

Håndbog til *artus*[®] CMV RG PCR-kit



24 (katalognr. 4503263)



96 (katalognr. 4503265)

Version 1



Kvantitativ in vitro-diagnostik

Til brug sammen med Rotor-Gene[®] Q-instrumenter



4503263, 4503265



1046908DA



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,

TYSKLAND

R5



1046908DA



QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN er den førende leverandør af innovative prøve- og analyseteknologier, som gør det muligt at isolere og detektere indholdet af enhver biologisk prøve. Vores avancerede høj kvalitetsprodukter og -service garanterer succes fra prøve til resultat.

QIAGEN sætter standarder i:

- Oprensning af DNA, RNA og proteiner
- Nukleinsyre- og proteinanalyser
- mikroRNA-undersøgelser og RNAi
- Automatisering af prøve- og analyseteknologier

Det er vores mål sætte dig i stand til at opnå enestående succes og gennembrud. Der findes flere oplysninger på www.qiagen.com.

Indhold

Tilsigtet anvendelse	7
Oversigt og forklaring	7
Patogeninformation	7
Funktionsprincip	8
Leverede materialer	8
Kittets indhold	8
Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt	9
Advarsler og forholdsregler	10
Almene forsigtighedsregler	10
Opbevaring og håndtering af reagenser	10
Prøvehåndtering og -opbevaring	10
Procedure	13
DNA-isolering	13
Intern kontrol	13
Protokol: PCR og dataanalyse	15
Fortolkning af resultater	22
Kvantificering	22
Resultater	23
Fejlfindingsvejledning	25
Kvalitetskontrol	27
Begrænsninger	27
Ydelsesegenskaber	28
Analysefølsomhed	28
Specificitet	29
Præcision	32
Robusthed	32
Reproducerbarhed	32
Diagnostisk evaluering	34
Referencer	36
Symbols	36
Kontaktoplysninger	37

Tilsigtet anvendelse

artus CMV RG PCR-kittet er en in vitro-nukleinsyreamplifikationstest til kvantitering af CMV-DNA i humant plasma. Dette diagnostiske test-kit udnytter polymerasekædereaktionen (PCR) og er konfigureret til brug sammen med Rotor-Gene Q-instrumenter.

Oversigt og forklaring

artus CMV RG PCR-kittet er et brugsklart system til detektion af CMV-DNA ved hjælp af polymerasekædereaktion (PCR) på Rotor-Gene Q-instrumenter. CMV RG Master indeholder reagenser og enzymer til specifik amplifikation af en 105 bp region af CMV-genomet og til direkte detektion af det specifikke amplikon i fluorescenskanalen Cycling Green på Rotor-Gene Q Mdx, Rotor-Gene Q eller Rotor-Gene 6000 eller Cycling A.FAM™ på Rotor-Gene 3000.

Derudover indeholder *artus* CMV RG PCR-kittet et andet heterologt amplifikationssystem, som bruges til detektion af en eventuel PCR-inhibition. Denne detekteres som en intern kontrol (IC) i fluorescenskanalen Cycling Yellow på Rotor-Gene Q Mdx, Rotor-Gene Q eller Rotor-Gene 6000 eller Cycling A.JOE™ på Rotor-Gene 3000. Detektionsgrænsen for den analytiske CMV PCR (se "Analysefølsomhed", side 28) er ikke reduceret. Der leveres eksterne positive kontroller (CMV QS 1-4), som tillader bestemmelse af mængden af viralt DNA. For yderligere information, se "Kvantificering", side 22.

Patogeninformation

Den humane cytomegalovirus (CMV) findes hos inficerede personer i blod, væv og næsten alle sekretionsvæsker. Overførslen kan ske oralt, seksuelt, via blodtransfusion eller organtransplantation, intrauterint eller perinatalt. Infektion med CMV medfører ofte en asymptomatisk infektion efterfulgt af livslang vedvarende virus i kroppen. Hvis der forekommer symptomer hos teenagere eller hos voksne, ligner de symptomerne på mononukleose med feber, svagt positiv hepatitis og generel utilpashed. Der er observeret svære forløb af CMV-infektion navnlig hos patienter med intrauterin infektion og hos patienter med immundefekt.

Funktionsprincip

Patogendetektion via polymerasekædereaktion (PCR) er baseret på amplifikation af specifikke områder af patogenets genom. Det amplificerede produkt detekteres i realtids-PCR via fluorescerende farver. Disse er i reglen knyttet til oligonucleotidprober, der bindes specifikt til det amplificerede produkt. Monitorering af fluorescensintensiteterne under PCR-kørslen (dvs. i realtid) muliggør detektion og kvantitering af det akkumulerede produkt, uden at man behøver genåbne reaktionsglassene efter PCR-kørslen.*

Leverede materialer

Kittets indhold

artus CMV RG PCR Kit			(24)	(96)
Katalognr.			4503263	4503265
Antal reaktioner			24	96
Blåt	CMV RG Master		2 x 12 reaktioner	8 x 12 reaktioner
Gult	CMV Mg-Sol [†]	Mg-Sol	600 µl	600 µl
Rødt	CMV QS 1 [‡] (1 x 10 ⁴ kopier/µl)	QS	200 µl	200 µl
Rødt	CMV QS 2 [‡] (1 x 10 ³ kopier/µl)	QS	200 µl	200 µl
Rødt	CMV QS 3 [‡] (1 x 10 ² kopier/µl)	QS	200 µl	200 µl
Rødt	CMV QS 4 [‡] (1 x 10 ¹ kopier/µl)	QS	200 µl	200 µl
Grønt	CMV RG IC [§]	IC	1000 µl	2 x 1000 µl
Hvidt	Vand (PCR kvalitet)		1000 µl	1000 µl
	Håndbog		1	1

[†] Magnesium-opløsning.

[‡] Kvantiteringsstandard.

[§] Intern kontrol.

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

Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der findes mere information i de tilhørende sikkerhedsdatablade (material safety data sheets, SDSs), som kan fås hos den pågældende leverandør.

Reagenser

- DNA-isoleringskit (se "**DNA-isolering**", side 13)

Forbrugsartikler

- Sterile pipettespidser med filtre
- Striprør og hætter, 0,1 ml, til brug med 72-brøndsrotor (katalognr. 981103 eller 981106)
- Alternativ mulighed: PCR-rør, 0,2 ml, til brug med 36-brøndsrotor (katalognr. 981005 eller 981008)

Udstyr

- Pipetter (justerbare)*
- Vortex-mixer*
- Bordcentrifuge* med rotor til 2 ml reagensglas
- Rotor-Gene Q Mdx-, Rotor-Gene Q- eller Rotor-Gene-instrument* med fluorescenskanaler til Cycling Green og Cycling Yellow eller med fluorescenskanaler til Cycling A.FAM og Cycling A.JOE
- Rotor-Gene Q Mdx/Rotor-Gene Q-softwareversion 1.7.94 eller nyere (Rotor-Gene 6000 softwareversion 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94, Rotor-Gene 3000 softwareversion 6.0.23)
- Cooling block (Loading Block 72 x 0,1 ml rør, katalognr. 9018901 eller Loading Block 96 x 0,2 ml rør, katalognr. 9018905)

* Sørg for, at instrumenterne regelmæssigt kontrolleres og kalibreres efter producentens anvisninger.

Advarsler og forholdsregler

Til in vitro-diagnostisk brug

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der henvises til de relevante sikkerhedsdatablade (SDS) for yderligere information. De findes online i bekvemt og kompakt pdf-format på www.qiagen.com/safety, hvor sikkerhedsdatabladene til hvert QIAGEN® kit og hver kitkomponent kan findes, læses og udskrives.

Kassér prøve- og analyseaffald i henhold til de lokale sikkerhedsbestemmelser.

Almene forsigtighedsregler

Brugeren skal altid være opmærksom på følgende:

- Brug sterile pipettespidser med filtre.
- Positivt materiale (prøver, positive kontroller, amplifikater) skal opbevares og oprenses adskilt fra de øvrige reagenser og tilsættes reaktionsblandingen i et separat rum.
- Optø alle komponenter grundigt ved stuetemperatur (15–25 °C), før en analyse påbegyndes.
- Når komponenterne er optøet, blandes de (ved at pipettere op og ned flere gange eller med en pulsvortexblanding) og centrifugeres kort.
- Arbejd hurtigt, og hold PCR-komponenterne på is eller i køleblokken (72/96-brønds påfyldningsblok).

Opbevaring og håndtering af reagenser

Komponenterne i *artus* CMV RG PCR-kittet skal opbevares ved –15 °C til –30 °C og er stabile indtil den udløbsdato, der er angivet på etiketten.

Gentagne optøninger og genfrysninger (> 2 x) bør undgås, da det kan reducere analysens følsomhed. Hvis reagenserne kun bruges forbigående, skal de fryses i aliquotter. Må ikke opbevares ved 2–8 °C i mere end fem timer.

Prøvehåndtering og -opbevaring

Note: Alle prøver skal behandles som potentielt smittefarlige.

Note: Hidtil foreliggende data viser, at EDTA- eller citrat-plasma er de prøvematerialer, som er bedst egnet til detektion af CMV. Vi anbefaler derfor, at disse materialer anvendes sammen med *artus* CMV RG PCR-kittet.

Den interne validering af *artus* CMV RG PCR-kittet blev gennemført med prøver af humant EDTA-plasma. Andre prøvematerialer er ikke valideret. Du bedes

udelukkende anvende det anbefalede DNA-isolerings-kit (se "DNA-isolering", side 13).

Ved brug af visse prøvematerialer skal specifikke vejledninger vedrørende indsamling, transport og opbevaring nøje overholdes.

Prøveudtagning

Enhver blodprøve forårsager en skade på blodkar (arterier, vener, kapillærer). Der bør kun anvendes uskadeligt og sterilt materiale. Til udtagning af blodprøver findes der egnede engangsmaterialer. Til venepunkturen må der ikke benyttes for fine kanyler. Udtagning af venøst blod skal ske i passende dele af albuebøjningen, underarmen eller håndryggen. Blod skal udtages med standard prøverør (rød hætte, Sarstedt eller tilsvarende rør fra anden producent). Der skal udtages et volumen på 5–10 ml EDTA blod. Rørene skal blandes højt oppe direkte efter prøveudtagningen (8 x, må ikke omrystes).

