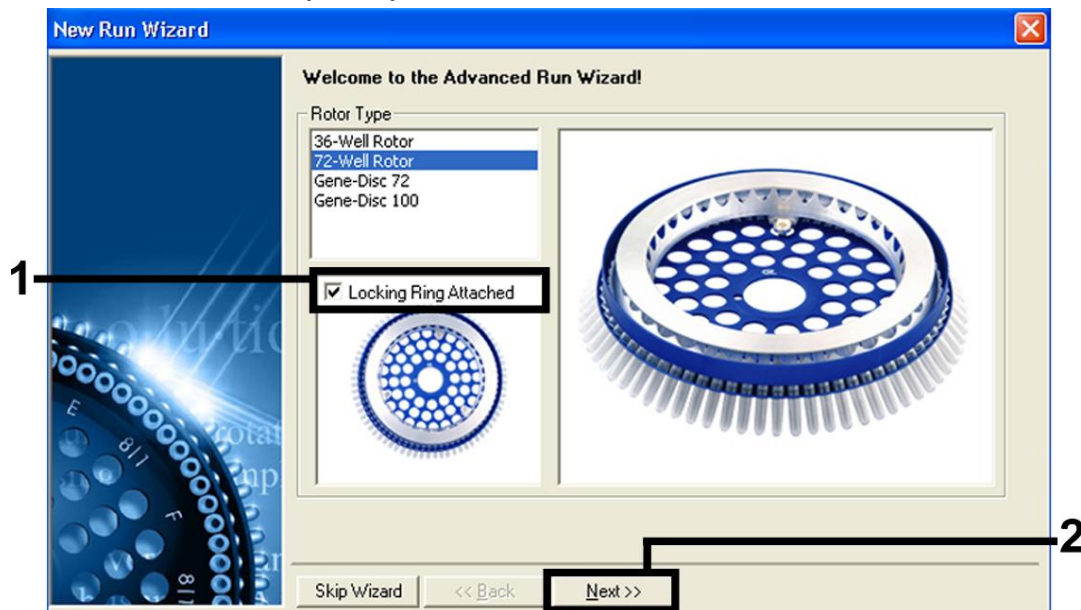
- 4. Uzavřete zkumavky PCR. Ujistěte se, že byl na rotor nasazen Locking Ring (příslušenství přístroje Rotor-Gene) jako prevence nechtěného otevření zkumavek během běhu.**

5. Po detekci HBV DNA vytvořte teplotní profil podle následujících kroků:

Nastavení obecných parametrů	Obrázky 4, 5, 6
Počáteční aktivace Hot Start enzymu	Obrázek 7
Amplifikace DNA	Obrázek 8
Nastavení senzitivity fluorescenčních kanálů	Obrázek 9
Spuštění běhu	Obrázek 10

Veškeré údaje se vztahují na software Rotor-Gene Q verze 1.7.94, software Rotor-Gene 6000 verze 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94 a software Rotor-Gene 3000 verze 6.0.23. Podrobnosti k programování přístrojů Rotor-Gene naleznete v uživatelské příručce k přístroji. Na obrázcích jsou tato nastavení zvýrazněna černými rámečky. Ilustrace se vztahují k přístrojům Rotor-Gene Q. Vyžaduje-li přístroj Rotor-Gene 3000 jiné hodnoty, rozdíly jsou popsány v textu.

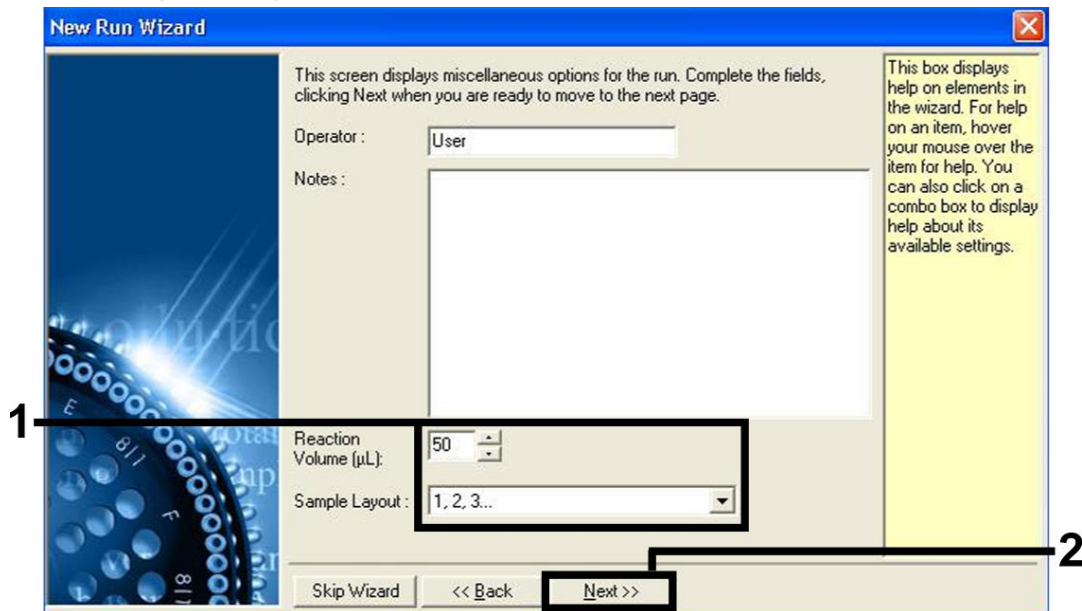
6. Nejdříve otevřete okno “New Run Wizard” (obrázek 4). Zaškrtněte rámeček “Locking Ring Attached” (Přípevněn pojistný prstenec) a klikněte na “Next” (Další).



