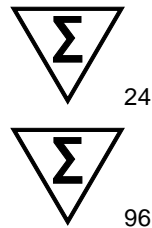


2015. október

artus[®] M. tuberculosis RG PCR Kit Kézikönyv



1. verzió

Kvantitatív in vitro diagnosztikai használatra

Rotor-Gene[®] Q készülékkel

IVD

CE

REF



R5 MAT

4555263 (24 reakció)
4555265 (96 reakció)

QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden
GERMANY

1046960EN

Tartalomjegyzék

Rendeltetésszerű használat	4
Összefoglalás és magyarázat	4
Az eljárás elve.....	4
Mellékelt anyagok	6
A kit tartalma	6
A felhasználó által biztosítandó anyagok	7
Figyelmeztetések és óvintézkedések	8
Figyelmeztetések	8
Reagensek tárolása és kezelése	8
Eljárás	9
Fontos teendők a kezdés előtt	9
DNS izolálás	10
Belső kontroll	11
Kvantifikálás.....	12
PCR a Rotor-Gene Q készülékeken	13
Eredmények értékelése.....	20
Hibaelhárítás.....	22
Minőség-ellenőrzés	24
Korlátozások	24
Teljesítmény jellemzők.....	25
Analitikai érzékenység	25
Specifitás.....	26
Pontosság.....	28
Robosztusság	30
Reprodukálhatóság.....	30
Referenciák	31
Jelmagyarázat.....	31
Rendelési információ.....	33

Rendeltetésszerű használat

Az *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit egy in vitro nukleinsav amplifikációra alkalmas teszt, mely a humán köpetből, BAL-ból, bronchiális szekrécióból, CSF-ből, gyomor folyadékból vagy peritoneális punkciós mintából a *M. tuberculosis* komplex összes tagjának detektálására szolgál (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. microti*, *M. pinnipedii*). Ez a diagnosztikai teszt polimeráz láncreakción (PCR) alapul és a Rotor-Gene Q készülékre lett kialakítva.

Összefoglalás és magyarázat

A tuberkulózis (TBC) még mindig a legfontosabb fertőző betegség világszerte. Mintegy két millárd ember, a föld lakosságának egyharmada fertőzött *Mycobacterium tuberculosis*-al, a tuberkulózis kórokozójával. A TBC incidenciája világszerte körülbelül 8 millió és évente közel 3 millió ember halálát okozza. A TBC az iparosodott országokban egy újból felszínre kerülő betegség, elsősorban a fertőzött emberek bevándorlása és a gyógyszerrezisztens tuberkulózis kialakulása miatt. A hajléktalan emberek, a kábítószer használók és az immunhiányos emberek egyenlőtlenül érintettek a betegségben.

A TBC egy krónikus, ciklikus betegség, mely főként a tüdőt érinti és az asszociált nyirokcsomókat. Azonban a páciens immunállapotától függően a *M. tuberculosis* más szerveket is megtámadhat. A TBC elsősorban emberről emberre terjed aeroszolozon keresztül. Kizárólag az aktív betegségben szenvedő emberek a fertőzőek. Különösen az immunszuppresszált emberekben a *M. tuberculosis* évekkal később reaktiválódhat (kiújulhat) az elsődleges fertőzést követően.

Az eljárás elve

A patogén diagnózisa a patogén genom specifikus régióinak amplifikálásán alapul polimerázt láncreakció (PCR) segítségével. A real-time PCR során az amplifikált termékeket fluoreszcens festékek segítségével detektálják. Ezek általában oligonukleotid próbákhoz kötöttek, melyek specifikusan kötődnek az amplifikált termékhez. A fluoreszcens intenzitás követése a PCR futás alatt (pl.: valós időben) a felhalmozódott termékek detektálását és kvantitálását teszi lehetővé anélkül, hogy a újra kinyitnák a reakciócsöveket a PCR futás után (1).

Az *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit egy azonnal használható rendszer a *M. tuberculosis* komplex összes tagjának detektálására (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. microti*, *M. pinnipedii*) polimerázt láncreakció alkalmazásával (PCR) Rotor Gene Q

készüléken. A *M. tuberculosis* RG Master tartalmaz minden reagenst és enzimet a mikobakteriális genom 159 bp-nyi régiójának specifikus amplifikálására és a specifikus amplikon direct detektálására a Rotor-Gene Q MDx, a Rotor-Gene Q vagy a Rotor-Gene 6000 készülék **Cycling Green/Zöld** fluoreszcens csatornájában vagy a Rotor-Gene 3000 készülék **Cycling A.FAM** csatornájában.

Emellett az *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit tartalmaz egy másodlagos, heterológ amplifikációs rendszert, amellyel felismerhetők a lehetséges PCR gátlások. Ezt belső kontrollként (IC) a Rotor Gene Q MDx, a Rotor-Gene Q vagy a Rotor-Gene 6000 **Cycling Yellow/Sárga**, vagy a Rotor-Gene 3000 készülék **Cycling A.JOE** fluoreszcens csatornája detektálja. Ennek a belső kontrollnak az amplifikálása és detektálása nem csökkenti a *M. tuberculosis* komplex PCR analitikai detektálása határát (lásd "Analitikai érzékenység," 25. oldal). Külső pozitív kontrollokat (*M. tuberculosis* RG/TM QS 1–4) is tartalmaz a kit, melyek lehetővé teszik a patogén telítettség meghatározását. További információ érdekében tájékozódjon a "Kvantifikálás," 12. oldal

Mellékelt anyagok

A kit tartalma

artus M. tuberculosis RG PCR Kit				
Katalógusszám		4555263		4555265
Reakciók száma		24		96
Kupak szín	Reagens neve	Jelölés	Mennyiség	Mennyiség
Kék	M. tuberculosis RG Master		2 x 12 reactions	8 x 12 reactions
Sárga	M. tuberculosis RG Mg-Sol*	Mg-Sol	1 x 400 µl	1 x 400 µl
Piros	M. tuberculosis RG/TM QS [†] 1 (3 x 10 ⁴ kópia/µl)	QS	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Piros	M. tuberculosis RG/TM QS 2 (3 x 10 ³ kópia/µl)	QS	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Piros	M. tuberculosis RG/TM QS 3 (3 x 10 ² kópia/µl)	QS	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Piros	M. tuberculosis RG/TM QS 4 (3 x 10 ¹ kópia/µl)	QS	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Zöld	M. tuberculosis RG IC [‡]	IC	1 x 1000 µl	2 x 1000 µl
Fehér	Víz (PCR minőségű)		1 x 1000 µl	1 x 1000 µl

* Mg-Sol: Magnézium oldat.

† QS: Kvantifikációs standard

‡ IC: Belső kontroll

A felhasználó által biztosítandó anyagok

Fontos: Használat előtt ellenőrizze, hogy a műszerek a gyártó ajánlásai szerint rendszeresen lettek-e ellenőrizve és kalibrálva.

- Eldobható púder-mentes kesztyű
- QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN, kat.szám 51304)
- Lizozim mix (lásd **Fehler! Textmarke nicht definiert.**oldal)
- Pipetták (állítható)
- Steril pipettahegyek szűrővel
- Vortex mixer
- Fűtőblokk vagy thermomixer, legyen képes 37°C-tól 95°C-ig való fűtésre
- Asztali centrifuga 2 ml reakció csövek befogadására való rotorral
- Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q vagy Rotor-Gene készülék **Cycling Green/Zöld** és **Cycling Yellow/Sárga** vagy or **Cycling A.FAM** és **Cycling A.JOE** fluoreszcens csatornával
- Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q 1.7.94 szoftver verzió vagy újabb verzió (Rotor-Gene 6000 1.7.65 szoftver verzió, 1.7.87, 1.7.94; Rotor-Gene 3000 6.0.23 szoftver verzió)
- Sztrip csövek és kupakok, 0.1 ml, 72-well rotorhoz való használatra (kat.szám 981103 vagy 981106)
- Alternatíva: PCR csövek, 0.2 ml, 36-well rotorhoz való használatra (kat.szám 981005 vagy 981008)
- Hűtőblokk (Betöltő blokk 72 x 0.1 ml csövek, kat.szám 9018901, vagy 96 x 0.2 ml csöves betöltő blokk, kat.szám 9018905)

Figyelmeztetések és óvintézkedések

A felhasználónak mindig figyelnie kell a következőkre:

- Használjon steril pipettahegyet szűrővel.
- A pozitív anyagokat (mintákat, kontrollokat, amplikonokat) teljesen külön tárolja és kezelje az összes többi reagenstől és a reakció mixhez történő hozzáadása egy térben elkülönített egységben történjen.
- Az összes komponenst szobahőmérsékleten olvassza fel a vizsgálat elkezdése előtt.
- Mikor felolvadt keverje össze a komponenseket és óvatosan centrifugálja.
- Dolgozzon gyorsan és a komponenseket tartsa jégen vagy a hűtőblokkban (72/96-well betöltő blokk).

