


2015. február

artus[®] HSV-1/2 LC PCR Kit

Kézikönyv

 24 (katalógusszám 4500063)

 96 (katalógusszám 4500065)

Kvantitatív in vitro diagnosztika

LightCycler[®] készüléssel való használatra

1. Kiadás

CE

IVD

REF

4500063, 4500065

HB

1046888



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANY

R2

MAT

1046888



QIAGEN Sample and Assay Technologies

A QIAGEN, élvonalbeli termékkörrel rendelkezik az innovatív mintafeldolgozási és vizsgálati technológiák terén, lehetővé téve bármely biológiai minta tartalmának izolálását és detektálását. Korszerű, magas színvonalú termékeink és szolgáltatásaink biztosítják a sikert ügyfeleinknek a mintáktól az eredményekig.

A QIAGEN meghatározó az alábbi területeken:

- DNS, RNS és fehérjék tisztítása
- Nukleinsav- és fehérjevizsgálatok
- mikro-RNS kutatás és RNSi
- Mintafeldolgozási és vizsgálati technológiák automatizálása

Küldetésünk, hogy Ön kimagasló sikerek és tudományos áttörések érjen el. További információkért látogasson el honlapunkra: www.qiagen.com.

Tartalom

1. A kit tartalma	4
2. Tárolás	5
3. A felhasználó által biztosítandó eszközök és reagensek	5
4. Általános óvintézkedések	5
5. Patogenitási információk	6
6. Real-time PCR elve	6
7. Alkalmazási terület	6
8. Protokoll	7
8.1 DNS izolálás	7
8.2 Belső Kontroll	9
8.3 Kvantitálás	10
8.4 PCR előkészítése	11
8.5 <i>LightCycler</i> készülék programozása	15
9. Adatelemzés	18
10. Hibaelhárítási útmutató	22
11. Teljesítmény-jellemzők	24
11.1 Analitikai érzékenység	24
11.2 Specifitás	25
11.3 Precízió	26
11.4 Robosztusság	29
11.5 Reprodukálhatóság	29
11.6 Diagnosztikai kiértékelés	29
12. A termék használatának korlátjai	30
13. Figyelmeztetések és óvintézkedések	30
14. Minőség-ellenőrzés	30
15. Hivatkozások	30
16. Jelmagyarázat	31

artus HSV-1/2 LC PCR Kit

LightCycler készülékkel való használatra.

1. A kit tartalma

	Jelzések és tartalom	Kat.szám 4500063 24 reakció	Kat.szám 4500065 96 reakció
Kék	HSV LC Master	2 x 12 rxns	8 x 12 rxns
Piros	HSV1 LC/RG/TM QS 1 [☒] 1 x 10 ⁴ kópia/μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Piros	HSV1 LC/RG/TM QS 2 [☒] 1 x 10 ³ kópia/μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Piros	HSV1 LC/RG/TM QS 3 [☒] 1 x 10 ² kópia/μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Piros	HSV1 LC/RG/TM QS 4 [☒] 1 x 10 ¹ kópia/μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Piros	HSV2 LC/RG/TM QS 1 [☒] 1 x 10 ⁴ kópia/μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Piros	HSV2 LC/RG/TM QS 2 [☒] 1 x 10 ³ kópia/μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Piros	HSV2 LC/RG/TM QS 3 [☒] 1 x 10 ² kópia/μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Piros	HSV2 LC/RG/TM QS 4 [☒] 1 x 10 ¹ kópia/μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Zöld ☒	HSV LC IC	1 x 1,000 μl	2 x 1,000 μl
Fehér	Water (PCR grade) (Víz (PCR-minőségű))	1 x 1,000 μl	1 x 1,000 μl

☒ QS = Kvantitációs standard
IC = Belső kontroll

2. Tárolás

Az artus HSV-1/2 LC PCR kit részegységeit -15 és -30°C közötti hőmérsékleten kell tárolni, ahol a címkén található lejáratú időig stabilak maradnak. Kerülni kell az ismételt (több, mint kétszeri) felolvasztást és lefagyasztást, mivel ez ronthatja a minőséget. Ha a reagenseket csak alkalomszerűen használja, aliquotolva fagyasztva tárolja. A $2-8^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás ne haladja meg az 5 órát.

