

artus[®] EBV RG PCR készlet kézikönyv



24 (katalógusszám: 4501263)



96 (katalógusszám: 4501265)

1-es verzió



Kvantitatív in vitro diagnosztika

Rotor-Gene[®] Q készülékekkel való használatra



4501263, 4501265



1046897HU



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724

Hilden, NÉMETORSZÁG

R5

MAT

1058143HU



QIAGEN Sample és Assay Technologies

A QIAGEN vezető szállító az innovatív mintafeldolgozási és vizsgálati technológiák terén, lehetővé téve bármely biológiai minta tartalmának izolálását és detektálását. Fejlett, magas minőségű termékeink és szolgáltatásaink sikereket biztosítanak ügyfeleinknek a mintától az eredményekig.

A QIAGEN meghatározó az alábbi területeken:

- DNS, RNS és fehérjék tisztítása
- Nukleinsav- és fehérjevizsgálatok
- mikro-RNS kutatás és RNSi
- Mintafeldolgozási és vizsgálati technológiák automatizálása

Küldetésünk, hogy lehetővé tegyünk Önnek sikereket és áttöréseket elérését. További információért látogassa meg weboldalunk: www.qiagen.com.

Tartalom

Alkalmazási terület	4
Összefoglalás és magyarázat	4
Pathogenitási információk	4
Az eljárás elve	4
Mellékelt anyagok	5
A készlet tartalma	5
Szükséges, de nem biztosított anyagok	5
Figyelmeztetések és óvintézkedések	6
Általános óvintézkedések	6
A reagensek tárolása és kezelése	7
Az eljárás	8
DNS-izolálás	8
Belső kontroll	11
Protokoll: PCR és adatelemzés	13
Az eredmények értékelése	19
Kvantifikálás	19
Eredmények	20
Hibaelhárítási útmutató	22
Minőség-ellenőrzés	24
Korlátozások	24
Teljesítményjellemzők	25
Analitikai érzékenység	25
Specifitás	26
Reprodukálhatóság	27
Hivatkozások	27
Jelek	28
Kapcsolattartási információ	28
Rendelési információk	29

Alkalmazási terület

Az *artus* EBV RG PCR készlet egy in vitro nukleinsav amplifikációs teszt az Epstein-Barr vírus (EBV) DNS mennyiségének meghatározására humán plazmából, szérumból, liquorból vagy vérszövetekből. A diagnosztikus teszt készlet polimeráz láncreakciót (PCR) alkalmaz és Rotor-Gene Q készülékkel történő alkalmazásra van tervezve.

Összefoglalás és magyarázat

Az *artus* EBV RG PCR készlet egy használatra -kész -EBV DNS detekciós rendszer, mely polimeráz láncreakciót (PCR) használ Rotor-Gene Q készülékeken. A EBV RG master tartalmazza a reagenseket és az enzimeket a EBV genom 97 bázispár hosszú régiójának specifikus amplifikálásához, valamint a specifikus amplikon direkt kimutatásához a Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q, vagy a Rotor-Gene 6000 Cycling Green fluoreszcens csatornájában, illetve a Rotor-Gene 3000 Cycling A.FAM™ csatornájában.

Emellett az *artus* EBV RG PCR készlet egy második heterológ amplifikációs rendszert is tartalmaz a PCR esetleges gátlásának kimutatására. Ezt belső kontrollként (IC) a Rotor-Gene MDx, Rotor-Gene Q, vagy a Rotor-Gene 6000 Cycling Yellow fluoreszcens csatornája, valamint a Rotor-Gene 3000 Cycling A.JOE™ fluoreszcens csatornája detektálja. Az EBV PCR detekciós határértéke (lásd "Analytical sensitivity", 25. oldal) nem csökkentett. A mellékelt külső pozitív kontrollok (EBV RG QS 1–4) lehetővé teszik a vírus DNS mennyiségének meghatározását. További információért lásd „Quantitation”, 19. oldal.

Pathogenitási információk

Az Epstein-Barr vírus (EBV) orális úton, legtöbbször fertőzött nyállal terjed. Az EBV-fertőzés általában, különösen gyermekkorban, tünetmentes. Az akut fertőzés mononucleosis infectiosa klinikai képében jelenik meg: láz, fáradtság, angina és a nyirokcsomók valamint a lép gyulladása. Egyes pacienseknél ezek a tünetek újból megjelennek. Az EBV fertőzés súlyos formái immundeficiens és T-sejt defektusos betegeknél fordul elő.


Az eljárás elve

A kórokozó kimutatása polimeráz láncreakcióval (PCR) történik, mely a kórokozó genom specifikus szakaszának amplifikációján alapszik. A valós idejű PCR esetében az amplifikált terméket fluoreszcens festék mutatja ki. A festék általában olyan oligonucleotidhoz van kapcsolva, mely specifikusan kötődik az amplifikált termékhez. A fluoreszcencia intenzitásának a PCR futtatása alatti (azaz valós- idejű) követése lehetővé teszi a termék kimutatását és kvantifikálását anélkül, hogy a PCR-reakció végén ki kelljen nyitni a csöveket.*

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

Mellékelt anyagok

A készlet tartalma

artus EBV RG PCR készlet		(24)	(96)
Katalógusszám		4501263	4501265
Reakciók száma		24	96
Kék	EBV RG master	2 x 12 reakció	8 x 12 reakció
Piros	EBV RG QS 1* (5 x 10 ⁴ kópia/μl)	QS 200 μl	200 μl
Piros	EBV RG QS 2* (5 x 10 ³ kópia/μl)	QS 200 μl	200 μl
Piros	EBV RG QS 3* (5 x 10 ² kópia/μl)	QS 200 μl	200 μl
Piros	EBV RG QS 4* (5 x 10 ¹ kópia/μl)	QS 200 μl	200 μl
Zöld	EBV RG IC [†]	IC 1000 μl	2 x 1000 μl
Fehér	Víz (PCR-szintű)	1000 μl	1000 μl
	Kézikönyv	 1	1

† Kvantifikációs standard.

† Belső kontroll

Szükséges, de nem biztosított anyagok

Ha vegyszerekkel dolgozik, mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, eldobható kesztyűt és védőszemüveget. További információkért olvassa el az egyes termékek gyártójának biztonsági adatlapjait (SDS).

Reagensek

- DNS izoláló készlet (lásd „DNA isolation”, 8. oldal)

Fogyóeszközök

- Steril, szűrős pipettahegyek
- Strip-csövek és kupakok 0,1 ml-es, 72-lyukú rotorral használható (katalógusszám 981103 vagy 981106)
- Vagy: PCR-csövek, 0,2 ml-es, 36-lyukú rotorral használható (katalógusszám 981005 vagy 981008)

Felszerelés

- Pipetták (állítható)*
- Vortex keverő*
- Asztali centrifuga* 2 ml-es reakciócsöveknek megfelelő rotorral,
- Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q, vagy Rotor-Gene Instrument* Cycling Green és Cycling Yellow fluoreszcens csatornákkal, vagy Cycling A.FAM és Cycling A.JOE fluoreszcens csatornákkal.
- Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q szoftver, 1.7.94 vagy magasabb verzió (Rotor-Gene 6000 szoftver, 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94 verzió; Rotor-Gene 3000 szoftver, 6.0.23 verzió)
- Hűtőblokk (Bemérő blokk 72 x 0,1 ml cső, katalógusszám: 9018901, vagy Bemérő blokk 96 x 0,2 ml cső, katalógusszám:9018905)

Figyelmeztetések és óvintézkedések

Kizárólag in vitro diagnosztikai használatra.

Ha vegyszerekkel dolgozik, mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, eldobható kesztyűt és védőszemüveget. További információkért kérjük, olvassa el a megfelelő biztonsági adatlapokat (SDS). Ezek kényelmes és tömörített PDF formátumban megtalálhatók online a www.qiagen.com/safety címen, ahol megtalálhatja, megtekintheti és kinyomtathatja a biztonsági adatlapokat minden QIAGEN® készlethez és a készletek elemeihez.

A használt mintákat és a vizsgálati hulladékokat a helyi biztonsági előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

Általános óvintézkedések

Mindig tartsa szem előtt az alábbiakat:

- Használjon szűrős steril pipettákat.
- A pozitív anyagokat (minták, pozitív kontrollok és amplikonok) minden más reagenstől elkülönítve tárolja és dolgozza fel, és a reakciómixhez térben elkülönített helyen adja hozzá.
- A vizsgálat megkezdése előtt a mintákat szobahőmérsékleten(15–25 °C) ki kell olvasztani.
- Felolvasás után keverje meg (pipettázza többször fel és le, vagy röviden vortexelje), majd centrifugálja le a reagenseket.
- Dolgozzon gyorsan és tartsa a PCR reagenseket bemérés előtt jégen vagy a hűtőblokkban (72/96-lyukú blokk)

* Ellenőrizze, hogy a műszerek a gyártó ajánlásai szerint rendszeresen lettek-e ellenőrizve és kalibrálva..

A reagensek tárolása és kezelése

Az *artus* EBV RG PCR készlet részegységeit -15 és -30°C közötti hőmérsékleten kell tárolni, ahol a címkén található lejárati időig stabilak maradnak. Kerülni kell az ismételt (több, mint kétszeri) felolvasztást-lefagyasztást, mivel ez ronthatja a minőséget. Ha a reagenseket csak alkalmasszerűen használja, aliquotolva fagyasztva tárolja. A $2-8^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás ne haladja meg az 5 órát.

Az eljárás

DNS-izolálás

Az 1. táblázatban található QIAGEN termékek validálva vannak virális DNS tisztítására a megadott humán mintatípusokból az *artus* EBV RG PCR készlettel történő alkalmazásra. A virális DNS tisztítását a készletek kézikönyveiben leírtaknak megfelelően végezze el.

