

December 2014

Handbok för *artus*[®] HBV RG PCR-kit

 24 (katalognr 4506263)

 96 (katalognr 4506265)

Version 1



Kvantitativ in vitro-diagnostik

För användning med Rotor-Gene[®] Q-instrument



4506263, 4506265



1046920SV



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,

TYSKLAND

R4

MAT

1046920SV



Sample & Assay Technologies

QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN är den ledande tillverkaren av innovativa provtagnings- och analystekniker som möjliggör isolering och detektion av innehållet i alla biologiska prover. Våra avancerade produkter och tjänster av hög kvalitet garanterar framgång från prov till resultat.


QIAGEN skapar standarder inom:

- rening av DNA, RNA och proteiner
- nukleinsyra- och proteinanalyser
- mikroRNA-forskning och RNAi
- automatisering av provtagnings- och analystekniker

Vårt uppdrag är att göra det möjligt för dig att uppnå utomordentliga framgångar och genombrott. Det finns mer information på www.qiagen.com.

Innehåll	
Kitinnehåll	6
Symboler	6
Förvaring	7
Användningsområde	7
Begränsningar för produktanvändning	7
Varningar och försiktighet	8
Kvalitetskontroll	8
Inledning	9
Princip	9
Information om patogen	9
Prestandaegenskaper	10
Utrustning och reagenser som ska tillhandahållas av användaren	18
Viktiga anmärkningar	19
Allmänna försiktighetsåtgärder	19
Insamling, förvaring och transport av prov	19
DNA-isolering	20
Intern kontroll	21
Inställning av tröskel för PCR-analysen	22
Kvantifiering	22
Protokoll: PCR och dataanalys	23
Felsökningshandbok	32
Litteraturhänvisningar	35
Beställningsinformation	36

Kitinnehåll

artus HBV RG PCR Kit			(24)	(96)
Katalognr			4506263	4506265
Antal reaktioner			24	96
Blå	HBV RG/TM Master		2 x 12 reaktioner	8 x 12 reaktioner
Röd	HBV RG/TM QS 1* (1 x 10 ⁵ IU/μl)	QS	200 μl	200 μl
Röd	HBV RG/TM QS 2* (1 x 10 ⁴ IU/μl)	QS	200 μl	200 μl
Röd	HBV RG/TM QS 3* (1 x 10 ³ IU/μl)	QS	200 μl	200 μl
Röd	HBV RG/TM QS 4* (1 x 10 ² IU/μl)	QS	200 μl	200 μl
Röd	HBV RG/TM QS 5* (1 x 10 ¹ IU/μl)	QS	200 μl	200 μl
Grön	HBV RG/TM IC [†]	IC	1000 μl	2 x 1000 μl
Vit	Vatten (PCR-kvalitet)		1000 μl	1000 μl
	Handbok		1	1

* Kvantifieringsstandard.

† Intern kontroll.

Symboler



<N>

Innehåller reagenser som räcker för <N> tester



Utgångsdatum



Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik









Katalognummer



Lotnummer



Materialnummer

	Komponenter
	Innehåller
	Antal
	GTIN-artikelnummer (Global Trade Item Number)
	Temperaturbegränsning
	Tillverkare
	Se bruksanvisningen
	Viktig anmärkning

Förvaring

Komponenterna i *artus* HBV RG PCR-kitet måste förvaras vid -15 °C till -30 °C och är stabila fram till det utgångsdatum som anges på etiketten. Upprepad tining och frysning ($>2\text{ x}$) ska undvikas, eftersom detta kan minska analysens sensitivitet. Om reagenserna endast ska användas periodvis ska de frysas ned i alikvoter. Förvaring vid $2\text{--}8\text{ °C}$ ska inte överskrida 5 timmar.

Användningsområde

artus HBV RG PCR-kitet är ett in vitro-nukleinsyraamplifieringstest för kvantifiering av hepatit B-virus (HBV)-DNA i human plasma. För detta diagnostiska testkit används polymeraskedjereaktion (PCR) och kitet är konfigurerat för användning med Rotor-Gene Q-instrument.

Begränsningar för produktanvändning

Alla reagenser kan uteslutande användas vid in vitro-diagnostik.

Produkten ska endast användas av personal som har fått specialinstruktioner och som har utbildats i in vitro-diagnostiska förfaranden.

Användarhandboken måste följas strikt för att uppnå optimala resultat för PCR.

Var noga med att uppmärksamma de utgångsdatum som är angivna på asken och på etiketterna för alla komponenter. Använd inte utgångna komponenter.

Även om det i sällsynta fall kan uppkomma mutationer inom virusgenomets i hög grad bevarade områden, vilka täcks av satsens primrar och/eller prob, kan dessa kvantifieras i underkant eller kan befintligheten av virus i dessa fall missas att upptäckas. Därför granskas analysens giltighet och prestanda med jämna mellanrum.

Varningar och försiktighet

Använd alltid lämplig laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Mer information finns i lämpligt säkerhetsdatablad (SDS). Dessa är tillgängliga online i praktiskt och kompakt PDF-format på www.qiagen.com/safety där du kan hitta, granska och skriva ut datablad för alla kit och kitkomponenter från QIAGEN®.

Kassera prov- och analysavfall enligt lokala säkerhetsregler.

Kvalitetskontroll

I enlighet med QIAGEN:s ISO-certifierade kvalitetshanteringssystem testas varje lot av *artus* HBV RG PCR-kitet mot förutbestämda specifikationer för att garantera följdriktig produktkvalitet.

Inledning

artus HBV RG PCR-kitet utgör ett bruksfärdigt system för detektionen av HBV-DNA med användning av polymeraskedjereaktion (PCR) i Rotor-Gene Q-instrument. HBV RG/TM master innehåller reagenser och enzymer för den specifika amplifieringen av en 134 bp-region av HBV-genomet, och för direkt detektering av den specifika amplikonen i fluorescenskanalen Cycling Green i Rotor-Gene Q eller Rotor-Gene 6000, eller Cycling A.FAM™ i Rotor-Gene 3000.

Dessutom innehåller *artus* HBV RG PCR-kitet ett andra heterologt amplifieringssystem för detektion av en eventuell PCR-inhibering. Denna detekteras som en intern kontroll (IC) i fluorescenskanalen Cycling Yellow i Rotor-Gene Q eller Rotor-Gene 6000, eller A.JOE™ i Rotor-Gene 3000. Detektionsgränsen för analytisk HBV-PCR (se "Analytisk sensitivitet", sida 10) minskas inte. Externa positiva kontroller (HBV RG/TM, QS 1–5) medföljer, vilka gör det möjligt att fastställa andelen virus-DNA. Mer information: se "Kvantifiering", sidan 22.

Princip

Patogen detektion med polymeraskedjereaktion (PCR) baseras på amplifieringen av specifika regioner i den patogena organismens genom. I realtids-PCR detekteras den amplifierade produkten via fluorescerande färgämnen. Dessa är vanligtvis kopplade till sökfragment av oligonukleotider, vilka binder specifikt till den amplifierade produkten. Övervakning av fluorescensintensiteterna under PCR-körningen (det vill säga i realtid) möjliggör detektion och kvantifiering av den ackumulerade produkten utan att man behöver öppna reaktionsrören på nytt efter PCR-körningen.*

Information om patogen

Hepatit-B-virus (HBV) överförs huvudsakligen via blod eller blodprodukter. Sexuella, orala och perinatale infektioner är emellertid även möjliga. Efter allmän sjukdomskänsla, inklusive aptitlöshet, kräkningar och problem med buken utvecklar cirka 10 till 20 procent av patienterna feber, exantem (hudutslag), såväl som reumatoida led- och muskelproblem. Två till fjorton dagar senare utvecklas ikterus, vilket kan åtföljas av klåda. Fulminant hepatit uppstår hos cirka 1 % av alla infekterade patienter och är ofta dödlig. 5–10 procent av alla hepatit-B-patienter utvecklar kronisk leverinflammation, vilken kan fortskrida till levercirros eller primärt levercellkarcinom.

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

Prestandaegenskaper

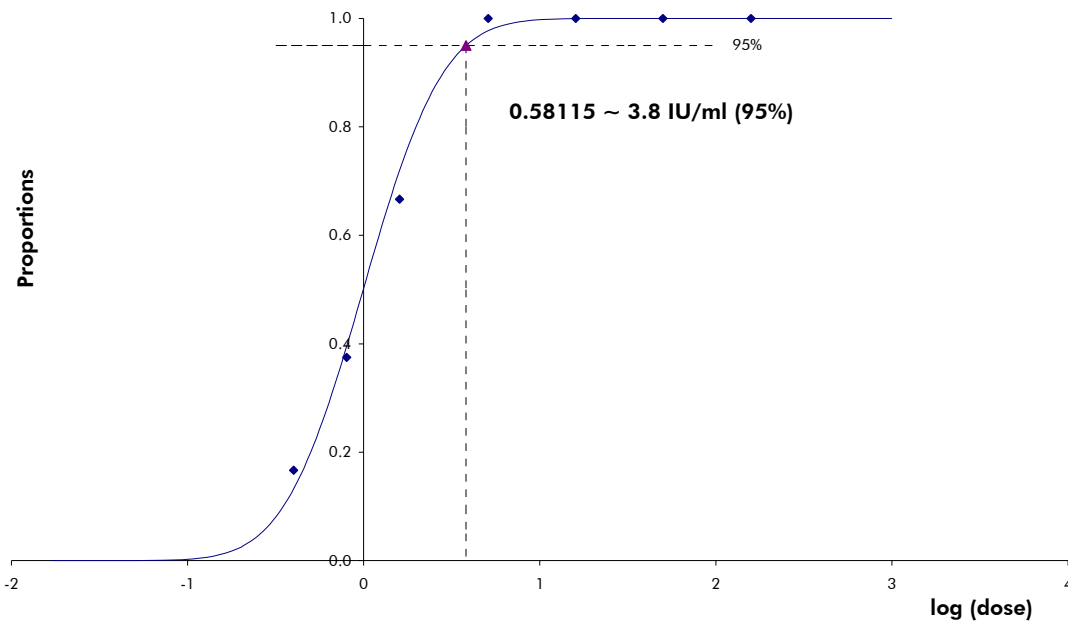
Analytisk sensitivitet

Den analytiska detektionsgränsen såväl som den analytiska detektionsgränsen med hänsyn till reningen (sensitivitetsgränser) bedömdes för *artus* HBV RG PCR-kitet. Den analytiska detektionsgränsen, med hänsyn till reningen, bestämdes med hjälp av HBV-positiva kliniska prover i kombination med en särskild extraktionsmetod. Som kontrast bestämdes den analytiska detektionsgränsen utan kliniska prover och oberoende av den valda extraktionsmetoden, med hjälp av en standard med känd koncentration.

