

декември 2014

# Наръчник към *artus*<sup>®</sup> EBV RG PCR Kit



24 (каталожен № 4501263)



96 (каталожен № 4501265)

Версия 1

**IVD**

Количествена ин витро диагностика

За употреба с апаратите Rotor-Gene<sup>®</sup> Q



**REF**

4501263, 4501265



1046897BG



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ГЕРМАНИЯ

R5

**MAT**

1046897BG



Sample & Assay Technologies

## **QIAGEN Sample and Assay Technologies**

QIAGEN е водещ доставчик на иновативни технологии за проби и анализи, позволяващи изолиране и откриване на съдържание във всяка биологична проба. Нашите модерни висококачествени продукти и услуги гарантират успех от вземането на проба до получаването на резултат.

### **QIAGEN задава стандартите при:**

- пречистване на ДНК, РНК и протеини;
- анализи на нуклеинови киселини и протеини;
- изследване на микроРНК и РНК интерференция (RNA interference, RNAi);
- автоматизиране на технологиите за проби и анализи.

Мисията ни е да ви осигуряваме възможности за постигане на изключителни успехи и открития. За повече информация посетете [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Съдържание

Предназначение	4
Кратко изложение и обяснение	4
Информация за патогените	4
Принципи на процедурата	5
Предоставени материали	5
Съдържание на комплекта	5
<b>Необходими, но непредоставени материали</b>	<b>6</b>
<b>Предупреждения и предпазни мерки</b>	<b>7</b>
Общи предпазни мерки	7
<b>Съхранение и работа на реактивите</b>	<b>7</b>
Процедура	8
Изолиране на ДНК	8
Вътрешна контрола	12
Протокол: PCR и анализ на данните	13
<b>Интерпретиране на резултатите</b>	<b>20</b>
Количествено определяне	20
Обобщение	21
Ръководство за отстраняване на проблеми	23
<b>Контрол на качеството</b>	<b>26</b>
<b>Ограничения</b>	<b>26</b>
<b>Работни характеристики</b>	<b>26</b>
Аналитична чувствителност	26
Специфичност	27
Възпроизводимост	28
<b>Литературни източници</b>	<b>28</b>
Символи	29
<b>Информация за контакти</b>	<b>29</b>
<b>Информация за поръчки</b>	<b>30</b>

## Предназначение

*artus* EBV RG PCR Kit представлява *in vitro* тест за амплификация на нуклеинови киселини за количественото определяне на ДНК на вируса на Епщайн-Бар (Epstein-Barr virus, EBV) в човешка плазма, серум, гръбначно-мозъчна течност (ГМТ) или кръвни клетки. Този диагностичен тестов комплект използва полимеразната верижна реакция (polymerase chain reaction, PCR) и е конфигуриран за употреба с апарати Rotor-Gene Q.

## Кратко изложение и обяснение

*artus* EBV RG PCR Kit представлява готова за използване система за откриването на ДНК на EBV чрез полимеразна верижна реакция (PCR) на апарати Rotor-Gene Q. EBV RG Master съдържа реактиви и ензими за специфичното усилване на регион 97 bp от генома на EBV и за директното откриване на специфичния ампликон във флуоресцентен канал Cycling Green на Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q, Rotor-Gene 6000 или Cycling A.FAM™ на Rotor-Gene 3000.

Освен това *artus* EBV RG PCR Kit съдържа втора хетерологична амплификационна система за установяване на евентуално инхибиране на PCR. Това се открива като вътрешна контрола (IC) във флуоресцентен канал Cycling Yellow на Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q, Rotor-Gene 6000 или Cycling A.JOE™ на Rotor-Gene 3000. Аналитичната граница на откриване на EBV с PCR (вижте „Аналитична чувствителност“ на страница 26) не се редуцира. Доставят се външни положителни контроли (EBV RG QS 1–4), които позволяват определянето на количеството вирусна ДНК. За повече информация вижте „Количествено определяне“ на страница 20.

## Информация за патогените


Вирусът на Епщайн-Бар (EBV) се предава орално, предимно чрез заразена слюнка. По принцип заразяването с EBV – особено в детството – е асимптоматично. Клиничният признак за остра инфекция е инфекциозна мононуклеоза, свързана с висока температура, отпадналост и ангина, както и възпаление на лимфните възли и далака. При някои пациенти тези симптоми хронично се появяват отново. Тежки форми на инфекция с EBV се наблюдават при пациенти с имунна недостатъчност и Т-клетъчни дефекти.

## Принципи на процедурата

Откриването на патогени чрез полимеразната верижна реакция (PCR) се основава на амплификацията на специфични региони от генома на патогена. В реално време амплифицираният с PCR продукт се открива с флуоресцентни оцветители. Те обикновено са свързани с олигонуклеотидни сонди, които се свързват специфично с амплифицирания продукт. Следенето на интензитетите на флуоресценцията по време на PCR (т. е. в реално време) позволява откриване и количествено определяне на натрупващия се продукт, без да бъде необходимо реакционните епруветки да се отварят отново след приключването на PCR.\*

## Предоставени материали

### Съдържание на комплекта

<b>artus EBV RG PCR Kit</b>		<b>(24).</b>	<b>(96).</b>
<b>Каталожен №</b>		<b>4501263</b>	<b>4501265</b>
<b>Брой реакции</b>		<b>24</b>	<b>96</b>
Син	EBV RG Master	2 x 12 реакции	8 x 12 реакции
Червен	EBV RG QS 1* (5 x 10 <sup>4</sup> копия/µl)	<b>QS</b> 200 µl	200 µl
Червен	EBV RG QS 2* (5 x 10 <sup>3</sup> копия/µl)	<b>QS</b> 200 µl	200 µl
Червен	EBV RG QS 3* (5 x 10 <sup>2</sup> копия/µl)	<b>QS</b> 200 µl	200 µl
Червен	EBV RG QS 4* (5 x 10 <sup>1</sup> копия/µl)	<b>QS</b> 200 µl	200 µl
Зелен	EBV RG IC <sup>†</sup>	<b>IC</b> 1000 µl	2 x 1000 µl
Бял	Вода (с качество за PCR)	1000 µl	1000 µl
	Наръчник	 1	1

\* Стандарт за количествено определяне.

† Вътрешна контрола.

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

## Необходими, но непредоставени материали

При работа с химикали винаги носете подходяща лабораторна престилка, ръкавици за еднократна употреба и защитни очила. За повече информация вижте съответните информационни листове за безопасност (safety data sheets, SDS), които можете да намерите при доставчика на продукта.

### реактиви

- Комплект за изолиране на ДНК (вижте „Изолиране на ДНК“ на страница 8)

### Консумативи

- Стерилни връхчета за пипети с филтри
- Strip Tubes и Caps, 0,1 ml, за използване с 72-ямков ротор (каталожен № 981103 или 981106)
- Или: PCR Tubes, 0,2 ml, за използване с 36-ямков ротор (каталожен № 981005 или 981008)

### Оборудване

- Пипети (регулируеми)\*
- Бъркалка\*
- Настолна центрофуга\* с ротор за 2-ml реакционни епруветки
- Апарат Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q или Rotor-Gene\* с флуоресцентни канали Cycling Green и Cycling Yellow или флуоресцентни канали Cycling A.FAM и Cycling A.JOE
- Софтуер за Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q версия 1.7.94 или по-нова (софтуер за Rotor-Gene 6000 версия 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94; софтуер за Rotor-Gene 3000 версия 6.0.23)
- Блок за охлаждане (Loading Block 72 x 0,1 ml Tubes, каталожен № 9018901 или Loading Block 96 x 0,2 ml Tubes, каталожен № 9018905)

## Предупреждения и предпазни мерки

За ин витро диагностика

При работа с химикали винаги носете подходяща лабораторна престилка, ръкавици за еднократна употреба и защитни очила. За повече информация вижте съответните информационни листове за безопасност (SDS). Тези листове са на разположение онлайн в удобен и компактен PDF формат на [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), където можете да намерите, прегледате и разпечатате SDS за всеки комплект на QIAGEN® и компонент на комплекта.

Изхвърляйте отпадъците от пробите и анализите съгласно местните разпоредби за безопасност.

### Общи предпазни мерки

Потребителят трябва винаги да отделя особено внимание на следното:

- Използвайте стерилни връхчета за пипети с филтри.
- Съхранявайте и изтегляйте положителни материали (проби, положителни контроли и ампликони) отделно от всички други реактиви и ги прибавяйте към реакционната смес в пространствено обособено съоръжение.

\* Апаратите задължително трябва да се проверяват и калибрират по препоръките на производителя.

- Размразете добре всички компоненти при стайна температура (15–25 °C), преди да започнете анализа.
- По време на размразяването разбъркайте компонентите (с неколккратно пипетиране навътре и навън или с бъркалка на импулси) и центрофугирайте кратко време.
- Работете бързо и дръжте компонентите на лед или в блока за охлаждане (72/96-ямков зареждащ блок).

### Съхранение и работа на реактивите

Компонентите на *artus* EBV RG PCR Kit трябва да се съхраняват при температура от –15 °C до –30 °C и остават стабилни до датата на изтичане на срока на годност, посочена на етикета. Неколкократно размразяване и замразяване (повече от 2 пъти) трябва да се избягва, защото може да понижи чувствителността на анализа. Ако реактивите не се използват редовно, те трябва да се замразяват на аликвоти. Съхранението при температура между 2 и 8 °C не трябва да бъде по-дълго от 5 часа.