Note: Prøver fra hepariniserede personer må ikke anvendes (se "Forstyrrende substanser", side 11).

Opbevaring af prøver

Fuldblod skal separeres i plasma og cellulære komponenter ved centrifugering i 20 minutter ved 800-1600 x g inden for 6 timer. Det isolerede plasma skal overføres til sterile polypropylenrør. Effekten af testen kan nedsættes, når prøverne nedfryses flere gange og opbevares i en længere tid.

Transport af prøver

Prøvemateriale skal principielt transporteres i en knusningssikker transportbeholder. Dermed kan en potentiel infektionsfare som følge af udlækkende prøvemateriale undgås. Prøverne skal transporteres efter de gyldige lokale og statslige forskrifter vedrørende transport af sygdomsfremkaldende stoffer.*

Prøverne skal afsendes inden for 6 timer. Det anbefales ikke, at prøven opbevares på afgangsstedet. Transport som almindelig postforsendelse er mulig, dog skal forskrifterne for opbevaring overholdes under transporten. Vi anbefaler, at prøven transporteres med kurer. Blodprøverne skal sendes på køl (2–8 °C) og separeret plasma i dybfrossen tilstand (-15 til -30 °C).

Forstyrrende substanser

Forhøjede bilirubin- ($\leq 4,5$ mg/dl) og lipidværdier (≤ 1000 mg/dl) såvel som hæmolytiske prøver påvirker ikke systemet. Heparin påvirker PCR'en. Prøver,

* International Air Transport Association (IATA) (den internationale lufttransportforening).
Dangerous Goods Regulations (Regler vedrørende transport af farligt gods).

der er indsamlet i rør, der indeholder heparin som antikoagulans, bør ikke anvendes. Prøver fra hepariniserede patienter må heller ikke anvendes.

Procedure

DNA-isolering

Kittene fra QIAGEN, som er vist i tabel 1, er valideret til viral DNA-oprensning fra de angivne prøvetyper fra mennesker til brug med *artus* CMV RG PCR-kittet. Udfør den virale DNA-oprensning i henhold til anvisningerne i kithåndbøgerne.

Tabel 1. Oprensningskit valideret til brug med *artus* CMV RG PCR-kit

Prøvemateriale	Prøvestørrelse	Nukleinsyre-isolationskit	Katalognummer (QIAGEN)	Carrier RNA
EDTA-plasma	500 µl	QIAamp [®] DSP Virus-kit	60704	Inklusive
EDTA-plasma	400 µl	EZ1 [®] DSP Virus-kit (48)*	62724	Inklusive

* EZ1 DSP Virus-kittet fås også som CE-IVD-mærkede EASYartus[®] CMV RG PCR-kit kombineret med *artus* CMV RG PCR-kittet (se bestillingsinformation på side 38).

Note: Anvendelsen af carrier-RNA er af afgørende betydning for oprensningens effektivitet og dermed for DNA-/RNA-udbyttet. For at opnå en højere stabilitet af den i QIAamp DSP Virus-kit vedlagte carrier-RNA bør angivelserne for rekonstruktion og opbevaring af carrier-RNA i brugsanvisningen ("Preparing reagents and buffers") følges.

Note: Den interne kontrol til *artus* CMV RG PCR-kittet kan bruges direkte i isoleringsproceduren. Sørg for at medtage en negativ plasmaprøve i isoleringen. Den interne kontrols tilsvarende signal danner grundlag for vurderingen af isoleringen (se "Intern kontrol" herunder).

Intern kontrol

Der medfølger en intern kontrol (CMV RG IC). Dette giver brugeren mulighed for både at kontrollere DNA-isoleringsproceduren og kontrollere for mulig PCR-hæmning. Til denne anvendelse tilsættes den interne kontrol i et forhold, der svarer til 0,1 µl pr. 1 µl elueringsvolumen til oprensningen. Ved brug af f.eks. QIAamp DSP Virus-kittet elueres DNA'et i 60 µl elueringsbuffer (AVE). Derfor bør 6 µl af den interne kontrol tilsættes initialt. Mængden af den anvendte interne kontrol er kun afhængig af elueringsvolumenet.

Note: Den interne kontrol og carrier-RNA (se "DNA-isolering", side 13) bør kun tilsættes blandingen af lysisbuffer og prøvemateriale eller direkte til lysisbufferen.

Den interne kontrol må ikke direkte tilsættes prøvematerialet. Ved tilsætningen til lysisbufferen skal der sørges for, at blandingen af den interne kontrol og lysisbuffer/carrier-RNA forberedes frisk og tilsættes med det samme (opbevaring af blandingen ved stuetemperatur eller i køleskabet kan allerede efter få timer føre til fravær af den interne kontrol og til en reduceret oprensningseffektivitet).

Note: Pipetter ikke den interne kontrol og carrier-RNA direkte i prøvematerialet.

For at kunne vurdere en oprensning som en succes skal C_T -værdien af den interne kontrol af en negativ plasmaoprøve, der er behandlet under oprensningen (QIAamp DSP Virus-kit), ligge ved $C_T = 27 \pm 3$ (tærskel: 0,03) på Rotor-Gene Q-instrumenter. Den angivne spredning betinges af apparaternes og oprensningernes varians. En højere afvigelse tyder på problemer med oprensningen. I dette tilfælde skal denne kontrolleres og om nødvendigt valideres igen. Hvis der skulle opstå yderligere spørgsmål eller problemer, kontakt da venligst QIAGENs tekniske service.

Alternativt kan den interne kontrol anvendes udelukkende til kontrol af en mulig PCR-inhibition. Til denne anvendelse tilsættes den interne kontrol direkte til CMV RG Master og CMV Mg-Sol som beskrevet i trin 2b i protokollen (side 16).

Protokol: PCR og dataanalyse

Vigtige anvisninger før start

- Brug tid på at blive fortrolig med Rotor-Gene Q-instrumentet, før protokollen startes. Se brugervejledningen til instrumentet.
- Sørg for, at mindst en kvantiteringsstandard og en negativ kontrol (vand, PCR-kvalitet) er med i hver PCR-kørsel. For at generere en standardkurve bruges alle 4 kvantiteringsstandarder, der medfølger (CMV QS 1–4), til hver PCR-kørsel.

Ting, der skal gøres før start

- Sørg for, at køleblokken (tilbehør til Rotor-Gene Q-instrumentet) er forkølet til 2–8°C.
- Alle reagenser skal, inden testen startes, optøs fuldstændigt ved stuetemperatur, blandes godt (gentagen pipettering eller kort vortexen) og centrifugeres kort.

Procedure

1. **Anbring det ønskede antal PCR-rør i køleblokkens adaptere.**
2. **Hvis du anvender den interne kontrol til at monitorere oprensningen af DNA og til at kontrollere en eventuel inhibition af PCR, følges trin 2a. Hvis du kun anvender den interne kontrol til at kontrollere en inhibition af PCR, følges trin 2b.**

Note: Det anbefales at tilsætte den interne kontrol til CMV RG Master og CMV Mg-Sol. der bruges til kvantiteringsstandarderne. Til kvantiteringsstandarderne tilsættes den interne kontrol direkte til CMV RG Master og CMV Mg-Sol som beskrevet i trin 2b i protokollen. Brug denne master-blanding til hver kvantiteringsstandard (CMV QS 1-4).

- 2a. **Den interne kontrol er allerede tilsat oprensningen (se "Intern kontrol", side 13). I dette tilfælde klargøres en Master Mix ifølge tabel 2.**

Reaktionsblandingen indeholder typisk alle de komponenter, der skal anvendes til PCR, undtagen prøven.

Tabel 2. Klargøring af Master Mix (intern kontrol anvendes til at monitorere DNA-oprensning og kontrollere for hæmning af PCR)

Antal prøver	1	12
CMV RG Master	25 µl	300 µl
CMV Mg-Sol	5 µl	60 µl
CMV RG IC	0 µl	0 µl
Totalt volumen	30 µl	360 µl

- 2b. Den interne kontrol skal tilsættes direkte til blandingen af CMV RG Master og CMV Mg-Sol. I dette tilfælde klargøres en Master Mix ifølge tabel 3.**

Reaktionsblandingen indeholder typisk alle de komponenter, der skal anvendes til PCR, undtagen prøven.

Tabel 3. Klargøring af Master Mix (intern kontrol anvendes kun til at kontrollere for hæmning af PCR)

Antal prøver	1	12
CMV RG Master	25 µl	300 µl
CMV Mg-Sol	5 µl	60 µl
CMV RG IC	2 µl	24 µl
Totalt volumen	32 µl*	384 µl*

* Volumenforhøjelsen, som opstår på grund af den interne kontrol, er irrelevant. Sensitiviteten for detektionssystemet påvirkes ikke.

