

Art. Nr. / Order No. 24-2025/-2100/-2250

Onar[®]Ct

***Chlamydia trachomatis* Diagnostic Kit for qPCR**
version 2.0

Gebrauchsinformation / Instructions for Use

Reagenzien für 25/100/250 Reaktionen

Reagents for 25/100/250 reactions

Hersteller / Manufacturer:

Minerva Biolabs GmbH, Koepenicker Strasse 325, 12555 Berlin, Germany

ZUR IN VITRO DIAGNOSTIK

FOR IN VITRO DIAGNOSTIK USE



CELL CULTURE CONTAMINATION & QUALITY CONTROL
CLINICAL | WATER | VETERINARY DIAGNOSTICS
MYCOPLASMA | BACTERIA | VIRUSES



Symbole / Symbols



Zur in vitro Diagnostik / For in vitro diagnostic use



Ch.-Nr. / Lot No.



Art. Nr. / Order No.



Verfallsdatum / Expiry date



Lagerung bei / Store at



Enthält Reagenzien für 25, 100 oder 250 Bestimmungen
Contains reagents for 25, 100 or 250 tests



Hersteller / Manufacturer

ANWENDUNGSGEBIET

Dieses Kit dient der quantitativen Direktbestimmung von *Chlamydia trachomatis* in Urin, Ejakulaten sowie Augen-, Endozervikal- und Urethralabstrichen.

ERKLÄRUNG DES TESTS

Der direkte Nachweis von *Chlamydia trachomatis* ist innerhalb von 2-3 Stunden mit einer orientierenden Quantifizierung der Erregerlast in der Probe möglich. Das Testsystem liefert für die klinische Bewertung aussagekräftige Ergebnisse und erlaubt die präzise Verfolgung von Infektionsverläufen.

TESTPRINZIP

Der Test basiert auf dem Prinzip der Polymerase-Kettenreaktion. Die mitgelieferten Primer sind für das chromosomale *momp*-Gen (*major outer membrane protein*) von *Chlamydia trachomatis* spezifisch. Das Genom von *Chlamydia trachomatis* enthält nur eine Kopie des *momp*-Gens im Gegensatz zum *cryptic plasmid*, das von einigen Testverfahren zur Erreichung der notwendigen Sensitivität amplifiziert wird.

Innerhalb des amplifizierten Produktes bindet eine spezifische Sonde, deren Fluoreszenzsignal bei ~ 520 nm die Bildung des Produktes anzeigt. Zum Ausschluss falsch-negativer Ergebnisse in Folge von PCR-Inhibitoren oder fehlgeschlagener DNA-Extraktion enthält der Onar[®]Ct eine interne Amplifikationskontrolle. Die Kontroll-DNA kann der Probe vor der DNA-Extraktion zugegeben und so zur Überprüfung des kompletten Analyseprozesses (DNA-Extraktion und PCR-Reaktion) verwendet werden. Zur ausschließlichen Überprüfung auf PCR-Inhibitoren wird die Kontroll-DNA dem PCR MasterMix zugegeben und bei ~ 610 nm detektiert.

Der *Trachomatis Mix* enthält serienmäßig dUTP statt dTTP. Durch die Verwendung des hitzlabilen Enzyms Uracil-DNA Glycosylase (UNG) im PCR-Ansatz kann ein Verschleppen früherer PCR-Produkte in den neuen Reaktionsansatz vermieden werden. UNG ist nicht Bestandteil von Onar[®]Ct.

ENTHALTENE REAGENZIEN

Jedes Kit enthält Reagenzien für 25, 100 oder 250 Reaktionen. Das Verfallsdatum der ungeöffneten Packung ist auf dem Außenetikett vermerkt. Alle Reagenzien werden auf Coolpacks versendet. Die Lagerung der ungeöffneten Packung erfolgt lichtgeschützt bis zur Verwendung bei +2 bis +8 °C.

Das chargenspezifische Qualitätskontrollzertifikat (*Certificate of Analysis*) kann auf unserer Webseite heruntergeladen werden (www.minerva-biolabs.com).

Reagenz Bezeichnung	Anzahl			Deckelfarbe
	25 Reaktionen Art. Nr. 24-2025	100 Reaktionen Art. Nr. 24-2100	250 Reaktionen Art. Nr. 24-2250	
<i>Trachomatis Mix</i>	1 x lyophilisiert	4 x lyophilisiert	10 x lyophilisiert	rot
<i>Rehydration Buffer A</i>	1 x 1,8 ml	2 x 1,8 ml	3 x 1,8 ml	blau
<i>Rehydration Buffer B</i>	1 x 1,8 ml	2 x 1,8 ml	3 x 1,8 ml	blau
<i>Positive Control DNA</i>	1 x lyophilisiert	1 x lyophilisiert	2 x lyophilisiert	grün
<i>Internal Control DNA</i>	1 x lyophilisiert	1 x lyophilisiert	2 x lyophilisiert	gelb
<i>PCR grade Water</i>	1 x 2,0 ml	1 x 2,0 ml	2 x 2,0 ml	weiß

BENÖTIGTES, ABER NICHT IM KIT ENTHALTENES MATERIAL

Onar[®]Ct enthält alle notwendigen Reagenzien für den spezifischen Nachweis von *Chlamydia trachomatis*. Allgemein übliche Verbrauchsmaterialien und Reagenzien eines PCR Labors sind nicht enthalten. Dazu zählen:

- qPCR-Gerät mit Filtersets für die Detektion der Fluoreszenzfarbstoffe FAM^{FM} und ROX^{FM}
- PCR-Reaktionsgefäße, passend für das qPCR-Gerät
- 1,5 ml Reaktionsgefäß, frei von DNA und RNA
- Mikrozentrifuge für 1,5 ml und PCR-Reaktionsgefäße
- Pipette zum Ansetzen und Dispensieren des Reaktionsmixes mit Filterspitzen (10, 100 und 1000 µl)

PROBENMATERIAL - Abnahmehinweise und Lagerung

Urin

Erststrahlurin wird vom Gemeinsamen Bundesausschuss für das Screening in der Schwangerschaft, das jährliche Screening von Frauen unter 25 Jahren sowie bei Schwangerschaftskomplikationen empfohlen. Ungeeignet sind Mittelstrahl- und Katheterurin.