## Процедура

### Изолиране на ДНК

Комплектите от QIAGEN, изброени в таблица 1, са валидирани за пречистване на вирусна ДНК от посочените видове човешки проби за употреба с *artus* EBV RG PCR Kit. Пречистването на вирусна ДНК трябва да се извършва по инструкциите в наръчниците към комплектите.

**Таблица 1. Набори за пречистване, валидирани за употреба с *artus* EBV RG PCR Kit**

Материал в пробата	Размер на пробата	Набор за изолиране на нуклеинови киселини	Каталожен номер (QIAGEN)	Носеща РНК
Серум, плазма, гръбначно-мозъчна течност (ГМТ)	200 µl	QIAamp® DNA Mini Kit (50)	51304	Не е включен
Серум, плазма	1 ml	QIAamp UltraSens® Virus Kit (50)	53704	Включен
Кръвни клетки	200 µl	QIAamp DNA Blood Mini Kit (50)	51104	Не е включен
Плазма	400 µl	EZ1® DSP Virus Kit (48)*	62724	Включен

\* EZ1 DSP Virus Kit се предлага и като маркирани с CE-IVD EASY*artus*® EBV RG PCR Kits заедно с *artus* EBV RG PCR Kit (вижте страница 30 за информация за поръчка).

**Забележка:** Епруветки за взимане на кръв, покрити с антикоагуланти, може да инхибират PCR. Тези инхибитори обаче ще бъдат отстранени, когато се използват изброените по-горе комплекти за изолиране. Препоръчваме да се избягва употребата на хепаринизирана кръв.

**Забележка:** *artus* EBV RG PCR Kit не трябва да се използва с методи за изолиране на фенолова основа.



## Използване на QIAamp DNA Blood Mini Kit или QIAamp DNA Mini Kit

**Забележка:** Употребата на Carrier RNA е задължителна за ефективното извличане и съответно за полученото количество ДНК/РНК. Имайте предвид, че прибавянето на Carrier (RNA Homopolymer Poly[rA], не е включен в QIAamp DNA Blood Mini Kit или QIAamp DNA Mini Kit) се препоръчва силно за извличането на нуклеинови киселини от несъдържащи клетки телесни течности и материал с малки количества ДНК и РНК (например ГМТ). В такива случаи пригответе Carrier RNA по следния начин:

- Ресуспендирайте лиофилизиран Carrier RNA (RNA Homopolymer Poly[rA], не е включен в QIAamp DNA Blood Mini Kit или QIAamp DNA Mini Kit) с буфера за елуиране (не използвайте буфер за лизиране) от комплекта за извличане (Buffer AE от QIAamp DNA Mini Kit и QIAamp DNA Blood Mini Kit) и пригответе разтвор с концентрация 1 µg/µl. Разпределете получения разтвор Carrier RNA на достатъчен за Вашите нужди брой аликвоти и ги съхранявайте при температура от –15 до –30 °C. Избягвайте неколккратно размразяване (повече от 2 пъти) на един аликвот с Carrier RNA.
- Използвайте 1 µg Carrier RNA на 100 µl буфер за лизиране. Например, ако по протокола за извличане се използва 200 µl буфер за лизиране, прибавете 2 µl Carrier RNA (1 µg/µl) директно в буфера за лизиране (Buffer AL от QIAamp DNA Mini Kit и QIAamp DNA Blood Mini Kit). Преди започването на всяко извличане смес от буфер за лизиране и Carrier RNA (и вътрешна контрола, където е необходимо – вижте „Вътрешна контрола“ на страница 12) трябва да се приготви по схемата за пипетиране в таблица 2.

**Таблица 2. Схема за пипетиране за използване с QIAamp DNA Blood Mini Kit или QIAamp DNA Mini Kit**

<b>Брой на пробите</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
Buffer AL (буфер за лизиране)*	например 200 µl	например 2400 µl
Carrier RNA (1 µg/µl)	2 µl	24 µl
<b>Общ обем</b>	<b>202 µl</b>	<b>2424 µl</b>
<b>Обем на едно извличане</b>	<b>200 µl</b>	<b>по 200 µl</b>

\* Съдържа гуанидин хидрохлорид; информация за безопасност ще намерите в наръчника към комплекта.

**Забележка:** Използвайте прясната приготвена смес от буфер за лизиране и Carrier RNA незабавно за извличане. Сместа не може да се съхранява.

**Забележка:** Вътрешната контрола на *artus* EBV RG PCR Kit може да се използва директно в процедурата за изолиране (вижте „Вътрешна контрола“ на страница 12).

**Забележка:** Силно препоръчваме да се извърши препоръчителната стъпка 10 от протокола (*Наръчник към QIAamp DNA Mini u Blood Mini*, трето издание, април 2010 г., страница 29 и 32), за да се отстранят всички евентуални остатъци от етанол. Препоръчваме времето за това центрофугиране да се увеличи на 3 минути.

Препоръчваме ДНК да се елуира в 50 µl буфер за елуиране, за да се постигне възможно най-високата чувствителност на *artus* EBV RG PCR Kit.

### Използване на QIAamp UltraSens Virus Kit

**Забележка:** Употребата на Carrier RNA е задължителна за ефективното извличане и съответно за полученото количество ДНК/РНК. За да се повиши стабилността на Carrier RNA, доставен с QIAamp UltraSens Virus Kit, препоръчваме следващата процедура, която се различава от инструкциите в наръчника към комплекта.

- Преди първата употреба на комплекта, ресуспендирайте лиофилизирания Carrier RNA в 310 µl от буфера за елуиране (Buffer AVE), доставен с комплекта (за окончателна концентрация 1 µg/µl, не използвайте буфер за лизиране). Разпределете получения разтвор Carrier RNA на достатъчен за Вашите нужди брой аликвоти и ги съхранявайте при температура от –15 до –30 °C. Избягвайте неколккратно размразяване (повече от 2 пъти) на един аликвот с Carrier RNA.
- Преди започването на всяко извличане смес от буфер за лизиране и Carrier RNA (и вътрешна контрола, където е необходимо – вижте „Вътрешна контрола“ на страница 12) трябва да се приготви по схемата за пипетиране в таблица 3.

**Таблица 3. Схема за пипетиране за използване с QIAamp UltraSens Virus Kit**

<b>Брой на пробите</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
Buffer AC (буфер за лизиране)*	800 µl	9600 µl
Carrier RNA (1 µg/µl)	5,6 µl	67,2 µl
<b>Общ обем</b>	<b>805,6 µl</b>	<b>9667,2 µl</b>
<b>Обем на едно извличане</b>	<b>800 µl</b>	<b>по 800 µl</b>

\* Съдържа изопропанол; информация за безопасност ще намерите в наръчника към комплекта.

**Забележка:** Използвайте прясната приготвена смес от буфер за лизиране и Carrier RNA незабавно за извличане. Сместа не може да се съхранява.

**Забележка:** Вътрешната контрола на *artus* EBV RG PCR Kit може да се използва директно в процедурата за изолиране (вижте „Вътрешна контрола“ на страница 12).

**Забележка:** Силно препоръчваме да се извърши допълнителното центрофугиране, описано на стъпка 14 от протокола (*Наръчник към QIAamp UltraSens Virus*, април 2010 г., страница 17), за да се отстранят всички евентуални остатъци от етанол. Препоръчваме времето за това центрофугиране да се увеличи на 3 минути.

Препоръчваме ДНК да се елуира в 50 µl буфер за елуиране, за да се постигне възможно най-високата чувствителност на *artus* EBV RG PCR Kit.

QIAamp UltraSens Virus Kit позволява концентриране на проби. Ако използвате в пробата материал, различен от серум или плазма, прибавете поне 50% (по обем) отрицателна човешка плазма към пробата.

### **Използване на EZ1 DSP Virus Kit**

**Забележка:** Употребата на Carrier RNA е задължителна за ефективно извличане и съответно за полученото количество ДНК/РНК. Прибавете съответното количество Carrier RNA при всяко извличане по инструкциите в *Наръчника към EZ1 DSP Virus Kit (EZ1 DSP Virus Kit Handbook)*.

**Забележка:** Вътрешната контрола на *artus* EBV RG PCR Kit може да се използва директно в процедурата за изолиране (вижте „Вътрешна контрола“, отдолу).

**Забележка:** Силно препоръчваме пречистените вирусни нуклеинови киселини да се използват за PCR незабавно след извличането с EZ1 DSP Virus Kit. Друга възможност е елуатите да се съхраняват до 3 дни при 4 °C преди анализ с PCR.

## Вътрешна контрола

Доставена е вътрешна контрола (EBV RG IC). Това позволява на потребителя както да контролира процедурата за изолиране на ДНК, така и да проверява за евентуално инхибиране на PCR. Когато EZ1 DSP Virus Kit се използва за извличане, вътрешната контрола трябва да се прибави по инструкциите в *Наръчника към EZ1 DSP Virus Kit*. Когато се използва QIAamp UltraSens Virus Kit, QIAamp DNA Blood Mini Kit или QIAamp DNA Mini Kit, вътрешната контрола трябва да се прибави при изолирането в съотношение 0,1 µl на 1 µl обем за елуиране. Например, когато се използва QIAamp UltraSens Virus Kit, ДНК се елуира в 50 µl Buffer AVE. Затова първоначално трябва да се прибавят 5 µl от вътрешната контрола. Количеството на използваната вътрешна контрола зависи само от обема за елуиране.