Figyelmeztetések

Az *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit biztonsági információjért kérjük tájékozódjon a megfelelő biztonsági adatlapokból (SDSs). Az SDS-ek könnyen elérhetőek online egy összesített PDF formátumban www.qiagen.com/safety.

Reagensek tárolása és kezelése

Az *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit komponenseit -15°C -tól -30°C -ig kell tárolni és a jelzésen feltüntetett lejárati ideig stabilak maradnak. Az ismételt olvasztás és fagyasztás ($> 2\times$) elkerülendő, hiszen így csökkenhet az érzékenység. Ha a reagenseket csak szakaszosan használják, azokat alikvótokban kell fagyasztani. A tárolás $2-8^{\circ}\text{C}$ ne haladja meg az 5 órás időtartamot.

Eljárás

Fontos teendők a kezdés előtt

- A hordozó RNS használata kritikus az extrakciós hatékonyságnál, következésképpen a DNS/RNS hozamnál. A hordozó hozzáadása (RNS Homopolymer Poly[rA]; nem tartalmazza a QIAamp DNA Mini Kit) erősen ajánlott a sejtmentes testfolyadékokból és alacsony DNS/RNS tartalmú anyagokból történő nukleinsav kivonásához (pl., CSF-liquor).
- Reszuszpendálja a liofilizált hordozó RNS-t (RNS Homopolymer Poly[rA], nem tartalmazza a QIAamp DNA Mini Kit) az extrakciós kit elúciós pufferének használatával (ne használja a lízis puffert) (a QIAamp DNA Mini Kit Buffer AE) és készítsen egy 1 µg/µl koncentrációjú hígítást. Ossa szét ezt a hordozó RNS oldatot az Ön igényeinek megfelelő számú alikvótokra és tárolja őket –15°C és –30°C között. Kerülje a hordozó RNS alikvótok ismételt felolvasztását (> 2x).
- Használjon 1 µg hordozó RNS-t 100 µl lízis pufferhez. Például, ha az extrakciós protokoll 200 µl lízis puffert javasol, adjon 2 µl hordozó RNS-t (1 µg/µl) közvetlenül a lízis pufferbe (QIAamp DNA Mini Kit Buffer AL). Minden egyes extrakció megkezdése előtt, a lízis puffer, hordozó RNS és belső kontroll keverékét frissen kell elkészíteni a következő pipettázási vázlat alapján (lásd "Belső kontroll", 11. oldal). :

Reagens	Minták száma	
	1	12
Buffer AL (lízis puffer)	pl., 200 µl	pl., 2400 µl
Hordozó RNS (1 µg/µl)	2 µl	24 µl
Belső kontroll	10 µl	120 µl
Teljes térfogat	212 µl	2544 µl
Reakciónkénti térfogat	200 µl	egyenként 200 µl

- **Azonnal** a frissen elkészített lízis puffer, belső kontroll, hordozó RNS keverékét használja az extrakcióhoz. A keverék tárolása **nem** lehetséges.
- Az *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit-et ne használja fenol-alapú extrakciós módszerekhez.
- **Fontos:** Az *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit belső kontrollját közvetlenül lehet használni az izolálási eljárásban (lásd "Belső kontroll", 11. oldal).

DNS izolálás

A DNS izolálás előtt, nagy mintatérfogat vagy erősen savas minták esetén először koncentrálni vagy neutralizálni kell a mintát. A köpet vizsgálata esetén a NALC-NaOH dekontaminálást javasoljuk; gyomorfoliadékot neutralizálni kell foszfát-puffer alkalmazásával. Egy végső centrifugálás során a baktérium pellet használható a további DNS izoláláshoz.

A QIAamp DNA Mini Kit (kat.szám 51304) a humán eredetű köpetből, BAL-ból, bronchiális szekrécióból, CSF-ből, gyomorfoliadékból vagy peritoneális punktatumból történő mikobakteriális DNS tisztítására validálták az *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit használatával együtt.

A mycobacteriumok hatékony és szennyeződésmentes lízisének biztosítása érdekében a DNS-tisztítást a következő lépések szerint végezzük el, amelyek eltérnek a *QIAamp DNA Mini and Blood Mini Kézikönyv* protokolljaitól.

Fontos: A 95°C-on történő inkubálás előtt minden pipettázási lépést egy II-es biztonsági osztályú fülkében kell elvégezni, mivel a minták potenciálisan fertőzöttnek tekinthetők.

1. Tegyen 250 µl és 500 µl NALC-NaOH-szennyezett mintát egy 1.5 ml cavaros tetejű csőbe.
 - A csavaros tetejű csövek használata elengedhetetlen.
 - A csavaros tetejű csövek kupakját mindig szorosan zárják le.
2. Centrifugálja 10 percig 17,000 x g (13,000 rpm)-n egy asztali centrifugában.
3. Óvatosan távolítsa el a felülúszót pipettázással.
 - Ne érjen hozzá a cső kupakjának belső fedeléhez. Amennyiben ez megtörtént azonnal cserélje le a potenciálisan befertőződött kesztyűt.
 - Adjon hozzá 180 µl lizozim keveréket (20 mg/ml lizozim; 20 mM Tris-HCl (pH 8.0); 2 mM EDTA; 1.2% Triton™) és szuszpendálja újra a pelletet le-fel történő pipettázással.
 - Inkubálja legalább 1 óráig, 37°C-on egy fűtőblokkban vagy thermomixerben.
 - Vízfürdő használata nem javasolt.
4. Óvatosan centrifugálja, hogy a cseppeket eltávolítsa a belső fedélről.
 - Minden egyes inkubációs lépés után óvatosan centrifugálja a csöveket, hogy a cső belső fedeléről eltávolítsa a cseppeket.
5. Adjon 20 µl Proteináz K-t és 200 µl AL puffer-t a hordozó RNS-hez és a belső kontrollhoz (IC) (lásd fentebb és "Belső kontroll", 11. oldal) .
 - Ne érjen hozzá a cső kupakjának belső fedeléhez. Amennyiben ez megtörtént azonnal cserélje le a potenciálisan befertőződött kesztyűt.

6. Jól keverje meg vortex segítségével.
 - Inkubálja 30 percig 56°C-on egy hűtőblokkban vagy thermomixerben.
 - Vízfürdő használata nem ajánlott.
7. Óvatosan centrifugálja, hogy a cseppeket eltávolítsa a belső fedélről.
 - Minden egyes inkubációs lépés után óvatosan centrifugálja a csöveket, hogy a cső belső fedeléről eltávolítsa a cseppeket.
8. Inkubálja 15 percig 95°C-on.
Fontos: Az inkubációs időt ne lépje túl, mivel a DNS lebomlását okozhatja.
9. **Megjegyzés:** A 95°C-os inkubálás befejezése után a minták már nem fertőzőek. Hűtse le a mintákat szobahőmérsékleten.
 - Bizonyosodjon meg róla, hogy a minták lehűltek szobahőmérsékleten a 95°C-os fűtési lépés után, mivel az aeroszol-mediált beszennyeződés kockázata a cső kinyitása után kiemelkedően magas.
10. Óvatosan centrifugálja, hogy a cseppeket eltávolítsa a belső fedélről.

Kövesse a "Protokoll: DNS tisztítása szövetből" a *QIAamp DNA Mini and Blood Mini Kézikönyv* alapján (Harmadik kiadás, 2012. június) kezdve az etanol hozzáadásával a 6. lépéstől és a végső DNS elúciót 100 µl Buffer AE-el végezze.

- Bizonyosodjon meg róla, hogy nem nedvesítette be a QIAamp spin oszlop peremét.
- Ne érjen hozzá a QIAamp spin oszlop fedeléhez belülről. Amennyiben ez megtörtént azonnal cserélje le a potenciálisan befertőződött kesztyűt.
- Ne használja ugyanazt a pipettahegyet különböző mintákhoz, még az AW1 és AW2 pufferekkel történő mosáskor vagy az AE elúciós puffer használatakor sem. Ezzel elkerüli a minták keresztszennyeződését és a pufferek kontaminációját. Minden egyes 2 ml-es gyűjtő csövet csak egyszer használjon. Amennyiben kifogyott a gyűjtőcsövekből használhat 2 ml-es mikrocentrifuga csöveket, amelyek fedelét használat előtt el kell távolítani.
- Erősen ajánljuk a protokoll 10. centrifugálási lépésének elvégzését, hogy minden maradék etanolt eltávolítson. Javasoljuk ennek a centrifugálási lépés idejének növelését 3 percre.

Belső kontroll

A belső kontrollt (M. tuberculosis RG IC) a kit tartalmazza. Ez lehetővé teszi a felhasználónak mind a DNS izolálási eljárás-, és a lehetséges PCR gátlás ellenőrzését. Ehhez az eljáráshoz adja a belső kontrollt az izoláláshoz 0.1 µl per 1 µl elúciós térfogat arányban. Például, a QIAamp DNA Mini Kit használatakor a DNS-t 100 µl AE pufferbe eluálják. Ebből adódóan elsőként 10 µl belső

kontrollt kell hozzá adni. A belső kontroll térfogata az elúciós térfogattól függ. A használt 10 µl **csak** 100 µl elúciós térfogat esetén **érvényes** (0.1 µl per 1 µl elúciós térfogat).

