

artus[®] HBV RG PCR Kiti El Kitabı



24 (katalog no. 4506263)



96 (katalog no. 4506265)

Versiyon 1

IVD

Kantitatif in vitro diagnostik

Rotor-Gene[®] Q Aletleriyle kullanılmak üzere



REF

4506263, 4506265



1046920EN



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALMANYA

R4

MAT

1046920EN



QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN her biyolojik örneğin içeriğinin saptanması ve izolasyonunu mümkün kılacak şekilde yenilikçi örnek ve test teknolojilerinin önde gelen sağlayıcısıdır. Gelişmiş ve yüksek kalitede ürünlerimiz ve hizmetlerimiz örnekten sonuca kadar başarıyı garanti eder.

QIAGEN şunlarda standartları belirler:


- DNA, RNA ve protein saflaştırma
- Nükleik asit ve protein testleri
- microRNA araştırmaları ve RNAi
- Test ve örnek teknolojilerinin otomasyonu

Misyonumuz olağanüstü başarılar elde etmenizi ve yeni buluşlar yapmanızı sağlamaktır. Daha fazla bilgi için www.qiagen.com adresini ziyaret ediniz.

İçindekiler

Kit İçeriği	4
Semboller	4
Saklama	5
Kullanım Amacı	5
Ürün Kullanımı Sınırlamaları	5
Uyarılar ve Önlemler	6
Kalite Kontrol	6
Giriş	7
Prensip	7
Patojen bilgisi	7
Performans özellikleri	8
Kullanıcı Tarafından Sağlanacak Ekipman ve Reaktifler	17
Önemli Notlar	18
Genel önlemler	18
Numune toplama, saklama ve nakli	18
DNA izolasyonu	19
Dahili kontrol	20
PCR analizi için eşiği ayarlama	21
Kantitasyon	21
Protokol: PCR ve Veri Analizi	22
Sorun Giderme Kılavuzu	31
Referanslar	34
Sipariş Bilgisi	35

Kit İçeriği

artus HBV RG PCR Kit		(24)	(96)
Katalog no.		4506263	4506265
Reaksiyon sayısı		24	96
Mavi	HBV RG/TM Master	2 x 12 reaksiyon	8 x 12 reaksiyon
Kırmızı	HBV RG/TM QS 1* (1 x 10 ⁵ IU/μl)	QS 200 μl	200 μl
Kırmızı	HBV RG/TM QS 2* (1 x 10 ⁴ IU/μl)	QS 200 μl	200 μl
Kırmızı	HBV RG/TM QS 3* (1 x 10 ³ IU/μl)	QS 200 μl	200 μl
Kırmızı	HBV RG/TM QS 4* (1 x 10 ² IU/μl)	QS 200 μl	200 μl
Kırmızı	HBV RG/TM QS 5* (1 x 10 ¹ IU/μl)	QS 200 μl	200 μl
Yeşil	HBV RG/TM IC [†]	IC 1000 μl	2 x 1000 μl
Beyaz	Su (PCR sınıfı)	1000 μl	1000 μl
	El Kitabı	 1	1

* Kantitasyon standardı.

† Dahili kontrol.

Semboller



<N>

<N> test için yeterli reaktif içermektedir



Son Kullanma Tarihi



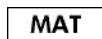
İn vitro diagnostik tıbbi cihaz



Katalog numarası



Lot numarası



Materyal numarası

COMP

Bileşenler

CONT

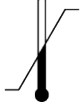
İçindekiler

NUM

Numara

GTIN

Global Ticaret Madde Numarası



Sıcaklık sınırlaması



Üretici



Kullanma talimatına başvurun



Önemli not

Saklama

artus HBV RG PCR Kiti bileşenleri -15°C - -30°C 'de saklanmalıdır ve etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir. Tekrarlanan çözme ve dondurmadan (>2 x) kaçınılmalıdır çünkü tahlil hassasiyetini azaltabilir. Reaktifler sadece arada kullanılacaksa alikotlar halinde dondurulmaları gerekir. $2-8^{\circ}\text{C}$ 'de saklama 5 saatlik bir dönemi geçmemelidir.

Kullanım Amacı

artus HBV RG PCR Kiti insan plazmasında hepatit B virüsü (HBV) DNA'sının kantitasyonu için bir in vitro nükleik asit amplifikasyonu testidir. Bu diagnostik test kiti, polimeraz zincir reaksiyonunu (PCR) kullanır ve Rotor-Gene Q Aletleriyle kullanılmak üzere konfigüre edilmiştir.

Ürün Kullanımı Sınırlamaları

Tüm reaktifler sadece in vitro diagnostik için kullanılabilir.

Ürün sadece in vitro diagnostik işlemler konusunda özel talimat almış ve eğitilmiş personel tarafından kullanılmalıdır.

Optimum PCR sonuçları için kullanım kılavuzuna katı olarak uymak gerekir.

Tüm bileşenlerin etiketleri ve kutusunda basılı son kullanma tarihlerine dikkat edilmelidir. Son kullanma tarihi geçmiş bileşenleri kullanmayın.

Nadir olsa da kitin primerleri ve/veya probun kapsadığı viral genomun yüksek ölçüde korunmuş bölgelerinde mutasyonlar olması bu vakalarda virüs varlığının saptanmaması veya miktarının eksik gösterilmesiyle sonuçlanabilir. Test tasarımının geçerliliği ve performansı düzenli aralıklarla revize edilmektedir.

Uyarılar ve Önlemler

Kimyasallarla çalışırken daima uygun bir laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldivenler ve koruyucu gözlükler kullanın. Daha fazla bilgi için lütfen uygun güvenlik veri sayfalarına (SDS'ler) başvurun. Bunlar çevrim içi olarak PDF halinde www.qiagen.com/safety adresinde yer almaktadır ve kullanıcılar burada her QIAGEN® kiti ve kit bileşeni için SDS'yi bulabilir, okuyabilir ve yazdırabilir.

Örnek ve tahlil atığını yerel güvenlik düzenlemelerinize uygun olarak atın.

Kalite Kontrol

QIAGEN'in ISO sertifikalı Kalite Yönetim Sistemi uyarınca her *artus* HBV RG PCR Kiti tutarlı ürün kalitesini sağlamak üzere önceden belirlenmiş spesifikasyonlara göre test edilir.

Giriş

artus HBV RG PCR Kiti Rotor-Gene Q Aletlerinde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak HBV DNA saptanması için kullanıma hazır bir sistem oluşturur.-- HBV RG/TM Master, HBV genomunda 134 bp bölgenin spesifik amplifikasyonu için ve Rotor-Gene 6000 veya Rotor-Gene Q Cycling Green veya Rotor-Gene 3000 Cycling A.FAM™ floresans kanalında spesifik ampikonun doğrudan saptanması için gerekli reaktifleri ve enzimleri içerir.

Ayrıca *artus* HBV RG PCR Kit olası PCR inhibisyonunu tanımlamak için ikinci bir heterolog amplifikasyon sistemi içerir. Bu Rotor-Gene 6000 veya Rotor-Gene Q Cycling Yellow veya Rotor-Gene 3000 A.JOE™ floresans kanalında bir dahili kontrol (IC) olarak saptanır. Analitik HBV PCR saptama limiti (bakınız “Analitik hassasiyet”, sayfa 8) azalmaz. Harici pozitif kontroller (HBV RG/TM QS 1–5) sağlanır ve bunlar viral DNA miktarının belirlenmesini sağlar. Daha fazla bilgi için, bakınız “Kantitasyon”, sayfa 21.

Prensip

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile patojen saptanması patojen genomunun spesifik bölgelerinin amplifikasyonunu temel alır. Gerçek zamanlı PCR ile amplifiye edilen ürün floresan boyalar yoluyla saptanır. Bunlar genellikle amplifiye edilmiş ürüne spesifik olarak bağlanan oligonükleotid problemleriyle bağlantılıdır. PCR çalışması sırasında (yani, gerçek zamanlı olarak) floresans şiddetlerinin izlenmesi PCR çalışması sonrasında reaksiyon tüplerinin tekrar açılmasına gerek kalmadan biriken ürünün saptanması ve kantitasyonunu mümkün kılar.*

Patojen bilgisi

Hepatit B virüsü (HBV) temel olarak kan veya kan ürünleriyle bulaşır. Ancak cinsel, oral ve perinatal enfeksiyonlar da mümkündür. İştah kaybı, kusma ve karınla ilgili problemleri içeren genel bir halsizlikten sonra hastaların yaklaşık %10-20'sinde ateş, ekzantem (cilt döküntüsü) ve ayrıca romatoid eklem ve kas problemleri gelişir. 2–14 gün sonra, kaşıntıyla birlikte olabilecek sarılık gelişir. Fulminan hepatit tüm enfekte hastaların yaklaşık %1'inde oluşur ve sıklıkla ölümcüldür. Hepatit B hastalarının %5-10'unda kronik karaciğer enflamasyonu gelişir ve bu durum karaciğer sirozu veya primer karaciğer hücreli karsinoma ilerleyebilir.

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

Performans özellikleri

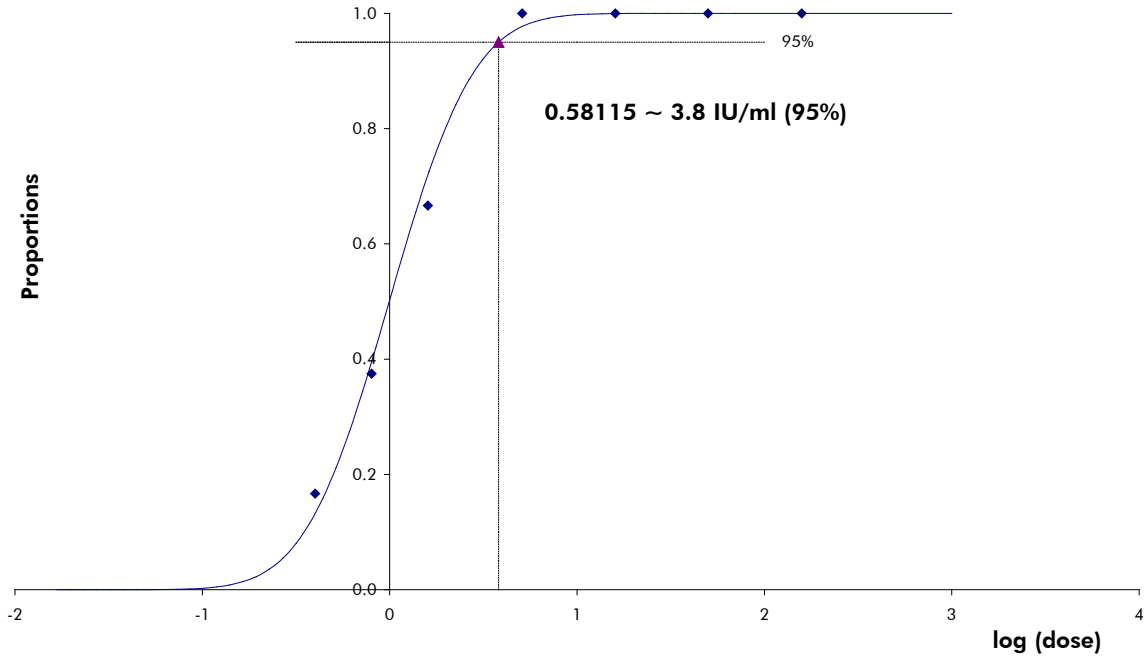
Analitik hassasiyet

Analitik saptama limiti ve ayrıca saflaştırma dikkate alınarak analitik saptama limiti (hassasiyet limitleri) *artus* HBV RG PCR Kiti için değerlendirilmiştir. Saflaştırma dikkate alınarak analitik saptama limiti belirli bir ekstraksiyon yöntemiyle kombinasyon halinde HBV pozitif klinik numuneler kullanılarak belirlenir. Analitik saptama limiti ise bilinen konsantrasyonda bir standart kullanılarak ve klinik numuneler olmadan, seçilen ekstraksiyon yönteminden bağımsız olarak belirlenir.

artus HBV RG PCR Kitinin analitik hassasiyetini belirlemek için 10 ila nominal 0,0003 HBV IU/ μ l şeklinde bir dilüsyon serisi oluşturulmuş ve *artus* HBV RG PCR Kitiyle Rotor-Gene Aletleri üzerinde analiz edilmiştir. Testler 3 farklı günde 8 replikat ile yapılmıştır. Sonuçlar probit analiziyle belirlenmiştir. *artus* HBV RG PCR Kitinin Rotor-Gene 3000 ile kombinasyon halinde analitik saptama limiti 0,02 IU/ μ l'dir ($p = 0,05$). Bu durum 0,02 IU/ μ l'nin saptanması olasılığının %95 olduğunu göstermektedir.