För bestämning av den analytiska sensitiviteten för *artus* HBV RG PCR-kitet, bereddes en spädningsserie från 10 till nominellt 0,0003 HBV IU/ μ l och analyserades med *artus* HBV RG PCR-kitet i Rotor-Gene-instrument. Testningen utfördes under 3 olika dagar med 8 replikat. Resultaten fastställdes genom en probitanalys. Den analytiska detektionsgränsen för *artus* HBV RG PCR-kitet i kombination med Rotor-Gene 3000 är 0,02 IU/ml ($p = 0,05$). Detta innebär att det finns en 95-procentig sannolikhet att 0,02 IU/ml kommer att detekteras.

Likvärdighet mellan Rotor-Gene 3000 och Rotor-Gene Q/6000 visades på basis av tekniska specifikationer som bekräftades genom jämförelse av analytiska prestanda. Probitanalyser utfördes parallellt i båda systemen. Den analytiska detektionsgränsen i Rotor-Gene Q/6000 ligger inom konfidensintervallet för Rotor-Gene 3000. Därför kan *artus* HBV RG PCR-kitet användas för detektion av HBV-DNA i Rotor-Gene Q/6000 med likartad sensitivitet.

Den analytiska sensitiviteten med hänsyn till reningen (QIAamp[®] DSP Virus-kit) av *artus* HBV RG PCR-kitet fastställdes med användning av en spädningsserie av "1st International HBV standard" (WHO) från 158 till nominellt 0,4 HBV IU/ml som tillsatts i kliniska plasmaprover. Dessa genomgick en DNA-extraktion med QIAamp DPS Virus-kitet (extraktionsvolym: 0,5 ml, elueringsvolym: 26 μ l). Var och en av de 7 spädningarna analyserades med *artus* HBV RG PCR-kitet på 3 olika dagar och med 8 replikat. Resultaten fastställdes genom en probitanalys. En grafisk bild av probitanalysen visas i figur 1. Den analytiska detektionsgränsen med hänsyn till reningen av *artus* HBV RG PCR-kitet i kombination med Rotor-Gene 3000 är 3,8 IU/ml ($p = 0,05$). Detta innebär att det finns en 95-procentig sannolikhet att 3,8 IU/ml kommer att upptäckas.



Figur 1. Probitanalys: HBV (Rotor-Gene 3000). Analytisk sensitivitet med hänsyn till reningen (QIAamp DSP Virus-kit, QIAGEN) av *artus* HBV RG PCR-kitet i Rotor-Gene 3000.

Specificitet

Specificiteten för *artus* HBV RG PCR-kitet garanteras i första hand genom val av primrar och prober samt val av strikta reaktionsförhållanden. Primrarna och proberna kontrollerades beträffande eventuella homologier i alla sekvenser som publicerats i genbanker genom sekvensjämförande analys. Möjligheten att detektera alla relevanta genotyper har på det viset garanterats genom en justering av databasen och genom en PCR-körning på Rotor-Gene-instrument med nedanstående genotyper (se tabell 1).

Tabell 1. Testning av specificiteten för relevanta genotyper

Virus	Genotyp	Källa	HBV (Cycling Green eller A.FAM)	Intern kontroll (Cycling Yellow eller A. JOE)
HBV	A (USA)	Teragenix*	+	+
HBV	B (Indonesien)	Teragenix	+	+
HBV	C (Indonesien)	Teragenix	+	+
HBV	C (Venezuela)	Teragenix	+	+
HBV	D (USA)	Teragenix	+	+
HBV	E (Elfenbenskusten)	Teragenix	+	+
HBV	F (Venezuela)	Teragenix	+	+
HBV	G (USA)	Teragenix	+	+
HBV	H (Nicaragua)	Teragenix	+	+

* Teragenix Corporation, Florida, USA.

För fortsatta specificitetstester användes HBV stammar med kända sekvensskillnader i HBV genomets förkärneområde (HBV-förkärna i mutant panel, Teragenix, Florida, USA). Alla 9 mutanta stammar i förkärnan i denna panel kunde detekteras med *artus* HBV RG PCR-kitet.

Dessutom utvärderades specificiteten med hundra olika negativa plasmaprover av HBV. Dessa alstrade inga signaler med HBV:ets specifika primrar och sökfragment, vilka är inkluderade i HBV RG/TM Master.

En potentiell kors-reaktivitet i *artus* HBV RG PCR-kitet testades med hjälp av den kontrollgrupp som anges i tabell 2 (sida 13). Ingen av de testade patogenerna har varit reaktiv. Inga korsreaktiviteter visade sig med blandade infektioner.

Linjärt område

Det linjära området (analytisk mätning) för *artus* HBV RG PCR-kitet bestämdes genom analys av en spädningsserie av en HBV-kvantifieringsstandard mellan 1×10^8 IU/ μ l och 1×10^{-2} IU/ μ l. Spädningsserien kalibrerades mot WHO:s "1st International HBV DNA Standard".

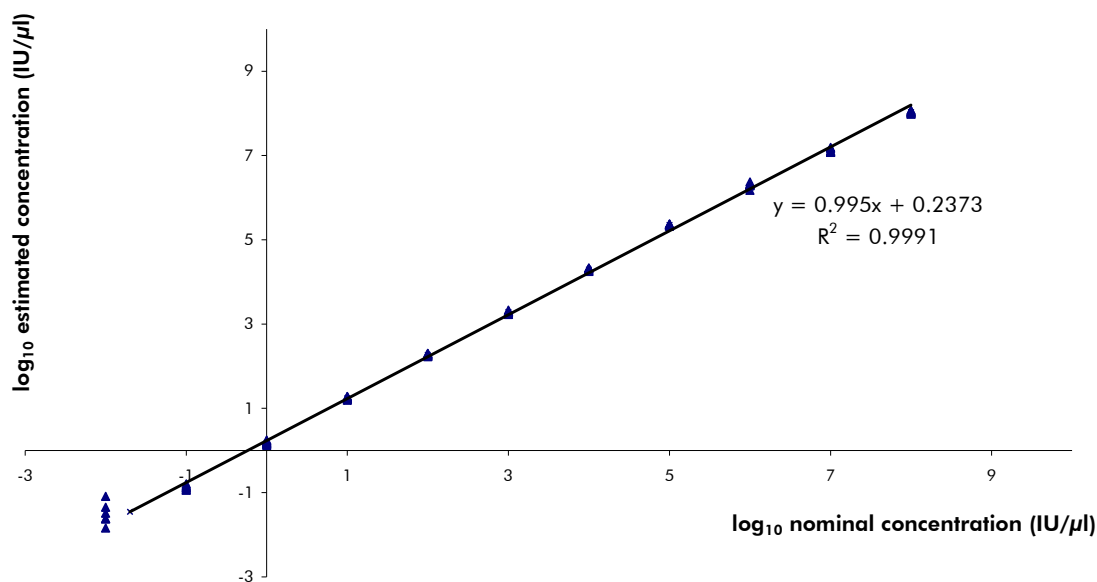
Varje spädning testades i replikat ($n = 8$ för koncentrationer $\geq 1 \times 10^0$ IU/ μ l; $n = 16$ för koncentrationer $< 1 \times 10^0$ IU/ μ l) med användning av *artus* HBV RG PCR-kitet i Rotor-Gene-instrument.

Tabell 2. Testning av kitets specificitet med potentiellt korsreaktiva patogener

Kontrollgrupp	HBV (Cycling Green eller Cycling A.FAM)	Intern kontroll (Cycling Yellow eller Cycling A.JOE)
Humant herpesvirus 1 (Herpes simplex-virus 1)	–	+
Humant herpesvirus 2 (Herpes simplex-virus 2)	–	+
Humant herpesvirus 3 (Varicella zoster-virus)	–	+
Humant herpesvirus 4 (Epstein-Barr-virus)	–	+
Humant herpesvirus 5 (Cytomegalovirus)	–	+
Humant herpesvirus 6	–	+
Humant immunbristvirus 1	–	+
Hepatit A-virus	–	+
Hepatit C-virus	–	+
Parvovirus B19	–	+
Gula febern-virus	–	+
Humant T-cell leukemivirus, typ 1 och typ 2	–	+
Coxsackie-virus B3	–	+
Denguevirus 1-4	–	+
<i>Escherichia coli</i>	–	+

Det linjära området för *artus* HBV RG PCR-kitet fastställdes till att täcka koncentrationer från 0,02 IU/μl till minst 1 x 10⁸ IU/μl (figur 2).

Med antagandet att QIAamp DSP Virus-kitet används för DNA-extraktion täcker *artus* HBV RG PCR-kitet ett linjärt område från 1,1 IU/ml till minst 4×10^9 IU/ml.



Figur 2. Linjärt område för *artus* HBV RG PCR-kitet. Beräkning av det linjära området. Den raka linjen fastställdes genom en linjär regression av de log₁₀-beräknade koncentrationerna jämfört med de log₁₀-nominella koncentrationerna. Ekvationen för regressionslinjen är inkluderad i figuren.

Precision

Precisionsdata för *artus* HBV RG PCR-kitet gör det möjligt att fastställa analysens totala varians. Den totala variansen består av intraanalysvariabilitet (variabilitet för flera provresultat med samma koncentration inom ett experiment), interanalysvariabilitet (variabilitet för flera analysresultat som genererats på olika instrument av samma typ av olika operatörer inom ett laboratorium) och interbatchvariabilitet (variabilitet för flera analysresultat med användning av olika batcher). De uppgifter som erhöles användes för att fastställa standardavvikelsen, variansen, variationskoefficienten för den specifika sjukdomsalstraren och den interna kontrollen för PCR.