1. táblázat Az *artus* EBV RG PCR készlettel való alkalmazásra validált tisztítási készletek

Minta típusa	Minta mennyisége	Nukleinsav izolációs készlet	Katalógusszám (QIAGEN)	Hordozó RNS
Szérum, plazma, liquor	200 µl	QIAamp [®] DNA Mini készlet (50)	51304	Nem tartalmaz
Szérum, plazma	1 ml	QIAamp UltraSens [®] Virus készlet (50)	53704	Tartalmaz
Vérsejtek	200 µl	QIAamp DNA Blood Mini készlet (50)	51104	Nem tartalmaz
Plazma	400 µl	EZ1 [®] DSP Virus készlet (48)*	62724	Tartalmaz

* Az EZ1 DSP Virus készlet CE-IVD-jellel ellátott EASY*artus*[®] EBV RG PCR készletként is elérhető, az *artus* EBV RG PCR készlettel kombinálva (rendelési információkat lásd 29. oldal).

Megjegyzés: Az antikoagulánssal bevont vérvételi csövek gátolhatják a PCR-reakciót. A fent felsorolt izolációs készletek használatával ezen gátló anyagok eliminálhatóak. Ajánlott a heparinos vér használatának elkerülése.

Megjegyzés: Ne használja az *artus* EBV RG PCR készletet fenol-alapú izolációs eljárásokkal.

A QIAamp DNA Blood Mini készlet és a QIAamp DNA Mini készlet használata

Megjegyzés: A hordozó RNS alkalmazása kritikus az extrakció hatékonysága és ennek következtében a DNS/RNS hozam szempontjából. Vegye figyelembe, hogy a hordozó RNS (homopolimer poly[rA], mely nem része a QIAamp DNA Blood Mini készletnek, illetve a QIAamp DNA Mini készletnek) hozzáadása nagyon ajánlott sejtmentes testfolyadékokból és alacsony DNS/RNS-tartalmú mintákból (pl. liquor) történő nukleinsav-kinyerés esetén. Ilyen esetekben a hordozó RNS-t az alábbiaknak megfelelően készítse elő.

- A reszuszpendálja a hordozó RNS-t (homopolimer poly[rA], mely nem része a QIAamp DNA Blood Mini készletnek, illetve a QIAamp DNA Mini készletnek) az extrakciós készlet eluáló pufferével (QIAamp DNA Mini készlet és QIAamp DNA Blood Mini készlet AE-puffer) (ne használja a lízispuffert) és készítse 1 µg/µl-os koncentrációjú hígítást. Ossa szét ezt a hordozó RNS oldatot a felhasználási igényeknek megfelelő számú aliquotra, és tárolja –15 és –30°C között. Kerülje az RNS aliquot többszöri (több, mint 2) felolvasztását.
- Használjon 1 µg hordozó RNS-t 100 µl lízispufferhez. Például: ha az extrakciós protokoll 200 µl lízispuffert ír elő, adjon 2 µl hordozó RNS-t (1 µg/µl) közvetlenül a lízispufferbe (QIAamp DNA Mini készlet és QIAamp DNA Blood Mini készlet AL-puffer). Minden extrakció elkezdése előtt frissen készítse el a lízispuffer és a hordozó RNS (valamint a belső kontroll, amennyiben van, lásd „Internal control”, 11. oldal) keverékét a 2. táblázatban található pipettázási útmutatónak megfelelően.

2. táblázat Pipettázási útmutató a QIAamp DNA Blood Mini készlet és a QIAamp DNA Mini készlet használatához

Minták száma	1	12
Buffer AL (lízispuffer)*	pl. 200 µl	pl. 2400 µl
Hordozó RNS (1 µg/µl)	2 µl	24 µl
Teljes térfogat	202 µl	2424 µl
Térfogat (extrakciónként)	200 µl	200 µl egyenként

* Guanidin-hidrokloridot tartalmaz, a biztonsági információkat lásd a készlet kézikönyvében.

Megjegyzés: Frissen, közvetlenül az extrakció előtt készített lízispuffer - hordozó RNS keverékét használjon. A keverék tárolása nem lehetséges.

Megjegyzés: Az *artus* EBV RG PCR készlet belső kontrollja közvetlenül a izolálási eljárás során adható hozzá (lásd “Internal control”, 11. oldal).

Megjegyzés: Nagyon ajánlott a protokoll 10. lépését (*QIAamp DNA Mini és Blood Mini kézikönyv*, 3. kiadás, 2010. április, 29. és 32. oldal), az ajánlott centrifugálást elvégezni a visszamaradt etanol eltávolítása érdekében. Ajánlott ezen centrifugálás hosszát 3 percre növelni.

Ajánlott a DNS-t 50 µl eluáló pufferben eluálni az *artus EBV RG PCR* készlet maximális érzékenységének elérése érdekében.

A QIAamp UltraSens Virus készlet használata

Megjegyzés: A hordozó RNS alkalmazása kritikus az extrakció hatékonysága és ennek következtében a DNS/RNS hozam szempontjából. A QIAamp UltraSens Virus készletben lévő hordozó RNS stabilitásának növelése érdekében az alábbi eljárást ajánljuk, mely eltér a készlet kézikönyvében található eljárástól.

- A készlet első használata előtt resuszpendálja a liofilizált hordozó RNS-t 310 µl eluáló pufferben (Buffer AVE), mely a készlet része (végső koncentráció 1 µg/µl, ne használja a lízispuffert). Ossa szét ezt a hordozó RNS oldatot a felhasználási igényeknek megfelelő számú aliquotra, és tárolja -15 és -30°C között. Kerülje az RNS aliquot többszöri (több, mint 2) felolvasztását.
- Minden extrakció elkezdése előtt frissen készítse el a lízispuffer és a hordozó RNS (valamint a belső kontroll, amennyiben van, lásd „Internal control”, 11. oldal) keverékét a 3. táblázatban található pipettázási útmutatónak megfelelően.

3. táblázat Pipettázási útmutató, QIAamp UltraSens Virus készlet

Minták száma	1	12
Buffer AC (lízispuffer)*	800 µl	9600 µl
Hordozó RNS (1 µg/µl)	5,6 µl	67,2 µl
Teljes térfogat	805,6 µl	9667,2 µl
Térfogat (extrakciónként)	800 µl	800 µl egyenként

* Izopropanolt tartalmaz, a biztonsági információkat lásd a készlet kézikönyvében.

Megjegyzés: Frissen, közvetlenül az extrakció előtt készített lízispuffer - hordozó RNS keveréket használjon. A keverék tárolása nem lehetséges.

Megjegyzés: Az *artus EBV RG PCR* készlet belső kontrollja közvetlenül a izolálási eljárás során adható hozzá (lásd „Internal control”, 11. oldal).

Megjegyzés: Nagyon ajánlott a protokoll 14. lépésében (*QIAamp UltraSens Virus kézikönyv*, 2010. április, 17. oldal) leírt további centrifugálást elvégezni a

visszamaradt etanol eltávolítása érdekében. Ajánlott ezen centrifugálás hosszát 3 percre növelni.

Ajánlott a DNS-t 50 µl eluáló pufferben eluálni az *artus* EBV RG PCR készlet maximális érzékenységének elérése érdekében.

A QIAamp UltraSens Virus készlet lehetővé teszi a minta koncentrációját. Ha nem szérumot vagy plazmát használ, adjon a mintához min. 50 % (v/v) negatív humán plazmát.

Az EZ1 DSP Virus készlet használata

Megjegyzés: A hordozó RNS alkalmazása kritikus az extrakció hatékonysága és ennek következtében a DNS/RNS hozam szempontjából. Adjon minden extrakcióhoz megfelelő mennyiségű hordozó RNS-t a *EZ1 DSP Virus készlet* kézikönyvben leírtaknak megfelelően.

Megjegyzés: Az *artus* EBV RG PCR készlet belső kontrollja közvetlenül a izolálási eljárás során adható hozzá (lásd "Internal control", below).

Megjegyzés: Nagyon ajánlott az EZ1 DSP Virus készlettel végzett extrakció után a tisztított virális nukleinsavat felhasználva azonnal elvégezni PCR-t. De lehetőség van az eluátumok 3 napig, 4°C-on történő tárolására a PCR-t megelőzően.

Belső kontroll

A készlet részét képezi a belső kontroll is (EBV RG IC). Ez lehetővé teszi a DNS-izolálási eljárás kontrollálását és az esetleges PCR-gátlás ellenőrzését. Az EZ1 DSP Virus készlet alkalmazása esetén a belső kontrollt hozzá kell adni az *EZ1 DSP Virus készlet* kézikönyvben leírtaknak megfelelően. A QIAamp UltraSens Virus készlet, a QIAamp DNA Blood Mini készlet, illetve a QIAamp DNA Mini készlet használata esetén a belső kontrollt az izolációhoz kell adni, 0,1 µl-t 1 µl elúciós térfogatonként. Például a QIAamp UltraSens Virus készlet használata esetén a DNS 50 µl AVE-pufferben kerül eluálásra. Ezért az eljárás elején 5 µl belső kontrollt kell hozzáadni. A belső kontroll mennyisége csak az eluáló térfogattól függ.

Megjegyzés: A belső kontrollt és hordozó RNS-t (lásd „DNA isolation”, 8. oldal) csak a lízispuffer és a minta keverékéhez vagy közvetlenül a lízispufferhez szabad hozzáadni.