- 3. Pipetter 30 µl af Master Mix i hvert PCR-rør. Tilsæt derefter 20 µl af det eluerede prøve-DNA (se tabel 4). Der skal tilsvarende bruges 20 µl af mindst én af kvantiteringsstandarderne (CMV QS 1–4) som positiv kontrol og 20 µl vand (vand, PCR-kvalitet) som negativ kontrol.**

Tabel 4. Opsætning af PCR-reaktion

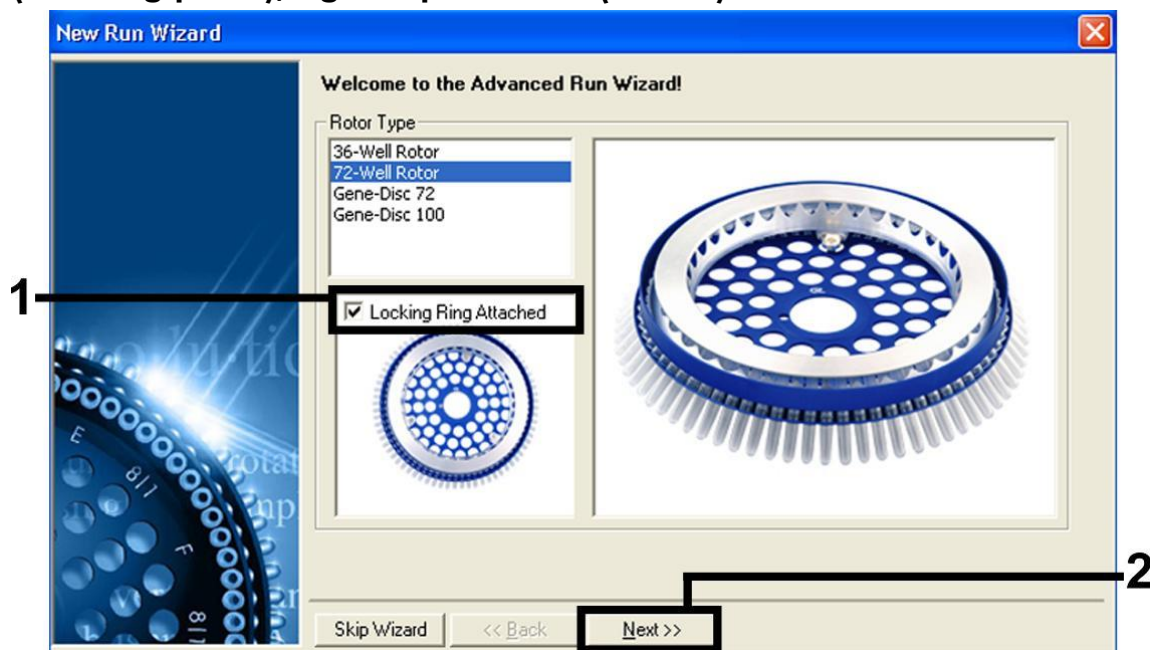
Antal prøver	1	12
Master-blanding	30 µl	30 µl hver
Prøve	20 µl	20 µl hver
Totalt volumen	50 µl	50 µl hver

4. Luk PCR-rørene. Sørg for, at låseringen (tilbehør til Rotor-Gene-instrumentet) er placeret oven på rotoren for at forebygge utilsigtet åbning af rørene under kørslen.
5. For detektion af CMV-DNA oprettes en temperaturprofil i henhold til de følgende trin.

Indstilling af generelle analyseparametre	Figur 1, 2, 3
Indledende aktivering af hot-start enzymet	Figur 4
Amplifikation af DNA'et (touchdown PCR)	Figur 5
Justering af fluorescenskanalens følsomhed	Figur 6
Start af kørsel	Figur 7

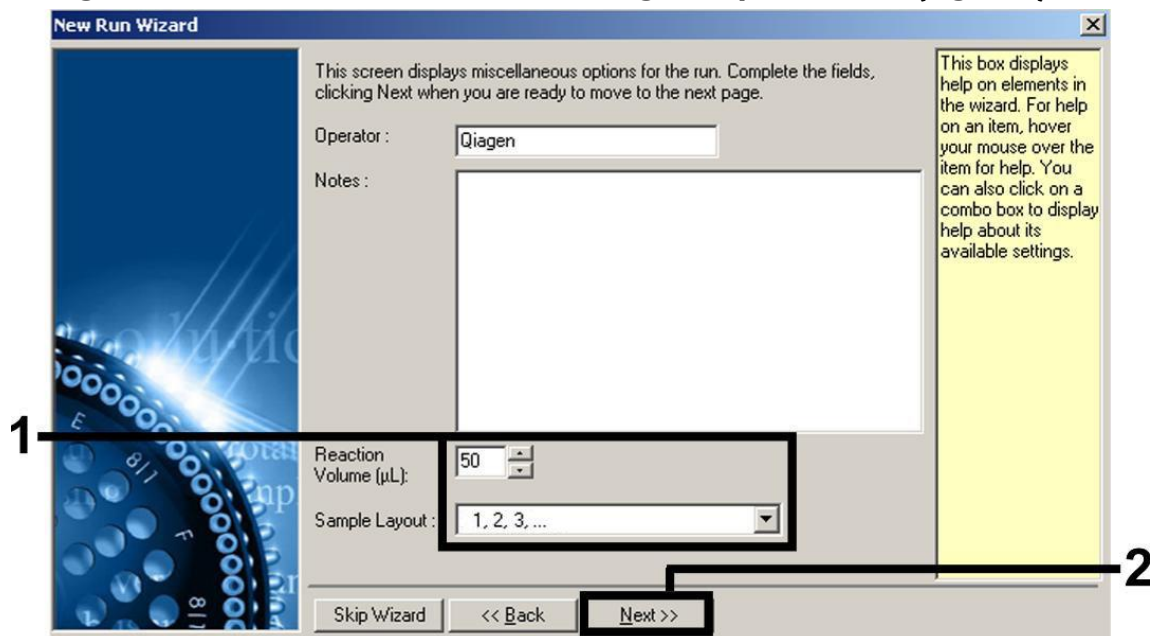
Alle specifikationer henviser til Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q softwareversion 1.7.94 (Rotor-Gene 6000 softwareversion 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94, Rotor-Gene 3000 softwareversion 6.0.23). Yderligere oplysninger om programmering af Rotor-Gene Q-instrumenter kan ses i instrumentets brugervejledning. I illustrationerne er disse illustrationer indrammet med en fed, sort streg. Der er illustrationer til Rotor-Gene Q-instrumenter. Når der skal anvendes andre værdier til Rotor-Gene 3000, er forskellene beskrevet i teksten.

6. Åbn først dialogboksen "New Run Wizard" (Hjælp til ny kørsel) (figur 1). Marker afkrydsningsfeltet "Locking Ring Attached" (Låsering påsat), og klik på "Next" (Næste).



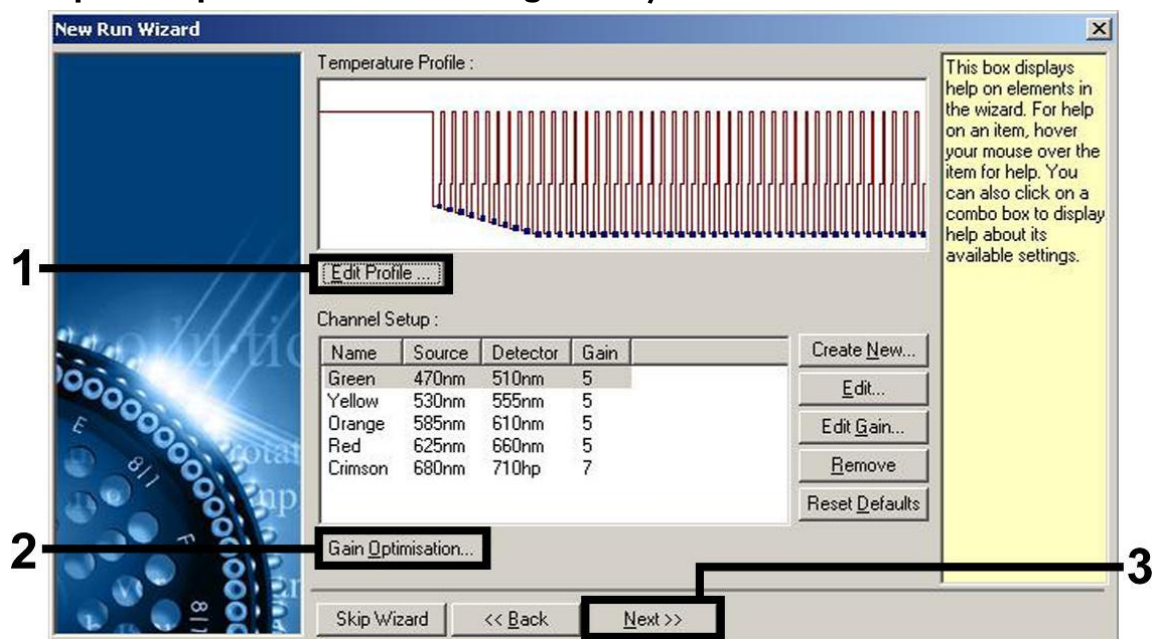
Figur 1. Dialogboksen "New Run Wizard".

7. Vælg 50 for PCR-reaktionsvolumen, og klik på "Next" (figur 2).

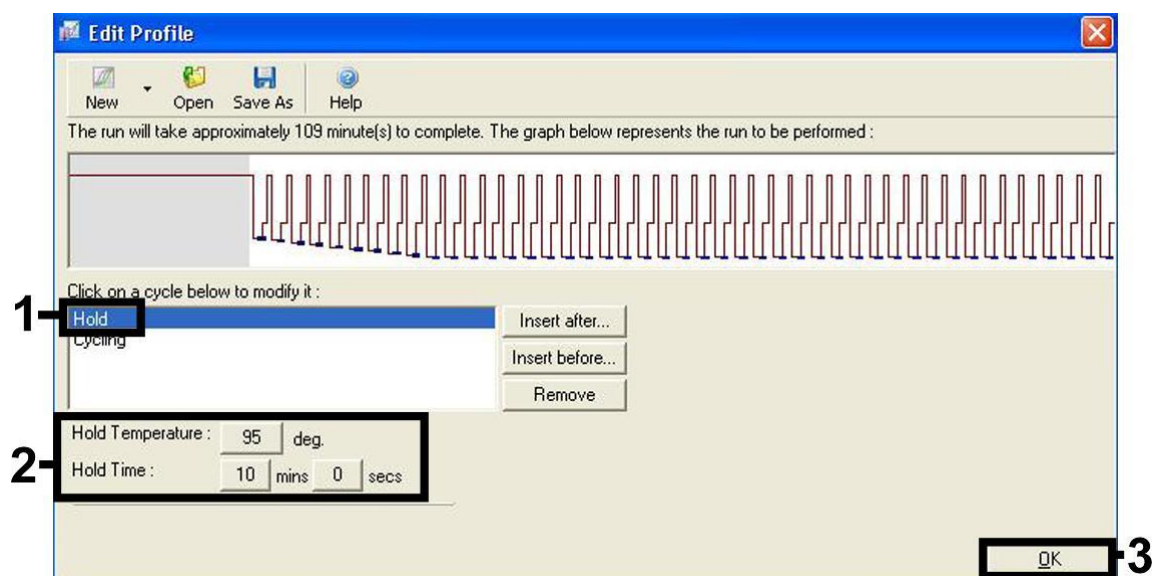


Figur 2. Indstilling af generelle analyseparametre.

