

Marzo 2015

Manuale del kit *artus*[®] HCV RG RT-PCR

 24 (cat. n. 4518263)
 96 (cat. n. 4518265)

Versione 1

IVD

Diagnostica quantitativa in vitro

Per l'uso con strumenti Rotor-Gene[®] Q

CE
0197

REF

4518263, 4518265

HB

1049309IT



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,

GERMANIA

R5

MAT

1049309IT



Sample & Assay Technologies

QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN è un fornitore leader nel settore delle tecnologie innovative per campioni e test che consentono di isolare e rilevare il contenuto di qualunque campione biologico. I nostri prodotti e i nostri servizi di alta qualità sono una garanzia di successo, dall'analisi del campione al risultato.

QIAGEN pone nuovi standard:

- nella purificazione del DNA, RNA e delle proteine
- nell'analisi di acidi nucleici e proteine
- nella ricerca sul microRNA e sull'RNAi
- nelle tecnologie automatizzate per campioni e analisi

Il nostro obiettivo è il vostro successo. Per ulteriori informazioni, visitate il sito www.qiagen.com.

Indice

Contenuto del kit	4
Simboli	4
Conservazione	5
Uso previsto	5
Limiti per l'uso del prodotto	6
Controllo di qualità	6
Avvertenze e precauzioni	6
Introduzione	7
Principio	7
Informazioni sull'agente patogeno	7
Caratteristiche delle prestazioni	8
Attrezzature e reagenti forniti dall'operatore	17
Note importanti	18
Precauzioni generali	18
Prelievo, conservazione e trasporto dei campioni	18
Estrazione dell'RNA	20
Controllo interno	20
Quantificazione	21
Protocollo: PCR e analisi dei dati	22
Guida alla risoluzione dei problemi	32
Riferimenti bibliografici	35
Informazioni per gli ordini	36

Contenuto del kit

artus HCV RG RT-PCR Kit		(24)	(96)
N° di catalogo		4518263	4518265
N° di reazioni		24	96
Blu	Hep. C Virus RG Master A (master A per C Virus RG)	2 x 12 reazioni	8 x 12 reazioni
Viola	Hep. C Virus RG Master B (master B per C Virus RG)	2 x 12 reazioni	8 x 12 reazioni
Rosso	Hep. C Virus RG QS 1* (10 ⁴ UI/μl)	QS 200 μl	200 μl
Rosso	Hep. C Virus RG QS 2* (10 ³ UI/μl)	QS 200 μl	200 μl
Rosso	Hep. C Virus RG QS 3* (10 ² UI/μl)	QS 200 μl	200 μl
Rosso	Hep. C Virus RG QS 4* (10 ¹ UI/μl)	QS 200 μl	200 μl
Verde	Hep. C Virus RG IC [†]	IC 1.000 μl	2 x 1.000 μl
Bianco	Acqua (grado PCR)	1.000 μl	1.000 μl
	Manuale	 1	1

* Standard di quantificazione.

† Controllo interno.

Simboli



Contenuto sufficiente per <N> test



Data di scadenza



Dispositivo medico per diagnostica in vitro



Numero di catalogo



Numero di lotto



Numero di materiale

	Componenti
	Contiene
	Numero
	Codice GTIN
	Limite di temperatura
	Produttore
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Nota importante

Conservazione

I componenti del kit *artus* HCV RG RT-PCR devono essere conservati ad una temperatura compresa tra -30°C e -15°C e sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta. Evitare di scongelarli e ricongelarli più di due volte, perché ciò potrebbe ridurre la sensibilità del test. Se si prevede un uso intermittente dei reagenti, congelarli in aliquote. La conservazione a 2–8°C non deve superare un periodo di 5 ore.

Uso previsto

Il kit *artus* HCV RG RT-PCR è un sistema in vitro per l'amplificazione degli acidi nucleici utilizzato per quantificare l'RNA del virus dell'epatite C (HCV) nel plasma umano. Questo test diagnostico utilizza la reazione a catena della polimerasi dopo trascrittasi inversa (RT-PCR) ed è configurato per essere utilizzato con gli strumenti Rotor-Gene Q. Il test può quantificare l'RNA dell'HCV nel range di 65 – 1 x 10⁶ UI/ml di HCV.

 Il kit *artus* HCV RG RT-PCR non deve essere usato con strumenti Rotor-Gene Q 2plex.

Il kit *artus* HCV RG RT-PCR deve essere utilizzato insieme a indicatori di presentazioni cliniche e altri indicatori di laboratorio nella prognosi delle malattie e come strumento ausiliario di valutazione della risposta virale alla

terapia antiretrovirale misurata dai cambiamenti nei livelli di RNA dell'HCV nel plasma trattato con EDTA. Il kit *artus* HCV RG RT-PCR non deve essere utilizzato come test di screening per l'HCV o come test diagnostico per confermare la presenza di un'infezione da HCV.

Limiti per l'uso del prodotto

L'uso di tutti i reagenti è riservato esclusivamente alla diagnostica in vitro.

L'utilizzo è consentito soltanto a personale dotato delle necessarie conoscenze e competenze in merito alle procedure della diagnostica in vitro.

Per ottenere risultati ottimali della PCR è necessario attenersi rigorosamente al protocollo.

Rispettare le date di scadenza dei singoli componenti, riportate sulla confezione e sulle etichette. Non utilizzare reagenti scaduti.

Sebbene accada raramente, eventuali mutazioni nelle regioni altamente conservate del genoma virale coperte dai primer e/o dalla sonda del kit possono essere causa di una sotto-quantificazione o perfino della mancata individuazione del virus. La validità e le prestazioni del kit vengono revisionate ad intervalli regolari.

Controllo di qualità

In conformità con il sistema di gestione per la qualità di QIAGEN certificato ISO ogni lotto del kit *artus* HCV RG RT-PCR è stato testato in base a specifiche prestabilite per garantire la costante qualità del prodotto.

Avvertenze e precauzioni

Quando si opera con sostanze chimiche, indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per ulteriori informazioni, consultare le appropriate schede di sicurezza (SDS). Le schede SDS, nel pratico e compatto formato PDF, sono disponibili online all'indirizzo www.qiagen.com/safety. Qui è possibile trovare, visualizzare e stampare la scheda SDS per ciascun kit QIAGEN® e i relativi componenti.

Smaltire i campioni e i materiali di scarto secondo le locali disposizioni in materia di sicurezza.

Introduzione

Il kit *artus* HCV RG RT-PCR è un kit pronto all'uso per la rilevazione dell'RNA dell'HCV tramite reazione a catena della polimerasi (PCR) sugli strumenti Rotor-Gene Q. L'Hep. C Virus RG Master A e B contengono reagenti ed enzimi per la trascrittasi inversa e l'amplificazione specifica di una regione di 240 bp del genoma di HCV, nonché per la rilevazione immediata dell'amplicone specifico nel canale di fluorescenza Cycling Green del Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q o Rotor-Gene 6000, oppure nel canale Cycling A.FAM™ (origine 470 nm, rilevatore 510 nm) del Rotor-Gene 3000.

Il kit *artus* HCV RG RT-PCR contiene anche un secondo sistema di amplificazione eterologa per verificare una possibile inibizione della PCR. Questa viene rilevata come controllo interno (IC) nel canale di fluorescenza Cycling Orange del Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q o Rotor-Gene 6000, oppure nel canale A.ROX™ (origine 585 nm, rilevatore 610 nm) del Rotor-Gene 3000. In questo modo non viene ridotto il limite di rilevabilità analitica della RT-PCR dell'HCV (vedi "Sensibilità analitica", pag. 8). Il kit contiene controlli positivi esterni (Hep. C Virus RG QS 1–4) che consentono di determinare la quantità di RNA virale. A tale proposito consultare il paragrafo "Quantificazione", pag. 21.

Principio

Per la diagnosi tramite reazione a catena della polimerasi (PCR) vengono amplificate specifiche regioni del genoma dell'agente patogeno. Per la real-time PCR la rilevazione richiede l'impiego di sostanze fluorescenti, di solito legate a sonde oligonucleotidiche, che si legano in modo specifico al prodotto di amplificazione. La rilevazione dell'intensità di fluorescenza durante la real-time PCR consente di identificare e quantificare il prodotto interessato senza dover riaprire le provette di reazione al termine della PCR.*

Informazioni sull'agente patogeno

L'epatite C è un'infezione del fegato causata dall'omonimo virus. Rispetto agli altri virus A, B, D o E dell'epatite, l'infezione da virus dell'epatite C (HCV) determina in numerosissimi casi l'insorgenza di una malattia epatica cronica. L'infezione da HCV spesso non comporta sintomi per un periodo di tempo relativamente lungo. Per questo motivo, gran parte dei pazienti non sa di essere affetta da HCV. Tuttavia, l'efficacia della terapia è maggiore nelle fasi iniziali della malattia. Attualmente l'interferone α (in combinazione con la ribavirina) rappresenta l'unica terapia di comprovata efficacia. È noto, tuttavia, che soltanto alcuni pazienti affetti da epatite C cronica rispondono positivamente

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

alla terapia con interferone. Pertanto, in determinate circostanze questa terapia costosa per il paziente può rivelarsi controproducente e comportare seri effetti collaterali come l'indebolimento del sistema immunitario con conseguenti condizioni peggiorative (ad esempio, herpes labiale, herpes zoster).

Caratteristiche delle prestazioni

Sensibilità analitica

Per determinare la sensibilità analitica del kit *artus* HCV RG RT-PCR sono state effettuate serie di diluizioni da 10 al valore nominale di 0,0316 UI/ μ l di copie di RNA trascritte in vitro e poi analizzate con il kit *artus* HCV RG RT-PCR. I test sono stati eseguiti in 3 giornate diverse su 8 replicati. I risultati sono stati determinati mediante un'analisi probit. Il limite di rilevabilità analitico del kit *artus* HCV RG RT-PCR è di 0,19 UI/ml ($p = 0,05$). Ciò significa che la probabilità di rilevare 0,19 UI/ μ l è pari al 95%.

La sensibilità analitica tenendo conto dell'estrazione (kit QIAamp[®] DSP Virus) del kit *artus* HCV RG RT-PCR è stata determinata sugli strumenti Rotor-Gene utilizzando una serie di diluizioni dello Standard Internazionale OMS per l'RNA dell'HCV da 500 al valore nominale di 5 UI/ml di HCV, aggiunte a campioni clinici di plasma. Questi sono stati sottoposti ad estrazione dell'RNA utilizzando il kit QIAamp DSP Virus (volume di estrazione: 0,5 ml, volume di eluizione: 25 μ l). Ciascuna delle 9 diluizioni è stata analizzata con il kit *artus* HCV RG RT-PCR in 3 giorni diversi su 8 replicati. I risultati sono stati determinati mediante un'analisi probit. La Figura 1 illustra graficamente l'analisi probit. Il limite di rilevabilità analitica tenendo conto dell'estrazione del kit *artus* HCV RG RT-PCR in combinazione con gli strumenti Rotor-Gene è pari a 33,6 UI/ml ($p = 0,05$). Ciò significa che esiste una probabilità del 95% che vengano rilevati 33,6 UI/ml.