1. Der Patient darf in den 2 vorangehenden Stunden nicht uriniert haben.
 2. Die ersten 10 ml in einem sauberen Polypropylenbehälter ohne Konservierungsstoffe auffangen.
-

- Urinproben sind bei Raumtemperatur (19 - 23 °C) für 24 Stunden haltbar. Proben die nicht innerhalb dieser Zeit aufbereitet werden können, müssen bei 2 - 8 °C gelagert und innerhalb von 7 Tagen nach Entnahme verarbeitet werden. Längere Lagerung sollte dann bei < - 20 °C erfolgen (max. 30 Tage).
-

Ejakulate

1. Nur Probenbehälter ohne Konservierungsstoffe verwenden!
 2. Ejakulatproben sollten nach Abnahme noch am gleichen Tag (bei 2 - 8 °C) ins Labor geschickt und aufbereitet werden. Sollte die DNA Isolierung und Analyse der Proben nicht sofort erfolgen, empfiehlt sich eine Lagerungsdauer von maximal 30 Tagen bei < - 20 °C.
-

Abstrichproben

Für die Sammlung von Augen-, Endozervikal- und Urethralabstrichen hat sich die Verwendung von trocknen Tupfern wie z.B. Darcon® oder Kunstfaser bewährt:

1.
 - MASTASWAB (Mast Diagnostica) Bestell-Nr. 800108 MD 508
 - Sterile Swab Applicators (mico Rheologics/Copan) Bestell-Nr. 502CS01*
 - Flocked swabs (microRheologics/COPAN) Bestell-Nr. 552C nylon*
 - Forensische Tupfer DNA Flocked Swab (Copan) Bestell-Nr. 3520CS01-4N6 *

*Vertrieb in Deutschland über Mast Diagnostica GmbH

- Endozervikalproben:* Vor Abnahme der Probe sollte zunächst der aufgelagerte Schleim von der Exozervix entfernt werden. Anschließend den Tupfer in den Endozervixkanal einführen. 3 - 5 Sekunden über die gesamte Oberfläche drehen und herausziehen. Den Kontakt mit der Vaginalwand vermeiden!
- 2.

Urethralproben: 1 Stunde vor der Probenentnahme sollte nicht uriniert werden. Den Tupfer 2 - 4 cm in die Harnröhre einführen, etwa 3 - 5 Sekunden unter leichtem Druck drehen und herausziehen.

3. Die Proben sollten innerhalb von 7 Tagen verarbeitet werden. Erfolgt die Untersuchungen der Probe erst nach 7 Tagen, empfiehlt sich die Lagerung bei < -18 °C.
-

PROBENMATERIAL - Aufbereitung

Zur Vermeidung von Inhibitionen der PCR sollte die DNA von der Probenmatrix mit dem Minerva Biolabs DNA Extraction Kit (Cat # 56-1100) extrahiert werden. Das Kit ermöglicht die Reinigung und Konzentrierung von DNA aus Urin, Poolurin, Ejakulaten und Abstrichen. Bei der Verwendung von Extraktionskits anderer Hersteller oder Anwendung eigener Verfahren ist auf Kompatibilität des Elutionspuffers mit OnarCt zu achten.

Eine Lagerung der Extrakte bei mindestens -18°C über einen Zeitraum von einem Jahr ist möglich. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen oder eine Lagerung im Kühlschrank für mehr als 12 Stunden sollte vermieden werden. Die Probe sollte nicht mehr als $100\ \mu\text{g/ml}$ DNA enthalten.

Soll die Interne Amplifikationskontrolle auch zur Überprüfung der DNA-Extraktion verwendet werden, muss dem zu extrahierenden Probenvolumen $1\ \mu\text{l}$ Interne Amplifikationskontrolle je $10\ \mu\text{l}$ DNA-Extrakt hinzugegeben werden. Der Mastermix wird dann ohne Interne Amplifikationskontrolle, sondern stattdessen mit Wasser angesetzt.

Für eine manuelle Probenvorbereitung von Urin als Untersuchungsmaterial hat sich folgendes Protokoll bewährt:

Zum Direktnachweis von *Chlamydia trachomatis* eignet sich Urin als Untersuchungsmaterial hervorragend. Für

-
1. 1 ml Urin oder Transportmedium bei $18.000\ \times\ \text{g}$ für 20 min zentrifugieren und den Überstand vorsichtig abnehmen

 2. Das Pellet mit $500\ \mu\text{l}$ $1\times$ PBS pH 7,3 waschen, erneut bei $18.000\ \times\ \text{g}$ für 20 min zentrifugieren und den Überstand vorsichtig abnehmen

 3. Das Pellet in $50\ \mu\text{l}$ $10\ \text{mM}$ Tris-HCl pH 7,2 resuspendieren.

 4. $5\ \mu\text{l}$ Proteinase K ($1\ \text{mg/ml}$!!) zugeben und für 30 min bei $56\ ^{\circ}\text{C}$ inkubieren, anschließend für 10 min bei $95\ ^{\circ}\text{C}$ inaktivieren.

 5. Das Lysat kurz anzentrifugieren und vom Überstand direkt $10\ \mu\text{l}$ für die PCR einsetzen

 6. Die Lysate anschließend bei $< -20^{\circ}\text{C}$ lagern.
-

eine manuelle Probenvorbereitung hat sich folgendes Protokoll bewährt:

VORSICHTSMAßNAHMEN

Zur in vitro Diagnostik.

Dieses Kit sollte nur von geschulten Personen verwendet werden.

Alle Patientenproben sollten als potentiell infektiös betrachtet und nach den lokalen oder nationalen Vorschriften behandelt werden.

Dieses Kit enthält keine Gefahrstoffe und kann gemäß den örtlichen Bestimmungen entsorgt werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

Der Test sollte mit Negativ- und Positivkontrollen sowie den Patientenproben in Doppelbestimmung durchgeführt werden. Zur Quantifizierung ist eine Verdünnungsreihe eines geeigneten Standards (z.B. *Chlamydia trachomatis* Quantifizierungsstandard, Art. Nr. 52-0440) mitzuführen. Alle Reagenzien und Proben müssen vor dem Gebrauch auf +2 bis +8 °C gebracht werden.

1. Rehydratisierung der Reagenzien

1.	<i>Trachomatis Mix</i> <i>Internal Control</i> Positive Control	Deckel rot Deckel gelb Deckel grün	alle Lyophilisate für 5 Sekunden bei max. Umdrehung der Tischzentrifuge zentrifugieren.
2.	<i>Trachomatis Mix</i>	Deckel rot	Zugabe von 365 µl <i>Rehydration Buffer A</i> bzw. <i>B</i> (Deckel blau) Der zu verwendende Rehydratisierungspuffer muss dem qPCR Gerät entsprechen. Eine Zuordnung findet sich in Anhang 2 auf Seite 15.
3.	<i>Internal Control</i>	Deckel gelb	Zugabe von 300 µl PCR grade Water (Deckel weiß)
4.	<i>Positive Control</i>	Deckel grün	Zugabe von 300 µl PCR grade Water (Deckel weiß)
5.	<i>Trachomatis Mix</i> <i>Internal Control</i> Positive Control	Deckel rot Deckel gelb Deckel grün	5 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren
6.	<i>Trachomatis Mix</i> <i>Internal Control</i> Positive Control	Deckel rot Deckel gelb Deckel grün	kurz vortexen und für wenige Sekunden zentrifugieren

Nach Rehydratisierung können die Reagenzien bei < -18 °C bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden. Eine Lagerung bei 2 bis 8 °C ist bis zu 3 Tagen möglich. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sollte vermieden werden und die rehydratisierten Kontrollreagenzien (Interne Amplifikationskontrolle und die Positivkontrolle) ggf. aliquotiert gelagert werden.