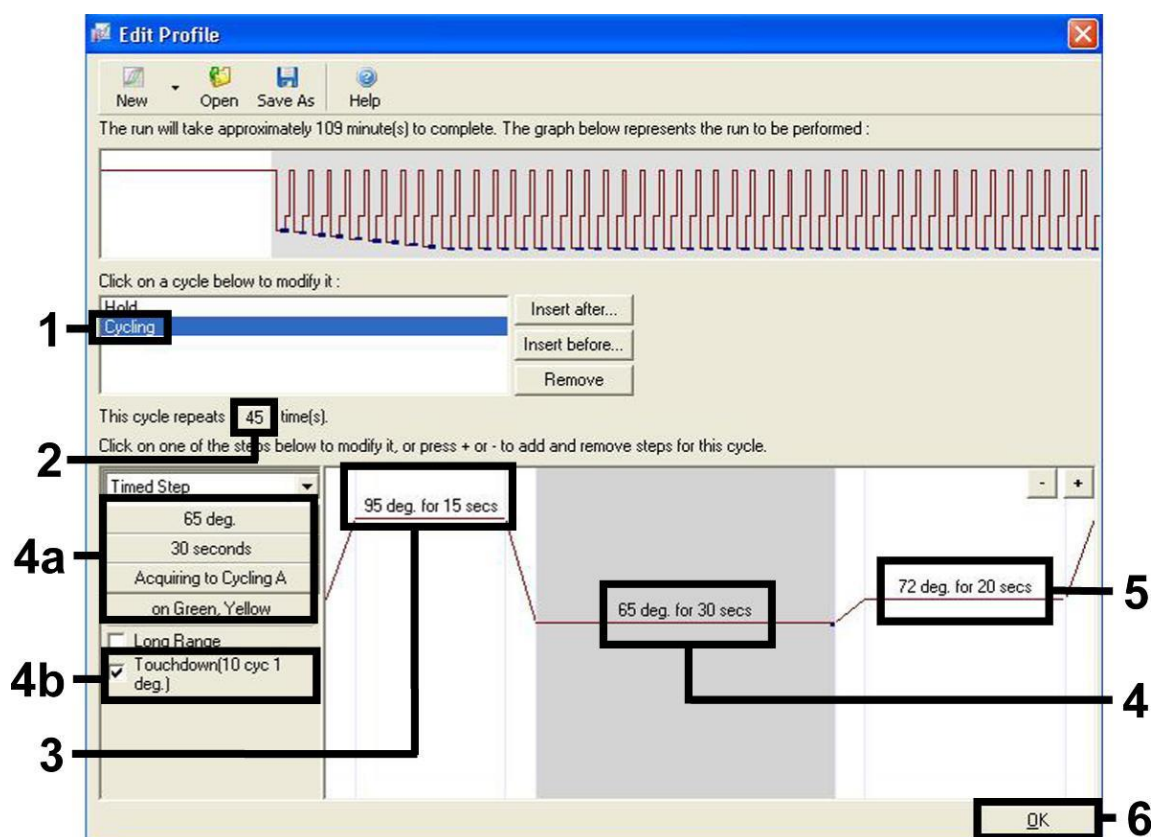
8. Klik på knappen "Edit Profile" (Rediger profil) i den næste dialogboks "New Run Wizard" (figur 3) og programmer temperaturprofilen som vist i figur 3-5).



Figur 3. Redigering af profilen.

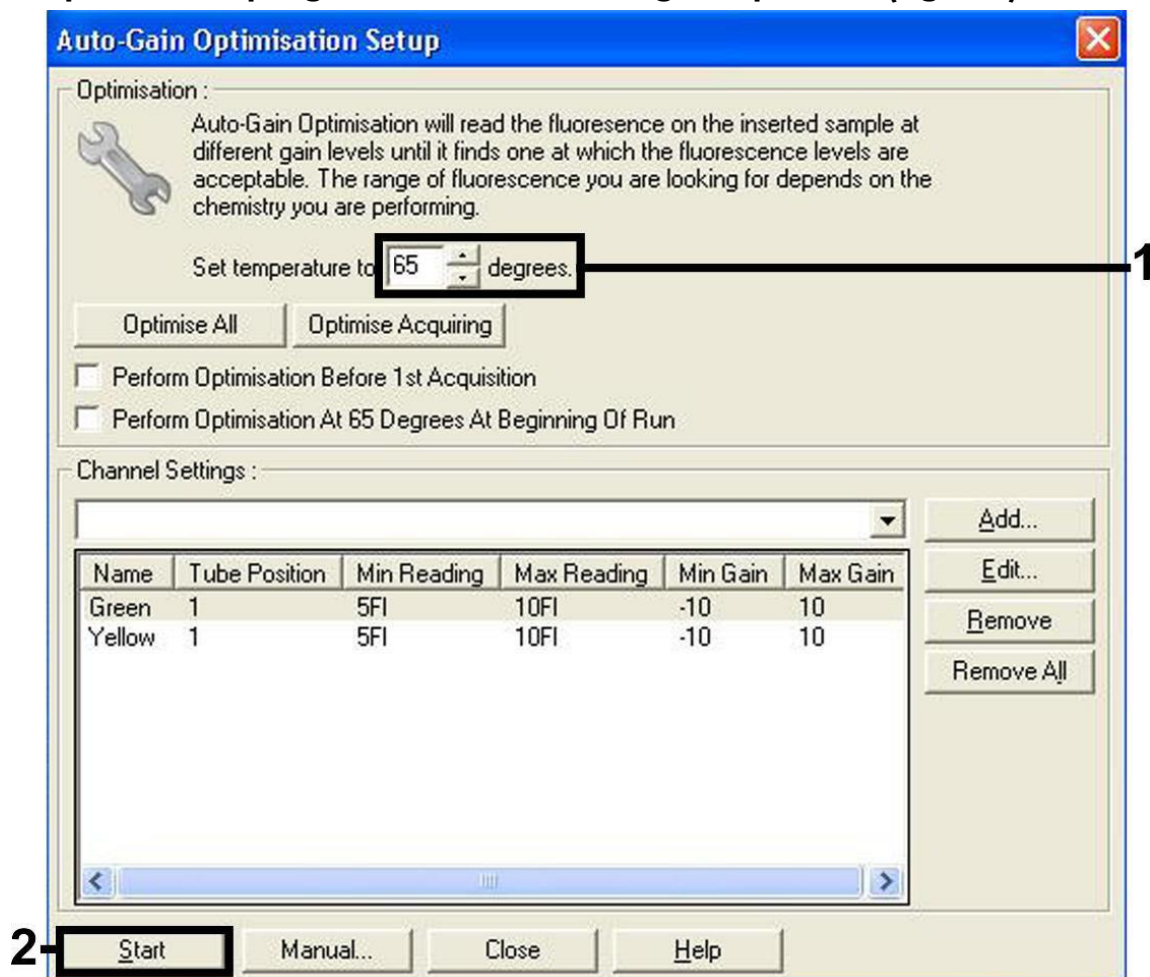


Figur 4. Indledende aktivering af hot-start-enzymet.



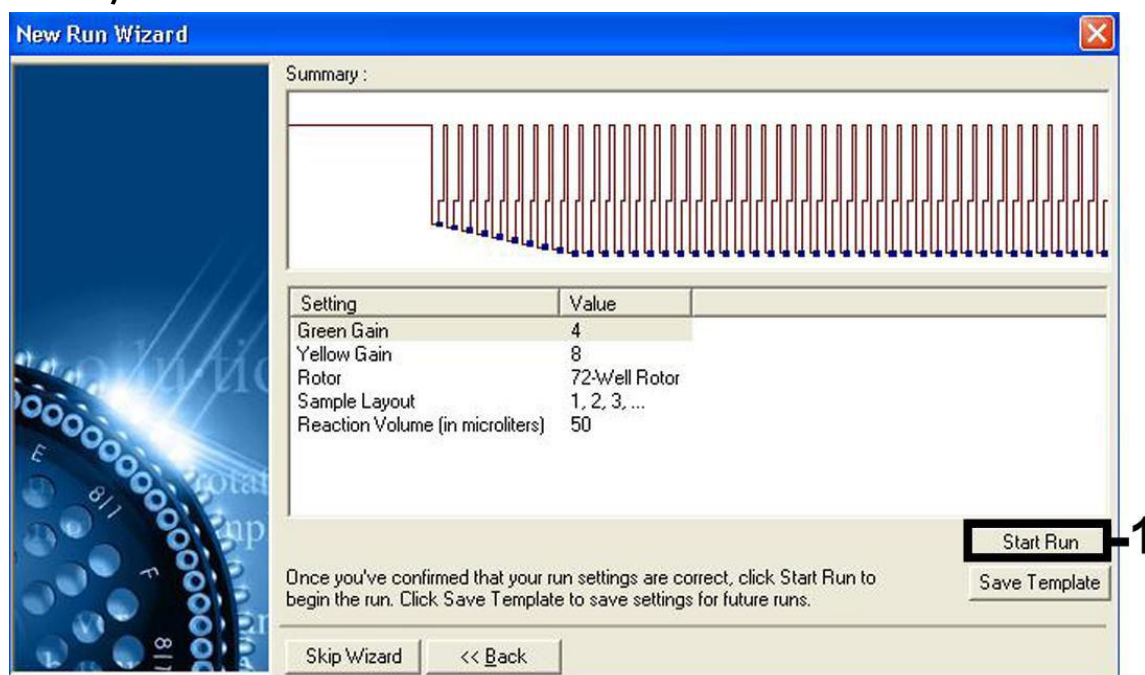
Figur 5. Amplifikation af DNA'et. Sørg for at aktivere touchdown-funktionen for 10 cyklusser i hærkningstrinnet. Bemærk, at softwaren på Rotor-Gene 3000 vil definere fluorescensfarver som "FAM/Sybr, JOE".

