Březen 2015

Příručka pro sadu *artus*® HCV RG RT-PCR

Σ 24 (katalogové č. 4518263)

Σ 96 (katalogové č. 4518265)

Verze 1

IVD

In vitro diagnostikum pro kvantitativní stanovení

Pro použití s přístrojem Rotor-Gene® Q

CE 0197

REF 4518263, 4518265

HB 1049309CS

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,

NĚMECKO

R5 MAT 1049309CS

QIAGEN®

Sample & Assay Technologies

QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN je vedoucím poskytovatelem inovativních technologií přípravy vzorků a analýz, které umožňují izolaci a detekci obsahu jakéhokoliv biologického vzorku. Naše pokročilé, vysoce kvalitní produkty a služby Vám zajistí spolehlivý výsledek.

QIAGEN určuje standardy:

- v purifikaci DNA, RNA a proteinů
- v analýzách nukleových kyselin a proteinů
- ve výzkumu microRNA a RNAi
- v automatizaci technologií pro přípravu vzorků a jejich analýz.

Naší misí je umožnit Vám dosáhnout vynikajících výsledků a technických úspěchů. Více informací naleznete na www.qiagen.com.

Obsah

Složení sady **4**
Symboly **4**
Uchovávání **5**
Zamýšlené použití **5**
Omezení pro použití produktu **6**
Kontrola kvality **6**
Varování a bezpečnostní opatření **6**
Úvod **7**
Princip 7
Informace o patogenu 7
Charakteristiky chování 8
Vybavení a reagencie, které má zajistit uživatel **17**
Důležité poznámky **18**
Všeobecná bezpečnostní opatření 18
Odběr, skladování a přeprava vzorků 18
Izolace RNA 20
Interní kontrola 20
Kvantifikace 20
Protokol: PCR a analýza dat **22**
Řešení problémů **32**
Literatura **35**
Informace o způsobu objednávání **36**

Složení sady

artus HCV RG RT-PCR Kit			**(24)**	**(96)**
Katalogové č.			**4518263**	**4518265**
Počet reakcí			**24**	**96**
Modrá	Hep. C Virus RG Master A (směs Hep. C Virus RG Master A)		2 x 12 reakcí	8 x 12 reakcí
Fialová	Hep. C Virus RG Master B (směs Hep. C Virus RG Master B)		2 x 12 reakcí	8 x 12 reakcí
Červená	Hep. C Virus RG QS 1* (10^4 IU/µl)	QS	200 µl	200 µl
Červená	Hep. C Virus RG QS 2* (10^3 IU/µl)	QS	200 µl	200 µl
Červená	Hep. C Virus RG QS 3* (10^2 IU/µl)	QS	200 µl	200 µl
Červená	Hep. C Virus RG QS 4* (10^1 IU/µl)	QS	200 µl	200 µl
Zelená	Hep. C Virus RG IC†	IC	1000 µl	2 x 1000 µl
Bílá	Voda (v kvalitě vhodné pro PCR)		1000 µl	1000 µl
	Příručka	HB	1	1

* Kvantifikační standard.

† Interní kontrola.

Symboly

<N> Obsahuje reagencie pro <N> testů

Použijte do

Prostředek zdravotnické techniky pro in vitro diagnostiku

Katalogové číslo

Číslo šarže

Číslo materiálu

COMP	Díly
CONT	Obsahuje
NUM	Počet
GTIN	Mezinárodní číslo obchodní položky GTIN
	Teplotní rozmezí
	Výrobce
	Další informace viz návod k použití
	Důležitá poznámka

Uchovávání

Komponenty sady *artus* HCV RG RT-PCR se skladují při teplotě –30°C až –15°C a mají trvanlivost do data uvedeného na štítku. Zabraňte opakovanému rozmrazení a zmrazení (> 2x), snižuje se tím senzitivita analýzy. Pokud se reagencie mají používat pouze občasně, je nutné je zmrazit v alikvotních množstvích. Uchovávání při 2–8°C by nemělo překročit dobu pěti hodin.

Zamýšlené použití

Sada *artus* HCV RG RT-PCR je test amplifikace nukleových kyselin in vitro pro kvantifikaci RNA viru hepatitidy C (HCV) v lidské plazmě. Tato diagnostická sada využívá polymerázovou řetězovou reakci s reverzní transkripcí (RT-PCR) a je konfigurována pro použití s přístroji Rotor-Gene Q. Test kvantifikuje RNA viru HCV v rozsahu 65–1 x 10^6 IU/ml HCV.

Sada *artus* HCV RG RT-PCR se nesmí používat s přístroji Rotor-Gene Q 2plex.

Sada *artus* HCV RG RT-PCR je určena k použití ve spojení s klinickou prezentací a dalšími laboratorními ukazateli pro stanovení prognózy onemocnění a slouží jako pomůcka při posuzování virologické odpovědi na léčbu antiretrovirotiky hodnocené podle změn hladiny RNA viru HCV v EDTA plazmě. Sada *artus* HCV RG RT-PCR není míněna jako screeningový test na HCV ani jako diagnostický test k potvrzení přítomnosti infekce HCV.

Omezení pro použití produktu

Všechny reagencie se smí používat výhradně pro diagnostiku in vitro.

Produkt by měli používat pouze pracovníci, kteří jsou speciálně poučeni a vyškoleni v metodice diagnostiky in vitro.

Přesné dodržování protokolu je bezpodmínečně nutné k dosažení optimálních výsledků PCR.

Dbejte na konec doby použitelnosti uvedený na balení a na štítcích jednotlivých komponent. Nepoužívejte reagencie s prošlou trvanlivostí.

V ojedinělých případech mohou mutace ve vysoce konzervovaných oblastech virového genomu, které jsou pokryty primery a/nebo sondami soupravy, vést k nedostatečné kvantifikaci nebo k selhání detekce přítomnosti viru. Validita a účinnost testu jsou pravidelně kontrolovány.

Kontrola kvality

V souladu se systémem managementu jakosti společnosti QIAGEN certifikovaným podle norem ISO byla každá šarže sady *artus* HCV RG RT-PCR testována podle předem stanovených specifikací, aby byla zaručena jednotná kvalita produktu.

Varování a bezpečnostní opatření

Při práci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní plášť, rukavice na jedno použití a ochranné brýle. Další informace jsou uvedeny v odpovídajících bezpečnostních listech (BL). Bezpečnostní listy jsou k dispozici online v pohodlném a kompaktním formátu PDF na stránkách www.qiagen.com/safety, kde můžete nalézt, zobrazit a vytisknout BL pro každou sadu QIAGEN® a pro každou komponentu těchto sad.

Odpad ze vzorků a rozborů likvidujte podle místních bezpečnostních předpisů.

Úvod

Sada *artus* HCV RG RT-PCR je systém k přímému použití pro průkaz RNA viru HCV pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) v přístrojích Rotor;-Gene Q. Směsi Hep. Směsi C Virus RG Master A a B obsahují reagencie a enzymy pro reverzní transkripci a specifickou amplifikaci úseku 240 bp genomu viru HCV a také bezprostřední detekci specifického amplifikátu ve fluorescenčním kanálu Cycling Green přístroje Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q nebo Rotor-Gene 6000, případně kanálu Cycling A.FAM™ (zdroj 470 nm, detektor 510 nm) přístroje Rotor-Gene 3000.

Kromě toho sada *artus* HCV RG RT-PCR obsahuje druhý heterologní amplifikační systém pro průkaz potenciální inhibice PCR. Tento systém je detekován jako interní kontrola (IC) ve fluorescenčním kanálu Cycling Orange přístroje Rotor-Gene Q MDx, Rotor-;Gene Q nebo Rotor-Gene 6000, případně kanálu A.ROX™ (zdroj 585 nm, detektor 610 nm) přístroje Rotor-Gene 3000. Limit detekce analytické HCV RT-PCR (viz „Analytická senzitivita“, strana 8) přitom není negativně ovlivněn. Spolu s produktem se dodávají externí pozitivní kontroly (Hep. C Virus RG QS 1–4), s jejichž pomocí lze určit množství virové RNA. Další informace viz „Kvantifikace“, strana 20.

Princip

Průkaz původce pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) je založen na amplifikaci specifické oblasti genomu původce. Detekce probíhá při PCR v reálném čase pomocí fluorescenčních barviv. Barviva jsou zpravidla vázaná na oligonukleotidové sondy, které se vážou specificky na PCR amplifikát. Detekce intenzity fluorescence v průběhu PCR v reálném čase umožňuje průkaz a kvantifikaci kumulujícího se produktu, aniž by bylo nutné po PCR znovu otevírat reakční zkumavky.*

Informace o patogenu

Hepatitida C je zánět jater způsobený virem stejného názvu. Na rozdíl od ostatních virů hepatitidy A, B, D nebo E způsobuje infekce virem hepatitidy C (HCV) ve vysokém počtu případů chronické jaterní onemocnění. Infekce HCV se často po relativně dlouhou dobu neprojevuje žádnými příznaky. Z tohoto důvodu většina pacientů o své infekci HCV neví. Léčba je však nejúčinnější v prvních stádiích onemocnění. V současné době je jedinou prokázanou účinnou léčbou interferon α (v kombinaci s Ribavirinem). Je však také známo, že na léčbu interferonem reagují pouze někteří pacienti s chronickou hepatitidou C. Za určitých okolností může být proto tato nákladná léčba pacienta nepříznivá a může

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

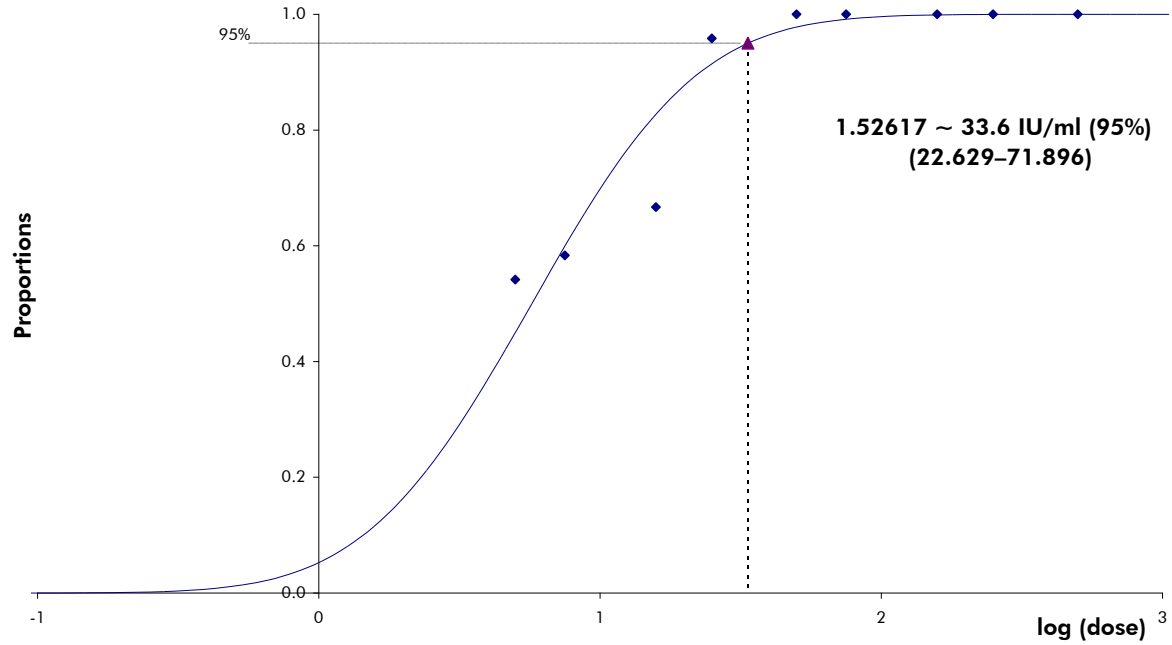
mít závažné nežádoucí účinky, jako je oslabení imunitního systému vedoucí ke zhoršení stavu (např. opary na rtech, pásový opar).