Rotor-Gene 3000 ile Rotor-Gene Q/6000'in eşdeğer olmaları analitik performans karşılaştırmasıyla doğrulanmış olan teknik spesifikasyonlar temelinde gösterilmiştir. Her iki sistemde paralel olarak probit analizleri yapılmıştır. Rotor-Gene Q/6000 analitik saptama limiti Rotor-Gene 3000 güven aralığı dahilindedir. Bu nedenle *artus* HBV RG PCR Kiti HBV DNA saptanması için Rotor-Gene Q/6000 üzerinde benzer hassasiyetle kullanılabilir.

artus HBV RG PCR Kitinin saflaştırılması (QIAamp® DSP Virüs Kiti) dikkate alınarak analitik hassasiyet klinik plazma numunelerine eklenen 158 ile nominal 0,4 HCV IU/ml arasında 1. Uluslararası HBV IU/ml standardı (DSÖ) dilüsyon serisi kullanılarak belirlenmiştir. Bunlar şu ürünle DNA ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur: QIAamp DSP Virüs Kiti (ekstraksiyon hacmi: 0,5 ml, elüsyon hacmi: 26 μ l). 7 dilüsyonun her biri *artus* HBV RG PCR Kitinde 3 farklı günde 8 replikat ile analiz edilmiştir. Sonuçlar probit analiziyle belirlenmiştir. Probit analizinin grafik bir temsili Şekil 1'de verilmiştir. Rotor-Gene 3000 ile kombinasyon halinde *artus* HBV RG PCR Kitinin saflaştırılması dikkate alınarak analitik saptama limiti 3,8 IU/ml'dir ($p = 0,05$). Bu durum 3,8 IU/ml'nin saptanması olasılığının %95 olduğunu göstermektedir.



Şekil 1. Probit analizi: HBV (Rotor-Gene 3000). Rotor-Gene 3000 üzerinde *artus* HBV RG PCR Kitinin saflaştırılması (QIAamp DSP Virüs Kiti, QIAGEN) dikkate alınarak analitik hassasiyet.

Özgüllük

artus HBV RG PCR Kiti özgüllüğü öncelikle primer ve probaların seçilmesi ve ayrıca katı reaksiyon koşullarının seçilmesiyle sağlanır. Primerler ve probalar gen bankalarında yayımlanmış tüm dizilere olası homolojiler açısından sekans karşılaştırma analiziyle kontrol edilmiştir. Tüm ilgili genotiplerin saptanabilirliği bu şekilde Rotor-Gene Aletleri üzerinde veri tabanı hizalaması ve aşağıdaki genotiplerle bir PCR çalışmasıyla sağlanmıştır (bakınız Tablo 1).

Tablo 1. İlgili genotiplerin özgüllüğünün test edilmesi

Virüs	Genotip	Kaynak	HBV (Cycling Green veya A.FAM)	Dahili kontrol (Cycling Yellow veya A. JOE)
HBV	A (ABD)	Teragenix*	+	+
HBV	B (Endonezya)	Teragenix	+	+
HBV	C (Endonezya)	Teragenix	+	+
HBV	C (Venezuela)	Teragenix	+	+
HBV	D (ABD)	Teragenix	+	+
HBV	E (Fildişi Sahili)	Teragenix	+	+
HBV	F (Venezuela)	Teragenix	+	+
HBV	G (ABD)	Teragenix	+	+
HBV	H (Nikaragua)	Teragenix	+	+

* Teragenix Corporation, Florida, USA.

Ek özgüllük testi için, HBV genomunun pre-kor bölgesinde bilinen sekans farklılıkları olan HBV suşları (HBV Pre-Core Mutant Panel, Teragenix, Florida, ABD) kullanılmıştır. Bu panelin 9 pre-kor mutant suşunun hepsi *artus* HBV RG PCR Kiti kullanılarak saptanabilmektedir.

Ayrıca özgüllük 100 farklı HBV negatif plazma örneğiyle doğrulanmıştır. Bunlar HBV RG/TM Master'a dahil edilen HBV'ye spesifik primerler ve proplarla herhangi bir sinyal oluşturmamıştır.

artus HBV RG PCR Kiti olası çapraz reaktivitesi Tablo 2'de liste halinde verilen kontrol grubu kullanılarak test edilmiştir (sayfa 11). Test edilen patojenlerin hiçbiri reaktif bulunmamıştır. Karışık enfeksiyonlarla çapraz reaktivite görülmemiştir.

Lineer aralık

artus HBV RG PCR Kitinin lineer aralığı (analitik ölçüm) 1×10^8 IU/ μ l ile 1×10^2 IU/ μ l aralığında bir HBV kantitasyon standardı dilüsyon serisinin analiziyle belirlenmiştir. Dilüsyon serisi DSÖ 1. Uluslararası HBV DNA Standardına göre kalibre edilmiştir.

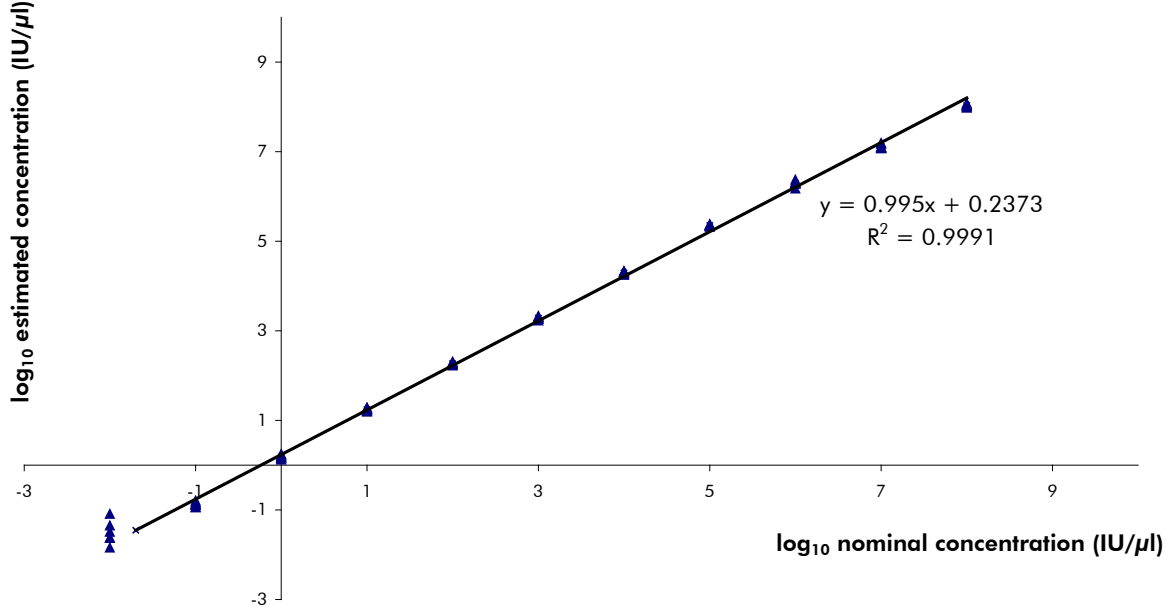
Her dilüsyon Rotor-Gene Aletleri üzerinde *artus* HBV RG PCR Kiti kullanılarak replikatlar halinde ($\geq 1 \times 10^0$ IU/ μ l konsantrasyonlar için n = 8; $< 1 \times 10^0$ IU/ μ l konsantrasyonlar için n = 16) test edilmiştir.

Tablo 2. Kitin özgüllüğünün potansiyel çapraz reaktif patojenlerle test edilmesi

Kontrol grubu	HBV (Cycling Green veya Cycling A.FAM)	Dahili kontrol (Cycling Yellow veya Cycling A.JOE)
İnsan herpes virüsü 1 (Herpes simpleks virüsü 1)	-	+
İnsan herpes virüsü 2 (Herpes simpleks virüsü 2)	-	+
İnsan herpes virüsü 3 (Varisella-zoster virüsü)	-	+
İnsan herpes virüsü 4 (Epstein-Barr virüsü)	-	+
İnsan herpes virüsü 5 (Sitomegalovirüs)	-	+
İnsan herpes virüsü 6	-	+
İnsan immünyetmezlik virüsü 1	-	+
Hepatit A virüsü	-	+
Hepatit C virüsü	-	+
Parvovirüs B19	-	+
Sarı humma virüsü	-	+
İnsan T hücreli lösemi virüsü tip 1 ve tip 2	-	+
Coxsackie virüsü B3	-	+
Dang virüsü 1-4	-	+
<i>Escherichia coli</i>	-	+

artus HBV RG PCR Kitinin lineer aralığının 0,02 IU/ μ l değerinden en az 1 x 10⁸ IU/ μ l değerine kadar konsantrasyonları kapsadığı belirlenmiştir (Şekil 2).

DNA ekstraksiyonu için QIAamp DSP Virüs Kitinin kullanıldığı varsayılırsa *artus* HBV RG PCR Kiti 1,1 IU/ml değerinden en az 4×10^9 IU/ml değerine kadar lineer bir aralığı kapsar.



Şekil 2. *artus* HBV RG PCR Kitinin lineer aralığı. Linear aralığın hesaplanması. Düz çizgi log₁₀ nominal konsantrasyonlarla log₁₀ hesaplanmış konsantrasyonların lineer regresyonuyla belirlenmiştir. Regresyon çizgisinin denklemi şekle dahil edilmiştir.

Kesinlik

artus HBV RG PCR Kitinin kesinlik verileri testin toplam varyansının belirlenmesini mümkün kılar. Toplam varyans, analiz içi değişkenlik (bir deneyde aynı konsantrasyondan örneklerin birden fazla sonucunun değişkenliği), analizler arası değişkenlik (bir laboratuvarında farklı kullanıcılar tarafından aynı tipte farklı aletlerde oluşturulan birden fazla tahlil sonucunun değişkenliği) ve gruplar arası değişkenlikten (çeşitli gruplar kullanılarak tahlilin birden fazla sonucunun değişkenliği) oluşur. Elde edilen veriler patojene spesifik ve dahili kontrol PCR için varyasyon katsayısını, varyansı ve standart sapmayı belirlemek için kullanılmıştır.

artus HBV RG PCR Kitinin kesinlik verileri en düşük konsantrasyonun (QS 5; 10 IU/μl) Kantitasyon Standardı kullanılarak toplanmıştır. Testler 8 replikat ile yapılmıştır. Kesinlik verileri amplifikasyon eğrilerinin C_T değerleri temelinde hesaplanmıştır (C_T: eşik döngüsü, bakınız Tablo 3, sayfa 13). Ayrıca, IU/μl olarak kantitatif sonuçlar için kesinlik verileri karşılık gelen C_T değerleri kullanılarak belirlenmiştir (Tablo 4). Bu sonuçlar temelinde belirtilen konsantrasyona sahip herhangi bir belirli örneğin genel istatistiksel dağılımı %1,29 (C_T) veya %8,99 (konsantrasyon) şeklindedir ve dahili kontrolün

saptanması için %1,87'dir (C_T) Bu değerler belirlenmiş değişkenliklerin tüm tek değerlerinin toplamı temelindedir.