9. Detektionsområdet for fluorescenskanalerne skal bestemmes i henhold til fluorescensintensiteterne i PCR-rørene. Klik på "Gain-Optimisation" (Gain-optimering) i dialogboksen "New Run Wizard" (se figur 3) for at åbne dialogboksen "Auto-Gain Optimisation Setup" (Opsætning af automatisk gain-optimering). Indstil kalibreringstemperaturen til 65 for at matche amplifikationsprogrammets afhærdningstemperatur (figur 6).



Figur 6. Justering af fluorescenskanalens følsomhed. Bemærk, at softwaren på Rotor-Gene 3000 vil definere fluorescensfarver som "FAM/Sybr" og "JOE".

10. Gain-værdierne, der bestemmes af kanalkalibreringen, gemmes automatisk og angives i det sidste menuvindue i programmeringsproceduren (figur 7). Klik på "Start Run" (Start kørsel).



Figur 7. Start kørslen. Bemærk, at softwaren på Rotor-Gene 3000 vil definere fluorescensfarver som "FAM/Sybr" og "JOE".

Fortolkning af resultater

Kvantificering

De vedlagte kvantiteringsstandarde (CMV RG QS 1–4) behandles som en allerede oprenset prøve og anvendes i samme volumen (20 µl). For at generere en standardkurve på Rotor-Gene Q-instrumenter bør alle 4 kvantiteringsstandarde bruges og defineres i dialogboksen "Edit Samples" (Rediger prøver) som standarder med de specificerede koncentrationer (se instrumentets brugervejledning).

Note: For at sikre præcis kvantitering anbefales det at tilsætte den interne kontrol til CMV RG Master og CMV Mg-Sol. der bruges til kvantiteringsstandarde. Til denne anvendelse tilsættes den interne kontrol direkte til CMV RG Master og CMV Mg-Sol som beskrevet i trin 2b i protokollen (side 16). Brug denne master-blanding til hver kvantiteringsstandard (CMV QS 1–4).

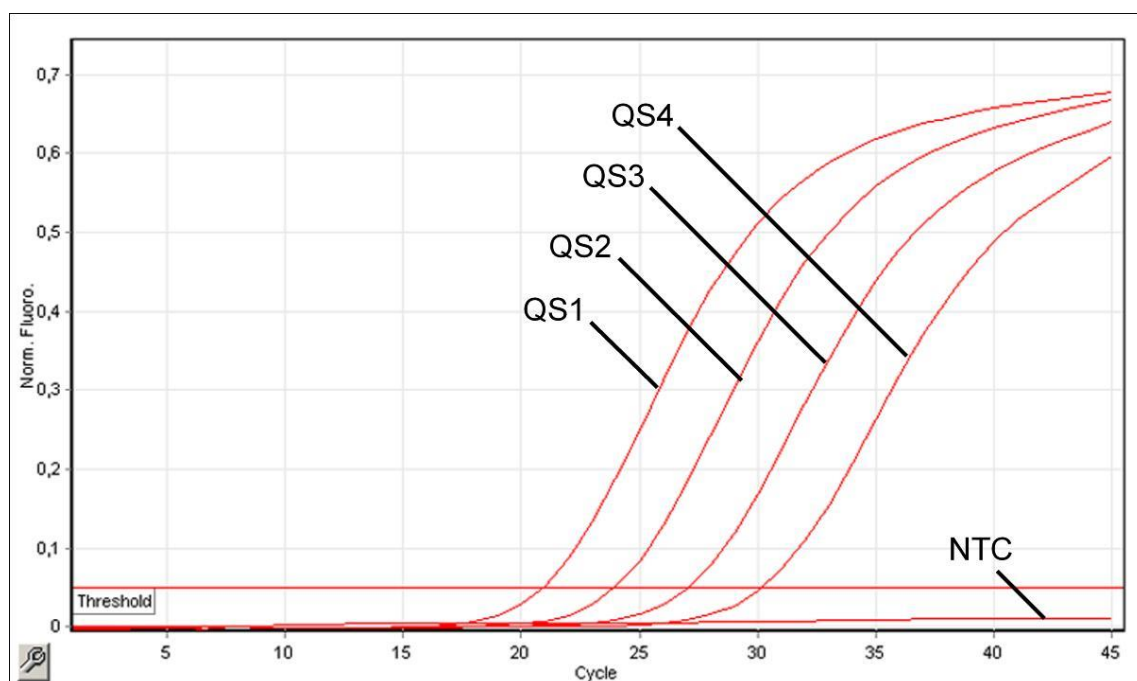
Note: Kvantiteringsstandarde defineres som kopier/µl. Følgende formel skal anvendes til at omregne de værdier, som er bestemt ved hjælp af standardkurven, til kopier/ml prøvemateriale:

$$\text{Resultat (kopier/ml)} = \frac{\text{Resultat (kopier/}\mu\text{l)} \times \text{elueringsvolumen (}\mu\text{l)}}{\text{Prøvevolumen (ml)}}$$

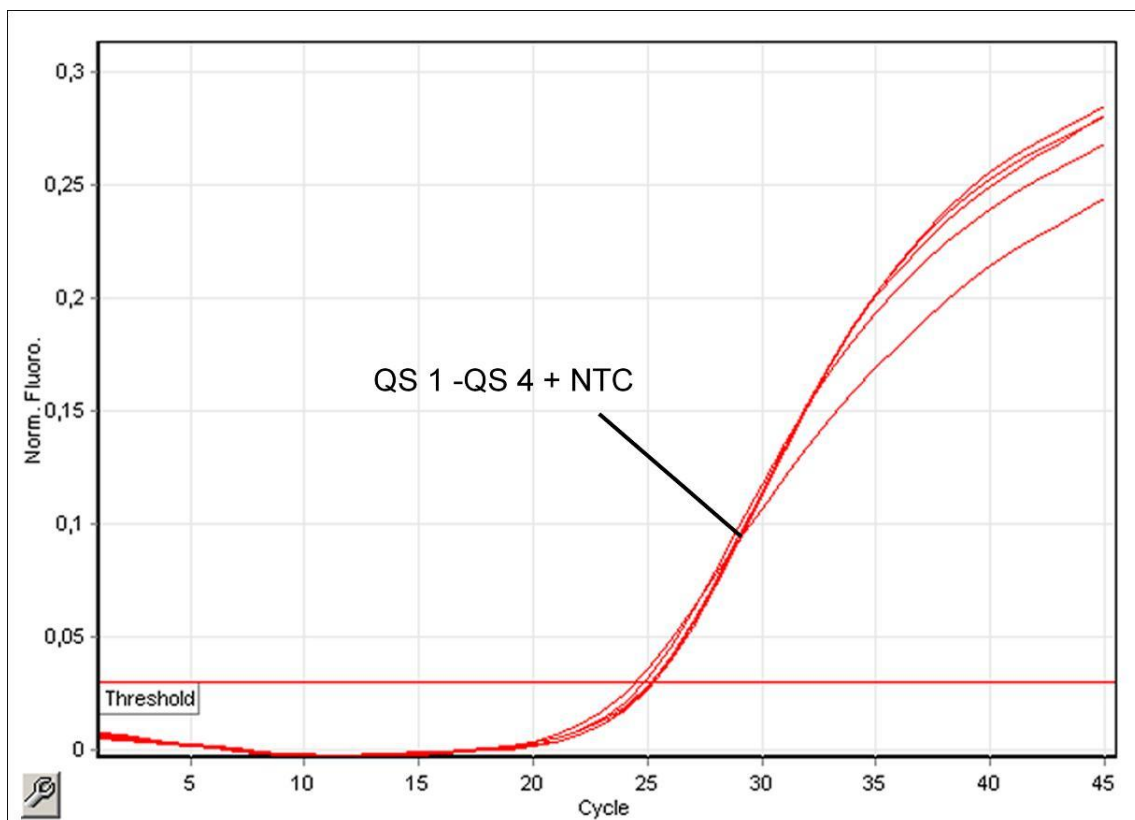
Det initiale prøvevolumen skal altid indsættes i ovenstående formel. Det skal tages i betragtning, når prøvevolumen ændres før nukleinsyreekstraktionen (f.eks. reduktion af volumen ved centrifugering eller øgning af volumen ved at tilsætte det nødvendige volumen til isolationen).

Resultater

Eksempler på positive og negative PCR-reaktioner er givet i figur 8 og figur 9.



Figur 8. Detektion af kvantiteringsstandarderne (CMV RG QS 1–4) i fluorescenskanalen Cycling Green. NTC: Ingen skabelonkontrol (negativ kontrol).



Figur 9. Detektion af den interne kontrol (IC) i fluorescenskanalen Cycling Yellow med samtidig amplifikation af kvantiteringsstandarderne (CMV RG QS 1-4). NTC: Ingen skabelonkontrol (negativ kontrol).

**Der er detekteret et signal i fluorescenskanalen Cycling Green.
Analysens resultat er positivt: prøven indeholder CMV-DNA.**

I så tilfælde er detektion af et signal i kanalen Cycling Yellow unødvendigt, idet høje initiale koncentrationer af CMV-DNA (positivt signal i Cycling Green-kanalen) kan medføre reduceret eller manglende fluorescenssignal af den interne kontrol i Cycling Yellow-kanalen (konkurrence).

Note: De relevante kanaler på Rotor-Gene 3000 er Cycling A.FAM for det positive signal og Cycling A.JOE for den interne kontrol.