Charakteristiky chování

Analytická senzitivita

Pro určení analytické senzitivity sady *artus* HCV RG RT-PCR byla vytvořena řada ředění standardů od 10 IU/µl do nominálně 0,0316 IU/µl in vitro transkribovaných kopií RNA. Ta byla následně analyzována pomocí sady *artus* HCV RG RT-PCR. Experimenty byly provedeny ve 3 různých dnech formou osminásobných určení. Výsledky byly zjištěny probitovou analýzou. Analytický limit detekce sady *artus* HCV RG RT-PCR je 0,19 IU/µl (p = 0,05). To znamená, že je s 95% pravděpodobností detekováno 0,19 IU/µl.

Analytická senzitivita s ohledem na izolaci (sada QIAamp® DSP Virus) sady *artus* HCV RG RT-PCR na přístroji Rotor-Gene byla určena řadou ředění mezinárodního standardu RNA HCV organizace WHO (WHO International HCV RNA Standard) od 500 do nominálně 5 IU/ml HCV v klinických vzorcích plazmy. Tyto vzorky byly podrobeny izolaci RNA pomocí sady QIAamp DSP Virus (extrakční objem: 0,5 ml, eluční objem: 25 µl). Každé z 9 ředění bylo analyzováno za užití sady *artus* HCV RG RT-PCR ve 3 různých dnech formou osminásobných určení. Výsledky byly zjištěny probitovou analýzou. Grafické znázornění probitové analýzy naleznete v obrázku 1. Analytický limit detekce s ohledem na izolaci sady *artus* HCV RG RT-PCR v kombinaci s přístrojem Rotor-Gene je 33,6 IU/ml (p = 0,05). To znamená, že 33,6 IU/ml bude detekováno s 95% pravděpodobností.



Obrázek 1. Probitová analýza: HCV (Rotor-Gene 3000). Analytická senzitivita s ohledem na izolaci (sada QIAamp DSP Virus, QIAGEN) sady *artus* HCV RG RT-PCR na přístroji Rotor-Gene 3000.

Specificita

Specificita sady *artus* HCV RG RT-PCR je v první řadě zaručena výběrem primerů a sond, jakož i volbou přísných reakčních podmínek. Primery a sondy byly na základě sekvenční analýzy přezkoušeny na eventuální homologie se všemi sekvencemi publikovanými v genových bankách. Tím byla zajištěna detekovatelnost všech relevantních subtypů a genotypů.

Specificita byla navíc validována pomocí 100 různých HCV negativních vzorků plazmy, které spolu se specifickými primery a sondami pro HCV zahrnutými ve směsi Hep. C Virus RG Master nevytvářely žádný signál.

Potenciální křížová reaktivita sady *artus* HCV RG RT-PCR byla testována pomocí kontrolní skupiny uvedené v tabulce 2. Žádný z testovaných původců nebyl reaktivní. Při smíšených infekcích se nevyskytly žádné křížové reaktivity.

Tabulka 1. Testování specificity relevantních genotypů

Virus	Genotyp	Zdroj	HCV (Cycling Green/ A.FAM)	Interní kontrola (Cycling Orange/ A.ROX)
Virus hepatitidy C	1	NIBSC, HemaCare, Essenská univerzita	+	+
Virus hepatitidy C	2	NIBSC, HemaCare, Essenská univerzita	+	+
Virus hepatitidy C	3	NIBSC, HemaCare, Essenská univerzita	+	+
Virus hepatitidy C	4	NIBSC, HemaCare, Essenská univerzita	+	+
Virus hepatitidy C	5	NIBSC, HemaCare, Essenská univerzita	+	+
Virus hepatitidy C	6	NIBSC, HemaCare, Essenská univerzita	+	+

Tabulka 2. Testování specificity diagnostické soupravy pomocí potenciálně křížově reaktivních patogenů

Kontrolní skupina	HCV (Cycling Green/ A.FAM)	Interní kontrola (Cycling Orange/ A.ROX)
Virus lidské imunodeficience 1	–	+
Virus hepatitidy A	–	+
Virus hepatitidy B	–	+
Lidský herpesvirus 1 (Herpes simplex virus 1)	–	+

Lidský herpesvirus 2 (Herpes simplex virus 2)	–	+
Lidský herpesvirus 3 (Varicella zoster virus)	–	+
Lidský herpesvirus 5 (cytomegalovirus)	–	+

Tabulka pokračuje na další straně

Tabulka 2. Pokračování

Kontrolní skupina	**HCV (Cycling Green/ A.FAM)**	**Interní kontrola (Cycling Orange/ A.ROX)**
Lidský virus leukémie T-buněk typu 1 a 2	–	+
Lidský herpesvirus 6A	–	+
Lidský herpesvirus 6B	–	+
Lidský herpesvirus 8 (herpesvirus Kaposiho sarkomu)	–	+
Enterovirus	–	+
Parvovirus B19	–	+
Horečka dengue	–	+
Žlutá horečka	–	+
Aspergillus flavus	–	+
Aspergillus fumigatus	–	+
Candida albicans	–	+
Chlamydia trachomatis	–	+
Cryptosporidium parvum	–	+
Filobasidiella neoformans	–	+
Mycoplasma pneumoniae	–	+
Pneumocystis cariniie	–	+
Staphylococcus sp.	–	+
Streptococcus agalactiae	–	+

Staphylococcus aureus	–	+
Streptococcus pyogenes	–	+

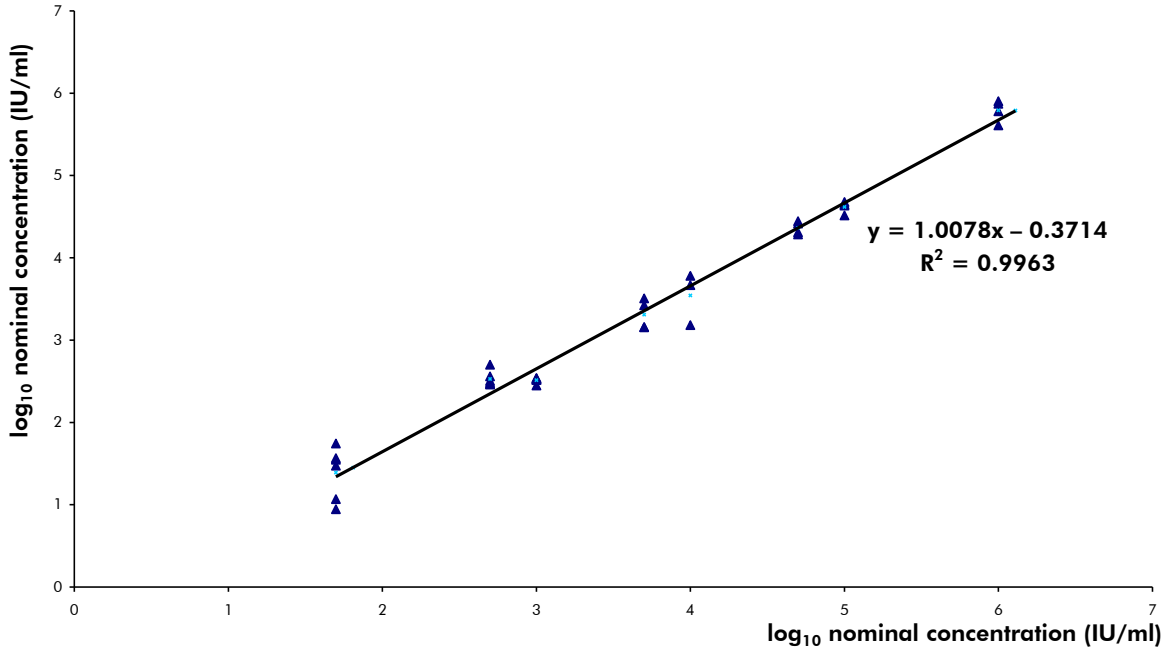
Lineární oblast kvantifikace

Lineární oblast kvantifikace (analytické měření) sady *artus* HCV RG RT-PCR byla určena analýzou řady ředění in vitro transkriptu HCV v rozsahu koncentrace od 1 x 10^7 IU/µl do 1 IU/µl. Řada ředění byla kalibrována pomocí mezinárodního standardu RNA HCV organizace WHO (WHO International HCV RNA Standard).

Každá fáze ředění byla testována v replikátech (n = 8) pomocí sady *artus* HCV RG RT-PCR na přístroji Rotor-Gene.

Lineární oblast kvantifikace sady *artus* HCV RG RT-PCR se tudíž vztahuje na koncentrace od 1 IU/µl do minimálně 1 x 10^7 IU/µl.

Lineární oblast kvantifikace s ohledem na izolaci sady *artus* HCV RG RT-PCR byla určena analýzou vzorků společnosti Acrometrix. Izolace byla provedena v replikátech (n = 6) od 50 IU/ml do 10^3 IU/ml a v replikátech (n = 4) od 5 x 10^3 IU/ml do 10^6 IU/ml pomocí sady QIAamp DSP Virus (extrakční objem: 0,5 ml, eluční objem: 25 µl). Každý vzorek byl analyzován pomocí sady *artus* HCV RG RT-PCR na přístroji Rotor-Gene. Lineární oblast kvantifikace s ohledem na izolaci sady *artus* HCV RG RT-PCR se tudíž vztahuje na koncentrace od 65 IU/ml do minimálně 10^6 IU/ml (viz obrázek 2).



Obrázek 2. Lineární oblast kvantifikace sady *artus* HCV RG RT-PCR. Výpočet lineární oblasti kvantifikace s ohledem na izolaci. Přímka byla stanovena lineární regresí $\log_{10}$

vypočítaných koncentrací s $\log_{10}$ nominálními koncentracemi. Rovnice regresních přímek je zahrnuta v obrázku.

Přesnost

Údaje o přesnosti pro sadu *artus* HCV RG RT-PCR na přístroji Rotor-Gene umožňují stanovit celkovou variabilitu testovacího systému. Tato celková variabilita se skládá z intra-assay variability (variabilita výsledků vzorků stejné koncentrace v rámci jednoho pokusu), inter-assay variability (variabilita výsledků rozboru generovaných na různých přístrojích stejného typu a provedených různými osobami v jedné laboratoři) a inter-batch variability (variabilita výsledků rozboru za užití různých šarží). Získaná data byla použita k vypočítání standardní odchylky, variance a koeficientu variace jak pro specifickou PCR původce, tak i pro PCR interní kontroly.