Tablo 3. C_T değerleri temelinde kesinlik verileri

	Standart sapma	Varyans	Varyasyon katsayısı (%)
Tahliller içi değişkenlik: HBV RG/TM QS 5	0,09	0,01	0,32
Tahliller içi değişkenlik: Dahili kontrol	0,10	0,01	1,06
Tahliller arası değişkenlik: HBV RG/TM QS 5	0,14	0,02	0,49
Tahliller arası değişkenlik: Dahili kontrol	0,29	0,08	1,00
Gruplar arası değişkenlik: HBV RG/TM QS 5	0,38	0,15	1,39
Gruplar arası değişkenlik: Dahili kontrol	0,62	0,39	2,23
Toplam varyans: HBV RG/TM QS 5	0,36	0,13	1,29
Toplam varyans: Dahili kontrol	0,52	0,27	1,87

Tablo 4. Kantitatif sonuçlar (IU/µl olarak) temelinde kesinlik verileri

	Standart sapma	Varyans	Varyasyon katsayısı (%)
Tahliller içi değişkenlik: HBV RG/TM QS 5	0,93	0,87	9,28
Tahliller arası değişkenlik: HBV RG/TM QS 5	0,79	0,63	7,92
Gruplar arası değişkenlik: HBV RG/TM QS 5	1,03	1,05	10,21
Toplam varyans: HBV RG/TM QS 5	0,90	0,81	8,99

Güçlülük

Güçlülüğün doğrulanması *artus* HBV RG PCR Kiti toplam başarısızlık oranının belirlenmesini mümkün kılar. Güçlülüğü doğrulamak için, 100 HBV negatif plazma örneğine 0,05 IU/µl elüsyon hacminde HBV kontrol DNA eklenmiştir (analitik hassasiyet limitinin yaklaşık üç katı konsantrasyon). QIAamp DSP Virüs Kiti kullanılarak ekstraksiyondan sonra (bakınız "DNA izolasyonu", sayfa 19) bu örnekler *artus* HBV RG PCR Kiti ile analiz edilmiştir. Tüm HBV örnekleri için başarısızlık oranı %0'dır. Ayrıca dahili kontrolün güçlülüğü 100 HBV negatif plazma örneğinin saflaştırılması ve analizi ile değerlendirilmiştir. Toplam başarısızlık oranı %0'dır. İnhibisyonlar gözlenmemiştir. Böylece *artus* HBV RG PCR Kitinin güçlülüğü \geq %99'dur.

Tekrar Üretilirlik

Tekrar üretilebilirlik verileri *artus* HBV RG PCR Kitinin düzenli performans değerlendirmesine ve ayrıca başka ürünlerle etkinlik karşılaştırmasına izin verir. Bu veriler belirlenmiş verimlilik programlarına katılımı elde edilir.

Diagnostik değerlendirme

2 bağımsız laboratuvarında yapılan bir çalışmada *artus* HBV RG PCR Kiti COBAS® TaqMan® HBV Testiyle karşılaştırılmıştır. Bu amaçla 287 retrospektif ve prospektif plazma numunesi test edilmiştir.

artus HBV RG PCR Kitinin test edilmesi için HBV DNA, QIAamp DSP Virüs Kiti kullanılarak izole edilmiştir ve analiz Rotor-Gene 3000 Aleti üzerinde

yapılmıştır. COBAS TaqMan HBV Testinin karşılaştırmalı testi için HBV DNA prospektüste sağlanan üretici talimatına göre izole edilmiştir. *artus* HBV RG PCR Kiti kullanılarak elde edilen sonuçlar COBAS TaqMan HBV Testininkilerle karşılaştırılmıştır.

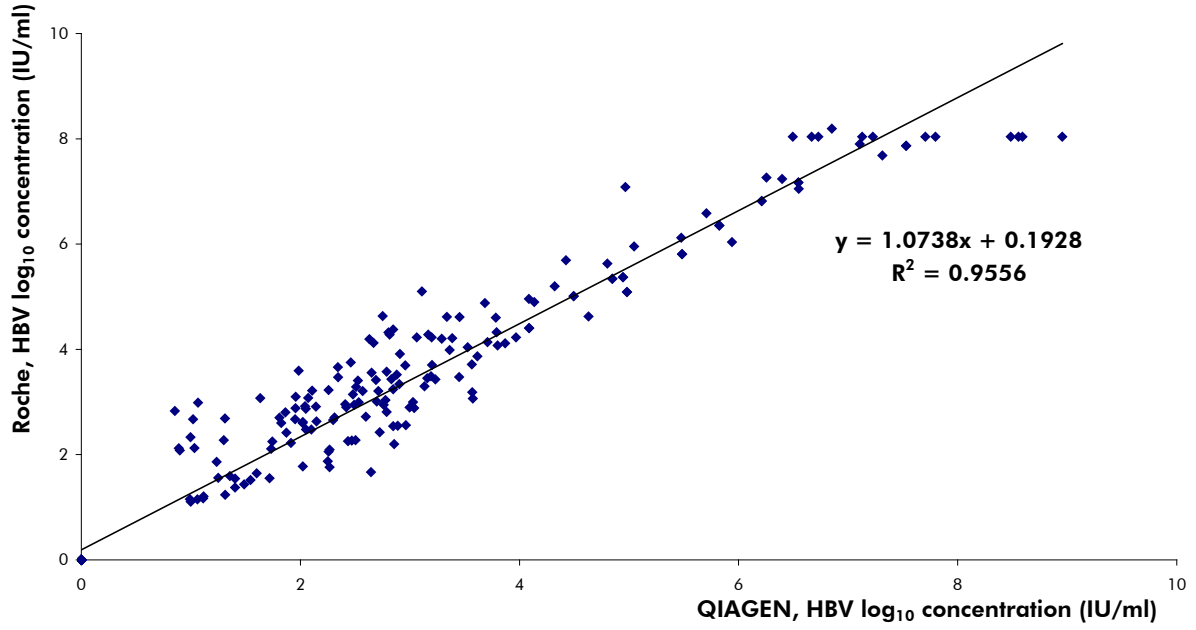
Referans testi olarak COBAS TaqMan HBV Testiyle toplanan sonuçlarla karşılaştırıldığında tüm plazma örnekleri açısından *artus* HBV RG PCR Kiti için diagnostik hassasiyet olarak %100 ve diagnostik özgüllük olarak %97 saptanmıştır. Sonuçlar Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Karşılaştırmalı doğrulama çalışması sonuçları

		COBAS TaqMan HBV Testi		
		+	-	Toplam
<i>artus</i> HBV RG PCR Kiti	+	186	3	189
	-	0	98	98

3 uyumsuz örnekle yapılan ek testler *artus* HBV RG PCR Kitinin sonuçlarını doğrulamıştır. Bu nedenle uyumsuzluğun *artus* HBV RG PCR Kitinin daha yüksek hassasiyetinden kaynaklandığı varsayılabilir.

Her iki test sisteminden kantitatif sonuçların korelasyonu lineer regresyonla analiz edilmiştir. Her iki kitin sonuçları karşılaştırmalı olarak Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3. COBAS TaqMan HBV Testinin (Roche, HBV; High Pure sistemi kullanılarak örnek saflaştırılmalı) *artus* HBV RG PCR Kitiyle (QIAGEN, HBV; QIAamp DSP Virüs Kiti kullanılarak örnek saflaştırılmalı) karşılaştırması. Her iki test sisteminden kantitatif sonuçların korelasyonu (Tablo 5) lineer regresyonla analiz edilmiştir. Her iki kitle sonuçlar bir XY (saçılım) plotunda log–log ölçeğiyle gösterilmiştir.

Kullanıcı Tarafından Sağlanacak Ekipman ve Reaktifler

Kimyasallarla çalışırken daima uygun bir laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldivenler ve koruyucu gözlükler kullanın. Daha fazla bilgi için, ürün tedarikçisinden elde edilebilecek uygun güvenlik veri sayfalarına (SDS'ler) başvurun.

- DNA izolasyon kiti (bakınız "DNA izolasyonu", sayfa 19)
- Pipetler (ayarlanabilir)*
- Filtreli steril pipet uçları
- Vorteks karıştırıcı*
- 2 ml reaksiyon tüpleri için rotorlu Tezgah santrifüjü*
- Cycling Green ve Cycling Yellow için floresans kanallı veya Cycling A.FAM ve Cycling A.JOE için floresans kanallı Rotor-Gene Q veya Rotor-Gene Aleti*
- Rotor-Gene Q yazılım versiyonu 1.7.94 (Rotor-Gene 6000 yazılım versiyonu 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94; Rotor-Gene 3000 yazılım versiyonu 6.0.23)
- Strip Tüpleri ve Kapakları, 0,1 ml, 72 kuyulu rotor ile kullanım için (kat. no. 981103 veya 981106)
- Alternatif olarak: PCR Tüpleri, 0,2 ml, 36 kuyulu rotor ile kullanım için (kat. no. 981005 veya 981008)
- Soğutma bloğu (Yükleme Bloğu 72 x 0,1 ml Tüp, kat. no. 9018901 veya Yükleme Bloğu 96 x 0,2 ml Tüp, kat. no. 9018905)

* Aletlerin üreticinin önerilerine göre kontrol edildiği ve kalibre edildiğinden emin olun.

Önemli Notlar

Genel önlemler

Kullanıcı şunlara daima dikkat etmelidir:

- Filtreli steril pipet uçları kullanın.
- Pozitif materyalleri (numuneler, pozitif kontroller ve amplikonlar) tüm diğer reaktiflerden ayrı saklayın ve ekstrakte edin ve bunları reaksiyon karışımına konumsal açıdan ayrılmış bir yerde ekleyin.
- Bir tahlile başlamadan önce tüm bileşenleri oda sıcaklığında (15–25°C) iyice çözün.
- Çözündüğünde, bileşenleri karıştırın (tekrar tekrar yukarı ve aşağı pipetleyerek veya puls vortekslemeyle) ve kısa süre santrifüje edin.
- Hızlı çalışın ve bileşenleri buz üzerinde veya soğutma bloğunda tutun (72/96 kuyulu yükleme bloğu).

Numune toplama, saklama ve nakli

i Tüm örnekler enfeksiyöz olabilecek materyal gibi muamele edilmelidir.

i Güncel çalışmalar HBV saptama için en uygun örnek materyalleri olarak EDTA veya sitratlı plazmadan bahsetmektedir. Bu nedenle *artus* HBV RG PCR Kiti ile bu materyallerin kullanılmasını öneririz.

artus HBV RG PCR Kitinin dahili doğrulaması insan EDTA plazma örnekleri kullanılarak yapılmıştır. Başka örnek materyalleri doğrulanmamıştır. Lütfen örnek hazırlama için sadece önerilen nükleik asit izolasyon kitini (bakınız "DNA izolasyonu", sayfa 19) kullanın.