**Забележка:** Вътрешната контрола и Carrier RNA (вижте „Изолиране на ДНК“ на страница 8) трябва да се прибавят само към сместа от буфер за лизиране и материал в пробата или директно към буфера за лизиране.

Вътрешната контрола не трябва да се прибавя директно към материала в пробата. При прибавяне към буфера за лизиране имайте предвид, че сместа от вътрешна контрола и буфер за лизиране–Carrier RNA трябва да се приготвя и използва незабавно (съхраняване на сместа при стайна температура или в хладилник дори само няколко часа може да направи вътрешната контрола негодна и да намали ефективността на извличането).

**Забележка:** Не прибавяйте вътрешната контрола и Carrier RNA директно към материала в пробата.

Вътрешната контрола може да се използва евентуално и за проверка за инхибиране на PCR. За целта вътрешната контрола се прибавя директно към EBV RG Master, както е описано на стъпка 2b от протокола (страница 14).

## Протокол: PCR и анализ на данните

### Важни моменти преди започване

- Отделете време да се запознаете с апарата Rotor-Gene Q, преди да започнете протокола. Прочетете ръководството за потребителя на апарата.
- Задължително включете поне един стандарт за количествено определяне и една отрицателна контрола (вода с качество за PCR) във всяка PCR. За да генерирате стандартна крива, използвайте и 4-те доставени стандарта за количествено определяне (EBV RG QS 1–4) за всяка PCR.

### Какво трябва да направите, преди да започнете

- Блокът за охлаждане (от принадлежностите на апарата Rotor-Gene Q) задължително трябва да се охлади предварително до 2–8 °C.
- Преди всяка употреба всички реактиви трябва да се размразят напълно, да се разбъркат (с неколkokратно пипетиране навътре и навън или с бързо разбъркване) и да се центрофугират за кратко време.

### Процедура

1. Поставете необходимия брой епруветки за PCR в адаптерите на блока за охлаждане.
2. Ако използвате вътрешната контрола, за да следите процедурата за изолиране на ДНК и да проверявате за евентуално инхибиране на PCR, изпълнете стъпка 2а. Ако използвате вътрешната контрола само за проверка за инхибиране на PCR, изпълнете стъпка 2b.
- 2а. Вътрешната контрола вече е прибавена за изолирането (вижте „Вътрешна контрола“ на страница 12). В този случай пригответе основна смес по таблица 4.

Реакционната смес обикновено съдържа всички компоненти, необходими за PCR, освен пробата.

**Таблица 4. Приготвяне на основна смес (вътрешната контрола се използва за следене на изолирането на ДНК и проверка за инхибиране на PCR)**

<b>Брой на пробите</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
EBV RG Master	30 µl	360 µl
EBV RG IC	0 µl	0 µl
<b>Общ обем</b>	<b>30 µl</b>	<b>360 µl</b>

- 2b. Вътрешната контрола трябва да се прибави директно към сместа от EBV RG Master. В този случай пригответе основна смес по таблица 5.**

Реакционната смес обикновено съдържа всички компоненти, необходими за PCR, освен пробата.

**Таблица 5. Приготвяне на основна смес (вътрешната контрола се използва само за проверка за инхибиране на PCR)**

<b>Брой на пробите</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
EBV RG Master	30 µl	360 µl
EBV RG IC	2 µl	24 µl
<b>Общ обем</b>	<b>32 µl*</b>	<b>384 µl*</b>

\* Увеличаването на обема поради прибавянето на вътрешната контрола се пренебрегва при подготовката на анализа за PCR. Това не влошава чувствителността на системата за откриване.

- 3. Пипетирайте 30 µl от основната смес във всяка епруветка за PCR. След това прибавете 20 µl от елуираната ДНК от пробата (вижте таблица 6). Съответно 20 µl от поне един стандарт за количествено определяне (EBV RG QS 1–4) трябва да се използва като положителна контрола и 20 µl вода (с качество за PCR) – като отрицателна контрола.**

**Таблица 6. Подготовка на анализа за PCR**

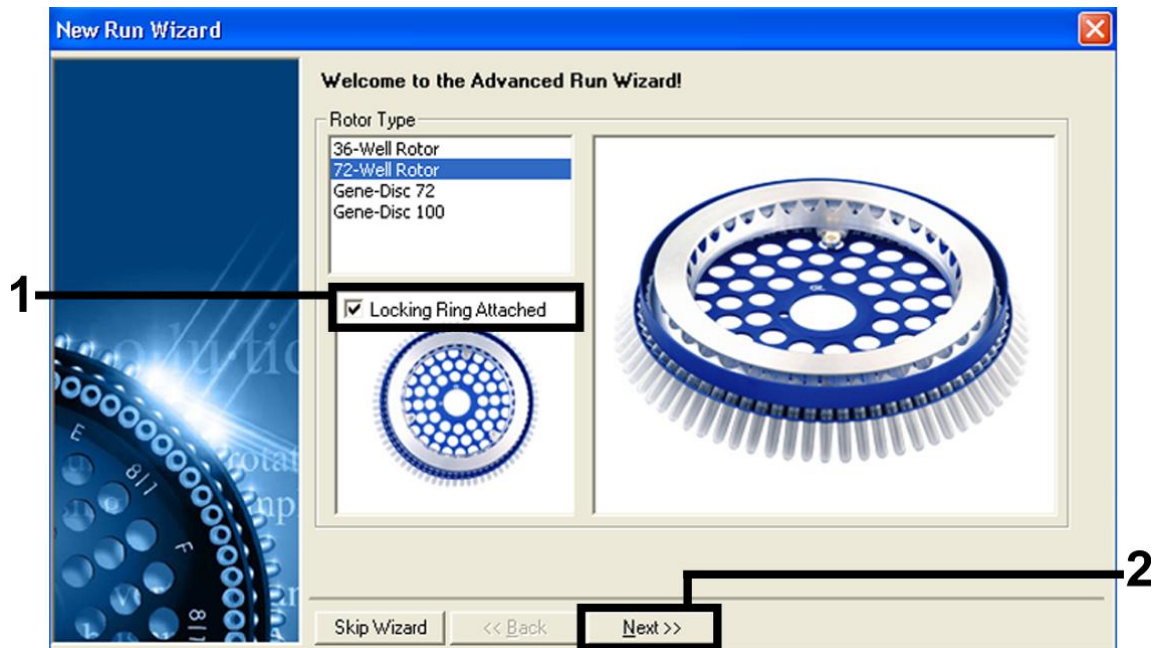
<b>Брой на пробите</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
Основна смес	30 µl	по 30 µl
Проба	20 µl	по 20 µl
<b>Общ обем</b>	<b>50 µl</b>	<b>по 50 µl</b>

4. Затворете епруветките за PCR. Фиксираният пръстен (от принадлежностите на апарата Rotor-Gene) задължително трябва да се постави върху ротора, за да се предотврати инцидентно отваряне на епруветките по време на цикъла.
5. За откриването на ДНК на EBV създайте температурен профил по следващите стъпки.

<b>Задаване на общите параметри на анализа</b>	<b>Фигури 1, 2, 3</b>
<b>Първоначално активиране на ензима за горещ старт</b>	<b>Фигура 4</b>
<b>Амплификация на ДНК (тъчдаун PCR (touchdown PCR))</b>	<b>Фигура 5</b>
<b>Регулиране на чувствителността на флуоресцентния канал</b>	<b>Фигура 6</b>
<b>Стартиране на цикъла</b>	<b>Фигура 7</b>