Údaje o přesnosti byly pro sadu *artus* HCV RG RT-PCR stanoveny na základě kvantifikačního standardu s nejnižší koncentrací (QS 4; 10 IU/µl). Experimenty byly provedeny formou osminásobných určení. Údaje o přesnosti byly vypočítány na základě hodnot C_T amplifikačních křivek (C_T: prahový cyklus, viz tabulka 3). Pomocí odpovídajících hodnot C_T byly navíc určeny údaje o přesnosti pro kvantitativní výsledky v IU/µl (viz tabulka 4). Na základě těchto výsledků činí celkový statistický rozptyl libovolného vzorku uvedené koncentrace 1,52 % (C_T), resp. 25,71 % (koncentrace), a 0,75 % (C_T) pro průkaz interní kontroly. Tyto hodnoty se zakládají na souhrnu všech dílčích hodnot zjištěných variabilit.

Tabulka 3. Data o přesnosti na základě hodnot C_T

	Hodnota C^T	Směrodatná odchylka	Koeficient variace (%)
Variabilita v rámci jednoho pokusu: Hep. C Virus RG QS 4	32,81	0,09	0,28
Variabilita v rámci jednoho pokusu: Hep. C Virus RG IC	30,04	0,08	0,27
Variabilita mezi různými pokusy: Hep. C Virus RG QS 4	32,14	0,5	1,57
Variabilita mezi různými pokusy: Hep. C Virus RG IC	30,23	0,22	0,71
Variabilita mezi různými šaržemi:	32,56	0,48	1,46

Hep. C Virus RG QS 4			
Variabilita mezi různými šaržemi: Hep. C Virus RG IC	30,28	0,24	0,78
Celková variabilita: Hep. C Virus RG QS 4	32,41	0,49	1,52
Celková variabilita: Hep. C Virus RG IC	30,29	0,29	0,75

Tabulka 4. Údaje o přesnosti na základě kvantitativních hodnot (v IU/µl)

	Směrodatná odchylka	Variance	Koeficient variace (%)
Variabilita v rámci jednoho pokusu: Hep. C Virus RG QS 4	0,64	0,41	6,34
Variabilita mezi různými pokusy: Hep. C Virus RG QS 4	1,00	1,00	9,93
Variabilita mezi různými šaržemi: Hep. C Virus RG QS 4	3,92	15,34	37,35
Celková variabilita: Hep. C Virus RG QS 4	2,63	6,93	25,71

Robustnost

Přezkoušení robustnosti slouží k stanovení celkové četnosti chyb sady *artus* HCV RG RT-PCR. 100 HCV negativních vzorků plazmy bylo smíseno s 2 IU/µl elučního objemu kontrolní RNA HCV (přibližně trojnásobná koncentrace analytické hranice senzitivity). Po izolaci pomocí sady QIAamp DSP Virus byly tyto vzorky analyzovány s využitím sady *artus* HCV RG RT-PCR. Četnost chyb pro HCV činila u všech vzorků 0 %. Robustnost interní kontroly byla dodatečně přezkoušena izolací a analýzou 100 HCV negativních vzorků plazmy. Celková četnost chyb činila 0%. Inhibice nebyly pozorovány. Robustnost sady *artus* HCV RG RT-PCR činí tedy ≥ 99 %.

Reprodukovatelnost

Údaje o reprodukovatelnosti jsou pořizovány za účelem pravidelného hodnocení výkonnosti sady *artus* HCV RG RT-PCR a výkonnostního srovnání

s ostatními produkty. Tyto údaje jsou získávány na základě účastí v uznávaných programech pro výkonnostní hodnocení.

Diagnostické hodnocení

Sada *artus* HCV RG RT-PCR byla hodnocena v jedné studii. Při srovnání sady *artus* HCV RG RT-PCR se sadou COBAS® TaqMan® HCV Test bylo retrospektivně analyzováno 276 vzorků plazmy. Všechny vzorky plazmy byly pomocí sady COBAS TaqMan HCV Test původně analyzovány s pozitivním nebo negativním výsledkem v rámci rutinní diagnostiky.

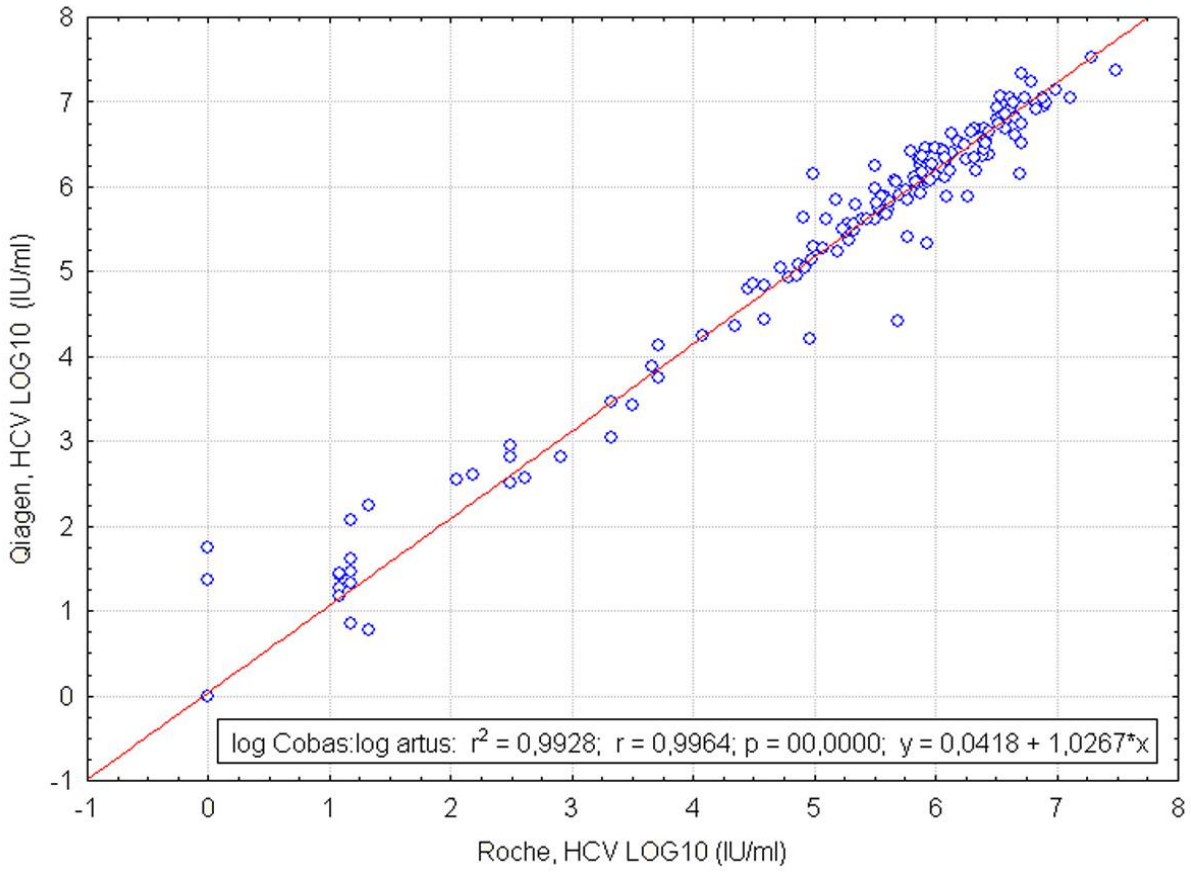
RNA HCV určená pro testování se sadou *artus* HCV RG RT-PCR byla izolována pomocí sady QIAamp DSP Virus. Analýza byla provedena v přístroji Rotor-Gene 6000. Pro srovnávací testy s COBAS TaqMan HCV Test byla RNA HCV izolována podle údajů výrobce uvedených v příbalových informacích. Výsledky získané pomocí sady *artus* HCV RG PCR byly porovnány s výsledky sady COBAS TaqMan HCV Test (viz tabulka 5 a obrázek 3).

137 ze 139 vzorků, které byly se sadou COBAS TaqMan HCV Test testovány pozitivně, prokázalo pozitivní výsledek i se sadou *artus* HCV RG RT-PCR. Všech 137 vzorků, které byly se sadou COBAS TaqMan HCV Test testovány negativně, vyšlo negativně i se sadou *artus* HCV RG RT-PCR.

Použijeme-li výsledky sady COBAS TaqMan HCV Test jako referenci, diagnostická senzitivita je 100 % a diagnostická specificita 98,6 %.

Tabulka 5. Výsledky analýzy 276 retrospektivních vzorků EDTA plazmy

		COBAS TaqMan HCV Test		
		+	–	**Celkem**
***artus* HCV RG RT-PCR**	+	137	2	139
	–	0	137	137



Obrázek 3. Porovnání sady COBAS TaqMan HCV Test (Roche, HCV; purifikace vzorku provedena s využitím systému COBAS AmpliPrep) se sadou *artus* HCV RG RT-PCR (QIAGEN, HCV; purifikace vzorku provedena s využitím sady QIAamp DSP Virus).
Korelace kvantitativních výsledků obou testovacích systémů (tabulka 5) byla analyzována pomocí lineární regrese. Výsledky obou sad jsou znázorněny v rozptylovém diagramu XY se stupnicí log/log.

Vybavení a reagencie, které má zajistit uživatel

Při práci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní plášť, rukavice na jedno použití a ochranné brýle. Další informace jsou uvedeny v příslušných bezpečnostních listech (BL), které lze získat od dodavatele produktu.

- Sada k izolaci RNA (viz „Izolace RNA“, strana 20)
- Pipety (nastavitelné)*
- Sterilní pipetovací špičky s filtrem
- Třepačka vortex*
- Stolní centrifuga s rotorem pro 2ml reakční zkumavky
- Přístroj Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q nebo Rotor-Gene*† s fluorescenčními kanály Cycling Green a Cycling Orange nebo s fluorescenčními kanály Cycling A.FAM a Cycling A.ROX
- Software Rotor-Gene Q MDx / Rotor-Gene Q verze 1.7.94 a vyšší (software Rotor-Gene 6000 verze 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94; software Rotor-Gene 3000 verze 6.0.23)
- Zkumavky v stripech s uzávěry, 0,1 ml, pro použití s 72jamkovým rotorem (kat. čís. 981103 nebo 981106)
- Alternativně: Zkumavky PCR, 0,2 ml, pro použití s 36jamkovým rotorem (kat. čís. 981005 nebo 981008)
- Chladicí blok (vkládací blok 72 x 0,1ml zkumavky, kat. čís. 9018901, nebo vkládací blok 96 x 0,2ml zkumavky, kat. čís. 9018905)

* Ujistěte se, že byly přístroje kontrolovány a kalibrovány podle doporučení výrobce.