A belső kontrollt nem szabad a mintához közvetlenül hozzáadni. Ha a lízispufferhez adja hozzá, vegye figyelembe, hogy a belső kontroll - lízispuffer - hordozó RNS keveréket frissen kell elkészíteni és azonnal fel kell használni (ha a keveréket szobahőmérsékleten vagy hűtőszekrényben tárolja, a belső kontroll néhány óra alatt tönkremegy és csökken az extrakció hatékonysága is).

Megjegyzés: Ne adja a belső kontrollt és a hordozó RNS-t közvetlenül a mintához.

A belső kontroll opcionálisan kizárólag az esetleges PCR-gátlás ellenőrzésére is alkalmazható. Ilyen esetben a belső kontrollt közvetlenül az EBV RG masterhoz is lehet adni, a protokoll 2b lépésének (14. oldal) megfelelően.

Protokoll: PCR és adatelemzés

Kezdés előtti fontos szempontok

- Az eljárás indítása előtt hagyjon arra időt, hogy megismerje a Rotor-Gene Q készüléket. Lásd a készülék kézikönyvét.
- Figyeljen arra, hogy a PCR-eljárásban egy kvantifikációs standard, valamint egy negatív kontroll (PCR minőségű víz) is szerepeljen. A standard görbe meghatározásához minden PCR futtatásban használja mind a 4 kvantifikációs standardot (EBV RG QS 1–4).

Kezdés előtti teendők

- Ellenőrizze, hogy a hűtőblokk (a Rotor-Gene Q készülék kiegészítője) 2–8°C-ra le van hűtve.
- Minden használat előtt az összes reagenst teljesen olvassza fel, ezután keverje meg (pipettázza többször fel és le, vagy röviden vortexelje), majd centrifugálja röviden.

Az eljárás

1. Helyezze a szükséges mennyiségű PCR-csövet a hűtőblokk adaptereibe.
 2. Ha belső kontrollt használ a DNS-izolálási eljárás kontrollálására és az esetleges PCR-gátlás ellenőrzésére, lépjen a 2a lépésre. Ha belső kontrollt csak az esetleges PCR-gátlás ellenőrzésére használ, lépjen a 2b lépésre.
- 2a A belső kontroll már az izolációhoz lett adva (lásd „Internal control”, 11. oldal). Ilyen esetben készítse el a master mixet a 4. táblázatnak megfelelően.

A master mix, a mintát kivéve, a PCR-reakcióhoz szükséges összes összetevőt tartalmazza.

4. táblázat A master mix elkészítése (belső kontroll a DNS-izolálási eljárás kontrollálására és a PCR-gátlás ellenőrzésére)

Minták száma	1	12
EBV RG master	30 µl	360 µl
EBV RG IC	0 µl	0 µl
Teljes térfogat	30 µl	360 µl

- 2b. A belső kontrollt közvetlenül az EBV RG master mixhez kell hozzáadni. Ilyen esetben a master mixet az 5. táblázatnak megfelelően készítse el.**

A master mix, a mintát kivéve, a PCR-reakcióhoz szükséges összes összetevőt tartalmazza.

5. táblázat A master mix elkészítése (belső kontroll csak a PCR-gátlás ellenőrzésére)

Minták száma	1	12
EBV RG master	30 µl	360 µl
EBV RG IC	2 µl	24 µl
Teljes térfogat	32 µl*	384 µl*

* A belső kontroll hozzáadása okozta térfogat-növekedést a PCR előkészítése során figyelmen kívül lehet hagyni. A reakció érzékenységét ez nem befolyásolja.

- 3. Pipetázzon 30 µl master mixet minden egyes PCR-csőbe. Ezután adjon hozzá 20 µl-t az eluált minta DNS-ből (lásd 6. táblázat). Ezután adjon hozzá 20 µl-t legalább az egyik kvantifikációs standardból (EBV RG QS 1–4) pozitív kontrollként és 20 µl vizet (víz, PCR-szintű) negatív kontrollként.**

6. táblázat A PCR-vizsgálat előkészítése

Minták száma	1	12
Master mix	30 µl	30 µl egyenként
Minta	20 µl	20 µl egyenként
Teljes térfogat	50 µl	50 µl egyenként

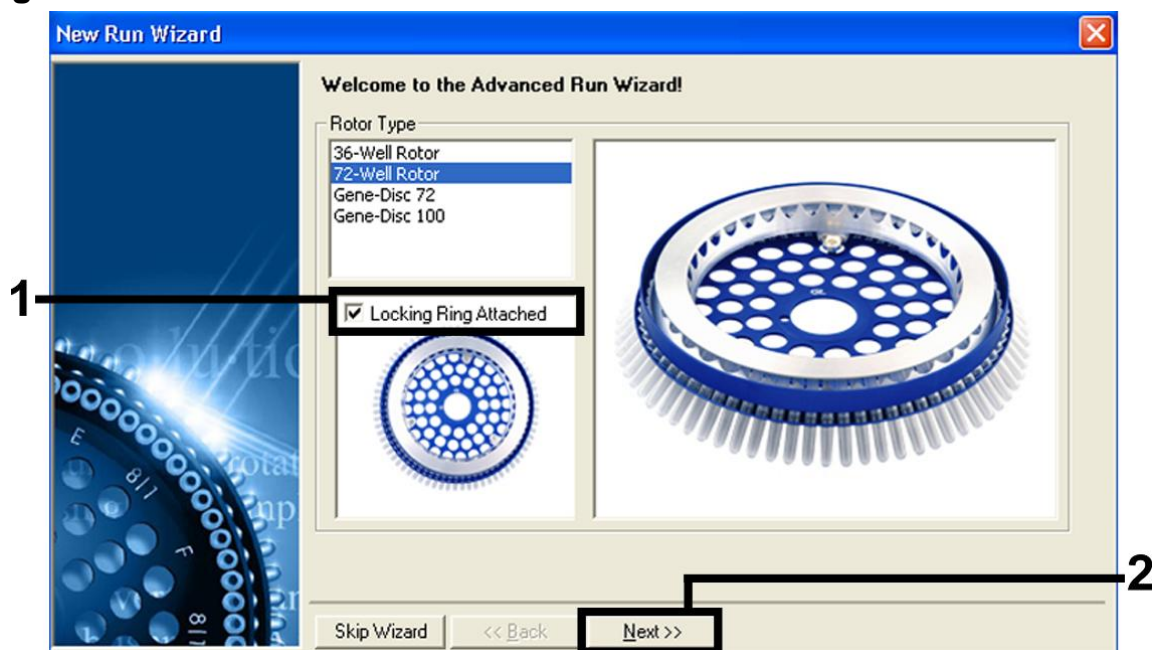
- 4. Zárja le a PCR-csőket. Ellenőrizze, hogy a zárógyűrű (a Rotor-Gene készülék kiegészítője) a rotor tetején helyezkedik el, hogy megakadályozza a csövek véletlen kinyílását a futás során.**

5. Az EBV DNS kimutatásához hozzon létre egy hőmérséklet-profilot az alábbi lépéseknek megfelelően.

Az általános vizsgálati paraméterek beállítása	1,2,3. ábra
A hot-start enzim kezdeti aktiválása	4. ábra
A DNS amplifikálása (touchdown PCR)	5. ábra
A fluoreszcens csatorna érzékenységének beállítása	6. ábra
A futtatás indítása	7. ábra

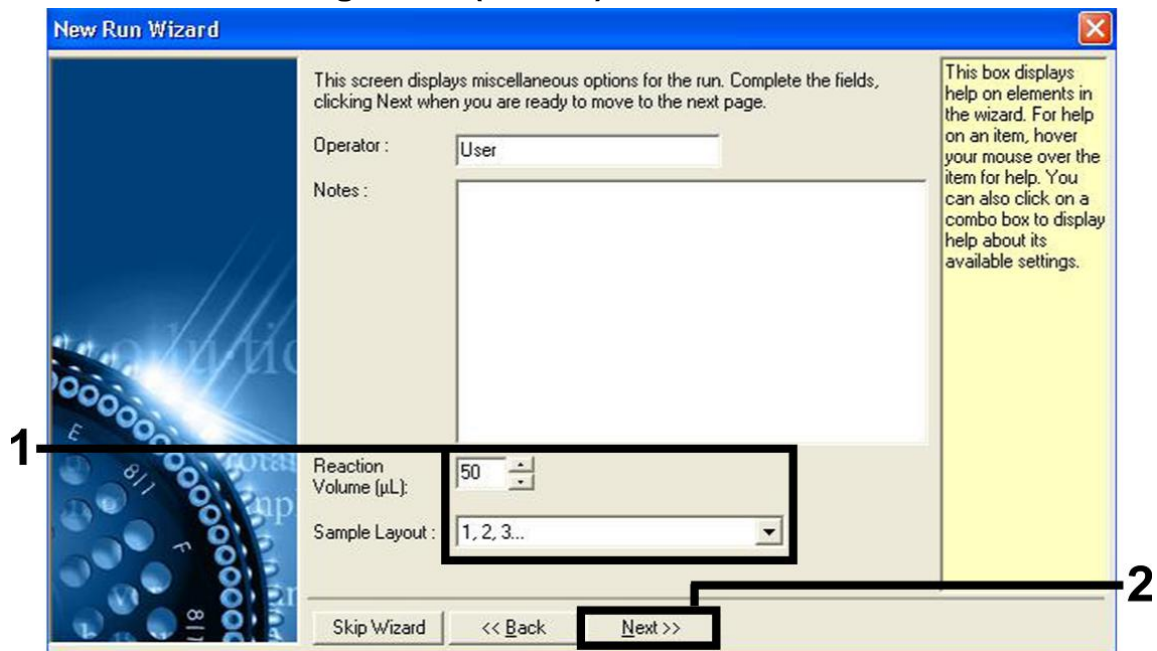
Minden specifikáció a Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q szoftver, 1.7.94 vagy magasabb verziójára, a Rotor-Gene 6000 szoftver, 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94 verziójára, illetve a Rotor-Gene 3000 szoftver, 6.0.23 verziójára vonatkozik. A Rotor-Gene készülékek programozásáról további információkat a készülék felhasználói kézikönyvében talál. Az ábrákon ezek a beállítások vastag fekete keretben találhatóak. Az ábrák a Rotor-Gene® Q készülékekre vonatkoznak. Ahol a Rotor-Gene 3000 készülék esetében más értékek beállítására van szükség, azokat a szövegben jelöljük.