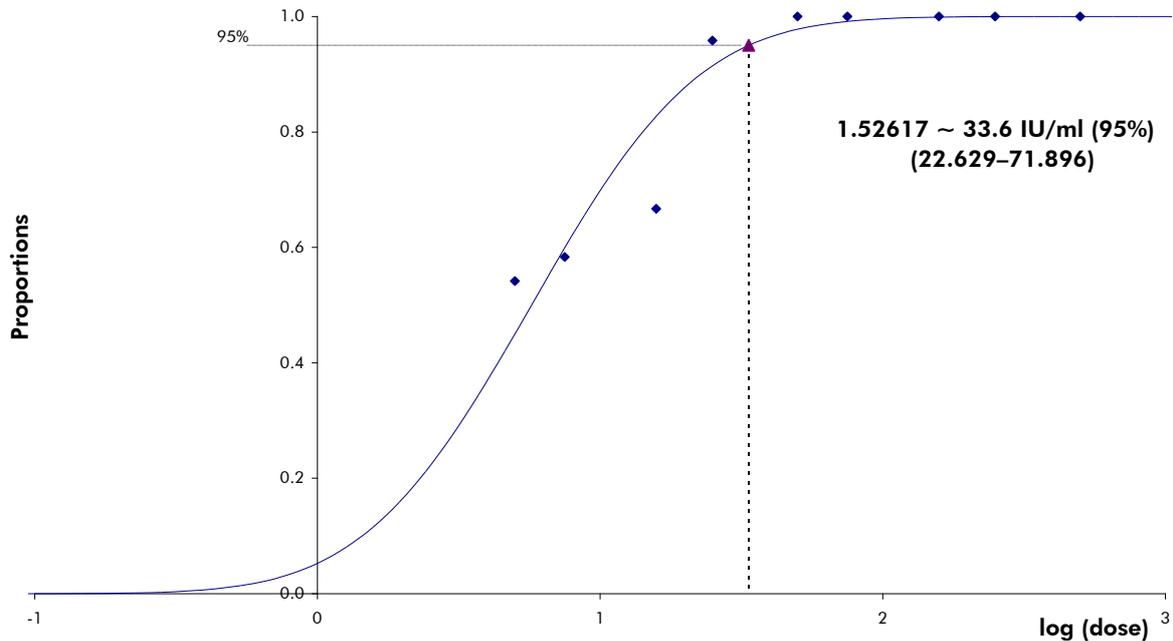


Figura 1. Analisi probit: HCV (Rotor-Gene 3000). Sensibilità analitica tenendo conto dell'estrazione (kit QIAamp DSP Virus, QIAGEN) del kit *artus* HCV RG RT-PCR sul Rotor-Gene 3000.

Specificità

La specificità del kit *artus* HCV RG RT-PCR viene garantita in primo luogo dalla scelta dei primer e delle sonde, nonché dalle condizioni stringenti di reazione. I primer e le sonde sono stati controllati per accertare eventuali omologie con tutte le sequenze pubblicate nelle banche genetiche mediante analisi comparativa delle sequenze. È stata così assicurata la rilevabilità di tutti i sottotipi e genotipi rilevanti.

Inoltre, la specificità è stata convalidata con 100 diversi campioni di plasma HCV-negativi. Tali campioni non hanno generato segnali con i primer e le sonde specifici per HCV inclusi negli Hep. C Virus RG Master.

È stata rilevata una potenziale cross-reattività del kit *artus* HCV RG RT-PCR utilizzando il gruppo di controllo elencato nella Tabella 2. Nessuno degli agenti patogeni testati è risultato reattivo. Non sono state riscontrate cross-reattività con infezioni miste.

Tabella 1. Analisi della specificità di genotipi importanti

Virus	Genotipo	Origine	HCV (Cycling Green/ A.FAM)	Controllo interno (Cycling Orange/ A.ROX)
Virus dell'epatite C	1	NIBSC, HemaCare, Università di Essen	+	+
Virus dell'epatite C	2	NIBSC, HemaCare, Università di Essen	+	+
Virus dell'epatite C	3	NIBSC, HemaCare, Università di Essen	+	+
Virus dell'epatite C	4	NIBSC, HemaCare, Università di Essen	+	+
Virus dell'epatite C	5	NIBSC, HemaCare, Università di Essen	+	+
Virus dell'epatite C	6	NIBSC, HemaCare, Università di Essen	+	+

Tabella 2. Analisi della specificità del kit con patogeni potenzialmente cross-reattivi

Gruppo di controllo	HCV (Cycling Green/ A.FAM)	Controllo interno (Cycling Orange/ A.ROX)
Virus dell'immunodeficienza umana 1	-	+
Virus dell'epatite A	-	+
Virus dell'epatite B	-	+

Herpes virus umano 1 (virus dell'herpes simplex 1)	-	+
Herpes virus umano 2 (virus dell'herpes simplex 2)	-	+
Herpes virus umano 3 (virus della varicella-zoster)	-	+
Herpes virus umano 5 (citomegalovirus)	-	+

La tabella continua alla pagina seguente

Tabella 2. Continua

Gruppo di controllo	HCV (Cycling Green/ A.FAM)	Controllo interno (Cycling Orange/ A.ROX)
Virus della leucemia dei linfociti T umana 1 e 2	-	+
Herpes virus umano 6A	-	+
Herpes virus umano 6B	-	+
Herpes virus umano 8 (herpes virus del sarcoma di Kaposi)	-	+
Enterovirus	-	+
Parvovirus B19	-	+
Febbre dengue	-	+
Febbre gialla	-	+
<i>Aspergillus flavus</i>	-	+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	+
<i>Candida albicans</i>	-	+
<i>Chlamydia trachomatis</i>	-	+
<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	+
<i>Filobasidiella neoformans</i>	-	+
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-	+

<i>Pneumocystis carinii</i>	-	+
<i>Staphylococcus</i> sp.	-	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	-	+

Range lineare della quantificazione

Il range lineare (misurazione analitica) del kit *artus* HCV RG RT-PCR è stato determinato analizzando una serie di diluizioni di un trascritto in vitro dell'HCV da 1×10^7 UI/ μ l fino a 1 UI/ μ l. La serie di diluizioni è stata calibrata contro lo Standard Internazionale OMS per l'RNA dell'HCV.

Ogni livello di diluizione è stato analizzato in replicati ($n = 8$) utilizzando il kit *artus* HCV RG RT-PCR sugli strumenti Rotor-Gene.

Il range lineare del kit *artus* HCV RG RT-PCR è stato determinato in modo da coprire concentrazioni da 1 UI/ μ l fino ad almeno 1×10^7 UI/ μ l.

Il range lineare tenendo conto dell'estrazione del kit *artus* HCV RG RT-PCR è stato determinato analizzando campioni di Acrometrix. L'estrazione è stata eseguita in replicati ($n = 6$) da 50 UI/ml a 10^3 UI/ml e in replicati ($n = 4$) da 5×10^3 UI/ml a 10^6 UI/ml utilizzando il kit QIAamp DSP Virus (volume di estrazione: 0,5 ml, volume di eluizione: 25 μ l). Ogni campione è stato analizzato con il kit *artus* HCV RG RT-PCR sugli strumenti Rotor-Gene. È stato determinato il range lineare tenendo conto dell'estrazione del kit *artus* HCV RG RT-PCR in modo da coprire concentrazioni da 65 UI/ml fino ad almeno 10^6 UI/ml (Figura 2).

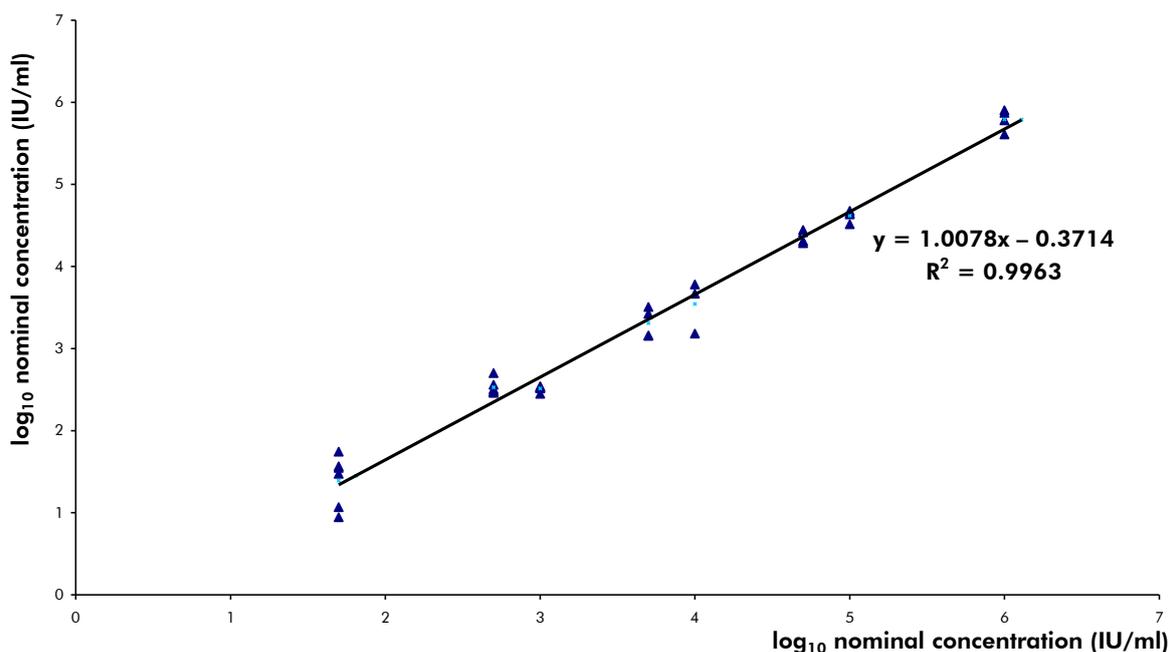


Figura 2. Range lineare del kit *artus* HCV RG RT-PCR. Calcolo del range lineare tenendo conto dell'estrazione. La linea retta è stata determinata mediante una regressione lineare del \log_{10} delle concentrazioni calcolate con il \log_{10} delle concentrazioni nominali. La figura mostra l'equazione della linea di regressione.

Precisione

I dati sulla precisione del kit *artus* HCV RG RT-PCR sugli strumenti Rotor-Gene consentono di determinare la varianza totale del test. La varianza totale è composta dalla variabilità intra-test (variabilità di risultati multipli di campioni con la stessa concentrazione in uno stesso esperimento), dalla variabilità inter-test (variabilità di risultati multipli del test generati su strumenti differenti dello stesso tipo da operatori differenti in uno stesso laboratorio) e dalla variabilità inter-lotto (variabilità di risultati multipli del test ottenuti con lotti diversi). I dati ottenuti sono stati utilizzati per determinare la deviazione standard, la varianza e il coefficiente di variazione per il patogeno specifico e il controllo interno di PCR.