2. Herstellung des Mastermixes

Der Mastermix wird bei Raumtemperatur in einem 1,5 ml-Reaktionsgefäß für die benötigte Anzahl an Tests und Kontrollen angesetzt.

		für 1 Reaktion	für 25 Reaktionen
1.	<i>Trachomatis Mix</i>	14,0 µl	350,0 µl
	<i>Internal Control DNA</i>	1,0 µl	25,0 µl
	Bei der Verwendung der <i>Internal Control DNA</i> als Extraktionskontrolle ist stattdessen ein entsprechendes Volumen an <i>PCR grade Water</i> einzusetzen.		
2.	Reaktionsmix durch Schnippen des Gefäßes vorsichtig mischen.		
3.	In jedes PCR-Reaktionsgefäß 15 µl geben. Überschuss verwerfen		

3. Beschickung der Testansätze

1. Negativkontrolle:
Zugabe von wahlweise 10 µl Elutionspuffer der verwendeten DNA-Extraktion (vgl. Kapitel Probenmaterial) oder PCR Grade Water (Deckel weiß)
 2. Probe: Zugabe von jeweils 10 µl Probe.
 3. Positivkontrolle: Zugabe von jeweils 10 µl Positive Control (Deckel grün)
 4. Testansätze kurz zentrifugieren, in den Thermocycler stellen und Thermocycler-Programm starten.
-

Zwischen der Herstellung des Mastermixes und dem Starten der PCR dürfen nicht mehr als 45 Minuten vergehen, da es sonst zu einer Verringerung der Fluoreszenzausbeute kommen kann. Die Pipettierreihenfolge sollte eingehalten und die Reaktionsgefäße nach jedem Pipettieren sofort geschlossen werden.

4. Start der Reaktion

1. Beladung des Cyclers, dabei festen Sitz der PCR-Gefäße in den Gefäßaufnahmen des Gerätes und der Deckel auf den PCR-Gefäßen überprüfen.
 2. Programmierung des PCR-Geräts oder Überprüfung gespeicherter Temperaturprofile (siehe Anhang 1 für Temperaturprofile marktgängiger qPCR-Geräte). Protokolle für weitere qPCR-Geräte sind auf Anfrage verfügbar.
 3. Start des PCR-Geräts und Aufzeichnung der Messdaten.
-

5. Darstellung der Testergebnisse

1. Speichern der Daten nach Beendigung des Programms
 2. Auslesen der Kanäle für die Fluoreszenzfarbstoffe FAMTM und ROXTM
Darstellung der Daten als 2. Ableitung
 3. Ermittlung der Ct-Werte für die Negativkontrollen, die Positivkontrollen und die Proben
 4. Auswertung unter Beachtung der labor- und gerätespezifischen Referenzbereiche
-

Referenzbereiche für ausgewählte qPCR-Geräte:

qPCR-Gerät	Hersteller	Bewertung des <i>threshold cycle</i>		
		positiv	grenzwertig	negativ
LightCycler® 1.2	Roche Diagnostics	< 38	38 - 40	> 40
ABI Prism® 7500	Applied Biosystems	< 38	38 - 40	> 40
Rotor-Gene TM 6000	Corbett	< 38	38 - 40	> 40
Mx3005P®	Agilent Technologies	< 38	38 - 40	> 40

ANMERKUNGEN ZUR TESTDURCHFÜHRUNG

1. Diese Gebrauchsinformation muss für eine erfolgreiche Benutzung des Onar®Ct weitgehend verstanden worden sein. Die gelieferten Reagenzien einer Charge sind als integrale Einheit zu verstehen. Reagenzien verschiedener Chargen dürfen nicht vermischt werden. Die Reagenzien des Kits dürfen nach Ablauf der Haltbarkeit nicht mehr verwendet werden.
2. Jegliche Abweichung vom Testverfahren kann die Resultate beeinträchtigen.
3. Inhibitionen können durch die Probenmatrix direkt aber auch durch den Probenelutionspuffer anderer DNA-Extraktionskits als der Empfohlenen verursacht werden. Die Negativkontrollen sollten daher immer mit dem verwendeten Probenelutionspuffer komplettiert werden. Ansonsten sollten Proben in 10 mM Tris-HCl Puffer, pH 7,2, eluiert werden.
4. Je Ansatz sollte mindestens eine Negativkontrolle mitgeführt werden, die auch die Probenaufbereitung berücksichtigt. Die Mitführung einer Positivkontrolle erleichtert die Auswertung. Typische Ct-Werte für die Interne Kontrolle und die Positivkontrolle werden auf dem *Certificate of Analysis* ausgewiesen und können zur orientierenden Qualitätskontrolle dienen.
5. Die Verwendung von Kontrollproben ist ratsam, um die Von-Tag-zu-Tag-Gültigkeit der Resultate zu sichern. Die Kontrollen sollten in gleicher Weise wie die Proben durchgeführt werden. Es wird dem Labor empfohlen eigene Kontrollproben mit einem hohen, medialen und niedrigen (z.B. 3x LOD₉₅) Niveau herzustellen bzw. kommerzielle Kontrollen, z.B. Minerva Biolabs *Quantification Standard Chlamydia trachomatis* (Art. Nr. 52-0440), zu verwenden. Eine Teilnahme an externen Qualitätskontrollprogrammen, wie z.B. von der INSTAND e. V. Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien e. V. angeboten, wird empfohlen.
6. Die hohe Empfindlichkeit der PCR-Methode erhöht die Gefahr falsch-positiver Ergebnisse, z.B. durch Kreuzkontaminationen oder unsauberes Arbeiten. Alle Arbeiten sollten unter Beachtung der geltenden Laborregeln durchgeführt werden.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Wie bei allen diagnostischen Tests darf die endgültige klinische Beurteilung nicht auf den Resultaten eines einzelnen Tests beruhen, sondern sollte vom Arzt erst nach der Evaluation aller klinischen Daten und Laborbefunde erfolgen.

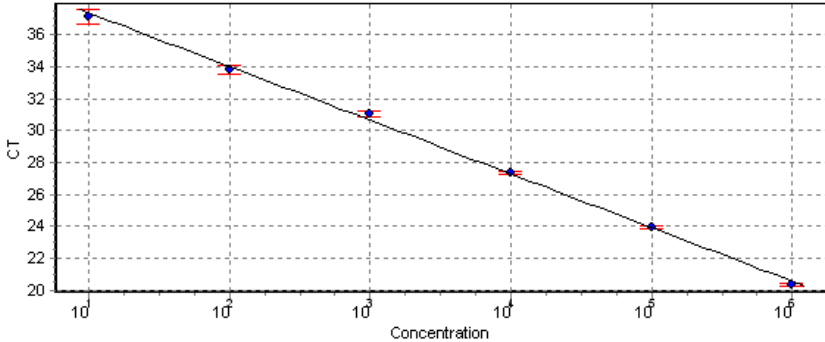
Die hier angegebenen Werte dienen nur als Richtlinie. Jedes Labor sollte seinen individuellen Referenzbereich für die Ct-Werte der Kontrollen und den Nachweisbereich erstellen.

Die Präsenz von *Chlamydia trachomatis* in der Probe wird durch einen Anstieg des Fluoreszenzsignals im Target-Kanal angezeigt. Bei Verwendung der Internen Kontrolle wird eine fehlerfreie PCR durch einen Anstieg des Fluoreszenzsignals im Kanal für die Interne Kontrolle angezeigt. Die Interne Kontrolle ist so gering dosiert, dass sie bei hohen Konzentrationen an Target-DNA nicht mehr amplifiziert wird. Eine erfolgreiche PCR ist dann durch das Signal im Target-Kanal erkennbar.