† Sada *artus* HCV RG RT-PCR se nesmí používat s přístroji Rotor-Gene Q 2plex.

Důležité poznámky

Všeobecná bezpečnostní opatření

Vždy dbejte na následující:

- Používejte sterilní pipetovací špičky s filtrem.
- Skladujte, izolujte a přidávejte pozitivní materiál (vzorky, pozitivní kontroly a amplifikáty) do reakční směsi na jiném místě než ostatní reagencie.
- Všechny komponenty před počátkem analýzy úplně rozmrazte při pokojové teplotě (15–25 °C).
- Následně komponenty řádně promíchejte (opakovaný náběr pipetou a vypuštění pipety nebo pulzní třepačka) a krátce centrifugujte.
- Pracujte rychle a udržujte komponenty na ledu nebo v chladicím bloku (72- / 96jamkový vkládací blok).

Odběr, skladování a přeprava vzorků

ⓘ Se všemi vzorky se musí zacházet jako s potenciálně infekčními.

Přípustné jsou pouze následující materiály vzorků, u kterých je nezbytné přesně dodržovat následující předpisy pro odběr, skladování a přepravu.

ⓘ Dosud známé údaje prokazují EDTA nebo citrátovou plazmu jako nejvhodnější vzorek pro průkaz HCV. Doporučujeme tedy používat tyto materiály se sadou *artus* HCV RG RT-PCR.

Interní validace sady *artus* HCV RG RT-PCR byla provedena pomocí vzorků lidské EDTA plazmy. Jiné materiály vzorků nejsou validovány. Pro přípravu vzorku používejte pouze doporučenou sadu k izolaci RNA (viz „Izolace RNA“, strana 20).

Při užití některých materiálů vzorků je nezbytné dodržovat následující předpisy pro odběr, skladování a přepravu.

Odběr vzorků

Každý odběr krve je podmíněn narušením krevních cest (tepny, žíly, kapiláry). Používat se smí pouze nezávadný a sterilní materiál. Pro odběr krve by měly být k dispozici odpovídající jednorázové pomůcky. K punkci žil by se neměly používat příliš jemné kanyly. Odběr žilní krve by měl být proveden na vhodných místech v oblasti loketní jamky, předloktí nebo na hřbetu ruky. Krev odebírejte do standardních odběrových zkumavek (červený uzávěr, Sarstedt nebo ekvivalentní zkumavky jiných výrobců). Odeberte 5–10 ml EDTA krve. Zkumavky by měly být bezprostředně po odběru promíchány opakovaným obracením (8x, netřepat).

ⓘ Vzorky osob, kterým byl podán heparin, se nesmí používat (viz „Látky narušující stanovení“, strana 19).

Skladování vzorků

Plná krev by měla být během 6 hodin rozdělena na plazmu a buněčné elementy centrifugací při 800–1600 x g po dobu 20 minut. Oddělená plazma musí být převedena do sterilní polypropylenové zkumavky. Výkonnost testu může být opakovaným zmrazováním nebo delším skladováním vzorků narušena. RNA obsaženou ve viru lze při 4 °C skladovat po dobu několika dní, při –20 °C několik týdnů a při –70 °C měsíce až roky.*

Přeprava vzorků

Vzorky by měly být přepravovány zásadně v nerozbitných transportních nádobách, aby se zabránilo eventuálnímu nebezpečí infekce při úniku vzorku. Vzorky musí být zasílány podle platných místních a státních předpisů pro přepravu látek vyvolávajících nákazu.†

Přeprava nesmí trvat déle než šest hodin. Skladování na místě odběru se nedoporučuje. Transport poštou je možný, musí se však dbát na zákonné předpisy. Doporučujeme přepravu kurýrem. Krevní vzorky by měly být zasílány chlazené (2–8 °C) a oddělená plazma hluboce zmrazená (–15 až –30 °C).

Látky narušující stanovení

Zvýšené hodnoty bilirubinu (≥ 15 mg/dl) a lipidů (≥ 800 mg/dl) stejně jako hemolytické vzorky systém neovlivňují. Heparin (≥ 10 IU/ml) reakci PCR nepříznivě ovlivňuje. Vzorky, které byly odebrány do zkumavek, které obsahují heparin jako antikoagulant, nesmí být použity. Stejně tak se nesmí používat vzorky heparinizovaných osob.

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

† International Air Transport Association (Mezinárodní asociace leteckých dopravců) (IATA). Dangerous Goods Regulations (Předpisy pro přepravu nebezpečného zboží).

Izolace RNA

Sada QIAamp DSP Virus (QIAGEN, kat. čís. 60704) je validována pro purifikaci virové RNA z lidské plazmy pro použití se sadou *artus* HCV RG RT-PCR. Purifikaci virové RNA proveďte podle pokynů v příručce pro sadu QIAamp DSP Virus (*QIAamp DSP Virus Kit Handbook*).

ⓘ Užití nosičové RNA má rozhodující význam pro efektivitu izolace a tím i pro výtěžek DNA/RNA. Pro větší stabilitu nosičové RNA dodávané spolu se sadou QIAamp DSP Virus postupujte podle údajů o rekonstituci a skladování nosičové RNA uvedených v návodu k použití („Preparing reagents and buffers“).

ⓘ Interní kontrolu sady *artus* HCV RG RT-PCR lze vložit přímo do izolace (viz „Interní kontrola“ níže). Dbejte na to, aby byl při izolaci zpracován také negativní vzorek plazmy. Jemu odpovídající signál interní kontroly je podkladem pro vyhodnocení izolace.

Interní kontrola

Spolu s produktem se dodává interní kontrola (Hep. C Virus RG IC). Uživatel má tak možnost kontrolovat jak izolaci RNA, tak také možnou inhibici PCR. Pro tuto aplikaci přidejte k izolaci interní kontrolu v poměru 0,1 µl na 1 µl elučního objemu. Jestliže používáte například sadu QIAamp DSP Virus a eluujete RNA v 60 µl elučního pufru (AVE), přidejte na začátku 6 µl interní kontroly.

ⓘ Interní kontrola a nosičová RNA (viz „Izolace RNA“ výše) by měly být přidávány pouze ke směsi lyzačního pufru a vzorku nebo přímo k lyzačnímu pufru.

Interní kontrola nesmí být přidána přímo ke vzorku. Upozorňujeme, že při přidávání k lyzačnímu pufru musíte směs interní kontroly a lyzačního pufru / nosičové RNA připravit vždy čerstvou a ihned použít (skladování směsi při pokojové teplotě nebo v lednici může již po několika hodinách vést k selhání interní kontroly a ke snížení efektivity izolace).

ⓘ Interní kontrolu a nosičovou RNA nepřidávejte přímo do vzorku.

Volitelně lze interní kontrolu použít výhradně ke kontrole možné inhibice PCR. V tomto případě přidejte interní kontrolu přímo ke směsi Hep. C Virus RG Master A a Hep. C C Virus RG Master B, jak popisuje krok 2b protokolu (strana 23).

Kvantifikace

S kvantifikačními standardy dodávanými spolu s produktem (Hep. C Virus RG QS 1–4) se zachází stejně jako s již izolovanými vzorky a přidávají

se ve stejném objemu (20 µl). Standardní křivku na přístroji Rotor-Gene Q vytvoříte tak, že použijete všechny 4 kvantifikační standardy, definujete je v dialogovém okně „Edit Samples“ (Upravit vzorky) jako standardy a zadáte odpovídající koncentrace (viz uživatelská příručka k přístroji).

ⓘ Kvantifikační standardy jsou definovány jako IU/µl.* Pro přepočet hodnot získaných pomocí standardní křivky na IU/ml vzorku se používá následující vzorec:

$$\text{Výsledek (IU/ml)} = \frac{\text{výsledek (IU/µl) x elační objem (µl)}}{\text{objem vzorku (ml)}}$$

Do výše uvedeného vzorce se dosazuje zásadně původní objem vzorku. Toto se musí zohlednit, byl-li objem vzorku před izolací nukleových kyselin pozměněn (např. redukce objemu centrifugací nebo jeho zvýšení naplněním na objem požadovaný pro izolaci).

* Standard byl kalibrován pomocí 1. mezinárodního standardu HCV (WHO; „1st International HCV Standard“).

Protokol: PCR a analýza dat

Důležité body, než začnete

- Před začátkem procesu si přečtěte „Důležité poznámky“, strany 18–20.
- Před zahájením procedury získejte základní informace o přístroji Rotor-Gene Q. Viz uživatelská příručka k přístroji.
- Dbejte na to, aby byl do každého běhu PCR zahrnut alespoň jeden kvantifikační standard a jedna negativní kontrola (voda v kvalitě vhodné pro PCR). Pro vytvoření standardní křivky použijte u každého běhu PCR všechny 4 kvantifikační standardy (Hep. C Virus RG QS 1–4) dodávané spolu s produktem.

Věci, které je nutné udělat před zahájením

- Ověřte, že je chladicí blok (příslušenství přístroje Rotor-Gene Q) předem vychlazen na 2–8 °C.
- Všechny reagencie se musí před začátkem testu zcela rozmrazit při pokojové teplotě, musí být dobře promíchány (opakovaný náběr pipetou a vypuštění pipety nebo krátký vortex) a následně centrifugovány.

Postup

1. **Umístěte požadovaný počet zkumavek PCR do adaptérů chladicího bloku.**
2. **Chcete-li pomocí interní kontroly sledovat jak izolaci RNA, tak možnou inhibici PCR, postupujte podle kroku 2a. Chcete-li interní kontrolu použít výhradně ke kontrole inhibice PCR, postupujte podle kroku 2b.**

2a. **Interní kontrola již byla přidána k izolaci (viz „Interní kontrola“, strana 20). V tomto případě připravte směs Master Mix podle tabulky 6.**

Reakční směs obvykle obsahuje všechny komponenty potřebné pro PCR kromě vzorku.

Tabulka 6. Příprava směsi Master Mix (interní kontrola použitá ke sledování izolace RNA a ke kontrole inhibice PCR)

Počet vzorků	1	12
Hep. C Virus RG Master A (směs Hep. C Virus RG Master A)	12 µl	144 µl
Hep. C Virus RG Master B (směs Hep. C Virus RG Master B)	18 µl	216 µl
Hep. C Virus RG IC	0 µl	0 µl
celkový objem	**30 µl**	**360 µl**

2b. Interní kontrola musí být přidána přímo ke směsi Hep. C Virus Master A a Hep. C Virus Master B. V tomto případě připravte směs Master Mix podle tabulky 7.

Reakční směs obvykle obsahuje všechny komponenty potřebné pro PCR kromě vzorku.

Tabulka 7. Příprava směsi Master Mix (interní kontrola použitá výhradně ke kontrole inhibice PCR)

Počet vzorků	1	12
Hep. C Virus RG Master A (směs Hep. C Virus RG Master A)	12 µl	144 µl
Hep. C Virus RG Master B (směs Hep. C Virus RG Master B)	18 µl	216 µl
Hep. C Virus RG IC	2 µl	24 µl
celkový objem	**32 µl**	**384 µl**

* Zvýšení objemu podmíněné přidáním interní kontroly se při přípravě reakce PCR nezohledňuje. Senzitivita detekčního systému není omezena.