Questi dati sono stati ottenuti per il kit *artus* RG RT-PCR sulla base dello standard di quantificazione alla minima concentrazione (QS 4; 10 UI/ μ l). I test sono stati effettuati con 8 replicati. I dati sulla precisione sono stati calcolati sulla base dei valori C_T delle curve di amplificazione (C_T : ciclo soglia, vedi Tabella 3). Inoltre, i dati sulla precisione per i risultati quantitativi in UI/ μ l sono stati stabiliti utilizzando i corrispondenti valori C_T (vedi Tabella 4). Sulla base di questi risultati, lo scarto statistico generale di un dato campione alla concentrazione menzionata è pari a 1,52% (C_T) o 25,71% (concentrazione), e a 0,75% (C_T) per la rilevazione del controllo interno. Questi valori si basano sulla totalità dei singoli valori delle variabilità stabilite.

Tabella 3. Dati sulla precisione basati sui valori C_T

	Valore C_T	Deviazione standard	Coefficiente di variazione (%)
Variabilità intra-assay: Hep. C Virus RG QS 4	32,81	0,09	0,28
Variabilità intra-assay: Hep. C Virus RG IC	30,04	0,08	0,27
Variabilità inter-assay: Hep. C Virus RG QS 4	32,14	0,5	1,57
Variabilità inter-assay: Hep. C Virus RG IC	30,23	0,22	0,71
Variabilità inter-lotto: Hep. C Virus RG QS 4	32,56	0,48	1,46
Variabilità inter-lotto: Hep. C Virus RG IC	30,28	0,24	0,78
Varianza totale: Hep. C Virus RG QS 4	32,41	0,49	1,52
Varianza totale: Hep. C Virus RG IC	30,29	0,29	0,75

Tabella 4. Dati sulla precisione basati sui risultati quantitativi (in UI/μl).

	Deviazione standard	Varianza	Coefficiente di variazione (%)
Variabilità intra-assay: Hep. C Virus RG QS 4	0,64	0,41	6,34
Variabilità inter-assay: Hep. C Virus RG QS 4	1,00	1,00	9,93
Variabilità inter-lotto: Hep. C Virus RG QS 4	3,92	15,34	37,35
Varianza totale: Hep. C Virus RG QS 4	2,63	6,93	25,71

Robustezza

Il controllo della robustezza serve per determinare la percentuale totale di errore del kit *artus* HCV RG RT-PCR. Sono stati aggiunti a 100 campioni di plasma HCV-negativi 2 UI/ μ l di volume di eluizione dell'RNA controllo di HCV (all'incirca tre volte la concentrazione del limite di sensibilità analitica). Dopo l'estrazione con il kit QIAamp DSP Virus, questi campioni sono stati analizzati con il kit *artus* HCV RG RT-PCR. Sul totale dei campioni la percentuale di errore per HCV era pari allo 0%. La robustezza del controllo interno è stata ulteriormente verificata mediante estrazione ed analisi di 100 campioni di plasma HCV-negativi. La percentuale totale di errore era pari allo 0%. Non sono state riscontrate inibizioni di alcun genere. Pertanto la robustezza del kit *artus* HCV RG RT-PCR è risultata pari al $\geq 99\%$.

Riproducibilità

I dati di riproducibilità vengono rilevati per effettuare una valutazione continua delle prestazioni del kit *artus* HCV RG RT-PCR e anche per un confronto con altri prodotti. Questi dati sono ottenuti dalla partecipazione a programmi di valutazione consolidati.

Valutazione diagnostica

Il kit *artus* HCV RG RT-PCR è stato valutato nell'ambito di uno studio. Il kit *artus* HCV RG RT-PCR è stato confrontato con il COBAS[®] TaqMan[®] HCV Test nell'analisi di 276 campioni di plasma condotta in modo retrospettivo. Tutti i campioni di plasma sono stati sottoposti ad analisi preliminare con il COBAS TaqMan HCV Test per la diagnosi di routine e sono risultati positivi o negativi.

L'RNA dell'HCV necessario per il kit *artus* HCV RG RT-PCR è stato estratto utilizzando il kit QIAamp DSP Virus e l'analisi è stata eseguita sullo strumento Rotor-Gene 6000. Per un test comparativo con il COBAS TaqMan HCV Test, l'RNA dell'HCV è stato analizzato secondo le istruzioni del produttore come descritto nel foglietto illustrativo. I risultati ottenuti con il kit *artus* HCV RG PCR sono stati confrontati con quelli del COBAS TaqMan HCV Test (vedi Tabella 5 e Figura 3).

137 su 139 campioni risultati positivi con il COBAS TaqMan HCV Test sono risultati positivi anche con il kit *artus* HCV RG RT-PCR. Tutti i 137 campioni risultati negativi con il COBAS TaqMan HCV Test sono risultati negativi anche con il kit *artus* HCV RG RT-PCR.

Assumendo come riferimento i risultati del COBAS TaqMan HCV Test, la sensibilità diagnostica è pari al 100% e la specificità diagnostica al 98,6%.

Tabella 5. Risultati dei 276 campioni di plasma trattato con EDTA analizzati retrospettivamente

		COBAS TaqMan HCV Test		
		+	-	Totale
Kit <i>artus</i> HCV RG RT-PCR	+	137	2	139
	-	0	137	137

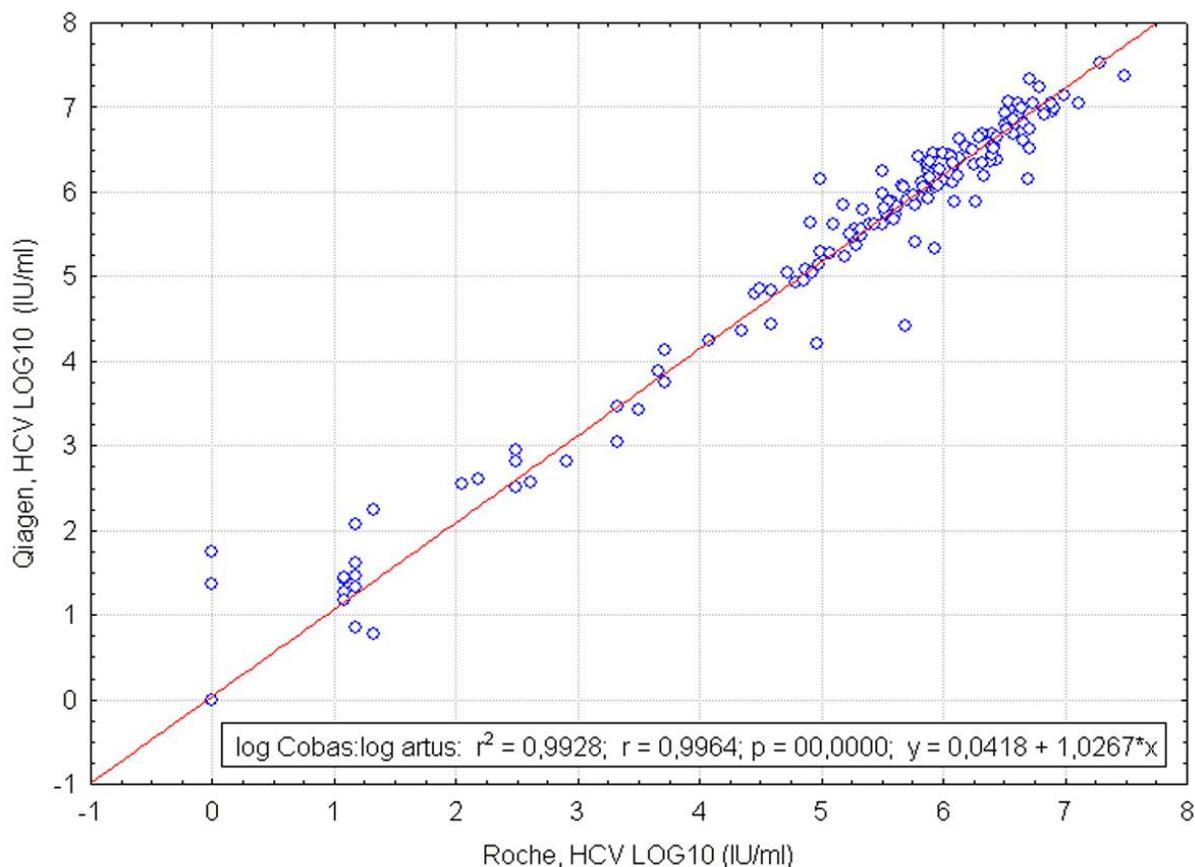


Figura 3. Confronto fra il COBAS TaqMan HCV Test (Roche, HCV; con estrazione del campione utilizzando il sistema COBAS AmpliPrep) e il kit *artus* HCV RG RT-PCR (QIAGEN, HCV; con estrazione del campione utilizzando il kit QIAamp DSP Virus). La correlazione dei risultati quantitativi di entrambi i sistemi di analisi (Tabella 5) è stata analizzata con l'ausilio di una regressione lineare. I risultati di entrambi i kit sono rappresentati su un diagramma XY (a dispersione) in scala log-log.

Attrezzature e reagenti forniti dall'operatore

Quando si opera con sostanze chimiche, indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per maggiori informazioni, consultare le rispettive schede tecniche di sicurezza (SDS), reperibili presso il fornitore.

- Kit di estrazione dell'RNA (vedere "Estrazione dell'RNA", pag. 20)
- Pipette (regolabili)*
- Puntali per pipette sterili con filtri
- Agitatore vortex*
- Centrifuga da banco* con rotore per provette di reazione da 2 ml
- Strumento Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q o Rotor-Gene*[†] con canali di fluorescenza per Cycling Green e Cycling Orange oppure con canali di fluorescenza per Cycling A.FAM e Cycling A.ROX
- Software del Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q versione 1.7.94 o superiore (software del Rotor-Gene 6000 versione 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94; software del Rotor-Gene 3000 versione 6.0.23)
- Provette e tappi per strisce, 0,1 ml, da usare con rotore a 72 pozzetti (cat. n. 981103 o 981106)
- In alternativa: provette per PCR, 0,2 ml, da usare con rotore a 36 pozzetti (cat. n. 981005 o 981008)
- Blocco di raffreddamento (blocco di caricamento per 72 provette da 0,1 ml, cat. n. 9018901, o blocco di caricamento per 96 provette da 0,2 ml, cat. n. 9018905)

* Assicurarsi che gli strumenti siano stati revisionati e calibrati secondo le raccomandazioni del produttore.

[†] Il kit *artus* HCV RG RT-PCR non deve essere usato con strumenti Rotor-Gene Q 2plex.

Note importanti

Precauzioni generali

Chi utilizza il prodotto deve sempre attenersi a quanto segue:

- Utilizzare puntali con filtro sterili per pipette.
- Conservare ed estrarre i materiali positivi (campioni, controlli positivi e ampliconi) separatamente da tutti gli altri reagenti e aggiungerli alla miscela di reazione in un ambiente fisicamente separato.
- Prima dell'inizio del test scongelare tutti i componenti a temperatura ambiente (15-25°C).
- Una volta scongelati, miscelare i componenti (pipettandoli ripetutamente su e giù o in vortex a impulsi) e sottoporli a breve centrifugazione.
- Operare rapidamente tenendo i componenti in ghiaccio o nel blocco di raffreddamento (blocco di caricamento a 72/96 pozzetti).