6. Először nyissa meg a „New Run Wizard” (Új futtatás varázsló) párbeszédablakot (1. ábra). Jelölje meg a „Locking Ring Attached” (Zárógyűrű csatlakoztatva) négyzetet és kattintson a „Next” (Tovább) gombra.



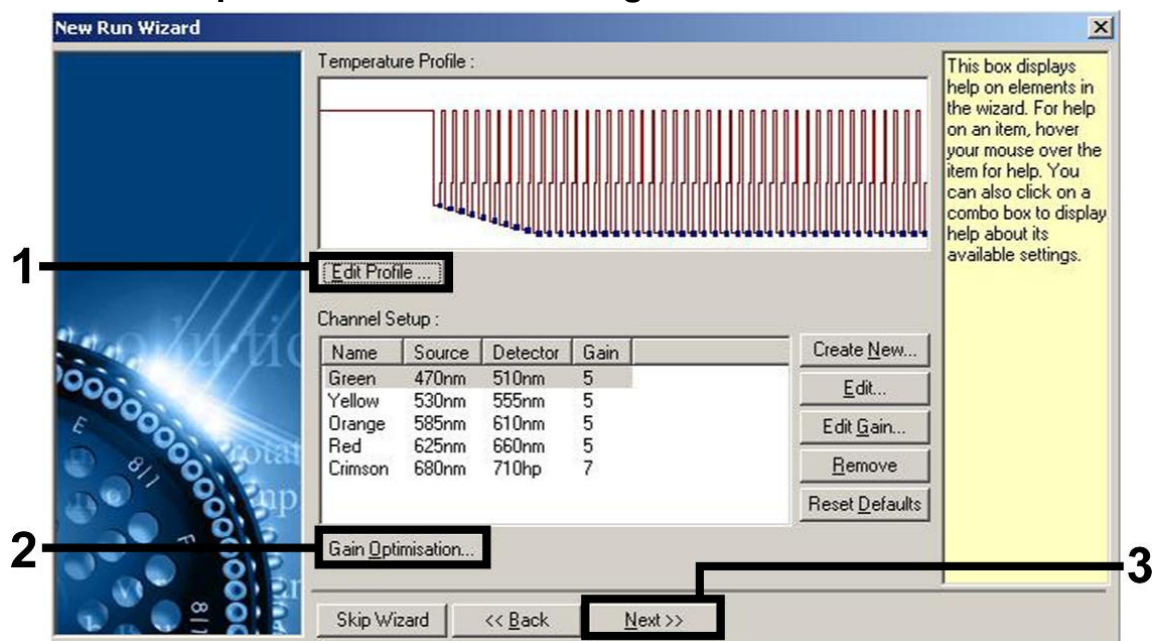
1. ábra „New Run Wizard” párbeszédablak

7. Válassza ki az 50 lehetőséget a PCR-reakció térfogatának és kattintson a „Next” gombra (2. ábra).

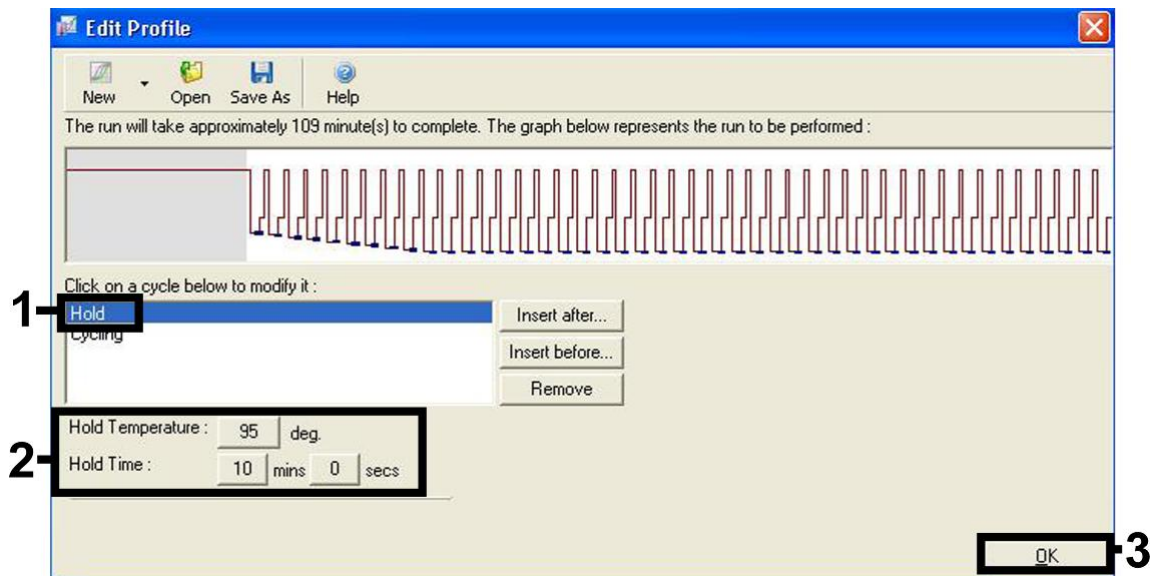


2. ábra Az általános vizsgálati paraméterek beállítása

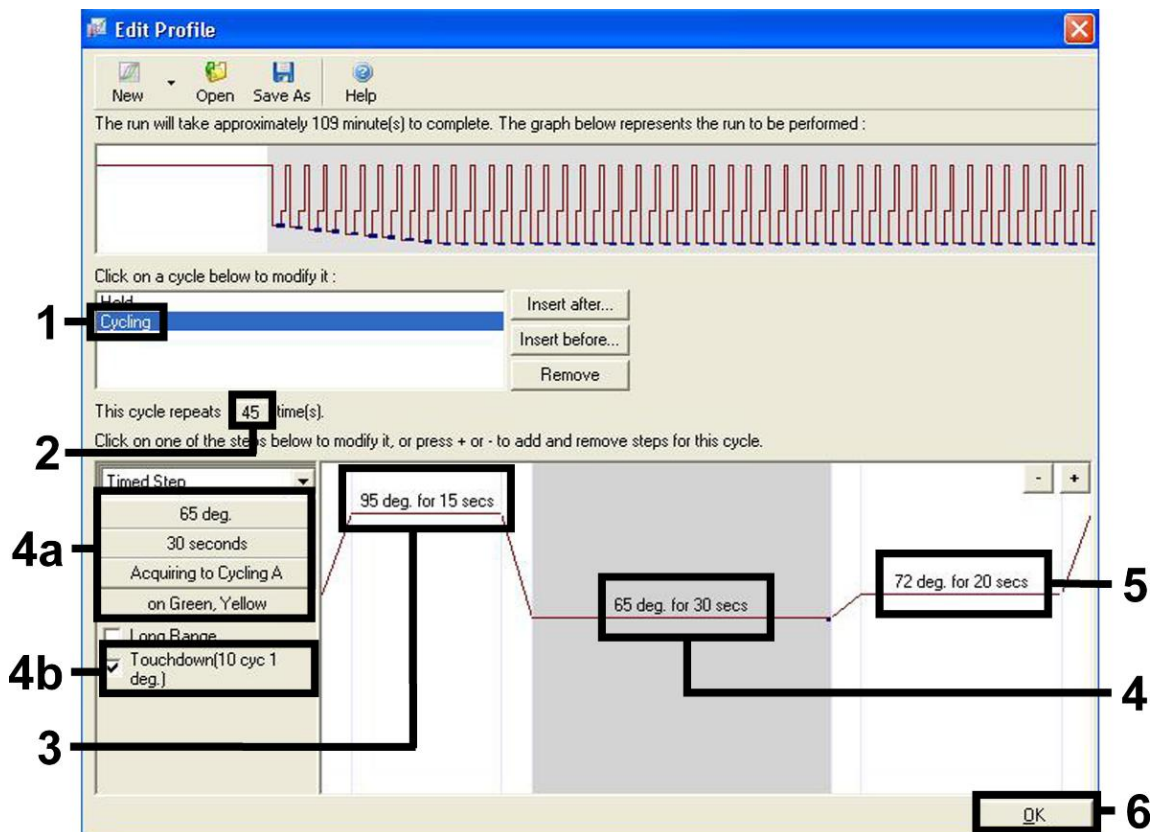
8. Kattintson az „Edit Profile” (Profil szerkesztése) gombra a következő „New Run Wizard” párbeszédablakban (3. ábra), és programozza be a hőmérsékletprofil a 3–5. ábrának megfelelően.