Obrázek 4. Dialogové okno “New Run Wizard”.

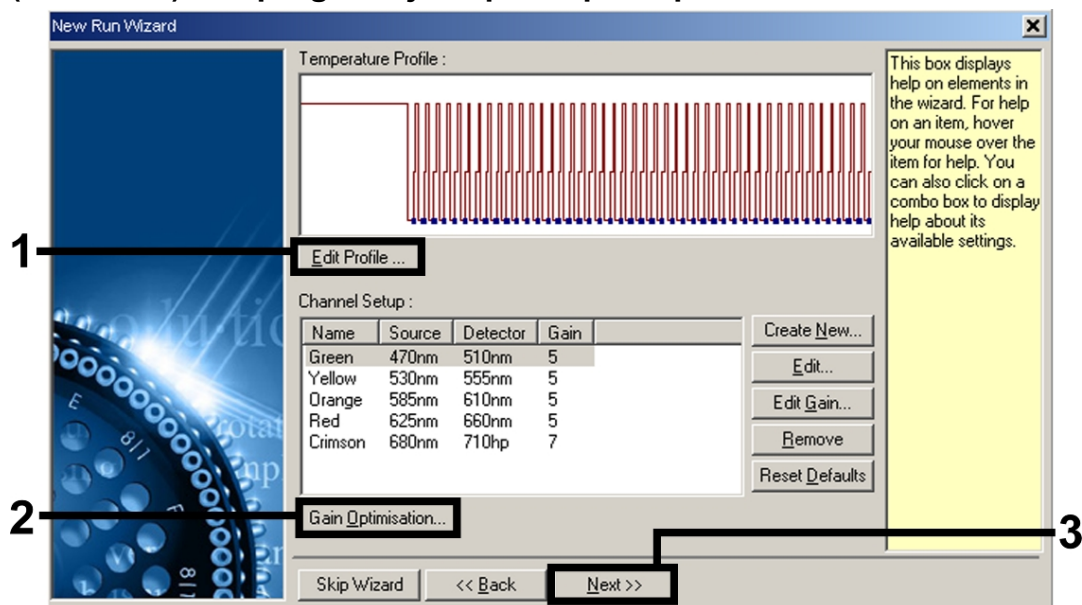


7. Zvolte 50 jako objem PCR reakce a klikněte na “Next” (obrázek 5).

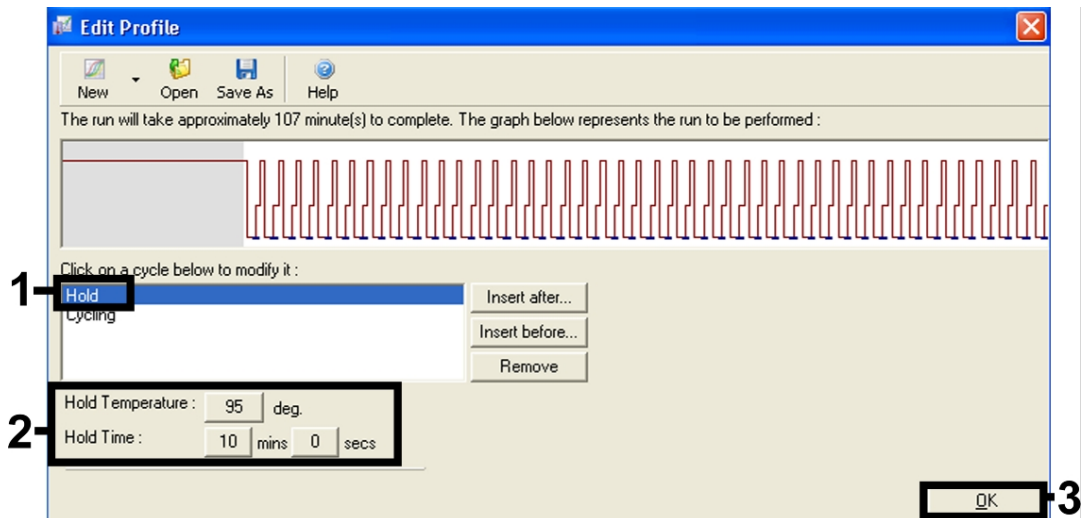


Obrázek 5. Nastavení obecných parametrů analýzy.