3. Odměřte pipetou do každé zkumavky PCR 30 µl směsi Master Mix. Poté přidejte 20 µl eluátu z izolace RNA (viz tabulka 8). Obdobně musíte přidat jako pozitivní kontrolu 20 µl alespoň jednoho kvantifikačního standardu (Hep. C Virus RG QS 1–4) a jako negativní kontrolu 20 µl vody v kvalitě vhodné pro PCR (Water, PCR grade).

Tabulka 8. Příprava PCR reakce

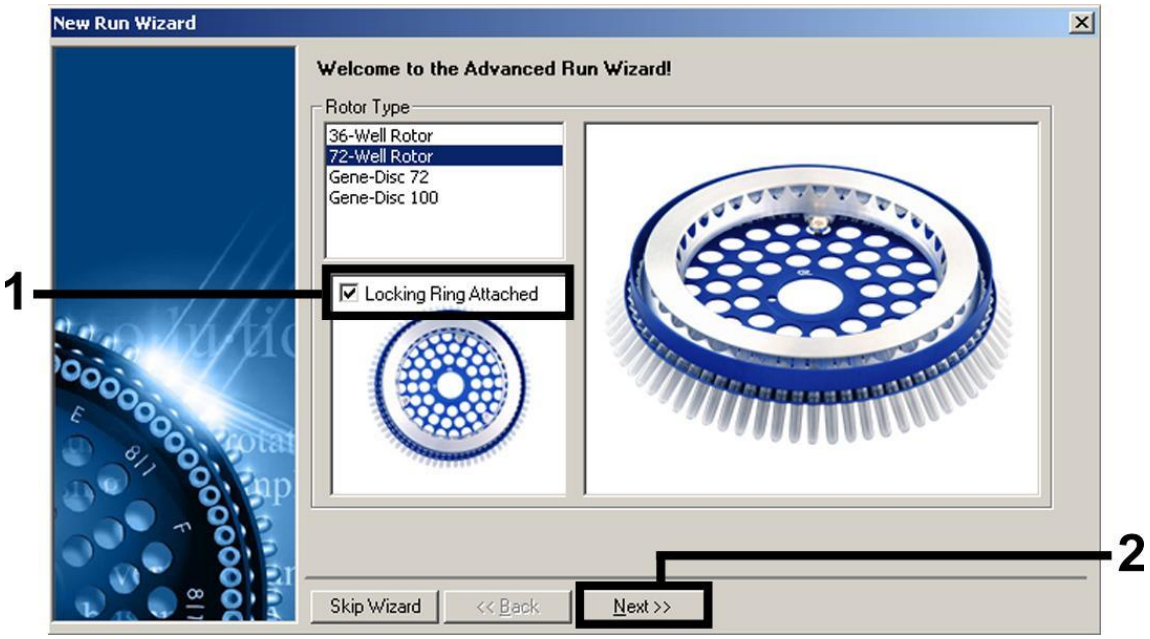
Počet vzorků	1	12
Master Mix	30 µl	po 30 µl
Vzorek	20 µl	po 20 µl
celkový objem	**50 µl**	**po 50 µl**

4. **Uzavřete zkumavky PCR. Ujistěte se, že byl na rotor nasazen Locking Ring (příslušenství přístroje Rotor-Gene) jako prevence nechtěného otevření zkumavek během běhu.**
5. **Pro detekci RNA HCV vytvořte teplotní profil podle následujících kroků.**

Nastavení obecných parametrů	**Obrázky 4, 5, 6**
Reverzní transkripce RNA	**Obrázek 7**
Počáteční aktivace Hot Start enzymu	**Obrázek 8**
Amplifikace cDNA	**Obrázek 9**
Nastavení senzitivity fluorescenčních kanálů	**Obrázek 10**
Spuštění běhu	**Obrázek 11**

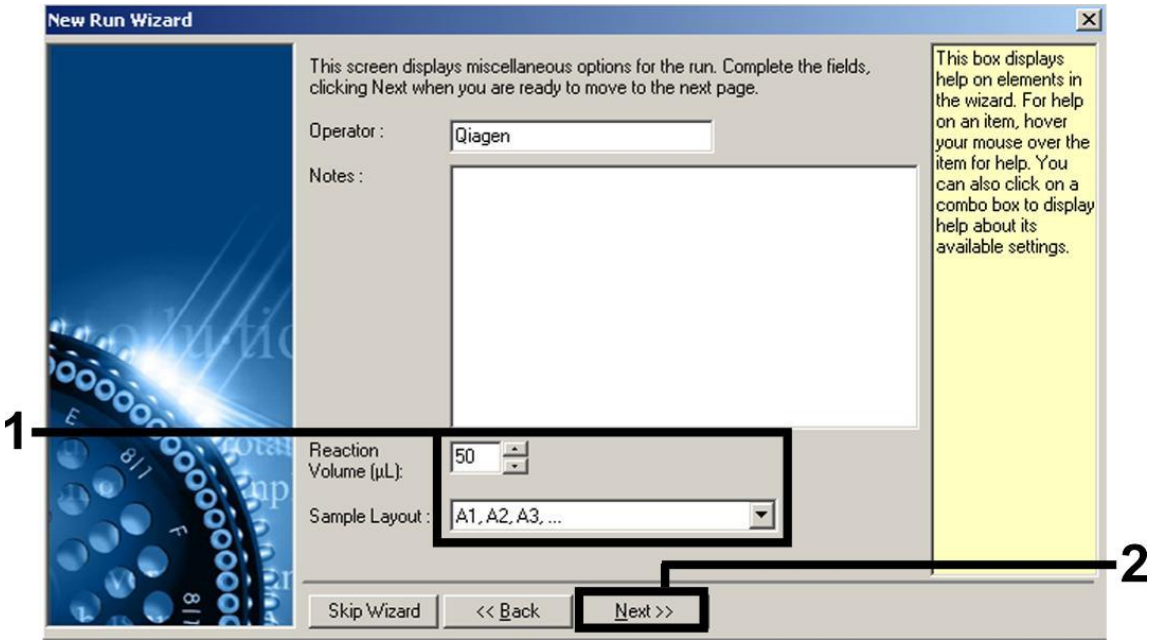
Veškeré údaje se vztahují na software Rotor-Gene Q MDx / Rotor-Gene Q verze 1.7.94, software Rotor-Gene 6000 verze 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94 a software Rotor;-Gene 3000 verze 6.0.23. Podrobnosti k programování přístrojů Rotor-Gene naleznete v uživatelské příručce k přístroji. Na obrázcích jsou tato nastavení zvýrazněna černými rámečky. Ilustrace se vztahují k přístrojům Rotor;-Gene Q. Vyžaduje-li přístroj Rotor-Gene 3000 jiné hodnoty, rozdíly jsou popsány v textu.

6. **Nejdříve otevřete okno “New Run Wizard” (obrázek 4). Zaškrtněte rámeček “Locking Ring Attached” (Připevněn pojistný prstenec) a klikněte na “Next” (Další).**



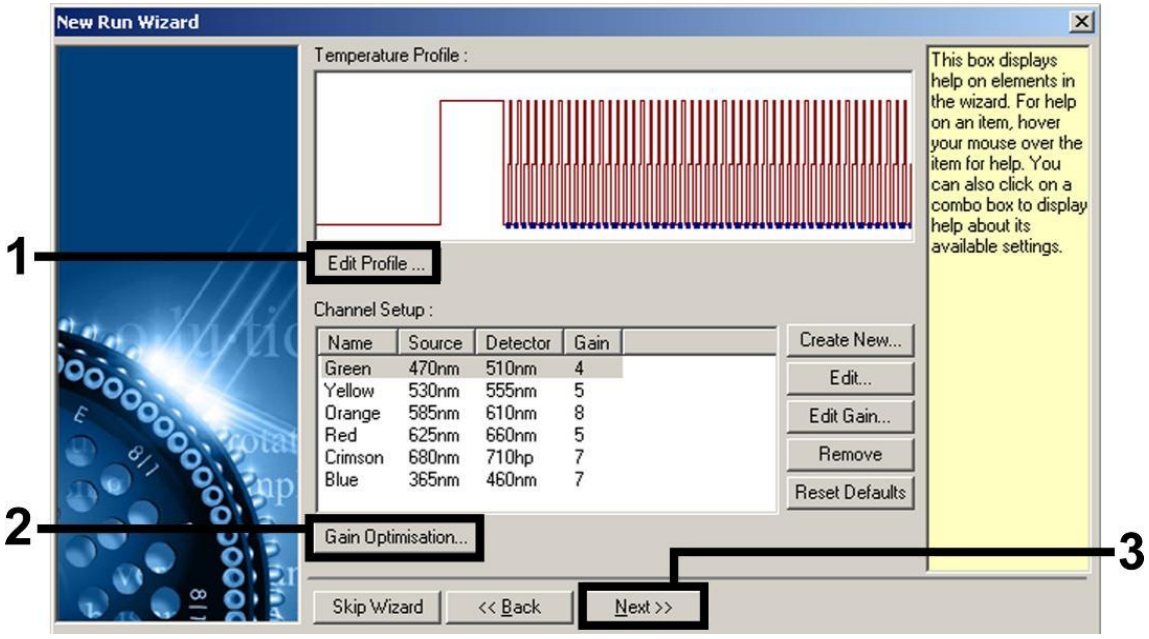
Obrázek 4. Dialogové okno “New Run Wizard“.

7. **Zvolte *50* jako objem PCR reakce a klikněte na “Next” (obrázek 5).**

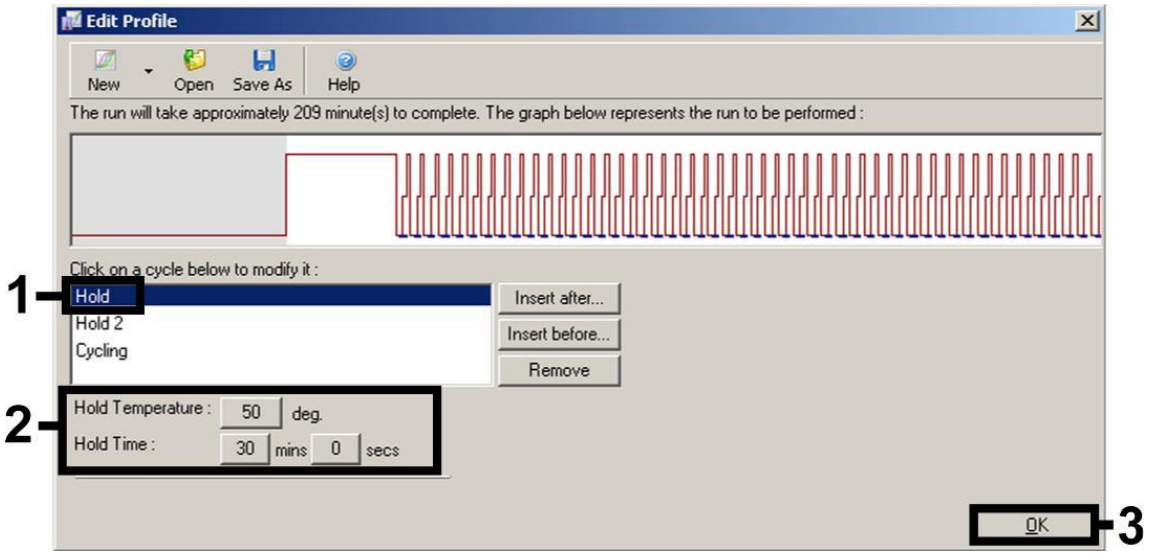


Obrázek 5. Nastavení obecných parametrů analýzy.