3. ábra A profil szerkesztése



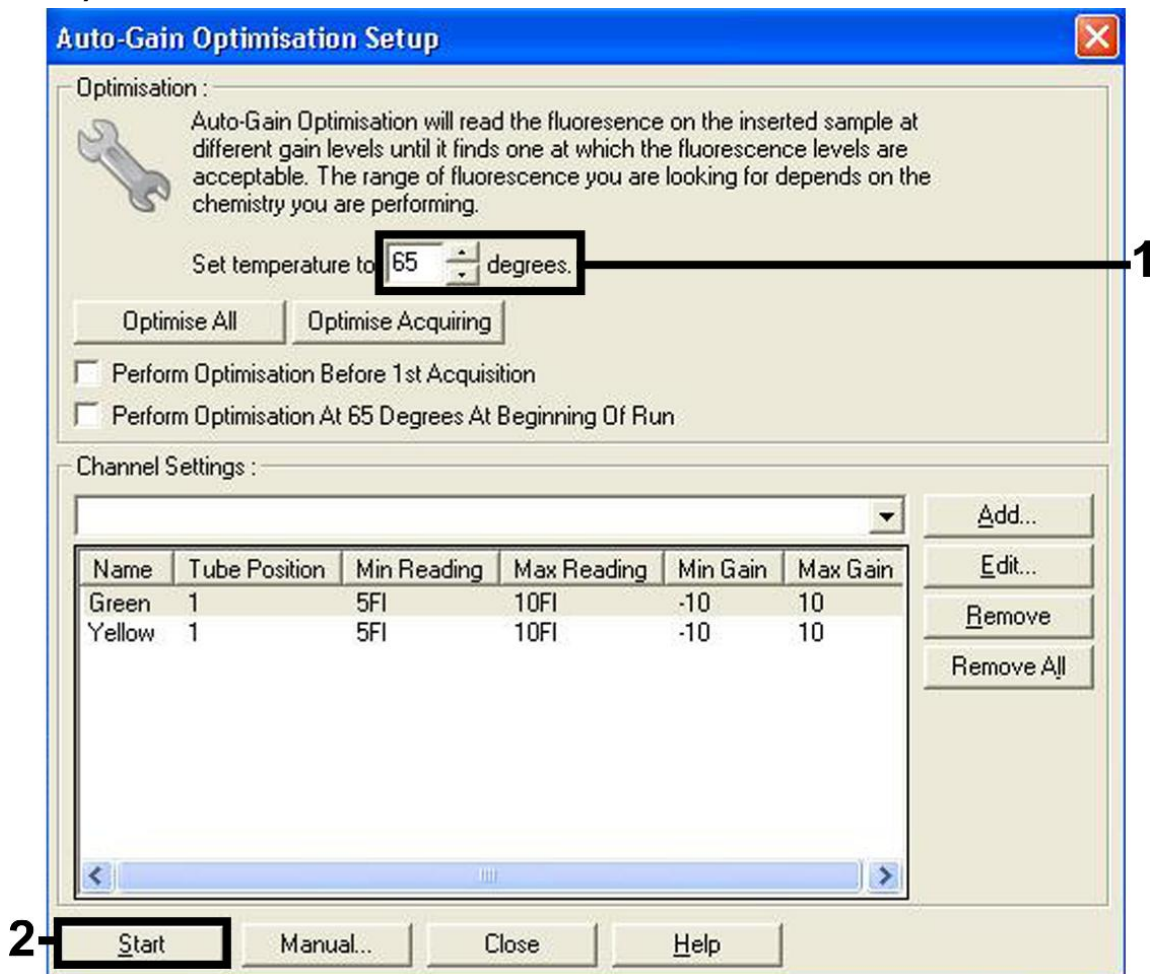
4. ábra A hot-start enzim kezdeti aktiválása



5. ábra A DNS amplifikálása. Ügyeljen arra, hogy az anneáláson belül 10 ciklusra aktiválja a touchdown funkciót. Tartsa szem előtt, hogy a Rotor-Gene 3000 esetében a szoftver a fluoreszcens festéknek „FAM/Sybr, JOE”-t ad meg.

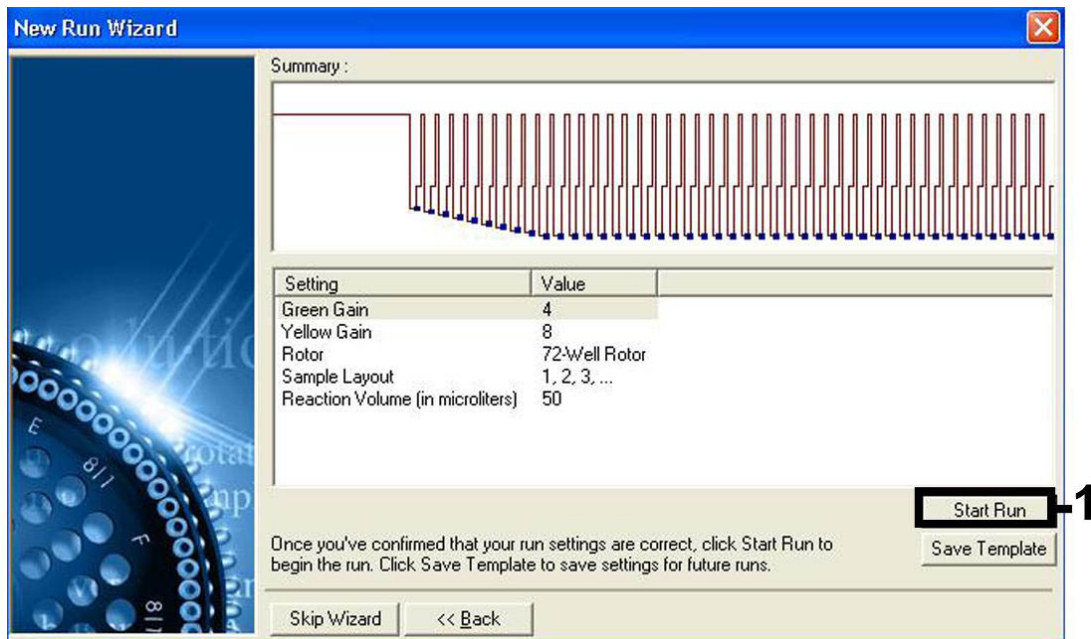
9. A fluoreszcens csatornák érzékelési tartományát a PCR-csőekben található fluoreszcencia intenzitása alapján kell meghatározni. Kattintson az „Gain Optimisation” (Jel optimalizálás) gombra a „New Run Wizard” párbeszédablakban (3. ábra) az „Auto-Gain Optimisation Setup” (Automatikus jeloptimalizálás beállítása) párbeszédablak megnyitásához. Állítsa a kalibrálási hőmérsékletet 65-re az

amplifikációs program anneálási hőmérsékletének megfelelően (6. ábra).



6. ábra A fluoreszcens csatorna érzékenységének beállítása. Tartsa szem előtt, hogy a Rotor-Gene 3000 esetében a szoftver a fluoreszcens festéknek „FAM/Sybr”-t és „JOE”-t ad meg.

10. A csatornkalibrálás által szolgáltatott jelerősség-értékek automatikusan mentésre kerülnek és a programozási eljárás utolsó menüablakában is megjelennek (7. ábra). Kattintson a „Start Run” gombra.



7. ábra A futtatás indítása. Tartsa szem előtt, hogy a Rotor-Gene 3000 esetében a szoftver a fluoreszcens festékek „FAM/Sybr”-t és „JOE”-t ad meg.

Az eredmények értékelése

Kvantifikálás

A mellékelt kvantifikálási standardok (EBV RG QS 1–4) a korábban már megtisztított mintáknak megfelelően kerülnek kezelésre, térfogatuk is azonos (20 µl). A standard görbe Rotor-Gene Q készüléken történő létrehozásához mind a 4 kvantifikálási standardot használni kell, valamint az „Edit Samples” (Minták szerkesztése) párbeszédablakban standardként, a megadott koncentrációval együtt kell őket definiálni (lásd felhasználói kézikönyv).

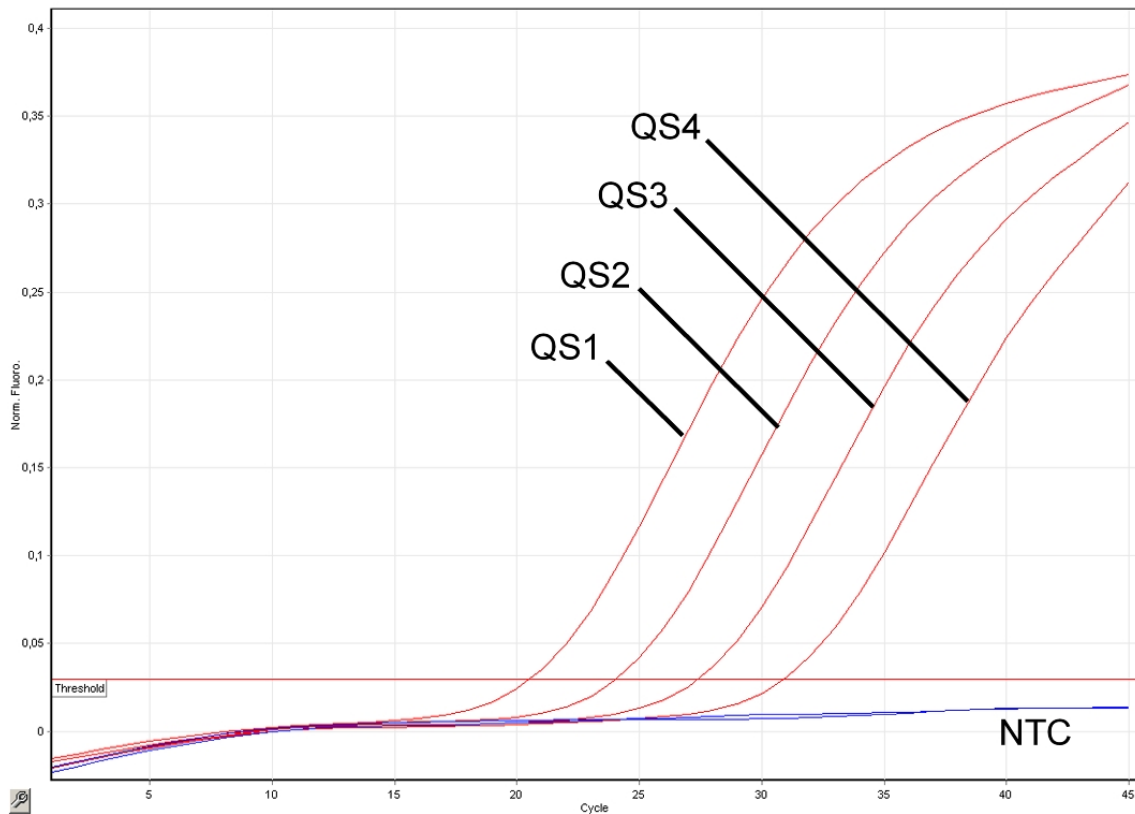
Megjegyzés: A kvantifikálási standardok mértékegysége kópia/µl. A standard görbe által meghatározott értékeket az alábbi egyenlet segítségével lehet átszámolni a minták kópia/ml értékeire.