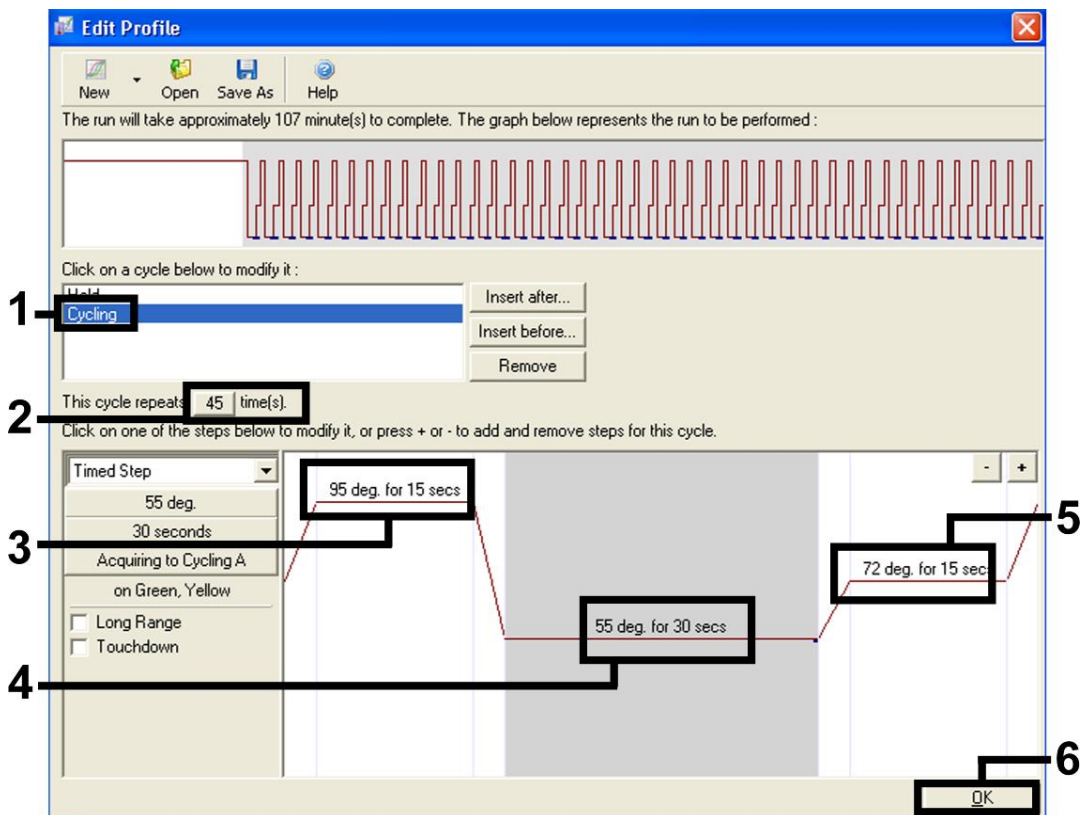
8. Klikněte na tlačítko “Edit Profile” v dalším okně “New Run Wizard” (obrázek 6) a naprogramujte teplotní profil podle obrázků 6-8.



Obrázek 6. Úprava profilu.