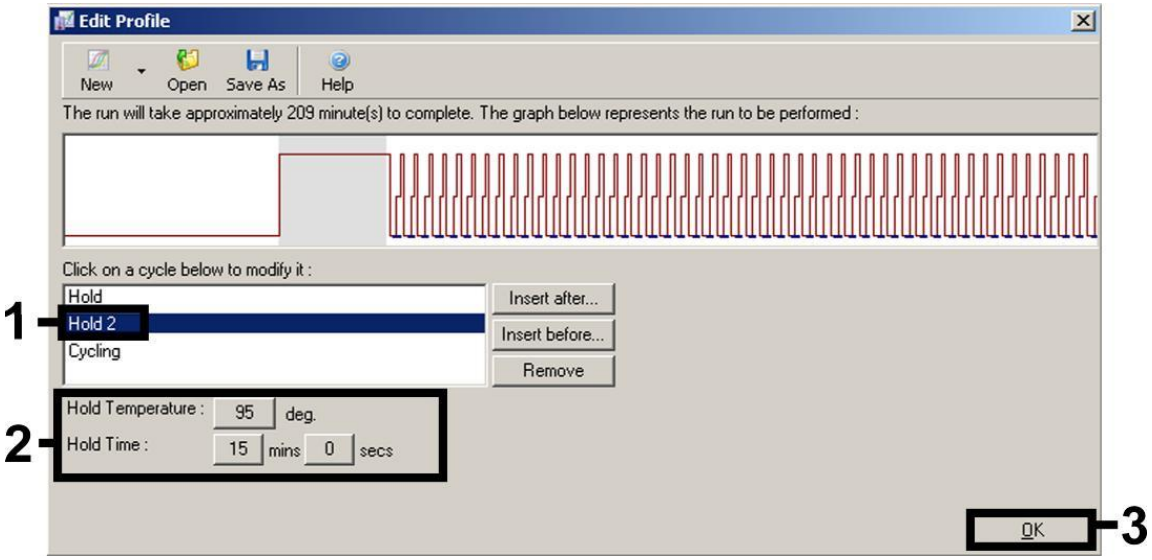
8. **Klikněte na tlačítko “Edit Profile” v dalším okně “New Run Wizard” (obrázek 6) a naprogramujte teplotní profil podle obrázků 6-9.**



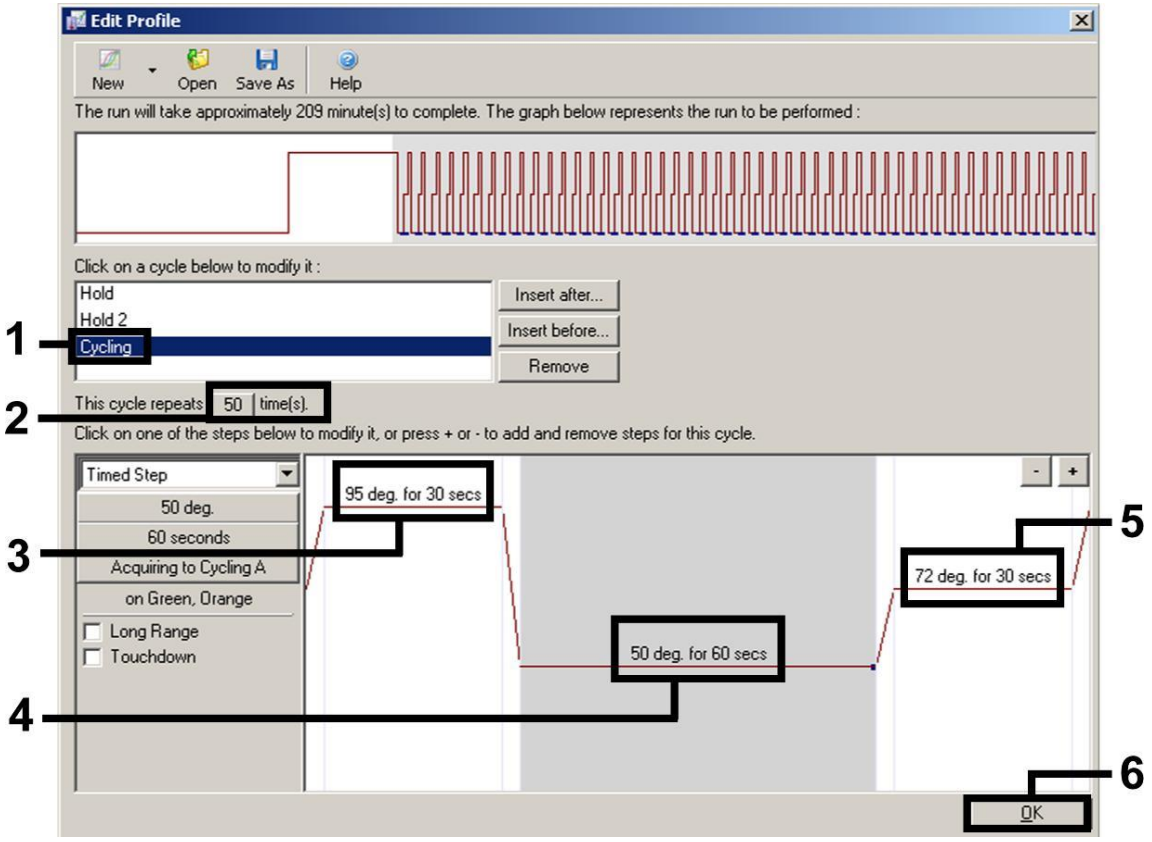
Obrázek 6. Úprava profilu.



Obrázek 7. Reverzní transkripce RNA.

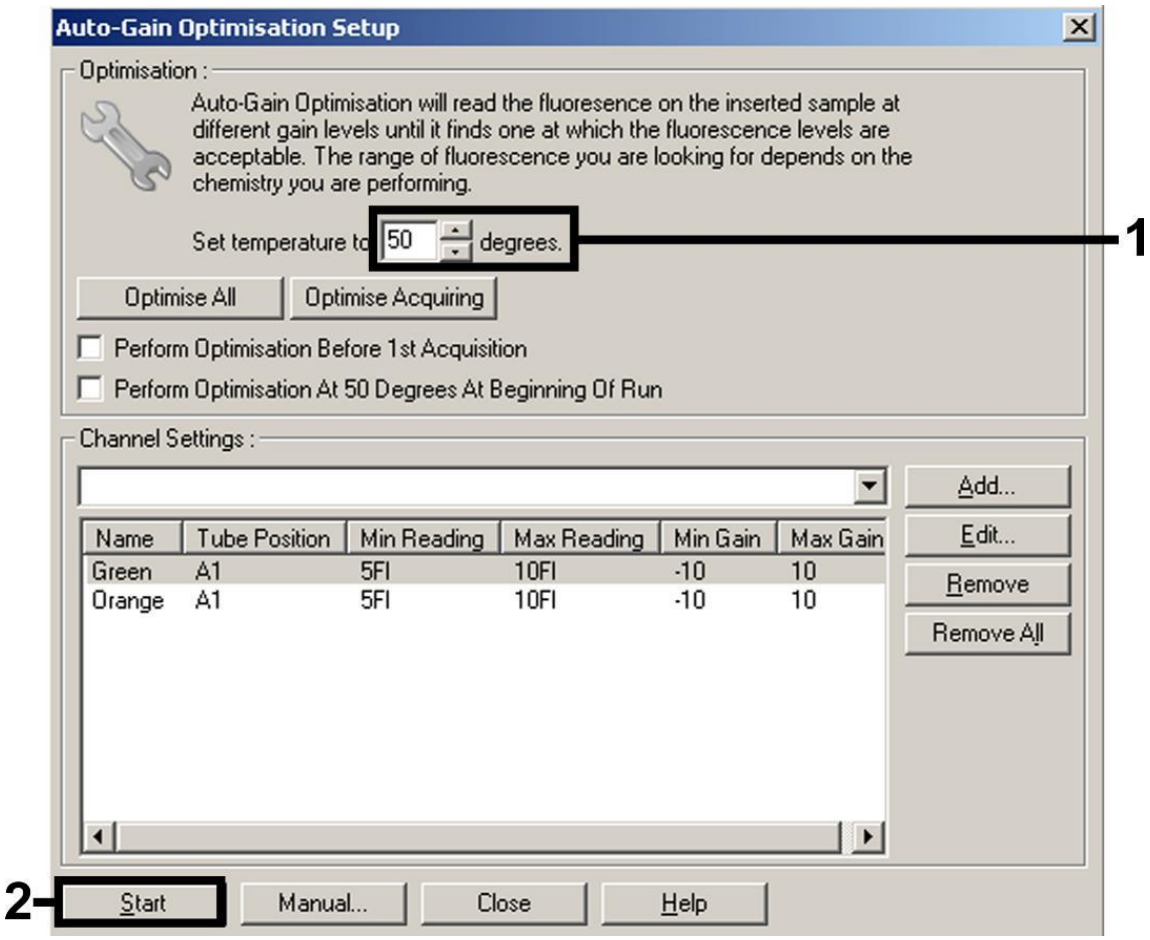


Obrázek 8. Počáteční aktivace Hot Start enzymu.