Nachweis von <i>Chlamydia trachomatis</i> FAM-Kanal	Interne Kontrolle ROX-Kanal	Interpretation
positiv	irrelevant	<i>Chlamydia trachomatis</i> positiv
negativ	negativ	Inhibition der PCR
negativ	positiv	<i>Chlamydia trachomatis</i> negativ

ANALYTISCHE CHARAKTERISTIKA DES TESTS

Eine typische Standardkurve für Onar[®]Ct ist unten dargestellt. Die Linearregression wurde aus 4 Verdünnungsreihen mit dem RotorGene 6000 ermittelt.



Leistungsparameter	Leistungsdaten
Analytische Sensitivität (p=0,05) ohne Berücksichtigung der Probenaufbereitung	2,4 GE/μl, entspricht 0,9 IFU/μl
Analytische Sensitivität unter Berücksichtigung der Probenaufbereitung	8,1 GE/μl, entspricht 2,5 IFU/μl
Analytische Spezifität	100 % für die Serovare A - K und L1 - L3 Keine Kreuzreaktivität mit relevanten Kommensalkleimen
Diagnostische Sensitivität Urine: n = 61 Ejakulate: n = 21 Abstriche: n = 61	Urine: 93,6 % Ejakulate: 100 % Abstriche: 100 %
Diagnostische Spezifität (n=143 klinische Proben)	100 %
Präzision (Intraassay)	4 % bei 2000 GE/PCR
Präzision (Interassay)	6 % bei 2000 GE/PCR
Robustheit	Verschleppung: 0 % Ausfallrate des Systems: 0 % Matrixeffekte: 0 %
Sonstige Parameter	Chargenvarianz: 0,9 % Linearität: 200 bis 2,0 x 10 ⁷ GE/PCR Pipettierzeiten: < 60 Minuten ohne Einfluss Ringversuch: Instand RV531 korrekt analysiert

ANHANG 1: PROGRAMMIERUNG UND DATENERFASSUNG VERSCHIEDENER QPCR-GERÄTE

1. LightCycler® 1.2, 1.5 und 2.0

Programmschritt 1: Vorinkubation

Zyklen 1
Analysemodus None

Temperaturprofil [°C] Segment 1

Zieltemperatur [°C] 95
Inkubationszeit [min] 2:00
Temperaturanstiegsrate [°C/s] 20.0
zweite Zieltemperatur [°C] 0
Temperaturschritte [°C] 0.0
Verzögerung [Zyklen] 0
Fluoreszenzmessung None

LightCycler® 2.0:

Bitte achten Sie bei der Programmierung auf die Einstellung der „Seek Temperature“, diese sollte auf mindestens 90 °C eingestellt sein.

Programmschritt 2: Amplifikation

Zyklen 45
Analysemodus Quantifikation

Temperaturprofil [°C] Segment 1 Segment 2 Segment 3 Segment 4

Zieltemperatur [°C]	95	55	60	72
Inkubationszeit [s]	0	5	7	5
Temperaturanstiegsrate [°C/s]	20.0	20.0	20.0	20.0
zweite Zieltemperatur [°C]	0	0	0	0
Temperaturschritte [°C]	0.0	0.0	0.0	0.0
Verzögerung [Zyklen]	0	0	0	0
Fluoreszenzmessung	None	None	Single	None

Programmschritt 3: Kühlung

Zyklen 1
Analysemodus None

Temperaturprofil [°C] Segment 1

Zieltemperatur [°C] 40
Inkubationszeit [s] 30
Temperaturanstiegsrate [°C/s] 20.0
zweite Zieltemperatur [°C] 0
Temperaturschritte [°C] 0.0
Verzögerung [Zyklen] 0
Fluoreszenzmessung None

Auswertung der Rohdaten:

- Es erfolgt zunächst die Auswahl der Fluoreszenzkanäle F1 und F2 bzw. Channel 1 und 3
- Zur Darstellung der Amplifikationskurven und den probenspezifischen *ct*-Werten wird auf *Quantification* geklickt.
- Der Threshold wird von der Software automatisch gelegt.
- Amplifikationskurven ohne signifikanten Anstieg sind als negativ zu werten.

	Chlamydia	Interne Kontrolle
Kanäle beim LC 1.2, 1.5	F1	F2
Kanäle bei LC 2.0	Channel 1	Channel 3

2. Rotor-Gene™ 6000 (5-plex)

Programmschritt 1: Vorinkubation

Einstellung	Hold
Zieltemperatur	95 °C
Inkubationszeit	3:00 min

Bitte achten Sie vor dem Start des Laufes auf die korrekte Filterauswahl:

Chlamydia: Green (470-510 nm)
Interne Kontrolle: Orange (585-610 nm)

Programmschritt 2: Amplifikation

Einstellung	Cycling
Zyklen	45
Denaturierung	95 °C für 5 sek
Annealing	55 °C für 10 sek —> Datenerfassung (Filter Green und Orange)
Extension	72°C für 7 sek
Gain	automatisch (auto Gain)
Slope Correct	aktiviert
Ignore First	deaktiviert

Auswertung der Rohdaten:

- Öffnen des Fensters *Analysis*
- Auswahl des Reiters *Quantitation*
- Auswahl des jeweiligen Kanals (Green oder Orange)
- Starten der Analyse durch doppeltes Anklicken.
- Es öffnen sich folgende Fenster:
Quantitation Analysis - Cycling A (green oder orange)
Quant. Results - Cycling A (green oder orange)
Standard Curve - Cycling A (green oder orange)
- Im Fenster *Quantitation Analysis* erst *linear scale* und dann *slope correct* wählen
- Einstellung des Threshold (entfällt wenn eine Standardreihe mitgeführt und *Autothreshold* angewählt wurde)
 - Im Fenster *CT Calculation* den Threshold setzen (Wert 0-1)
 - Thresholdlinie in Grafik plazieren. Die Thresholdlinie sollte an den Anfang des linearen Bereichs der Positivkontrolle gelegt werden.
- Im Fenster *Quant. Results* können die *ct*-Werte abgelesen werden.
- Proben, die keine *ct*-Werte zeigen sind als negativ zu werten.

	Chlamydia	Interne Kontrolle
Kanal	Green	Orange

3. ABI Prism® 7500

Detektoreinstellungen:

für die Target-DNA Sonde: Reporter - FAM Quencher - none
für die Interne Kontroll-Sonde: Reporter - ROX Quencher - none

Die ROX-Referenz-Funktion muss ausgeschaltet sein.

Beide Detektoren müssen für jedes verwendete Reaktionsgefäß aktiviert werden.

Die Fluoreszenzmessung erfolgt während der Extension.