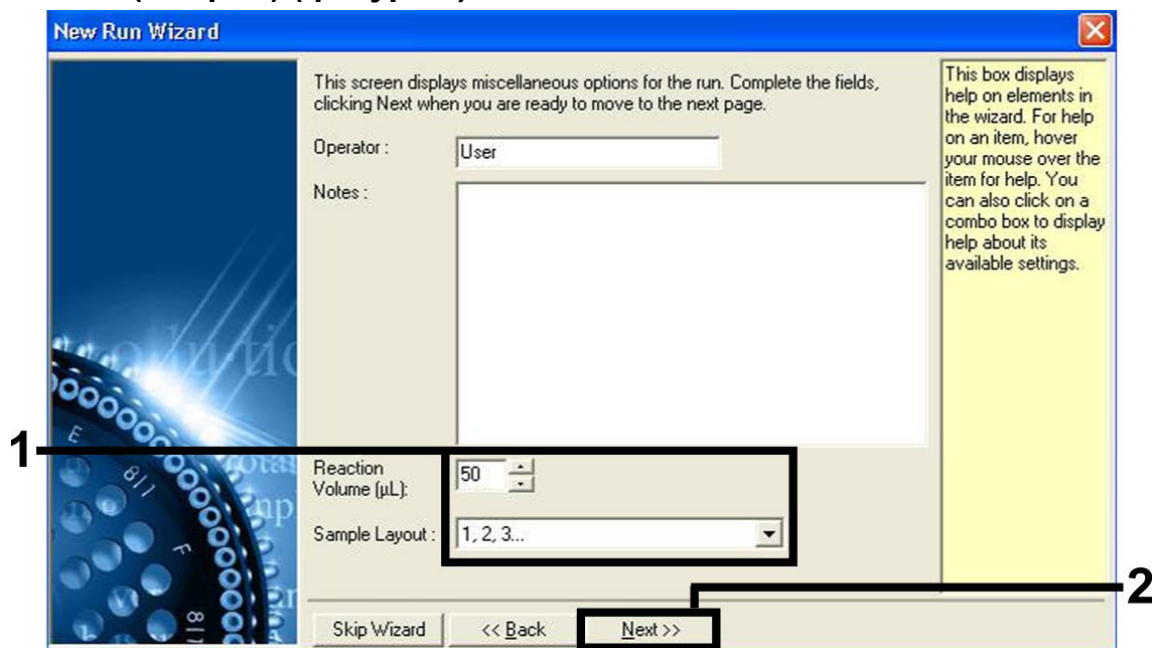
Всички спецификации са за софтуера за Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q версия 1.7.94, софтуера за Rotor-Gene 6000 версия 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94 и софтуера за Rotor-Gene 3000 версия 6.0.23. Допълнителна информация за програмирането на апаратите Rotor-Gene ще намерите в ръководството за потребителя на апарата. На илюстрациите тези настройки са оградени с черни рамки. Дадени са илюстрации за апаратите Rotor-Gene Q. Където са необходими различни стойности за Rotor-Gene 3000, тези разлики са описани в текста.

6. Първо отворете диалоговия прозорец „New Run Wizard“ (Съветник за нов цикъл) (фигура 1). Поставете отметка в квадратчето „Locking Ring Attached“ (Поставен фиксиращ пръстен) и щракнете върху „Next“ (Напред).



Фигура 1. Диалоговият прозорец „New Run Wizard“ (Съветник за нов цикъл).

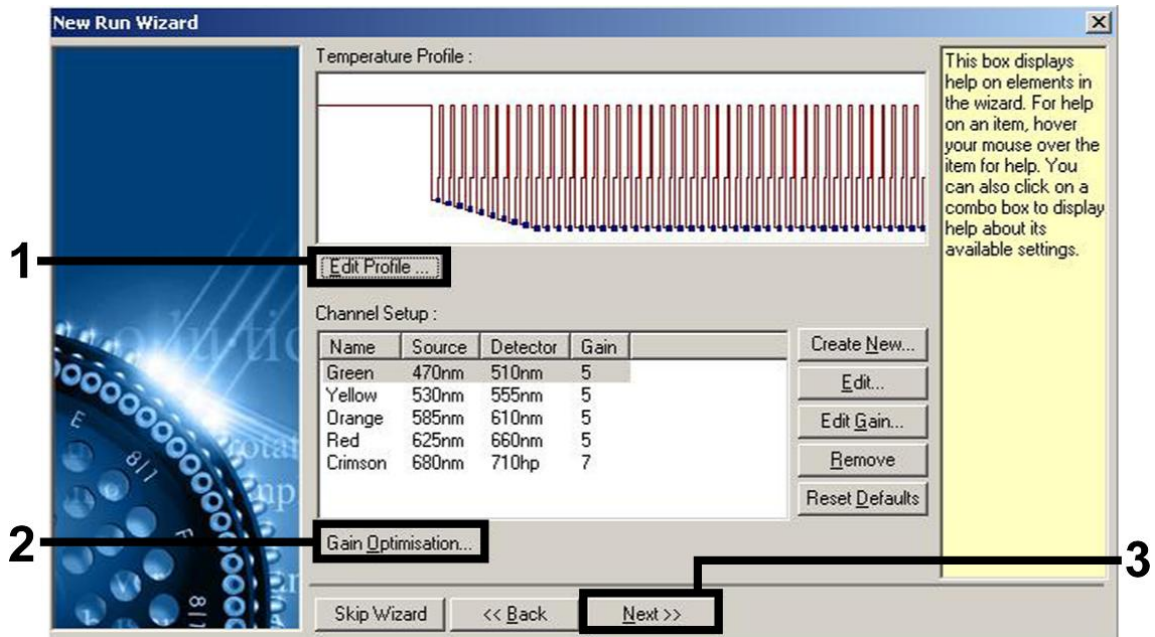
7. Изберете 50 за реакционния обем на PCR и щракнете върху „Next“ (Напред) (фигура 2).



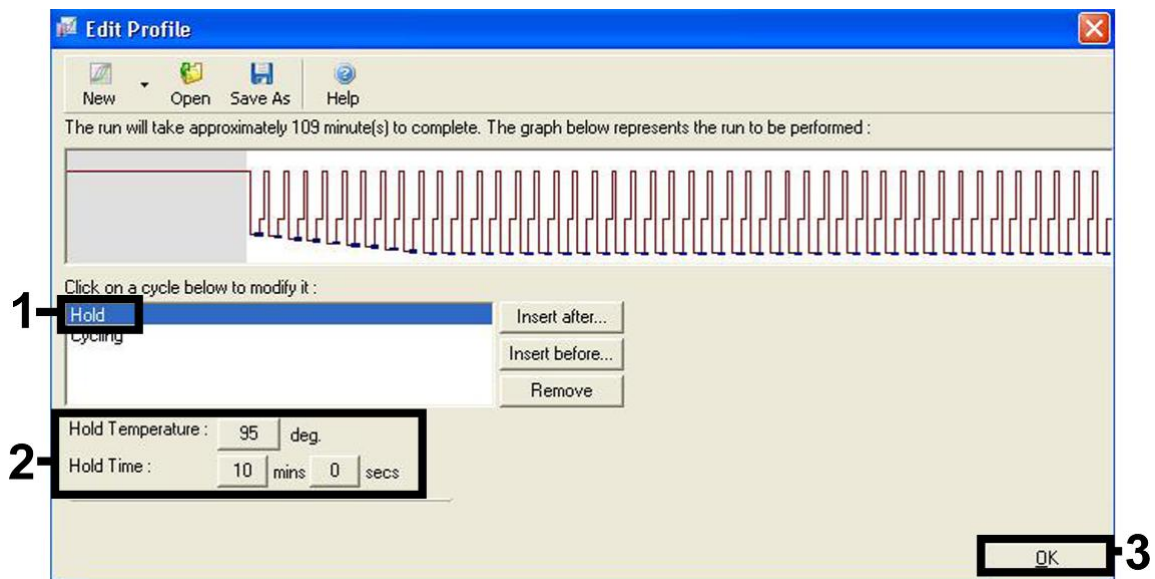
Фигура 2. Задаване на общите параметри на анализа.



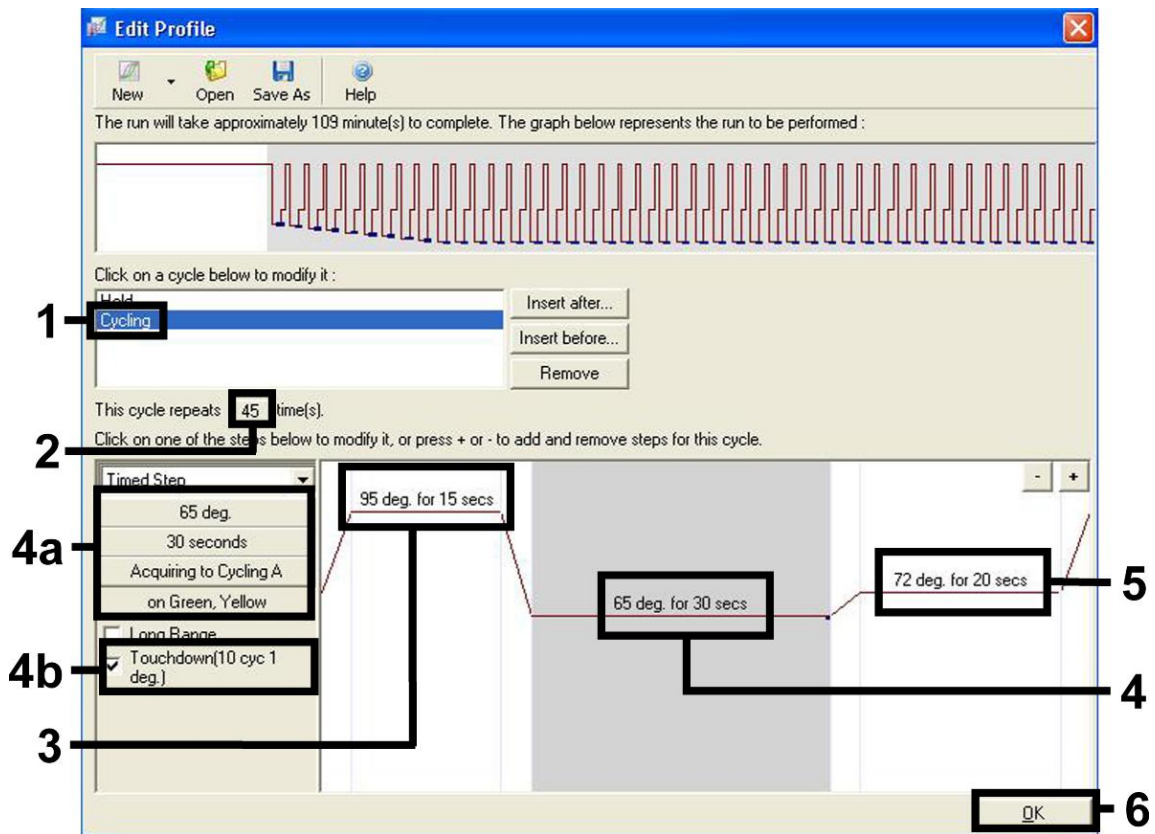
8. Щракнете върху бутона „Edit Profile“ (Промяна на профил) в следващия диалогов прозорец „New Run Wizard“ (Съветник за нов цикъл) (фигура 3) и програмирайте температурния профил, както е показано на фигури 3–5.