Megjegyzés: A belső kontroll és a hordozó RNS (lásd "DNS izolálás," 10. oldal) csak a lízis puffer és minta keverékéhez vagy közvetlenül a lízis pufferhez adható hozzá.

A belső kontroll nem adható hozzá közvetlenül a mintához. Amennyiben a lízis pufferhez adja, jegyezze meg, hogy a belső kontroll és lízis puffer/hordozó RNS keverékét frissen kell elkészíteni és azonnal fel kell használni. A keverék pár óráig való tárolása szobahőmérsékleten vagy 4°C-on a belső kontroll hibáját vagy csökkent extrakciós hatékonyságot eredményezhet.

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

Kvantifikálás

A Rotor-Gene Q készüléken a standard görbe létrehozásához mind a négy kvantifikációs standardot használni kell és standardként kell meghatározni az **Edit Samples (Minták szerkesztése)** párbeszéd ablakban a meghatározott koncentrációkkal (lásd az alkalmazandó készülék felhasználói kézikönyvét).

A fentiek szerint generált standard görbe későbbi futások során is használható, feltéve, ha az aktuális futásban legalább **egy** adott koncentrációjú standardot használnak. Erre a célra az előzőleg létrehozott standard görbéket importálni kell (lásd az alkalmazandó készülék felhasználói könyvét). Azonban ez a kvantifikálási módszer eltérésekhez vezethet az eredményekben a különböző PCR futások közötti variabilitásnak köszönhetően.

Hogy megbizonyosodjon a pontos kvantifikálásról, erősen javasolt a belső kontroll hozzáadása az M. tuberculosis RG Master-hez és az M. tuberculosis RG Mg-Sol használata a kvantifikációs standardhoz. Ehhez az eljárásához adja a belső kontrollt közvetlenül az M. tuberculosis RG Master és M. tuberculosis RG Mg-Sol-hoz, ahogy azt a protokoll 2. lépése leírja (13. oldal), és ezt a master mixet használja minden egyes kvantifikációs standardhoz (M. tuberculosis RG/TM QS 1–4).

A kvantifikációs standardokat kópia/µl-ként határozzuk meg. A következő egyenletet kell alkalmazni a standard görbével meghatározott értékek kópia/ml minta konvertálásához:

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

Elvileg a kezdeti mintavételi mennyiséget a fenti egyenletbe kell beírni. Ezt figyelembe kell venni, ha a minta térfogatát a nukleinsav-extrakció előtt változtattuk (például a térfogat centrifugálással való csökkentése vagy a térfogat növelése újratöltéssel, hogy a térfogat elérje az izoláláshoz szükséges mennyiséget).

PCR a Rotor-Gene Q készülékeken

- Hagyjon időt magának arra, hogy megismerje a Rotor-Gene Q készüléket mielőtt elkezdene a protokollt. Nézze meg a készülék használati utasítását.
- Győződjön meg róla, hogy a PCR futásonként legalább egy pozitív kontrollt és egy negatív kontrollt (PCR tisztaságú víz) használ. A standard görbe létrehozásához mind a négy kvantifikációs standardot alkalmazzák (M. tuberculosis RG/TM QS 1–4) minden egyes PCR futás során.
- Győződjön meg róla, hogy a hűtőblokk (Rotor-Gene Q készülék tartozéka) előhűtött állapotban van: 2-8°C-on.
- Minden használat előtt az összes reagenst teljesen fel kell olvasztani, össze kell keverni (ismételt fel és le pipetázással vagy gyors vortexeléssel), majd röviden centrifugálni.

1. Helyezze el a kívánt mennyiségű PCR csövet a hűtőblokk adaptereibe.
2. Készítse elő a master mix-et a következő táblázat alapján:

	Minták száma	
	1	12
M. tuberculosis RG Master	13 µl	156 µl
M. tuberculosis RG Mg-Sol	2 µl	24 µl
Összes térfogat	15 µl	180 µl

3. Pipetázzon 15 µl master mixet minden egyes PCR csőbe. Ezután adjon hozzá 10 µl eluált DNS mintát (lásd alul a táblázatot).

Hasonlóan, 10 µl-t legalább egy kvantifikációs standardot kell használni (M. tuberculosis RG QS 1–4) pozitív kontrollként és 10 µl vizet (Water, PCR tisztaságú) negatív kontrollként.

	Minták száma	
	1	12
Master mix	15 µl	15 µl egyenként

	Minták száma	
Minta	10 µl	10 µl egyenként
Összes térfogat	25 µl	25 µl egyenként

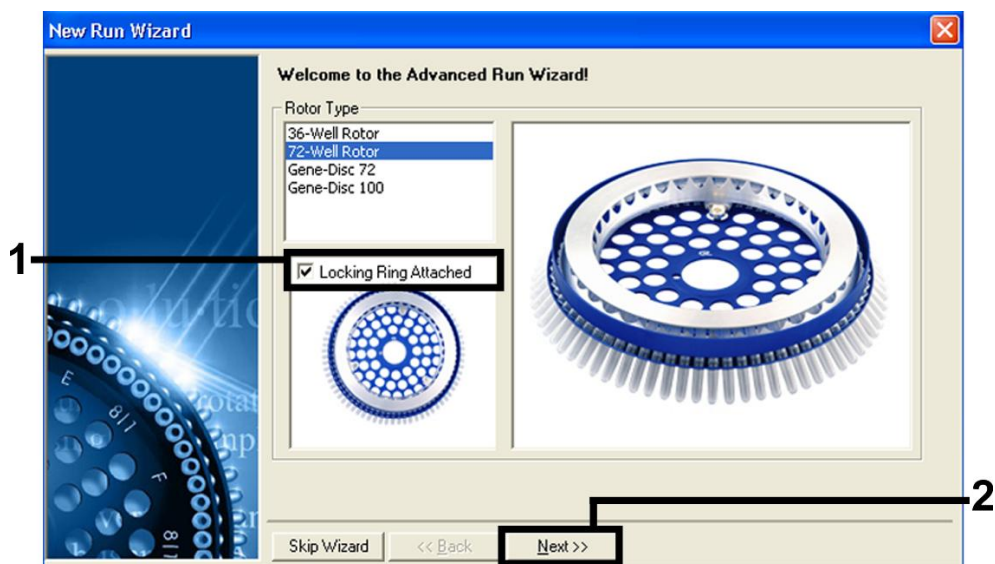
- Zárja le a PCR csöveket.
- Győződjön meg róla, hogy a zárógyűrű (a Rotor-Gene Q készülék tartozéka) a rotor tetején helyezkedik el, hogy elkerülje a csövek véletlenszerű kinyílását a futás alatt.
- A *M. tuberculosis* komplex összes tagjának detektálásához készítsen hőmérséklet profilt az alábbi lépések alapján.

Általános assay paraméterek beállítása	1, 2 és 3. ábrák
A hot-start enzim kezdeti aktiválása	4. ábra
DNS amplifikáció	5. ábra
Fluoreszcens csatornák érzékenységeinek beállítása	6. ábra
A futás indítása	7. ábra

Minden specifikáció a Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q 1.7.94 szoftver verziójához, Rotor Gene 6000 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94 szoftver verziójához, és a Rotor-Gene 3000 6.0.23 szoftver verziójához alkalmas. További programozási információkért kérjük keresse fel Rotor-Gene készülékek applikációs felhasználói kézikönyvét.

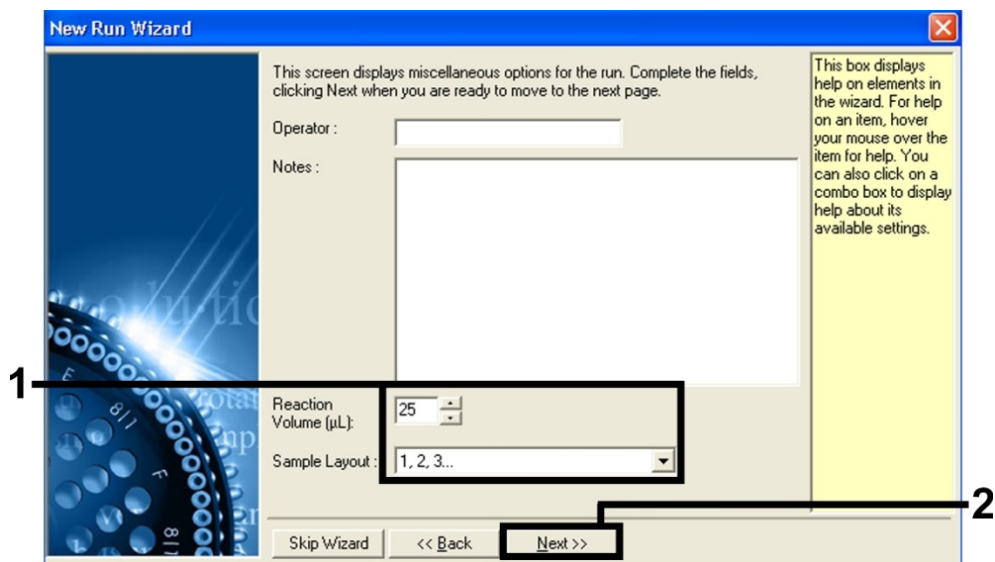
Ezeket a beállításokat az illusztrációban vastag, fekete kerettel jelöltük. Az ábrázolások a Rotor-Gene Q készülékeket tartalmazzák. Ahol a Rotor-Gene 3000 készülékhez eltérő értékek szükségesek, azokat az eltéréseket szövegben részletezik.