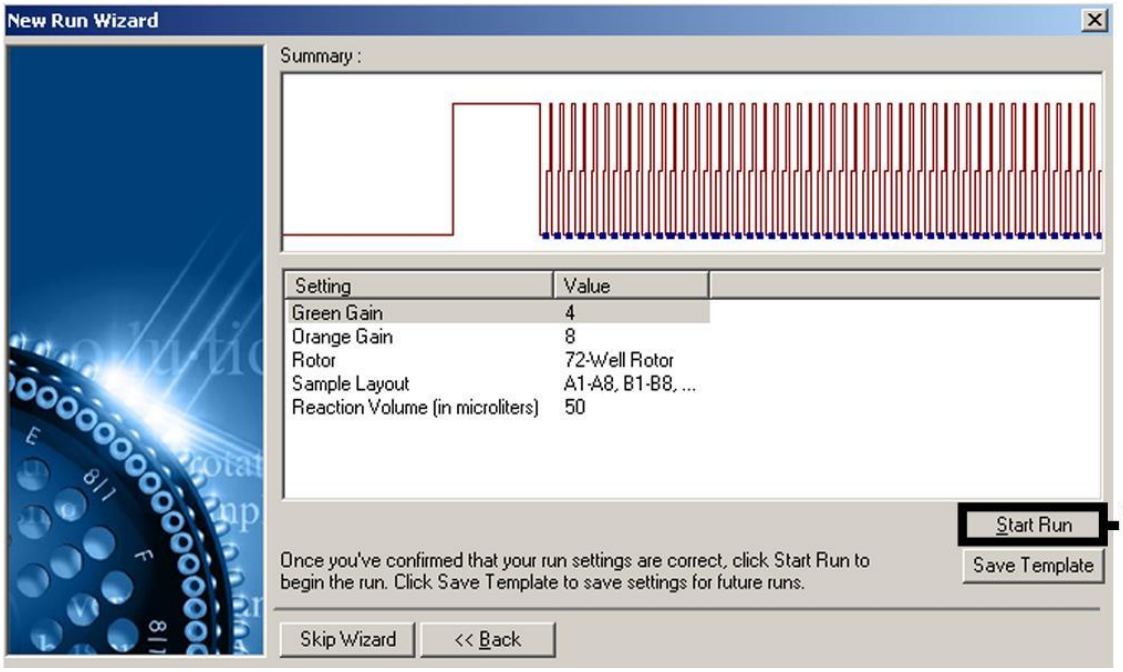
Obrázek 9. Amplifikace cDNA. Upozorňujeme, že software přístroje Rotor-Gene 3000 definuje fluorescenční barviva jako „FAM/Sybr, ROX“.

9. **Měřící rozsah fluorescenčních kanálů je třeba určit podle fluorescenční intenzity v PCR zkumavkách. Klikněte na "Gain Optimisation" v okně menu "New Run Wizard" (viz obrázek 6) pro otevření okna "Auto-Gain Optimisation Setup". Nastavte kalibrační teplotu na 50, aby odpovídala reasociační (annealing) teplotě amplifikačního programu (obrázek 10).**



Obrázek 10. Nastavení senzitivity fluorescenčních kanálů. Upozorňujeme, že software přístroje Rotor-Gene 3000 definuje fluorescenční barviva jako „FAM/Sybr" a „ROX".

10. **Hodnoty výsledků determinované kalibrací kanálů se automaticky uloží a jsou uvedené v seznamu v posledním okně programovací procedury (obrázek 11). Stiskněte “Start Run” (Spustit běh).**



Obrázek 11. Spuštění běhu. Upozorňujeme, že software přístroje Rotor-Gene 3000 definuje fluorescenční barviva jako „FAM/Sybr“ a „ROX“.

11. **Po dokončení běhu analyzujte výsledky. Může dojít k následujícím výsledkům (11a, 11b a 11c).**

    Příklady pozitivních a negativních reakcí PCR jsou uvedeny na obrázcích 12 a 13.

    Tabulka 9 obsahuje pokyny pro interpretaci kvantitativních výsledků.

11a. Ve fluorescenčním kanálu Cycling Green je detekován signál. Výsledek analýzy je pozitivní: Vzorek obsahuje RNA HCV.

V tomto případě je detekce signálu v kanálu Cycling Orange podružná, protože vysoké výchozí koncentrace RNA viru HCV (pozitivní signál v kanálu Cycling Green) mohou vést k redukovanému až chybějícímu fluorescenčnímu signálu interní kontroly v kanálu Cycling Orange (kompetice).

ⓘ Upozorňujeme, že u přístroje Rotor-Gene 3000 se relevantní kanály označují Cycling A.FAM pro pozitivní signál a Cycling A.ROX pro interní kontrolu.

11b. Ve fluorescenčním kanálu Cycling Green není detekován žádný signál. Současně se v kanálu Cycling Orange objevuje signál interní kontroly.
Ve vzorku není prokazatelná žádná RNA HCV. Lze jej považovat za negativní.

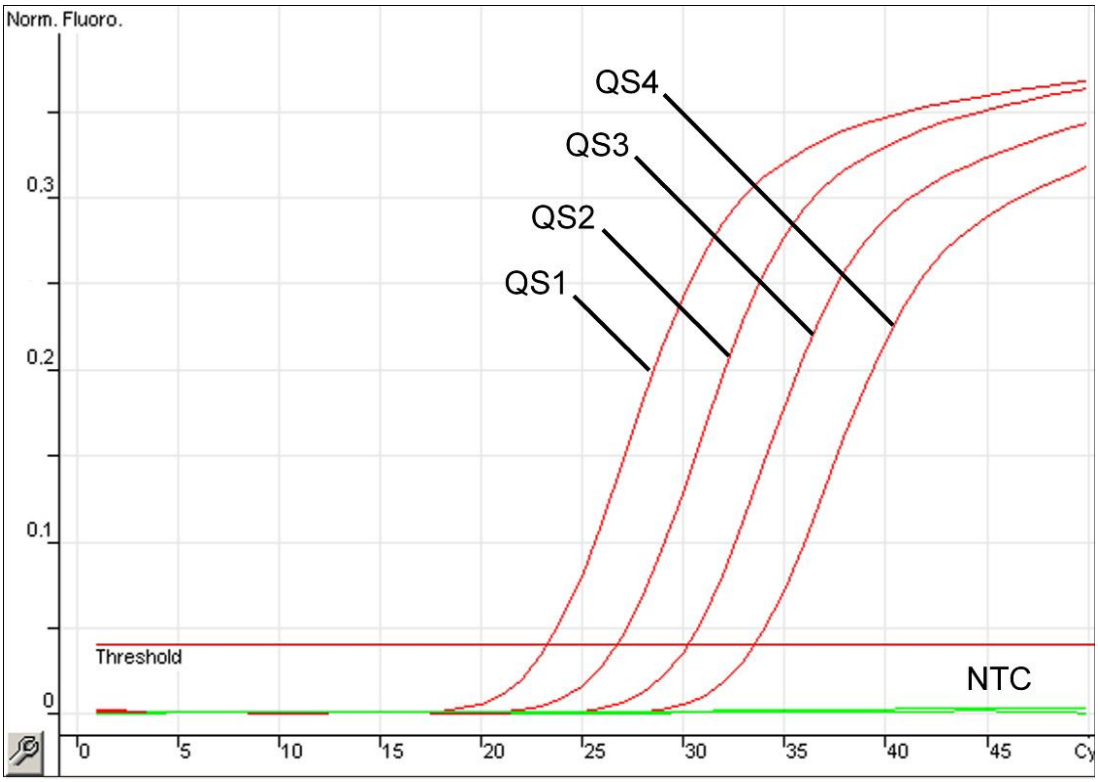
Při negativní RT-PCR HCV vylučuje detekovaný signál interní kontroly možnost inhibice RT-PCR.

ⓘ Upozorňujeme, že u přístroje Rotor-Gene 3000 se relevantní kanály označují Cycling A.ROX pro interní kontrolu a Cycling A.FAM pro chybějící signál.

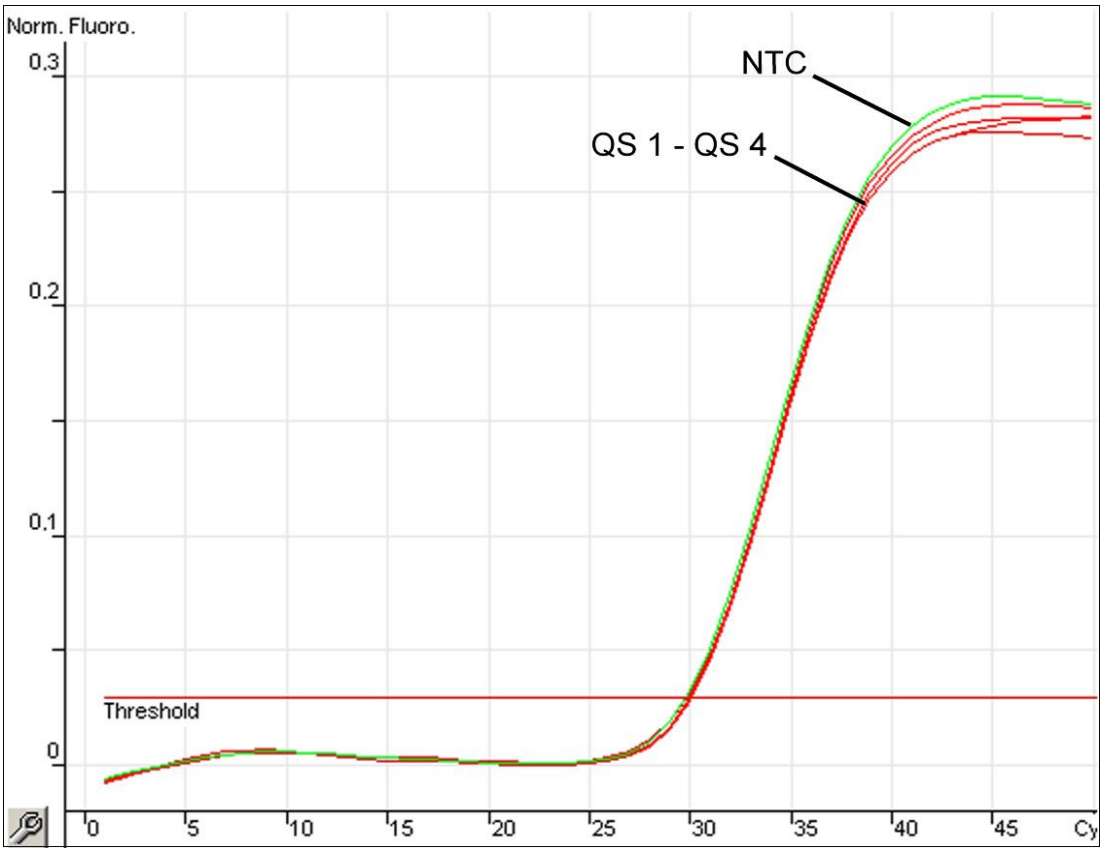
11c. Signál není detekován ani v kanálu Cycling Green ani v kanálu Cycling Orange.
Není možné učinit závěr.

Pokyny týkající se zdrojů chyb a jejich odstranění jsou uvedeny v kapitole “Řešení problémů”, strana 32.

ⓘ Upozorňujeme, že u přístroje Rotor-Gene 3000 se relevantní kanály označují Cycling A.FAM a Cycling A.ROX.



Obrázek 12. Průkaz kvantifikačních standardů (Hep. C Virus RG QS 1–4) ve fluorescenčním kanálu Cycling Green. NTC: Beztemplátová kontrola (negativní kontrola).



Obrázek 13. Průkaz interní kontroly (IC) ve fluorescenčním kanálu Cycling Orange při současné amplifikaci kvantifikačních standardů (Hep. C Virus RG QS 1–4).
NTC: Beztemplátová kontrola (negativní kontrola).

Tabulka 9. Interpretace kvantitativních výsledků

Výsledek	Interpretace
RNA HCV > 34 IU/ml	Výsledek je v daném testovacím rozsahu. Pravděpodobnost průkazu RNA HCV je > 95 %. Pozitivní výsledek testu je statisticky zaručen.
RNA HCV < 34 IU/ml	Výsledek není v daném testovacím rozsahu. Reprodukovatelnost pozitivního výsledku není zaručena.
RNA HCV negativní	RNA viru HCV nebyla prokázána.