Bazı örnek materyalleri kullanılırken taşıma, nakil ve saklamayla ilgili belirli talimata katı şekilde uyulması gerekir.

Numune toplama

Her kan alınması kan damarlarında (arterler, venler, kapillerler) hasara neden olur. Sadece zararsız ve steril materyal kullanılmalıdır. Kan alma için uygun tek kullanımlık malzeme mevcuttur. Ven ponksiyonları için çok ince kapiller iğneler kullanılmamalıdır. Venöz kan alınması dirsek eklemi, ön kol ve elin arkasının uygun kısımlarında yapılmalıdır. Kanın standart numune toplama tüplerine (kırmızı kapak, Sarstedt veya başka üreticinin eşdeğer tüpü) alınması gerekir. 5–10 ml hacminde EDTA'lı kan alınmalıdır. Tüpler örnek alındıktan hemen sonra ters çevrilerek karıştırılmalıdır (8 x, sallamayın).

i Heparinize insanlardan alınan örnekler kullanılmamalıdır (bakınız “Olumsuz etkileyen maddeler”, alt).

Örnek saklama

Tam kan 6 saat içinde 20 dakika 800–1600 x g hızında santrifügasyon ile plazma ve hücresel bileşenlerine ayrılmalıdır. İzole edilen plazmanın mutlaka steril polipropilen tüplere aktarılması gerekir. Örnekleri rutin olarak dondurursanız veya daha uzun süre saklarsanız analizin hassasiyeti azalabilir. Virüs kapsüllü DNA'sı 4°C'de saklanırsa günlerce, –20°C'de saklanırsa haftalarca ve hatta –70°C'de saklanırsa aylarca ve yıllarca stabildir.*

Örnek taşıma

Örnek materyali prensip olarak kırılmaz bir taşıma kabında taşınmalıdır. Bu şekilde örnek sızması nedeniyle olası enfeksiyon tehlikesinden kaçınılabilir. Örnekler, patojenik materyalin taşınması için yerel ve ulusal talimat izlenerek taşınmalıdır.†

Örnekler 6 saat içinde sevk edilmelidir. Örnekleri alındıkları yerde saklamak önerilmez. Örnekleri patojenik materyalin taşınması için yasal talimat izlenerek postayla göndermek mümkündür. Örneklerin bir kuryeyle gönderilmesini öneriyoruz. Kan örnekleri soğutulmuş (2 – 8°C) olarak ayrılmış plazma derin dondurulmuş (–15 - –30°C) olarak gönderilmelidir.

Olumsuz etkileyen maddeler

Artmış bilirubin (≤ 15 mg/dl) ve lipid (≤ 800 mg/dl) seviyeleri ve hemolitik örnekler sistemi etkilemez. Heparin (≥ 10 IU/ml) PCR'ı etkiler. Antikoagülan olarak heparin içeren tüplere toplanmış örnekler kullanılmamalıdır. Ayrıca heparinize hastaların örnekleri kullanılmamalıdır.

DNA izolasyonu

QIAamp DSP Virüs Kiti (QIAGEN, kat. no. 60704) *artus* HBV RG PCR Kitiyle kullanılmak üzere insan plazmasından viral DNA saflaştırma için doğrulanmıştır. Viral DNA saflaştırmayı *QIAamp DSP Virüs Kiti El Kitabındaki* talimata göre yapın.

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

† Uluslararası Hava Taşımacılığı Derneği (IATA). Dangerous Goods Regulations (Tehlikeli Mallar Düzenlemesi).

① Ekstraksiyon etkinliği ve sonuşta DNA/RNA verimi açısından taşıyıcı RNA kullanılması çok önemlidir. QIAamp DSP Virüs Kiti ile sağlanan taşıyıcı RNA'nın stabilitesini arttırmak için talimat el kitabında verilen taşıyıcı RNA tekrar oluşturma ve saklamayla ilgili bilgilere göre ilerlemenizi öneririz (“Reaktifler ve tamponları hazırlama”).

① *artus* HBV RG PCR Kitinin dahili kontrolü izolasyon işleminde doğrudan kullanılabilir (bakınız aşağıda “Dahili kontrol”). Saflaştırma sırasında negatif bir plazma örneğini birlikte işlediğinizden emin olun. Karşılık gelen dahili kontrol sinyali saflaştırmayı değerlendirmenin temeli olarak görev yapar

Dahili kontrol

Bir dahili kontrol (HBV RG/TM IC) sağlanmıştır. Bu durum kullanıcının hem DNA izolasyon prosedürünü kontrol etmesine hem de olası PCR inhibisyonunu kontrol etmesine izin verir. Bu uygulama için dahili kontrolü 1 μ l elüsyon hacmi başına 0,1 μ l oranında izolasyona ekleyin. Örneğin QIAamp DSP Virüs Kiti kullanıldığında, DNA elüsyonu 60 μ l Elüsyon Tamponu (AVE) içinde yapılır. Bu nedenle başlangıçta 6 μ l dahili kontrol eklenmelidir. Dahili kontrol miktarı sadece elüsyon hacmine bağlıdır.

① Dahili kontrol ve taşıyıcı RNA (bakınız “DNA izolasyonu”, sayfa 19) sadece lizis tamponu ile örnek materyali karışımına veya doğrudan lizis tamponuna eklenmelidir.

Dahili kontrol örnek materyaline doğrudan eklenmemelidir. Lizis tamponuna eklenirse dahili kontrol ve lizis tamponu–taşıyıcı RNA karışımının taze olarak hazırlanıp hemen kullanılması gerektiğine lütfen dikkat edin (karışımın oda sıcaklığı veya buzdolabında sadece birkaç saatliğine bile saklanması dahili kontrol başarısızlığı ve azalmış ekstraksiyon etkinliğine yol açabilir).

① Dahili kontrol ve taşıyıcı RNA'yı doğrudan örnek materyaline eklemeyin.

Bir saflaştırmayı başarılı kabul etmek için saflaştırma (QIAamp DSP Virüs Kiti) sırasında işlenmiş bir negatif plazma rneği dahili kontrolü C_T değerinin Rotor-Gene Q Aletleri kullanılarak $C_T = 29 \pm 3$ (eşik: 0,03) değerine ulaşması gerekir. Belirtilen aralık saflaştırma ve aletin varyansını temel alır. Daha büyük bir sapma bir saflaştırma problemine işaret eder. Bu durumda saflaştırmanın kontrol edilip gerekirse ikinci bir kez doğrulanması gerekir. Başka bir sorunuz varsa veya sorun yaşarsanız lütfen QIAGEN Teknik Servisi ile irtibat kurun.

Dahili kontrol isteğe bağlı olarak sadece olası PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanılabilir. Bu uygulama için dahili kontrolü protokolde adım 2b'de tanımlandığı gibi (sayfa 23) doğrudan HBV RG/TM Master kısmına ekleyin.

PCR analizi için eşiği ayarlama

Rotor-Gene Q aleti ve *artus* RG PCR Kitinin belirli bir kombinasyonu için optimum eşik ayarları her ayrı kombinasyonu deneysel olarak test etme yoluyla belirlenmelidir çünkü genel diagnostik iş akışına bağlı relatif bir değerdir. Başlangıç noktası olarak eşik ilk PCR çalışmasının analizi için 0,04 şeklinde bir ön değere ayarlanabilir ama bu değer iş akışında sonraki çalışmaların karşılaştırmalı analiziyle ince bir şekilde ayarlanmalıdır. Eşik manuel olarak negatif kontrollerin ve negatif örneklerin arka plan sinyalinin hemen üzerinde ayarlanmalıdır. Bu deneylerden hesaplanan ortalama eşik değeri muhtemelen gelecekteki çalışmaların çoğunluğuyla çalışacaktır ama kullanıcı yine de oluşturulan eşik değerini düzenli aralıklarla gözden geçirmelidir. Eşik değeri genellikle 0,03–0,05 aralığında olacaktır ve virgülden sonra en fazla üç rakam olacak şekilde yuvarlanmalıdır.

Kantitasyon

Sağlanan kantitasyon standartları (HBV RG/TM QS 1–5) daha önce saflaştırılmış örneklerle aynı şekilde muamele edilir ve aynı hacim kullanılır (20 µl). Rotor-Gene Q aletleri üzerinde standart bir eğri oluşturmak için 5 kantitasyon standardının hepsi kullanılmalı ve belirtilen konsantrasyonlarla standartlar olarak "Edit Samples" (Örnekleri Düzenle) diyalog kutusunda tanımlanmalıdır (bakınız alet kullanım kılavuzu).

i Kantitasyon standartları IU/µl olarak tanımlanır.* Aşağıdaki denklemin standart eğri kullanılarak belirlenen değerleri örnek materyalinden IU/ml değerine dönüştürmek için uygulanması gerekir.

$$\text{Sonuç (IU/ml)} = \frac{\text{Sonuç (IU/µl)} \times \text{Elüsyon Hacmi (µl)}}{\text{Örnek Hacmi (ml)}}$$

Prensip olarak yukarıdaki denkleme başlangıç örnek hacmi girilmelidir. Örnek hacmi nükleik asit ekstraksiyonu öncesinde değiştirildiğinde bunun dikkate alınması gerekir (örn. hacmin santrifügasyonla azaltılması veya izolasyon için gerekli hacme ekleme yapılarak hacmin artırılması).

* Standart 1. Uluslararası HBV standardı (DSÖ) kullanılarak kalibre edilmiştir.

Protokol: PCR ve Veri Analizi

i Başlamadan önce önemli noktalar

- İşleme başlamadan önce "Önemli Notlar" kısmını (sayfa 18–21 okuyun.
- Protokole başlamadan önce Rotor-Gene Q aletine aşına hale gelmek için zaman ayırın. Alet kullanım kılavuzuna bakınız.
- Her PCR çalışmasında en az bir kantitasyon standardı ve ayrıca bir negatif kontrol (Su, PCR sınıfı) dahil edildiğinden emin olun. Standart bir eğri oluşturmak için her PCR çalışması için sağlanan 5 kantitasyon standardının (HBV RG/TM QS 1–5) hepsini kullanın.

Başlamadan önce yapılacaklar

- Soğutma bloğunun (Rotor-Gene Q Aletinin aksesuarı) 2–8°C'ye önceden soğutulduğundan emin olun.
- Her kullanımdan önce tüm reaktiflerin tamamen çözünmesi, karıştırılması (tekrarlanan yukarı ve aşağı pipetleme veya hızlı vorteksleme ile) ve kısa süre santrifüje edilmesi gerekir.

İşlem

1. İstenen sayıda PCR tüpünü soğutma bloğunun adaptörlerine yerleştirin.
2. Dahili kontrolü DNA izolasyon işlemini izlemek ve olası PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanıyorsanız adım 2a'yı izleyin. Dahili kontrolü sadece PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanıyorsanız adım 2b'yi izleyin.
- 2a. Dahili kontrol, izolasyona zaten eklenmiştir (bakınız "Dahili kontrol", sayfa 20). Bu durumda Tablo 6 uyarınca bir master karışım hazırlayın.

Tablo 6. Master karışımın hazırlanması (dahili kontrol DNA izolasyonunu izlemek ve PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanılıyor)

Örneklerin sayısı	1	12
HBV RG/TM Master	30 µl	360 µl
HBV RG/TM IC	0 µl	her birinden 0 µl
Toplam hacim	30 µl	her birinden 360 µl

2b. Dahili kontrol doğrudan HBV RG/TM Master'a eklenmelidir. Bu durumda Tablo 7 uyarınca bir master karışım hazırlayın.