$$\text{Eredmény (kópia/ml)} = \frac{\text{Eredmény (kópia/}\mu\text{l)} \times \text{Elúciós térfogat (}\mu\text{l)}}{\text{Mintatérfogat (ml)}}$$

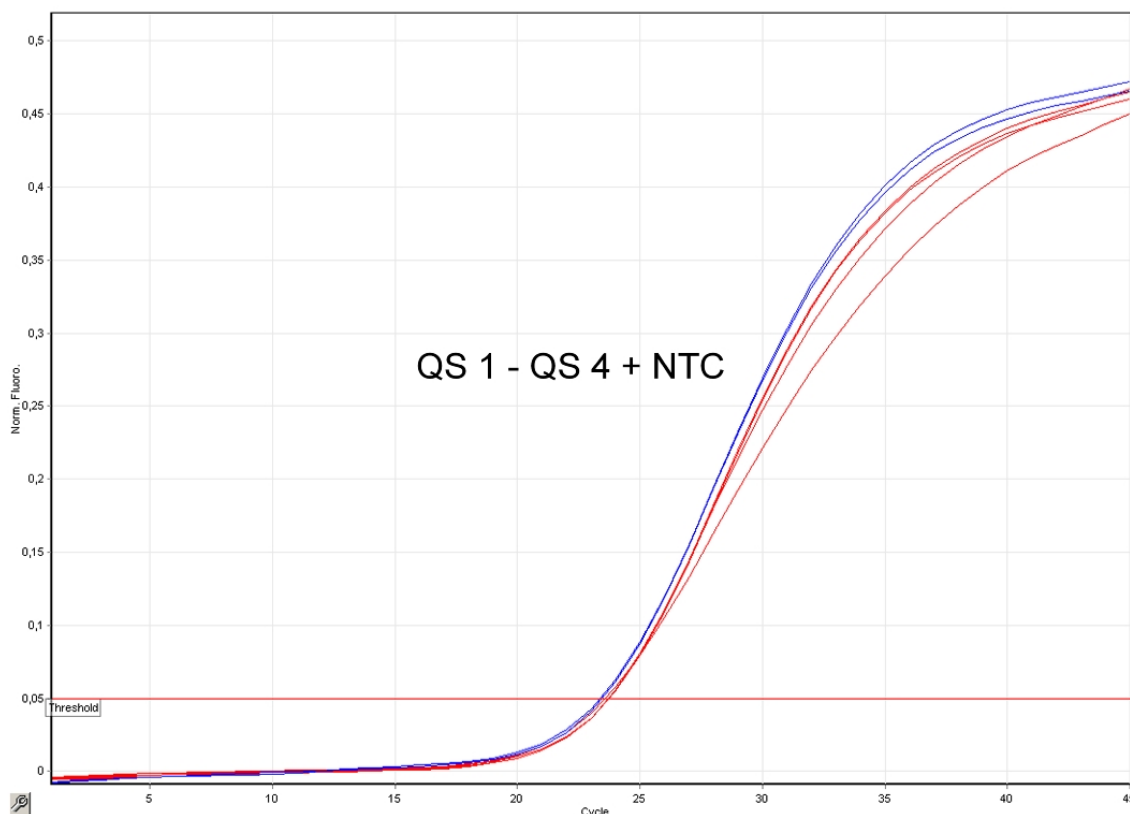
Alapelvként a fenti egyenletbe a kezdeti mintatérfogatot kell beírni. Ezt akkor kell felülvizsgálni, ha a minta térfogata a nukleinsav-extrakció előtt változott (pl. csökkenés centrifugálás miatt, vagy növekedés az izoláció miatt hozzáadott térfogat következtében).

Eredmények

A pozitív és negatív PCR-reakciók példái a 8. és 9. ábrán találhatóak.



8. ábra A kvantifikálási standardok (EBV RG QS 1–4) detekciója a Cycling Green fluoreszcens csatornában. NTC: Templát nélküli kontroll (negatív kontroll)



9. ábra A belső kontroll (IC) detekciója a Cycling Yellow fluoreszcens csatornában a kvantifikálási standardok (EBV RG QS 1–4) amplifikációja mellett. NTC: Templát nélküli kontroll (negatív kontroll)

A jelet a Cycling Green fluoreszcens csatorna érzékeli. A mérés eredménye pozitív: a minta EBV DNS-t tartalmaz.

Ilyen esetben a Cycling Yellow fluoreszcens csatorna jelétől el lehet tekinteni, mivel az EBV DNS kezdeti magas koncentrációja (pozitív jel a Cycling Green fluoreszcens csatornában) a jel csökkenéséhez vagy hiányához vezethet a Cycling Yellow fluoreszcens csatornában (kompetíció).

Megjegyzés: A Rotor-Gene 3000 esetében a pozitív jel a Cycling A.FAM, a belső kontroll a Cycling A.JOE csatornában található.

Ha a Cycling Green fluoreszcens csatornában jel nem található. Ezzel párhuzamosan a belső kontroll jele megjelenik a Cycling Yellow fluoreszcens csatornában. A mintában EBV DNS nem volt kimutatható. A minta negatívnak tekinthető.

A negatív EBV PCR esetén a belső kontroll érzékelt jele zárja ki a PCR-reakció gátlásának lehetőségét.

Megjegyzés: A Rotor-Gene 3000 esetében a belső kontroll a Cycling A.JOE csatornában található, míg a Cycling A.FAM csatornában nincs jel.

Nincs jel sem Cycling Yellow, sem a Cycling Green fluoreszcens csatornában. Eredmény nem határozható meg.

A hibák okai és megoldásuk módjai a „Troubleshooting guide” fejezetben találhatóak (22. oldal).

Megjegyzés: A Rotor-Gene 3000 esetében a releváns csatornák a Cycling A.FAM és a Cycling A.JOE.

Hibaelhárítási útmutató

Az alábbi hibaelhárítási útmutató segítséget nyújthat a felmerülő problémák megoldásában. További információkért kérjük, olvassa el Műszaki ügyfélszolgálatunk Gyakran Ismételt Kérdéseit a következő címen: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. A QIAGEN kutató szakemberei is örömmel állnak rendelkezésére, ha bármilyen kérdése van akár ennek a kézikönyvnek a tartalmával és a benne szereplő protokollokkal kapcsolatban, akár a minta- és vizsgálati technológiákkal kapcsolatban (elérhetőség a kézikönyv hátlapján vagy a következő címen található: www.qiagen.com).

Megjegyzések és javaslatok

A pozitív kontrollok (CMV RG QS 1–4) nem adnak jelet a Cycling Green vagy Cycling A.FAM fluoreszcens csatornában.

- | | |
|---|---|
| a) A PCR adatelemzéshez kiválasztott fluoreszcens csatorna nem felel meg a protokollnak | Az adatelemzéshez válassza ki a Cycling Green vagy Cycling A.FAM fluoreszcens csatornát az analitikai EBV PCR-hez és a Cycling Yellow vagy Cycling A.JOE fluoreszcens csatornát a belső kontroll PCR-hez. |
| b) A Rotor-Gene készülék hőmérsékletprofilja nem megfelelően van programozva | Hasonlítsa össze a hőmérsékletprofilját a protokollal. Lásd „Protocol: PCR and data analysis”, 13. oldal. |
| c) A PCR konfigurációja nem megfelelő | Ellenőrizze a munkalépéseket a pipettázási séma alapján és szükség esetén ismétlje meg a PCR-t. Lásd „Protocol: PCR and data analysis”, 13. oldal. |

Megjegyzések és javaslatok

- d) A készlet egy vagy több részegysége esetében a tárolási körülmények nem feleltek meg a „Reagent Storage and Handling” fejezetben (7. oldal) találhatóaknak. Ellenőrizze a reagensek tárolási körülményeit és a lejárat idejét (lásd a készlet címkéjét) és szükség esetén használjon új készletet
- e) Az *artus* EBV RG PCR készlet lejárt Ellenőrizze a reagensek tárolási körülményeit és a lejárat idejét (lásd a készlet címkéjét) és szükség esetén használjon új készletet

Gyenge jel vagy nincs jel a belső kontroll Cycling Yellow vagy Cycling A.JOE fluoreszcens csatornájában és emellett nincs jel a Cycling Green vagy Cycling A.FAM csatornában sem.

- a) A PCR-paraméterek nem felelnek meg a protokollnak Ellenőrizze a PCR-paramétereket (lásd fent) és szükség esetén ismétlje meg a PCR-t a megfelelő beállításokkal.
- b) A PCR gátolva volt Ellenőrizze, hogy a megfelelő izolálási protokollt alkalmazta és szorosan kövesse a gyártó utasításait.

