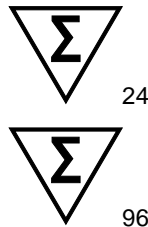


Oktobris 2015

artus[®] M. tuberculosis RG PCR Kit rokasgrāmata



1. versija

Kvantitatīva in vitro diagnostika

Lietošanai ar *Rotor-Gene*[®] Q instrumentiem

IVD



REF

4555263 (24 reakcijas)
4555265 (96 reakcijas)



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden
GERMANY
Vācija

R5 MAT

1046960LV

Satura rādītājs

Paredzētā lietošana	4
Kopsavilkums un skaidrojums	4
Procedūras princips	5
Iekļautie materiāli	6
Komplekta sastāvs	6
Nepieciešamie komplektā neiekļautie materiāli	7
Brīdinājumi un piesardzība	8
Brīdinājumi	8
Reaģentu uzglabāšana un lietošana	8
Procedūra	9
Svarīgas piezīmes pirms darba sākšanas	9
DNS izolēšana	10
Iekšējā kontrole	12
Kvantitatīvā noteikšana	13
PĶR <i>Rotor-Gene Q</i> instrumentos	13
Rezultātu interpretācija	20
Darbības traucējumu novēršana	22
Kvalitātes kontrole	24
Ierobežojumi	24
Veiktspējas raksturojums	25
Analītiskā jutība	25
Specifiskums	26
Precizitāte	29
Pastāvība	30
Reproducējamība	31
Atsauces	32
Simboli	32
Pasūtīšanas informācija	34

Paredzētā lietošana

artus M. tuberculosis RG PCR Kit ir in vitro nukleīnskābju amplifikācijas tests visu *M. tuberculosis* kompleksa baktēriju (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. microti*, *M. pinnipedii*) noteikšanai cilvēka krēpās, BAL, bronhu sekrētā, CSŠ, kuņģa skalojumā vai peritoneālās punkcijas paraugos. Šajā diagnostikas testa komplektā tiek izmantota polimerāzes ķēdes reakcija (PĶR), un tas ir konfigurēts lietošanai Rotor-Gene Q instrumentos.

Kopsavilkums un skaidrojums

Tuberkuloze (TB) joprojām visā pasaulē ir viena no nozīmīgākajām infekcijas slimībām. Aptuveni 2 miljoni cilvēku, trešdaļa pasaules populācijas, ir inficēti ar *Mycobacterium tuberculosis*, TB izraisītājorganismu. TB incidence pasaulē ir ap 8 miljoniem, un katru gadu mirst apmēram 3 miljoni TB slimnieku. TB ir slimība, kas industrializētajās valstīs laiku pa laikam atkal aktualizējas galvenokārt inficēto cilvēku migrācijas dēļ un zāļu rezistentas tuberkulozes attīstības dēļ. Bezpajumtniekus, narkotiku lietotājus un imūnkompromitētas personas šī slimība skar biežāk.

TB ir hroniska, cikliska slimība, kas galvenokārt skar plaušas un saistītos limfmezglus. Tomēr atkarībā no pacienta imūnsistēmas stāvokļa *M. tuberculosis* var kolonizēt arī citus orgānus. TB nodod galvenokārt no cilvēka uz cilvēku gaisa-pilienu veidā. Infekciozi ir tikai cilvēki ar aktīvu saslimšanu. Cilvēkiem ar nomāktu imunitāti *M. tuberculosis* baktērijas var atkārtoti aktivizēties pat vairākus gadus pēc sākotnējās infekcijas.

Procedūras princips

Patogēna diagnostika ar polimerāzes ķēdes reakciju (PĶR) balstās uz patogēna genoma specifisku reģionu amplifikāciju. Reālajā laikā PĶR izraisīto amplifikāciju novēro ar fluorescentu krāsu palīdzību. Tās parasti tiek saistītas pie oligonukleotīdu zondēm, kas savienojas ar amplificēto produktu. Fluorescences intensitātes novērošana PĶR laikā (proti, reālajā laikā) ļauj atklāt un kvantitatīvi noteikt produkta akumulāciju bez nepieciešamības pēc PĶR atvērt reakciju mēģenes (1).

artus M. tuberculosis RG PCR Kit ir lietošanai gatava sistēma visu *M. tuberculosis* kompleksa baktēriju (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. microti*, *M. pinnipedii*) noteikšanai ar polimerāzes ķēdes reakciju (PĶR) *Rotor Gene Q* instrumentos. *M. tuberculosis RG Master* satur reaģentus un enzīmus specifiskai mikobaktēriju genoma 159 bp reģiona amplifikācijai un tiešai specifiskā amplikona noteikšanai fluorescences kanālā **Cycling Green** Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q, vai Rotor-Gene 6000, vai **Cycling A.FAM** Rotor-Gene 3000.

Turklāt *artus M. tuberculosis RG PCR Kit* satur otru heterologu amplifikācijas sistēmu, lai noteiktu iespējamo PĶR inhibīciju. To nosaka kā iekšējo kontroli fluorescences kanālā **Cycling Yellow** Rotor Gene Q MDx, Rotor-Gene Q vai Rotor-Gene 6000, vai **Cycling A.JOE** Rotor-Gene 3000. Iekšējās kontroles amplifikācija un noteikšana nesamazina analītisko *M. tuberculosis* kompleksa noteikšanas robežu PĶR (skatīt „Analītiskā jutība”, 25. lpp.). Ir iekļautas ārējās pozitīvās kontroles (*M. tuberculosis* RG/TM QS 1-4), kas ļauj noteikt patogēnu slodzi. Sīkāku informāciju skatiet nodaļā „Kvantitatīva noteikšana”, 12. lpp.

Iekļautie materiāli

Komplekta sastāvs

artus M. tuberculosis RG PCR Kit				
Kataloga numurs		4555263		4555265
Reakciju skaits		24		96
Vāciņa krāsa	Reaģenta nosaukums	Simbols	Daudzums	Daudzums
Zila	M. tuberculosis RG Master		2 x 12 reakcijas	8 x 12 reakcijas
Dzeltena	M. tuberculosis RG Mg-Sol*	Mg-Sol	1 x 400 µl	1 x 400 µl
Sarkana	M. tuberculosis RG/TM QS [†] 1 (3 x 10 ⁴ copy/µl)	QS	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Sarkana	M. tuberculosis RG/TM QS 2 (3 x 10 ³ copy/µl)	QS	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Sarkana	M. tuberculosis RG/TM QS 3 (3 x 10 ² copy/µl)	QS	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Sarkana	M. tuberculosis RG/TM QS 4 (3 x 10 ¹ copy/µl)	QS	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Zaļa	M. tuberculosis RG IC [‡]	IC	1 x 1000 µl	2 x 1000 µl
Balta	Water (PCR grade)		1 x 1000 µl	1 x 1000 µl

* Mg-Sol: Magnija šķīdums

† QS: Kvantitatīvās noteikšanas standarts

‡ IC: Iekšējā kontrole

Nepieciešamie komplektā neiekļautie materiāli

Svarīgi: Pārliecinieties, vai šajās darbībās izmantotie instrumenti ir pārbaudīti un kalibrēti saskaņā ar ražotāja ieteikumiem.

- Vienreizlietojamie cimdi bez pulvera
- QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN, cat. no. 51304)
- Lysozyme mix (skatīt 10. lpp.)
- Pipetes (regulējamas)
- Sterili pipešu uzgaļi ar filtriem
- Vortex maisāmā mašīna
- Sildīšanas bloks vai termiskais mikseris, kas spēj uzkarstēt no 37°C līdz 95°C.
- Darbgalda centrifūga ar rotoru 2 ml reakciju stobriņiem
- Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q vai Rotor-Gene instruments ar **Cycling Green** un **Cycling Yellow** vai **Cycling A.FAM** un **Cycling A.JOE** fluorescences kanāliem
- Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q programmatūras versija 1.7.94 vai augstāka (Rotor-Gene 6000 programmatūras versija 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94; Rotor-Gene 3000 programmatūras versija 6.0.23)
- Strip Tubes un Caps, 0,1 ml lietošanai ar 72-well rotor (kataloga numurs 981103 vai 981106)
- Pēc izvēles: PCR Tubes, 0,2 ml lietošanai ar 36-well rotor (kataloga numurs 981005 vai 981008)
- Dzesēšanas bloks (Loading Block 72 x 0,1 ml Tubes, kataloga numurs 9018901, vai Loading Block 96 x 0,2 ml Tubes, kataloga numurs 9018905).

Brīdinājumi un piesardzība

Lietotājam vienmēr jāņem vērā šādi noteikumi:

- Jālieto sterili pipešu uzgaļi ar filtriem.
- Inficētais materiāls (paraugi, kontrole un amplikoni) ir jāuzglabā un tā paraugi jāņem atsevišķi no pārējiem reaģentiem, kā arī tie jāpievieno reakcijas maisījumam atsevišķi norobežotā nodalījumā.
- Pirms testa uzsākšanas visi komponenti pilnībā jāatkausē istabas temperatūrā.
- Kad sastāvdaļas ir atkusušas, tās viegli jā sajauc un tās brīdi jācentrifugē.
- Jādarbojas ātri un sastāvdaļas jāglabā uz ledus vai dzesēšanas blokā (72/96-well loading block).

Brīdinājumi

artus M. tuberculosis RG PCR Kit drošības informāciju, lūdzu, skatīt atbilstošajās drošības datu lapās. Drošības datu lapas ir pieejamas tiešsaistē, ērtā mazizmēra PDF formātā: www.qiagen.com/safety.