7. Először nyissa meg a **“New Run Wizard” Új Futás** párbeszéd ablakot (1. ábra). Ellenőrizze a **“Locking Ring Attached” Locking gyűrű rögzítve** ablakot és kattintson a **“Next” (Következő)** gombra.



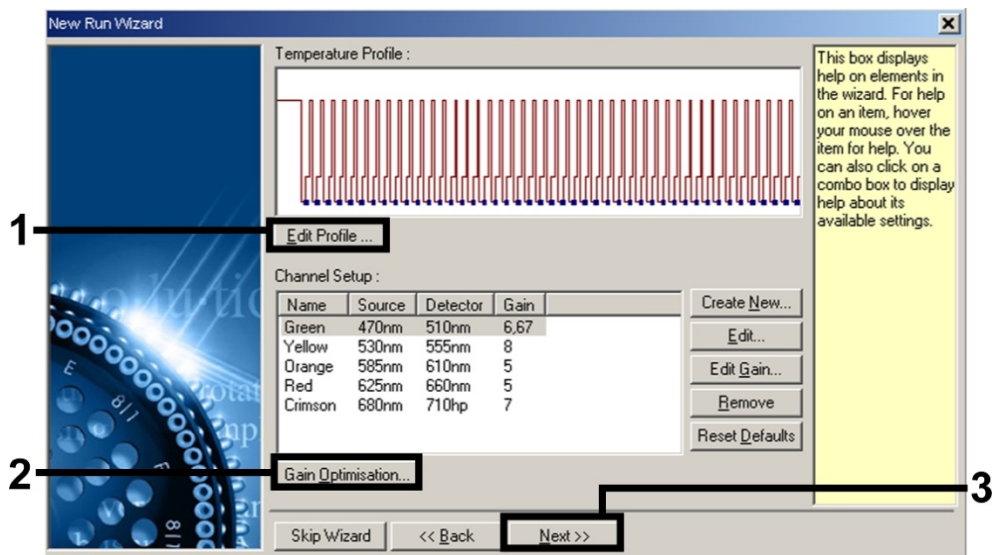
1. ábra: Az Új Futás párbeszéd ablak.

8. Válassza a PCR-hez a **25 (µl)** reakció térfogatot és kattintson a **“Next” (Következő)** gombra (2. ábra).

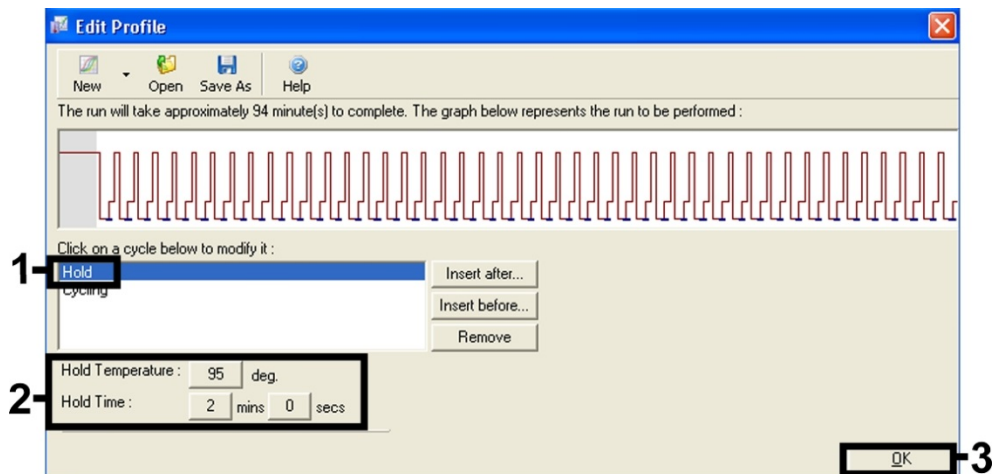


2. ábra: Az általános assay paraméterek beállítása

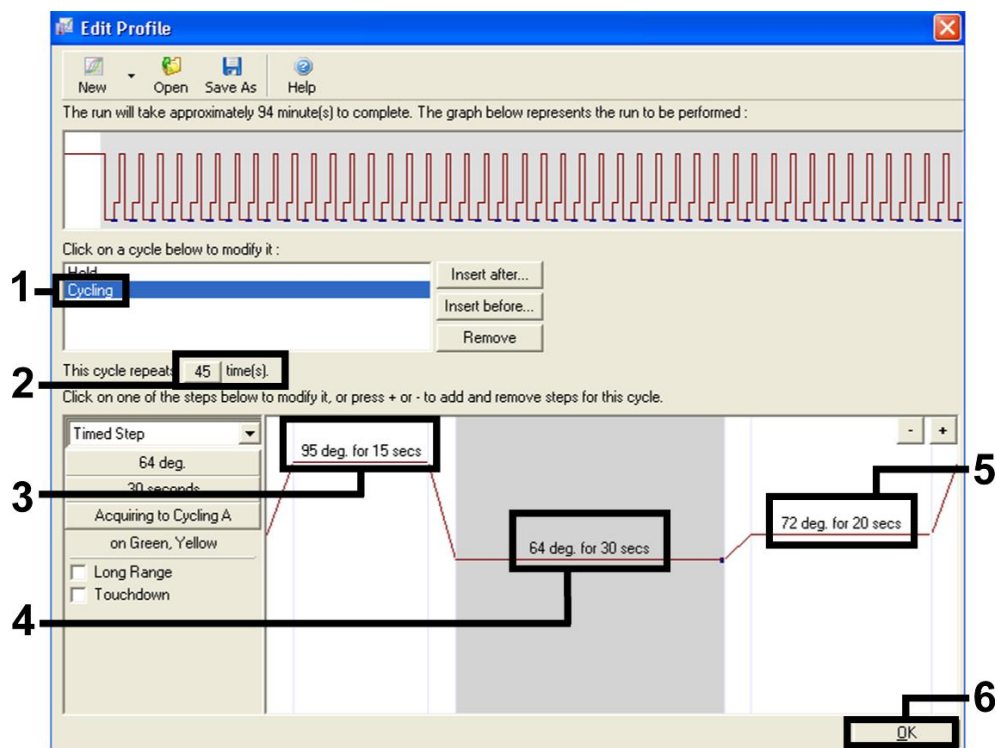
9. Kattintson az **“Edit Profile” (Profil szerkesztése)** gombra a következő **“New Run Wizard” (Új futás varázsló)** párbeszédablakban (3. ábra), és programozza a hőmérsékleti profilt, amint azt az 4-5. ábra mutatja.



3. ábra: Profil szerkesztése



4. ábra: A hot-start enzim kezdeti aktivitása.

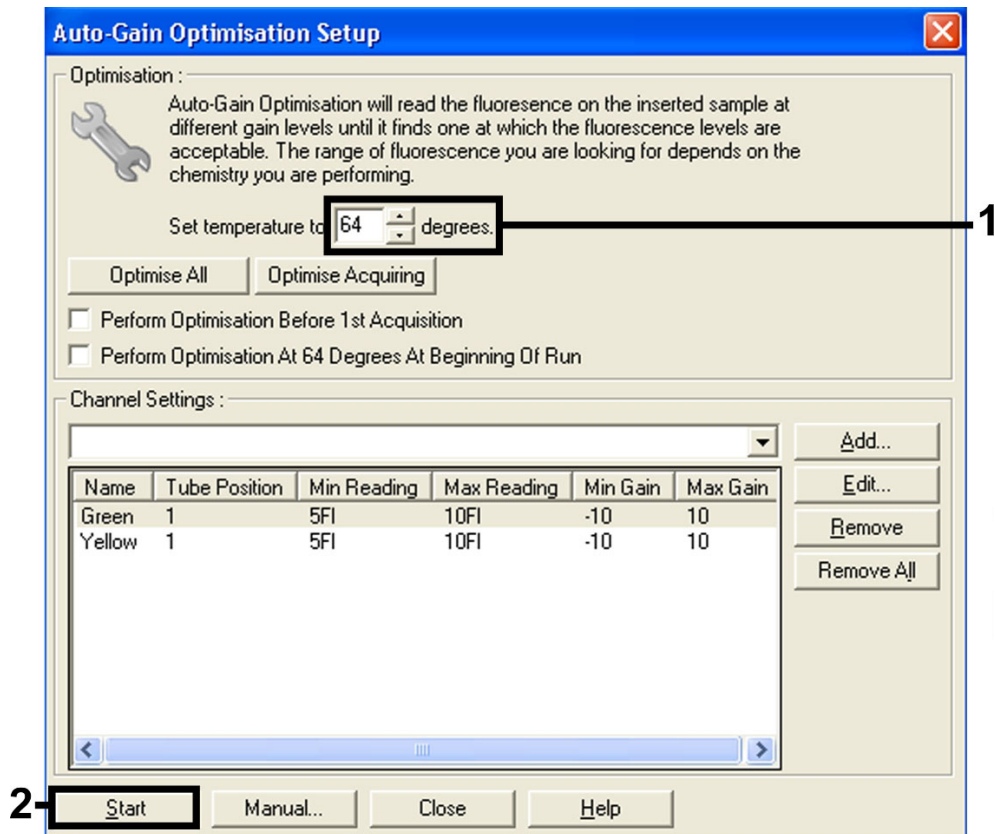


5. ábra: DNS amplifikálása.