Reaksiyon karışımı tipik olarak örnek dışında PCR için gerekli tüm bileşenleri içerir.

Tablo 7. Master karışımın hazırlanması (dahili kontrol sadece PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanılıyor)

Örneklerin sayısı	1	12
HBV RG/TM Master	30 µl	360 µl
HBV RG/TM IC	2 µl	24 µl
Toplam hacim	32 µl*	384 µl*

* Dahili kontrolü eklemenin neden olduğu hacim artışı, PCR tahlili hazırlanırken dikkate alınmaz. Saptama sisteminin hassasiyeti etkilenmez.

3. Her PCR tüpüne master karışımından 30 µl pipetleyin. Sonra elüsyon yapılmış örnek DNA'sından 20 µl ekleyin (bakınız Tablo 8). Buna karşılık olarak kantitasyon standartlarının (HBV RG/TM QS 1–5) en az birinden 20 µl pozitif kontrol olarak ve 20 µl su (Su, PCR sınıfı) negatif kontrol olarak kullanılmalıdır.

Tablo 8. PCR tahlilini hazırlama

Örneklerin sayısı	1	12
Master karışım	30 µl	her birinden 30 µl
Örnek	20 µl	her birinden 20 µl
Toplam hacim	50 µl	her birinden 50 µl

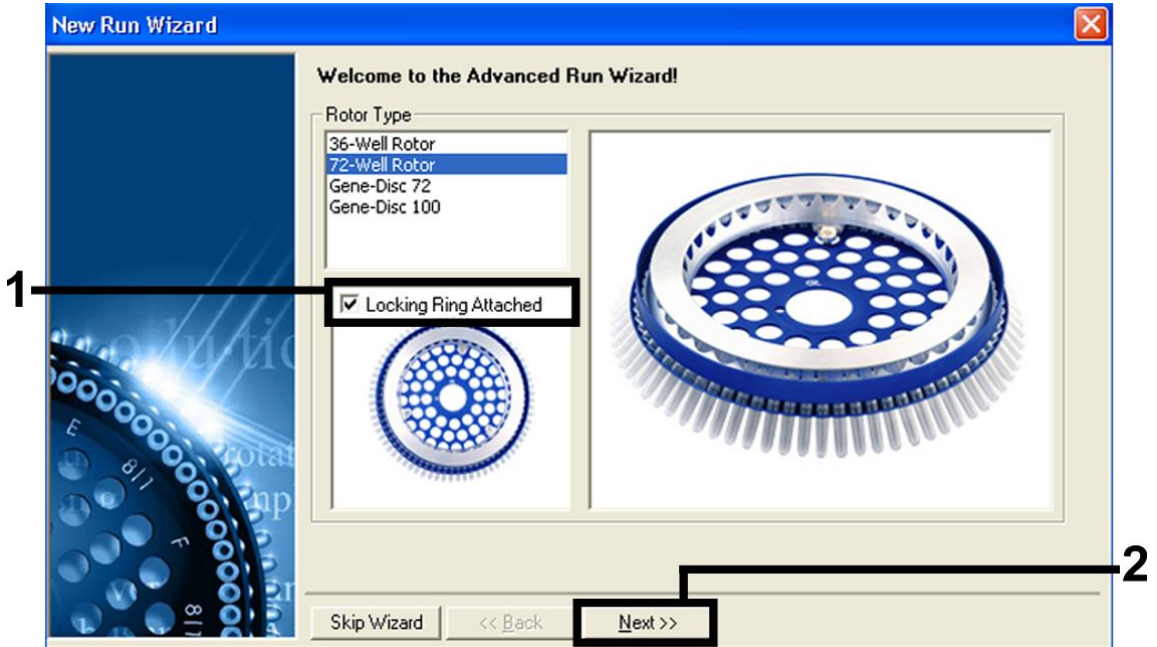
4. PCR tüplerini kapatın. Kilitleme halkasının (Rotor-Gene Aletinin aksesuarı) tüplerin çalışma sırasında yanlışlıkla açılmasını önlemek üzere rotorun üstüne yerleştirildiğinden emin olun.

5. HBV DNA saptamak için aşağıdaki adımlara göre bir sıcaklık profili oluşturun.

Genel tahlil parametrelerini kurma	Şekil 4, 5, 6
Hot-start enziminin başlangıç aktivasyonu	Şekil 7
DNA amplifikasyonu	Şekil 8
Floresans kanalı hassasiyetini ayarlama	Şekil 9
Çalışmayı başlatma	Şekil 10

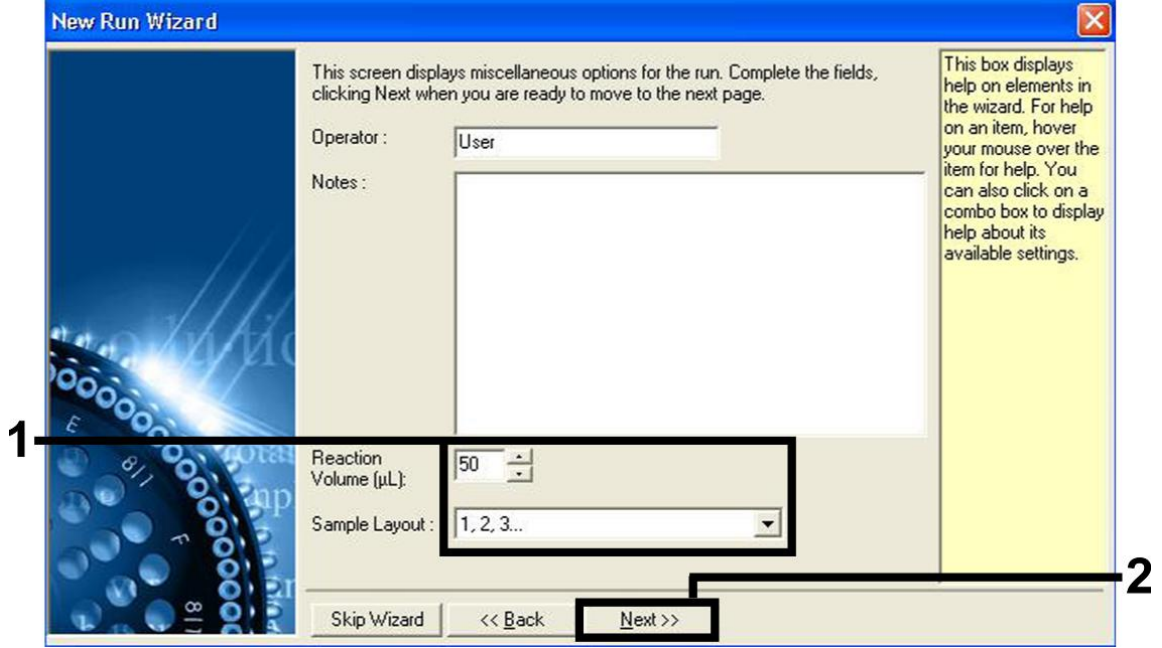
Tüm spesifikasyonlar Rotor-Gene Q yazılım versiyonu 1.7.94, Rotor-Gene 6000 yazılım versiyonları 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94 ve Rotor-Gene 3000 yazılım versiyonu 6.0.23 ile ilişkilidir. Rotor-Gene Aletlerini programlamak ile ilgili ek bilgiyi alet kullanım kılavuzunda bulabilirsiniz. Şekillerde bu ayarlar kalın siyah çerçeveyle gösterilmiştir. Rotor-Gene Q Aletleri için şekiller dahil edilmiştir. Rotor-Gene 3000 için farklı değerler gerektiğinde bu farklar metinde tanımlanmıştır.

6. Önce “New Run Wizard” (Yeni Çalışma Sihirbazı) diyalog kutusunu açın (Şekil 4). “Locking Ring Attached” (Kilitleme Halkası Tutturulmuş) kutusunu seçin ve “Next” (Sonraki) kısmına tıklayın.



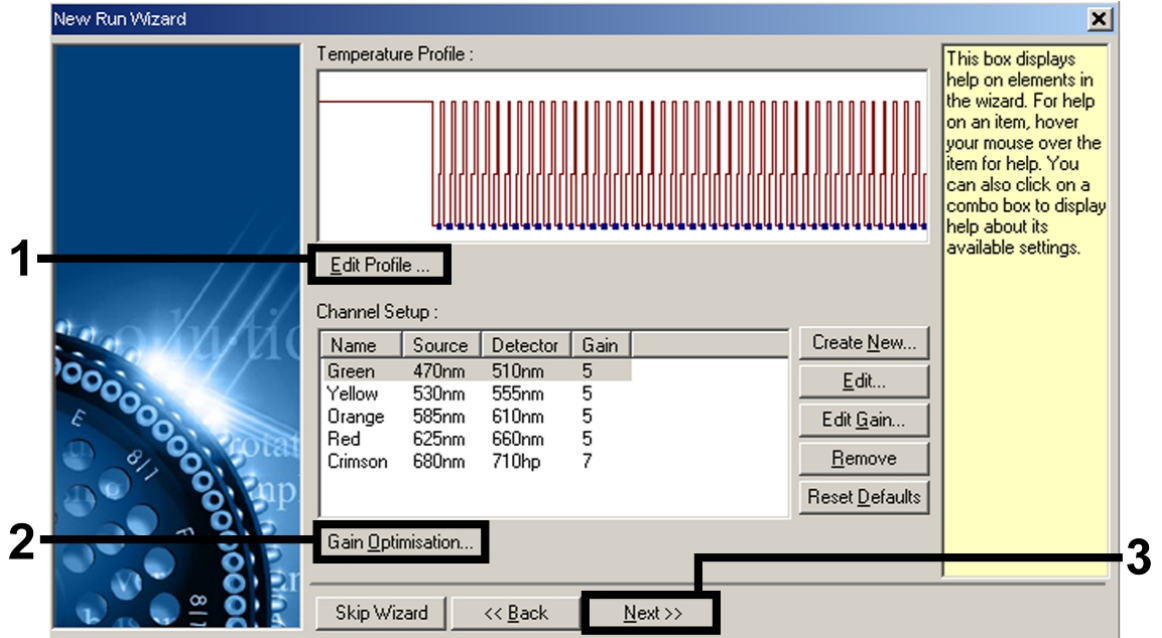
Şekil 4. “New Run Wizard” diyalog kutusu.

7. PCR reaksiyon hacmi için 50 seçin ve "Next" kısmına tıklayın (Şekil 5).

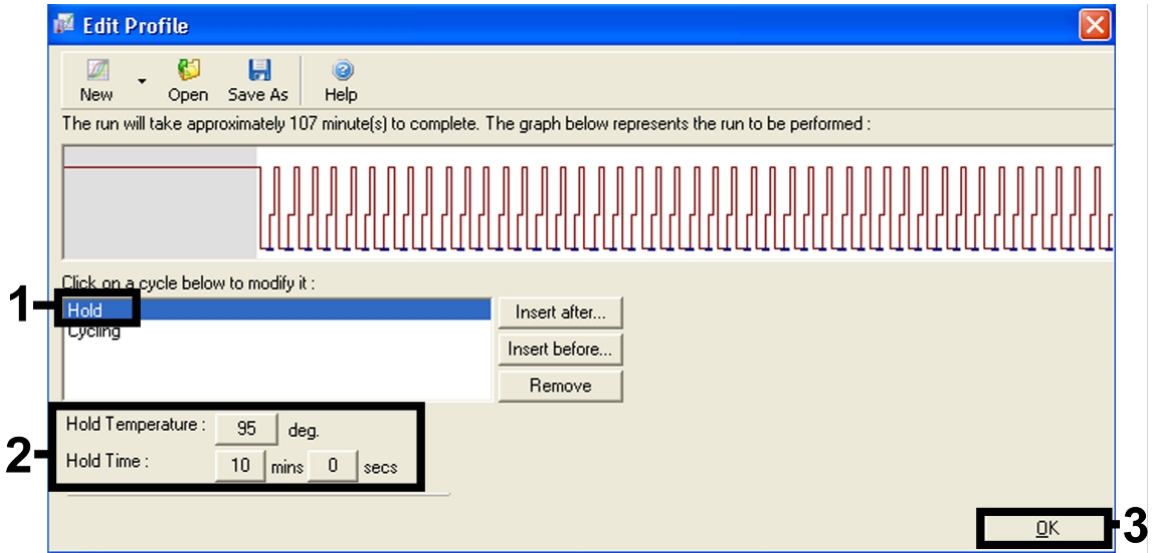


Şekil 5. Genel tahlil parametrelerini kurma.