Фигура 3. Промяна на профила.

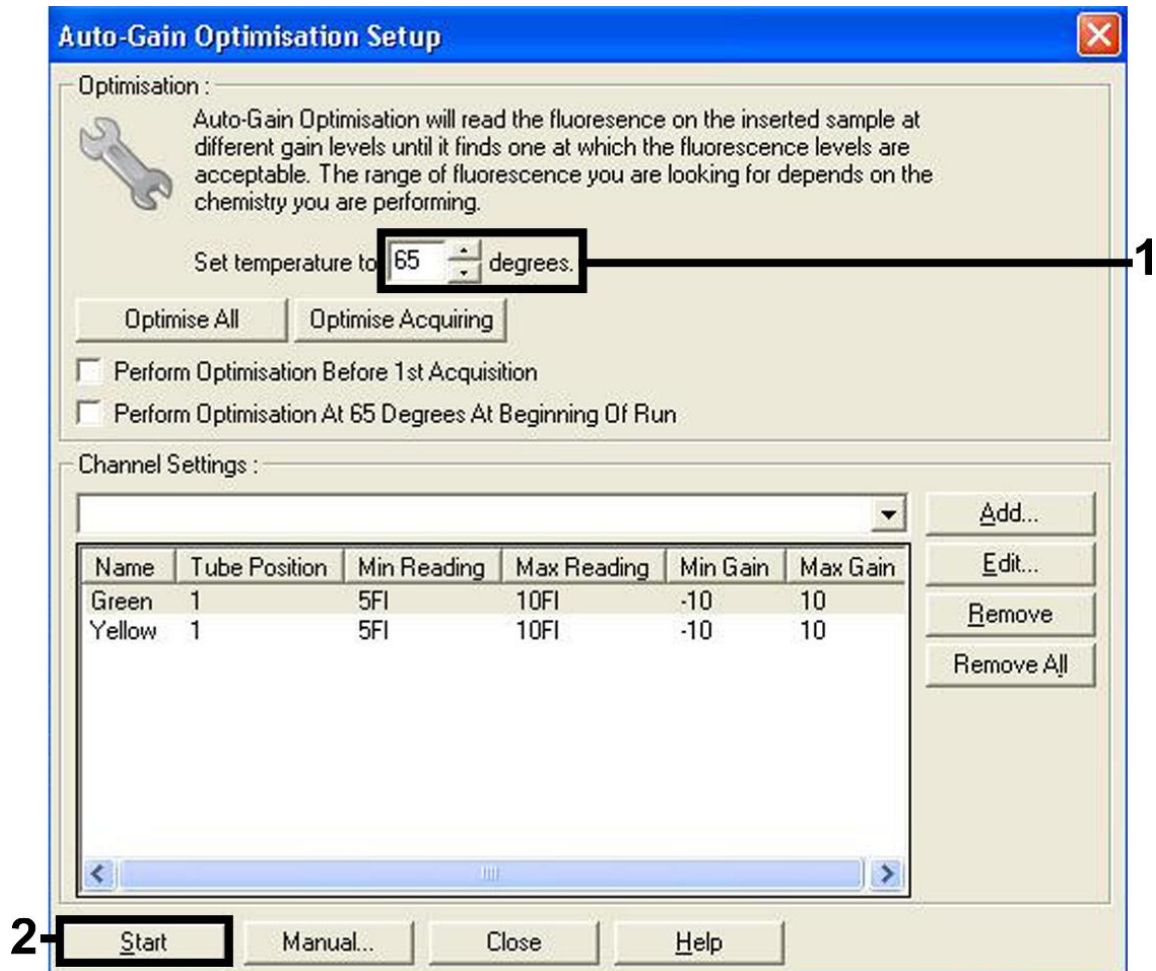


Фигура 4. Първоначално активиране на ензима за горещ старт.



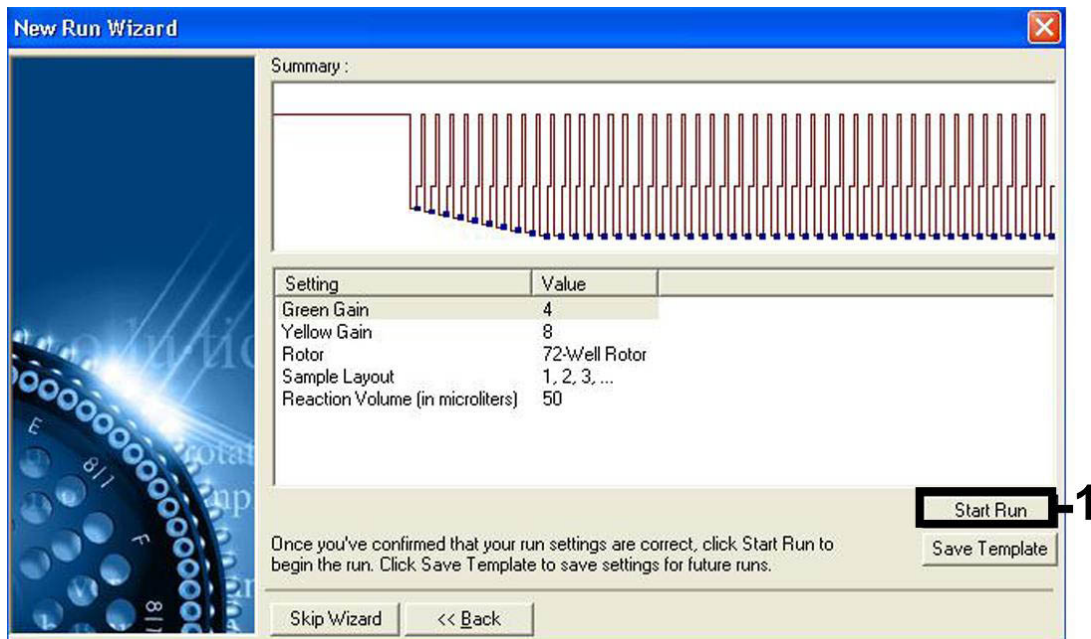
**Фигура 5. Амплификация на ДНК.** Задължително активирайте функцията за тъчдаун за 10 цикъла на стъпката за топлинна обработка. Имайте предвид, че на Rotor-Gene 3000 софтуерът ще определи флуоресцентните оцветители като „FAM/Sybr, JOE“.

9. Диапазонът на откриването на флуоресцентните канали трябва да се определи според интензитетите на флуоресценцията в епруветките за PCR. Щракнете върху „Gain Optimisation“ (Оптимизиране на усилването) в диалоговия прозорец „New Run Wizard“ (Съветник за нов цикъл) (вижте фигура 3), за да отворите диалоговия прозорец „Auto-Gain Optimisation Setup“ (Настройка на оптимизирането на автоматичното усилване). Задайте температурата за калибриране на 65, за да съответства на температурата на топлинната обработка на програмата за амплификация (фигура 6).



Фигура 6. Регулиране на чувствителността на флуоресцентния канал. Имайте предвид, че на Rotor-Gene 3000 софтуерът ще определи флуоресцентните оцветители като „FAM/Sybr“ и „JOE“.

10. Стойностите за усилването, определени от калибрирането на канала, се записват автоматично и се изброяват в прозореца с последното меню от процедурата за програмиране (фигура 7). Щракнете върху „Start Run“ (Стартиране на цикъла).



Фигура 7. Стартиране на цикъла. Имайте предвид, че на Rotor-Gene 3000 софтуерът ще определи флуоресцентните оцветители като „FAM/Sybr“ и „JOE“.

## Интерпретиране на резултатите

### Количествено определяне

Приложените стандарти за количествено определяне (EBV RG QS 1–4) се третират като предварително пречистени проби и се използва същият обем (20 µl). За да се генерира стандартна крива на апарати Rotor-Gene Q, и 4-те стандарта за количествено определяне трябва да се използват и да се определят в диалоговия прозорец „Edit Samples“ (Промяна на проби) като стандарти с посочените концентрации (вижте ръководството за потребителя на апарата).