Prelievo, conservazione e trasporto dei campioni

i Tutti i campioni devono essere trattati come potenzialmente infettivi.

Sono ammessi come campioni solo i seguenti materiali, per i quali si dovranno osservare scrupolosamente le regole e le istruzioni particolari qui riportate per il prelievo, il trasporto e la conservazione.

i Secondo alcuni studi attualmente in corso, il plasma trattato con EDTA o con citrato viene considerato il materiale campione più adatto alla rilevazione dell'HCV. Per questo motivo raccomandiamo l'impiego di questo tipo di campioni con il kit *artus* HCV RG RT-PCR.

La convalida interna del kit *artus* HCV RG RT-PCR è stata eseguita con plasma umano trattato con EDTA. Non sono stati convalidati altri materiali come campioni. Utilizzare unicamente il kit di estrazione dell'RNA raccomandato (vedi "Estrazione dell'RNA", pag. 20) per la preparazione dei campioni.

Utilizzando come campioni certi materiali, si dovranno osservare scrupolosamente alcune istruzioni particolari per il prelievo, il trasporto e la conservazione.

Prelievo dei campioni

Ogni prelievo di sangue causa una lesione dei vasi sanguigni (arterie, vene, capillari). Per questo devono essere utilizzati solo materiali integri e sterili. Per il prelievo di sangue sono disponibili appositi articoli monouso. Per la puntura delle vene non devono essere utilizzate cannule troppo sottili. Il prelievo di sangue venoso deve essere eseguito in punti appropriati, nella piega del

gomito, nell'avambraccio o sul dorso della mano. Il sangue deve essere prelevato con provette standard per campioni (tappo rosso, Sarstedt o provette equivalenti di altra marca). Prelevare un volume di 5–10 ml di sangue EDTA. Miscelare le provette capovolgendole più volte subito dopo la raccolta del campione (8 x, senza agitare).

i Non usare campioni di soggetti eparinizzati (vedi "Sostanze interferenti", pag. 19).

Conservazione dei campioni

Il sangue intero deve essere separato in plasma e componenti cellulari mediante centrifugazione per 20 minuti a 800–1600 x g entro 6 ore. Il plasma separato deve essere trasferito in provette in propilene sterili. La riuscita del test può essere compromessa da un congelamento ripetuto o da una conservazione prolungata dei campioni. L'RNA incapsulato nel virus è stabile per alcuni giorni se conservato a 4°C, per alcune settimane se conservato a -20°C e addirittura per mesi e anni se conservato a -70°C.*

Trasporto dei campioni

In linea di principio, i campioni devono essere trasportati in un contenitore idoneo infrangibile. Si evita così il pericolo potenziale d'infezione dovuto a perdite. I campioni devono essere trasportati secondo le norme locali e nazionali per il trasporto di materiali patogeni.†

I campioni devono essere spediti entro 6 ore. Non si consiglia la conservazione nello stesso luogo del prelievo. È possibile una spedizione tramite posta. Devono però essere osservate le disposizioni legali. Noi raccomandiamo di effettuare il trasporto per corriere. I campioni di sangue vanno spediti refrigerati (2–8°C) e il plasma separato surgelato (-15 / -30°C).

Sostanze interferenti

Valori elevati di bilirubina (≤ 15 mg/dl) e di lipidi (≤ 800 mg/dl) e campioni emolitici non influenzano il sistema. L'eparina (≥ 10 UI/ml) influisce sulla PCR. Non si devono utilizzare i campioni raccolti in provette contenenti eparina come anticoagulante. Non si devono utilizzare neppure i campioni di pazienti eparinizzati.

* Arbeitskreis Blut, V17 (09.1997), Gazzetta dell'ufficio federale della sanità 11/1997, p. 452–456.

† International Air Transport Association (IATA) (Associazione Internazionale per il Trasporto Aereo). Dangerous Goods Regulations (Regolamenti relativi alle merci pericolose).

Estrazione dell'RNA

Il kit QIAamp DSP Virus (QIAGEN, cat. n. 60704) è convalidato per l'estrazione dell'RNA virale da plasma umano, da usare con il kit *artus* HCV RG RT-PCR. Effettuare l'estrazione dell'RNA virale seguendo le istruzioni del manuale del kit QIAamp DSP Virus (*QIAamp DSP Virus Kit Handbook*).

i L'aggiunta di carrier RNA è di fondamentale importanza per l'efficacia dell'estrazione e, quindi, per la resa del DNA/RNA. Per ottenere una maggiore stabilità del carrier RNA in dotazione con il kit QIAamp DSP Virus seguire le indicazioni contenute nel manuale d'uso per la ricostituzione e la conservazione del carrier RNA ("Preparazione dei reagenti e dei tamponi").

i Il controllo interno del kit *artus* HCV RG RT-PCR può essere utilizzato direttamente nella procedura di estrazione (vedi "Controllo interno", sotto). Accertarsi di aggiungere durante l'estrazione un campione negativo di plasma. Il segnale proveniente dal controllo interno costituisce la base per la valutazione dell'estrazione.

Controllo interno

Il kit include un controllo interno (Hep. C Virus RG IC), che permette all'utilizzatore sia di controllare la procedura di estrazione dell'RNA che di verificare la possibile inibizione della PCR. Per questa applicazione, aggiungere durante l'estrazione il controllo interno in un rapporto di 0,1 μ l per 1 μ l di volume di eluizione. Per esempio, se si utilizza il kit QIAamp DSP Virus, l'RNA viene eluito in 60 μ l di tampone di eluizione (AVE). Inizialmente, si devono aggiungere quindi 6 μ l del controllo interno.

i Il controllo interno e il carrier RNA (vedi "Estrazione dell'RNA", sopra) devono essere aggiunti esclusivamente alla miscela di tampone di lisi e di campione o direttamente al tampone di lisi.

Il controllo interno non deve essere aggiunto direttamente al campione. Se aggiunta al tampone di lisi, la miscela di controllo interno e di tampone di lisi/carrier RNA va usata immediatamente dopo la sua preparazione (la conservazione della miscela a temperatura ambiente o in frigo può portare già dopo poche ore ad un'anomalia del controllo interno e quindi ad una minore efficacia della procedura di estrazione).

i Non aggiungere il controllo interno e il carrier RNA direttamente al campione.

In via opzionale, il controllo interno può essere utilizzato esclusivamente per verificare una possibile inibizione della PCR. Per questa applicazione, aggiungere il controllo interno direttamente alla miscela di Hep. C

Virus RG Master A e Hep. C Virus RG Master B, come descritto nella fase 2b del protocollo (pag. 23).

Quantificazione

Gli standard di quantificazione in dotazione (Hep. C Virus RG QS 1–4) vengono trattati come campioni già purificati e se ne utilizza lo stesso volume (20 μ l). Per generare una curva standard sugli strumenti Rotor-Gene Q, tutti i 4 standard di quantificazione devono essere utilizzati e definiti nella finestra di dialogo "Edit Samples" (Modifica campioni) come standard con le concentrazioni specificate (vedi il manuale utente dello strumento).

i Gli standard di quantificazione sono definiti come UI/ μ l.* Per convertire in UI/ml di campione i valori ottenuti con l'aiuto della curva standard, utilizzare la formula seguente:

$$\text{Risultato (UI/ml)} = \frac{\text{Risultato (UI/\mu l)} \times \text{volume di eluizione (\mu l)}}{\text{Volume campione (ml)}}$$

In linea di principio, si deve immettere nell'equazione di cui sopra il volume iniziale del campione. Occorre tenere conto di ciò quando il volume del campione è stato cambiato prima dell'estrazione dell'acido nucleico (per es. riducendo il volume mediante centrifugazione o aumentandolo con l'aggiunta al volume richiesto per l'estrazione).

* Lo standard è stato calibrato rispetto al 1° Standard Internazionale per l'HCV (OMS).

Protocollo: PCR e analisi dei dati

Punti importanti prima di iniziare

- Prima di avviare la procedura, leggere “Note importanti”, pag 18–21.
- Dedicare il tempo necessario ad acquisire familiarità con il Rotor-Gene Q prima di avviare il protocollo. Fare riferimento al manuale utente dello strumento.
- Accertarsi che in ogni PCR siano inclusi almeno uno standard di quantificazione e almeno un controllo negativo (acqua, grado PCR). Per generare una curva standard, utilizzare tutti i 4 standard di quantificazione forniti (Hep. C Virus RG QS 1–4) per ogni PCR.

Prima di iniziare

- Verificare che il blocco di raffreddamento (accessorio dello strumento Rotor-Gene Q) sia stato preraffreddato a 2–8°C.
- Prima di ogni utilizzo, tutti i reagenti devono essere scongelati completamente, miscelati (pipettandoli ripetutamente su e giù o agitandoli rapidamente su vortex) e centrifugati brevemente.

Procedura

- 1. Inserire il numero desiderato di provette per PCR negli adattatori del blocco di raffreddamento.**
- 2. Se si usa il controllo interno per monitorare la procedura di estrazione dell’RNA e per verificare la possibile inibizione della PCR, seguire la fase 2a. Se si usa il controllo interno esclusivamente per controllare l’inibizione della PCR, seguire la fase 2b.**
 - 2a. Il controllo interno è già stato aggiunto all’estrusione (vedi “Controllo interno”, pag. 20). In questo caso, preparare una miscela master secondo la Tabella 6.**

La miscela di reazione contiene tipicamente tutti i componenti necessari per la PCR, ad eccezione del campione.

Tabella 6. Preparazione della miscela master (controllo interno usato per controllare l'estrazione dell'RNA e verificare l'inibizione della PCR)

Numero di campioni	1	12
Hep. C Virus RG Master A (master A per C Virus RG)	12 μ l	144 μ l
Hep. C Virus RG Master B (master B per C Virus RG)	18 μ l	216 μ l
Hep. C Virus RG IC	0 μ l	0 μ l
Volume totale	30 μl	360 μl

2b. Il controllo interno deve essere aggiunto direttamente alla miscela di Hep. C Virus Master A e Hep. C Virus Master B. In questo caso, preparare una miscela master secondo la Tabella 7.

La miscela di reazione contiene tipicamente tutti i componenti necessari per la PCR, ad eccezione del campione.

Tabella 7. Preparazione della miscela master (controllo interno usato esclusivamente per verificare l'inibizione della PCR)

Numero di campioni	1	12
Hep. C Virus RG Master A (master A per C Virus RG)	12 μ l	144 μ l
Hep. C Virus RG Master B (master B per C Virus RG)	18 μ l	216 μ l
Hep. C Virus RG IC	2 μ l	24 μ l
Volume totale	32 μl	384 μl

* L'aumento di volume determinato dall'aggiunta del controllo interno durante la preparazione della PCR è irrilevante. Non viene compromessa la sensibilità del sistema di rilevazione.