Megjegyzés: A Rotor-Gene 3000 készüléken a szoftver definiálni fogja a fluoreszcens festékeket **FAM/Sybr[®]**, **JOE**.

10. A fluoreszcens csatornák érzékelési tartományát a PCR-csőekben található fluoreszcencia intenzitása alapján kell meghatározni. Kattintson a **“Gain Optimisation”** (Nyeresség/erősítés optimalizálás) gombra a „New Run Wizard” párbeszédablakban (lásd 3. ábra), majd nyissa meg az **“Auto-Gain Optimisation Setup”** (Automatikus jeloptimalizálás beállítása) párbeszédablakot.

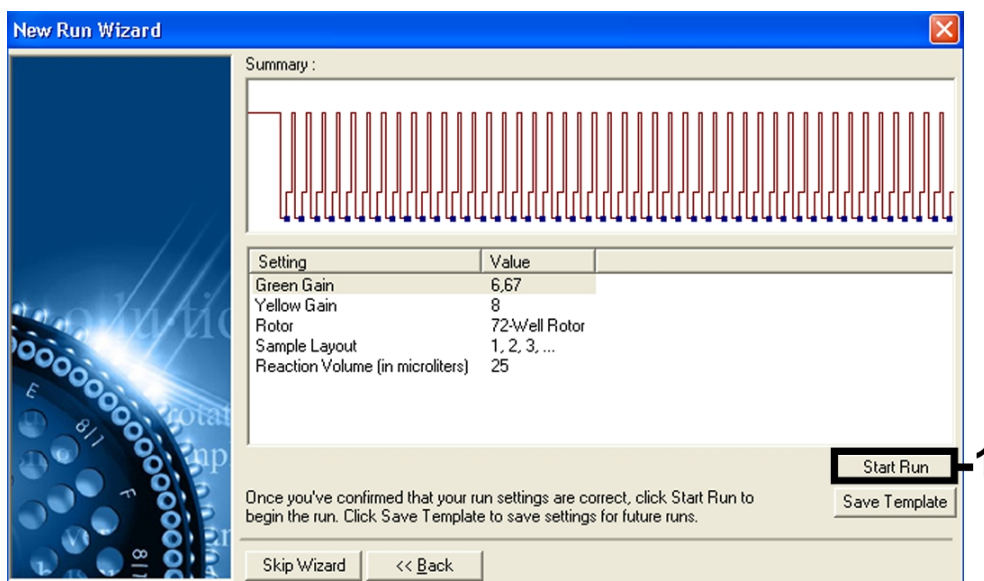
11. Állítsa be a kalibrálási hőmérsékletet **64**-re, hogy illeszkedjen az amplifikációs program primer bekötődés (Annealing) hőmérsékletéhez. (6.ábra).



6. ábra: Fluoreszcens csatornák érzékenységének beállítása.

Megjegyzés: A Rotor-Gene 3000 készüléken a szoftver definiálni fogja a fluoreszcens festékeket, mint a **FAM/Sybr** és **JOE-t**.

12. A csatorna kalibrációval meghatározott értékek automatikusan mentésre kerülnek és a programozási eljárás utolsó menü ablakában vannak listázva. (7. ábra). Kattintson a **“Start Run” (Futtatás indítása)** gombra.



7. ábra: Futtatás indítása.

Megjegyzés: A Rotor-Gene 3000 készüléken a szoftver definiálni fogja a fluoreszcens festékeket, mint a **FAM/Sybr** és **JOE-t**.

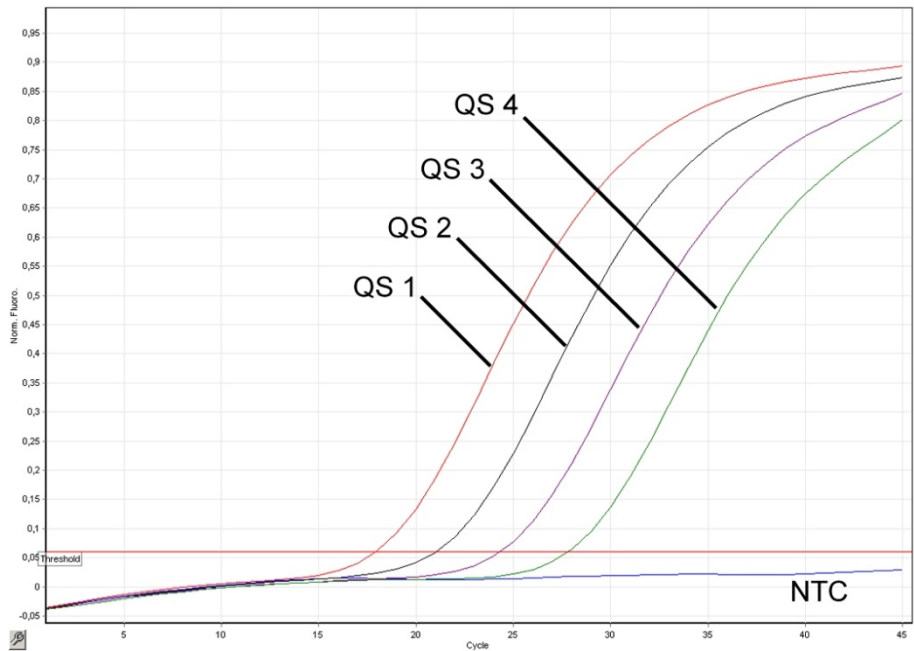
13. A futás befejezése után analizálja az adatokat lásd “Eredmények értékelése,” 20. oldal.

Eredmények értékelése

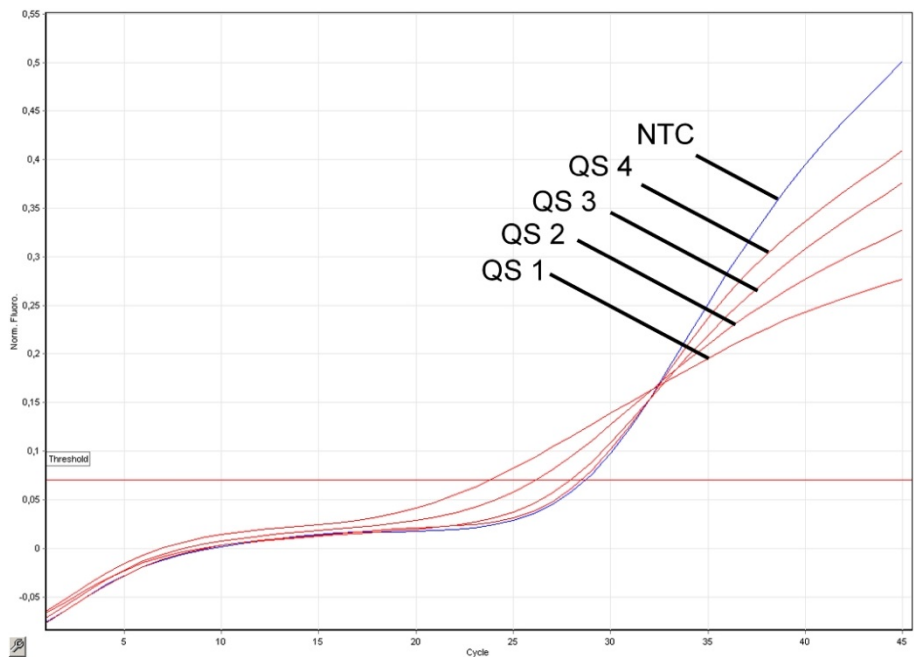
Példák pozitív és negatív PCR mintákra a 8. ábrán és 9. ábrán.