A QIAamp DNA Mini készlet, a QIAamp DNA Blood Mini készlet, illetve a QIAamp UltraSens Virus készlet alkalmazása esetén ügyeljen arra, hogy a DNS izolálás során elvégezze a kiegészítő centrifugálási lépést az elúció előtt a visszamaradt etanol eltávolítása érdekében (lásd „DNA isolation”, 9. és 10. oldal).
- c) A DNS az extrakció során elveszett A belső kontroll jelének hiánya a DNS-nek az extrakció során történő elvesztését mutathatja. Ellenőrizze, hogy az ajánlott izolálási protokollt alkalmazta (lásd „DNA isolation”, 8. oldal), és szorosan kövesse a gyártó utasításait.

Megjegyzések és javaslatok

- d) A készlet egy vagy több részegysége esetében a tárolási körülmények nem feleltek meg a „Reagent Storage and Handling” fejezetben (7. oldal) találhatóaknak. Ellenőrizze a reagensek tárolási körülményeit és a lejárat idejét (lásd a készlet címkéjét) és szükség esetén használjon új készletet
- e) Az *artus* EBV RG PCR készlet lejárt Ellenőrizze a reagensek tárolási körülményeit és a lejárat idejét (lásd a készlet címkéjét) és szükség esetén használjon új készletet

A negatív kontroll esetében jelek találhatóak az analitikai PCR Cycling Green vagy Cycling A.FAM fluoreszcens csatornájában.

- a) A PCR előkészítése során szennyeződés lépett fel
Ismételje meg a PCR-t új reagensekkel.
Ha mód van rá, a PCR-csöveket közvetlenül a mérendő minta hozzáadása után zárja le.
Ügyeljen arra, hogy a pozitív kontrollokat utolsóként pipettázza.
Ügyeljen arra, hogy a munkaterület és az eszközök rendszeresen dekontaminálásra kerüljenek.
- b) Kontamináció az extrakció során
Ismételje meg a mintán az extrakciót és a PCR-t új reagensekkel.
Ügyeljen arra, hogy a munkaterület és az eszközök rendszeresen dekontaminálásra kerüljenek.

Minőség-ellenőrzés

A QIAGEN ISO-minősített minőség-ellenőrzési rendszerének megfelelően az *artus* EBV RG PCR készlet minden egyes gyártási tételét leellenőrzik, hogy az megfelel-e az előírt paramétereknek, ezzel biztosítják a készlet egyenletes és kifogástalan minőségét.

Korlátozások

Minden reagenst kizárólag in vitro diagnosztikai célra szabad használni.

A terméket csak az in vitro diagnosztikai eljárások terén képzett és betanított szakemberek használhatják.

Az optimális PCR-eredmények megkövetelik ezen kézikönyvben foglaltak szoros követését.

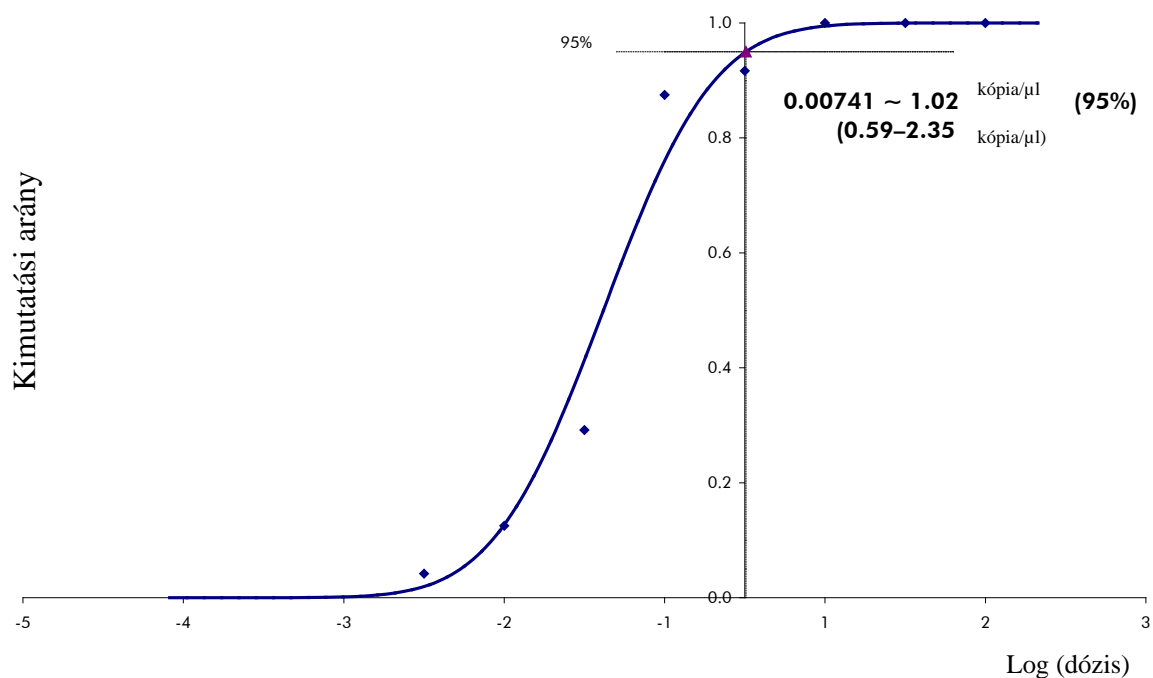
Figyeljen a dobozon és az egyes összetevőkön található lejáratú időkre. Ne használjon lejárt összetevőket.

Bár ez ritka jelenség, a virális genom nagyon konzervatív régióiban a készletben található primerek és próbák által lefedett területeken kialakuló mutációk a vírusszám alulbecslését, vagy a vírusjelenlét kimutatásának hibáját eredményezheti. A vizsgálat kialakításának validitása és teljesítményjellemzői rendszeresen ellenőrzésre kerülnek.

Teljesítményjellemzők

Analitikai érzékenység

Az *artus* EBV RG PCR készlet analitikai érzékenységének meghatározásához Rotor-Gene 6000 készüléken egy 31,6 - 0,01, míg Rotor-Gene 3000 készüléken egy 100 - 0,03 nominális EBV kópia/ μ l-nek megfelelő hígítási sort készítettek és vizsgáltak meg *artus* EBV RG PCR készlettel. A vizsgálatot 3 különböző napon 8 párhuzamos mintával végezték. Az eredményeket probit-elemzéssel határozták meg. A Rotor-Gene 6000 készüléken végzett probit-elemzés grafikai megjelenítése a 10. ábrán található. Az *artus* EBV RG PCR készlet analitikai kimutatási határa Rotor-Gene Q MDx/Q/6000 készülékkel 1,02 kópia/ μ l ($p = 0,05$), míg Rotor-Gene 3000 készülékkel 3,8 kópia/ μ l ($p = 0,05$). Ez azt jelenti, hogy az 1,02, illetve 3,8 kópia/ μ l koncentrációjú minták 95%-a detektálásra kerül.



10. ábra Probit-elemzés: EBV (Rotor-Gene 6000). Az *artus* EBV RG PCR készlet analitikai érzékenysége Rotor-Gene 6000 készülékkel

Specificitás

Az *artus* EBV RG PCR készlet specifikitása elsősorban és leginkább a primerek és próbák kiválasztásán, illetve a szigorúan meghatározott reakciófeltételeken alapul. A primerek és próbák a lehetséges homológiákra ellenőrzésre kerültek szekvencia-összehasonlítási elemzéssel minden génbankokban publikált szekvenciával szemben. Minden releváns genotípus detektálhatóság ezáltal biztosítva van.

Emellett a specifikitást 6 különböző EBV-negatív szérummintán is validálták. Ezek nem adtak jelet az EBV RG masterben található primerekkel és próbákkal.

Az *artus* EBV RG PCR készlet lehetséges keresztreaktivitása a 7. táblázatban található kontrollcsoporttal lett tesztelve. A tesztelt patogének egyike sem mutatott keresztreaktivitást.

7. táblázat A készlet specifikitásának vizsgálata potenciális keresztreaktív patogénekekkel

Kontrollcsoport	EBV (Cycling Green vagy Cycling A.FAM)	Belső kontroll (Cycling Yellow vagy Cycling A.JOE)
Humán herpeszvírus 1 (herpes simplex vírus 1)	–	+
Humán herpeszvírus 2 (herpes simplex vírus 2)	–	+
Humán herpeszvírus 3 (varicella-zoster vírus)	–	+
Humán herpeszvírus 5 (cytomegalovírus)	–	+
Humán T-sejt leukémia vírus 1	–	+
Humán T-sejt leukémia vírus 2	–	+

Reprodukálhatóság

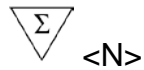
A reprodukálhatósági adatok lehetővé teszik az *artus* EBV RG PCR készlet teljesítmény-jellemzőinek rendszeres mérését, valamint más termékekkel történő hatékonysági összehasonlítást. Ezek az adatok laboratóriumi szakmai alkalmassági programokban történő részvételből származnak.

Hivatkozások

A QIAGEN egy nagy és naprakész online adatbázist tart fent olyan publikációkból, melyek QIAGEN termékek használatán alapulnak. A kívánt cikk megtalálását elősegítik a sokrétű keresési lehetőségek (pl. egyszerű kulcsszó, vagy az alkalmazásra, a kutatási területre, a címre történő szűrés, stb.).

A hivatkozások teljes listáját lásd a QIAGEN online szakirodalmi adatbázisában a www.qiagen.com/RefDB/search.asp cím alatt, vagy vegye fel a kapcsolatot a QIAGEN technikai szolgálatával vagy a helyi képviselőjével.