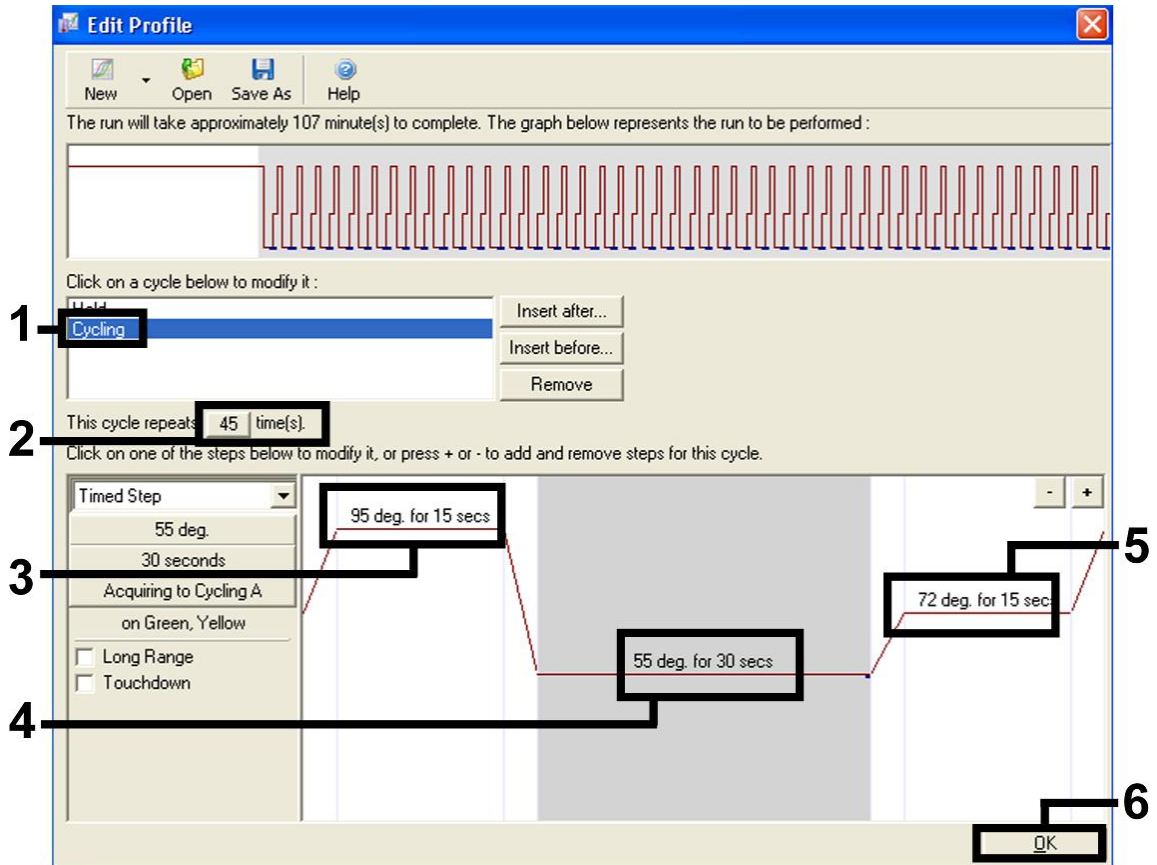
8. Sonraki "New Run Wizard" diyalog kutusunda "Edit Profile" (Profil Düzenle) düğmesine tıklayın (Şekil 6) ve sıcaklık profilini Şekil 6-8'de gösterildiği gibi programlayın.



Şekil 6. Profili düzenleme.

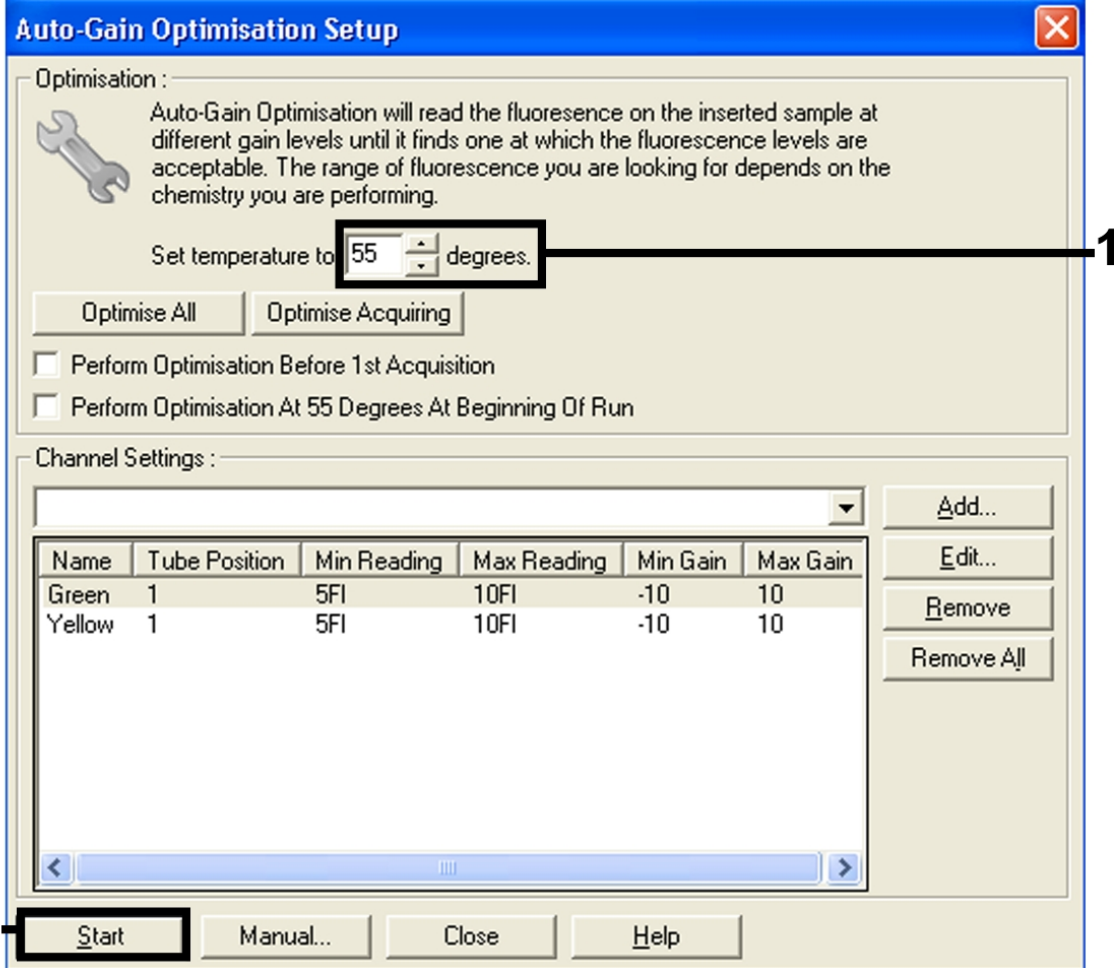


Şekil 7. Hot-start enziminin başlangıç aktivasyonu.



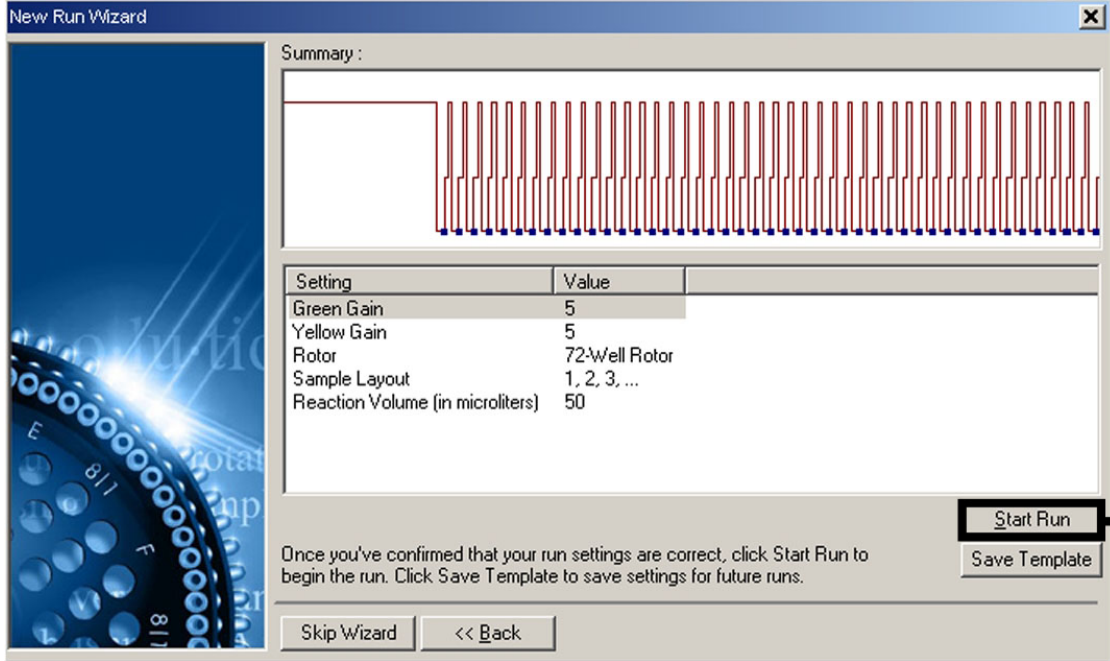
Şekil 8. DNA amplifikasyonu. Rotor-Gene 3000 üzerinde yazılımın, floresans boyalarını "FAM/Sybr, JOE" olarak tanımlayacağına dikkat edin.

9. Floresans kanalları için saptama aralığının PCR tüplerindeki floresans şiddetlerine göre belirlenmesi gerekir. "Auto-Gain Optimisation Setup" (Otomatik Kazanç Optimizasyon Kurulumu) diyalog kutusunu açmak için "New Run Wizard" diyalog kutusunda "Gain Optimisation" (Kazanç Optimizasyonu) kısmına tıklayın (bakınız Şekil 6). Kalibrasyon sıcaklığını, amplifikasyon programının birleştirme sıcaklığıyla eşleşmesi için 55 olarak ayarlayın (Şekil 9).



Şekil 9. Floresans kanalı hassasiyetini ayarlama. Rotor-Gene 3000 üzerinde yazılımın, floresans boyalarını "FAM/Sybr" ve "JOE" olarak tanımlayacağına dikkat edin.