3. Pipettare 30 μ L della miscela master in ogni provetta per PCR. Aggiungere poi 20 μ l del campione di RNA eluito (vedi Tabella 8). A questo punto, occorre utilizzare 20 μ l di almeno uno degli standard di quantificazione (Hep. C Virus RG QS 1–4) come controllo positivo e 20 μ l di acqua (acqua, grado PCR) come controllo negativo.

Tabella 8. Preparazione della PCR

Numero di campioni	1	12
Miscela master	30 μ l	30 μ l ciascuno
Campione	20 μ l	20 μ l ciascuno
Volume totale	50 μl	50 μl ciascuno

4. **Chiudere le provette per PCR. Verificare che l'anello di bloccaggio (accessorio dello strumento Rotor-Gene) sia presente sopra il rotore per evitare l'apertura accidentale delle provette durante l'analisi.**
5. **Per rilevare l'RNA dell'HCV creare un profilo termico come di seguito descritto.**

Impostazione dei parametri generali del test	Figure 4, 5, 6
Trascrittasi inversa dell'RNA	Figura 7
Attivazione iniziale dell'enzima hot-start	Figura 8
Amplificazione del cDNA	Figura 9
Regolazione della sensibilità del canale di fluorescenza	Figura 10
Avvio del processo	Figura 11

Tutte le specifiche fanno riferimento al software del Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q versione 1.7.94, al software del Rotor-Gene 6000 versione 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94 e al software del Rotor-Gene 3000 versione 6.0.23. Per ulteriori informazioni sulla programmazione degli strumenti Rotor-Gene consultare il rispettivo manuale utente. Nelle figure queste impostazioni sono evidenziate da un riquadro nero in grassetto. Sono incluse illustrazioni degli strumenti Rotor-Gene Q. Se per il Rotor-Gene 3000 sono necessari valori diversi, tali differenze sono indicate nel testo stesso.

6. In primo luogo, aprire la finestra di dialogo “New Run Wizard” (Wizard nuovo processo) (Figura 4). Spuntare la casella “Locking Ring Attached” (Anello di bloccaggio collegato) e cliccare su “Next” (Avanti).

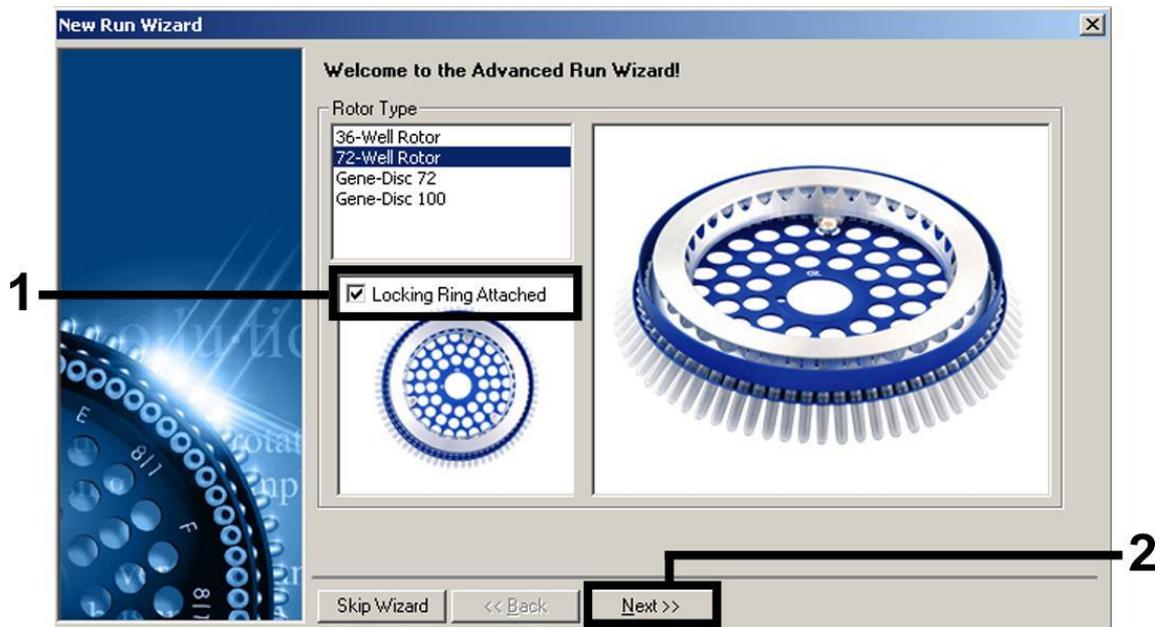


Figura 4. Finestra di dialogo “New Run Wizard”.

7. Selezionare 50 per il volume di reazione PCR e cliccare su “Next” (Figura 5).

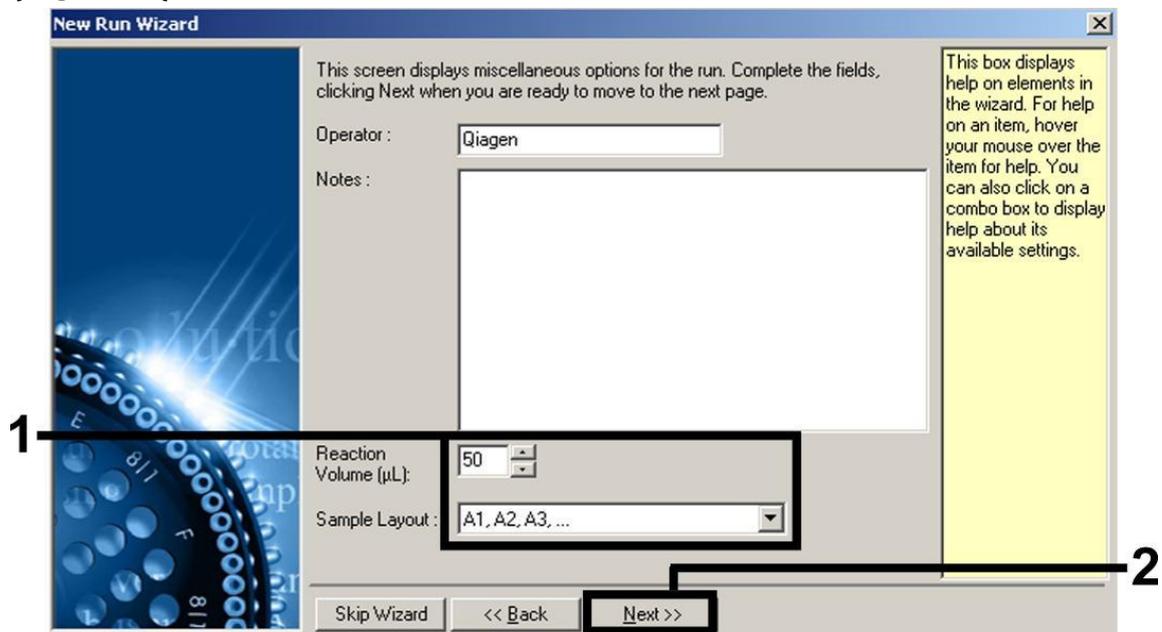


Figura 5. Impostazione dei parametri generali del test.

8. Cliccare sul pulsante "Edit Profile" (Modifica profilo) nella successiva finestra di dialogo "New Run Wizard" (Figura 6) e programmare il profilo termico, come illustrato nelle Figure 6-9.

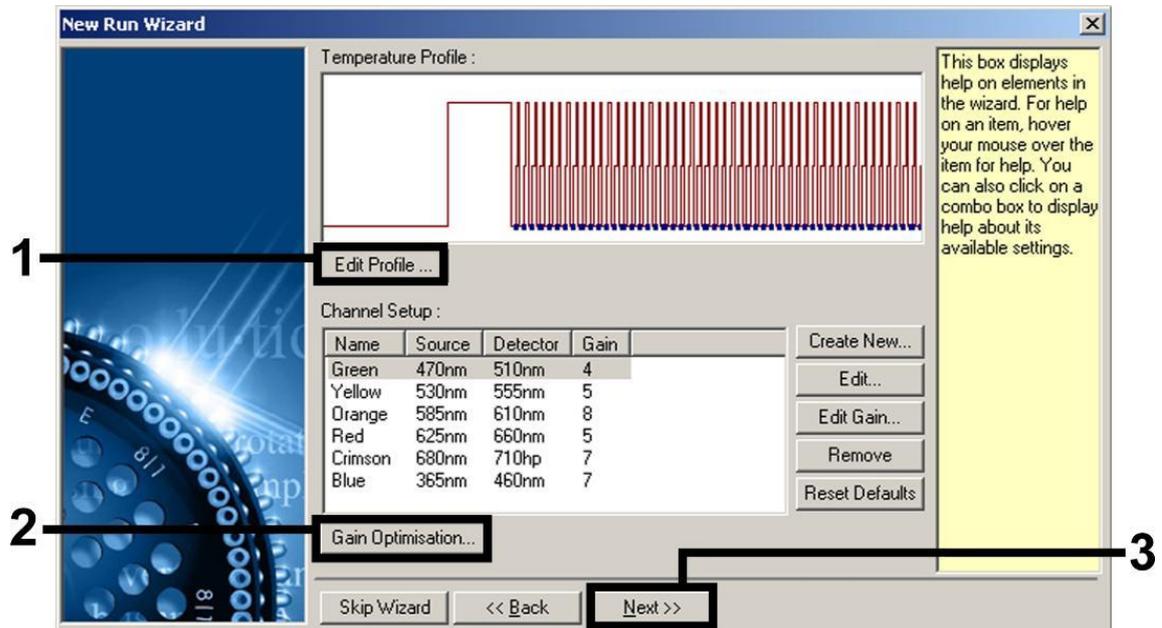


Figura 6. Modifica del profilo.

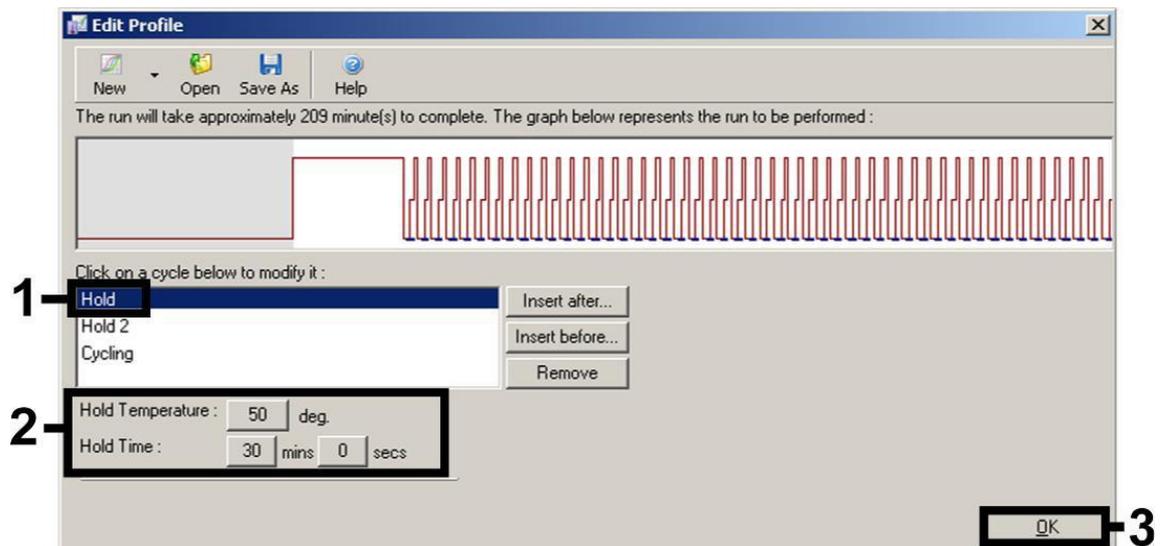


Figura 7. Trascrittasi inversa dell'RNA.