Programmschritt 1: Vorinkubation

Einstellung Hold
Zieltemperatur 95 °C
Inkubationszeit 3:00 min

Programmschritt 2: Amplifikation

Zyklen 45
Einstellung Cycle
Denaturierung 95 °C für 30 sek
Annealing 55 °C für 30 sek
Extension und Detektion 60 °C für 45 sek

Auswertung der Rohdaten:

- Die Grundeinstellungen erfolgen in der rechten Funktionsleiste:

Data: Delta RN vs. Cycle

Detector: FAM und ROX

Line Color: Well Color

	Chlamydia	Interne Kontrolle
Kanal	FAM	ROX

- Mit der rechten Maustaste öffnet sich ein neues

Fenster, dort erfolgt die Einstellung der

Graph settings

Folgende Einstellungen sollten dort angewählt und im Anschluß mit *ok* bestätigt werden:

Real Time Settings: Linear

Y-Axis Post Run Settings: Linear und Auto Scale

X-Axis Post Run Settings: Auto Scale

Display Options: 2

- Zur Berechnung der *ct*-Werte und deren Darstellung im Report bitte auf *Analyse* klicken.
- Der Threshold sollte an den Anfang des linearen Bereichs der Positivkontrolle gelegt werden.
- Proben ohne ausgewiesenen *ct*-Wert sind als negativ zu werten.

4. Mx3005P®

- im Setupmenü, Reiter „Plate Setup“ die belegten Wells markieren
- unter Collect Fluorescence Data FAM™ und ROX™ auswählen
- Reference Dye of „none“ setzen entsprechend Grundeinstellung
- unter „well type“ können die Art der Probe (Negativ- oder Positivkontrolle, Probe, Standard) spezifiziert werden
- Eingabe des Temperaturprofils unter Reiter „Thermal Profile Design“:
 - Segment 1 (Pre-Melt): 3 min, 95 °C
 - Segment 2: 30 sec, 95 °C
 - 30 sec, 52 °C
 - 30 sec, 55 °C - data collection end
 - 45 sec, 60 °C
 - 45 Zyklen
- Unter Menü „Run“ im Fenster „Run Status“ auf „Start“ klicken

Auswertung der Rohdaten:

- im Menü „Analysis“ auf Reiter „Analysis Selecetion/Setup“ zu analysierende Positionen markieren
- im Fenster „algorithm enhancement“ müssen die Optionen:
 - Amplification-based threshold
 - Adaptive baseline
 - Moving avergaeaktiviert sein
- auf Reiter „Results“ und „Amplification Plots“ den Threshold automatisch setzen und die Ct-Werte unter „Text Report“ ablesen

ANHANG 2: ZUWEISUNG DER REHYDRATISIERUNGSPUFFER

Rehydration Buffer A

LightCycler® 1.2

LightCycler® 1.5

LightCycler® 2.0

LightCycler® 480

Rotor-Gene™ 3000

Rotor-Gene™ 6000

iCycler iQ®

iQ™ 5

Opticon 2

Chromo 4

MX3000P®

MX3005P®

MX4000®

Rehydration Buffer B

ABI Prism® 7000

ABI Prism® 7300+

ABI Prism® 7500

ABI Prism® 7700

ABI Prism® 7900

Leerseite
Blank page

INDICATION

Onar[®]Ct is used for quantitative and direct detection of *Chlamydia trachomatis* in urine, ejaculates and swabs from the eye as well as endocervical and urethral areas.

EXPLANATION OF THE TEST

This kit is a clinical in vitro test system based on the PCR method. The test can be performed within 2 to 3 hours and allows for the quantification of the pathogen for significant clinical valuation and infection process monitoring.

TEST PRINCIPLE

The primer set and probes are specific for a segment of the chromosomal *momp* gene (*major outer-membrane protein*). The genome of *Chlamydia trachomatis* contains only one copy of the *momp* gene locus. In contrast to other test methods amplifying the multicopy *cryptic plasmid*, this test design allows for a quantitative interpretation of the results.

False negative results due to PCR inhibitors or improper DNA extraction are detected by the internal amplification control. The Internal Control DNA can be added to the sample prior to DNA extraction and analysis for verification of the complete process (DNA extraction and PCR reaction). The Internal Control DNA can also be added directly to the PCR master mix to act as a PCR control only. The amplification of the control reaction is detected at 610 nm (ROX[™] channel) and the pathogen-specific sequence at 520 nm (FAM[™] channel).

The Trachomatis Mix contains dUTP instead of dTTP, so the option is available to degrade amplicons from previous analysis by use of uracil-DNA glycosylase (UNG). Thus the occurrence of false-positive result can be minimized. UNG is not part of Onar[®]Ct.

REAGENTS

Each kit contains reagents for 25, 100 or 250 reactions. The expiry date of the unopened package is marked on the package label. The kit components are stored until use at +2 to +8 ° C. The lot specific quality control certificate (Certificate of Analysis) can be downloaded from our website (www.minerva-biolabs.com).

Kit Component Label Information	Quantity			Cap Colour
	25 reactions Order No. 24-2025	100 reactions Order No. 24-2100	250 reactions Order No. 24-2250	
Trachomatis Mix	1 x lyophilized	4 x lyophilized	10 x lyophilized	red
Rehydration Buffer A	1 x 1.8 ml	2 x 1.8 ml	3 x 1.8 ml	blue
Rehydration Buffer B	1 x 1.8 ml	2 x 1.8 ml	3 x 1.8 ml	blue
Positive Control DNA	1 x lyophilized	1 x lyophilized	2 x lyophilized	green
Internal Control DNA	1 x lyophilized	1 x lyophilized	2 x lyophilized	yellow
PCR grade Water	1 x 2.0 ml	1 x 2.0 ml	2 x 2.0 ml	white

NEEDED, BUT NOT INCLUDED IN THE KIT

The Onar[®]Ct kit contains the reagents for the specific detection of *Chlamydia trachomatis*. General industrial supplies and reagents, usually available PCR laboratories are not included:

- qPCR device with filter sets for the detection of the fluorescence dyes FAM[™] and ROX[™]
- PCR reaction tubes for the specific qPCR device
- 1,5 ml reaction tubes, DNA- and RNA-free
- Micro centrifuge for 1.5 ml and PCR reaction tubes
- Pipettes with corresponding filter tips to prepare and dispense the reaction mix (10, 100 und 1000 µl)

SPECIMEN - Collection and Storage

Urine Specimens

1. The patient should be advised not to urinate for at least two hours prior to specimen collection
2. Collect 10 ml of first-catch urine in a clean container of polypropylene without preservatives.

- The urine specimens may be stored at room temperature (19 - 23 °C) if testing of samples can be completed within 24 hours. Samples have to be stored at 2 - 8 °C in the fridge, if the testing is done within 7 days. Store the samples at < - 20 °C for up to 30 days.

Ejaculate Specimens

1. The ejaculates must be collected the same day to be going to be shipped to the laboratory.
2. If a ejaculates cannot be processed directly after receipt in the laboratory, it must be stored at below - 20 ° C and tested within 30 days.

Swab Specimens

For the collection of eye, end cervical and urethral swabs, Darcon® or rayon swabs can be used:

1.
 - MASTASWAB, Mast Diagnostica, Cat. No. 800108 MD 508
 - Sterile Swab Applicators, mico Rheologics/Copan, Cat. No. 502CS01
 - Forensic swabs predetermined break zone, sterile wrapped, Copan, Cat. No. 3520CS01-4N6
 - Flocked swabs, microRheologics/Copan, Cat. No. 552C nylon
-

For the collection of *endocervical* specimens: The subject must refrain from any kind of sexual activity, douching, and inserting any intravaginal products for at least 48 hours prior to the collection of the specimens. If excess mucus or menses clot has accumulated near the cervical os, a large cotton-tipped cotton swab may be used to gently remove this material before inserting the swab. A swab is inserted and rotated 360 degrees in all four quadrants of the vaginal vault. The swab is then placed into a sterile tube, sealed and stored for further analysis.