**Der er ikke detekteret noget signal i fluorescenskanalen Cycling Green.
Samtidig vises et signal fra den interne kontrol i Cycling Yellow-kanalen.
Intet CMV-DNA kan detekteres i prøven. Den kan således betragtes som negativ.**

I tilfælde af en negativ CMV PCR udelukker det detekterede signal af den interne kontrol muligheden for PCR-hæmning.

Note: De relevante kanaler på Rotor-Gene 3000 er Cycling A.JOE for den interne kontrol og intet signal for Cycling A.FAM.

Intet signal detekteret i Cycling Green eller Cycling Yellow-kanalerne. Der kan ikke udledes noget resultat.

Information vedrørende fejlkilder og deres løsning kan findes i Fejlfindingsvejledning herunder.

Note: De relevante kanaler på Rotor-Gene 3000 er Cycling A.FAM og Cycling A.JOE.

Fejlfindingsvejledning

I denne fejlfindingsvejledning kan der findes brugbare henvisninger, som kan hjælpe ved løsningen af eventuelle problemer. Der findes desuden flere informationer på siden "Frequently Asked Questions" [Hyppigt stillede spørgsmål] hos vores tekniske supportcenter:

www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Derudover svarer personalet fra QIAGENs tekniske service gerne på spørgsmål vedrørende informationen og protokollerne i denne håndbog eller prøve- og analyseteknologier (kontaktinformation: se bagsiden, eller besøg www.qiagen.com).

Kommentarer og forslag

Intet signal ved positive kontroller (CMV QS 1-4) i fluorescenskanalen Cycling Green eller Cycling A.FAM

- | | |
|---|---|
| a) Den valgte fluorescenskanal for PCR-dataanalyse stemmer ikke overens med protokollen | Ved dataanalyse vælges fluorescenskanalen Cycling Green eller Cycling A.FAM til analytisk CMV PCR og fluorescenskanalen Cycling Yellow eller Cycling A.JOE til den interne kontrol PCR. |
| b) Ukorrekt programmering af temperaturprofilen for Rotor-Gene-instrumentet | Sammenlign temperaturprofilen med protokollen. Se " Protokol: PCR og dataanalyse ", side 15. |
| c) Ukorrekt konfiguration af PCR | Kontrollér dine arbejdsrin ved hjælp af pipetteringsskemaet, og gentag PCR'en, hvis det er nødvendigt. Se " Protokol: PCR og dataanalyse ", side 15. |

Kommentarer og forslag

- | | |
|--|--|
| d) Opbevaringsbetingelserne for en eller flere kitkomponenter var ikke i overensstemmelse med de instruktioner, der er angivet i " Opbevaring og håndtering af reagenser ", (side 10) | Kontrollér opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit. |
| e) <i>artus</i> CMV RG PCR-kittet er udløbet | Kontrollér opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit. |

Svagt eller intet signal fra den interne kontrol af en negativ plasmaprøve underkastet oprensning med QIAamp DSP Virus-kit ($C_T = 27 \pm 3$, tærskel, 0,03) i fluorescenskanalen Cycling Yellow eller Cycling A.JOE og samtidigt fravær af signal i kanalen Cycling Green eller Cycling A.FAM

- | | |
|--|---|
| a) PCR-betingelserne stemmer ikke overens med protokollen | Kontrollér PCR-betingelserne (se ovenfor), og gentag om nødvendigt PCR med korrigerede indstillinger. |
| b) PCR blev hæmmet | Sørg for at bruge den anbefalede isoleringsmetode, og følg producentens vejledning nøje. |
| c) DNA gik tabt under ekstraktionen | Hvis den interne kontrol er tilsat til ekstraktionen, kan et manglende signal fra den interne kontrol være tegn på tab af DNA under ekstraktionen. Sørg for at bruge den anbefalede isoleringsmetode (se "DNA-isolering", side 13), og følg producentens vejledning nøje. |
| d) Opbevaringsbetingelserne for en eller flere kitkomponenter var ikke i overensstemmelse med de instruktioner, der er angivet i " Opbevaring og håndtering af reagenser ", (side 10) | Kontrollér opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit. |

Kommentarer og forslag

- | | |
|--|--|
| e) <i>artus</i> CMV RG PCR-kittet er udløbet | Kontrollér opbevaringsbetingelserne og reagensernes udløbsdato (se kitmærkaten), og brug om nødvendigt et nyt kit. |
|--|--|

Signaler med de negative kontroller i fluorescenskanalen *Cycling Green* eller *Cycling A.FAM* eller i den analytiske PCR

- | | |
|--|--|
| a) Kontamination under klargøring af PCR | <p>Gentag PCR med de nye reagenser i replika.</p> <p>Luk om muligt PCR-rørene umiddelbart efter tilsætning af den prøve, der skal testes.</p> <p>Positiv-kontrollerne skal pipetteres til sidst.</p> <p>Sørg for, at arbejdspladsen og instrumenterne dekontamineres jævnligt.</p> |
| b) Der forekom kontamination under ekstraktion | <p>Gentag ekstraktion og PCR for den prøve, der skal testes, med nye reagenser.</p> <p>Sørg for, at arbejdspladsen og instrumenterne dekontamineres jævnligt.</p> |

Kvalitetskontrol

I overensstemmelse med QIAGENs ISO-certificerede kvalitetsstyringssystem testes hvert lot af *artus* CMV RG PCR-kit efter fastlagte specifikationer for at sikre en ensartet produktkvalitet.

Begrænsninger

Alle reagenser kan kun anvendes til in vitro-diagnostik.

Produktet må kun anvendes af personale, som er specielt instrueret og uddannet i in vitro-diagnostiske procedurer.

Det er absolut nødvendigt, at protokollen overholdes nøje, for at opnå optimale PCR-resultater.

Bemærk nøje udløbsdatoerne, der er trykt på æsken og etiketterne til alle komponenter. Brug aldrig for gamle komponenter.

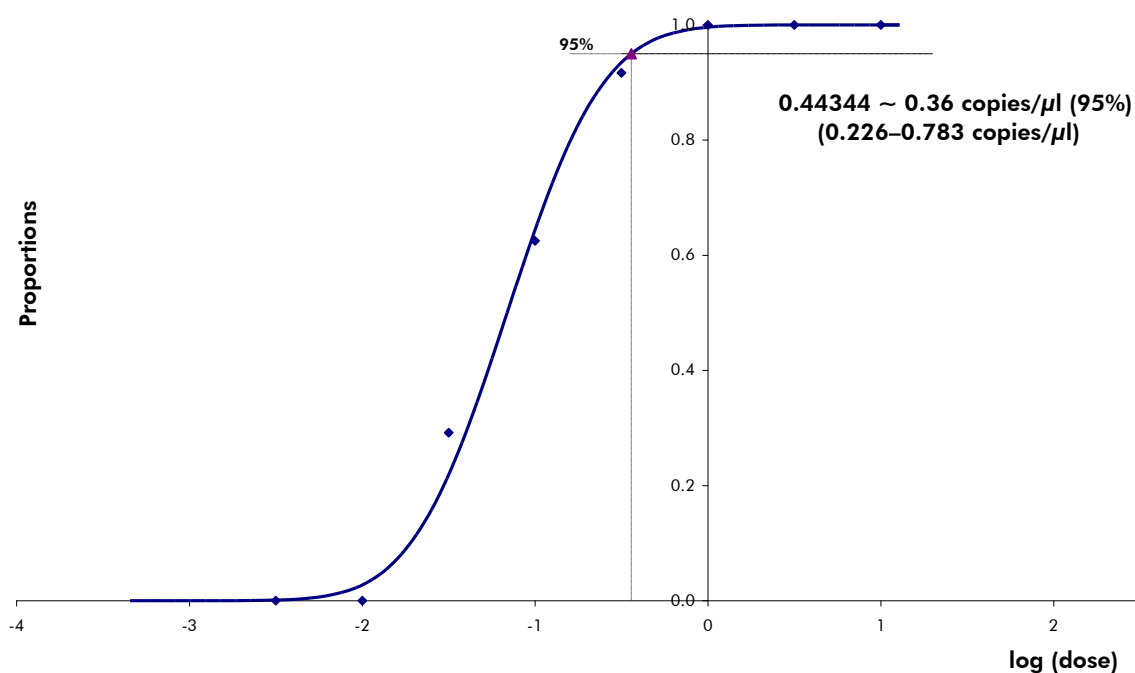
Selv om det er sjældent, kan mutationer i de stærkt konserverede områder af det virale genom, der dækkes af kittets primere og/eller probe, resultere i underkvantitering eller manglende evne til at detektere tilstedeværelsen af virusset i disse tilfælde. Analysedesignets gyldighed og ydeevne revideres med jævne mellemrum.