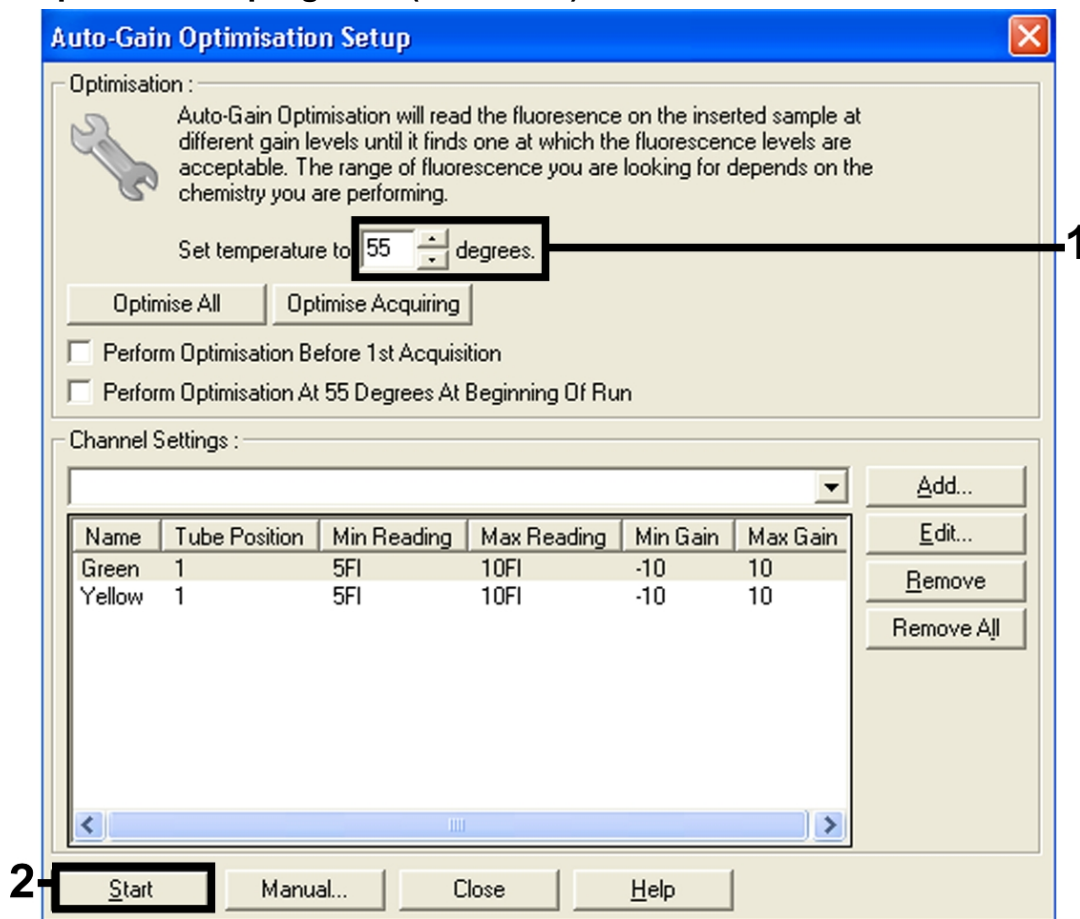


Obrázek 7. Počáteční aktivace Hot Start enzymu.



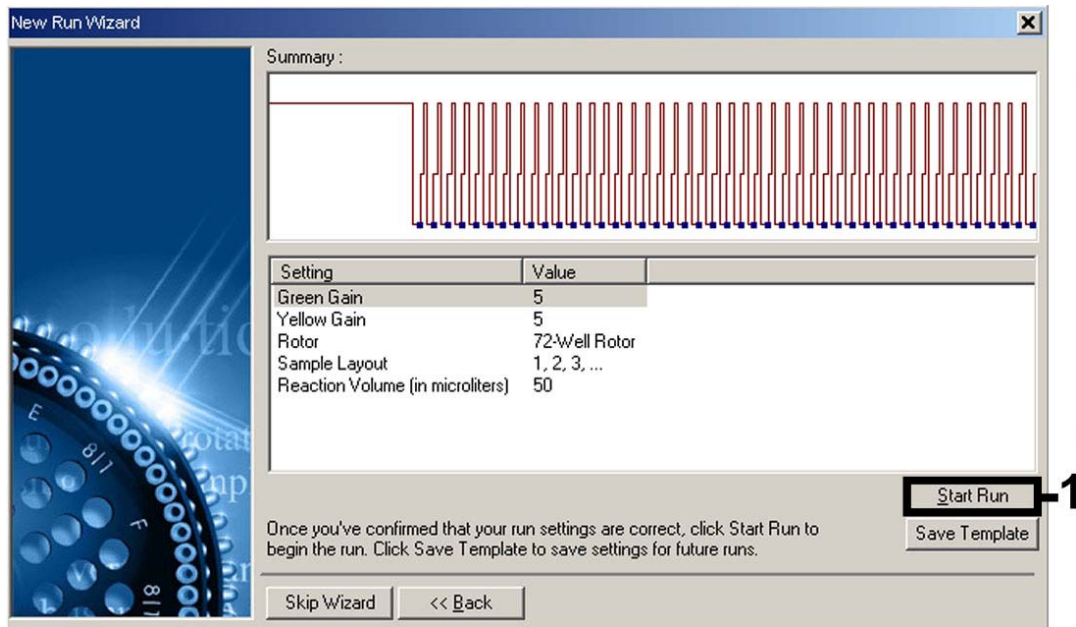
Obrázek 8. Amplifikace DNA. Upozorňujeme, že software přístroje Rotor-Gene 3000 definuje fluorescenční barviva jako „FAM/Sybr, JOE“.

9. Měřicí rozsah fluorescenčních kanálů je třeba určit podle fluorescenční intenzity v PCR zkumavkách. Klikněte na “Gain Optimisation” v okně menu “New Run Wizard” (viz obrázek 6) pro otevření okna “Auto-Gain Optimisation Setup”. Nastavte kalibrační teplotu na 55, aby odpovídala reasociační (annealing) teplotě amplifikačního programu (obrázek 9).



Obrázek 9. Nastavení senzitivity fluorescenčních kanálů. Upozorňujeme, že software přístroje Rotor-Gene 3000 definuje fluorescenční barviva jako „FAM/Sybr“ a „JOE“.

10. Hodnoty výsledků determinované kalibračními kanály se automaticky uloží a jsou uvedené v seznamu v posledním okně programovací procedury (obrázek 10). Stiskněte “Start Run” (Spustit běh).



**Obrázek 10. Spuštění běhu.** Upozorňujeme, že software přístroje Rotor-Gene 3000 definuje fluorescenční barviva jako „FAM/Sybr“ a „JOE“.

11. Po dokončení běhu analyzujte výsledky. Může dojít k následujícím výsledkům (11a, 11b a 11c).

Příklady pozitivních a negativních reakcí PCR jsou uvedeny na obrázcích 11 a 12.

- 11a. **Ve fluorescenčním kanálu Cycling Green je detekován signál. Výsledek analýzy je pozitivní: Vzorek obsahuje HBV DNA.**

V tomto případě je detekce signálu v kanálu Cycling Yellow podružná, protože vysoké výchozí koncentrace HBV DNA (pozitivní signál v kanálu Cycling Green) mohou vést k redukovanému až chybějícímu fluorescenčnímu signálu interní kontroly v kanálu Cycling Yellow (kompetice).