2.

For the collection of *urethral* specimens: 1 hour prior to specimen collection should not be urinating. Insert the swab 2-4 cm into the urethral chanel turn for about 3 - 5 seconds under slight pressure,

Samples must be shipped refrigerated. If the swab specimens are not processed directly after receipt in the laboratory, they have to be stored at 2 - 8 °C and have to be processed within seven days. If they are not tested within seven days after collection, the samples have to be stored at < -20 °C and tested within up to 30 days.

3.

SPECIMEN - Preparation

It is necessary that templates for PCR analysis are prepared by DNA extraction using a suitable DNA extraction kit. Minerva Biolabs DNA Extraction Kit (Cat. No. 56-1100) provides protocols for urine and pool urine, ejaculates and swab samples. When using extraction kits from other manufacturers or applying own procedures compatibility of the elution buffer with the diagnostic kit must be ensured.

The extracts can be stored at a temperature of below -18 °C for a period of one year. Repeated freezing and thawing or storage in the refrigerator for more than 12 hours should be avoided. The sample should not contain more than 100 µg/ml of DNA.

The internal amplification control can be used to verify the DNA extraction. 10 µl of the Internal Control should be added directly to the sample volume used for extraction. The master mix needs to be prepared without Internal Control. An adequate volume of water equals for the loss of volume.

For urine as sample material, this alternative manual protocol has been proved of value:

1. Centrifuge 1 ml urine or 1 ml transport medium (swabs) at 18.000 x g for 20 min and discard the supernatant.
 2. Wash the sediment in 500 µl 1 x PBS pH 7.3 (phosphate-buffered saline), centrifuge (18.000 x g for 20 min) and resuspend the sediment in 50 µl 10 mM Tris-HCl, pH 7.2.
 3. Add 5 µl proteinase K (1 mg/ml !!) and incubate at 56 °C for 30 min.
 4. Incubate at 95 °C for 10 min to lyse the cells and inactivate the proteinase K .
 5. After a short centrifugation, the sample is ready for PCR.
 6. If not tested immediately, samples should be stored at -20 °C.
-

PRECAUTIONS

For in vitro diagnostic use. This kit should be used only by trained persons. All samples should be considered potentially infectious and handled at the local or national regulations. This kit does not contain hazardous substances and may be disposed of according to local regulations.

TEST PROCEDURE

The test should be carried out with negative and positive controls and patient samples in duplicate. For quantification, a dilution series of an appropriate standard, e. g. Minerva Biolabs *Chlamydia trachomatis* Quantification Standard (Order No. 52-0440) should be processed in parallel. All reagents and samples must be equilibrated to +2 to +8 ° C prior use.

1. Rehydration of the Reagents

After reconstitution, the reagents should be stored at below -18 ° C. Repeated freezing and thawing should be avoided and reconstituted controls (internal amplification control and the positive control) stored in aliquots.

1.	Trachomatis Mix Internal Control Positive Control	red cap yellow cap green cap	Spin all lyophilized components for 5 sec at maximum speed of the mini centrifuge
2.	Trachomatis Mix	red cap	Add 365 µl Rehydration Buffer A or B (blue cap). The buffer can be selected according to Annex 2 (page 26).
3.	Internal Control	yellow cap	Add 300 µl PCR grade Water (white cap)
4.	Positive Control	green cap	Add 300 µl PCR grade Water (white cap)
5.	Trachomatis Mix Internal Control Positive Control	red cap yellow cap green cap	Incubate 5 min at room temperature
6.	Trachomatis Mix Internal Control Positive Control	red cap yellow cap green cap	Vortex briefly and spin for 5 sec

2. Preparation of the Reaction Mix

Prepare the required amount of master mix at room temperature in a 1.5 ml reaction tube for all control and test reactions.

1.	for 1 reaction	for 25 reactions
Trachomatis Mix	14,0 µl	350,0 µl
Internal Control DNA	1,0 µl	25,0 µl

2. Homogenize the reaction mix by carefully snipping the tube

3. Add 15 µl to each PCR tube, discard remaining material.

3. Loading the test tubes

- Negative Control:
1. Add 10 μ l elution buffer from DNA extraktion (ref. Chapter sample material) or PCR grade Water (white cap) to each negative control reaction.
 2. Sample: Add 10 μ l of each sample.
 3. Positive Control: Add 10 μ l Positive Control (green cap) to each positive control reaction.
 4. Spin all PCR tubes briefly, load the qPCR cycler and start the program.
-

Preparation of the master mix and sample loading should not take more than 45 minutes to avoid a reduction in the fluorescent signal. The pipetting sequence should be respected and the tubes closed after each sample load.

4. Starting the reaction

1. Load the cycler, check each PCR tube and the cycler lid for tight fit.
 2. Program the qPCR cycler or check stored temperature profiles. See Appendix for temperature profiles of selected qPCR cyclers. Programs for additional cyclers might be available on request.
 3. Start the program and data reading.
-

5. Result reading

1. Save the data at the end of the run.
 2. Read the channels for the fluorescence dyes FAMTM and ROXTM and show the 2nd deviation of the data.
 3. Read the calculation of the Ct values for the negative controls, the positive controls and the samples.
 4. Evaluate in accordance with the laboratory and instrument-specific reference ranges.
-

Reference range for selected qPCR devices:

qPCR device	Manufacturer	Evaluating the threshold cycle		
		positive	borderline	negative
LightCycler [®] 1.2	Roche Diagnostics	< 38	38 - 40	> 40
ABI Prism [®] 7500	Applied Biosystems	< 38	38 - 40	> 40
Rotor-Gene TM 6000	Corbett	< 38	38 - 40	> 40
Mx3005P [®]	Agilent Technologies	< 38	38 - 40	> 40

NOTES ON THE TEST PROCEDURE

1. This leaflet must be widely understood for a successful use of Onar[®]Ct. The reagents supplied should not be mixed with reagents from different lots and used as an integral unit. The reagents of the kit should not be used beyond its shelf life.
2. Any deviation from the test method can affect the results.
3. Inhibition may be caused by the sample matrix, but also by sample elution buffer of DNA extraction kits not recommended or validated. Negative controls should always be completed with the use sample elution buffer. Extract should be eluted in water or 10 mM Tris-HCl buffer, pH 7.2.
4. For each test setup, at least one negative control may be included also including sample preparation. Positive controls facilitate the evaluation of the test. Typical Ct values for the internal control and positive control are shown on the Certificate of Analysis and can be used for orienting quality control.
5. The use of control samples is advised to secure the day-to-day validity of results. The controls should be carried out in the same manner as the samples. It is recommended to run laboratory specific control samples with a high, medial and low (e.g. 3x LOD₉₅) level or establish commercial controls, for example, Minerva Biolabs Quantification Standard *Chlamydia trachomatis* (Order No. 52-0440). Participation in external quality control programs, such as offered by the INSTAND e.V., the Society for the promotion of quality assurance in medical laboratories, is recommended.
6. The high sensitivity of the PCR method increases the risk of false-positive results by cross-contamination or sloppy work. All work should be carried out in compliance with good laboratory practise.