Ydelsesegenskaber

Analysefølsomhed

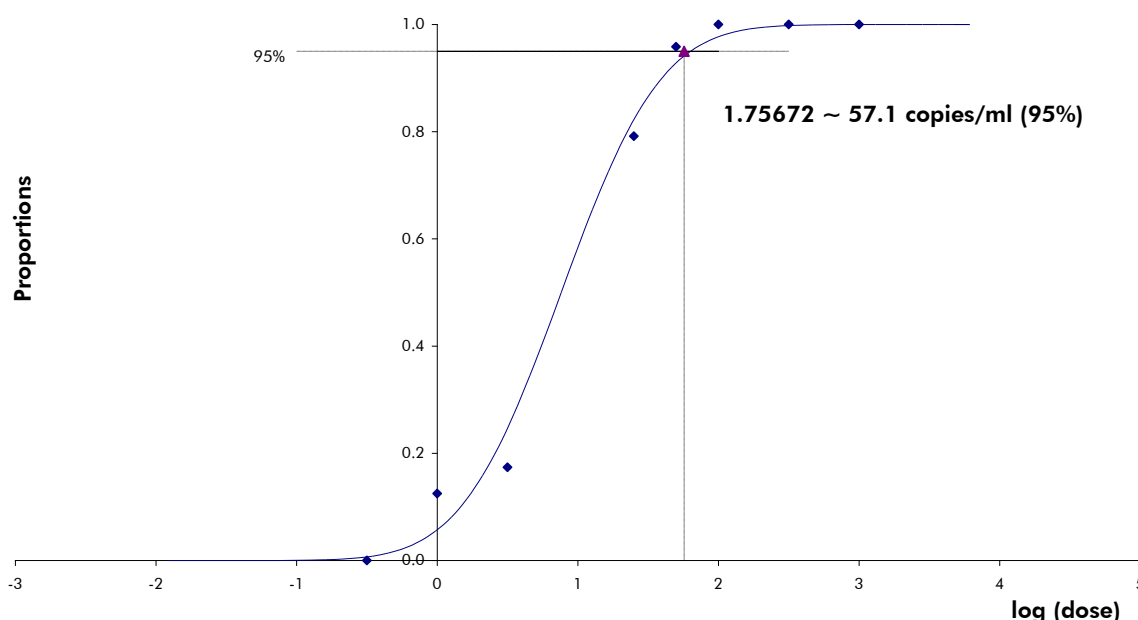
For valideringen af *artus* CMV RG PCR-kittet blev både den analytiske detektionsgrænse og den analytiske detektionsgrænse med hensyn til oprensningen (sensitivitetsgrænser) bestemt. Den analytiske detektionsgrænse med hensyn til oprensningen blev bestemt ved hjælp af CMV-positive kliniske prøver med hensyn til den benyttede oprensningsmetode. I modsætning hertil bestemmes den analytiske detektionsgrænse uafhængigt af den valgte ekstraktionsmetode med anvendelse af et CMV-DNA med en kendt koncentration.

Til bestemmelsen af den analytiske sensitivitet for *artus* CMV RG PCR-kittet blev der udarbejdet en fortyndingsrække af 10 til nominelt 0,00316 kopier/ μ l. Denne blev derefter analyseret ved hjælp af *artus* CMV RG PCR-kittet på Rotor-Gene-instrumenter. Testene blev gennemført på 3 forskellige dage med 8 replika. Resultatet blev udarbejdet ved hjælp af en probitanalyse. En grafisk illustration af probitanalysen på Rotor-Gene 6000 er vist i figur 10. Den analytiske detektionsgrænse for *artus* CMV RG PCR-kittet i kombination med Rotor-Gene Q MDx/Q/6000 og Rotor-Gene 3000 er henholdsvis 0,36 kopier/ μ l ($p = 0,05$) og 0,24 kopier/ μ l ($p = 0,05$). Det vil sige, at der er 95 % sandsynlighed for, at 0,36 kopier/ μ l eller 0,24 kopier/ μ l vil blive detekteret.



Figur 10. Probitanalyse: CMV (Rotor-Gene 6000). Analytisk sensitivitet for *artus* CMV RG PCR-kittet på Rotor-Gene 6000.

Analysefølsomheden med hensyn til oprensningen (QIAamp DSP Virus Kit) af *artus* CMV RG RGQ-kittet blev bestemt ved hjælp af en fortyndingsserie af CMV-virusmateriale fra 1000 til nominelt 0,316 CMV-kopier/ml tilsat i kliniske plasmaprøver. Disse blev underkastet en DNA-oprensning med QIAamp DSP Virus Kit (ekstraktionsvolumen: 0,5 ml, eleringsvolumen: 60 µl). Hver af de 8 fortyndinger blev analyseret med *artus* CMV RG PCR-kittet på 3 forskellige dage med hver 8 replika. Resultaterne blev bestemt med en probitanalyse. En grafisk illustration af probitanalysen er vist i figur 11. Den analytiske detektionsgrænse med hensyn til oprensningen af *artus* CMV RG PCR-kittet i kombination med Rotor-Gene 3000 er 57,1 IU/ml ($p = 0,05$). Det vil sige, at der er 95 % sandsynlighed for, at 57,1 kopier/ml vil blive detekteret.



Figur 11. Probitanalyse: CMV (Rotor-Gene 3000). Analytisk sensitivitet med hensyn til oprensningen (QIAamp DSP Virus-kit, QIAGEN) for *artus* CMV RG PCR-kittet på Rotor-Gene 3000.

Analytisk sensitivitet med hensyn til oprensningen med EZ1 DSP Virus-kittet (ekstraktionsvolumen: 0,4 ml, eleringsvolumen: 60 µl) ved hjælp af EZ1 Advanced XL-instrumentet i *artus* CMV RG PCR-kittet på Rotor-Gene 6000 er 68,75 kopier/ml ($p = 0,05$). Det vil sige, at der er 95 % sandsynlighed for, at 68,75 kopier/ml vil blive detekteret.

Specificitet

Specificiteten for *artus* CMV RG PCR-kittet sikres først og fremmest gennem udvalget af primere og prober samt ved valget af stringente reaktionsbetingelser. Primere og prober blev kontrolleret for mulige homologier med alle sekvenser, der er publiceret i genbanker, med

sekvenssammenligningsanalyse. Detekterbarheden for alle relevante stammer er således blevet sikret.

Desuden blev specificiteten valideret med 100 forskellige CMV-negative plasmaprøver. Disse genererede ikke nogen signaler med CMV-specifikke primere og prober, som indgår i CMV RG Master.

En potentiel krydsreaktivitet i *artus* CMV RG PCR-kittet blev testet med den kontrolgruppe, der er angivet i tabel 5 (side 31). Ingen af de testede patogener har været reaktive. Der viste sig ingen krydsreaktiviteter ved blandede infektioner.

Tabel 5. Testning af kittets specificitet med potentielt krydsreaktive patogener

Kontrolgruppe	CMV (Cycling Green eller Cycling A.FAM)	Intern kontrol (Cycling Yellow eller A. JOE)
Humant herpesvirus 1 (Herpes-simplex-virus 1)	–	+
Humant herpesvirus 2 (Herpes-simplex-virus 2)	–	+
Humant herpesvirus 3 (Varizella-zoster-virus)	–	+
Humant herpesvirus 4 (Epstein-Barr-virus)	–	+
Humant herpesvirus 6A	–	+
Humant herpesvirus 6B	–	+
Humant herpesvirus 7	–	+
Humant herpesvirus 8 (herpesvirus forbundet med Kaposi sarkom)	–	+
Hepatitis A-virus	–	+
Hepatitis B-virus	–	+
Hepatitis C-virus	–	+
Humant immundefektvirus 1	–	+
Human T-celleleukæmi-virus 1	–	+
Human T-celleleukæmi-virus 2	–	+
West Nile-virus	–	+
Enterovirus	–	+
Parvovirus B19	–	+

Præcision

Præcisionsdata for *artus* CMV RG PCR-kittet er indsamlet ved hjælp af Rotor-Gene instrumenter og tillader bestemmelsen af totalvariansen for testsystemet. Den totale varians består af variabilitet inden for analysen (variabiliteten af flere resultater af prøver med samme koncentration inden for et eksperiment), variabiliteten mellem prøverne (variabiliteten af flere resultater af analysen genereret på forskellige instrumenter af samme type af forskellige operatører inden for et laboratorium) og variabiliteten mellem batches (variabiliteten af flere resultater af analysen ved brug af forskellige batches). De opnåede data blev brugt til at bestemme standardafvigelsen, variansen og variationskoefficienten for den patogenspecifikke og den interne kontrol-PCR.

Disse præcisionsdata blev bestemt for *artus* CMV RG PCR-kittet på baggrund af kvantiteringsstandarden med den laveste koncentration (QS 4; 10 kopier/ μ l). Testene blev foretaget med 8 replika. Præcisionsdata blev beregnet på basis af C_T -værdierne af amplifikationskurverne (C_T : tærskelcyklus, se tabel 6, side 33). Desuden blev præcisionsdata for kvantitative resultater i kopier/ μ l beregnet ved hjælp af de tilsvarende C_T -værdier (se tabel 7, side 34). Baseret på disse resultater er den samlede statistiske spredning af enhver given prøve med den nævnte koncentration 1,21% (C_T) eller 14,38% (koncentration) og 1,93% (C_T) for detektion af den interne kontrol. Disse værdier er baseret på den samlede mængde af alle enkelte værdier for de bestemte variabiliteter.

Robusthed

Kontrol af robustheden bruges til bestemmelsen af den samlede udskillelsesrate for *artus* CMV RG PCR Kit. Hertil blev benyttet 100 CMV negative plasmaprøver blandet med CMV-DNA ved en endelig koncentration af 170 kopier/ml (ca. tredobbelt koncentration af den analytiske sensitivitetsgrænse). Efter oprensningen med QIAamp DSP Virus Kit blev disse prøver analyseret med *artus* CMV RG PCR-kittet. Fejlraten udgjorde for alle CMV-prøver 0%. Robustheden af den interne kontrol blev yderligere kontrolleret gennem oprensning og analyse af 100 CMV-negative plasmaprøver. Dermed er robustheden for *artus* CMV RG PCR-kittet ≥ 99 %.

Reproducerbarhed

Dataene for reproducerbarheden registreres for at kunne foretage en regelmæssig vurdering af effekten af *artus* CMV RG PCR-kittet samt for en sammenligning med effekten af andre produkter. Disse data indhentes ved deltagelse i standardiserede præstationsprogrammer.