3. A felhasználó által biztosítandó eszközök és reagensek

- Egyszer használatos, púder mentes gumikesztyű
- DNS izoláló kit (lásd 8.1 DNS Izolálás)
- Pipetták (állítható)
- Steril, szűrős pipettahegyek
- Vortex keverő
- Asztali centrifuga* 2 ml-es reakciócsöveknek megfelelő rotorral
- “Color Compensation Set” (Roche Diagnostics, Cat. No. 2 158 850) a “Crosstalk Color Compensation” fájl telepítéséhez
- *LightCycler* Kapillárisok (20 μl)
- *LightCycler* Hűtőblokk
- *LightCycler* Készülék
- *LightCycler* Kupakozó eszköz

4. Általános óvintézkedések

A felhasználó mindig tartsa szem előtt az alábbiakat:

- Használjon szűrős, steril pipettákat.
- A pozitív anyagokat (minták, pozitív kontrollok és amplikonok) minden más reagenstől elkülönítve tárolja és dolgozza fel, és a reakciómixhez térben elkülönített helyen adja hozzá.
- Olvassa fel az összes komponenst szobahőmérsékleten ($15-25^{\circ}\text{C}$) a vizsgálat előtt.
- Amikor felolvadt, keverje össze a komponenseket (fel-le pipetázással, vagy vortex-el) és röviden centrifugálja le.
- Dolgozzon gyorsan és tartsa a PCR reagenseket bemérés előtt jégen vagy a *LightCycler* hűtőblokkban.

5. Patogenitási információk

A herpes simplex vírus (HSV) sebfolyadékokban, nyálban, liquorban (CSF), és hüvelvadásokban található meg. A kórokozó elsősorban közvetlen érintkezéssel a léziókon keresztül, illetve szexuális úton, valamint a szülés közben terjed tovább. A HSV-pozitív esetek döntő részét a bőr vagy a nyálkahártyák sérülései jellemzik. A HSV-fertőzés lehet elsődleges (az esetek több, mint 90%-a tünetmentes) vagy visszatérő (másodlagos). Az elsődleges HSV-1 fertőzés többek között gingivostomatitis, eczema herpeticum, keratoconjunctivitis és encephalitis tüneteivel járhat; míg az elsődleges HSV-2 fertőzés többek között vulvovaginitis, meningitis és újszülöttek generalizált herpesze formájában jelenik meg. A másodlagos fertőzés elsődleges tünete a bőrléziók az orrban, szájban és a genitáliák területén. A visszatérő fertőzés még súlyosabb formái a keratoconjunctivitis és a meningitis.

6. Real-time PCR elve

A kórokozó kimutatása polimeráz láncreakcióval (PCR) történik, mely a kórokozó genom specifikus szakaszának amplifikációján alapszik. A valós idejű PCR esetében az amplifikált terméket fluoreszcens festék mutatja ki. A festék általában olyan oligonucleotidhoz van kapcsolva, mely specifikusan kötődik az amplifikált termékhez. A fluoreszcencia intenzitásának a PCR futtatása alatti (azaz valós idejű) követése lehetővé teszi a termék kimutatását és kvantifikálását anélkül, hogy a PCR-reakció végén ki kelljen nyitni a csöveket (Mackay, 2004).