Reaģentu uzglabāšana un lietošana

artus M. tuberculosis RG PCR Kit komponenti ir jāuzglabā -15 līdz -30°C temperatūrā, un tie ir stabili līdz derīguma termiņa beigām, kas norādīts uz etiķetes. Jāizvairās no atkārtotas atkausēšanas un sasaldēšanas ($> 2x$), jo tas var mazināt jutību. Ja reaģenti tiks izmantoti neregulāri, tie jāiesaldē alikvotos. Uzglabāšanas ilgums $2 - 8^{\circ}\text{C}$ temperatūrā nedrīkst pārsniegt 5 stundas.

Procedūra

Svarīgas piezīmes pirms darba sākšanas

- RNS izolēšanas reaģenta izmantošana ir kritiski svarīga efektīvai ekstrakcijai un līdz ar to DNS/RNS iegūšanai. Izolēšanas reaģenta pievienošana (RNA Homopolymer Poly[rA], nav iekļauts QIAamp DNA Mini Kit komplektā) ir stingri ieteikta nukleīnskābju ekstrakcijai no ķermeņa šķīdumiem, kas nesatur šūnas, un materiāla ar zemu DNS/RNS saturu (piemēram, CSS).
- Atkārtoti suspendējiet liofilizēto RNS izolēšanas reaģentu (RNA Homopolymer Poly[rA], nav iekļauts QIAamp DNA Mini Kit komplektā), izmantojot eluēšanas buferi (neizmantojiet līzes buferi) no ekstrakcijas komplekta (Buffer AE no QIAamp DNA Mini Kit), un sagatavojiet atšķaidījumu ar koncentrāciju 1 µg/µl. Sadaliet RNS izolēšanas reaģenta šķīdumu alikvotos, kuru skaits atbilst Jūsu vajadzībām, un uzglabājiet tos –15°C līdz –30°C temperatūrā. Izvairieties no atkārtotas RNS izolēšanas reaģenta šķīduma alikvota atsaldēšanas (> 2x).
- Uz 100 µl līzes bufera pievienojiet 1 µg RNS izolēšanas reaģenta. Piemēram, ja ekstrakcijas protokols iesaka izmantot 200 µl līzes bufera, pievienojiet 2 µl RNS izolēšanas reaģenta (1 µg/µl) tieši līzes buferim (Buffer AL no QIAamp DNA Mini Kit). Pirms katras ekstrakcijas uzsākšanas jāpagatavo svaigs līzes bufera, RNS izolēšanas reaģenta un iekšējās kontroles maisījums (skatīt „Iekšējā kontrole”, 12. lpp.), ievērojot turpmāk norādīto shēmu:

Reaģents	Paraugu skaits	
	1	12
Buffer AL (līzes buferis)	Piemēram, 200 µl	Piemēram, 2400 µl
RNS izolēšanas reaģents (1 µg/µl)	2 µl	24 µl
Iekšējā kontrole	10 µl	120 µl
Kopējais tilpums	212 µl	2544 µl
Parauga tilpums	200 µl	katrs 200 µl

- Svaigi pagatavoto līzes bufera, iekšējās kontroles un RNS izolēšanas reaģenta šķīdumu **nekavējoties** izmantojiet ekstrakcijai. Maisījuma uzglabāšana **nav** iespējama.
- *artus M. tuberculosis RG PCR Kit* nevajadzētu izmantot ar fenola izolācijas metodēm.
- **Svarīgi:** *artus M. tuberculosis RG PCR Kit* komplekta iekšējā kontrole tiek lietota tieši izolācijas procedūrā (skatīt „Iekšējā kontrole”, 12. lpp.).

DNS izolēšana

Pirms DNS izolēšanas liela tilpuma paraugi vai stipri skābi paraugi vispirms jākoncentrē vai jāneitralizē. Krēpu izmeklēšanai iesakām NALC-NaOH attīrīšanu; kuņģa skalojums jāneitralizē ar fosfāta buferi. Pēc noslēdzošās centrifugēšanas baktēriju koncentrātu var izmantot DNS izolēšanai.

QIAamp DNA Mini Kit (kataloga numurs: 51304) ir validēts mikobaktēriju DNS attīrīšanai no cilvēka krēpām, BAL, bronhu sekrēta, CSŠ, kuņģa skalojuma vai peritoneālā punktāta izmantošanai *artus M. tuberculosis RG PCR Kit* komplektā.

Lai nodrošinātu efektīvu mikobaktēriju līzi bez piesārņojuma, veiciet DNS attīrīšanu, ievērojot turpmāk aprakstīto, kas atšķiras no protokoliem *QIAamp DNA Mini and Blood Mini rokasgrāmatā*.

Svarīgi: Produktu pārņemšana ar pipeti pirms inkubācijas 95°C temperatūrā ir jāveic II klases drošības skapī, jo paraugi ir potenciāli infekciozi.

1. Pārnēsiet 250 µl līdz 500 µl NALC-NaOH attīrīta parauga 1,5 ml stobriņā ar skrūvējamu vāciņu.
 - Stobriņa ar skrūvējamu vāciņu lietošana ir absolūti nepieciešama.
 - Stobriņi ar skrūvējamu vāciņu vienmēr ir cieši jānoslēdz.
2. Centrifugējiet 10 minūtes 17 000 x g (13 000 rpm) darbgalda centrifūgā.
3. Ar pipeti rūpīgi noņemiet un izmetiet centrifugātu.
 - Nepieskaraties stobriņa vāciņa iekšpusei. Ja pieskaraties, nekavējoties novelciet un nomainiet potenciāli piesārņoto cimdus.
4. Pievienojiet 180 µl lizocīma maisījuma (20 mg/ml *lysozyme*; 20 mM *Tris-HCl* (pH 8,0); 2 mM EDTA; 1,2% *Triton™*) un sajauciet maisījumu, iesūcot to ar pipeti un atkal izlaižot.
5. Vismaz 1 stundu 37°C temperatūrā inkubējiet sildīšanas blokā vai termomikserī.
 - Ūdens vannas lietošana nav ieteicama.
6. Īsu brīdi centrifugējiet, lai savāktu pilienus no vāciņa iekšpuses.
 - Pēc katra inkubācijas soļa izpildiet īslaicīgu centrifugēšanu, lai savāktu pilienus no vāciņa iekšpuses.
7. Pievienojiet 20 µl *Proteinase K* un 200 µl *AL buffer* ar RNS izolēšanas reaģentu un iekšējo kontroli (skatīt iepriekš un „Iekšējā kontrole”, 12 lpp.).
 - Nepieskaraties stobriņa vāciņa iekšpusei. Ja pieskaraties, nekavējoties novelciet un nomainiet potenciāli piesārņoto cimdus.

8. Rūpīgi sajauciet vorteksā.
9. 30 minūtes inkubējiet 56°C temperatūrā sildīšanas blokā vai termomikserī.
 - Ūdens vannas lietošana nav ieteicama.
10. Īsu brīdi centrifugējiet, lai savāktu pilienus no vāciņa iekšpusē.
 - Pēc katra inkubācijas soļa izpildiet īslaicīgu centrifugēšanu, lai savāktu pilienus no vāciņa iekšpusē.
11. 15 minūtes inkubējiet 95°C temperatūrā.

Svarīgi: Nepārsniedziet inkubācijas laiku, jo tas var izraisīt DNS degradāciju.
12. **Piezīme:** Paraugi vairs nav infekciozi tikai pēc inkubācijas pabeigšanas 95°C temperatūrā. Atdziestējiet paraugu istabas temperatūrā.
 - Nodrošiniet, lai pēc inkubācijas 95°C temperatūrā paraugs atdzistu istabas temperatūrā. Pretējā gadījumā pēc stobriņa atvēršanas ir ļoti augsts aerosola mediēts piesārņojuma risks.
13. Īsu brīdi centrifugējiet, lai savāktu pilienus no vāciņa iekšpusē.

Izpildiet „Protocol: DNA Purification from Tissues” *QIAamp DNA Mini and Blood Mini rokasgrāmatā* (trešais izdevums, 2012. gada jūnijs) aprakstīto, sākot no etanola pievienošanas 6. solī, un izpildiet pēdējo DNS eluēšanu ar 100 µl *Buffer AE*.

- Pārliecinieties, vai nenaslapināt QIAamp spin column balstgredzenu.
- Nepieskarities QIAamp spin column vāka iekšpusei. Ja pieskaraties, nekavējoties novelciet un nomainiet potenciāli piesārņoto cimdus.
- Neizmantojiet vienu pipeti dažādiem paraugiem, pat ne pievienojot washing buffers AW1 un AW2 vai elution buffer AE. Tas novērš krustenisko piesārņojumu starp paraugiem un bufera piesārņošanu.
- Katru 2 ml savākšanas stobriņu izmantojiet tikai vienu reizi. Ja jums beidzas savākšanas stobriņi, varat izmantot arī 2 ml mikrocentrifūgas stobriņus, kuriem pirms lietošanas jānoņem vāciņi.
- Stingri iesakām veikt protokolā ieteikto centrifugēšanu (10. solis), lai atdalītu atlikušo etanolu. Iesakām pagarināt centrifugēšanas laiku līdz 3 minūtēm.