10. Kanal kalibrasyonu tarafından belirlenen kazanç değerleri otomatik olarak kaydedilir ve programlama işleminin son menü penceresinde liste halinde verilir (Şekil 10). "Start Run" (Çalışmayı Başlat) kısmına tıklayın.



Şekil 10. Çalışmayı başlatma. Rotor-Gene 3000 üzerinde yazılımın, floresans boyalarını "FAM/Sybr" ve "JOE" olarak tanımlayacağına dikkat edin.

11. Çalışma bittiğinde verileri analiz edin. Aşağıdaki sonuçlar (11a, 11b ve 11c) mümkündür.

Pozitif ve negatif PCR reaksiyonları örnekleri Şekil 11 ve Şekil 12'de verilmiştir.

- 11a. Cycling Green floresans kanalında sinyal saptandı.
Analizin sonucu pozitifdir: örnek HBV DNA içerir.

Bu durumda Cycling Yellow kanalında bir sinyalin saptanması kullanılmayabilir çünkü yüksek başlangıç HBV DNA konsantrasyonları (Cycling Green kanalında pozitif sinyal) Cycling Yellow kanalında dahili kontrol floresans sinyalinin azalmış olması veya olmamasına neden olabilir (rekabet).

i Rotor-Gene 3000 üzerinde ilgili kanalların pozitif sinyal için Cycling A.FAM ve dahili kontrol için Cycling A.JOE olduğuna dikkat edin.

11b. Cycling Green floresans kanalında sinyal saptanmadı. Aynı zamanda Cycling Yellow kanalında dahili kontrolden bir sinyal belirir.

Örnekte saptanabilir HBV DNA yoktur. Negatif kabul edilebilir.

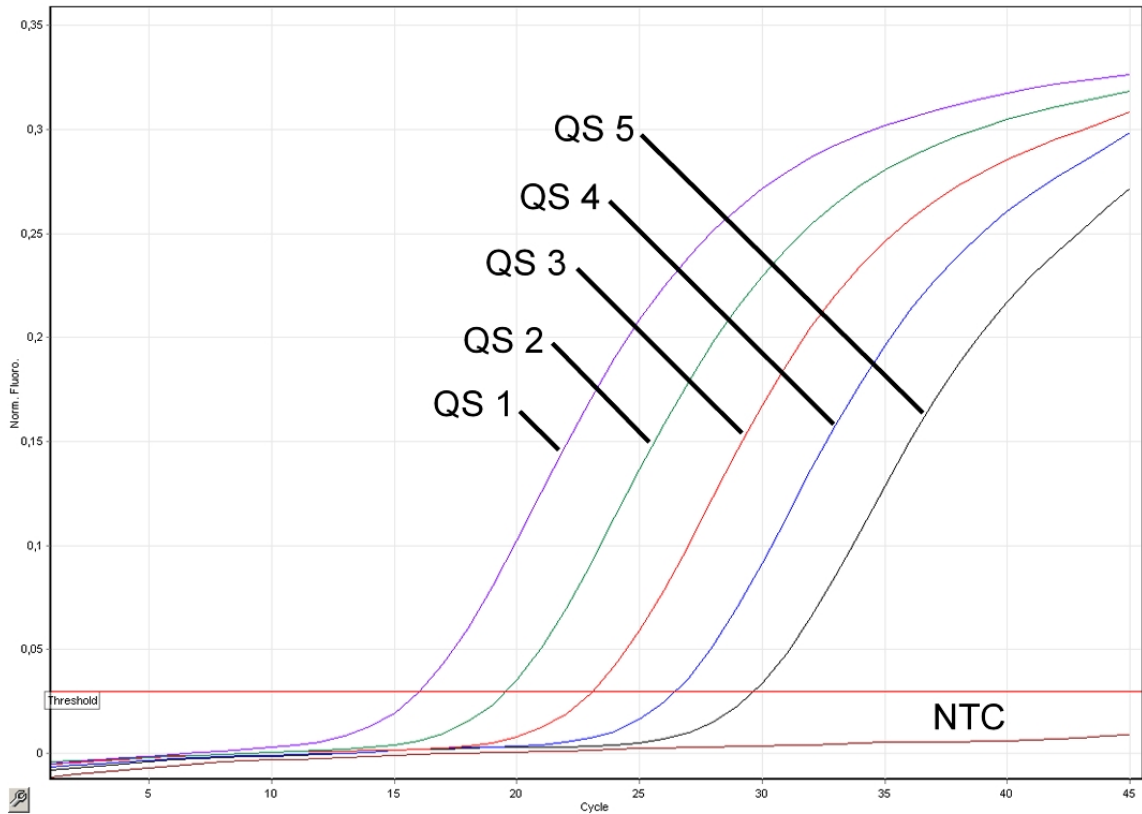
Negatif HBV PCR durumunda dahili kontrolün saptanan sinyali PCR inhibisyonu olasılığını ortadan kaldırır.

i Rotor-Gene 3000 üzerinde ilgili kanalların dahili kontrol için Cycling A.JOE olduğuna ve Cycling A.FAM için sinyal bulunmaması olduğuna dikkat edin.

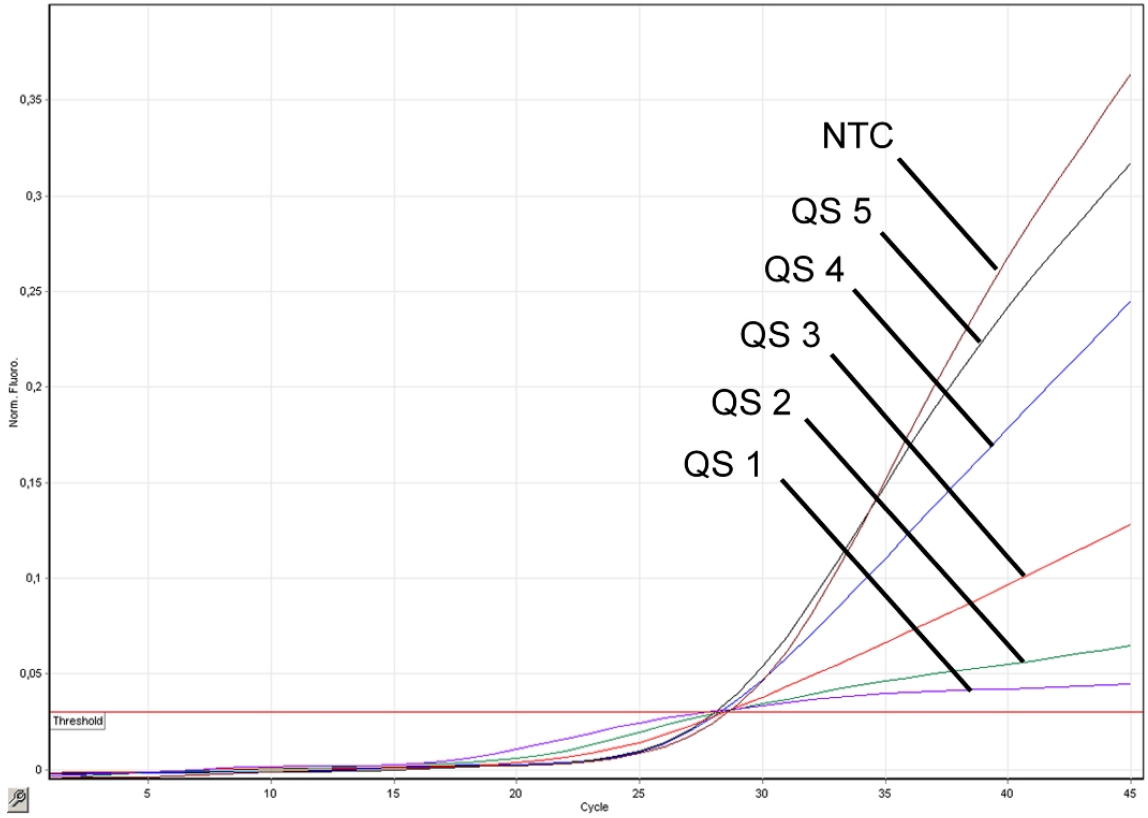
11c. Cycling Green veya Cycling Yellow kanallarında sinyal saptanmaz. Bir sonuca varılamaz.

Hata kaynakları ve çözümleriyle ilgili bilgi "Sorun Giderme Kılavuzu", sayfa 31 içinde bulunabilir.

i Rotor-Gene 3000 üzerinde ilgili kanalların Cycling A.FAM ve Cycling A.JOE olduğuna dikkat edin.



Şekil 11. Kantitasyon standartlarının (HBV RG/TM QS 1–5) floresans kanalı Cycling Green içinde saptanması. NTC: Şablonsuz kontrol (negatif kontrol).








Şekil 12. Kantitasyon standartlarının (HBV RG/TM QS 1–5) eş zamanlı amplifikasyonu ile dahili kontrolün (IC) floresans kanalı Cycling Yellow içinde saptanması. NTC: Şablonsuz kontrol (negatif kontrol).

Sorun Giderme Kılavuzu

Bu sorun giderme kılavuzu oluşabilecek herhangi bir problemi çözmekte faydalı olabilir. Daha fazla bilgi için Teknik Destek Merkezimizde Sık Sorulan Sorular sayfasına da bakınız: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. QIAGEN Teknik Servisindeki bilim insanları bu el kitabındaki bilgi ve protokollerle ya da örnek ve test teknolojileriyle ilgili herhangi bir sorunuzu cevaplandırmaktan daima mutlu olacaktır (irtibat bilgileri için arka kapağa bakınız veya www.qiagen.com adresini ziyaret ediniz).






Açıklama ve öneriler

Floresans kanalı Cycling Green veya Cycling A.FAM içinde pozitif kontrollü sinyal yok (HBV RG/TM QS 1–5)

- | | |
|--|---|
| a) PCR veri analizi için seçilen floresans kanalı protokole uymamaktadır |  Veri analizi açısından analitik HBV PCR için floresans kanalı Cycling Green veya Cycling A.FAM, dahili kontrol PCR için floresans kanalı Cycling Yellow veya Cycling A.JOE seçin. |
| b) Rotor-Gene Aletinin sıcaklık profilinin yanlış programlanması |  Sıcaklık profilini protokolle karşılaştırın. Bakınız "Protokol: PCR ve Veri Analizi", sayfa 22. |
| c) Hatalı PCR konfigürasyonu |  Çalışma adımlarınızı pipetleme şeması yoluyla kontrol edin ve gerekirse PCR'ı tekrarlayın. Bakınız "Protokol: PCR ve Veri Analizi", sayfa 22. |
| d) Bir veya birkaç kit bileşeninin saklama koşulları "Saklama" (sayfa 5) içinde verilen talimatla uyumlu değildir. |  Reaktiflerin saklama koşulları ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakınız) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın. |
| e) <i>artus</i> HBV RG PCR Kitinin son kullanma süresi geçmiştir |  Reaktiflerin saklama koşulları ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakınız) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın. |

Açıklama ve öneriler

Cycling Yellow veya Cycling A.JOE floresans kanalı içinde QIASymphony DSP Virüs Kiti ($C_T = 29 \pm 3$; eşik, 0,03) kullanılarak saflaştırma yapılmış bir negatif plazma örneğinin dahili kontrolünün sinyalinin zayıf olması veya hiç olmaması ve aynı zamanda Cycling Green veya Cycling A.FAM kanalında sinyal bulunmaması

- a) PCR koşulları protokole uymamaktadır  PCR koşullarını kontrol edin (yukarıya bakınız) ve gerekirse PCR'ı düzeltilmiş ayarlarla tekrarlayın.
- b) PCR inhibe olmuştur  Önerilen izolasyon yöntemini kullandığınızdan emin olun ve üreticinin talimatını yakından izleyin.
- c) Ekstraksiyon sırasında DNA kaybolmuştur  Dahili kontrol ekstraksiyona eklenmişse, dahili kontrol sinyalinin olmaması ekstraksiyon sırasında DNA kaybına işaret edebilir. Önerilen izolasyon yöntemini (bakınız "DNA izolasyonu", sayfa 19) kullandığınızdan emin olun ve üreticinin talimatını yakından izleyin.
- d) Bir veya birkaç kit bileşeninin saklama koşulları "Saklama" (sayfa 5) içinde verilen talimatla uyumlu değildir.  Reaktiflerin saklama koşulları ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakınız) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın.
- e) *artus* HBV RG PCR Kitinin son kullanma süresi geçmiştir  Reaktiflerin saklama koşulları ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakınız) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın.