A következő eredmények lehetségesek:

- A jel a **Cycling Green/Zöld** fluoreszcens csatornában detektálható.
A vizsgálat eredménye pozitív. A minta egy vagy több *M. tuberculosis* komplex tagból származó DNS-t tartalmaz.
Ebben az esetben, a **Cycling Yellow/Sárga** csatornában történő jel detektálása mellőzhető, mivel a *M. tuberculosis* komplex DNS magas kezdeti koncentrációja (pozitív jel a **Cycling Green/Zöld** csatornában) a belső kontroll csökkent vagy hiányzó fluoreszcencia jelét okozhatja a **Cycling Yellow/Sárga** csatornában (kompetíció).
Megjegyzés: A Rotor-Gene 3000 készüléken, a megfelelő csatorna a pozitív jelre a **Cycling A.FAM** és a belső kontrollra a **Cycling A.JOE**.
- A **Cycling Green/Zöld** fluoreszcens csatornában jel nem detektálható. Ezzel egyidejűleg a belső kontroll jele megjelenik a **Cycling Yellow/Sárga** csatornában.
A mintában nincs a *M. tuberculosis* komplex tagjaiból származó detektálható DNS. Ez negatívnak tekinthető.
A negatív *M. tuberculosis* komplex PCR esetében a belső kontroll (IC) detektált jele kizárja a PCR gátlás lehetőségét.
Megjegyzés: A Rotor-Gene 3000 készüléken, a megfelelő csatorna a belső kontroll jelére a **Cycling A.JOE** és a hiányzó jel detektálására a **Cycling A.FAM** csatorna.
- Nem detektálható jel sem a **Cycling Green/Zöld** vagy a **Cycling Yellow/Sárga** csatornában.
Az eredményből nem vonható le következtetés.
Megjegyzés: A Rotor-Gene 3000 készüléken a megfelelő csatornák a **Cycling A.FAM** és **Cycling A.JOE**.
A hibaforrásokra vonatkozó információk és azok megoldása megtalálható a "Hibaelhárítás," 22. oldal.



8. ábra: Kvantifikációs standardok detektálása (M. tuberculosis RG/TM QS 1–4) a Cycling Green/Zöld fluoreszcens csatornában. NTC: nem-templát kontroll (negatív kontroll).



9. ábra: Belső kontroll és a kvantifikációs standardok amplifikálásának egyidejű detektálása a Cycling Yellow/Sárga fluoreszcens csatornában (M. tuberculosis RG/TM QS 1–4). NTC: nem-templát kontroll (negatív kontroll).

Hibaelhárítás

Ez a hibaelhárítási útmutató segítségével lehet a felmerülő problémák megoldásában.

Megjegyzések és javaslatok

Nincs detektálható jel a pozitív kontrollokban (M. tuberculosis RG/TM QS 1–4) Cycling Green/Zöld vagy a Cycling A.FAM fluoreszcens csatornában

- | | | |
|----|--|---|
| a) | A PCR adatok elemzéséhez választott fluoreszcens csatorna nem felel meg a protokollnak | Az adatelemzéshez válassza ki a Cycling Green/Zöld vagy a Cycling A.FAM fluoreszcens csatornát az analitikai <i>M. tuberculosis</i> komplex PCR-hez és a Cycling Yellow/Sárga vagy Cycling A.JOE fluoreszcens csatornát a belső kontroll PCR-hez. |
| b) | A Rotor-Gene készülék hőmérséklet profiljának helytelen programozása | Hasonlítsa össze a hőmérséklet profilt a protokollal (lásd "PCR a Rotor-Gene Q készülékeken," 13. oldal). |
| c) | PCR reakció helytelen konfigurálása | Ellenőrizze a munkalépéseket a pipettázási vázlat alapján (lásd "PCR a Rotor-Gene Q készülékeken," 13. oldal) és ismételje meg a PCR futtatást, amennyiben szükséges. |
| d) | A kit egy vagy több összetevőjének a tárolási körülménye nem a leírt útmutatások szerint történt | Ellenőrizze a reagensek tárolási körülményét (lásd "Reagensek tárolása és kezelése," 8. oldal) és a lejárat idejét (lásd a kit jelzése alapján) és használjon új kitet, ha szükséges. |
| e) | Az <i>artus M. tuberculosis</i> RG PCR Kit lejárt. | Ellenőrizze a reagensek tárolási körülményeit (lásd "Reagensek tárolása és kezelése," 8. oldal) és lejárat idejét (lásd a kit jelzéseinél) és használjon új kitet, ha szükséges. |

A Cycling Yellow/Sárga vagy Cycling A.JOE fluoreszcens csatornában a belső kontroll jele gyenge vagy nem detektálható ezzel egyidejűleg azonban jel detektálható a

Megjegyzések és javaslatok

Cycling Green/Zöld vagy Cycling A.FAM fluoreszcens csatornában a specifikus

M. tuberculosis komplex PCR esetén

- a) A PCR körülményei nem felelnek meg a protokollnak Ellenőrizze a PCR körülményeit (lásd “ . Nincs detektált jel a pozitív kontrollokban (*M. tuberculosis* RG/TM QS 1–4) Cycling Green/Zöld vagy a Cycling A.FAM fluoreszcens csatornában fent) és ismétlje meg a PCR futtatást, amennyiben szükséges.
- b) A PCR gátolt Bizonyosodjon meg róla, hogy a javasolt izoláló módszert használta (lásd “DNS izolálás,” 10. oldal) és pontosan követte a gyártó utasításait.
- Győződjön meg róla, hogy a DNS izolálás során a javasolt további centrifugálási lépést kivitelezte az elúció előtt annak érdekében, hogy minden maradék etanol eltávolítson (lásd “DNS izolálás,” 10. oldal).
- c) Az extrakció során a DNS elveszett Amennyiben a belső kontroll hozzá lett adva az extrakcióhoz, a belső kontroll meglévő jele utalhat a DNS elvesztésére az extrakciós lépés alatt. Győződjön meg arról, hogy a javasolt izolálási módszer szerint járt el (lásd “DNS izolálás,” 10. oldal) és pontosan követte a gyártó utasításait.
- d) A kit egy vagy több összetevőjének a tárolási körülménye nem a leírt útmutatások szerint történt Ellenőrizze a reagensek tárolási körülményeit (lásd “Reagensek tárolása és kezelése,” 8. oldal) és a lejárat dátumát (lásd a kit jelzése alapján) és használjon új kitet, amennyiben szükséges.
- e) Az *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit lejárt Ellenőrizze a reagensek tárolási körülményét (lásd “Reagensek tárolása és kezelése,” 8. oldal) és lejárat idejét (lásd a kit jelzése alapján) és használjon új kitet, amennyiben szükséges.

Az analitikai PCR Cycling Green/Zöld vagy Cycling A.FAM fluoreszcens csatornájában detektált jel a negatív kontroll esetén.

Megjegyzések és javaslatok

a) Szennyeződés történt a PCR előkészítése során	<p>Ismételje meg a PCR futást replikátumokban új reagensekkel..</p> <p>Amennyiben lehetséges, zárja le a PCR csövet közvetlenül a vizsgálati minta hozzáadása után.</p> <p>A pozitív kontrollt szigorúan a végén pipettázza az elegyhez.</p> <p>Győződjön meg róla, hogy a munkafelület és a készülékek tisztítása rendszeresen megtörténik.</p>
b) Szennyeződés történt az extrakció során	<p>Ismételje meg az extrakciót és a PCR futást a vizsgálni kívánt mintával új reagenseket használva.</p> <p>Győződjön meg róla, hogy a munkafelület és a készülékek tisztítása rendszeresen megtörténik.</p>

Ha bármilyen további kérdése van, vagy ha problémákba ütközik, forduljon a QIAGEN Műszaki Szolgálathoz.

Minőség-ellenőrzés

A QIAGEN's ISO-minősített Minőség Biztosítási Rendszere révén minden egyes *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit gyártási tételét leellenőrzik, hogy az megfelel-e az előírt paramétereknek, ezzel biztosítják a kit egyenletes és kifogástalan minőségét.

Korlátozások

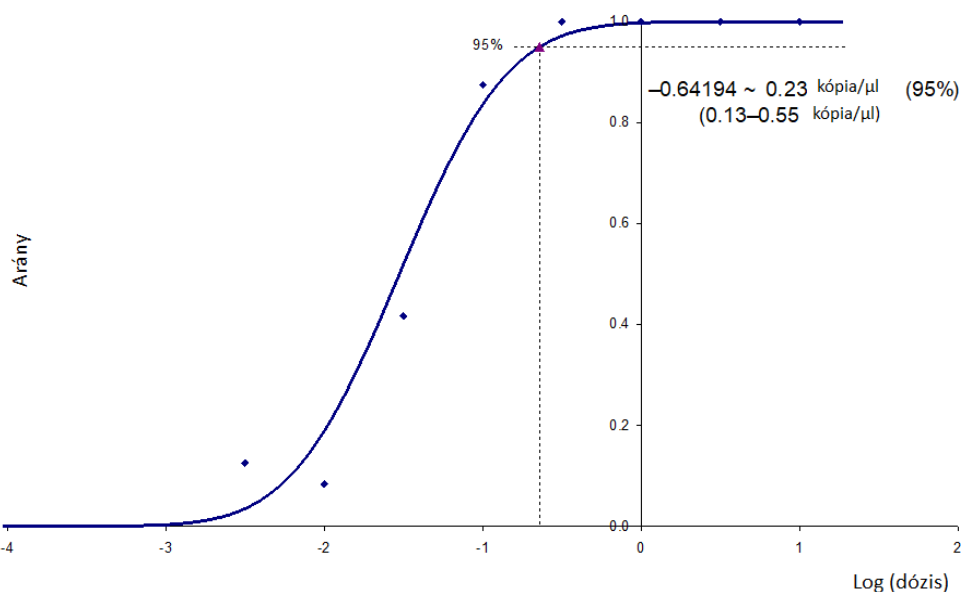
- A terméket csak az in vitro diagnosztikai eljárások terén képzett és betanított szakemberek használhatják.
- A kiváló laboratóriumi gyakorlat elengedhetetlen a megfelelő teljesítményű vizsgálatához.
- Az optimális PCR eredmények eléréséhez a felhasználói kézikönyvhöz való szigorú megfelelés szükséges.
- Fordítson figyelmet a dobozon feltüntetett lejárati dátumokra és az összes komponens címkéjére. Ne használjon lejárt komponenseket.