INTERPRETATION OF RESULTS

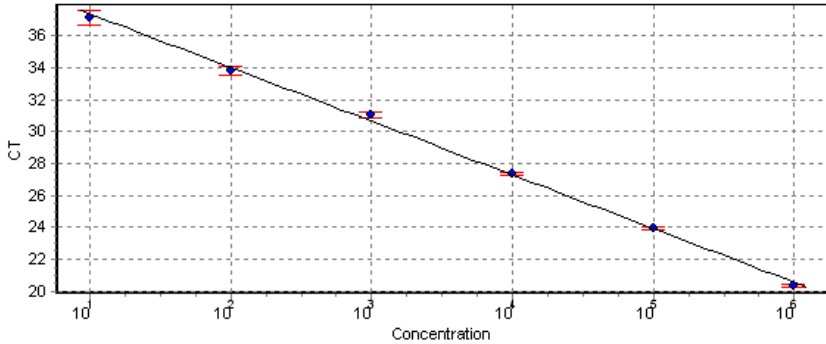
As with all diagnostic tests the final clinical assessment should not be based on the results of a single test, but should be done by doctors only after the evaluation of all clinical and laboratory findings. The values given here are only a guide. Each laboratory should establish its own reference range for the Ct values of controls and samples.

The presence of *C. trachomatis* in the sample is indicated by an increasing fluorescence signal in the target channel. When using the internal control, an error-free PCR is indicated by an increasing fluorescence signal in the channel for internal control. The Internal control is present at a very low concentration that it is no longer amplified at high concentrations of target DNA. A successful PCR is then detected by the signal in the target channel.

Detection of <i>C. trachomatis</i> FAM [™] channel	Internal control ROX [™] channel	Interpretation
positive	irrelevant	<i>C. trachomatis</i> positive
negative	negative	PCR inhibition
negative	positive	<i>C. trachomatis</i> negative

ANALYTICAL CHARACTERISTICS OF THE TEST

A typical standard curve for Onar®Ct is shown below. The linear regression was determined from four individual dilution series.



Performance Parameter	Performance Characteristics
Analytical sensitivity including purification	0.9 IFU/ μ l, corresponding to 2.4 GU/ μ l
Analytical sensitivity without purification	2.5 IFU/ μ l, corresponding to 8.1 GU/ μ l
Analytical specificity	100 % for serovars A - K and L1 - L3 no cross reactivity with relevant commensals
Diagnostic sensitivity urines: n = 61 ejaculates n = 21 swabs n = 61	urines: 93.6 % ejaculates: 100 % swabs: 100 %
Diagnostic specificity n = 143	100 %
Precision (intra assay)	4 % at 2000 GU/PCR
Precision (inter assay)	6 % at 2000 GU/PCR
Robustness	cross contamination rate: 0 % fatal error rate: 0 % matrix effects: 0 %
Additional Parameters	lot-to-lot variations: 0.9 % linearity: 200 to 2.0×10^7 GU/PCR pipetting time: < 60 minutes without negative effect inter laboratory comparison: Instand RV531 completed

APPENDIX 1: PROGRAMMING AND DATA RECORDING OF DIFFERENT QPCR DEVICES

1. LightCycler® 1.2, 1.5 and 2.0

Program 1: Pre-incubation

Cycles	1
Analysis Mode	None
Temperature Targets [°C]	Segment 1
Target Temperature [°C]	95
Incubation time [min]	2:00
Temperature Transition Rate [°C/s]	20.0
Secondary Target Temperature [°C]	0
Step Size [°C]	0.0
Step Delay [Cycles]	0
Acquisition Mode	None

LightCycler® 2.0:

Please check the correct settings for the „seek temperature“, this should be adjusted on at least 90 °C.

Program 2: Amplification

Cycles	45
Analysis Mode	Quantification

Temperature Targets [°C]	Segment 1	Segment 2	Segment 3	Segment 4
Target Temperature [°C]	95	55	60	72
Incubation time [s]	0	5	7	5
Temperature Transition Rate [°C/s]	20.0	20.0	20.0	20.0
Secondary Target Temperature [°C]	0	0	0	0
Step Size [°C]	0.0	0.0	0.0	0.0
Step Delay [Cycles]	0	0	0	0
Acquisition Mode	None	None	Single	None

Program 3: Cooling

Cycles	1
Analysis Mode	None
Temperature Targets [°C]	Segment 1
Target Temperature [°C]	40
Incubation time [s]	30
Temperature Transition Rate [°C/s]	20.0
Secondary Target Temperature [°C]	0
Step Size [°C]	0.0
Step Delay [Cycles]	0
Acquisition Mode	None

Result Reading:

- Select the fluorescence channels F1 and F2 or Channel 1 and 3 at the LC 2.0
- Click on *Quantification* to generate the amplification plots and the specific *ct*-values
- The threshold will be generated automatically.
- Samples showing no significant increase in the amplification plot can be considered as negative.

	<i>Chl. trachomatis</i>	Internal control
channel for LC 1.2, 1.5	F1	F2
channel for LC 2.0	channel 1	channel 3

2. Rotor-Gene™ 6000 (5-plex)

Program Step 1: Pre-incubation

Setting	Hold
Hold Temperature	95 °C
Hold Time	3 min 0 sec

Please check the correct settings for the filter combination:

green filter (470-510): *Chl. trachomatis*

filter orange (585-610): **internal control**

Program Step 2: Amplification

Setting	Cycling
Cycles	45
Denaturation	95°C for 5 sec
Annealing	55°C for 10 sec —> acquiring to Cycling A (green and orange)
Elongation	72°C for 7 sec
Gain setting	automatic (auto Gain)
Slope Correct	activated
Ignore First	deactivated

Result Reading:

- Open the menu *Analysis*
- Select *Quantitation*
- Check the required filter set (green and orange) according to the following table and start data analysis by double click.
- The following windows will appear:
 - Quantitation Analysis - Cycling A* (green or orange)
 - Quant. Results - Cycling A* (green or orange)
 - Standard Curve - Cycling A* (green or orange)
- In window *Quantitation Analysis*, select first *linear scale* and then *slope correct*
- Threshold setup (not applicable if a standard curve was carried with the samples and auto threshold was selected)
 - In window *CT Calculation* set the threshold value to 0-1
 - Pull the threshold line into the graph. Adapt the threshold line to the initial linear section of the positive control reaction.
- The *ct*-values can be taken from the window *Quant. Results*.
- Samples showing no *ct*-value can be considered as negative.