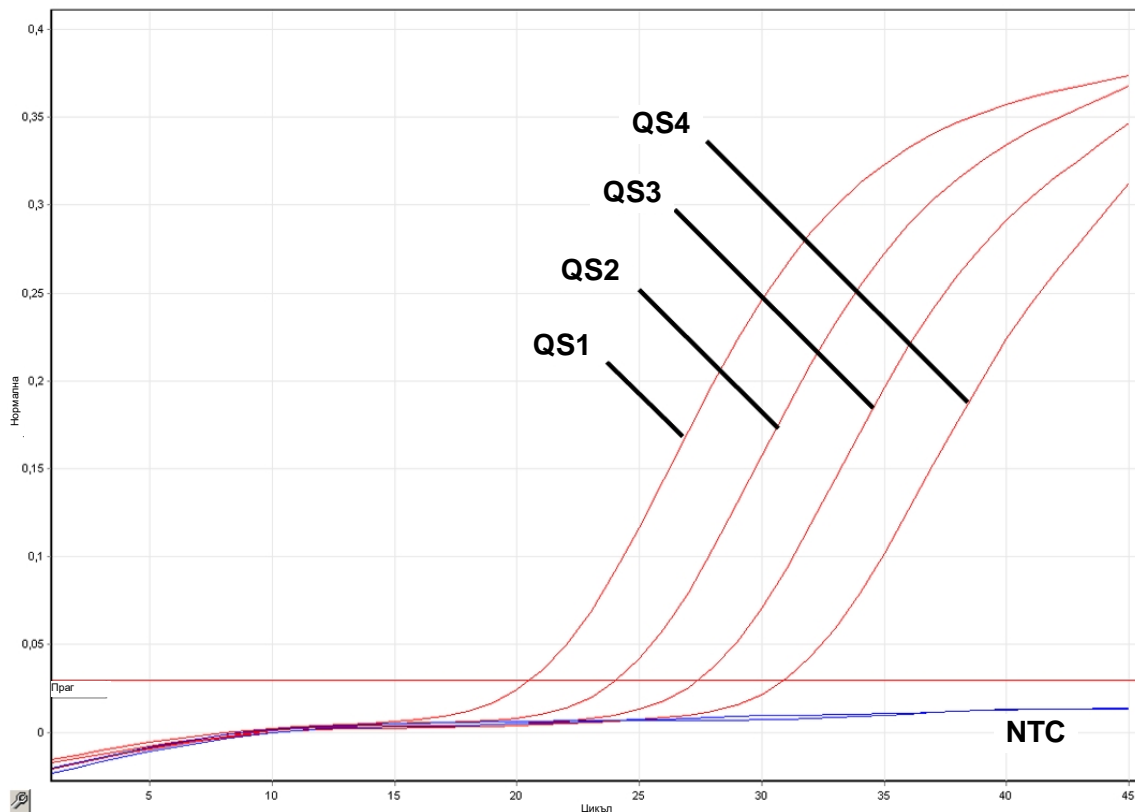
**Забележка:** Стандартите за количествено определяне се определят като копия/µl. За да се преобразуват стойностите, определени от стандартната крива, в копия/ml от материала в пробата, трябва да се използва следното уравнение:

$$\text{Резултатът (копия/ml)} = \frac{\text{Резултата (копия/µl)} \times \text{обема за елуиране (µl)}}{\text{Обема на пробата (ml)}}$$

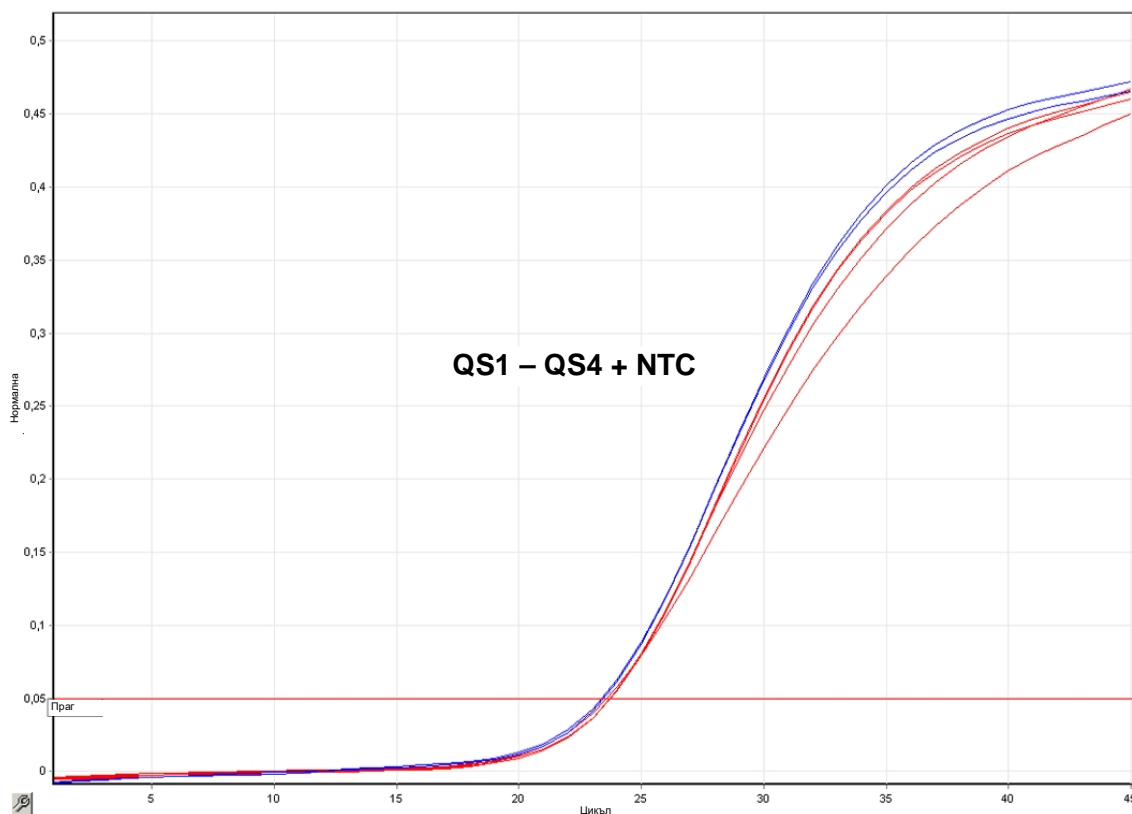
По принцип първоначалният обем на пробата трябва да се въведе в горното уравнение. Това трябва да се съобрази, когато обемът на пробата се е променил преди извличането на нуклеинови киселини (например обемът е намалял при центрофугиране или се е увеличил при прибавяне към необходимия обем за изолирането).

## Обобщение

Примери за положителни и отрицателни реакции PCR са дадени на фигура 8 и фигура 9.



**Фигура 8. Откриване на стандартите за количествено определяне (EBV RG QS 1–4) във флуоресцентен канал Cycling Green. NTC: Няма еталонна контрола (отрицателна контрола).**



**Фигура 9. Откриване на вътрешната контрола (IC) във флуоресцентен канал Cycling Yellow с едновременна амплификация на стандартите за количествено определяне (EBV RG QS 1–4). NTC: Няма еталонна контрола (отрицателна контрола).**

**Открит е сигнал във флуоресцентен канал Cycling Green. Резултатът от анализа е положителен: пробата съдържа ДНК на EBV.**

В този случай откриването на сигнал в канала Cycling Yellow може да се пренебрегне, тъй като високи начални концентрации на ДНК на EBV (положителен сигнал в канала Cycling Green) могат да доведат до понижен или липсващ флуоресцентен сигнал от вътрешната контрола в канала Cycling Yellow (конкуренция).

**Забележка:** На Rotor-Gene 3000 съответните канали са Cycling A.FAM за положителния сигнал и Cycling A.JOE за вътрешната контрола.

**Не е открит сигнал във флуоресцентен канал Cycling Green.**

**В същото време в канала Cycling Yellow се появява сигнал от вътрешната контрола.**

**В пробата не може да се открие ДНК на EBV. Тя може да се счита за отрицателна.**

При отрицателен резултат за EBV от PCR откритият сигнал от вътрешната контрола изключва възможността за инхибиране на PCR.

**Забележка:** На Rotor-Gene 3000 съответните канали са Cycling A.JOE за вътрешната контрола и липса на сигнал за Cycling A.FAM.



**Не е открит сигнал в каналите Cycling Green или в Cycling Yellow. Резултат не може да се определи еднозначно.**

Информация за източниците на грешки и съответните решения можете да намерите в „Ръководство за отстраняване на проблеми“ на страница 23.

**Забележка:** На Rotor-Gene 3000 съответните канали са Cycling A.FAM и Cycling A.JOE.

## **Ръководство за отстраняване на проблеми**

Това ръководство за отстраняване на проблеми може да бъде полезно за отстраняване на евентуално възникнали проблеми. За повече информация вижте и страницата „Frequently Asked Questions“ (Често задавани въпроси) в нашия Център за техническа поддръжка: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Учените в „Техническо обслужване“ на QIAGEN с готовност ще отговорят на всички Ваши въпроси – както за информацията и протоколите в този наръчник, така и за технологиите за проби и анализи (за информация за контакт вижте задната корица или посетете [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

### **Коментари и предложения**

---

#### **Няма сигнал с положителни контроли (EBV RG QS 1–4) във флуоресцентен канал Cycling Green или Cycling A.FAM**

- |  |  |
|--|--|
| а) Избраният флуоресцентен канал за анализ на данните от PCR не е в съответствие с протокола | За анализ на данните изберете флуоресцентния канал Cycling Green или Cycling A.FAM за аналитичната PCR за EBV и флуоресцентния канал Cycling Yellow или Cycling A.JOE за PCR за вътрешната контрола. |
| б) Неправилно програмиране на температурния профил на апарата Rotor-Gene                     | Сравнете температурния профил с протокола. Вижте „Протокол: PCR и анализ на данните“ на страница 13.   |
| в) Неправилно конфигуриране на PCR   | Проверете своите работни стъпки по схемата за пипетиране и повторете PCR, ако е необходимо. Вижте „Протокол: PCR и анализ на данните“ на страница 13.  |

## Коментари и предложения

---

- г) Условията на съхранение за един или повече от компонентите на комплекта не съответстват на инструкциите в „Съхранение и работа на реактивите“ (страница 7) Проверете условията на съхранение и датата на изтичане на срока на годност (вижте етикета на комплекта) на реактивите и използвайте нов комплект, ако е необходимо.
- д) Срокът на годност на *artus EBV RG PCR Kit* е изтекъл Проверете условията на съхранение и датата на изтичане на срока на годност (вижте етикета на комплекта) на реактивите и използвайте нов комплект, ако е необходимо.