Bár ritka, mégis a kit primerei és/vagy próbái által lefedett bakteriális genom magasan konzervált régióban található mutációk eredményezhetik az alámérést vagy a baktérium jelenlétének detektálási hibáját, ebben az esetben. A vizsgálati eljárás érvényességét és teljesítményét rendszeres időközönként értékelik.

Teljesítmény jellemzők

Analitikai érzékenység

Az *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit analitikai érzékenységének meghatározásához névlegesen 10 és 0,003 és névlegesen 10 és 0,05 *M. tuberculosis* genommal ekvivalens/μl koncentráció közötti standard hígítási sort állítottak össze és a Rotor-Gene 6000 , valamint a Rotor-Gene 3000 készüléken vizsgálták, az *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit segítségével. A vizsgálatot 3 különböző napon nyolc párhuzamos mintával végezték. Az eredményeket probit-elemzéssel határozták meg. A Rotor-Gene 6000 készüléken végzett probit-elemzés grafikai ábrázolását a 10. ábra mutatja. Az *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit analitikai detektálása határa a Rotor-Gene Q MDx/Q/6000 és Rotor-Gene 3000-el kombinálva 0.23 kópia/μl ($p = 0.05$) és 0.9 kópia/μl ($p = 0.05$). Ez azt jelenti, hogy a 0.23 kópia/μl vagy a 0.9 kópia/μl 95% -os valószínűséggel detektálásra kerül.



10.ábra: Probit-elemzés: *M. tuberculosis* (Rotor-Gene 6000). Az *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit analitikai érzékenysége a Rotor-Gene 6000 készüléken.

Specifititás

Az *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit specifitása elsősorban és leginkább a primerek és próbák kiválasztásán, illetve a szigorúan meghatározott reakciófeltételeken alapul. A primereket és próbákat szekvencia-összehasonlítási elemzés során nyilvánosan hozzáférhető szekvenciákkal ellenőrizték. A *M. tuberculosis* komplex összes tagjának detektálhatóságát az adatbázis egyezések alapján biztosítják.

Továbbá a specifitást 90 különböző *M. tuberculosis* komplex-negatív mintával validálták (30 köpet, 30 BAL és 30 bronchiális szekréciós minta). Ezek nem generáltak semmiféle jelet a *M. tuberculosis* komplex specifikus primereivel és próbáival, melyeket a *M. tuberculosis* RG Master tartalmaz.

Az *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit specifitásának meghatározásához az 1. Táblázatban listázott kontroll csoportokkal tesztelték a keresztreaktivitást. A tesztelt patogének egyike sem mutatott keresztreaktivitást.

1. táblázat: A kit specifitásának tesztelése potenciálisan keresztreaktív patogénekkal

Kontroll csoport	<i>M. tuberculosis</i> (Cycling Green vagy Cycling A.FAM)	Belső kontroll (Cycling Yellow vagy 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>	–	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	–	+

Kontroll csoport	<i>M. tuberculosis</i>	Belső kontroll
	(Cycling Green vagy Cycling A.FAM)	(Cycling Yellow vagy Cycling A.JOE)
<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 malmoense</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>	–	+

Kontroll csoport	<i>M. tuberculosis</i> (Cycling Green vagy Cycling A.FAM)	Belső kontroll (Cycling Yellow vagy 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>	–	+

Pontosság

Az *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit pontossága adatait a Rotor-Gene készülékekkel gyűjtötték össze és lehetővé tették a vizsgálatok teljes variabilitásának meghatározását. A teljes variabilitás a vizsgálaton belüli variabilitásból (intra-assay variability) (azonos koncentrációjú minták egy kísérletben mért eredményeinek variabilitása), a vizsgálatok közötti variabilitásból (inter-assay variability) (egy laboratóriumon belül különböző, de azonos típusú készüléken, több operator által

végzett vizsálatok eredményeinek variabilitása) és a gyártási tételek közötti variabilitásból (inter-batch variability) (különböző gyártási tételek felhasználásával végzett vizsálatok eredményeinek variabilitása) áll. A mért adatok alapján meghatározásra került a patogén-specifikus, illetve a belső kontroll PCR eredmények szórása, varianciája és variációs koefficiense.

Az *artus M. tuberculosis RG PCR Kit* pontossága adatainak gyűjtéséhez a legkisebb koncentrációjú kvantitációs standard (QS 4; 30 kópia/μl) használatával határozták meg. A vizsálatot 8 párhuzamos mintával végezték. A pontossági adatokat az amplifikációs görbék Ct értéke alapján határozták meg (C_T: küszöbciklus, lásd 2. táblázat). A kvantitatív eredmények pontossági adatait kópia/μl-ben határozták meg a megfelelő Ct-érték használatával (lásd 3. táblázat). Ezen eredmények alapján az átfogó statisztikai eltérése az adott mintának 1.26% (C_T) vagy a 14.64% (kópia/μl) koncentráció, és 1.57% (C_T) a belső kontroll detektálásakor. Ezek az értékek az összes, egyedileg meghatározott variabilitás értékeken alapulnak.

2. táblázat: C_T értékeken alapuló pontossági adatok

	Standard deviáció	Variancia	Variációs koefficiens (%)
Vizsálaton belüli variabilitás: M. tuberculosis RG/TM QS 4	0.10	0.01	0.32
Vizsálaton belüli variabilitás: Belső kontroll	0.13	0.02	0.45
Inter-assay variability: M. tuberculosis RG/TM QS 4	0.24	0.06	0.78
Vizsálaton közötti variabilitás: Internal Control	0.29	0.08	0.95
Gyártási tételek közötti variabilitás: M. tuberculosis RG/TM QS 4	0.39	0.15	1.28
Gyártási tételek közötti variabilitás: Belső kontroll	0.66	0.43	2.16
Teljes variancia: M. tuberculosis RG/TM QS 4	0.38	0.15	1.26
Teljes variancia: Belső kontroll	0.48	0.23	1.57

3. táblázat: Kvantitatív eredményeken alapuló pontossága adatok (kópia/μl-ben)

	Standard deviáció	Variancia	Variációs koefficiens (%)
Vizsgálaton belüli variabilitás: M. tuberculosis RG/TM QS 4	1.97	3.90	6.56
Vizsgálatok közötti variabilitás: M. tuberculosis RG/TM QS 4	3.93	15.43	13.00
Gyártási tételek közötti variabilitás: M. tuberculosis RG/TM QS 4	5.51	30.41	18.09
Gyártási tételek közötti variabilitás: M. tuberculosis RG/TM QS 4	4.44	19.69	14.64

Robosztusság

Az *artus M. tuberculosis RG PCR Kit* robusztusságának ellenőrzése lehetővé teszi a kit teljes hibaszázalékának a meghatározását. Az összes 30 *M. tuberculosis* komplex-negatív minta minden egyes köpet mintáját, BAL és bronchiális szekrécióból származó mintát spike-oltak 3 kópia/μl elúciós térfogatú *M. tuberculosis* kontroll DNS-el (az analitikai érzékenység körülbelül háromszorosa). A QIAamp DNA Mini Kit-el történő extrakció után (lásd "DNS izolálás," 10. oldal), ezeket a mintákat az *artus M. tuberculosis RG PCR Kit*-el vizsgálták. Az összes *M. tuberculosis* minta esetében a hibaszázalék 0% volt. Továbbá, a belső krobosztusságának értékelése a 30 *M. tuberculosis* komplex-negatív minta minden egyes köpet mintájának, BAL és bronchiális szekrécióból származó mintájának tisztítása és vizsgálata alapján történt. Így a teljes hibaszázalék 0% volt. Inhibíciót nem tapasztaltak. Így az *artus M. tuberculosis RG PCR Kit* robusztussága $\geq 99\%$.









Reprodukálhatóság


A reprodukálhatósági adatok lehetővé teszik az *artus M. tuberculosis RG PCR Kit* teljesítmény-jellemzőinek rendszeres mérését, valamint más termékekkel történő hatékonysági összehasonlítást. Ezek az adatok szakmai alkalmassági programokban történő részvételtől származnak.