**i** Upozorňujeme, že u přístroje Rotor-Gene 3000 se relevantní kanály označují Cycling A.FAM pro pozitivní signál a Cycling A.JOE pro interní kontrolu.

**11b. Ve fluorescenčním kanálu Cycling Green není detekován žádný signál. Současně se v kanálu Cycling Yellow objevuje signál interní kontroly.**

**Ve vzorku není prokazatelná žádná HBV DNA. Lze jej považovat za negativní.**

Při negativní HBV PCR vylučuje detekovaný signál interní kontroly možnost inhibice PCR.

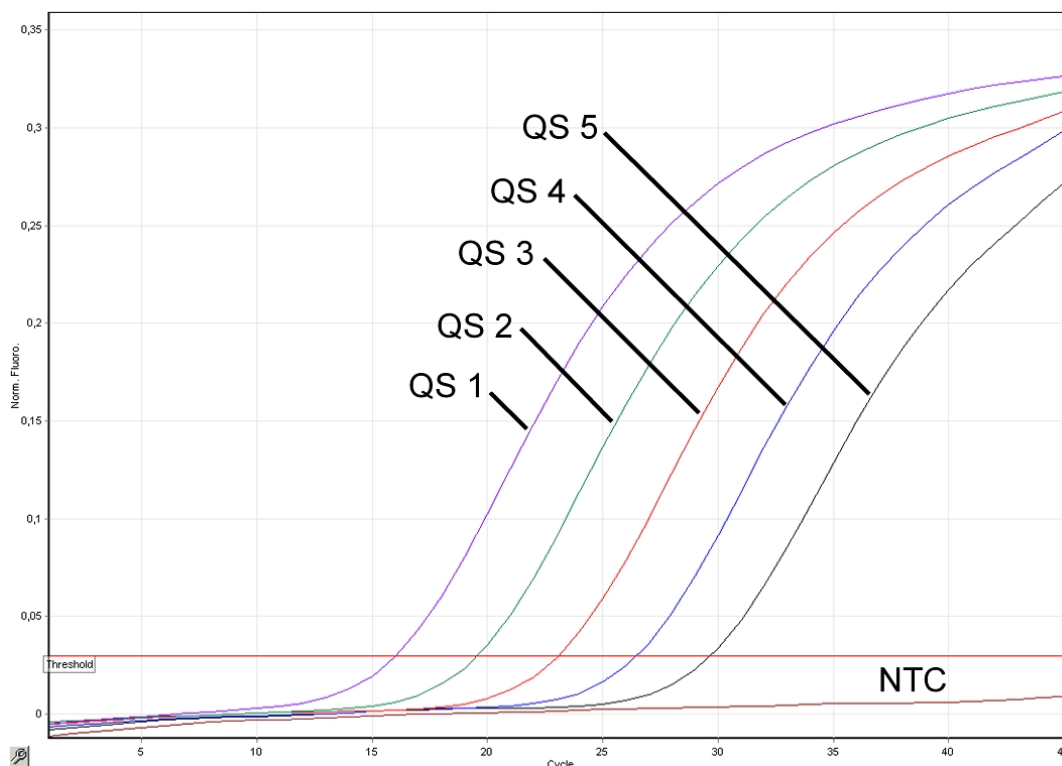
**i** Upozorňujeme, že u přístroje Rotor-Gene 3000 se relevantní kanály označují Cycling A.JOE pro interní kontrolu a Cycling A.FAM pro chybějící signál.