### **Слаб или липсващ сигнал от вътрешната контрола във флуоресцентен канал *Cycling Yellow* или *Cycling A.JOE* и същевременна липса на сигнал в канал *Cycling Green* или *Cycling A.FAM***

- а) Условията на PCR не съответстват на протокола Проверете условията на PCR (вижте по-горе) и повторете PCR с коригирани настройки, ако е необходимо.
- б) PCR е инхибирана Задължително използвайте препоръчителния метод за изолиране и спазвайте точно инструкциите на производителя.
- Когато използвате QIAamp DNA Mini Kit, QIAamp DNA Blood Mini Kit или QIAamp UltraSens Virus Kit, задължително изпълнете препоръчителната стъпка за допълнително центрофугиране по време на изолирането на ДНК преди елуирането, за да се отстранят всички евентуални остатъци от етанол (вижте „Изолиране на ДНК“ на страница 9 и 10).



## Коментари и предложения

---

- в) ДНК е изгубена по време на извличането
- Ако вътрешната контрола е била прибавена при извличането, липсващ сигнал от вътрешната контрола може да означава загуба на ДНК по време на извличането. Задължително използвайте препоръчителния метод за изолиране (вижте „Изолиране на ДНК“ на страница 8) и спазвайте точно инструкциите на производителя.
- г) Условието на съхранение за един или повече от компонентите на комплекта не съответстват на инструкциите в „Съхранение и работа на реактивите“ (страница 7)
- Проверете условията на съхранение и датата на изтичане на срока на годност (вижте етикета на комплекта) на реактивите и използвайте нов комплект, ако е необходимо.
- д) Срокът на годност на *artus EBV RG PCR Kit* е изтекъл
- Проверете условията на съхранение и датата на изтичане на срока на годност (вижте етикета на комплекта) на реактивите и използвайте нов комплект, ако е необходимо.

### **Сигнали с отрицателните контроли във флуоресцентен канал *Cycling Green* или *Cycling A.FAM* на аналитичната PCR**

- а) Замърсяване по време на подготовката на PCR
- Повторете PCR с нови реактиви на повторения.
- Ако е възможно, затваряйте епруветките за PCR незабавно след прибавянето на пробата за тестване.
- Задължително пипетирайте положителните контроли последни.
- Задължително деконтаминируйте редовно работното място и апаратите.
- б) Замърсяване по време на извличането
- Повторете с нови реактиви извличането и PCR на пробата за тестване.
- Задължително деконтаминируйте редовно работното място и апаратите.

## Контрол на качеството

В съответствие със сертифицираната по ISO Система за управление на качеството на QIAGEN всяка производствена партида на *artus* EBV RG PCR Kit се тества по предварително определени спецификации, за да се осигури постоянно качество на продуктите.

## Ограничения

Всички реактиви могат да се използват само за ин витро диагностика.

Продуктът може да се използва само от персонал, който е специално инструктиран и обучен по процедурите за ин витро диагностика.

За получаването на оптимални резултати от PCR е необходимо строго спазване на ръководството за потребителя.

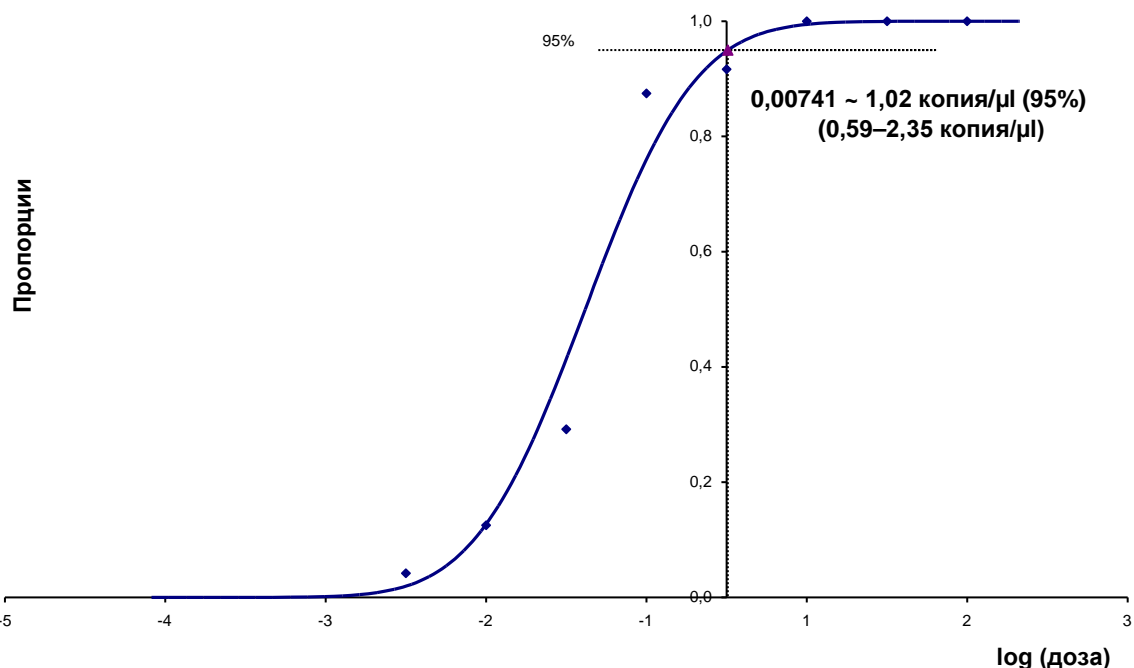
Трябва да се проверяват датите на изтичане на сроковете на годност, отпечатани на опаковката и етикетите на всички компоненти. Не използвайте компоненти с изтекъл срок на годност.

Макар и рядко, мутации в силно консервираните региони на вирусния геном, използвани от праймерите и/или сондата в комплекта, могат да доведат до занижено количествено определяне или неоткриване на присъствието на вируса в тези случаи. Валидността и работните характеристики на конфигурацията на анализа се проверяват редовно.

## Работни характеристики

### Аналитична чувствителност

За да се определи аналитичната чувствителност на *artus* EBV RG PCR Kit, е подготвена серия разреждания от 31,6 до 0,01 и от 100 до номиналните 0,03 EBV еквивалентни копия/ $\mu$ l, която е анализирана на Rotor-Gene 6000 и Rotor-Gene 3000, съответно, заедно с *artus* EBV RG PCR Kit. Тестването е извършено в 3 различни дни на 8 повторения. Резултатите са определени чрез Probit анализ. Probit анализът на Rotor-Gene 6000 е представен графично на фигура 10. Аналитичната граница на откриване на *artus* EBV RG PCR Kit, определена с Rotor-Gene Q MDx/Q/6000 и Rotor-Gene 3000, е съответно 1,02 копия/ $\mu$ l ( $p = 0,05$ ) и 3,8 копия/ $\mu$ l ( $p = 0,05$ ). Това означава, че има 95% вероятност за откриване на 1,02 копия/ $\mu$ l или 3,8 копия/ $\mu$ l.



**Фигура 10. Probit анализ: EBV (Rotor-Gene 6000).** Аналитична чувствителност на *artus* EBV RG PCR Kit с Rotor-Gene 6000.

## Специфичност

Специфичността на *artus* EBV RG PCR Kit се осигурява най-вече чрез подбора на праймери и сонди, както и чрез избора на точни условия на реакцията. Праймерите и сондите са проверени за възможни хомологии на всички публикувани секвенции в генните банки чрез сравнителен анализ на секвенциите. По този начин е осигурена възможността за откриване на всички съответни генотипи.

Специфичността е допълнително валидирана с 6 различни EBV-отрицателни проби от серум. Те не са генерирали сигнали със специфичните за EBV праймери и сонди, включени в EBV RG Master.

*artus* EBV RG PCR Kit е тестван за потенциална кръстосана реактивоспособност с контролната група в таблица 7. Не е установена реактивоспособност с нито един от тестваните патогени.