Referenciák

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

Jelmagyarázat

Jelek	Jelmagyarázat
	Lejárat
	Tételszám
	Gyártó
	Katalógusszám
	Anyagszám
	CE jelölés az Európai megfelelőséghez
	In vitro diagnosztikai orvosi eszköz
	A kit tartalma <N> tesztre elegendő

Jelek	Jelmagyarázat
COMP	Komponensek
CONT	Tartalom
NUM	Szám
GTIN	Globális kereskedelmi áruazonosító szám (GTIN)
	Hőmérséklet-korlátozás
QS	Kvantifikációs standard
IC	Belső kontroll
Mg-Sol	Magnézium oldat

Rendelési információ

Termék	Tartalom	Kat.szám
<i>artus</i> M. tuberculosis RG PCR Kit (24)	24 reakcióra: Master, Mg oldat, 4 Kvantifikációs Standard, Belső kontroll, Víz (PCR tisztaságú)	4555263
<i>artus</i> M. tuberculosis RG PCR Kit (96)	96 reakcióra: Master, Mg oldat, 4 Kvantifikációs Standard, Belső kontroll, Víz (PCR tisztaságú)	4555265
QIAamp DNA Mini Kit — genomi, mitokondriális, bakteriális, parazita vagy virális DNS izolálására		
QIAamp DNA Mini Kit (50)	50 DNS izoláláshoz: 50 QIAamp Mini Spin oszlopok, QIAGEN Proteinase K, Reagensek, Pufferek, Gyűjtő csövek (2 ml)	51304
Rotor-Gene Q MDx és tartozékai		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Real-time PCR cycler 5 csatornával (zöld, sárga, narancs, piros, crimson), laptop computer, szoftware, tartozékok: tartalmaz 1-év garanciát az alkatrészekre és a szervízre, installálást és tréninget nem tartalmaz	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Real-time PCR cycler 5 csatornával (zöld, sárga, narancs, piros, crimson), laptop computer, szoftware, tartozékok: tartalmaz 1-év garanciát az alkatrészekre és a szervízre, installálást és tréninget tartalmaz	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Real-time PCR cycler és nagy felbontású olvadáspont analizáló 5 csatornával (zöld, sárga, narancs, piros, crimson) plusz HRM csatorna, laptop computer, szoftware, tartozékok: tartalmaz 1-év garanciát az alkatrészekre és a szervízre, installálást és tréninget nem tartalmaz	9002032
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Real-time PCR cycler és nagy felbontású olvadáspont analizáló 5 csatornával (zöld, sárga, narancs, piros, crimson) plusz HRM csatorna, laptop computer, szoftware, tartozékok: tartalmaz 1-év garanciát az alkatrészekre és a szervízre, installálást és tréninget tartalmaz	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Real-time PCR készülék 6 csatornával (kék, zöld, sárga, narancs, piros, crimson), laptop computer, szoftware, tartozékok: tartalmaz 1-év garanciát az	9002042

	alkatrészekre és a szervízre, installálást és tréninget nem tartalmaz	
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Real-time PCR készülék 6 csatornával (kék, zöld, sárga, narancs, piros, crimson), laptop computer, szoftware, tartozékok: tartalmaz 1-év garanciát az alkatrészekre és a szervízre, installálást és tréninget tartalmaz	9002043
Rotor-Gene Q MDx 2plex Platform	Real-time PCR cycler 2 csatornával (zöld, sárga), laptop computer, szoftware, tartozékok: tartalmaz 1-év garanciát az alkatrészekre és a szervízre, installálást és tréninget nem tartalmaz	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex System	Real-time PCR cycler 2 csatornával (zöld, sárga), laptop computer, szoftware, tartozékok: tartalmaz 1-év garanciát az alkatrészekre és a szervízre, installálást és tréninget tartalmaz	9002003
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM Platform	Real-time PCR cycler és Nagy felbontású olvadáspont analizáló 2 csatornával (zöld, sárga) plusz HRM csatorna, laptop computer, szoftware, tartozékok: tartalmaz 1-év garancia az alkatrészekre és a szervízre, installálást és tréninget nem tartalmaz	9002012
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM System	Real-time PCR cycler és Nagy felbontású olvadáspont analizáló 2 csatornával (zöld, sárga) plusz HRM csatorna, laptop computer, szoftware, tartozékok: tartalmaz 1-év garancia az alkatrészekre és a szervízre, installálást és tréninget tartalmaz	9002013
Betöltő blokk 72 x 0.1 ml csövek	Alumínium blokk a manuális reakció beállításához egycsatornás pipettával 72 x 0.1 ml csövekbe	9018901
Betöltő blokk 96 x 0.2 ml csövek	Alumínium blokk a manuális reakció beállításához standard 8 x 12 arraybe 96 x 0.2 ml csövek használatával	9018905
Strip csövek és kupakok, 0.1 ml (250)	250 strip 4-es csövek és kupak 1000 reakcióhoz	981103
Strip csövek és kupakok, 0.1 ml (2500)	10 x 250 strip 4-es csövek és kupak 10,000 reakcióhoz	981106
PCR csövek, 0.2 ml (1000)	1000 vékony falú csövek 1000 reakcióhoz	981005
PCR csöves, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 vékony falú csövek 1000 reakcióhoz	981008

A naprakész engedélyezési információk és termékspecifikus felelősségbiztosítások tekintetében tekintse meg az adott QIAGEN kit kézikönyvét vagy használati útmutatóját. A QIAGEN kit kézikönyvek és felhasználói kézikönyvek elérhetőek a **www.qiagen.com** vagy a QIAGEN Műszaki szervizétől, helyi forgalmazótól.

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

Az *artus M. tuberculosis* RG PCR Kit egy CE-jelölt diagnosztikai kit az Európai in Vitro Diagnosztikai Direktívának megfelelően 98/79/EC. Nem érhető el az összes országban.

A naprakész engedélyezési információk és termékspecifikus felelősségbiztosítások tekintetében tekintse meg az adott QIAGEN kit kézikönyvét vagy használati útmutatóját. A QIAGEN kit kézikönyvek és felhasználói kézikönyvek elérhetőek a www.qiagen.com vagy a QIAGEN Műszaki szervizétől, helyi forgalmazótól.

Ennek a terméknek a megvásárlása feljogosítja a vevőt a kit humán in vitro diagnosztikai szolgáltatási teljesítményszinten való használatára. A vásárlással megszerzett használati jogon kívül semmilyen általános szabadalmi vagy bármilyen más licenz engedélyre nem jogosít ez a megállapodás.

Korlátozott Licenc megállapodás az *artus M. tuberculosis* RG PCR Kíthez

Ennek a terméknek a használatával bármely a kit-et beszerző és használó kinyilvánítja beleegyezését a következő feltételekbe:

1. A termék a hozzá adott kézikönyvben szereplő protokollokkal összhangban és csak a készletben található elemekkel együtt használható. A QIAGEN valamennyi szellemi tulajdonjoga alapján nem járul hozzá, hogy felhasználják és beleépítsék a készletben lévő elemeket a készletben nem megtalálható elemekkel, kivéve abban az esetben, ha az szerepel a termékhez biztosított kézikönyvben, protokollokban vagy a www.qiagen.com honlapon található további protokollok valamelyikében. Néhány ezek közül a további protokollok közül a QIAGEN felhasználók által más QIAGEN felhasználók részére bocsátott protokollok. Ezeket a QIAGEN nem vetette alá alapos teszteknek és nem optimalizálta. A QIAGEN sem garanciát sem szavatosságot nem vállal arra, hogy ezek nem sértik harmadik fél jogait,
2. A kifejezett licenccen kívül a QIAGEN nem vállal garanciát arra, hogy ez a készlet és/vagy ennek használata harmadik fél jogait nem sérti
3. A kit és összetevőinek licenccel csak egyszeri használatra érvényes, nem szabad azt újra felhasználni, felújítani vagy újra értékesíteni.
4. A QIAGEN egyértelműen elutasít minden más (kifejezett vagy hallgatólagosan beleértett) licenccel, amelyet külön nem nyilvánított ki.
5. A kit vevője és felhasználója elfogadja, hogy sem ő maga nem teszi és senki másnak sem engedélyez semmilyen lépést, amely a fenti pontokban tiltott cselekményre vezet vagy elősegíti azt. A korlátozott licenc egyezménybe foglalt korlátozásokat a QIAGEN bármely bíróságon keresztül érvényesítheti, továbbá a licenc megszegőjét a nyomozati és bírósági eljárás teljes költségének megtérítésére kötelezheti, beleértve az ügyvédi díjakat is abban az eljárásban, amelynek célja a korlátozott licenc, valamint a kit-hez és összetevőjéhez kapcsolódó szellemi tulajdonjog betartatása.

A legfrissebb licenc feltételekért látogassa meg a www.qiagen.com honlapot.

HB-0058-007 151031225 10/2015 © 2007–2015 QIAGEN, minden jog fenntartva.