Precisionsdata för *artus* HBV RG PCR-kitet samlades in med användning av kvantifieringsstandarderna med den lägsta koncentrationen (QS 5; 10 IU/μl). Testning utfördes med 8 replikat. Precisionsdata beräknades med utgångspunkt från C_T-värdena för amplifieringskurvorna (C_T: tröskelcykel, se tabell 3, sida 15). Dessutom fastställdes precisionsdata för kvantitativa resultat i IU/μl med hjälp av motsvarande C_T-värden (tabell 4). Baserat på dessa resultat är den totala statistiska spridningen för ett givet prov med nämnd koncentration

1,29 % (C_T) eller 8,99 % (koncentration) och 1,87 % (C_T) för detektionen av den interna kontrollen. Dessa värden baseras på slutsumman för alla enskilda värden av de fastställda variabiliteterna.

Tabell 3. Precisionsdata på grundval av C_T -värdena

	Standardavvikelse	Varians	Variationskoefficient (%)
Intraanalysvariabilitet: HBV RG/TM QS 5	0,09	0,01	0,32
Intraanalysvariabilitet: Intern kontroll	0,10	0,01	1,06
Interanalysvariabilitet: HBV RG/TM QS 5	0,14	0,02	0,49
Interanalysvariabilitet: Intern kontroll	0,29	0,08	1,00
Interbatchvariabilitet: HBV RG/TM QS 5	0,38	0,15	1,39
Interbatchvariabilitet: Intern kontroll	0,62	0,39	2,23
Total varians: HBV RG/TM QS 5	0,36	0,13	1,29
Total varians: Intern kontroll	0,52	0,27	1,87

Tabell 4. Precisionsdata på grundval av kvantitativa resultat (i IU/ μ l)

	Standardavvikelse	Varians	Variationskoefficient (%)
Intraanalysvariabilitet: HBV RG/TM QS 5	0,93	0,87	9,28
Interanalysvariabilitet: HBV RG/TM QS 5	0,79	0,63	7,92
Interbatchvariabilitet: HBV RG/TM QS 5	1,03	1,05	10,21
Total varians: HBV RG/TM QS 5	0,90	0,81	8,99

Robusthet

Med hjälp av verifieringen av robustheten går det att fastställa den totala felfrekvensen för *artus* HBV RG PCR-kitet. För att verifiera robustheten spetsades 100 HBV-negativa plasmaprover med 0,05 IU/ μ l elueringsvolym av HBV kontroll-DNA (ungefär en tre gånger så stor koncentration av den analytiska sensitivitetsgränsen). Efter extraktion med användning av QIAamp DSP Virus-kitet (se "DNA-isolering", sida 20) analyserades dessa prover med *artus* HBV RG PCR-kitet. Felfrekvensen för HBV var 0% för alla proven. Den interna kontrollens robusthet prövades dessutom genom rening och analys av 100 HBV-negativa plasmaprover. Den totala felfrekvensen var 0%. Inhibitioner observerades inte. Robustheten för *artus* HBV RG PCR-kitet är således ≥ 99 %.

Reproducerbarhet

Med hjälp av reproducerbarhetsdata är det möjligt att regelbundet utvärdera *artus* HBV RG PCR-kitet och att göra en effektivitetsjämförelse med andra produkter. Dessa uppgifter erhålls vid deltagande i etablerade kunskapsprogram.

Diagnostisk utvärdering

I en studie på 2 oberoende laboratorier jämfördes *artus* HBV RG PCR-kitet med COBAS[®] TaqMan[®] HBV Assay. För detta syfte undersöktes 287 retrospektiva och prospektiva plasmaprover.

HBV-DNA för testning av *artus* HBV RG PCR-kitet isolerades med QIAamp DSP Virus-kitet, och analysen utfördes i Rotor-Gene 3000-instrumentet. För jämförande testning med COBAS TaqMan HBV Assay, isolerades HBV-DNA enligt tillverkarens anvisningar som ingick i bipacksedeln. Resultaten som

erhölls med *artus* HBV RG PCR-kitet jämfördes med resultaten för COBAS TaqMan HBV Assay.

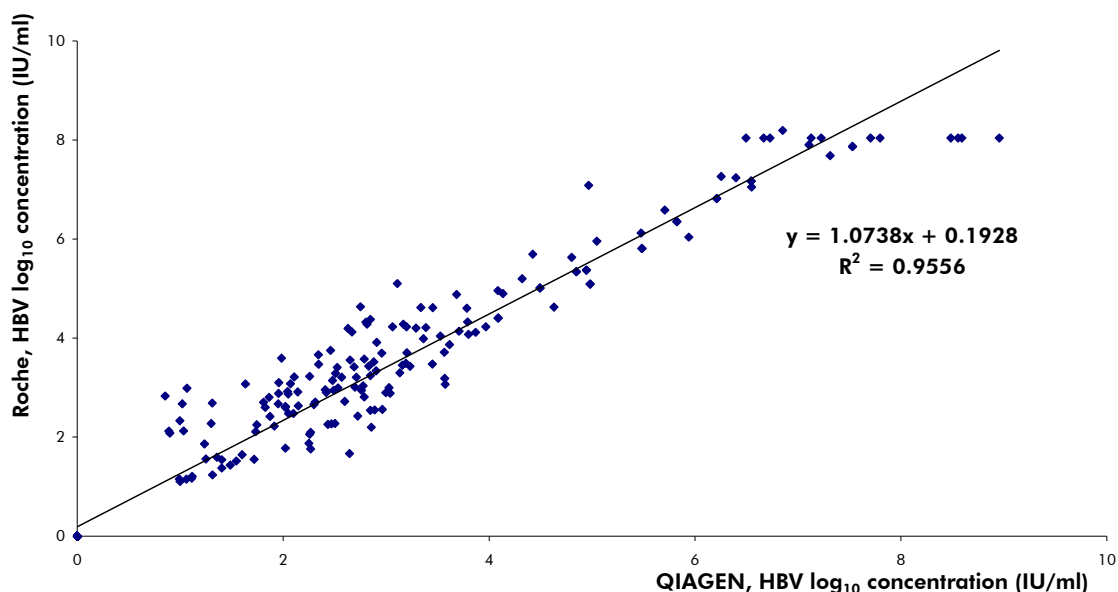
Jämfört med resultaten med COBAS TaqMan HBV Assay som referens, var den diagnostiska sensitiviteten 100 % och den diagnostiska specificiteten 97 % för det totala antalet undersökta plasmaprover med *artus* HBV RG PCR-kitet. Dessa resultat visas i tabell 5.

Tabell 5. Resultat från den jämförande valideringsstudien

		COBAS TaqMan HBV Assay		
		+	-	Totalsumma
<i>artus</i> HBV RG PCR-kit	+	186	3	189
	-	0	98	98

Ytterligare tester av de 3 diskrepanta proverna bekräftade resultaten för *artus* HBV RG PCR-kitet. Man kan därför utgå från att diskrepansen beror på högre sensitivitet hos *artus* HBV RG PCR-kitet.

Korrelationen av de kvantitativa resultaten för båda testsystemen analyserades med hjälp av en linjär regression. Resultaten för båda kiten visas i jämförelse i figur 3.



Figur 3. Jämförelse mellan COBAS TaqMan HBV Assay (Roche, HBV; med provrening utförd med High Pure-systemet) och *artus* HBV RG PCR-kitet (QIAGEN, HBV; med provrening utförd med QIAamp DSP Virus-kitet). Korrelationen av de kvantitativa resultaten för båda testsystemen (tabell 5) analyserades med linjär regression. Resultaten från de båda kiten visas i en XY-kurva (scatterplot) med log-log-skala.

Utrustning och reagenser som ska tillhandahållas av användaren

Använd alltid lämplig laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Mer information finns i tillämpliga säkerhetsdatablad (SDS) som kan erhållas från produktleverantören.

- DNA-isoleringskit (se "DNA-isolering", sidan 20)
- Pipetter (justerbara)*
- Sterila pipettspetsar med filter
- Vortexblandare*
- Bänkcentrifug* med rotor för 2 ml-reaktionsrör
- Rotor-Gene Q eller Rotor-Gene-instrument* med fluorescenskanaler för Cycling Green och Cycling Yellow eller fluorescenskanaler för Cycling A.FAM och Cycling A.JOE
- Rotor-Gene Q-programvaruversion 1.7.94 (Rotor-Gene 6000-programvaruversion 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94, Rotor-Gene 3000-programvaruversion 6.0.23) eller senare
- Strip-rör och lock, 0,1 ml, för användning med 72-brunnars rotor (kat.nr 981103 eller 981106)
- Alternativt: PCR-rör, 0,2 ml, för användning med 36-brunnars rotor (kat.nr 981005 eller 981008)
- Kylblock (laddningsblock 72 x 0,1 ml rör, kat.nr 9018901, eller laddningsblock 96 x 0,2 ml rör, kat.nr 9018905)

* Säkerställ att instrumenten är kontrollerade och kalibrerade enligt tillverkarens rekommendationer.

Viktiga anmärkningar

Allmänna försiktighetsåtgärder

Användaren ska alltid vara uppmärksam om följande:

- Använd sterila pipettspetsar med filter.
- Förvara och extrahera positiva material (prover, positiva kontroller och amplikoner) separerade från alla andra reagenser och tillsätt dem till reaktionsblandningen på en separat plats.
- Tina alla komponenter noggrant vid rumstemperatur (15–25 °C) innan du startar en analys.
- När komponenterna är tinade blandar du dem (pipettera upprepade gånger upp och ned eller genom pulsvortexblandning) och centrifugera kortvarigt.
- Arbeta snabbt och förvara komponenter på is eller i kylblocket (72/96-brunnars laddningsblock).

Insamling, förvaring och transport av prov

i Alla prover måste behandlas som potentiellt infektiöst material.

i Tidigare föreliggande data visar att EDTA- eller citratplasma är bäst lämpade som provmaterial för påvisandet av HBV. Därför rekommenderar vi att dessa material används tillsammans med *artus* HBV RG PCR-kitet.

Den interna valideringen av *artus* HBV RG PCR-kitet utfördes med human EDTA-plasma. Annat provmaterial har inte utvärderats. Använd endast det rekommenderade nukleinsyraisoleringskitet (se "DNA-isolering", sida 20) för provförberedelsen.