Iekšējā kontrole

Ir iekļauta iekšējā kontrole (M. tuberculosis RG IC). Tas lietotājam ļauj kontrolēt gan DNS izolāciju, gan iespējamo PCR reakcijas inhibīciju. Lai to izdarītu, pievienojiet iekšējo kontroli šķīdumam, ievērojot attiecību 0,1 µl uz 1 µl eluāta tilpuma. Piemēram, izmantojot QIAamp DNA Mini Kit komplektu, DNS ir eluēts 100 µl Buffer AE. Tāpēc 10 µl iekšējās kontroles jāpievieno sākotnēji. Iekšējās kontroles tilpums ir atkarīgs no eluāta tilpuma. 10 µl ir **atbilstoši tikai** 100 µl eluāta (0,1 µl uz 1 µl eluāta tilpuma).

Piezīme: Iekšējā kontrole un RNS izolācijas reaģents (skatīt „DNS izolēšana,” 10. lpp.) jāpievieno tikai līzes bufera un parauga materiāla maisījumam vai tieši līzes buferim.

Iekšējo kontroli nedrīkst pievienot tieši parauga materiālam. Ja to pievieno līzes buferim, jāņem vērā, ka iekšējās kontroles un līzes bufera/RNS izolācijas reaģenta maisījumam ir jābūt svaigi pagatavotam un tas uzreiz jāizlieto. Maisījuma uzglabāšana istabas temperatūrā vai 4°C temperatūrā tikai dažas stundas var radīt iekšējās kontroles kļūdu un samazināt ekstrakcijas efektivitāti.

Piezīme: Nepievienojiet iekšējo kontroli un RNS izolācijas reaģentu tieši parauga materiālam.

Kvantitatīvā noteikšana

Lai Rotor-Gene Q instrumentos iegūtu standarta līkni, jāizmanto visi 4 kvantitatīvās noteikšanas standarti, kas jānosaka **Edit Samples** dialoga logā kā standarti noteiktām koncentrācijām (skatiet attiecīgā instrumenta lietošanas instrukciju).

Standarta līkni, kas iegūta, kā aprakstīts iepriekš, var izmantot arī secīgiem mērījumiem, ja aktuālajā mērījumā tiek izmantots vismaz **vienas** noteiktas koncentrācijas standarts. Šim nolūkam iepriekš iegūtā standarta līkne jāimportē (skatiet attiecīgā instrumenta lietošanas instrukciju). Tomēr šī kvantitatīvās noteikšanas metode var izraisīt rezultātu novirzes mainīguma dēļ starp dažādiem PĶR mērījumiem.

Lai nodrošinātu precīzu kvantitatīvo noteikšanu, ir stingri ieteikts pie *M. tuberculosis* RG Master un *M. tuberculosis* RG Mg-Sol pievienot kvantitatīvās noteikšanas standarta iekšējo kontroli. Lai to izdarītu, pievienojiet iekšējo kontroli tieši *M. tuberculosis* RG Master un *M. tuberculosis* RG Mg-Sol, kā aprakstīts protokola 2. solī (14. lpp.) un izmantojiet šo maisījumu katram kvantitatīvās noteikšanas standartam (*M. tuberculosis* RG/TM QS 1–4).

Kvantitatīvās noteikšanas standarts ir definēts kā kopijas/μl. Jāizmanto šāds vienādojums, lai ar standarta līkni iegūtās vērtības pārvērstu kopijās/ml parauga materiāla:

$$\text{Rezultāts (kopijas/ml)} = \frac{\text{Rezultāts (kopijas/}\mu\text{l)} \times \text{eluāta tilpums (}\mu\text{l)}}{\text{Parauga tilpums (ml)}}$$

Sākotnējā parauga tilpums jāieraksta iepriekš norādītajā vienādojumā. Ir jāņem vērā, ja parauga tilpums ir mainīts pirms nukleīnskābes ekstrakcijas (piemēram, samazināts centrifugējot vai palielināts, lai iegūtu izolācijai nepieciešamo tilpumu).

PĶR *Rotor-Gene* Q instrumentos

- Pirms protokola uzsākšanas iepazīstieties ar *Rotor-Gene* Q instrumentu. Skatiet instrumenta lietošanas instrukciju.
- Pārliecinieties, vai PĶR mērījumā ir iekļauts vismaz viens kvantitatīvās noteikšanas standarts un viena negatīvā kontrole (ūdens, PĶR klase). Lai iegūtu standarta līkni, katram PĶR mērījumam izmantojiet visus 4 nodrošinātos kvantitatīvas noteikšanas standartus (*M. tuberculosis* RG/TM QS 1–4).

- Pārliecinieties, vai dzesēšanas bloks (*Rotor-Gene Q* instrumenta piederums) ir atdzesēts līdz 2–8°C temperatūrai.
- Pirms katras lietošanas reizes reaģenti pilnībā jāatkausē, jā sajauc (atkārtoti iesūcot pipetē un izlaižot un ātri vorteksējot) un īsu brīdi jācentrifugē.

1. Ievietojiet dzesēšanas blokā nepieciešamo PQR stobriņu skaitu.
2. Sagatavojiet pamatmaisījumu, ņemot vērā tabulā aprakstīto:

	Paraugu skaits	
	1	12
M. tuberculosis RG Master	13 µl	156 µl
M. tuberculosis RG Mg-Sol	2 µl	24 µl
Kopējais tilpums	15 µl	180 µl

3. Ar pipeti katrā PQR stobriņā iepildiet 15 µl pamatmaisījuma. Tad pievienojiet 10 µl eluētā parauga DNS (skatīt tabulu turpmāk).

Attiecīgi 10 µl vismaz viena kvantitatīvās noteikšanas standarta (*M. tuberculosis* RG QS 1–4) jāizmanto kā pozitīvā kontrole un 10 µl ūdens (ūdens, PQR klase) kā negatīvā kontrole.

	Paraugu skaits	
	1	12
Master mix	15 µl	15 µl katrs
Paraugs	10 µl	10 µl katrs
Kopējais tilpums	25 µl	25 µl katrs

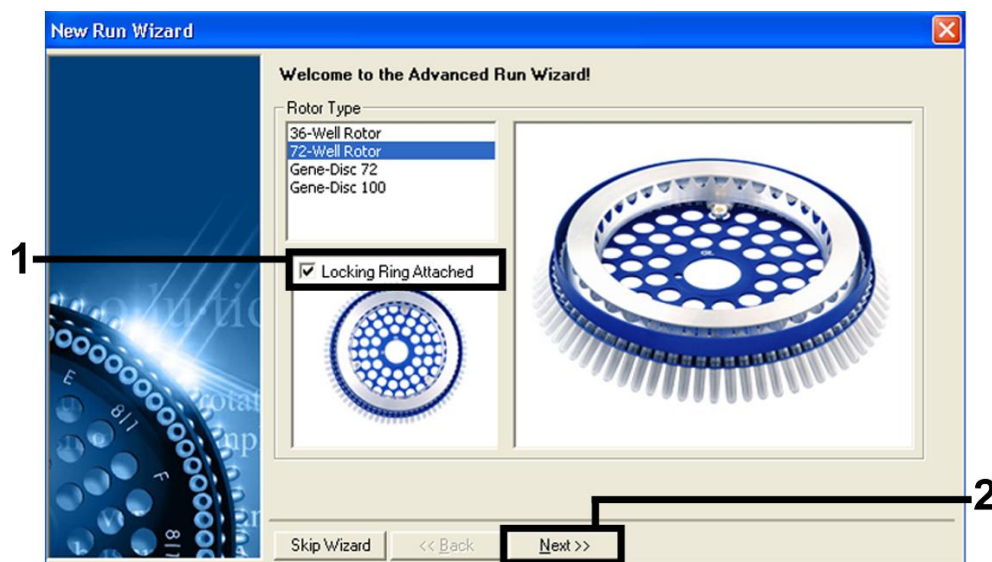
4. Aizveriet PQR stobriņus.
5. Pārliecinieties, vai bloķēšanas gredzens (*Rotor-Gene* instrument piederums) ir novietots uz rotora, lai mērījuma laikā novērstu nejaušu stobriņu atvēršanos.
6. Lai noteiktu visas *M. tuberculosis* kompleksa baktērijas, veidojiet temperatūras profilu, ievērojot turpmāk aprakstīto.

Vispārējās analīzes parametru iestatīšana	1., 2. un 3. attēls
<i>Hot Start</i> enzīma sākotnējā aktivācija	4. attēls
DNS amplifikācija	5. attēls
Fluorescences kanāla jutības noregulēšana	6. attēls
mērījuma uzsākšana	7. attēls

Visas specifikācijas attiecas uz Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q programmatūras versiju 1.7.94, Rotor Gene 6000 programmatūras versijām 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94 un Rotor-Gene 3000 programmatūras versiju 6.0.23. Vairāk informācijas par Rotor-Gene instrumentu programmēšanu skatiet attiecīgajā lietošanas instrukcijā.