**11c. Signál není detekován ani v kanálu Cycling Green ani v kanálu Cycling Yellow.**

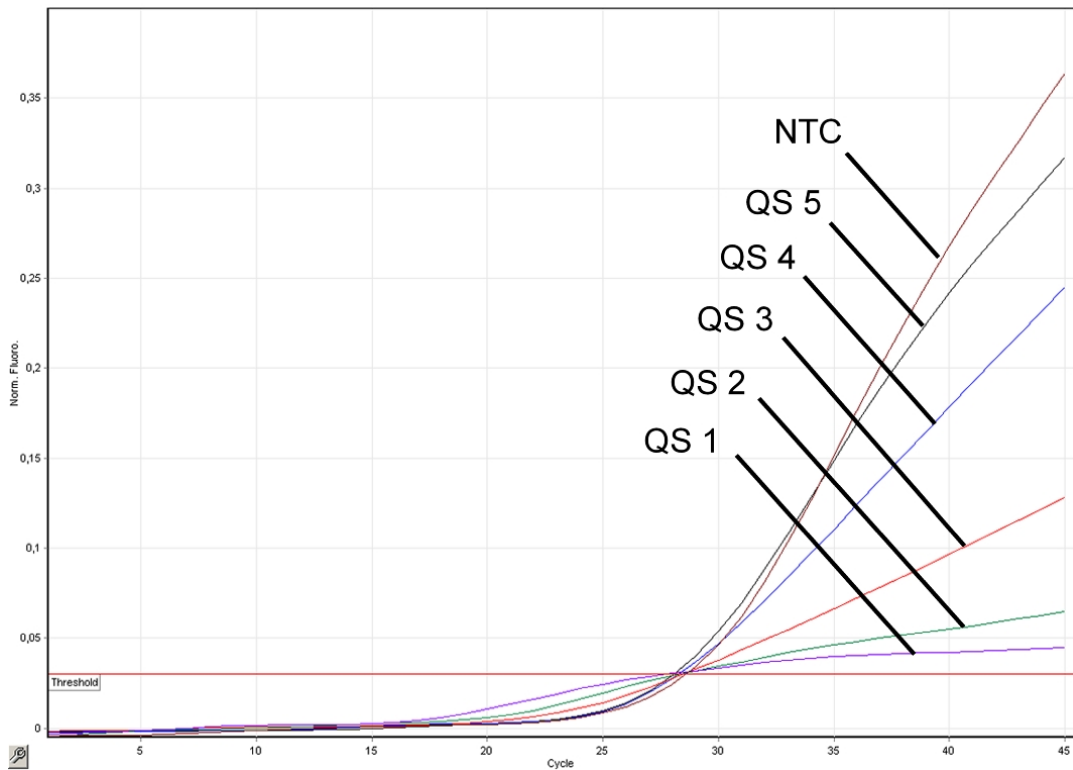
**Není možné učinit závěr.**

Pokyny týkající se zdrojů chyb a jejich odstranění jsou uvedeny v kapitole “Řešení problémů”, strana 32.

**i** Upozorňujeme, že u přístroje Rotor-Gene 3000 se relevantní kanály označují Cycling A.FAM a Cycling A.JOE.



**Obrázek 11. Průkaz kvantifikačních standardů (HBV RG/TM QS 1–5) ve fluorescenčním kanálu Cycling Green. NTC: Beztemplátová kontrola (negativní kontrola).**



**Obrázek 12. Průkaz interní kontroly (IC) ve fluorescenčním kanálu Cycling Yellow při současné amplifikaci kvantifikačních standardů (HBV RG/TM QS 1–5). NTC: Beztemplátová kontrola (negativní kontrola).**






## Řešení problémů

V této kapitole naleznete užitečné informace, které Vám mohou pomoci při řešení případných problémů. Více informací lze získat také na internetové stránce naší technické podpory: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Vědci z technické podpory QIAGEN vždy rádi zodpoví Vaše otázky ohledně údajů a protokolu v tomto manuálu i obecně k technologiím pro přípravu vzorků a jejich rozboru (možnosti navázání kontaktu viz zadní strana nebo navštivte [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).






### Komentáře a návrhy

---

#### Žádný signál u pozitivních kontrol (HBV RG/TM QS 1–5) ve fluorescenčním kanálu Cycling Green nebo Cycling A.FAM

- |   |   |
|---|---|
| a) Fluorescenční kanál zvolený pro analýzu PCR dat neodpovídá protokolu   |  K analýze dat zvolte fluorescenční kanál Cycling Green nebo Cycling A.FAM pro analytickou HBV PCR a fluorescenční kanál Cycling Yellow nebo Cycling A.JOE pro PCR interní kontroly. |
| b) Chybné naprogramování teplotního profilu přístroje Rotor-Gene  |  Porovnejte teplotní profil s údaji protokolu. Viz “Protokol: PCR a analýza dat”, strana 23.   |
| c) Chybná konfigurace PCR   |  Porovnejte svůj pracovní postup s pipetovacím schématem, případně PCR zopakujte. Viz “Protokol: PCR a analýza dat”, strana 23.  |
| d) Podmínky skladování jednoho nebo více komponentů soupravy neodpovídají předpisům uvedeným v kapitole „Uchovávání“ (strana 7) |  Prosím zkontrolujte jak podmínky uchovávání, tak i dobu použitelnosti reagensů (viz štítek soupravy) a použijte popř. novou soupravu.   |
| e) Doba životnosti sady <i>artus</i> HBV RG PCR vypršela  |  Prosím zkontrolujte jak podmínky uchovávání, tak i dobu použitelnosti reagensů (viz štítek soupravy) a použijte popř. novou soupravu.   |

**Slabý nebo chybějící signál interní kontroly negativního vzorku plazmy podrobeného purifikaci pomocí sady QIAamp DSP Virus ( $C_T = 29 \pm 3$ ; mezní hodnota: 0,03) ve fluorescenčním kanálu Cycling Yellow nebo Cycling A.JOE při současné nepřítomnosti signálu v kanálu Cycling Green nebo Cycling A.FAM**

- a) Podmínky PCR neodpovídají protokolu  Zkontrolujte podmínky PCR (viz výše) a popř. PCR zopakujte s opraveným nastavením.
- b) Došlo k inhibici PCR  Ujistěte se, že používáte doporučený postup izolace a držte se přesně pokynů výrobce.
- c) Během extrakce došlo k úbytku DNA  Byla-li k izolaci přidána interní kontrola, může nepřítomnost signálu interní kontroly znamenat úbytek DNA během extrakce. Ujistěte se, že používáte doporučenou izolační metodu (viz „Izolace DNA“, strana 20) a držte se přesně pokynů výrobce.
- d) Podmínky skladování jednoho nebo více komponentů soupravy neodpovídají předpisům uvedeným v kapitole „Uchovávání“ (strana 7)  Prosím zkontrolujte jak podmínky uchovávání, tak i dobu použitelnosti reagensů (viz štítek soupravy) a použijte popř. novou soupravu.
- e) Doba životnosti sady *artus* HBV RG PCR vypršela  Prosím zkontrolujte jak podmínky uchovávání, tak i dobu použitelnosti reagensů (viz štítek soupravy) a použijte popř. novou soupravu.