Om du använder vissa provmaterial måste du strikt iaktta speciella instruktioner om insamling, transport och förvaring.

Insamling av prov

Varje tappning av blod skadar blodkärl (artärer, vener och kapillärer). Använd endast harmlöst och sterilt material. Det finns lämpliga engångsförpackningar för tappning av blod. För provtagning i ven ska du inte använda kapillärnålar som är för tunna. Tappa venblod på lämpliga ställen i armvecket, på underarmen eller på handens baksida. Blod måste tappas med standardprovinsamlingsrör (röd hätta, Sarstedt eller motsvarande rör från annan tillverkare). Tappa en volym motsvarande 5–10 ml EDTA-blod. Rör ska blandas ovanför huvudet direkt efter blodinsamling (åtta gånger, rör inte om).

i Prover från hepariniserade människor får inte användas (se "Interfererande substanser", nedan).

Provförvaring

Helblod måste separeras i plasma- och cellulära komponenter genom centrifugering under tjugo minuter vid 800–1600 x g inom sex timmar. Den utskilda plasman måste överföras till sterila provrör av polypropylen. Analysens sensitivitet kan minska, om du fryser proven som ett rutinförfarande eller förvarar dem under en längre tid. Virusinkapslad DNA är stabil i flera dagar, om du förvarar det vid 4 °C, i flera veckor, om du förvarar det vid –20 °C, och även i flera månader eller år, om du förvarar det vid –70 °C.*

Provtransport

Provmaterial ska rutinmässigt transporteras i en splitterfri transportbehållare. På så sätt undviker du att en infektion uppstår på grund av läckande prov. Proverna ska sändas i enlighet med gällande lokala och statliga föreskrifter för transport av potentiellt smittsamma ämnen.†

Proven måste levereras inom sex timmar. Vi avråder från lagring på upphämningsorten. Du kan leverera proven via post, om du följer de lagenliga instruktionerna för transport av patogen material. Vi rekommenderar provtransport via bud. Blodproven måste transporteras kylförvarade (2–8 °C), och den separerade plasman djupfrost (–15 till –30 °C).

Interfererande substanser

Förhöjda värden av bilirubin (≤ 15 mg/dl) och lipider (≤ 800 mg/dl) eller hemolytiska prover leder inte till någon påverkan av systemet. Heparin (≥ 10 IU/ml) påverkar PCR. Prover som har insamlats i rör innehållande heparin som antikoagulant får inte användas. Prover från hepariniserade patienter får inte heller användas.

DNA-isolering

QIASymphony DSP Virus-kit (QIAGEN, kat. nr 60704) har utvärderats för virus-DNA-rening från human plasma för användning med *artus* HBV RG PCR-kitet. Utför virus-DNA-reningen enligt anvisningarna i *handbok till QIAamp DSP Virus-kit*.

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

† International Air Transport Association (Internationellt samarbetsorgan för flygbolag) (IATA). Dangerous Goods Regulations (Föreskrifter om farligt gods).

ⓘ Användning av bärar-RNA är nödvändig för extraheringseffektiviteten och följdaktligen för DNA/RNA-utbytet. För att uppnå en högre stabilitet av det bärar-RNA som medföljer QIAamp DSP Virus-kitet rekommenderar vi att du följer anvisningarna i bruksanvisningen angående rekonstitution och lagring av bärar-RNA ("Beredning av reagens och buffertar").

ⓘ Den interna kontrollen för *artus* HBV RG PCR-kitet kan användas direkt i isoleringsförfarandet (se "Intern kontroll", nedan). Se till att samtidigt behandla ett negativt plasmaproov vid reningen. Dess motsvarande intern kontroll-signal bildar underlag för utvärdering av reningen.

Intern kontroll

En intern kontroll (HBV RG/TM IC) medföljer. Detta gör att användaren både kan kontrollera DNA-isoleringsförfarandet och kontrollera om det finns en möjlig inhibering av PCR. För denna användning tillsätter man den interna kontrollen till isolatet i förhållandet 0,1 μ l per 1 μ l elueringsvolym. Till exempel, vid användning av QIAamp DSP Virus-kitet elueras DNA i 60 μ l elueringsbuffert (AVE). Därför ska 6 μ l av den interna kontrollen tillsättas initialt. Mängden av intern kontroll som används beror endast på elueringsvolymen.

ⓘ Den interna kontrollen och bärar-RNA (se "DNA-isolering", sidan 20) ska endast tillsättas blandningen av lyseringsbuffert och provmaterial eller direkt till lyseringsbufferten.

Den interna kontrollen får inte tillsättas direkt till provmaterialet. Om den tillsätts till lyseringsbufferten ska man observera att blandningen av intern kontroll och lyseringsbuffert-bärar-RNA måste beredas färsk och användas omedelbart (förvaring av blandningen vid rumstemperatur eller i kylskåp under bara några timmar kan leda till utebliven funktion av den interna kontrollen och en minskad extraheringseffektivitet).

ⓘ Tillsätt inte den interna kontrollen och bärar-RNA direkt till provmaterialet.

För att en rening ska betraktas som framgångsrik måste C_T -värdet för den interna kontrollen för ett negativt plasmaproov som har behandlats med rening (QIAamp DSP Virus-kit) uppnå $C_T = 29 \pm 3$ (gränsvärde: 0,03) i Rotor-Gene Q-instrument. Spridningen beror på variansen hos instrumentet och reningen. En större avvikelse tyder på problem med reningen. Således måste reningen kontrolleras och eventuellt utvärderas på nytt. Om du skulle ha ytterligare frågor eller om andra problem uppträder, ber vi dig kontakta QIAGEN:s tekniska service.

Den interna kontrollen kan även användas uteslutande för att kontrollera eventuell PCR-inhibering. För denna användning ska man tillsätta den interna

kontrollen direkt till HBV RG/TM Master, enligt beskrivning i steg 2b i protokollet (sidan 24).

Inställning av tröskel för PCR-analysen

De optimala tröskelinställningarna för en viss kombination av Rotor-Gene Q-instrument och *artus* RG PCR-kitet ska fastställas empiriskt genom testning av varje enskild kombination, då detta är ett relativt värde som beror på det övergripande diagnostiska arbetsflödet. Som utgångspunkt kan tröskeln ställas in på ett preliminärt värde av 0,04 för analysen av den första PCR-körningen, men detta värde ska finjusteras genom komparativ analys av följande körningar i arbetsflödet. Tröskeln ska ställas in manuellt strax över bakgrundssignalen från de negativa kontrollerna och negativa proverna. Det genomsnittliga tröskelvärde som beräknas genom dessa experiment kommer sannolikt att fungera för de flesta av de kommande körningarna, men användaren måste inte desto mindre granska det genererade tröskelvärdet regelbundet. Tröskelvärdet ligger oftast inom området 0,03–0,05 och ska rundas av till högst tre decimaler.

Kvantifiering

De medföljande kvantifieringsstandarderna (HBV RG/TM QS 1–5) behandlas på samma sätt som redan isolerade prover och används i samma volym (20 μ l). För att generera en standardkurva på Rotor-Gene Q-instrument ska alla 5 kvantifieringsstandarder användas och definieras i dialogrutan "Edit Samples" (Redigera prover) som standarder med specificerade koncentrationer (se instrumentets användarhandbok).

i Kvantifieringsstandarderna definieras som IU/ μ l.* Vid omräkning av de värden som framtagits med hjälp av standardkurvan i IU/ml provmaterial används följande formel:

$$\text{Resultat (IU/ml)} = \frac{\text{resultat (IU/\mu l)} \times \text{elueringsvolymen (\mu l)}}{\text{Provvolum (ml)}}$$

Principiellt ska den inledande provvolymen ifyllas i ekvationen ovan. Tag hänsyn till denna när provvolymen har förändrats före extraheringen av nukleinsyra (till exempel reducering av volymen genom centrifugering eller ökning av volymen genom att tillsätta den volym som krävs för isoleringen).

* Standarden har kalibrerats med hjälp av "1st International HBV standard" (WHO).

Protokoll: PCR och dataanalys



Viktigt att tänka på före start

- Innan du startar förfarandet läser du "Viktiga anmärkningar", sidorna 19–22.
- Ta dig tid att bekanta dig med Rotor-Gene Q innan du startar protokollet. Se instrumentets användarhandbok.
- Säkerställ att minst en kvantifieringsstandard såväl som en negativ kontroll (vatten, PCR-kvalitet) ingår i varje PCR-körning. Om du vill alstra en standardkurva använder du alla fem kvantifieringsstandarder som levererats (HBV RG/TM QS 1–5) för varje körning av PCR.

Saker som ska utföras före start

- Säkerställ att kylblocket (tillbehör till Rotor-Gene Q-instrumentet) är förkylt till 2–8 °C.
- Före varje användning måste alla reagenser tinas helt, blandas (pipettera upprepade gånger upp och ned eller vortex-blanda snabbt) och centrifugeras under kort tid.

Procedur

1. Placera önskat antal PCR-rör i kylblockets adaptrar.
 2. Om du använder den interna kontrollen för att övervaka DNA-isoleringen och kontrollera eventuell PCR-inhibering, följ steg 2a. Om du använder den interna kontrollen uteslutande för att kontrollera PCR-inhibering, följ steg 2b.
- 2a. Den interna kontrollen har redan tillsatts till isolatet (se "Intern kontroll", sidan 21). I detta fall ska du bereda en masterblandning enligt tabell 6.

Tabell 6. Beredning av masterblandning (intern kontroll som används för att övervaka DNA-isolering och kontrollera PCR-inhibering)

Antal prover	1	12
HBV RG/TM Master	30 µl	360 µl
HBV RG/TM IC	0 µl	0 µl av vardera
Total volym	30 µl	360 µl av vardera

- 2b. Den interna kontrollen måste tillsättas direkt till HBV RG/TM Master. I detta fall ska du bereda en masterblandning enligt tabell 7.**

Reaktionsblandningen innehåller vanligtvis alla komponenter som behövs för PCR, förutom provet.

Tabell 7. Beredning av masterblandning (intern kontroll som används uteslutande för att kontrollera PCR-inhibering)

Antal prover	1	12
HBV RG/TM Master	30 μ l	360 μ l
HBV RG/TM IC	2 μ l	24 μ l
Total volym	32 μl*	384 μl*

* Volymökningen som orsakas av tillsats av den interna kontrollen är försumbar vid förberedelse av PCR-analysen. Detektionssystemets sensitivitet försämras inte.