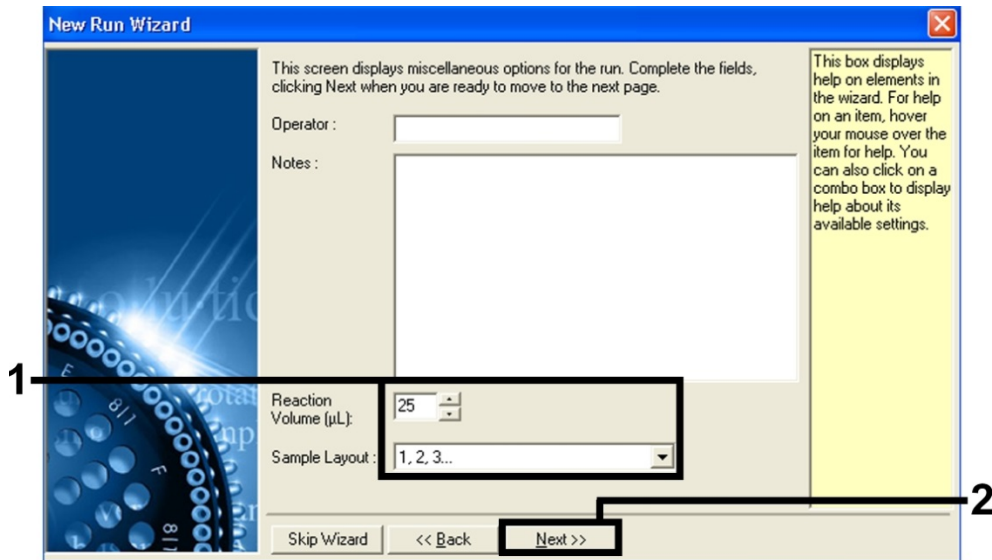
Attēlos šie iestatījumi ir izcelti ar melnu rāmi. Attēlos ir parādīti Rotor-Gene Q instruments. Ja Rotor-Gene 3000 ir jāizvēlas citas vērtības, šīs atšķirības ir minētas tekstā.

7. Vispirms atveriet **New Run Wizard** dialoga lodziņu (1. attēls). Atzīmējiet **Locking Ring Attached** un klikšķiniet uz **Next**.



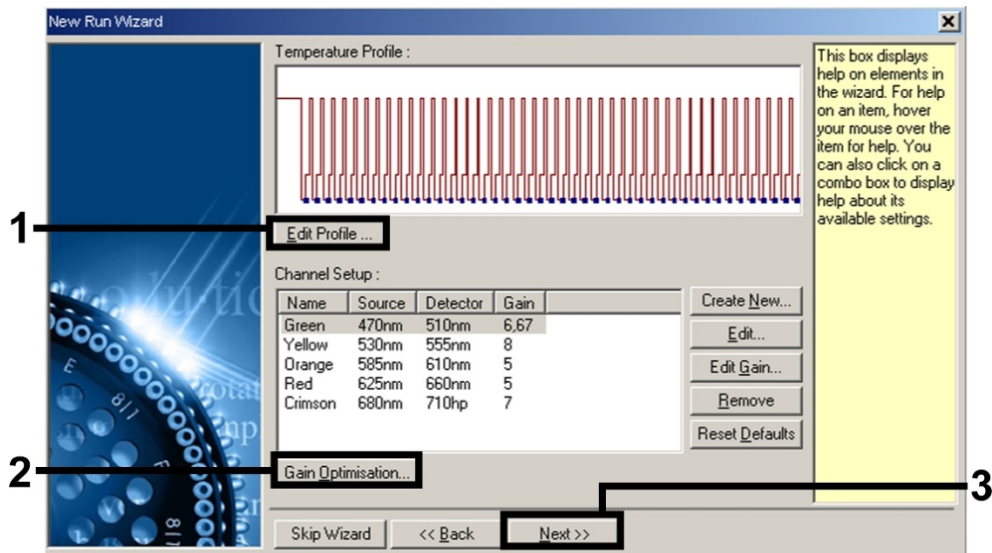
1. attēls. The New Run Wizard dialoga lodziņš.

8. PĶR reakcijas tilpumu iestatiet uz **25** un klikšķiniet uz **Next** (2. attēls).

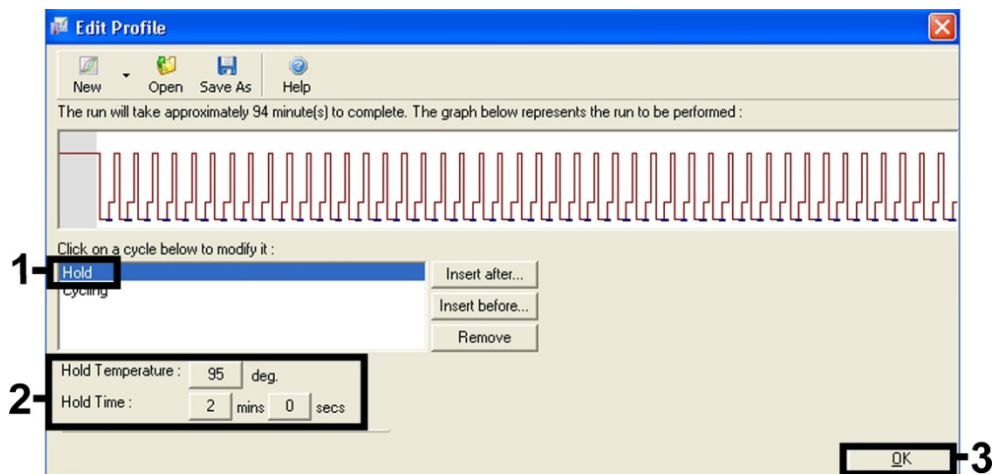


2. attēls. Vispārējās analīzes parametru iestatīšana.

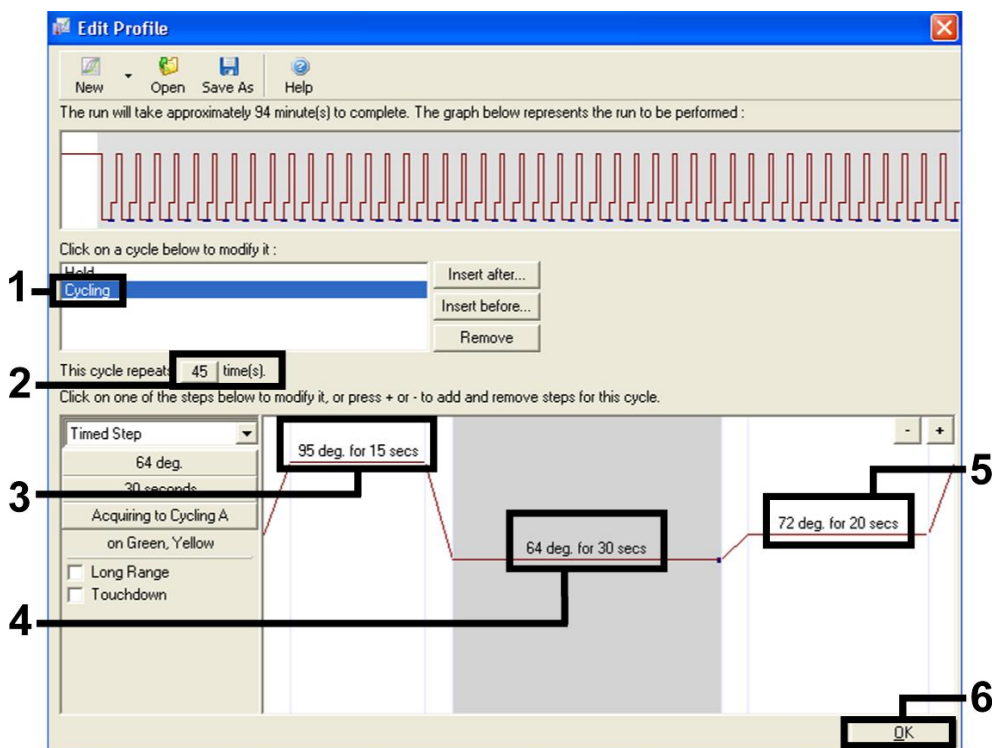
9. Nākamajā **New Run Wizard** dialoga logā klikšķiniet uz **Edit Profile** (3. attēls) un programmējiet temperatūras profilu, kā parādīts 4. un 5. attēlā.



3. attēls. *Editing the profile.*



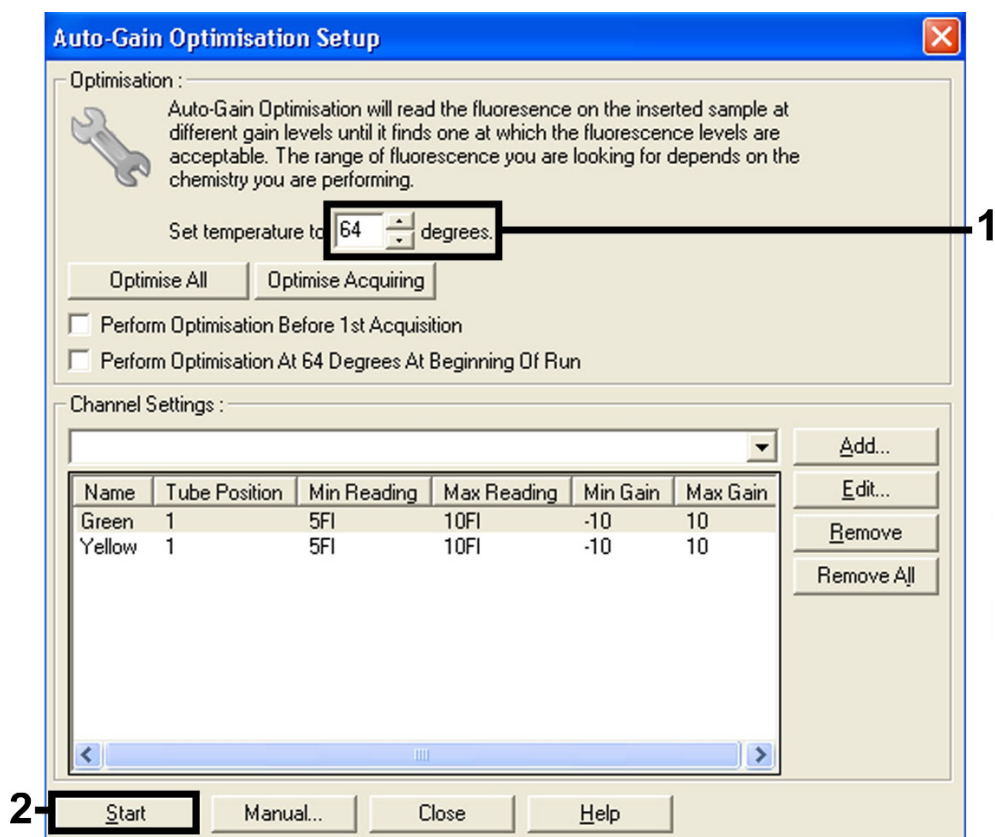
4. attēls. *Hot-start* enzīma sākotnējā aktivizēšana.