**Таблица 7. Тестване на специфичността на комплекта с патогени с потенциална кръстосана реактивоспособност**

<b>Контролна група</b>	<b>EBV (Cycling Green или Cycling A.FAM)</b>	<b>Вътрешна контрола (Cycling Yellow или Cycling A.JOE)</b>
Човешки вирус на херпес 1 (вирус на херпес симплекс 1)	–	+
Човешки вирус на херпес 2 (вирус на херпес симплекс 2)	–	+
Човешки вирус на херпес 3 (вирус на варицела-зостер)	–	+
Човешки вирус на херпес 5 (цитомегаловирус)	–	+
Човешки вирус на Т-клетъчна левкемия 1	–	+
Човешки вирус на Т-клетъчна левкемия 2	–	+

## **Възпроизводимост**

Данните за повторяемостта позволяват както редовна оценка на работните характеристики на *artus* EBV RG PCR Kit, така и сравнение на ефективността с други продукти. Тези данни са получени от участието в утвърдени програми за професионална квалификация.

## **Литературни източници**

QIAGEN поддържа голяма и актуална онлайн база данни от научни публикации, използващи продуктите на QIAGEN. Опциите за подробно търсене ви позволяват да намирате необходимите ви статии по обикновени ключови думи или чрез посочване на приложението, изследователската област, заглавието и т.н.

За пълен списък на литературните източници посетете базата данни с литературни източници на QIAGEN онлайн на адрес [www.qiagen.com/RefDB/search.asp](http://www.qiagen.com/RefDB/search.asp) или се свържете с отдела за техническо обслужване на QIAGEN или с местния си дистрибутор.

## СИМВОЛИ



Съдържа достатъчно реактиви за <N> теста



Използвайте до



Медицинско изделие за ин витро диагностика



Каталожен номер



Партиден номер



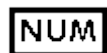
Номер на материала



Компоненти



Съдържа



Номер



Глобален номер на търговска единица



Температурни ограничения



Производител



Вижте инструкциите за употреба

## Информация за контакти

За техническа помощ и повече информация вижте центъра ни за техническа поддръжка на адрес [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) или се свържете с един от отделите за техническо обслужване на QIAGEN или местните дистрибутори (вижте задната корица или посетете [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Информация за поръчки

Продукт	Съдържание	Кат. №
<i>artus</i> EBV RG PCR Kit (24)	За 24 реакции: Основна, 4 стандарта за количествено определяне, вътрешна контрола, вода (с качество за PCR)	4501263
<i>artus</i> EBV RG PCR Kit (96)	За 96 реакции: Основна, 4 стандарта за количествено определяне, вътрешна контрола, вода (с качество за PCR)	4501265
<b>EASY<i>artus</i> EBV RG PCR Kitя – за напълно съответстващо на CE-IVD интегрирано автоматизирано пречистване на проби и откриване на патогени</b>		
EASY <i>artus</i> EBV RG PCR Kit 1	За 48 подготовки за вирусни нуклеинови киселини и 24 анализа: 1 бр. EZ1 DSP Virus Kit, 1 бр. <i>artus</i> EBV RG PCR Kit (24)	EA10123
EASY <i>artus</i> EBV RG PCR Kit 2	За 48 подготовки за вирусни нуклеинови киселини и 48 анализа: 1 бр. EZ1 DSP Virus Kit, 2 бр. <i>artus</i> EBV RG PCR Kit (24)	EA10124
<b>EZ1 DSP Virus Kit – за автоматизирано, едновременно пречистване на вирусна ДНК и РНК от 1–14 проби от серум, плазма или гръбначно-мозъчна течност (ГМТ)</b>		
EZ1 DSP Virus Kit (48)	За 48 подготовки за вирусни нуклеинови киселини: Фабрично заредени касети с реактиви, държачи за връхчета за еднократна употреба, филтърни връхчета за еднократна употреба, епруветки за проби, епруветки за елуиране, буфери, Carrier RNA	62724
<b>QIAamp DNA Mini Kit – за пречистване на геномна и вирусна ДНК от тъкани и други проби</b>		
QIAamp DNA Mini Kit (50)	За 50 подготовки за ДНК: 50 QIAamp Mini Spin Columns, QIAGEN Proteinase K, реактиви, буфери, епруветки за взимане на проби (2 ml)	51304

Продукт	Съдържание	Кат. №
<b>QIAamp UltraSens Virus Kit – за концентриране и изолиране на вирусна ДНК и РНК от серум и плазма</b>		
QIAamp UltraSens Virus Kit (50)	За 50 подготовки за вирусни нуклеинови киселини: 50 QIAamp Mini Spin Columns, Proteinase K, Carrier RNA, епруветки за взимане на проби (2 ml), буфери	53704
<b>QIAamp DNA Blood Mini Kit – за пречистване на до 12 µg геномна, митохондриална или вирусна ДНК от кръв и сродни телесни течности</b>		
QIAamp DNA Blood Mini Kit (50)	За 50 миниподготовки за ДНК: 50 QIAamp Mini Spin Columns, QIAGEN Protease, реактиви, буфери, епруветки за взимане на проби (2 ml)	51104
<b>Rotor-Gene Q MDx и принадлежности</b>		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Апарат за цикли на PCR в реално време с 5 канала (зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен), лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, не включва инсталиране и обучение	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Апарат за цикли на PCR в реално време с 5 канала (зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен), лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, инсталиране и обучение	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Апарат за цикли на PCR в реално време и анализатор на стопилки с висока разделителна способност с 5 канала (зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен) плюс канал HRM, лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, не включва инсталиране и обучение	9002032

<b>Продукт</b>	<b>Съдържание</b>	<b>Кат. №</b>
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Апарат за цикли на PCR в реално време и анализатор на стопилки с висока разделителна способност с 5 канала (зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен) плюс канал HRM, лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, инсталиране и обучение	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Апарат за PCR в реално време с 6 канала (син, зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен), включва лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, не включва инсталиране и обучение	9002042
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Апарат за PCR в реално време с 6 канала (син, зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен), включва лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, инсталиране и обучение	9002043
Rotor-Gene Q MDx 2plex Platform	Апарат за цикли на PCR в реално време с 2 канала (зелен, жълт), лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, не включва инсталиране и обучение	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex System	Апарат за цикли на PCR в реално време с 2 канала (зелен, жълт), лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, инсталиране и обучение	9002003



Продукт	Съдържание	Кат. №
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM Platform	Апарат за цикли на PCR в реално време и анализатор на стопилки с висока разделителна способност с 2 канала (зелен, жълт) плюс канал HRM, лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, не включва инсталиране и обучение	9002012
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM System	Апарат за цикли на PCR в реално време и анализатор на стопилки с висока разделителна способност с 2 канала (зелен, жълт) плюс канал HRM, лаптоп, софтуер, принадлежности: включва 1-годишна гаранция на части и труд, инсталиране и обучение	9002013
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Алуминиев блок за ръчна подготовка на реакция с едноканална пипета в 72 епруветки x 0,1 ml	9018901
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Алуминиев блок за ръчна подготовка на реакция в стандартна конфигурация 8 x 12 с 96 епруветки x 0,2 ml	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 ленти от 4 епруветки и капачки за 1000 реакции	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 ленти от 4 епруветки и капачки за 10 000 реакции	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 тънкостенни епруветки за 1000 реакции	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 тънкостенни епруветки за 10 000 реакции	981008

За актуална информация за лицензиране и декларации за освобождаване от отговорност за конкретни продукти вижте съответния наръчник или ръководство за потребителя на комплекта QIAGEN. Ръководствата и наръчниците за потребителя на комплекта QIAGEN са достъпни на адрес [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) или могат да бъдат заявени от отдела за технически услуги на QIAGEN или местния ви дистрибутор.



Покупката на този продукт разрешава на купувача да го използва за извършването на диагностични услуги за човешка ин витро диагностика. Освен горепосоченото изрично право на използване, не се предоставя никакъв общ патент или друг вид разрешение.

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

#### **Ограничено лицензно споразумение**

Употребата на този продукт означава, че всеки купувач или потребител на *artus* EBV RG PCR Kit приема следните условия:

1. *artus* EBV RG PCR Kit може да се използва само в съответствие с наръчника към *artus EBV RG PCR Kit* и само със съдържащите се в комплекта компоненти. QIAGEN не предоставя лиценз по никакви права върху своята интелектуална собственост за употребата или включването на този комплект с други компоненти, които не са включени в този комплект, освен както е описано в наръчника към *artus EBV RG PCR Kit* и допълнителните протоколи, които могат да се изтеглят от адрес [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).
2. Освен изрично посочените лицензи QIAGEN не дава никаква гаранция, че този комплект и/или неговата употреба(и) не нарушават права на други производители.
3. Този комплект и неговите компоненти са лицензирани за еднократна употреба и не могат да се използват повторно, обновяват или препродават.
4. QIAGEN изрично отхвърля всички други лицензи, посочени или подразбиращи се, с изключение на изрично заявените.
5. Купувачът и потребителят на комплекта дават съгласие да не предприемат или позволяват на други лица да предприемат каквито и да са стъпки, които могат да доведат до или да улеснят някое от действията, забранени по-горе. QIAGEN може да приложи забраните в настоящото Ограничено лицензионно споразумение в който и да е съд и ще възстанови всичките си разходи за разследване и съдебни разходи, включително адвокатски хонорари, при всяко действие за прилагане на Ограниченото лицензионно споразумение или някое от правата на интелектуална собственост, свързани с комплекта и/или неговите компоненти.

За актуални условия на лиценза вижте [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2009-2014 QIAGEN, всички права запазени.

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)