- 3. Pipettera 30 μ l av masterblandningen i varje PCR-rör. Tillsätt sedan 20 μ l av eluerad prov-DNA (se tabell 8). På motsvarande sätt måste 20 μ l av minst en av kvantifieringsstandarderna (HBV RG/TM QS 1–5) användas som en positiv kontroll och 20 μ l vatten (vatten, PCR-kvalitet) som en negativ kontroll.**

Tabell 8. Beredning av PCR-reaktion

Antal prover	1	12
Masterblandning	30 μ l	30 μ l av vardera
Prov	20 μ l	20 μ l av vardera
Total volym	50 μl	50 μl av vardera

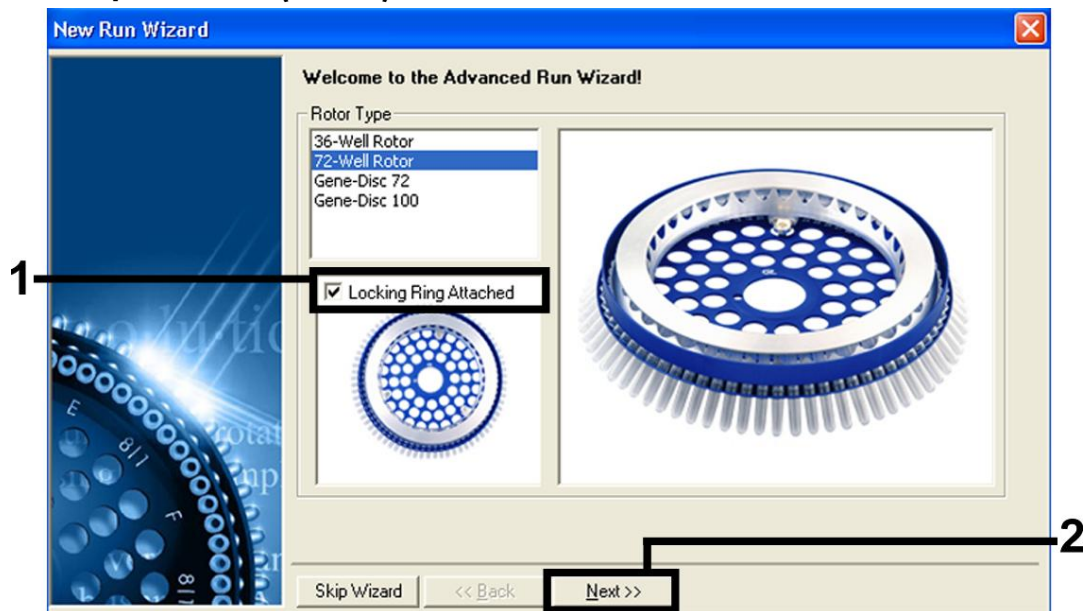
- 4. Stäng PCR-rören. Kontrollera att låsringen (tillbehör till Rotor-Gene-instrumentet) är placerad överst på rotorn för att förhindra att rören öppnas av misstag under körningen.**

5. Skapa en temperaturprofil för detektion av HBV-DNA genom att utföra nedanstående steg.

Inställning av allmänna analysparametrar	Figurer 4, 5, 6
Första aktivering av enzym med varmstart	Figur 7
DNA-amplifiering	Figur 8
Justering av fluorescenskanalsensitiviteten	Figur 9
Start av körningen	Figur 10

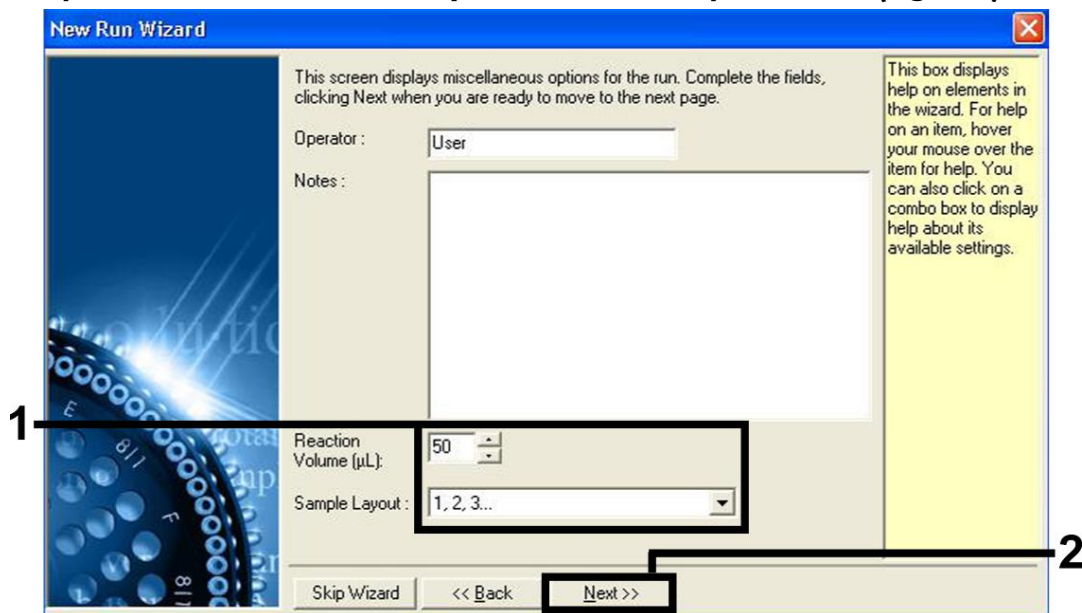
Alla specifikationer gäller för Rotor-Gene Q-programvaruversion 1.7.94, Rotor-Gene 6000-programvaruversion 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94 och Rotor-Gene 3000-programvaruversion 6.0.23. Mer information om hur du programmerar Rotor-Gene-instrument hittar du i användarhandboken till instrumentet. I illustrationerna är dessa inställningar inramade i svart fet stil. Illustrationer ingår för Rotor-Gene Q-instrument. Där andra värden krävs för Rotor-Gene 3000 beskrivs dessa skillnader i texten.

6. Öppna först dialogrutan "New Run Wizard" (Ny körning av guide) (figur 4). Markera rutan "Locking Ring Attached" (Låsring fäst) och klicka på "Next" (Nästa).



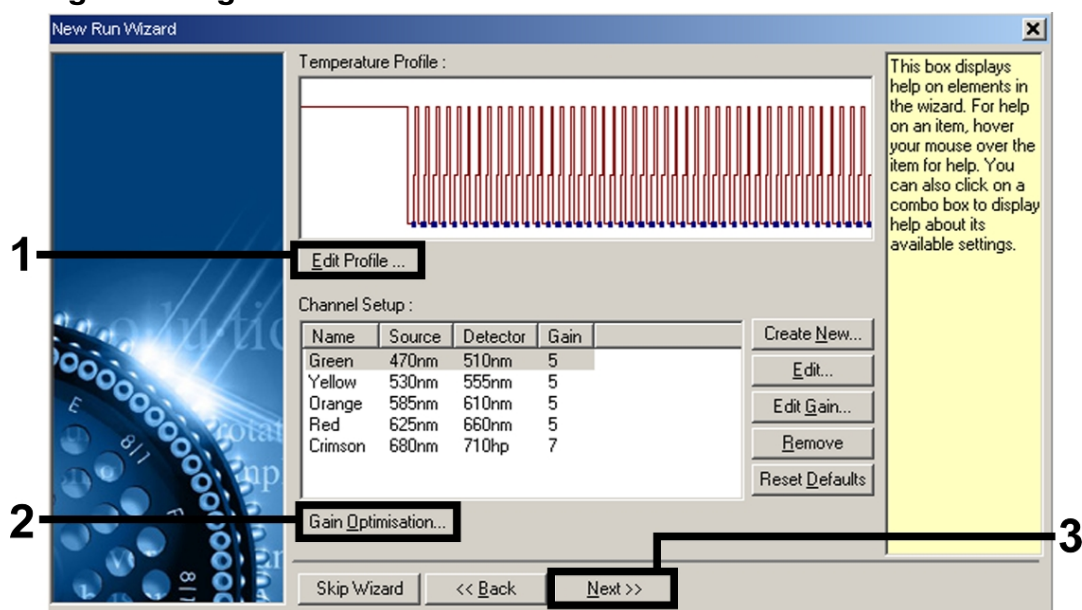
Figur 4. Dialogrutan "New Run Wizard".

7. Välj 50 för PCR-reaktionsvolymen och klicka på "Next" (figur 5).

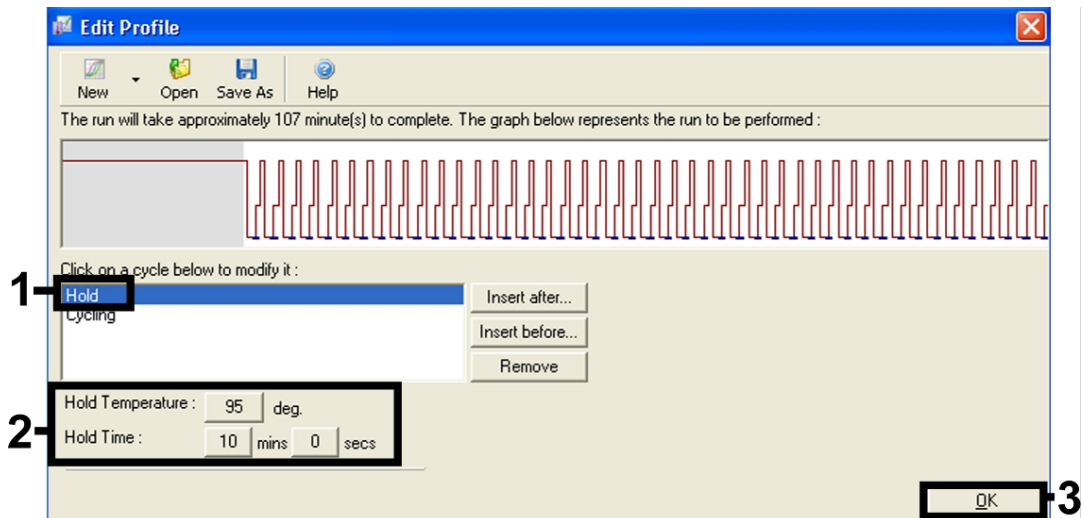


Figur 5. Inställning av allmänna analysparametrar.