5. attēls. DNS amplifikācija.

Piezīme: Rotor-Gene 3000 programmatūra fluorescences krāsas definēs kā FAM/Sybr®, JOE.

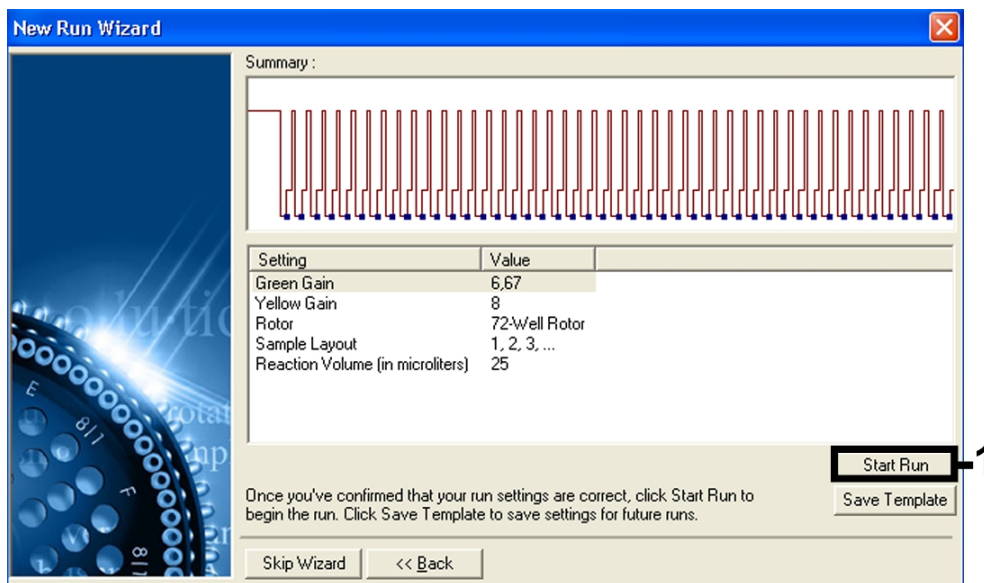
10. Fluorescences kanālu noteikšanas diapazons ir jāizvēlas saskaņā ar fluorescences intensitāti PQR stobriņos. **New Run Wizard** dialoga logā klikšķiniet uz **Gain Optimisation** (skatīt 3. attēlu), lai atvērtu **Auto-Gain Optimisation Setup** dialoga logu.
11. Iestatiet kalibrācijas temperatūru uz **64**, lai tā atbilstu atļaidināšanas temperatūrai amplifikācijas programmā (6. attēls).



6. attēls. Fluorescences kanāla jutības regulēšana.

Piezīme: *Rotor-Gene 3000* programmatūra fluorescences krāsas definēs kā **FAM/Sybr®** un **JOE**.

12. Kanālu kalibrācijas noteiktās vērtības tiek automātiski saglabātas un parādītas pēdējā programmēšanas izvēlnes logā (7. attēls). Klikšķiniet **Start Run**.



7. attēls. Mērījuma uzsākšana.

Piezīme: Rotor-Gene 3000 programmatūra fluorescences krāsas definēs kā **FAM/Sybr®** un **JOE**.

13. Kad mērījums ir pabeigts, novērtējiet rezultātus, kā aprakstīts nodajā „Rezultātu interpretācija”,20. lpp.

Rezultātu interpretācija

8. un 9. attēlā ir sniegti pozitīvas un negatīvas PCR reakcijas piemēri.

Ir iespējami šādi rezultāti:

- Signāls ir noteikts fluorescences kanālā **Cycling Green**.

Analīze ir pozitīva. Paraugs satur DNS no vienas vai vairākām *M. tuberculosis* kompleksa baktērijām.

Šādā gadījumā signāla noteikšana kanālā **Cycling Yellow** nav obligāta, jo sākotnējā augstā *M. tuberculosis* kompleksa DNS koncentrācija (pozitīvs signāls kanālā **Cycling Green**) var radīt samazinātu vai neesošu iekšējās kontroles fluorescenci **Cycling Yellow** kanālā (konkurence).

Piezīme: Rotor-Gene 3000 atbilstošie kanāli ir **Cycling A.FAM** pozitīvam signālam un **Cycling A.JOE** iekšējai kontrolei.

- Fluorescences kanālā **Cycling Green** signāls netiek noteikts. Vienlaicīgi **Cycling Yellow** kanālā parādās iekšējās kontroles signāls.

Paraugā nav nosakāms *M. tuberculosis* kompleksa baktēriju DNS. Testu var uzskatīt par negatīvu.

Negatīvas *M. tuberculosis* kompleksa PĶR reakcijas gadījumā noteiktais iekšējās kontroles signāls izslēdz PĶR inhibīciju.

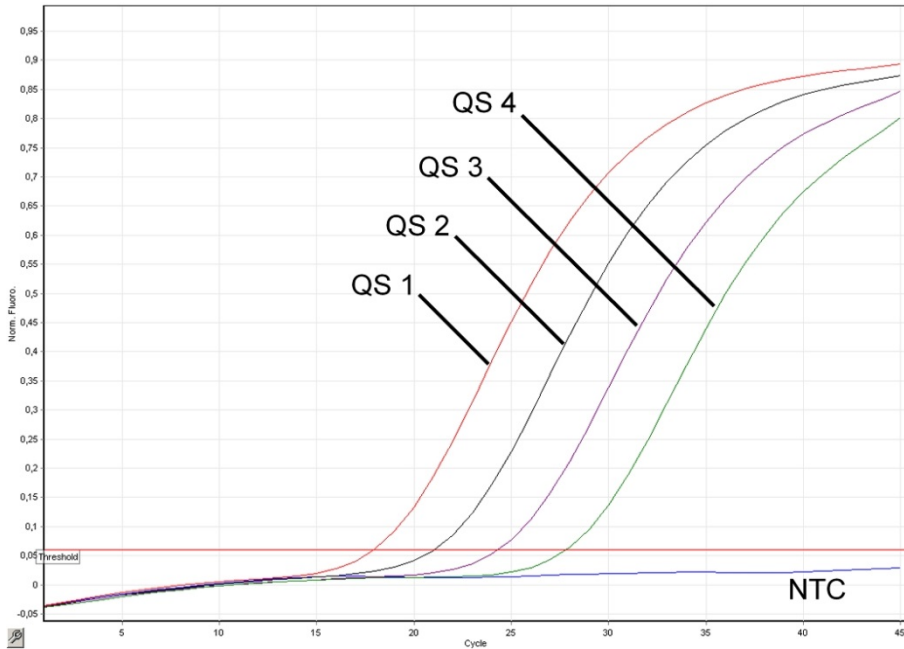
Piezīme: Rotor-Gene 3000 atbilstošie kanāli ir **Cycling A.JOE** iekšējai kontrolei un **Cycling A.FAM** kanālam bez signāla.

- Signāls netiek noteikts ne **Cycling Green**, ne **Cycling Yellow** kanālā.

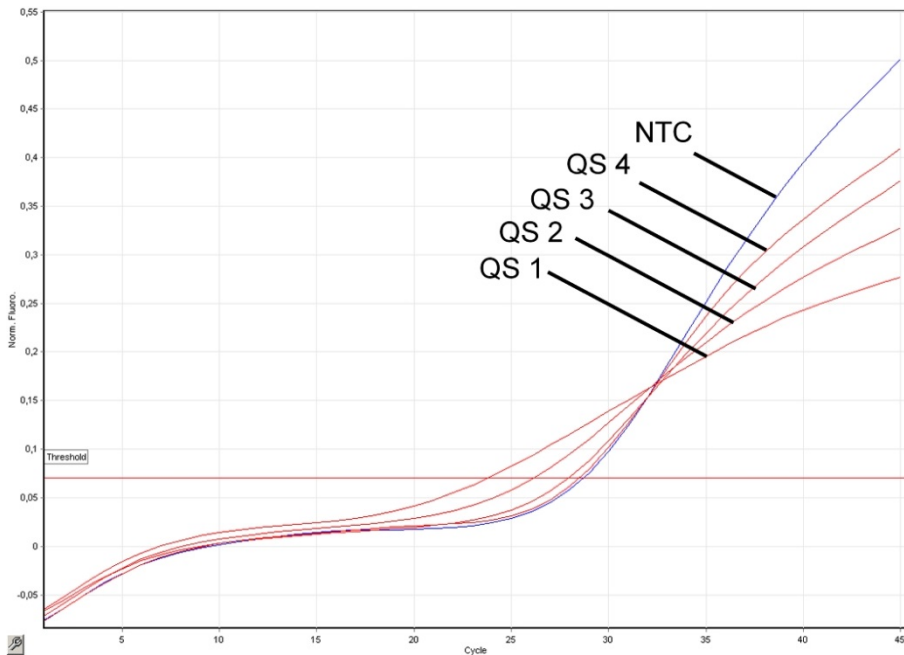
Testa rezultāts nav skaidrs.