3. ABI Prism® 7500

Detector Settings:

<i>Chl. trachomatis</i> Target Probe:	Reporter - FAM™	Quencher - none
Internal Control Probe:	Reporter - ROX™	Quencher - none

**The ROX™ Reference needs to be disabled. Activate both detectors for each well.
Measurement of fluorescence during extension.**

Program Step 1: Pre-incubation

Setting	Hold
Temperature	95 °C
Incubation time	3:00 min

Program Step 2: Amplification

Cycles	45
Setting	Cycle
Denaturing	95 °C for 30 sek
Annealing	55 °C for 30 sec
Extension	60 °C for 45 sec

Result Reading:

- Enter the following basic setting at the right task bar:
Data: Delta RN vs. Cycle
Detector: FAM and ROX

	<i>Chl. trachomatis</i>	Internal control
channel	FAM™	ROX™

Line Color: Well Color

- Open a new window with for the *Graph settings* by clicking the right mouse button
Select the following setting and confirm with *ok*:
Real Time Settings: Linear
Y-Axis Post Run Settings: Linear and Auto Scale
X-Axis Post Run Settings: Auto Scale
Display Options: 2
- Initiate the calculation of the ct-values and the graph generation by clicking on *Analyze* within the report window.
- Pull the threshold line into the graph. Adapt the threshold line to the initial linear section of the positive control reaction.
- Samples showing no ct-value can be considered as negative.

4. Mx3005P®

- Mark the wells in use in the setup menu, tab "Plate Setup"
- Select FAM™ und ROX™ for "Collect Fluorescence Data"
- Check that the Reference Dye function is set to "none" according to the ground settings of the device
- Specify the type of sample (negative control, positive control, standards, sample) by using the tab "well type"
- Program the temperature profile by using the tab "Thermal Profile Design":
 - Segment 1 (Pre-Melt): 3 min, 95 °C
 - Segment 2: 30 sec, 95 °C
30 sec, 55 °C - data collection end,
45 sec, 60 °C
45 cycles
- Start the program in the menu "Run" by clicking on "Start" in the window "Run Status"

Interpretation of the raw data:

- Select the "Analysis" menu, click the tab "Analysis Selection/Setup" and mark all positions for analysis
- Activate the following options in window "algorithm enhancement":
 - Amplification-based threshold
 - Adaptive baseline
 - Moving average
- Set the threshold to automatic in tab "Results" and "Amplification Plots"
- Read the *Ct values* in "Text Report"

APPENDIX 2: USE OF DIFFERENT REHYDRATION BUFFERS

Rehydration Buffer A

LightCycler® 1.2

LightCycler® 1.5

LightCycler® 2.0

LightCycler® 480

Rotor-Gene™ 3000

Rotor-Gene™ 6000

iCycler iQ®

iQ™ 5

Opticon 2

Chromo 4

MX3000P®

MX3005P®

MX4000®

Rehydration Buffer B

ABI Prism® 7000

ABI Prism® 7300+

ABI Prism® 7500

ABI Prism® 7700

ABI Prism® 7900

APPENDIX 3: LEGALS

Limited Product Warranty

This warranty limits our liability for replacement of this product. No warranties of any kind, express or implied, including, without limitation, implied warranties of merchantability or fitness for a particular purpose, are provided. Minerva Biolabs shall have no liability for any direct, indirect, consequential, or incidental damages arising out of the use, the results of use, or the inability to use this product.

Limited License

The use of this product for clinical diagnostics of pathogens is covered by a Scorpions license from DxS Ltd. Further information on Scorpions licenses can be obtained from DxS Ltd, 48 Grafton St, Manchester, UK M13 9XX.

Trademarks

LightCycler is a registered trademark of a member of the Roche Group. ABI Prism is a registered trademark of Applied Biosystems Corporation or its subsidiaries in the US and certain other countries. FAM™ and ROX™ are trademarks of Applied Biosystems Corporation or its subsidiaries in the US and certain other countries. Rotor-Gene is a trademark of Corbett Life Technologies. Mx3005P is a trademark of Agilent Technologies. Dacron® is a registered trademark of DuPont. Onar is registered trademarks of Minerva Biolabs GmbH.

Related Products

MB Taq DNA Polymerase

53-0050/-0100/-0200/-0250	MB Taq DNA Polymerase (5 U/ μ l)	50/100/200/250 units
53-1050/-1100/-1200/-1250	MB Taq DNA Polymerase (1 U/ μ l)	50/100/200/250 units

Clinical Diagnostic Kits for qPCR

20-2025/-2100/-2250	Onar [®] Mp <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	25/100/250 tests
21-2025/-2100/-2250	Onar [®] Ls <i>Legionella</i> species	25/100/250 tests
21-3025/-3100/-3250	Onar [®] Lp <i>Legionella pneumophila</i>	25/100/250 tests
22-2025/-2100/-2250	Onar [®] MRSA Methicillin-resistant <i>S. aureus</i>	25/100/250 tests
23-2025/-2100	Onar [®] Tp <i>Treponema pallidum</i>	25/100 tests
24-2025/-2100/-2250	Onar [®] Ct <i>Chlamydia trachomatis</i>	25/100/250 tests
25-2025/-2100/-2250	Onar [®] Pertussis <i>Bordetella pertussis/parapertussis</i>	25/100/250 tests
26-2025/-2100/-2250	Onar [®] Mh <i>Mycoplasma hominis</i>	25/100/250 tests

Quantification Standards, 100 μ l each, 1x10⁶ genomes/ μ l

52-0101	<i>Legionella pneumophila</i> DNA Standard
52-0119	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> DNA Standard
52-0440	<i>Chlamydia trachomatis</i> DNA Standard

Genomic DNA Extracts, 100 μ l each, +/- 10 ng / 100 μ l

51-0566	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , DSMZ 20566
51-5571	<i>Bordetella pertussis</i> , DSMZ 5571
51-3415	<i>Bordetella parapertussis</i> , DSMZ 13415
51-0177	<i>Ureaplasma urealyticum</i> , NC 10177
51-0111	<i>Mycoplasma hominis</i> , NC 010111
51-0112	<i>Mycoplasma orale</i> , NC 010112
51-0117	<i>Mycoplasma fermentans</i> PG19, NC 010117
51-0119	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> , NC 010119
51-0129	<i>Mycoplasma arginini</i> , NC 010129
51-0162	<i>Mycoplasma arthritidis</i> , NC 010162
51-0195	<i>Mycoplasma genitalium</i> , NC 010195
51-1746	<i>Mycoplasma penetrans</i> , NC 11746

DNA Remove[™]

15-2025	DNA Decontamination Reagent, spray bottle	250 ml
15-2200	DNA Decontamination Reagent, refill bottles	4 x 500 ml

Extraktion Kit

56-1100	MB DNA Extraction Kit	100 extractions
---------	-----------------------	-----------------

Letzte fachliche Überarbeitung: April 2011

Last technical revision: April 2011



Manufacturer

Minerva Biolabs GmbH
Koenigicker Str. 325
D-12555 Berlin
Germany



Ordering

Tel. +49 (0)30 2000 437-0
Fax +49 (0)30 2000 437-9
order@minerva-biolabs.com



Product Information

www.minerva-biolabs.com
info@minerva-biolabs.com



Technical Service

Tel. +49 (0)30 2000 437-0
support@minerva-biolabs.com

Made in Germany

Minerva Biolabs GmbH develops and manufactures products in accordance with EN ISO 9001:2008 and EN ISO 13485:2003 quality system requirement.
Reg.No. SY 60026567 0001 & SX 60025009 0001



...as precise as diagnostics should be™