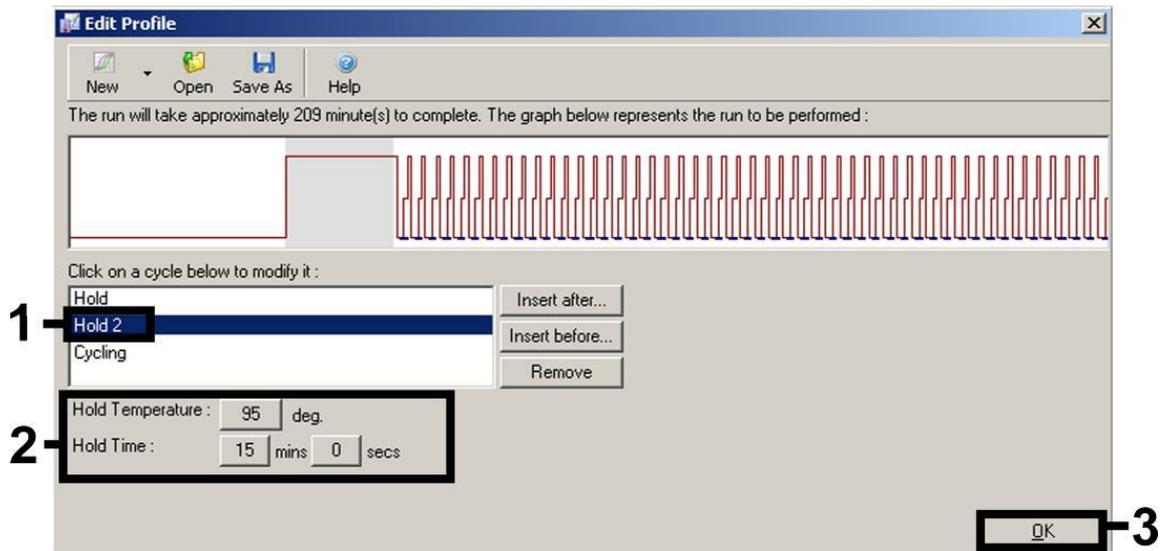


Figura 8. Attivazione iniziale dell'enzima hot-start.

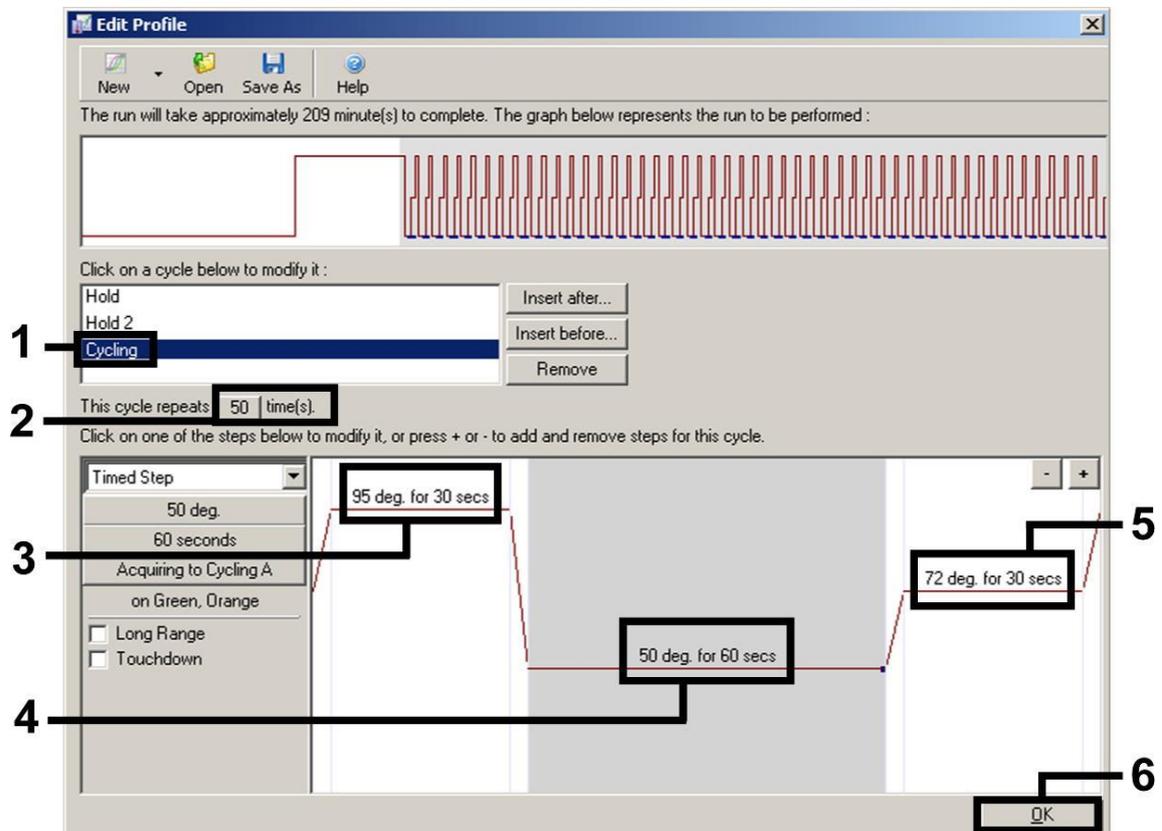


Figura 9. Amplificazione del cDNA. Si noti che sul Rotor-Gene 3000 il software definisce i coloranti di fluorescenza come "FAM/Sybr, ROX".

9. Il range di rilevazione dei canali di fluorescenza deve essere determinato in base all'intensità della fluorescenza nelle provette per PCR. Cliccare "Gain Optimisation" (Ottimizzazione gain) nella finestra "New Run Wizard" (vedere Figura 6) per aprire la finestra di dialogo "Auto-Gain Optimisation Setup" (Setup ottimizzazione auto-gain). Impostare la temperatura di calibrazione su 50 per farla

coincidere con la temperatura di annealing del programma di amplificazione (Figura 10).

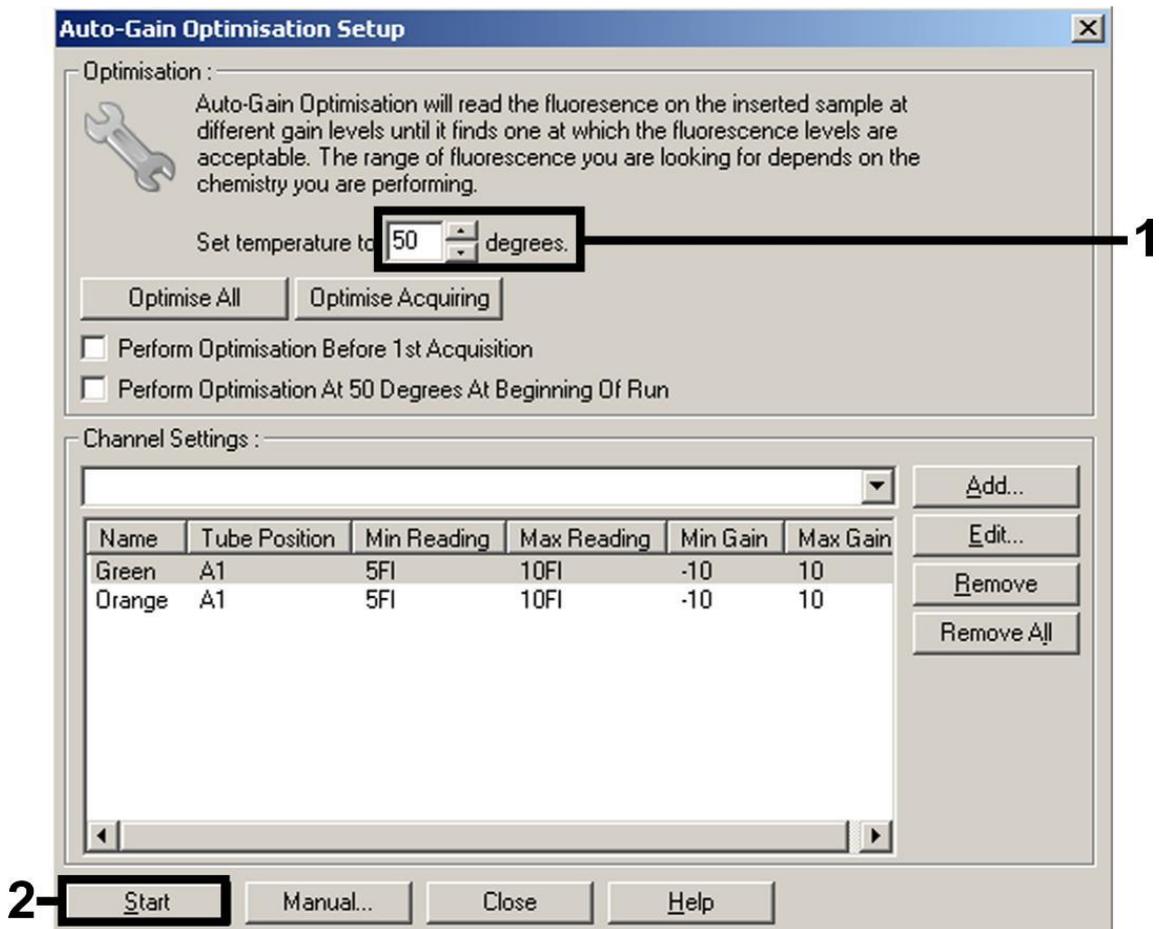


Figura 10. Regolazione della sensibilità del canale di fluorescenza. Si noti che sul Rotor-Gene 3000 il software definisce i coloranti di fluorescenza come "FAM/Sybr" e "ROX".