Piezīme: Rotor-Gene 3000 atbilstošie kanāli ir **Cycling A.FAM** un **Cycling A.JOE**.

Informācija par kļūdām un to risinājumiem ir atrodama nodaļā „Darbības traucējumu novēršana”, 22. lpp.



8. attēls. Kvantitatīvās analīzes standartu noteikšana (M. tuberculosis RG/TM QS 1–4) fluorescences kanālā Cycling Green. NTC: kontrole bez šablona (negatīva kontrole).



9. attēls. Iekšējās kontroles noteikšana fluorescences kanālā Cycling Yellow ar vienlaicīgu kvantitatīvās analīzes standartu amplifikāciju (M. tuberculosis RG/TM QS 1–NTC: kontrole bez šablona (negatīva kontrole)).

Darbības traucējumu novēršana

Padomi darbības traucējumu novēršanai var būt noderīgi, risinot problēmas.

Komentāri un ieteikumi

Nav signāla no pozitīvas kontroles (M. tuberculosis RG/TM QS 1–4) fluorescences kanālā **Cycling Green** vai **Cycling A.FAM**.

- | | | |
|----|---|---|
| a) | PCR datu analīzei izvēlētais fluorescences kanāls nav saderīgs ar protokolu | Datu analīzei izvēlieties fluorescences kanālu Cycling Green vai Cycling A.FAM M. tuberculosis kompleksa PCR noteikšanai un fluorescences kanālu Cycling Yellow vai Cycling A.JOE iekšējās kontroles PCR. |
| b) | Nepareizi ieprogrammēts temperatūras profils Rotor-Gene instrumentam | Salīdziniet temperatūras profilu ar protokolu (skatīt „PQR Rotor-Gene Q”, 13. lpp.). |
| c) | Nepareiza PCR reakcijas konfigurācija | Pārbaudiet darba soļus pēc pilināšanas shēmas (skatīt „PQR Rotor-Gene Q”, 13. lpp.) un, ja nepieciešams, atkārtojiet PCR. |
| d) | Viena vai vairāku komplekta daļu uzglabāšana nav veikta saskaņā ar norādījumiem | Pārbaudiet reaģentu uzglabāšanas apstākļus (skatiet „Reaģentu uzglabāšana un lietošana”, 8. lpp.) un derīguma termiņu (skatīt komplekta marķējumu) un, ja nepieciešams, izmantojiet jaunu komplektu. |
| e) | artus M. tuberculosis RG PCR Kit komplektam ir beidzies derīguma termiņš | Pārbaudiet reaģentu uzglabāšanas apstākļus (skatiet „Reaģentu uzglabāšana un lietošana”, 8. lpp.) un derīguma termiņu (skatīt komplekta marķējumu) un, ja nepieciešams, izmantojiet jaunu komplektu. |

Kanālā Cycling Yellow vai Cycling A.JOE iekšējās kontroles signāls ir vājš vai neparādās un vienlaicīgi nav signāla *M. tuberculosis* kompleksa PCR kanālā Cycling Green vai Cycling A.FAM.

- a) PCR apstākļi neatbilst protokolam
- Pārbaudiet PCR apstākļus (skatiet „Nav signāla no pozitīvas kontroles (*M. tuberculosis* RG/TM QS 1–4) fluorescences kanālā Cycling Green vai Cycling A.FAM” augstāk) un, ja nepieciešams, atkārtojiet PCR ar labotiem iestatījumiem.
- b) PCR tika inhibēta
- Pārliecinieties, vai saskaņā ar ieteikto izmantojāt izolācijas metodi (skatiet „DNS izolācija”, 10. lpp.) un rūpīgi ievērojiet ražotāja norādījumus.
- Pārliecinieties, vai DNS izolācijas laikā pirms elūcijas tiek veikts papildu ieteiktais konfigurācijas solis, lai noņemtu atlikušo etanolu (skatiet „DNS izolācija”, 10. lpp.).
- c) DNS ir zaudēts ekstrakcijas laikā
- Ja ekstrakcijas materiālam ir pievienota iekšējā kontrole, iekšējās kontroles signāla trūkums var norādīt uz DNS zudumu ekstrakcijas laikā. Nodrošiniet, lai tiktu izmantota ieteiktā izolācijas metode (skatiet „DNS izolācija”, 10. lpp.) un rūpīgi ievērojiet ražotāja norādījumus.
- d) Vienas vai vairāku komplekta daļu uzglabāšana nav veikta saskaņā ar norādījumiem
- Pārbaudiet reaģentu uzglabāšanas apstākļus (skatiet „Reaģentu uzglabāšana un lietošana”, **Fehler! Textmarke nicht definiert.** lpp.) un derīguma termiņu (skatīt komplekta marķējumu) un, ja nepieciešams, izmantojiet jaunu komplektu.
- e) *artus M. tuberculosis RG PCR Kit* komplektam ir beidzies derīguma termiņš
- Pārbaudiet reaģentu uzglabāšanas apstākļus (skatiet „Reaģentu uzglabāšana un lietošana”, 8 lpp.) un derīguma termiņu (skatīt komplekta marķējumu) un, ja nepieciešams, izmantojiet jaunu komplektu.

Fluorescences kanālā *Cycling Green* vai *Cycling A.FAM* redzams signāls no analītiskās PCR negatīvās kontroles.

- a) PCR sagatavošanas laikā paraugs ir ticis piesārņots
- Atkārtojiet PĶR ar jauniem reaģentiem.
- Ja iespējams, aizveriet PCR stobriņus uzreiz pēc pārbaudāmā parauga pievienošanas.
- Pozitīvo kontroli pievienojiet pēdējo.
- Pārļiecinieties, vai darba vide un instrumenti tiek regulāri tīrīti.
- b) Ekstrakcijas laikā ir notikusi piesārņošana
- Atkārtojiet parauga ekstrakciju un PCR ar jauniem reaģentiem.
- Pārļiecinieties, vai darba vide un instrumenti tiek regulāri tīrīti.

Ja Jums rodas papildu jautājumi vai grūtības, sazinieties ar *QIAGEN* tehnisko dienestu.

Kvalitātes kontrole

Saskaņā ar *QIAGEN*'s ISO-sertificēto kvalitātes menedžmenta sistēmu katra *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit partija tiek pārbaudīta pēc iepriekš noteiktiem parametriem, lai nodrošinātu konsekventu produktu kvalitāti.

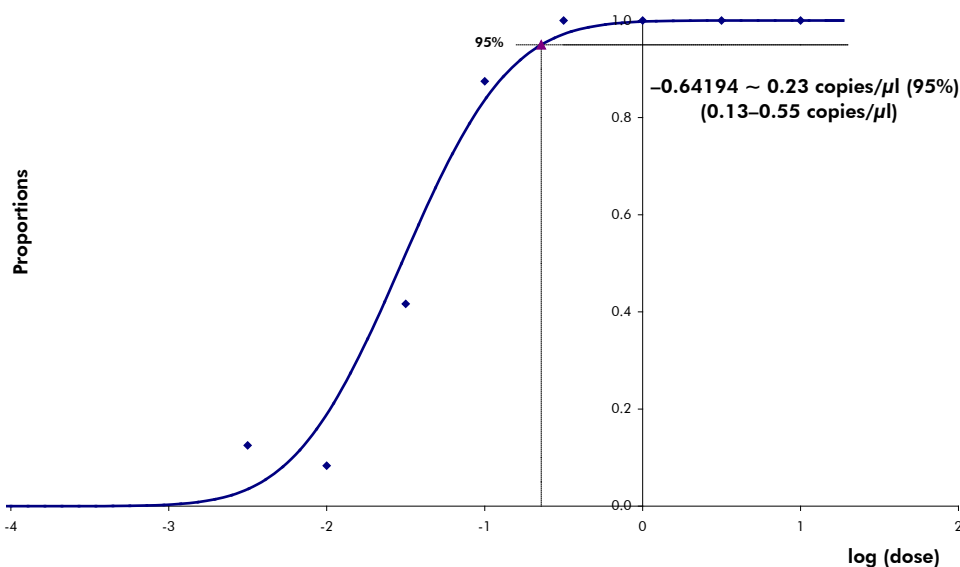
Ierobežojumi

- Reaģentus var izmantot tikai *in vitro* diagnostikai.
- Produktu drīkst lietot tikai *in vitro* diagnostikā īpaši apmācīts personāls.
- Optimāliem PCR rezultātiem nepieciešams stingri ievērot rokasgrāmatas norādījumus.
- Jāpievērš uzmanība derīguma termiņiem uz kastītes un visu sastāvdaļu etiķetēm. Nelietojiet komponentus, ja to derīguma termiņš ir beidzies.
- Kaut gan reti, tomēr bakteriālā genoma labi saglabāto reģionu mutācijas kompleksa praimeros un zondēs var samazināt kvantitatīvās noteikšanas apjomu vai nespēju noteikt baktērijas klātbūtni. Analīzes dizaina ticamība un veikspēja tiek regulāri pārbaudīta.