Řešení problémů

V této kapitole naleznete užitečné informace, které Vám mohou pomoci při řešení případných problémů. Více informací lze získat také na internetové stránce naší technické podpory: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Vědci z technické podpory QIAGEN vždy rádi zodpoví Vaše otázky ohledně údajů a protokolu v tomto manuálu i obecně k technologiím pro přípravu vzorků a jejich rozbory (možnosti navázání kontaktu viz zadní strana nebo navštivte www.qiagen.com).

	Komentáře a návrhy
Žádný signál u pozitivních kontrol (Hep. C Virus RG QS 1–4) ve fluorescenčním kanálu Cycling Green nebo Cycling A.FAM	
a) Fluorescenční kanál zvolený pro analýzu PCR dat neodpovídá protokolu	ⓘ K analýze dat zvolte fluorescenční kanál Cycling Green nebo Cycling A.FAM pro analytickou HCV RT-PCR a fluorescenční kanál Cycling Orange nebo Cycling A.ROX pro RT-PCR interní kontroly.
b) Chybné naprogramování teplotního profilu přístroje Rotor-Gene	ⓘ Porovnejte teplotní profil s údaji protokolu. Viz “Protokol: PCR a analýza dat”, strana 22.
c) Chybná konfigurace PCR	ⓘ Porovnejte svůj pracovní postup s pipetovacím schématem, případně PCR zopakujte. Viz “Protokol: PCR a analýza dat”, strana 22.
d) Podmínky skladování jednoho nebo více komponentů soupravy neodpovídají předpisům uvedeným v kapitole „Uchovávání“ (strana 5)	ⓘ Zkontrolujte jak podmínky uchovávání, tak i dobu použitelnosti reagencií (viz štítek sady), případně použijte sadu novou.
e) Doba životnosti sady *artus* HCV RG RT-PCR vypršela	ⓘ Zkontrolujte jak podmínky uchovávání, tak i dobu použitelnosti reagencií (viz štítek sady), případně použijte sadu novou.

Komentáře a návrhy	
Slabý nebo chybějící signál interní kontroly ve fluorescenčním kanálu Cycling Orange nebo ;Cycling A.ROX při současné nepřítomnosti signálu v kanálu Cycling Green nebo Cycling A.FAM	
a) Podmínky PCR neodpovídají protokolu	ⓘ Zkontrolujte podmínky PCR (viz výše) a popř. PCR zopakujte s opraveným nastavením.
b) Došlo k inhibici PCR	ⓘ Ujistěte se, že používáte doporučený postup izolace a držte se přesně pokynů výrobce. ⓘ Přesvědčte se, že byla při izolaci RNA před elucí provedena doporučená dodatečná centrifugace, aby byly odstraněny veškeré zbytky etanolu (viz „Izolace RNA“, strana 20).
c) Během extrakce došlo k úbytku RNA	ⓘ Byla-li k izolaci přidána interní kontrola, může nepřítomnost signálu interní kontroly znamenat úbytek RNA během izolace. Ujistěte se, že používáte doporučenou izolační metodu (viz „Izolace RNA“, strana 20) a držte se přesně pokynů výrobce.
d) Podmínky skladování jednoho nebo více komponentů soupravy neodpovídají předpisům uvedeným v kapitole „Uchovávání“ (strana 5)	ⓘ Zkontrolujte jak podmínky uchovávání, tak i dobu použitelnosti reagencií (viz štítek sady), případně použijte sadu novou.
e) Doba životnosti sady *artus* HCV RG RT-PCR vypršela	ⓘ Zkontrolujte jak podmínky uchovávání, tak i dobu použitelnosti reagencií (viz štítek sady), případně použijte sadu novou.

Komentáře a návrhy	
Signály u negativních kontrol ve fluorescenčním kanálu Cycling Green nebo Cycling A.FAM při analytické PCR	
a) Během přípravy PCR došlo ke kontaminaci	ⓘ Zopakujte PCR v replikátech s novými reagenciemi. ⓘ Uzavřete jednotlivé zkumavky PCR pokud možno ihned po vložení zkoumaného vzorku. ⓘ Pozitivní kontroly pipetujte zásadně jako poslední. ⓘ Ujistěte se, že jsou pracovní plochy a přístroje pravidelně dekontaminovány.
b) Během izolace došlo ke kontaminaci	ⓘ Zopakujte izolaci a PCR zkoumaných vzorků za užití nových reagencií. ⓘ Ujistěte se, že jsou pracovní plochy a přístroje pravidelně dekontaminovány.

Literatura

QIAGEN udržuje rozsáhlou aktuální online databázi vědeckých publikací, které hodnotí produkty QIAGEN. Podrobné volby hledání umožňují nalezení potřebných článků, buďto jednoduchým zadáním klíčových slov nebo upřesněním druhu aplikace, oboru výzkumu, názvu, atd.

Úplný seznam literatury naleznete v databance “QIAGEN Reference Database” (Databáze odkazů QIAGEN) na stránce www.qiagen.com/RefDB/search.asp nebo kontaktujte technický servis QIAGEN nebo Vašeho místního distributora.

Informace o způsobu objednávání

Produkt	Obsah	Kat. č.
artus HCV RG RT-PCR Kit (24)	Pro 24 reakcí: 2 směsi Master, 4 kvantifikační standardy, interní kontrola, voda (v kvalitě vhodné pro PCR)	4518263
artus HCV RG RT-PCR Kit (96)	Pro 96 reakcí: 2 směsi Master, 4 kvantifikační standardy, interní kontrola, voda (v kvalitě vhodné pro PCR)	4518265
Sada QIAamp DSP Virus – pro purifikaci nukleových kyselin z lidské plazmy pro účely diagnostiky in vitro		
QIAamp DSP Virus Kit	Na 50 příprav: Centrifugační kolonky, pufry, reagencie, zkumavky, nástavce kolonek a vakuové konektory QIAamp MinElute®	60704
Rotor-Gene Q MDx a příslušenství		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Cyklér pro PCR v reálném čase s 5 kanály (zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový), notebook, software, příslušenství: zahrnuje roční záruku na součásti a servis bez instalace a školení	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Cyklér pro PCR v reálném čase s 5 kanály (zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový), notebook, software, příslušenství: zahrnuje roční záruku na součásti a servis, instalaci a školení	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Cyklér pro PCR v reálném čase a analyzátor křivek tání s vysokým rozlišením (High Resolution Melt – HRM) s 5 kanály (zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový) plus kanál HRM, notebook, software, příslušenství: zahrnuje roční záruku na součásti a servis bez instalace a školení	9002032

Produkt	Obsah	Kat. č.
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Cyklér pro PCR v reálném čase a analyzátor křivek tání s vysokým rozlišením (High Resolution Melt – HRM) s 5 kanály (zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový) plus kanál HRM, notebook, software, příslušenství: zahrnuje roční záruku na součásti a servis, instalaci a školení	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Přístroj pro PCR v reálném čase s 6 kanály (modrý, zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový) plus notebook, software, příslušenství: zahrnuje roční záruku na součásti a servis bez instalace a školení	9002042
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Přístroj pro PCR v reálném čase s 6 kanály (modrý, zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový) plus notebook, software, příslušenství: zahrnuje roční záruku na součásti a servis, instalaci a školení	9002043
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Hliníkový blok pro ruční nastavení reakce pomocí jednokanálové pipety s využitím zkumavek 72 x 0,1 ml	9018901
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Hliníkový blok pro ruční nastavení reakce ve standardní sestavě 8 x 12 s využitím zkumavek 96 x 0,2 ml	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 stripů po 4 zkumavkách s víčky, pro 1000 reakcí	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 stripů po 4 zkumavkách s víčky pro 10 000 reakcí	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 tenkostěnných zkumavek pro 1000 reakcí	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 tenkostěnných zkumavek pro 1000 reakcí	981008

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifická pro výrobek jsou uvedeny v příručce pro sadu QIAGEN nebo příručce uživatele. Manuály k produktům QIAGEN jsou dostupné na www.qiagen.com nebo na požádání u technického servisu QIAGEN nebo lokálního distributora.

Tato stránka byla úmyslně ponechána prázdná

Koupě tohoto produktu opravňuje kupujícího k jeho užití k provedení diagnostických služeb pro humánní in vitro diagnostiku. Tímto se neuděluje žádný jiný obecný patent nebo licenci jiného druhu než toto specifické právo k používání vyplývající z nákupu.

Ochranné známky: QIAGEN®, QIAamp®, *artus*®, MinElute®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); COBAS®, TaqMan® (Roche Group); FAM™, ROX™ (Life Technologies Corporation); SYBR® (Molecular Probes, Inc.).

Omezená licenční smlouva

Použití tohoto produktu znamená, že jakýkoliv kupující či uživatel sady *artus* HCV RG RT-PCR souhlasí s následujícími podmínkami:

1. Sada *artus* HCV RG RT-PCR může být používána výlučně v souladu s *Příručkou pro sadu* artus *HCV RG RT-PCR* a smí se používat pouze s komponenty obsaženými v sadě. QIAGEN neposkytuje žádnou licenci v rámci kteréhokoliv svého duševního vlastnictví k použití nebo k začlenění přiložených komponentů sady s komponenty, které nejsou v této sadě zahrnuty, s výjimkou případů uvedených v *Příručce pro sadu* artus *HCV RG RT-PCR* a dodatečných protokolech dostupných na www.qiagen.com.
2. Mimo výslovně uvedenou licenci QIAGEN neposkytuje žádnou záruku, že tato souprava a/nebo její použití neporušuje práva třetích stran.
3. Tato sada a její komponenty jsou licencovány k jednorázovému použití a nesmí se používat opakovaně, přepracovávat ani opakovaně prodávat.
4. QIAGEN zvláště vylučuje odpovědnost za jakékoliv jiné licence, vyjádřené či implikované, než výslovně uvedené.
5. Kupující a uživatel této sady souhlasí s tím, že neposkytne a nepovolí nikomu jinému provádět žádné kroky, které by mohly vést nebo by usnadnily jakékoliv shora zakázané činnosti. QIAGEN může zákazy tohoto Omezeného licenčního ujednání prosadit u každého soudu a vyžadovat úhradu všech vyšetřovacích a soudních poplatků, vč. poplatků za advokáta, v rámci jakéhokoliv postupu k prosazení tohoto Omezeného licenčního ujednání nebo jakýchkoliv jiných práv duševního vlastnictví vztahujících se na tuto soupravu a/nebo její komponenty.

Pro aktualizovaná licenční ustanovení viz www.qiagen.com.

© 2015 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

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

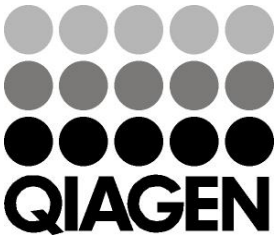
Spain ■ Orders 91-630-7050 ■ Fax 91-630-5145 ■ Technical 91-630-7050

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)



1049309 148044871

Sample & Assay Technologies