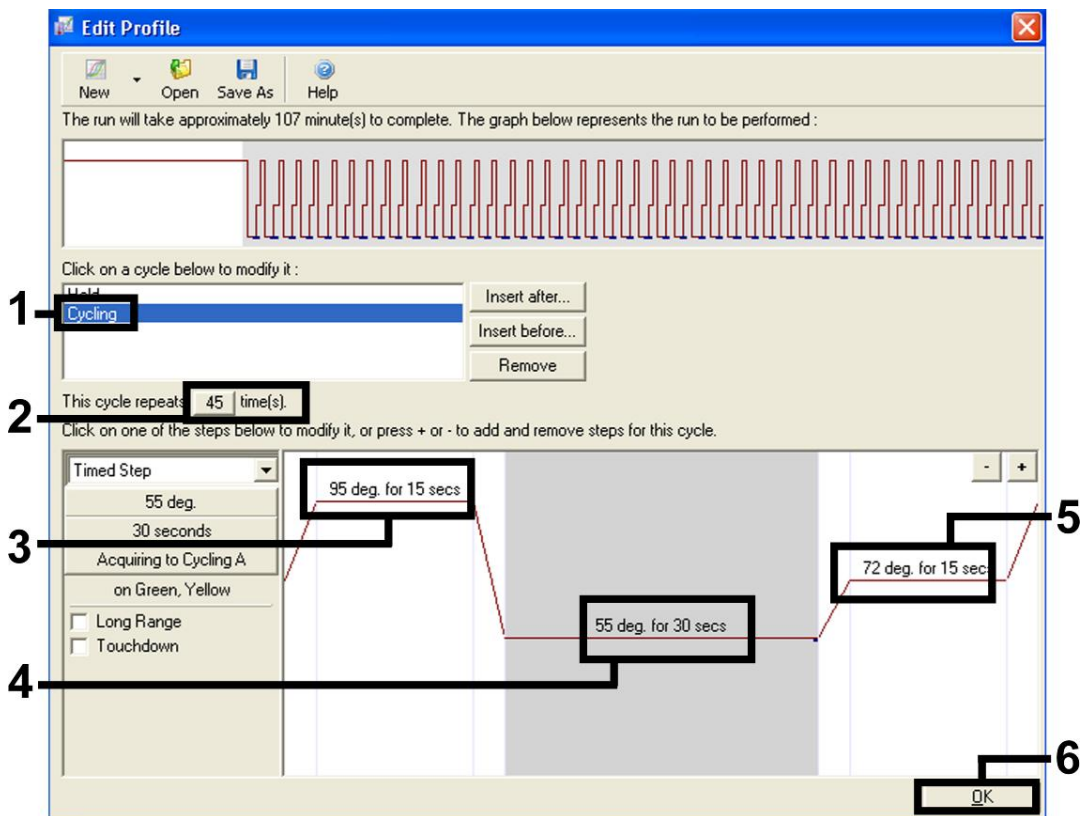
8. Klicka på knappen "Edit Profile" (Redigera profil) i nästa dialogruta "New Run Wizard", (figur 6), och programmera temperaturprofilen enligt bild i figurerna 6-8.



Figur 6. Redigering av profilen.



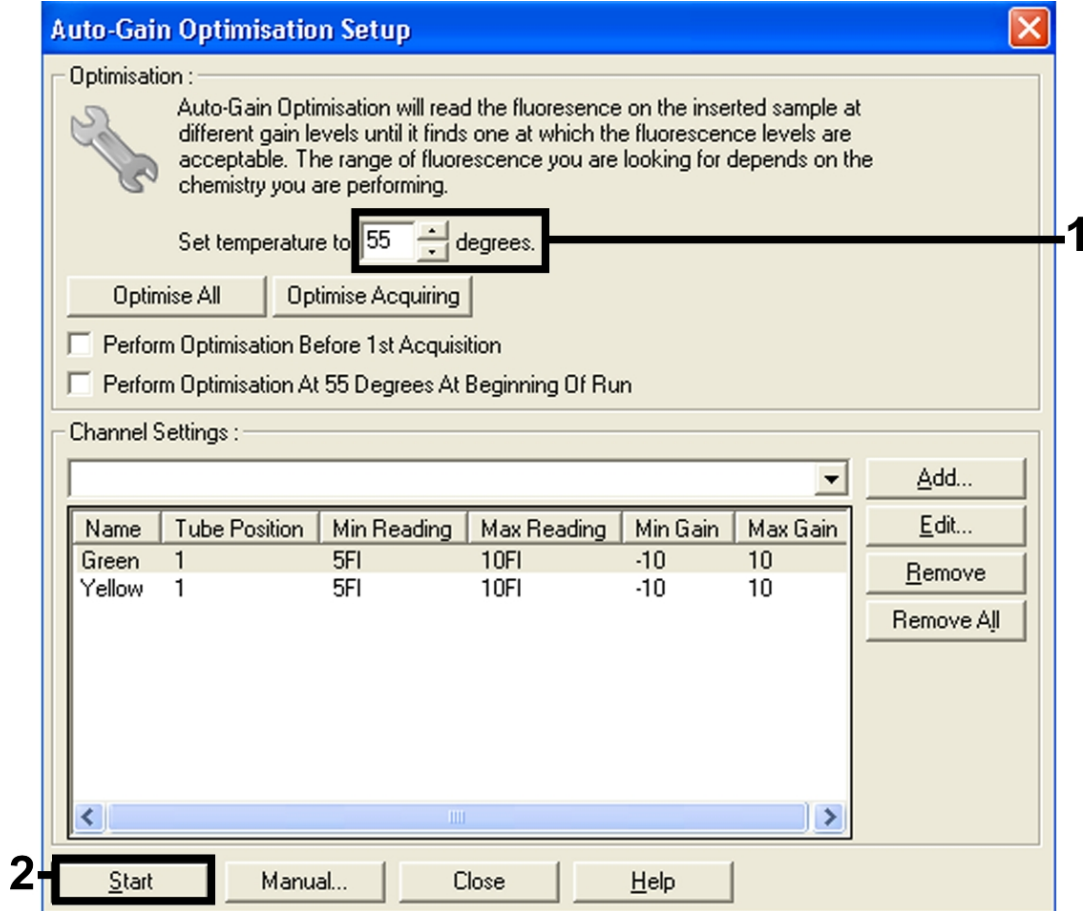
Figur 7. Första aktivering av enzym med varmstart.



Figur 8. DNA-amplifiering. Observera att på Rotor-Gene 3000 definierar programvaran fluorescensfärgämnen som "FAM/Sybr, JOE".

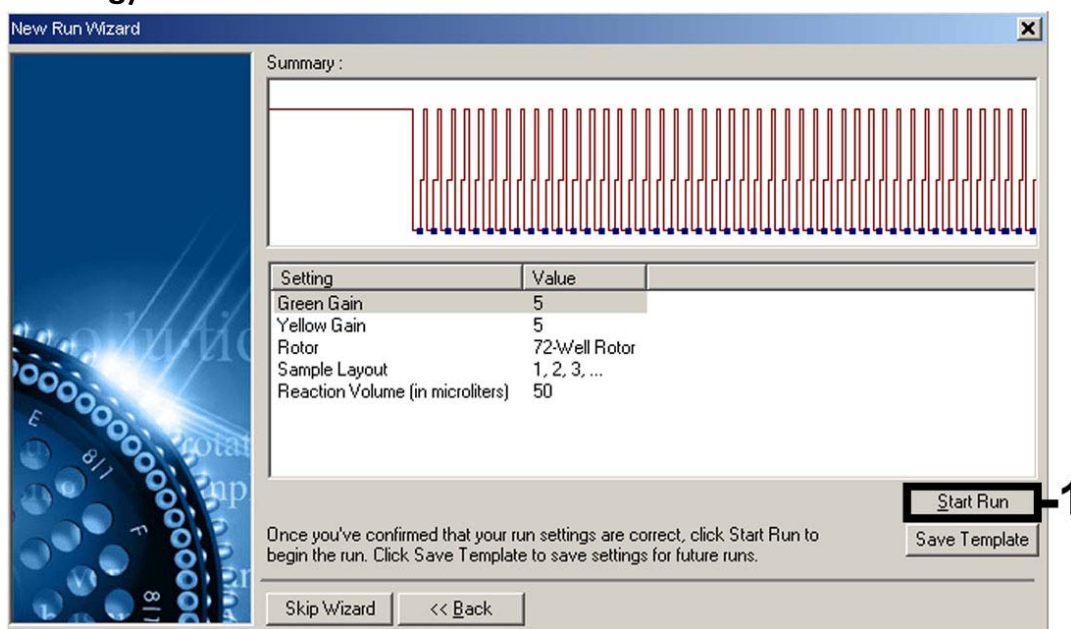
9. **Detektionsintervallet för fluorescenskanalerna måste fastställas enligt fluorescensintensiteterna i PCR-rören. Klicka på "Gain Optimisation" (Optimeringsvinst) i dialogrutan "New Run Wizard", (se figur 6) för att öppna dialogrutan "Auto-Gain Optimisation Setup" (Inställningar av automatisk optimeringsvinst). Ställ in**

kalibreringstemperaturen på 55 så att den stämmer överens med amplifieringsprogrammets kyltemperatur (figur 9).



Figur 9. Justering av fluorescenskanalsensitiviteten. Observera att på Rotor-Gene 3000 definierar programvaran fluorescensfärgämnen som "FAM/Sybr" och "JOE".

- 10. De förstärkningsvärden som fastställs av kanalkalibreringen sparas automatiskt och anges i det sista menyfönstret i programmeringsproceduren (figur 10). Klicka på "Start Run" (Starta körning).**



Figur 10. Start av körningen. Observera att på Rotor-Gene 3000 definierar programvaran fluorescensfärgämnen som "FAM/Sybr" och "JOE".

- 11. När körningen är slutförd analyserar du uppgifterna. Följande resultat (11a, 11b och 11c) är möjliga.**

Exempel på positiva och negativa PCR-reaktioner ges i figur 11 och figur 12.