Veiktspējas raksturojums

Analītiskā jutība

Lai noteiktu *artus M. tuberculosis RG PCR Kit* analītisko jutību, tika izveidotas standarta atšķaidījumu sērijas no 10 līdz nominālajiem 0,003 un no 10 līdz nominālajiem 0,05 *M. tuberculosis* genoma ekvivalentiem/ μ l, kas attiecīgi tika analizēti *Rotor-Gene 6000* un *Rotor-Gene 3000*, izmantojot *artus M. tuberculosis RG PCR Kit* komplektu. Testēšanu veica trīs dažādās dienās 8 atkārtojumos. Rezultāti tika noteikti ar varbūtības analīzi. 10. attēlā ir parādīts *Rotor-Gene 6000* varbūtības analīzes grafisks attēlojums. *artus M. tuberculosis RG PCR Kit* analītiskais noteikšanas limits ar *Rotor-Gene Q MDx/Q/6000* un *Rotor-Gene 3000* ir 0,23 kopijas/ μ l ($p = 0,05$) un 0,9 kopijas/ μ l ($p = 0,05$). Tas nozīmē, ka ir 95% varbūtība, ka 0,23 kopijas/ μ l vai 0,9 kopijas/ μ l tiks noteiktas.



10. attēls. Varbūtības analīze: *M. tuberculosis* (Rotor-Gene 6000). *artus M. tuberculosis RG PCR Kit* komplekta analītiskā jutība Rotor-Gene 6000.

Specifiskums

artus M. tuberculosis RG PCR Kit specifiskums pirmkārt un galvenokārt tiek nodrošināts ar praimeru un zonžu izvēli, kā arī stingru reakcijas apstākļu noteikšanu. Praimeri un zondes tika pārbaudīti uz visām iespējamām homologijām visām sekvencēm, kas pieejamas gēnu bankās, izmantojot sekvenču salīdzinošo analīzi. Tādējādi ir nodrošināta visu *M. tuberculosis* kompleksa baktēriju noteikšana.

Turklāt specifiskums tika apstiprināts ar 90 dažādiem *M. tuberculosis* kompleksa negatīviem paraugiem (30 krēpu paraugi, 30 BAL un 30 bronhiālā sekrēta paraugi). Tie neizsauca signālus *M. tuberculosis* kompleksa specifiskajos praimeru un zondēs, kas ir iekļautas *M. tuberculosis RG Master*.

Lai noteiktu *artus M. tuberculosis RG PCR Kit* komplekta specifiskumu, 1. tabulā minētās kontroles grupas tika pārbaudītas uz krusteniskām reakcijām. Neviens no pārbaudītajiem patogēniem nebija reaktīvs.

1. tabula. Kompleksa specifiskuma pārbaude ar potenciāli krusteniski reaktīviem patogēniem

Kontroles grupa	<i>M. tuberculosis</i> (Cycling Green or Cycling A.FAM)	Iekšējā kontrole (Cycling Yellow or Cycling A.JOE)
<i>Actinomyces israelii</i>	–	+
<i>Aeromonas hydrophila</i>	–	+
<i>Bordetella pertussis</i>	–	+
<i>Candida albicans</i>	–	+
<i>Chlamydia trachomatis</i>	–	+
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	–	+
<i>Citrobacter freundii</i>	–	+
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	–	+
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	–	+
<i>Cryptococcus neoformans</i>	–	+
<i>Eikenella corrodens</i>	–	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	–	+

Kontroles grupa	<i>M. tuberculosis</i> (Cycling Green or Cycling A.FAM)	lekšējā kontrole (Cycling Yellow or Cycling A.JOE)
<i>Enterobacter cloacae</i>	–	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	–	+
<i>Enterococcus faecium</i>	–	+
<i>Escherichia coli</i>	–	+
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ssp. <i>polymorphum</i>	–	+
<i>Haemophilus influenzae</i>	–	+
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	–	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	–	+
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	–	+
<i>Mycobacterium avium</i> ssp. <i>avium</i>	–	+
<i>Mycobacterium celatum</i>	–	+
<i>Mycobacterium chelonae</i>	–	+
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	–	+
<i>Mycobacterium gordonae</i>	–	+
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	–	+
<i>Mycobacterium kansasii</i>	–	+
<i>Mycobacterium lentiflavum</i>	–	+
<i>Mycobacterium malmoeense</i>	–	+
<i>Mycobacterium marinum</i>	–	+
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	–	+
<i>Mycobacterium szulgai</i>	–	+
<i>Mycobacterium ulcerans</i>	–	+
<i>Mycobacterium xenopi</i>	–	+
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	–	+
<i>Neisseria meningitidis</i>	–	+
<i>Nocardia asteroides</i>	–	+

Kontroles grupa	<i>M. tuberculosis</i> (Cycling Green or Cycling A.FAM)	lekšējā kontrole (Cycling Yellow or Cycling A.JOE)
<i>Nocardia brasiliensis</i>	–	+
<i>Nocardia farcinia</i>	–	+
<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	–	+
<i>Peptostreptococcus productus</i>	–	+
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	–	+
<i>Prevotella denticola</i>	–	+
<i>Propionibacterium acnes</i>	–	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–	+
<i>Salmonella enteritidis</i>	–	+
<i>Salmonella typhi</i>	–	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	–	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	–	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	–	+
<i>Streptococcus mutans</i>	–	+
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	–	+
<i>Streptomyces venezuelae</i>	–	+
<i>Veillonella parvula</i>	–	+
<i>Xanthomonas maltophilia</i>	–	+

Precizitāte

artus M. tuberculosis RG PCR Kit komplekta precizitātes dati ir iegūti ar Rotor-Gene instrumentu palīdzību un ļauj noteikt kopējo analīzes novirzi. Kopējo novirzi veido analīzes iekšējā novirze (rezultātu mainīgums vienādas koncentrācijas paraugos viena eksperimenta ietvaros), analīžu savstarpējā novirze (analīzes rezultātu mainīgums dažādos viena veida instrumentos dažādu operatoru vadībā vienā laboratorijā) un partiju savstarpējā novirze (testa rezultātu mainīgums, izmantojot dažādas ražošanas partijas). Iegūtos datus izmantoja, lai noteiktu patogēnu specifiskās un iekšējās kontroles PQR standarta novirzi, novirzi un variāciju koeficientu.

artus M. tuberculosis RG PCR Kit komplekta precizitātes datus ieguva, izmantojot kvantitatīvā standarta zemāko koncentrāciju (QS 4; 30 kopijas/μl). Analīzi veica 8 atkārtojumos. Precizitātes datus aprēķināja pēc amplifikācijas līknes C_T vērtībām (C_T: sliekšņa cikls, skatīt 2. tabulu). Turklāt precizitātes datus kvantitatīvajiem rezultātiem kopijās/μl noteica, izmantojot atbilstošās C_T vērtības (skatīt 3. tabulu). Pamatojoties uz šiem rezultātiem, kopējā statistiskā izplatība jebkuram minētās koncentrācijas paraugam ir 1,26% (C_T) vai 14,64% (kopijas/μl) un iekšējai kontrolei 1,57% (C_T). Šīs vērtības ir balstītas uz visu atsevišķo vērtību kopumu noteiktajam mainīgumam.

2. tabula. Precizitāte pēc C_T vērtībām

	Standarta novirze	Novirze	Variāciju koeficients (%)
Analīzes iekšējā novirze: M. tuberculosis RG/TM QS 4	0,10	0,01	0,32
Analīžu savstarpējā novirze: Iekšējā kontrole	0,13	0,02	0,45
Analīžu savstarpējā novirze: M. tuberculosis RG/TM QS 4	0,24	0,06	0,78
Analīžu savstarpējā novirze: Iekšējā kontrole	0,29	0,08	0,95
Partiju savstarpējā novirze: M. tuberculosis RG/TM QS 4	0,39	0,15	1,28
Partiju savstarpējā novirze: Iekšējā kontrole	0,66	0,43	2,16
Kopējā novirze: M. tuberculosis RG/TM QS 4	0,38	0,15	1,26

	Standarta novirze	Novirze	Variāciju koeficients (%)
Kopējā novirze: iekšējā kontrole	0,48	0,23	1,57

3. tabula. Precizitāte pēc kvantitatīvajiem rezultātiem (kopijas/μl)

	Standarta novirze	Novirze	Variāciju koeficients (%)
Analīzes iekšējā novirze: M. tuberculosis RG/TM QS 4	1,97	3,90	6,56
Analīžu savstarpējā novirze: M. tuberculosis RG/TM QS 4	3,93	15,43	13,00
Partiju savstarpējā novirze: M. tuberculosis RG/TM QS 4	5,51	30,41	18,09
Kopējā novirze: M. tuberculosis RG/TM QS 4	4,44	19,69	14,64

Pastāvība

Pastāvības noteikšana ļauj noteikt kopējo *artus M. tuberculosis RG PCR Kit* komplekta kļūdu skaitu. 30 *M. tuberculosis* kompleksa negatīviem krēpu, BAL un bronhiālā sekrēta paraugiem tika pievienots 3 kopiju/μl eluēšanas tilpums ar *M. tuberculosis* kontroles DNS (aptuveni trīskārša analītiskās jutības robežas koncentrācija). Pēc ekstrakcijas ar *QIAamp DNA Mini Kit* (skatīt „DNS izolācija”, 10. lpp.) šos paraugus analizēja ar *artus M. tuberculosis RG PCR Kit*. Visiem *M. tuberculosis* paraugiem kļūdas biežums bija 0%. Tāpat tika noteikta iekšējās kontroles pastāvība, attīrot un izmeklējot *M. tuberculosis* kompleksa negatīvas krēpas, BAL un bronhu sekrēta paraugus (30 no katra). Kopējais kļūdas biežums bija 0%. Inhibīcija netika novērtēta. Tāpēc *artus M. tuberculosis RG PCR Kit* komplekta pastāvība ir $\geq 99\%$.










Reproducējamība


Reproducējamības dati ļauj veikt *artus M. tuberculosis RG PCR Kit* komplekta regulāru veikspējas novērtējumu, kā arī izvērtēt tā efektivitāti, salīdzinot ar citiem produktiem. Šie dati tiek iegūti, piedaloties noteiktās kvalifikācijas programmās.