**Signály u negativních kontrol ve fluorescenčním kanálu Cycling Green nebo Cycling A.FAM při analytické PCR**

- a) Během přípravy PCR došlo ke kontaminaci
- ① Zopakujte PCR v replikátech s novými reagensy.
  - ① Uzavřete jednotlivé PCR zkumavky pokud možno ihned po vložení zkoumaného vzorku.
  - ① Pozitivní kontroly pipetujte zásadně jako poslední.
  - ① Ujistěte se, že jsou pracovní plochy a přístroje pravidelně dekontaminovány.
- b) Během extrakce došlo ke kontaminaci
- ① Zopakujte izolaci a PCR zkoumaných vzorků za užití nových reagensů.
  - ① Ujistěte se, že jsou pracovní plochy a přístroje pravidelně dekontaminovány.

## Literatura

QIAGEN udržuje rozsáhlou aktuální online databázi vědeckých publikací, které hodnotí produkty QIAGEN. Podrobné volby hledání umožňují nalezení potřebných článků, buďto jednoduchým zadáním klíčových slov nebo upřesněním druhu aplikace, oboru výzkumu, názvu, atd.

Úplný seznam literatury naleznete v databázi "QIAGEN Reference Database" (Databáze odkazů QIAGEN) na stránce [www.qiagen.com/RefDB/search.asp](http://www.qiagen.com/RefDB/search.asp) nebo kontaktujte technický servis QIAGEN nebo Vašeho místního distributora.

## Informace o způsobu objednávání

Produkt	Obsah	Kat. č.
<i>artus</i> HBV RG PCR Kit (24)	Pro 24 reakcí: Master, 5 kvantifikační standardy, interní kontrola, voda (v kvalitě vhodné pro PCR)	4506263
<i>artus</i> HBV RG PCR Kit (96)	Pro 96 reakcí: Master, 5 kvantifikační standardy, interní kontrola, voda (v kvalitě vhodné pro PCR)	4506265
<b>Sada QIAamp DSP Virus – pro purifikaci nukleových kyselin z lidské plazmy pro účely diagnostiky in vitro</b>		
QIAamp DSP Virus Kit	Na 50 příprav: Centrifugační kolonky, pufry, reagentie, zkumavky, nástavce kolonek a vakuové konektory QIAamp MinElute®	60704
<b>Rotor-Gene Q MDx – pro analýzu PCR v reálném čase v klinických aplikacích validovanou jako in vitro diagnostikum</b>		
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Cyklér pro PCR v reálném čase s 5 kanály (zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový), notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, instalace a školení	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Cyklér pro PCR v reálném čase s 5 kanály (zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový), notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, bez instalace a školení	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Cyklér pro PCR v reálném čase a analyzátor křivek tání s vysokým rozlišením (High Resolution Melt – HRM) s 5 kanály (zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový) plus kanál HRM, notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, instalace a školení	9002033

Produkt	Obsah	Kat. č.
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Cyklér pro PCR v reálném čase a analyzátor křivek tání s vysokým rozlišením (High Resolution Melt – HRM) s 5 kanály (zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový) plus kanál HRM, notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, bez instalace a školení	9002032
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Přístroj pro PCR v reálném čase s 6 kanály (modrý, zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový) plus notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, instalace a školení	9002043
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Přístroj pro PCR v reálném čase s 6 kanály (modrý, zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový) plus notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, bez instalace a školení	9002042
Rotor-Gene Q MDx 2plex System	Cyklér pro PCR v reálném čase s 2 kanály (zelený, žlutý), notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, instalace a školení	9002003
Rotor-Gene Q MDx 2plex Platform	Cyklér pro PCR v reálném čase a analyzátor křivek tání s vysokým rozlišením (High Resolution Melt – HRM) s 2 kanály (zelený, žlutý) plus kanál HRM, notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, bez instalace a školení	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM System	Cyklér pro PCR v reálném čase a analyzátor křivek tání s vysokým rozlišením (High Resolution Melt – HRM) s 2 kanály (zelený, žlutý) plus kanál HRM, notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, instalace a školení	9002013

Produkt	Obsah	Kat. č.
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM Platform	Cyklér pro PCR v reálném čase a analyzátor křivek tání s vysokým rozlišením (High Resolution Melt – HRM) s 2 kanály (zelený, žlutý) plus kanál HRM, notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, bez instalace a školení	9002012
<b>Rotor-Gene Q – výjimečná výkonnost PCR v reálném čase</b>		
Rotor-Gene Q 5plex System	Cyklér pro PCR v reálném čase s 5 kanály (zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový), notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, instalace a školení	9001640
Rotor-Gene Q 5plex Platform	Cyklér pro PCR v reálném čase s 5 kanály (zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový), notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, bez instalace a školení	9001570
Rotor-Gene Q 5plex HRM System	Cyklér pro PCR v reálném čase a analyzátor křivek tání s vysokým rozlišením (High Resolution Melt – HRM) s 5 kanály (zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový) plus kanál HRM, notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, instalace a školení	9001650
Rotor-Gene Q 5plex HRM Platform	Cyklér pro PCR v reálném čase a analyzátor křivek tání s vysokým rozlišením (High Resolution Melt – HRM) s 5 kanály (zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový) plus kanál HRM, notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, bez instalace a školení	9001580
Rotor-Gene Q 6plex System	Přístroj pro PCR v reálném čase s 6 kanály (modrý, zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový) plus notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, instalace a školení	9001660