- 10. I valori del gain determinati con la calibrazione del canale sono salvati automaticamente e sono elencati nell'ultima finestra del menu della procedura di programmazione (Figura 11). Cliccare su "Start Run" (Avvio processo).**

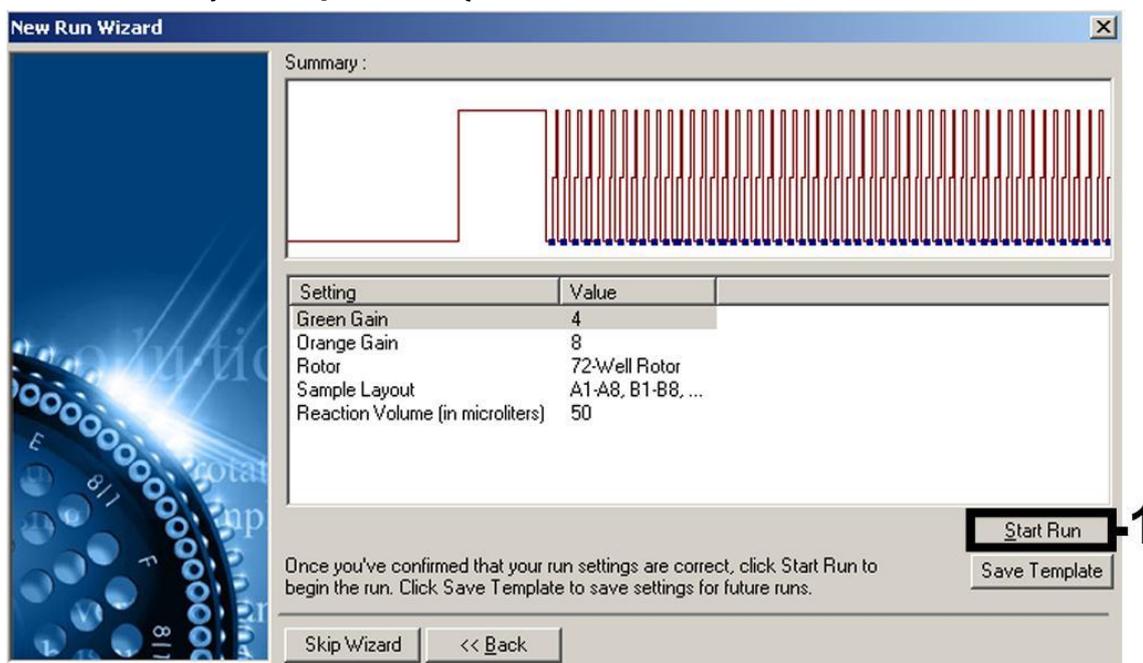


Figura 11. Avvio del processo. Si noti che sul Rotor-Gene 3000 il software definisce i coloranti di fluorescenza come "FAM/Sybr" e "ROX".

- 11. Terminato il processo, analizzare i dati. Sono possibili i seguenti risultati (11a, 11b e 11c).**

Alcuni esempi di reazioni PCR positive e negative sono riportati nelle Figure 12 e 13.

Nella Tabella 9 vengono mostrate le linee guida di interpretazione dei risultati quantitativi.

- 11a. Viene rilevato un segnale nel canale di fluorescenza Cycling Green. Il risultato dell'analisi è positivo: il campione contiene RNA dell'HCV.**

In questo caso, la rilevazione di un segnale nel canale Cycling Orange è superflua, dal momento che le concentrazioni iniziali di RNA dell'HCV (segnale positivo nel canale Cycling Green) possono dare origine a un segnale di fluorescenza ridotto o assente del controllo interno nel canale Cycling Orange (fenomeno di competizione).



Si noti che sul Rotor-Gene 3000 i rispettivi canali sono Cycling A.FAM per il segnale positivo e Cycling A.ROX per il controllo interno.

11b. Non viene rilevato nessun segnale nel canale di fluorescenza Cycling Green. Al tempo stesso viene rilevato un segnale dal controllo interno nel canale Cycling Orange. Nel campione non è possibile rilevare RNA dell'HCV. Il risultato dell'analisi può essere quindi considerato negativo.

In caso di RT-PCR dell'HCV negativa, il segnale rilevato del controllo interno esclude la possibile inibizione della RT-PCR.

i Si noti che sul Rotor-Gene 3000 i rispettivi canali sono Cycling A.ROX per il controllo interno e mancanza di segnale per Cycling A.FAM.

11c. Non si rileva nessun segnale nei canali Cycling Green o Cycling Orange. Non si può trarre alcun risultato.

Si possono trovare informazioni sulle cause d'errore e relative soluzioni in "Guida alla risoluzione dei problemi", pag. 32.

i Si noti che sul Rotor-Gene 3000 i rispettivi canali sono Cycling A.FAM e Cycling A.ROX.

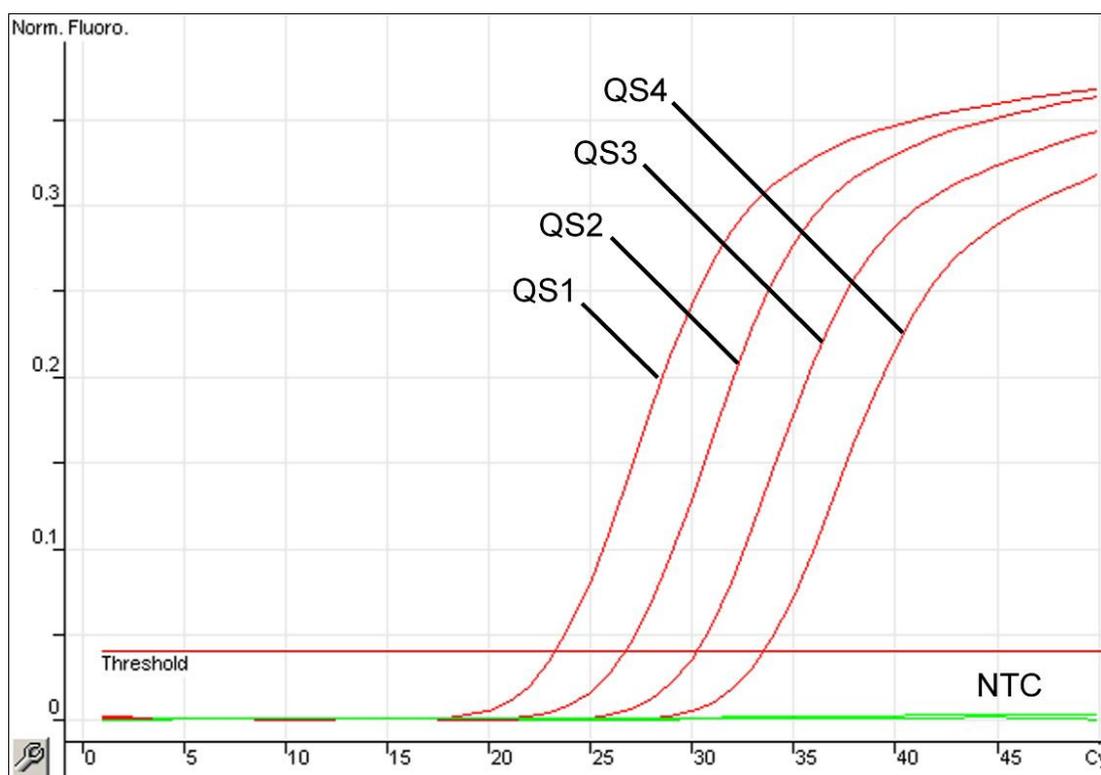


Figura 12. Rilevazione degli standard di quantificazione (Hep. C Virus RG QS 1-4) nel canale di fluorescenza Cycling Green. NTC: Controllo no template (controllo negativo).

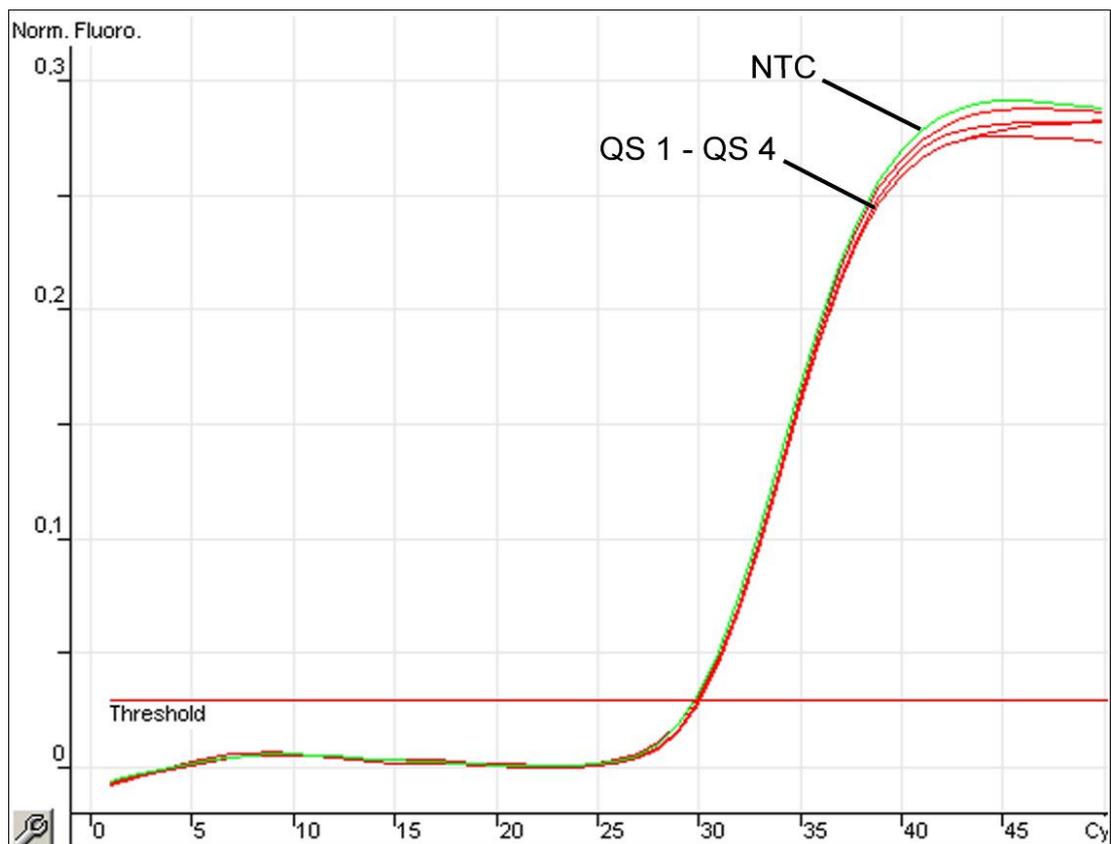


Figura 13. Rilevazione del controllo interno (IC) nel canale di fluorescenza Cycling Orange con amplificazione contemporanea degli standard di quantificazione (Hep. C Virus QS 1–4). NTC: Controllo no template (controllo negativo).

Tabella 9. Interpretazione dei risultati quantitativi

Risultato	Interpretazione
RNA dell'HCV > 34 UI/ml	Il risultato rientra nel range del test determinato. La probabilità di rilevazione dell'RNA dell'HCV è > 95%. Il risultato positivo del test è garantito statisticamente.
RNA dell'HCV < 34 UI/ml	Il risultato non rientra nel range di test determinato. La riproducibilità del risultato positivo non è garantita.
Negativo per l'RNA dell'HCV	RNA dell'HCV non rilevato.