Atsauces

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

Simboli

Simbols	Simbola definīcija
	Izlietot līdz
	Partijas numurs
	Ražotājs
	Kataloga numurs
	Materiāla numurs
	CE atzīme, kas norāda uz produkta atbilstību Eiropas Savienības noteikumiem
	Medicīnas ierīce <i>in vitro</i> diagnostikai
	Satur reaģentus, kas ir pietiekami <N> testiem
	Komponenti

Simbols	Simbola definīcija
CONT	Satur
NUM	Numurs
GTIN	Globālais tirdzniecības vienības numurs
	Temperatūras ierobežojums
QS	Kvantitatīvās noteikšanas standarts
IC	Iekšējā kontrole
Mg-Sol	Magnija šķīdums

Pasūtīšanas informācija

Produkts	Saturs	Cat. no.
artus M. tuberculosis RG PCR Kit (24)	For 24 reactions: Master, Mg Solution, 4 Quantitation Standards, Internal Control, Water (PCR grade)	4555263
artus M. tuberculosis RG PCR Kit (96)	For 96 reactions: Master, Mg Solution, 4 Quantitation Standards, Internal Control, Water (PCR grade)	4555265
QIAamp DNA Mini Kit — genoma, mitohondriālā, bakteriālā, parazītu vai vīrusu DNS izolācijai		
QIAamp DNA Mini Kit (50)	For 50 DNA preps: 50 QIAamp Mini Spin Columns, QIAGEN Proteinase K, Reagents, Buffers, Collection Tubes (2 ml)	51304
Rotor-Gene Q MDx un piederumi		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Reālā laika PCR amplifikators ar 5 kanāliem (zaļš, dzeltens, oranžs, sarkans, tumšsarkans), klēpjadators, programmatūra, piederumi: ietver 1 gada garantiju detaļām un darbam, uzstādīšana un apmācība nav iekļauta.	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Reālā laika PCR amplifikators ar 5 kanāliem (zaļš, dzeltens, oranžs, sarkans, tumšsarkans), klēpjadators, programmatūra, piederumi: ietver 1 gada garantiju detaļām un darbam, uzstādīšanai un apmācībai.	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Reālā laika PCR amplifikators un <i>High Resolution Melt</i> analizators ar 5 kanāliem (zaļš, dzeltens, oranžs, sarkans, tumšsarkans) un HRM kanālu, klēpjadators, programmatūra, piederumi: ietver 1 gada garantiju detaļām un darbam, uzstādīšana un apmācība nav iekļauta.	9002032
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Reālā laika PCR amplifikators un <i>High Resolution Melt (HRM)</i> analizators ar 5 kanāliem (zaļš, dzeltens, oranžs, sarkans, tumšsarkans) un HRM kanālu, klēpjadators, programmatūra, piederumi: ietver 1 gada garantiju detaļām un darbam, uzstādīšanai un apmācībai.	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Reālā laika PCR amplifikators ar 6 kanāliem (zils, zaļš, dzeltens, oranžs, sarkans, tumšsarkans), komplektā klēpjadators, programmatūra, piederumi: ietver 1 gada garantiju detaļām un darbam, uzstādīšana un apmācība nav iekļauta.	9002042

Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Reālā laika PCR amplifikators ar 6 kanāliem (zils, zaļš, dzeltens, oranžs, sarkans, tumšsarkans), komplektā klēpjdators, programmatūra, piederumi: ietver 1 gada garantiju detaļām un darbam, uzstādīšanai un apmācībai.	9002043
Rotor-Gene Q MDx 2plex Platform	Reālā laika PCR amplifikators ar 2 kanāliem (zaļš, dzeltens), klēpjdators, programmatūra, piederumi: ietver 1 gada garantiju detaļām un darbam, uzstādīšana un apmācība nav iekļauta.	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex System	Reālā laika PCR amplifikators ar 2 kanāliem (zaļš, dzeltens), klēpjdators, programmatūra, piederumi: ietver 1 gada garantiju detaļām un darbam, uzstādīšanai un apmācībai.	9002003
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM Platform	Reālā laika PCR amplifikators un <i>High Resolution Melt (HRM)</i> analizators ar 2 kanāliem (zaļš, dzeltens) un HRM kanālu, klēpjdators, programmatūra, piederumi: ietver 1 gada garantiju detaļām un darbam, uzstādīšana un apmācība nav iekļauta.	9002012
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM System	Reālā laika PCR amplifikators un <i>High Resolution Melt (HRM)</i> analizators ar 2 kanāliem (zaļš, dzeltens) un HRM kanālu, klēpjdators, programmatūra, piederumi: ietver 1 gada garantiju detaļām un darbam, uzstādīšanai un apmācībai.	9002013
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Alumīnija bloks manuālai reakcijas iestatīšanai ar viena kanāla pipeti 72 x 0,1 ml stobriņos.	9018901
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Alumīnija bloks manuālai reakcijas iestatīšanai standarta 8 x 12 kārtībā 96 x 0,2 ml stobriņos.	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 sloksnes pa 4 stobriņiem ar vāciņu 1000 reakcijām.	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 sloksnes pa 4 stobriņiem ar vāciņu 10 000 reakciju.	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 stobriņi ar plānu sieniņu 1000 reakcijām.	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 stobriņi ar plānu sieniņu 1000 reakcijām.	981008

Jaunāko licencēšanas informāciju un produktu specifiskas atrunas skatiet attiecīgo QIAGEN komplektu rokasgrāmatās vai lietošanas instrukcijās. QIAGEN komplektu rokasgrāmatas un lietošanas instrukcijas ir pieejamas tiešsaistē: www.qiagen.com, vai pēc pieprasījuma no QIAGEN tehniskā dienesta vai pie vietējā izplatītāja.

Preču zīmes: QIAGEN®, QIAamp®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); FAM™, JOE™, SYBR® (Life Technologies); Triton™ (The Dow Chemical Company).

Reģistrētie nosaukumi, preču zīmes u. c. šajā dokumentā lietotie termini, pat ja tie nav īpaši marķēti, nav uzskatāmi par neaizsargātiem ar likumu.

artus M. tuberculosis RG PCR Kit ir CE marķēts diagnostikas komplekts, kas atbilst Eiropas in vitro diagnostikas direktīvai 98/79/EK. Nav pieejams visās valstīs.

Jaunāko licencēšanas informāciju un produktu specifiskas atrunas skatiet attiecīgo QIAGEN komplektu rokasgrāmatās vai lietošanas instrukcijās. QIAGEN komplektu rokasgrāmatas un lietošanas instrukcijas ir pieejamas tiešsaistē www.qiagen.com vai pēc pieprasījuma no QIAGEN tehniskā dienesta, vai pie vietējā izplatītāja.

Šā produkta iegāde ļauj pircejam to izmantot, lai veiktu no cilvēka iegūta materiāla in vitro diagnostiku. Ar šo netiek piešķirts cits galvenais patents vai cita licence, izņemot šo ražotāja atļauju produkta lietošanai.

artus M. tuberculosis RG PCR Kit limitētas licences līgums

Šā produkta izmantošana nozīmē jebkura pirceja vai produkta lietotāja piekrišanu šādiem nosacījumiem:

1. Produktu drīkst lietot tikai saskaņā ar protokoliem, kas piegādāti kopā ar produktu un sniegti šajā rokasgrāmatā, un 36ītas ir paredzēts lietošanai tikai kopā ar tām sastāvdaļām, kas ir iekļautas komplektā. QIAGEN nepiešķir licences, kas ļautu izmantot vai iekļaut šā komplekta daļas kopā ar jebkādām daļām, kas nav iekļautas šajā komplektā, izņemot ražotāja nodrošinātajos protokolos, šajā rokasgrāmatā un papildu protokolos, kas pieejami tiešsaistē www.qiagen.com, aprakstītajā kārtībā. Dažus no šiem papildu protokoliem QIAGEN lietotāji piedāvā citiem QIAGEN lietotājiem. Šie protokoli nav rūpīgi pārbaudīti un optimizēti pēc QIAGEN ieteikumiem. QIAGEN negalvo un neizsniedz garantijas, ka tie nepārkāpj trešo pušu tiesības.
2. Izņemot skaidri noteiktas licences, QIAGEN neizsniedz garantijas, ka šis komplekts un/vai tā izmantošana nepārkāpj trešo pušu tiesības.
3. Šis komplekts un tā daļas ir licencētas vienreizējai lietošanai, un tās nedrīkst izmantot atkārtoti, atjaunot vai pārdot tālāk.
4. QIAGEN atsakās no jebkurām citām licencēs, tiesām vai netiesām, izņemot skaidri norādītās.
5. Pircējs un komplekta lietotājs vienojas neveikt vai neļaut kādam citam veikt jebkādas pasākumus, kas varētu izraisīt vai veicināt jebkādas iepriekš aizliegtas darbības. QIAGEN var piemērot šā ierobežotās Licences Līguma aizliegumus jebkurā tiesā un atgūst visus savas izmeklēšanas un tiesas izdevumus, tostarp advokāta maksu, par jebkuru darbību, kas pārkāpj šā ierobežotās Licences līguma nosacījumus vai jebkuru no tā intelektuālā īpašuma tiesībām, kas saistītas ar komplektu un vai tā daļām.

Atjaunotus licences noteikumus skatiet www.qiagen.com.

HB-0058-007 151031225 10/2015 © 2007–2015 QIAGEN, visas tiesības aizsargātas.