Tabel 6. Præcisionsdata på basis af C_T-værdierne

	Standardafvigelse	Varians	Variationskoefficient (%)
Variabilitet inden for analysen: CMV QS 4	0,17	0,03	0,57
Variabilitet inden for analysen: Intern kontrol	0,31	0,10	1,16
Variabilitet mellem analyser: CMV QS 4	0,38	0,14	1,27
Variabilitet mellem analyser: Intern kontrol	0,47	0,22	1,77
Variabilitet mellem batches: CMV QS 4	0,33	0,11	1,10
Variabilitet mellem batches: Intern kontrol	0,53	0,28	2,02
Total varians: CMV QS 4	0,36	0,13	1,21
Total varians: Intern kontrol	0,51	0,26	1,93

Tabel 7. Præcisionsdata på basis af de kvantitative resultater (i kopier/ μ l)

	Standardafvigelse	Varians	Variationskoefficient (%)
Variabilitet inden for analysen: CMV QS 4	1,34	1,80	13,30
Variabilitet mellem analyser: CMV QS 4	1,54	2,38	15,25
Variabilitet mellem batches: CMV QS 4	1,46	2,12	14,41
Total varians: CMV QS 4	1,45	2,11	14,38

Diagnostisk evaluering

artus CMV RG PCR-kittet blev vurderet i et studie. Ved sammenligning af *artus* CMV RG PCR-kittet med COBAS® AMPLICOR® CMV MONITOR® Test blev 156 kliniske EDTA-plasmaprøver analyseret retrospektivt og prospektivt. Alle prøver var tidligere blevet analyseret positive eller negative ved hjælp af COBAS AMPLICOR CMV MONITOR til rutinediagnosticering.

CMV-DNA'et til test af *artus* CMV RG PCR-kittet blev isoleret ved hjælp af QIAamp DSP Virus-kittet, idet den interne kontrol i *artus* CMV RG PCR-kittet blev tilsat isoleringen, og analysen blev udført på Rotor-Gene 3000. Prøverne til COBAS AMPLICORCMV MONITOR Test blev behandlet og analyseret ifølge producentens anvisninger i indlægssedlen.

Alle 11 prøver, der blev testet positive med COBAS AMPLICORCMV MONITOR Test, blev også testet positive med *artus* CMV RG PCR-kittet. 123 af 145 prøver, der blev testet negative med COBAS AMPLICORCMV MONITOR Test, blev også testet negative med *artus* CMV RG PCR-kittet. Der blev opnået 22 diskrepante resultater (tabel 8).

Tabel 8. Resultater af det sammenlignende valideringsstudie.

		COBAS AMPLICORCMV MONITOR Test		
		+	–	Samlet
artus CMV RG PCR-kit	+	11	22	33
	–	0	123	123

Hvis resultaterne af COBAS AMPLICOR CMV MONITOR-testen bruges som reference, er den diagnostiske følsomhed for alle prøver i *artus* CMV RG PCR-kittet 100 %, og den diagnostiske specificitet er 84,8 %.

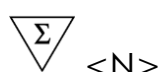
Yderligere test af de 22 diskrepante prøver bekræftede resultaterne af *artus* PCR-kittene. Det kan derfor antages, at diskrepansen er betinget af den højere sensitivitet af *artus* CMV RG PCR-kittet.

Referencer

QIAGEN vedligeholder en stor, ajourført onlinedatabase med videnskabelige publikationer, hvor QIAGENS produkter er anvendt. De avancerede søgefunktioner gør det muligt at finde de artikler, du har brug for, enten med en simpel nøgleordssøgning eller ved at angive applikation, forskningsområde, titel osv.

En fuldstændig referenceliste kan fås ved at besøge QIAGENS referencedatabase online på www.qiagen.com/RefDB/search.asp eller kontakte QIAGENS tekniske service eller den lokale forhandler.

Symbols



Indeholder tilstrækkelige reagenser til <N> tests



Anvendes inden



In vitro-diagnostisk medicinsk produkt



Katalognummer



Lot-nummer



Materialenummer



Komponenter



Indeholder



Nummer



Globalt handelsvarenummer



Temperaturbegrænsning



Producent



Læs brugsvejledningen

Kontaktoplysninger

For teknisk bistand og yderligere information henvises til vores tekniske supportcenter på www.qiagen.com/Support, eller du kan henvende dig til en af QIAGENs tekniske serviceafdelinger eller lokale forhandlere (se bagsiden eller besøg www.qiagen.com).

Bestillingsinformation

Produkt	Indhold	Kat. nr.
<i>artus</i> CMV RG PCR-kit (24)	Til 24 reaktioner: Master, magnesiumopløsning, 4 kvantiteringsstandarde, intern kontrol, vand (PCR-kvalitet)	4503263
<i>artus</i> CMV RG PCR-kit (96)	Til 96 reaktioner: Master, magnesiumopløsning, 4 kvantiteringsstandarde, intern kontrol, vand (PCR-kvalitet)	4503265
EZ1 DSP Virus-kit – til automatiseret, samtidig oprensning af viralt DNA og RNA fra 1–14 serum-, plasma- eller CSF-prøver		
EZ1 DSP Virus Kit (48)	Til 48 virale nukleinsyreklargøringer: Fyldte reagensbeholdere, engangs filterspidsholdere, engangs filterspidser, prøverør, elutionsrør, buffere, bærer-RNA	62724
QIAamp DSP Virus-kit — til oprensning af virale nukleinsyrer fra humant plasma til in vitro-diagnostiske formål		
QIAamp DSP Virus Kit	Til 50 klargøringer: QIAamp MinElute® spin-spalter, buffere, reagenser, spaltekstendere og VacConnectors	60704
EASYartus CMV RG PCR Kits – til fuldautomatisk viral oprensning af nukleinsyre ved hjælp af EZ1 DSP Virus-kittet, kombineret med patogendetektion ved hjælp af <i>artus</i> CMV RG PCR-kits		
EASYartus CMV RG PCR-kit 1	1 x EZ1 DSP Virus-kit, 1 x <i>artus</i> CMV RG PCR-kit	EA10323
EASYartus CMV RG PCR-kit 2	1 x EZ1 DSP Virus-kit, 2 x <i>artus</i> CMV RG PCR-kit	EA10324
Rotor-Gene Q MDx og tilbehør		

Produkt	Indhold	Kat. nr.
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Realtids-PCR-cycler med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet), bærbar computer, software, tilbehør: Inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn. Installation og uddannelse ikke inkluderet	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Realtids-PCR-cycler med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet), bærbar computer, software, tilbehør: Inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Realtids-PCR-cycler og højopløselig smelteanalysator med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør: Inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn. Installation og uddannelse ikke inkluderet	9002032
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Realtids-PCR-cycler og højopløselig smelteanalysator med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør: Inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Realtids-PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grøn, gul, orange, rød, violet), inkl. bærbar computer, software, tilbehør: Inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn. Installation og uddannelse ikke inkluderet	9002042
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Realtids-PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grøn, gul, orange, rød, violet), inkl. bærbar computer, software, tilbehør: Inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002043

Produkt	Indhold	Kat. nr.
Rotor-Gene Q MDx 2plex Platform	Realtids-PCR-cycler med 2 kanaler (grøn, gul), bærbar computer, software, tilbehør: inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9002002
Rotor-Gene Q MDx 2plex System	Realtids-PCR-cycler med 2 kanaler (grøn, gul), bærbar computer, software, tilbehør: inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002003
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM Platform	Realtids-PCR-cycler og Højopløselig smelteanalysator med 2 kanaler (grøn, gul) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør, inkluderer 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9002012
Rotor-Gene Q MDx 2plex HRM System	Realtids-PCR-cycler og Højopløselig smelteanalysator med 2 kanaler (grøn, gul) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør, inkluderer 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002013
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Aluminiumsblok til manuel opsætning af reaktion med en etkanalspipette i 72 x 0,1 ml rør	9018901
Loading Block 96 x 0,2 ml rør	Aluminiumsblok til manuel opsætning af reaktion i et standard 8 x 12-array med 96 x 0,2 ml rør	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 strips a 4 rør og hætter til 1000 reaktioner	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 strips a 4 rør og hætter til 10.000 reaktioner	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 tyndvæggede rør til 1000 reaktioner	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 tyndvæggede rør til 10.000 reaktioner	981008

For opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises til den aktuelle QIAGEN-kit-håndbog eller -brugervejledning. QIAGEN kit-håndbøger og brugervejledninger kan findes på www.qiagen.com eller kan rekvireres fra QIAGENs tekniske serviceafdeling eller den lokale leverandør.

Denne side skal være tom

Ved køb af dette produkt må køber anvende det til at udføre diagnostiske tjenester til human in vitro-diagnostik. Derved gives intet generelt patent eller nogen anden tilladelse af nogen art ud over denne specifikke brugsret.

Varemærker: QIAGEN®, QIAamp®, *artus*®, EASYartus®, EZ1®, MinElute®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); AMPLICOR®, COBAS®, MONITOR® (Roche Group); FAM™, JOE™ (Life Technologies); SYBR® (Molecular Probes, Inc.).

Aftale om begrænset licens

Brug af dette produkt betyder, at enhver køber eller bruger af *artus* CMV RG PCR-kittet accepterer følgende vilkår:

1. *artus* CMV RG PCR-kittet må kun bruges i overensstemmelse med *artus* CMV RG PCR-kit-håndbogen, og kun med de komponenter, der følger med kittet. QIAGEN giver ingen licens, under nogen intellektuel ejendomsret, til at bruge eller inkorporere komponenterne i dette kit med komponenter, der ikke er inkluderet i dette kit, undtagen som beskrevet i *artus* CMV RG PCR-kit-håndbogen og yderligere protokoller, som er tilgængelige på www.qiagen.com.
2. Ud over de udtrykkeligt givne licenser giver QIAGEN ingen garanti for, at dette kit og/eller brugen af det ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
3. Dette kit og dets komponenter er under licens til engangsbrug og må ikke genbruges, gendannes eller videresælges.
4. QIAGEN afviser specifikt alle andre licenser, udtrykte eller underforståede, end dem, der udtrykkeligt er angivet.
5. Køberen og brugeren af kittet indvilliger i ikke at tage, eller lade andre tage, skridt, der kunne føre til eller fremme handlinger, der forbydes ovenfor. QIAGEN kan håndhæve forbuddene i denne begrænsede licensaftale i enhver ret, og vil inddrive alle undersøgelses- og retsomkostninger, herunder advokatsalærer, i ethvert søgsmål for at håndhæve denne begrænsede licensaftale samt alle deres intellektuelle ejendomsrettigheder i forbindelse med kittet og/eller komponenterne deri.

For opdaterede licensbetingelser henvises der til www.qiagen.com.

© 2009-2014 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.

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)



Sample & Assay Technologies