Jelek



<N> minta előkészítéséhez elegendő reagenst tartalmaz



Lejárat



In vitro diagnosztikus orvosi eszköz



Katalógusszám



Tételszám



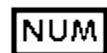
Anyagszám



Összetevők



Tartalma



Szám



Globális kereskedelmi áruazonosító szám (GTIN)



Hőmérséklet-korlátozás



Gyártó



Tanulmányozza a használati utasítást

Kapcsolattartási információ

Műszaki segítségnyújtásért és további információkért kérjük, forduljon Műszaki ügyfélszolgálatunkhoz a www.qiagen.com/Support címen vagy hívja fel a QIAGEN egyik Műszaki szervizosztályát, illetve forduljon a helyi képviselőhöz (lásd hátsó borító vagy www.qiagen.com).

Rendelési információk

Termék	Tartalom	Katalógusszám
<i>artus</i> EBV RG PCR készlet (24)	24 reakcióra Master, 4 kvantifikációs standard, belső kontroll, víz (PCR-szintű)	4501263
<i>artus</i> EBV RG PCR készlet (96)	96 reakcióra Master, 4 kvantifikációs standard, belső kontroll, víz (PCR-szintű)	4501265
EASY<i>artus</i> EBV RG PCR készletek — teljesen CE-IVD-megfelelő integrált, automatizált mintatisztítás a kórokozó-kimutatás		
EASY <i>artus</i> EBV RG PCR készlet 1	48 virális nukleinsav preparáláshoz és 24 vizsgálathoz: 1 x EZ1 DSP Virus készlet, 1 x <i>artus</i> EBV RG PCR készlet (24)	EA10123
EASY <i>artus</i> EBV RG PCR készlet 2	48 virális nukleinsav preparáláshoz és 48 vizsgálathoz: 1 x EZ1 DSP Virus készlet, 2 x <i>artus</i> EBV RG PCR készlet (24)	EA10124
EZ1 DSP Virus készlet — a virális DNS és RNS automatizált, párhuzamos tisztításához 1–14 szérum-, plazma- vagy liquormintából		
EZ1 DSP Virus készlet (48)	48 virális nukleinsav preparáláshoz: Előtöltött reagenskazetták, eldobható hegytartók, eldobható szűrős hegyek, mintacsövek, eluáló csövek, pufferek, hordozó RNS	62724
QIAamp DNA Mini készlet — genomiális és virális DNS tisztítására szövetekből és más mintákból		
QIAamp DNA Mini készlet (50)	50 DNS-preparáláshoz: 50 QIAamp Mini Spin oszlop, QIAGEN Proteinase K, reagensek, pufferek, gyűjtőcsövek (2 ml)	51304

Termék	Tartalom	Katalógusszám
QIAamp UltraSens Virus készlet — a virális DNS és RNS koncentrálásához és izolálásához szérum- és plazmamintából		
QIAamp UltraSens Virus készlet (50)	50 virális nukleinsav preparáláshoz: 50 QIAamp Mini Spin oszlop, Proteinase K, hordozó RNS, gyűjtőcsövek (2 ml), pufferek	53704
QIAamp DNA Blood Mini készlet — max. 12 µg genomiális, mitokondriális vagy virális DNS tisztítására vérből és vérrel kapcsolatos testfolyadékokból		
QIAamp DNA Blood Mini készlet (50)	50 mini DNS-preparáláshoz: 50 QIAamp Mini Spin oszlop, QIAGEN proteáz, reagensek, pufferek, gyűjtőcsövek (2 ml)	51104
Rotor-Gene Q MDx és kiegészítők		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Valós idejű PCR cyclor 5 csatornával (zöld, sárga, narancs, piros, karmazsin), laptop, szoftver, kiegészítők: tartalmaz 1 éves garanciát, üzembe helyezést és oktatást nem tartalmaz	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex rendszer	Valós idejű PCR cyclor 5 csatornával (zöld, sárga, narancs, piros, karmazsin), laptop, szoftver, kiegészítők: tartalmaz 1 éves garanciát, üzembe helyezést és oktatást is	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Valós idejű PCR cyclor és magas felbontású gél analízáló 5 csatornával (zöld, sárga, narancs, piros, karmazsin), magas felbontású gél csatorna, laptop, szoftver, kiegészítők: tartalmaz 1 éves garanciát, üzembe helyezést és oktatást nem tartalmaz	9002032

Termék	Tartalom	Katalógusszám
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Valós idejű PCR cycler és magas felbontású gél analízáló 5 csatornával (zöld, sárga, narancs, piros, karmazsin), magas felbontású gél csatorna, laptop, szoftver, kiegészítők: tartalmaz 1 éves garanciát, üzembe helyezést és oktatást is tartalmaz	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Valós idejű PCR készülék 6 csatornával (zöld, sárga, narancs, piros, karmazsin), laptop, szoftver, kiegészítők: tartalmaz 1 éves garanciát, üzembe helyezést és oktatást nem tartalmaz	9002042
Rotor-Gene Q MDx 6plex rendszer	Valós idejű PCR készülék 6 csatornával (zöld, sárga, narancs, piros, karmazsin), laptop, szoftver, kiegészítők: tartalmaz 1 éves garanciát, üzembe helyezést és oktatást is tartalmaz	9002043
Rotor-Gene Q MDx 2plex Platform	Valós idejű PCR cycler 2 csatornával (zöld, sárga), laptop, szoftver, kiegészítők: tartalmaz 1 éves garanciát, üzembe helyezést és oktatást nem tartalmaz	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex rendszer	Valós idejű PCR cycler 2 csatornával (zöld, sárga), laptop, szoftver, kiegészítők: tartalmaz 1 éves garanciát, üzembe helyezést és oktatást is tartalmaz	9002003
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM Platform	Valós idejű PCR cycler és magas felbontású gél analízáló 2 csatornával (zöld, sárga), magas felbontású gél csatorna, laptop, szoftver, kiegészítők: tartalmaz 1 éves garanciát, üzembe helyezést és oktatást nem tartalmaz	9002012

Termék	Tartalom	Katalógusszám
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM System	Valós idejű PCR cycler és magas felbontású gél analízáló 2 csatornával (zöld, sárga), magas felbontású gél csatorna, laptop, szoftver, kiegészítők: tartalmaz 1 éves garanciát, üzembe helyezést és oktatást is tartalmaz	9002013
Bemérő blokk 72 x 0,1 ml cső	Alumíniumblokk a reakciók manuális összeállítására egycsatornás pipettával 72 db 0,1 ml-es csőbe	9018901
Bemérő blokk 96 x 0,2 ml cső	Alumíniumblokk a reakciók manuális összeállítására standart 8 x 12-es elrendezésben 96 db 0,2 ml-es csőbe	9018905
Strip-csővek és kupakok 0,1 ml (250)	250 strip 4 csővel és 4 kupakkal 1000 reakcióhoz	981103
Strip-csővek és kupakok 0,1 ml (2500)	10 x 250 strip 4 csővel és 4 kupakkal 10 000 reakcióhoz	981106
PCR-csővek, 0,2 ml (1000)	1000 vékonyfalú cső 1000 reakcióhoz	981005
PCR-csővek, 0,2 ml (10 000)	10 x 1000 vékonyfalú cső 10 000 reakcióhoz	981008

A naprakész licencinformációkat és a termékspecifikus jogi nyilatkozatokat lásd a megfelelő QIAGEN készlet kézikönyvében vagy felhasználói útmutatójában. A QIAGEN készletek kézikönyvei és felhasználói útmutatói elérhetők az alábbi címen: www.qiagen.com, vagy igényelhetők a QIAGEN Műszaki ügyfélszolgálatától, illetve a helyi forgalmazóktól.

Ezen termék megvásárlásával a vásárló jogot kap a terméknek humán in vitro diagnosztikai célra történő felhasználására. A vásárlás nem eredeztet a fentiekben túl semmilyen más licenszet vagy szabadalmat.

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

Korlátozott licenz megállapodás

Ennek a terméknek a használatával bármely *artus* EBV RG PCR készlet beszerzője és használója egyetért az alábbi feltételekkel:

1. A *artus* EBV RG PCR készlet kizárólag a *artus* EBV RG PCR *Kézikönyv* alapján és csak a készletben található elemekkel együtt használható. A QIAGEN valamennyi szellemi tulajdonjoga alapján nem járul hozzá, hogy felhasználják és beleépítsék a készletben lévő elemeket a készletben nem megtalálható elemekkel, kivéve abban az esetben, ha az szerepel az *EBV RG PCR készlet kézikönyvében* vagy a www.qiagen.com honlapon található további protokollok valamelyikében.
2. A kifejezett licenceken kívül a QIAGEN nem vállal garanciát arra, hogy ezek a készletek és/vagy ezek használata harmadik fél jogait nem sérti.
3. Ezen a készletnek és elemeinek a licence csak egyszeri használatra érvényes, és nem szabad őket újrafelhasználni, felújítani vagy újraértékesíteni.
4. A QIAGEN egyértelműen elutasít minden olyan (kifejezett vagy hallgatólagosan beleértett) engedélyt, amelyet korábban nem nyilvánított ki.
5. A készlet vevője és felhasználója elfogadja, hogy sem ő maga nem teszi és senki másnak sem engedélyez semmilyen lépést, amely a fenti pontok megszegéséhez vezet vagy azokat elősegíti. Ezen korlátozott licenc egyezményben foglalt korlátozásokat a QIAGEN bármely bíróságon keresztül érvényesítheti, továbbá a licenc megszegőjét a nyomozati és bírósági eljárás teljes költségének megtérítésére kötelezheti, beleértve az ügyvédi díjakat is olyan eljárásban, amelynek célja a korlátozott licenc, valamint a készletekhez és elemeihez kapcsolódó szellemi tulajdonjog betartatása.

A legújabb licencfeltételekről a www.qiagen.com oldalon tájékozódhat.

© 2009-2014 QIAGEN, minden jog fenntartva.

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)