Guida alla risoluzione dei problemi

Questa guida alla risoluzione dei problemi può essere utile per chiarire eventuali dubbi che possano presentarsi. Per maggiori informazioni, consultare anche la pagina relativa alle domande frequenti (FAQ) nel nostro servizio di assistenza tecnica: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Gli esperti del servizio di assistenza tecnica di QIAGEN sono sempre disponibili per rispondere a qualsiasi domanda riguardante informazioni e protocolli presentati in questo manuale o le tecnologie per campioni e analisi (per le informazioni sui contatti vedere il retro di copertina o visitare il sito www.qiagen.com).

Commenti e suggerimenti

Non viene rilevato nessun segnale con controlli positivi (Hep. C Virus RG QS 1–4) nel canale di fluorescenza Cycling Green o Cycling A.FAM.

- | | |
|--|---|
| a) Il canale di fluorescenza selezionato per l'analisi dei dati PCR non è conforme al protocollo |  Per l'analisi dei dati selezionare il canale di fluorescenza Cycling Green o Cycling A.FAM per la RT-PCR analitica dell'HCV e il canale di fluorescenza Cycling Orange o Cycling A.ROX per la RT-PCR del controllo interno. |
| b) Programmazione non corretta del profilo termico dello strumento Rotor-Gene |  Confrontare il profilo termico con il protocollo. Vedere "Protocollo: PCR e analisi dei dati", pagina 22. |
| c) Configurazione non corretta della PCR |  Controllare le fasi operative eseguite con lo schema di pipettamento e ripetere la PCR, se necessario. Vedere "Protocollo: PCR e analisi dei dati", pagina 22. |
| d) Le condizioni di conservazione per uno o più componenti del kit non corrispondevano alle istruzioni fornite in "Conservazione" (pag. 5) |  Controllare le condizioni di conservazione e la data di scadenza dei reagenti (vedere etichetta del kit) e utilizzare un nuovo kit, se necessario. |

Commenti e suggerimenti

- e) Il kit *artus HCV RG RT-PCR* è scaduto
- ⓘ Controllare le condizioni di conservazione e la data di scadenza dei reagenti (vedere etichetta del kit) e utilizzare un nuovo kit, se necessario.

Segnale debole o assente del controllo interno nel canale di fluorescenza Cycling Orange o Cycling A.ROX e assenza simultanea di un segnale nel canale Cycling Green o Cycling A.FAM

- a) Le condizioni della PCR non sono conformi al protocollo
- ⓘ Verificare le condizioni della PCR (vedi sopra) ed ripetere la PCR con le impostazioni corrette, se necessario.
- b) La PCR è stata inibita
- ⓘ Verificare che sia stata usata la procedura di estrazione raccomandata e seguire scrupolosamente le istruzioni del produttore.
- ⓘ Accertarsi che durante l'estrazione dell'RNA e prima dell'eluizione sia stata eseguita l'ulteriore fase di centrifugazione consigliata per eliminare eventuali residui di etanolo (vedi "Estrazione dell'RNA", pag. 20).
- c) RNA perso durante l'estrazione
- ⓘ Se all'estrazione era stato aggiunto il controllo interno, l'assenza di segnale del controllo interno può indicare la perdita del RNA durante l'estrazione. Verificare che sia stata usata la procedura di estrazione raccomandata (vedi "Estrazione dell'RNA", pag. 20) e seguire scrupolosamente le istruzioni del produttore.
- d) Le condizioni di conservazione per uno o più componenti del kit non corrispondevano alle istruzioni fornite in "Conservazione" (pag. 5)
- ⓘ Controllare le condizioni di conservazione e la data di scadenza dei reagenti (vedere etichetta del kit) e utilizzare un nuovo kit, se necessario.

Commenti e suggerimenti

e) Il kit *artus* HCV RG RT-PCR è scaduto

ⓘ Controllare le condizioni di conservazione e la data di scadenza dei reagenti (vedere etichetta del kit) e utilizzare un nuovo kit, se necessario.

Segnali con i controlli negativi nel canale di fluorescenza Cycling Green o Cycling A.FAM della PCR analitica

a) Si è verificata una contaminazione durante la preparazione della PCR.

ⓘ Ripetere la PCR in replicati con reagenti non ancora utilizzati.

ⓘ Se possibile, chiudere le provette per PCR subito dopo l'aggiunta del campione da testare.

ⓘ Accertarsi di avere pipettato i controlli positivi per ultimi.

ⓘ Verificare che l'area di lavoro e gli strumenti vengano decontaminati a intervalli regolari.

b) Si è verificata una contaminazione durante l'estrazione.

ⓘ Ripetere l'estrazione e la PCR dei campioni da analizzare con reagenti non ancora utilizzati.

ⓘ Verificare che l'area di lavoro e gli strumenti vengano decontaminati a intervalli regolari.

Riferimenti bibliografici

QIAGEN possiede un'ampia banca dati online continuamente aggiornata con le pubblicazioni scientifiche riguardanti i prodotti QIAGEN. Le opzioni di ricerca specifiche consentono di trovare gli articoli necessari sia tramite parole chiave sia specificando l'applicazione, l'area di ricerca, il titolo, ecc.

Per un elenco bibliografico completo, visitare il sito QIAGEN Reference Database all'indirizzo www.qiagen.com/RefDB/search.asp o contattare il servizio di assistenza tecnica QIAGEN o il distributore locale.

Informazioni per gli ordini

Prodotto	Indice	Cat n°
<i>artus</i> HCV RG RT-PCR Kit (24)	Per 24 reazioni: 2 master, 4 standard di quantificazione, controllo interno, acqua (grado PCR)	4518263
<i>artus</i> HCV RG RT-PCR Kit (96)	Per 96 reazioni: 2 master, 4 standard di quantificazione, controllo interno, acqua (grado PCR)	4518265
Kit QIAamp DSP Virus — per l'estrazione degli acidi nucleici virali da plasma umano per analisi diagnostiche in vitro		
QIAamp DSP Virus Kit	Per 50 preparazioni: QIAamp MinElute® Spin Columns, tamponi, reagenti, provette, tubi di estensione e VacConnectors	60704
Rotor-Gene Q MDx e accessori		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Termociclatore per real-time PCR a 5 canali (verde, giallo, arancio, rosso, cremisi), notebook, software, accessori, 1 anno di garanzia su parti e funzionalità di laboratorio, installazione e addestramento non inclusi	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Termociclatore per real-time PCR a 5 canali (verde, giallo, arancio, rosso, cremisi), notebook, software, accessori, 1 anno di garanzia su parti e funzionalità di laboratorio, installazione e addestramento	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Termociclatore per real-time PCR e analizzatore per fusione ad alta risoluzione a 5 canali (verde, giallo, arancio, rosso, cremisi) più canale HRM, notebook, software, accessori, 1 anno di garanzia su parti e funzionalità di laboratorio, installazione e addestramento non inclusi	9002032

Prodotto	Indice	Cat n°
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Termociclatore per real-time PCR e analizzatore per fusione ad alta risoluzione a 5 canali (verde, giallo, arancio, rosso, cremisi) più canale HRM, notebook, software, accessori, 1 anno di garanzia su parti e funzionalità di laboratorio, installazione e addestramento	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Strumento per real-time PCR a 6 canali (blu, verde, giallo, arancio, rosso, cremisi), notebook, software, accessori, 1 anno di garanzia su parti e funzionalità di laboratorio, installazione e addestramento non inclusi	9002042
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Strumento per real-time PCR a 6 canali (blu, verde, giallo, arancio, rosso, cremisi), notebook, software, accessori, 1 anno di garanzia su parti e funzionalità di laboratorio, installazione e addestramento	9002043
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Blocco in alluminio per setup manuale della reazione con pipetta a un canale in 72 provette da 0,1 ml	9018901
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Blocco in alluminio per setup manuale della reazione in una serie standard 8 x 12 con 96 provette da 0,2 ml	9018905
Strip Tubes and Caps, 0,1 ml (250)	250 strisce di 4 provette e tappi per 1.000 reazioni	981103
Strip Tubes and Caps, 0,1 ml (2500)	10 x 250 strisce di 4 provette e tappi per 10.000 reazioni	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1.000 provette a parete sottile per 1.000 reazioni	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1.000 provette a parete sottile per 1.000 reazioni	981008

Per informazioni aggiornate sulla licenza e per i disclaimer specifici dei prodotti, consultare il manuale del kit o il manuale utente QIAGEN. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili nel sito www.qiagen.com

oppure possono essere richiesti al servizio di assistenza tecnica QIAGEN o al proprio distributore locale.

Questa pagina è stata lasciata in bianco intenzionalmente

L'acquisto di questo prodotto ne consente l'uso all'acquirente per l'esecuzione di servizi per la diagnostica umana in vitro. Con il presente non si concede nessun brevetto generico o licenza di altro tipo in aggiunta agli specifici diritti di utilizzo garantiti dall'acquisto.

Marchi commerciali: QIAGEN®, QIAamp®, artus®, MinElute®, Rotor-Gene® (Gruppo QIAGEN); COBAS®, TaqMan® (Gruppo Roche); FAM™, ROX™ (Life Technologies Corporation); SYBR® (Molecular Probes, Inc.).

Contratto di Licenza Limitato

L'uso di questo prodotto implica l'accettazione, da parte dell'acquirente o dell'utente del kit *artus* HCV RG RT-PCR, dei seguenti termini:

1. Il kit *artus* HCV RG RT-PCR deve essere usato unicamente secondo le istruzioni contenute nel *manuale del kit HCV RG RT-PCR* e in combinazione con i componenti contenuti nel kit stesso. QIAGEN non concede alcuna licenza, in relazione a qualunque proprietà intellettuale, per l'uso o l'aggiunta dei componenti del kit ad altri componenti non contenuti nel kit, ad eccezione di quanto descritto nel *manuale del kit artus HCV RG RT-PCR* e nei protocolli aggiuntivi disponibili sul sito www.qiagen.com.
2. Se non espressamente dichiarato nelle licenze, QIAGEN non garantisce in alcun modo che questi kit e/o il relativo impiego non violino i diritti di terze parti.
3. Il presente kit ed i relativi componenti sono concessi in licenza per l'impiego monouso e non possono essere riutilizzati, ripristinati o rivenduti.
4. QIAGEN esclude specificamente qualunque altra licenza, espressa o implicita, che non rientri tra quelle espressamente dichiarate.
5. L'acquirente e l'utente del kit concordano nel non consentire a nessuno di intervenire o consentire ad altri di realizzare o contribuire a realizzare azioni proibite. QIAGEN può imporre presso qualunque tribunale i divieti del presente Contratto di Licenza Limitato, e recupererà tutte le spese di indagine e spese legali, comprese le parcelle degli avvocati, in qualunque azione per imporre il presente Contratto di Licenza Limitato o qualsiasi diritto di proprietà intellettuale correlato al kit e/o ai suoi componenti.

Per i termini di licenza aggiornati, consultare il sito www.qiagen.com.

© 2015 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

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)