- 11a. En signal har upptäckts i fluorescenskanalen Cycling Green. Analysresultatet är positivt: provet innehåller HBV-DNA.**

I det här fallet är upptäckten av en signal i kanalen Cycling Yellow umbärlig, eftersom höga inledande koncentrationer av HBV-DNA (positiv signal i kanalen Cycling Green) kan leda till en reducerad eller frånvarande fluorescenssignal i den interna kontrollen i kanalen "Cycling Yellow" (konkurrens).



Observera att på Rotor-Gene 3000 är de relevanta kanalerna Cycling A.FAM för den positiva signalen och Cycling A.JOE för den interna kontrollen.

11b. I fluorescenskanalen Cycling Green har ingen signal detekterats. Gå samma gång syns en signal från den interna kontrollen i kanalen Cycling Yellow.

I provet upptäcks inget HBV-DNA. Provet kan betraktas som negativt.

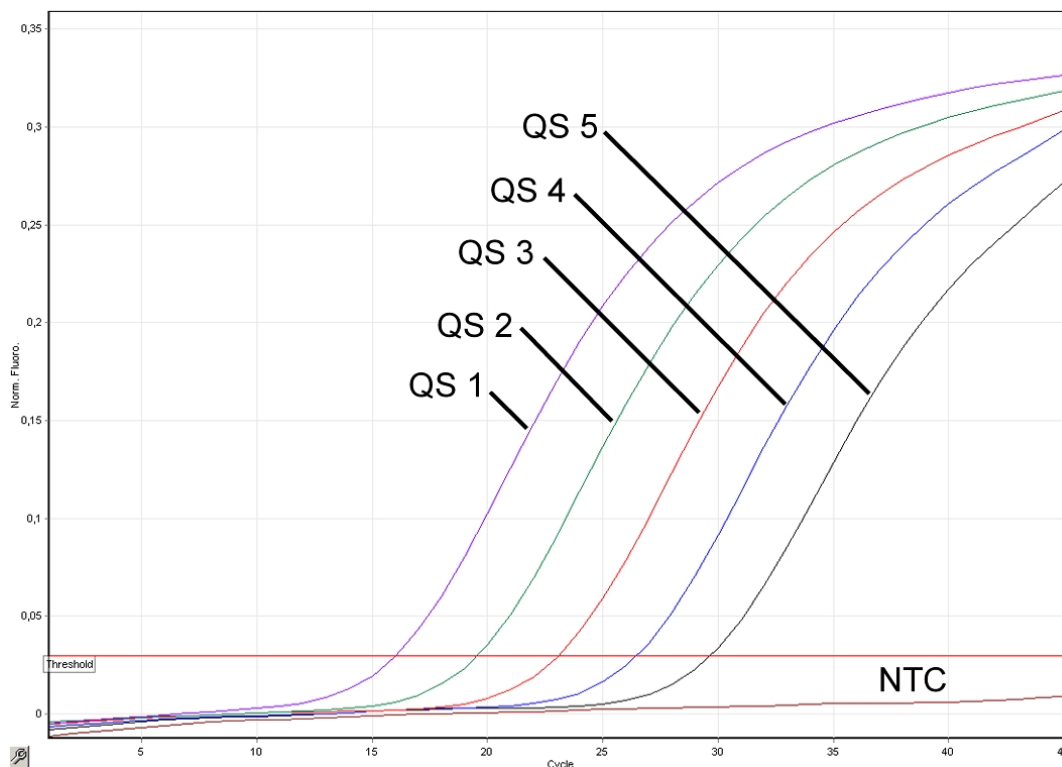
I fallet av en negativ PCR för hepatit-B-virus utesluter den upptäckta signalen i den interna kontrollen möjligheten av en inhibition av PCR.

i Observera att på Rotor-Gene 3000 är de relevanta kanalerna Cycling A.JOE för den interna kontrollen och brist på signal för Cycling A.FAM.

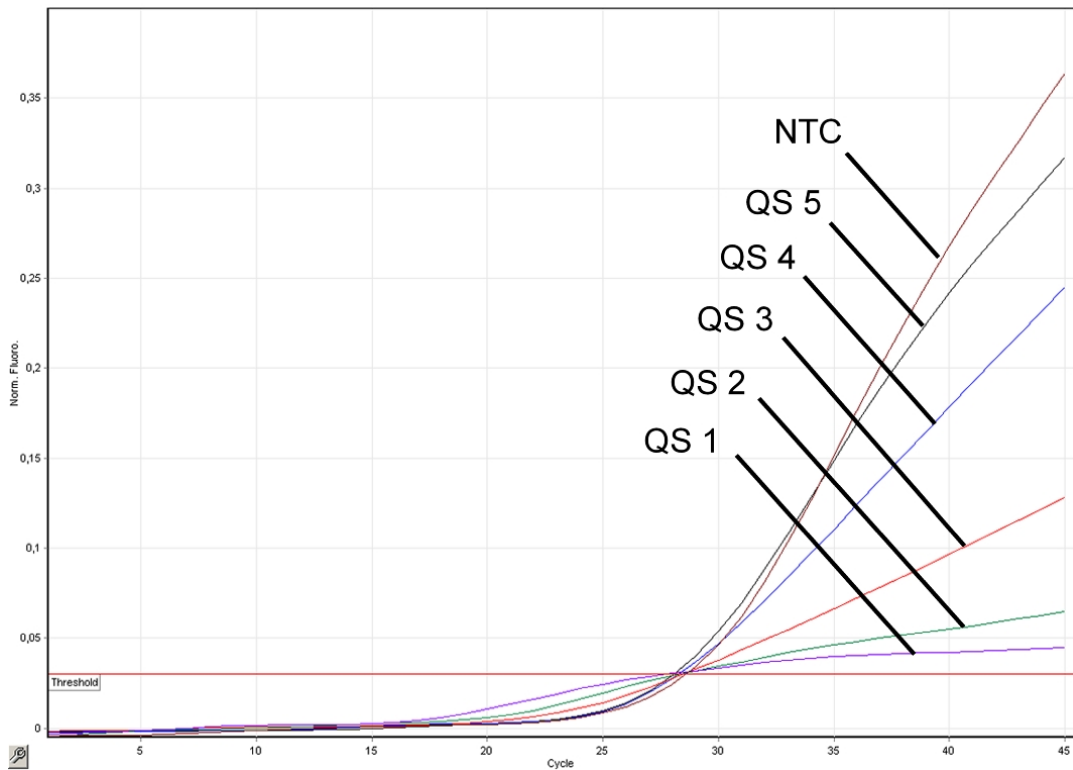
11c. Ingen signal har upptäckts i kanalerna Cycling Green eller Cycling Yellow. Det går inte att komma fram till några resultat.

Information om felkällor och deras lösning kan du hitta i "Felsökningshandbok", sidan 32.

i Observera att på Rotor-Gene 3000 är de relevanta kanalerna Cycling A.FAM och Cycling A.JOE.



Figur 11. Detektion av kvantifieringsstandarderna (HBV RG/TM QS 1–5) i fluorescenskanalen Cycling Green. NTC: Kontroll utan mall (negativ kontroll).








Figur 12. Detektion av den interna kontrollen (IC) i fluorescenskanalen Cycling Yellow med samtidig amplifiering av kvantifieringsstandarderna (HBV RG/TM QS 1–5). NTC: Kontroll utan mall (negativ kontroll).

Felsökningshandbok

Denna felsökningshandbok kan vara till hjälp för att lösa eventuella problem som uppstår. För ytterligare information, se även sidan Frequently Asked Questions (Vanliga frågor) på vårt tekniska supportcenter: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Dessutom svarar teamet för QIAGEN:s tekniska service gärna på frågor om informationen och protokollen i denna handbok eller prov- och analysmetoder (för kontaktinformation, se baksidan eller besök www.qiagen.com).






Kommentarer och förslag

Ingen signal med positiva kontroller (HBV RG/TM QS 1–5) i fluorescenskanalen Cycling Green eller Cycling A.FAM

- a) Den valda fluorescenskanalen för PCR-dataanalys stämmer inte överens med protokollet  För dataanalys väljer du fluorescenskanalen Cycling Green eller Cycling A.FAM för analytisk HBV-PCR och fluorescenskanalen Cycling Yellow eller Cycling A.JOE för intern kontroll-PCR.
- b) Felaktig programmering av temperaturprofilen för Rotor-Gene-instrumentet  Jämför temperaturprofilen med protokollet. Se "Protokoll: PCR och dataanalys", sidan 23.
- c) Felaktig konfiguration av PCR  Kontrollera ditt arbete med användning av pipetteringsschemat och upprepa PCR-analysen vid behov. Se "Protokoll: PCR och dataanalys", sidan 23.
- d) Förvaringsvillkoren för en eller flera kitkomponenter överensstämde inte med de instruktioner som gavs i "Förvaring" (sidan 7).  Kontrollera reagensernas förvaringsvillkor och utgångsdatum (se kitetiketten) och använd ett nytt kit vid behov.
- e) Utgångsdatum för *artus* HBV RG PCR-kitet har passerats  Kontrollera reagensernas förvaringsvillkor och utgångsdatum (se kitetiketten) och använd ett nytt kit vid behov.

Kommentarer och förslag

Svag eller obefintlig signal i den interna kontrollen för ett negativt plasmaprov som renats med hjälp av QIAamp DSP Virus-kitet ($C_T = 29 \pm 3$; tröskelvärde, 0.03) i fluorescenskanal Cycling Yellow eller Cycling A.JOE och samtidig frånvaro av signal i kanal Cycling Green eller Cycling A.FAM

- a) Villkoren för PCR stämmer inte överens med protokollet  Kontrollera villkoren för PCR (se ovan) och upprepa reaktionen med korrekt inställningar vid behov.
- b) PCR inhiberades  Säkerställ att du använder den rekommenderade isoleringsmetoden och noggrant följer tillverkarens anvisningar.
- c) DNA förlorades under extraktion  Om den interna kontrollen tillsattes i extraheringen kan en frånvarande signal för den interna kontrollen tyda på att DNA gått förlorat under extraheringen. Säkerställ att du använder den rekommenderade isoleringsmetoden (se "DNA-isolering", sidan 20) och noggrant följer tillverkarens anvisningar.
- d) Förvaringsvillkoren för en eller flera kitkomponenter överensstämde inte med de instruktioner som gavs i "Förvaring" (sidan 7).  Kontrollera reagensernas förvaringsvillkor och utgångsdatum (se kitetiketten) och använd ett nytt kit vid behov.
- e) Utgångsdatum för *artus* HBV RG PCR-kitet har passerats  Kontrollera reagensernas förvaringsvillkor och utgångsdatum (se kitetiketten) och använd ett nytt kit vid behov.