Açıklama ve öneriler

Analitik PCR'da floresans kanalı Cycling Green veya Cycling A.FAM içinde negatif kontrollü sinyaller

- a) PCR hazırlama sırasında kontaminasyon oluşmuştur
- ① PCR'ı replikatlarda yeni reaktiflerle tekrarlayın.
 - ① Mümkünse PCR tüplerini test edilecek örneğin eklenmesinden hemen sonra kapatın.
 - ① Pozitif kontrolleri en son pipetlediğinizden emin olun.
 - ① Çalışma alanı ve aletlerin düzenli aralıklarla dekontamine edildiğinden emin olun.
- b) Ekstraksiyon sırasında kontaminasyon oluşmuştur
- ① Test edilecek örneğin ekstraksiyonu ve PCR'ını yeni reaktifler kullanarak tekrarlayın.
 - ① Çalışma alanı ve aletlerin düzenli aralıklarla dekontamine edildiğinden emin olun.

Referanslar

QIAGEN, QIAGEN ürünlerini kullanan bilimsel yayınların büyük ve güncel bir çevrimiçi veri tabanını tutmaktadır. Kapsamlı arama seçenekleri gereksinim duyduğunuz makaleleri basit bir anahtar kelimesi araması veya uygulama, araştırma alanı, başlık vesaire belirterek bulmanızı mümkün kılar.

Eksiksiz bir referans listesi için www.qiagen.com/RefDB/search.asp adresindeki çevrim içi QIAGEN Referans Veri Tabanını ziyaret edin veya QIAGEN Teknik Servisi ya da yerel distribütörünüzle irtibat kurun.

Sipariş Bilgisi

Ürün	İçindekiler	Kat. no.
<i>artus</i> HBV RG PCR Kit (24)	24 reaksiyon için: Master, 5 Kantitasyon Standardı, Dahili Kontrol, Su (PCR sınıfı)	4506263
<i>artus</i> HBV RG PCR Kit (96)	96 reaksiyon için: Master, 5 Kantitasyon Standardı, Dahili Kontrol, Su (PCR sınıfı)	4506265
QIAamp DSP Virus Kit — in vitro diagnostik amaçlarla insan plazmasından viral nükleik asitlerin saflaştırılması için		
QIAamp DSP Virüs Kiti	50 hazırlama için: QIAamp MinElute® Spin Sütunları, Tamponlar, Reaktifler, Tüpler, Sütun Uzaticıları ve VacConnector'lar	60704
Rotor-Gene Q MDx — klinik uygulamalarda in vitro diagnostik olarak doğrulanmış gerçek zamanlı PCR analizi için		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Sistemi	5 kanallı gerçek zamanlı PCR döngüleyici (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl), dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti, kurulum ve eğitim	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	5 kanallı gerçek zamanlı PCR döngüleyici (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl), dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti, kurulum ve eğitim dahil değildir	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	5 kanallı (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) ve HRM kanallı gerçek zamanlı PCR cyclus ve Yüksek Çözünürlüklü Eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar, malzeme ve işçilik için 1 yıl garanti, kurulum ve eğitim	9002033

Ürün	İçindekiler	Kat. no.
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	5 kanallı (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) ve HRM kanallı gerçek zamanlı PCR cyclers ve Yüksek Çözünürlüklü Eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar, malzeme ve işçilik için 1 yıl garanti, kurulum ve eğitim dahil değildir	9002032
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	6 kanallı gerçek zamanlı PCR aleti (mavi, yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl), dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti, kurulum ve eğitim	9002043
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	6 kanallı gerçek zamanlı PCR aleti (mavi, yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl), dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti, kurulum ve eğitim dahil değildir	9002042
Rotor-Gene Q MDx 2plex System	2 kanallı (yeşil, sarı) gerçek zamanlı PCR döngüleyici, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti, kurulum ve eğitim	9002003
Rotor-Gene Q MDx 2plex Platform	2 kanal (yeşil, sarı) artı HRM kanallı gerçek zamanlı PCR döngüleyici ve Yüksek Çözünürlüklü Eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti, kurulum ve eğitim dahil değildir	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM System	2 kanal (yeşil, sarı) artı HRM kanallı gerçek zamanlı PCR döngüleyici ve Yüksek Çözünürlüklü Eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti, kurulum ve eğitim	9002013
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM Platform	2 kanal (yeşil, sarı) artı HRM kanallı gerçek zamanlı PCR döngüleyici ve Yüksek Çözünürlüklü Eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti, kurulum ve eğitim dahil değildir	9002012

Ürün	İçindekiler	Kat. no.
Rotor-Gene Q — gerçek zamanlı PCR'da olağanüstü performans için		
Rotor-Gene Q 5plex System	5 kanallı gerçek zamanlı PCR döngüleyici (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl), dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti, kurulum ve eğitim	9001640
Rotor-Gene Q 5plex Platform	5 kanallı gerçek zamanlı PCR döngüleyici (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl), dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti, kurulum ve eğitim dahil değildir	9001570
Rotor-Gene Q 5plex HRM System	5 kanallı (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) ve HRM kanallı gerçek zamanlı PCR cycler ve Yüksek Çözünürlüklü Eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar, malzeme ve işçilik için 1 yıl garanti, kurulum ve eğitim	9001650
Rotor-Gene Q 5plex HRM Platform	5 kanallı (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) ve HRM kanallı gerçek zamanlı PCR cycler ve Yüksek Çözünürlüklü Eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar, malzeme ve işçilik için 1 yıl garanti, kurulum ve eğitim dahil değildir	9001580
Rotor-Gene Q 6plex System	6 kanallı gerçek zamanlı PCR aleti (mavi, yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl), dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti, kurulum ve eğitim	9001660
Rotor-Gene Q 6plex Platform	6 kanallı gerçek zamanlı PCR aleti (mavi, yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl), dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti, kurulum ve eğitim dahil değildir	9001590

Ürün	İçindekiler	Kat. no.
Rotor-Gene Q 2plex System	2 kanallı (yeşil, sarı) gerçek zamanlı PCR döngüleyici, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti, kurulum ve eğitim	9001620
Rotor-Gene Q 2plex Platform	2 kanal (yeşil, sarı) artı HRM kanallı gerçek zamanlı PCR döngüleyici ve Yüksek Çözünürlüklü Eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti, kurulum ve eğitim dahil değildir	9001550
Rotor-Gene Q 2plex HRM System	2 kanal (yeşil, sarı) artı HRM kanallı gerçek zamanlı PCR döngüleyici ve Yüksek Çözünürlüklü Eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti, kurulum ve eğitim	9001630
Rotor-Gene Q 2plex HRM Platform	2 kanal (yeşil, sarı) artı HRM kanallı gerçek zamanlı PCR döngüleyici ve Yüksek Çözünürlüklü Eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti, kurulum ve eğitim dahil değildir	9001560
Rotor-Gene Q aksesuarları		
Yükleme Bloğu 72 x 0,1 ml Tüpleri	72 x 0,1 ml tüplerde tek kanallı pipetle manuel reaksiyon kurulumu için alüminyum blok	9018901
Yükleme Bloğu 96 x 0,2 ml Tüpleri	96 x 0,2 ml tüplerde standart 8 x 12 dizide manuel reaksiyon kurulumu için alüminyum blok	9018905
Strip Tüpleri ve Kapakları, 0,1 ml (250)	1000 reaksiyon için 4 tüp ve kapaklı 250 strip	981103
Strip Tüpleri ve Kapakları, 0,1 ml (2500)	10.000 reaksiyon için 4 tüp ve kapaklı 10 x 250 strip	981106
PCR Tüpleri, 0,2 ml (1000)	1000 reaksiyon için 1000 ince duvarlı tüp	981005

Ürün	İçindekiler	Kat. no.
PCR Tüpleri, 0,2 ml (10000)	1000 reaksiyon için 10 x 1000 ince duvarlı tüp	981008

Güncel lisanslama bilgisi ve ürüne spesifik red beyanları için ilgili QIAGEN kiti el kitabı veya kullanım kılavuzuna bakınız. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları www.qiagen.com adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Servisi veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Bu ürünün satın alınması, satın alanın insan in vitro diagnostiği için diagnostik hizmetler yapılmasında kullanmasına izin verir. Burada satın alma ile bu spesifik kullanım hakkı dışında herhangi bir türde herhangi bir genel patent veya başka lisans verilmemektedir.

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

artus HBV RG PCR Kiti ve QIAamp DSP Virüs Kiti Avrupa İn Vitro Diagnostik Direktifi 98/79/EC uyarınca CE işaretli diagnostik kitlerdir. Tüm ülkelerde sağlanmamaktadır.

Sınırlı Lisans Sözleşmesi

Bu ürünün kullanılması artus HBV RG PCR Kitinin herhangi bir satın alanı veya kullanıcısının şu şartları kabul ettiğini belirtir:

1. artus HBV RG PCR Kiti sadece artus HBV RG PCR Kiti El Kitabına göre ve bu Kite bulunan bileşenlerle kullanılabilir. QIAGEN, artus HBV RG PCR Kiti El Kitabında ve www.qiagen.com adresinde bulunan ek protokollerde tanımlananlar dışında bu Kite dahil edilmemiş herhangi bir bileşen ile Kit içindeki bileşenleri kullanma veya birleştirme açısından herhangi bir fikri mülkiyet altında bir lisans vermez.
2. Açık olarak belirtilen lisanslar dışında QIAGEN bu Kitin ve/veya kullanımının/kullanımlarının üçüncü tarafların haklarını ihlal etmediği konusunda garanti vermez.
3. Bu Kit ve bileşenleri tek kullanım için lisanslanmıştır ve tekrar kullanılamaz, yenilenemez veya tekrar satılamaz.
4. QIAGEN açık olarak belirtilenler dışında açık veya zımnî herhangi bir başka lisansı özellikle reddeder.
5. Kitin alıcısı ve kullanıcısı yukarıda yasaklanan herhangi bir eyleme neden olabilecek veya bunları kolaylaştırabilecek herhangi bir adım atmamayı veya başkasının atmasına izin vermemeyi kabul eder. QIAGEN bu Sınırlı Lisans Sözleşmesinin yasaklarını herhangi bir mahkemede yürürlüğe koyabilir ve Kit ve/veya bileşenleriyle ilişkili herhangi bir fikri mülkiyet hakkı veya bu Sınırlı Lisans Sözleşmesini yürürlüğe koymak için tüm araştırma ve mahkeme masraflarını avukat masrafları dahil olmak üzere geri alacaktır.

Güncellenmiş lisans şartları için bakınız www.qiagen.com.

© 2009-2014 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

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)