Produkt	Obsah	Kat. č.
Rotor-Gene Q 6plex Platform	Přístroj pro PCR v reálném čase s 6 kanály (modrý, zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový) plus notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, bez instalace a školení	9001590
Rotor-Gene Q 2plex System	Cyklér pro PCR v reálném čase s 2 kanály (zelený, žlutý), notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, instalace a školení	9001620
Rotor-Gene Q 2plex Platform	Cyklér pro PCR v reálném čase a analyzátor křivek tání s vysokým rozlišením (High Resolution Melt – HRM) s 2 kanály (zelený, žlutý) plus kanál HRM, notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, bez instalace a školení	9001550
Rotor-Gene Q 2plex HRM System	Cyklér pro PCR v reálném čase a analyzátor křivek tání s vysokým rozlišením (High Resolution Melt – HRM) s 2 kanály (zelený, žlutý) plus kanál HRM, notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, instalace a školení	9001630
Rotor-Gene Q 2plex HRM Platform	Cyklér pro PCR v reálném čase a analyzátor křivek tání s vysokým rozlišením (High Resolution Melt – HRM) s 2 kanály (zelený, žlutý) plus kanál HRM, notebook, software, příslušenství, roční záruka na součásti a servis, bez instalace a školení	9001560
<b>Příslušenství k Rotor-Gene Q</b>		
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Hliníkový blok pro ruční nastavení reakce pomocí jednokanálové pipety s využitím zkumavek 72 x 0,1 ml	9018901
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Hliníkový blok pro ruční nastavení reakce ve standardní sestavě 8 x 12 s využitím zkumavek 96 x 0,2 ml	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 stripů po 4 zkumavkách s víčky pro 1000 reakcí	981103

Produkt	Obsah	Kat. č.
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 stripů po 4 zkumavkách s víčky pro 10 000 reakcí	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 tenkostěnných zkumavek pro 1000 reakcí	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 tenkostěnných zkumavek pro 10 000 reakcí	981008

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifická pro výrobek jsou uvedeny v příručce pro sadu QIAGEN nebo příručce uživatele. Manuály k produktům QIAGEN jsou dostupné na [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) nebo na požádání u technického servisu QIAGEN nebo lokálního distributora.

Koupě tohoto produktu opravňuje kupujícího k jeho užití k provedení diagnostických služeb pro humánní in vitro diagnostiku. Tímto se neuděluje žádný jiný obecný patent nebo licenci jiného druhu než toto specifické právo k používání vyplývající z nákupu.

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

*artus* HBV RG PCR a QIAamp DSP Virus jsou diagnostické sady s označením CE v souladu s evropskou směrnicí 98/79/ES o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro. Produkty nejsou dostupné ve všech zemích.

#### Omezená licenční smlouva

Použití tohoto produktu znamená, že jakýkoliv kupující či uživatel sady *artus* HBV RG PCR souhlasí s následujícími podmínkami:

1. Sada *artus* HBV RG PCR může být používána výlučně v souladu s *Příručkou pro sadu artus HBV RG PCR* a smí se používat pouze s komponenty obsaženými v sadě. QIAGEN neposkytuje žádnou licenci v rámci kteréhokoliv svého duševního vlastnictví k použití nebo k začlenění přiložených komponent sady s komponenty, které nejsou v této sadě zahrnuty, s výjimkou případů uvedených v *Příručce pro sadu artus HBV RG PCR* a dodatečných protokolech dostupných na [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).
2. Mimo výslovně uvedenou licenci QIAGEN neposkytuje žádnou záruku, že tato souprava a/nebo její použití neporušuje práva třetích stran.
3. Tato sada a její díly jsou licencovány k jednorázovému použití a nesmí se používat opakovaně, přepřelavána ani opakovaně prodávat.
4. QIAGEN specificky odmítá jakékoliv další výslovné nebo nepřímé licence s výjimkou těch, které jsou uvedeny výslovně.
5. Kupující a uživatel této sady souhlasí s tím, že neposkytne a nepovolí nikomu jinému provádět žádné kroky, které by mohly vést nebo by usnadnily jakékoliv shora zakázané činnosti. QIAGEN může zákazy tohoto Omezeného licenčního ujednání prosadit u každého soudu a vyžadovat úhradu všech vyšetřovacích a soudních poplatků, vč. poplatků za advokáta, v rámci jakéhokoliv postupu k prosazení tohoto Omezeného licenčního ujednání nebo jakýchkoliv jiných práv duševního vlastnictví vztahujících se na tuto soupravu a/nebo její komponenty.

Pro aktualizovaná licenční ustanovení viz [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2009-2014 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.



---

**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)