Kommentarer och förslag

Signaler med de negativa kontrollerna i fluorescenskanalen Cycling Green eller Cycling A.FAM vid analytisk PCR

- a) Kontamination inträffade under förberedelse av PCR
- ① Upprepa PCR med nya reagenser i replikat.
 - ① Stäng om möjligt PCR-rören direkt när du har tillsatt det prov som ska testas.
 - ① Se till att pipettera den positiva kontrollen sist.
 - ① Kontrollera med jämna mellanrum att arbetsytan och instrumenten är dekontaminerade.
- b) Kontamination inträffade under extraktion
- ① Upprepa extraktionen och PCR-analysen för det prov som ska testas med nya reagenser.
 - ① Kontrollera med jämna mellanrum att arbetsytan och instrumenten är dekontaminerade.

Litteraturhänvisningar

QIAGEN upprätthåller en stor och uppdaterad databas online med vetenskapliga publiceringar där QIAGEN-produkter används. Omfattande sökalternativ gör att du kan hitta de artiklar du behöver, antingen genom en enkel nyckelordssökning eller genom att specificera tillämpning, forskningsområde, titel osv.

Om du vill ha en fullständig referenslista kan du besöka QIAGEN:s referensdatabas online på www.qiagen.com/RefDB/search.asp eller kontakta QIAGEN:s tekniska serviceavdelning eller din lokala distributör.

Beställningsinformation

Produkt	Innehåll	Kat.nr
artus HBV RG PCR Kit (24)	För 24 reaktioner: Master, 5 kvantifieringsstandarder, intern kontroll, vatten (polymeraskedjereaktionsgrad)	4506263
artus HBV RG PCR Kit (96)	För 96 reaktioner: Master, 5 kvantifieringsstandarder, intern kontroll, vatten (polymeraskedjereaktionsgrad)	4506265
QIAamp DSP Virus Kit – för rening av virusnukleinsyror från human plasma för in vitro-diagnostik		
QIAamp DSP Virus Kit	För 50 prepareringar: QIAamp MinElute® centrifugeringskolonner, buffertar, reagenser, rör, kolonnförlängare och VacConnectors	60704
Rotor-Gene Q MDx — för IVD-validerad PCR-analys i realtid i kliniska applikationer		
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	PCR-cykler i realtid med 5 kanaler (grön, gul, orange, röd och karmosinröd), laptopdator, program, tillbehör och 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	PCR-cykler i realtid med 5 kanaler (grön, gul, orange, röd och karmosinröd), laptopdator, program, tillbehör och 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning ingår inte	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	PCR-cykler i realtid och analysator med högupplösningssmältning och 5 kanaler (grön, gul, orange, röd och karmosinröd) plus HRM-kanal, laptopdator, program, tillbehör och ett års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning	9002033

Produkt	Innehåll	Kat.nr
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Plattform	PCR-cykler i realtid och analysator med högupplösningssmältning och 5 kanaler (grön, gul, orange, röd och karmosinröd) plus HRM-kanal, laptopdator, program, tillbehör och ett års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning ingår inte	9002032
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	PCR-cykler i realtid med 6 kanaler (blå, grön, gul, orange, röd och karmosinröd), inklusive laptopdator, program, tillbehör och 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning	9002043
Rotor-Gene Q MDx 6plex Plattform	PCR-cykler i realtid med 6 kanaler (blå, grön, gul, orange, röd och karmosinröd), inklusive laptopdator, program, tillbehör och 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning ingår inte	9002042
Rotor-Gene Q MDx 2plex System	PCR-cykler i realtid med 2 kanaler (grön och gul), laptopdator, program, tillbehör och 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning	9002003
Rotor-Gene Q MDx 2plex Plattform	PCR-cykler i realtid och analysator med högupplösningssmältning med 2 kanaler (grön och gul) plus HRM-kanal, laptopdator, program, tillbehör och 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning ingår inte	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM System	PCR-cykler i realtid och analysator med högupplösningssmältning med 2 kanaler (grön och gul) plus HRM-kanal, laptopdator, program, tillbehör och 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning	9002013

Produkt	Innehåll	Kat.nr
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM Platform	PCR-cykler i realtid och analysator med högupplösningssmältning med 2 kanaler (grön och gul) plus HRM-kanal, laptopdator, program, tillbehör och 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning ingår inte	9002012
Rotor-Gene Q – för enastående prestanda inom realtids-PCR		
Rotor-Gene Q 5plex System	PCR-cykler i realtid med 5 kanaler (grön, gul, orange, röd och karmosinröd), laptopdator, program, tillbehör och 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning	9001640
Rotor-Gene Q 5plex Platform	PCR-cykler i realtid med 5 kanaler (grön, gul, orange, röd och karmosinröd), laptopdator, program, tillbehör och 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning ingår inte	9001570
Rotor-Gene Q 5plex HRM System	PCR-cykler i realtid och analysator med högupplösningssmältning och 5 kanaler (grön, gul, orange, röd och karmosinröd) plus HRM-kanal, laptopdator, program, tillbehör och ett års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning	9001650
Rotor-Gene Q 5plex HRM Platform	PCR-cykler i realtid och analysator med högupplösningssmältning och 5 kanaler (grön, gul, orange, röd och karmosinröd) plus HRM-kanal, laptopdator, program, tillbehör och ett års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning ingår inte	9001580

Produkt	Innehåll	Kat.nr
Rotor-Gene Q 6plex System	PCR-cykler i realtid med 6 kanaler (blå, grön, gul, orange, röd och karmosinröd), inklusive laptopdator, program, tillbehör och 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning	9001660
Rotor-Gene Q 6plex Platform	PCR-cykler i realtid med 6 kanaler (blå, grön, gul, orange, röd och karmosinröd), inklusive laptopdator, program, tillbehör och 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning ingår inte	9001590
Rotor-Gene Q 2plex System	PCR-cykler i realtid med 2 kanaler (grön och gul), laptopdator, program, tillbehör och 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning	9001620
Rotor-Gene Q 2plex Platform	PCR-cykler i realtid och analysator med högupplösningssmältning med 2 kanaler (grön och gul) plus HRM-kanal, laptopdator, program, tillbehör och 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning ingår inte	9001550
Rotor-Gene Q 2plex HRM System	PCR-cykler i realtid och analysator med högupplösningssmältning med 2 kanaler (grön och gul) plus HRM-kanal, laptopdator, program, tillbehör och 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning	9001630
Rotor-Gene Q 2plex HRM Platform	PCR-cykler i realtid och analysator med högupplösningssmältning med 2 kanaler (grön och gul) plus HRM-kanal, laptopdator, program, tillbehör och 1 års garanti på reservdelar och arbete, installation och utbildning ingår inte	9001560
Rotor-Gene Q-tillbehör		
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Aluminiumblock för manuell reaktionsinställning med en enkanalspipett i 72 x 0,1 ml rör	9018901

Produkt	Innehåll	Kat.nr
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Aluminiumblock för manuell reaktionsinställning i en standarduppsättning på 8 x 12 med 96 x 0,2 ml rör	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 remsor för 4 rör och lock för 1 000 reaktioner	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 remsor för 4 rör och lock för 10 000 reaktioner	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1 000 tunnväggiga rör för 1 000 reaktioner	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1 000 tunnväggiga rör för 1 000 reaktioner	981008

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler: se respektive QIAGEN-kithandbok eller användarhandbok. QIAGEN-kithandböcker och användarhandböcker finns att tillgå på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN:s tekniska serviceavdelning eller från lokal återförsäljare.

I och med inköpet av denna produkt kan personen använda den för diagnostiska tjänster för human in vitro-diagnostik. Inget allmänt patent eller annan licens av något slag förutom denna specifika användarrätt i och med inköpet beviljas härigenom.

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

artus HBV RG PCR-kitet och QIAamp DSP Virus-kitet är CE-märkta diagnostiska kit enligt det europeiska in vitro-diagnostiska direktivet 98/79/EG. Ej tillgängligt i alla länder.

Begränsat licensavtal

Genom användningen av denna produkt samtycker inköparen eller användaren av artus HBV RG PCR-kitet till följande villkor:

1. artus HBV RG PCR-kitet får endast användas i enlighet med handboken till artus *HBV RG PCR-kitet* och med de komponenter som ingår i kitet. QIAGEN beviljar inget tillstånd enligt något av dess immaterialrätt att använda eller inkorporera de ingående komponenterna i detta kit med någon komponent som inte ingår i detta kit förutom enligt beskrivning i handboken till artus *HBV RG PCR-kitet* och ytterligare protokoll som finns tillgängliga på www.qiagen.com.
2. Förutom de uttryckligen angivna licenserna kan QIAGEN inte garantera att detta kit och/eller dess användning inte kränker oberoende tredje parts rättigheter.
3. Detta kit och dess komponenter är licensierade för engångsbruk och får inte återanvändas, renoveras eller säljas vidare.
4. QIAGEN frånsäger sig specifikt alla andra licenser, uttryckliga eller underförstådda, bortsett från dem som uttryckligen angivits.
5. Inköparen och användaren av denna sats samtycker till att inte vidta eller tillåta att någon annan vidtar några steg som kan leda till eller underlätta några åtgärder som är förbjudna enligt ovan. QIAGEN kan kräva upphävande av detta begränsade licensavtal i domstol och ska ersättas för alla undersöknings- och rättegångskostnader, inklusive advokatkostnader, vid eventuellt försök att upprätthålla detta begränsade licensavtal eller någon av sina immateriella rättigheter avseende kitet och/eller någon av dess komponenter.

För uppdaterade licensvillkor, se www.qiagen.com.

© 2009-2014 QIAGEN, med ensamrätt.

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)