7. Alkalmazási terület

Az artus HSV-1/2 LC PCR kit egy valós idejű polimeráz láncreakción (PCR) alapuló vizsgálat a humán herpes simplex vírus 1 és 2 DNS-ének kimutatására és elkülönítésére, valamint oladási görbe vizsgálatára szolgál *LightCycler* készüléken. A "*HSV LC Master*" tartalmazza a reagenseket és az enzimeket a herpes simplex vírusgenom specifikus 148 bázispár hosszú régiójának amplifikálásához, valamint a specifikus amplikon direkt kimutatásához a *LightCycler* készülék F2 fluoreszcens csatornájában. Emellett az artus HSV-1/2 LC PCR kit egy második heterológ amplifikációs rendszert is tartalmaz a PCR esetleges gátlásának kimutatására. Ezt belső kontrollként (IC) a *LightCycler* F3 fluoreszcens csatornája detektálja. Az HSV-1/2 RG PCR detekciós határértéke (lásd 11.1 „Analytical sensitivity”) nem csökkentett. A kitben pozitív kontrollok (HSV-1 LC PC és HSV-2 RG PC) is találhatóak. Azon a célból, hogy egy altípust elkülönítsünk egy másiktól a rendszer kihasználja a próbák specifikus oladási hőmérsékletét. Az oladási görbe vizsgálati lépés során, a jelet az F2 fluoreszcens csatorna detektálja HSV-1 esetében 69°C-on és HSV-2 esetében 66°C-on. Az eltérő nukleinsav kinyerési körülményektől függően, valamint ennek eredményeként a megfelelő pufferelő körülmények között ezek az értékek 1-2°C -al térhet el. Ez az eltérés azonban mind a két altípusnál megegyezik. Külső pozitív kontrollok (*HSV1 LC/RG/TM QS 1 – 4 &*

HSV2 LC/RG/TM QS 1 – 4) is találhatóak a kitben, melyek a patogén felhalmozódás mértékét határozzák meg. További információért kérjük hivatkozzon a 8.3 Kvantitálás szakaszra.

Figyelem: Az *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit használata során a HSV-1 és HSV-2 detektálására használt hőmérséklet profil megfelel az *artus* EBV LC PCR Kit, az *artus* VZV LC PCR Kit és az *artus* CMV LC PCR Kit detektálási hőmérséklet profiljainak. Ebből adódóan ezen *artus* rendszerek PCR vizsgálatait egyetlen futtatás során kivitelezhetők és vizsgálhatóak. Kérjük vegye figyelembe a 8.3 Kvantitálás és 9. Adatelemzés fejezetekben lévő PCR vizsgálatokra vonatkozó ajánlásokat.

8. Protokoll

8.1 DNS izolálás

Különböző gyártók különböző DNS izoláló kitéket javasolnak. A DNS izolálási folyamathoz felhasznált mintamennyiség a használt protokolltól függ. Kérjük, hogy a DNS izolálást a gyártó utasításai szerint végezze. A következő izoláló kiték használata ajánlott:

Mintatípus	Nukleinsav izoláló kit	Katalógusszám	Gyártó	Hordozó RNS
Szérum, plazma, CSF, különöző váladékok	QIAamp® UltraSens® Virus Kit (50)	53 704	QIAGEN	tartalmaz
	QIAamp DNA Mini Kit (50)	51 304	QIAGEN	nem tartalmaz
CSF	EZ1® DSP Virus Kit (48)*	62 724	QIAGEN	tartalmaz

*Az EZ1® DSP Virus Kit-et a BioRobot® EZ1 DSP munkaállomással (Cat. No. 9001360) és az EZ1 DSP Virus Card (Cat. No. 9017707) kombinálva kell használni.

Fontos megjegyzés a QIAamp UltraSens Virus Kit, a QIAamp DNA Blood Mini Kit és a QIAamp DNA Mini Kit használata során:

- A hordozó RNS alkalmazása kritikus az extrakció hatékonyságára és ennek következtében a DNS/RNS kinyerésre. Ha a választott izoláló kit nem tartalmaz hordozó RNS-t, kérjük vegye figyelembe a hordozók izolációs rendszerbe történő bevitele (RNA-Homopolymer Poly(A), Amersham Biosciences, Cat. No. 27-4110-01) erősen ajánlott a sejtmentes testfolyadékokból, valamint alacsony DNS/RNS tartalmú

mintákból (pl. CSF) történő nukleinsav kinyeréshez. Kérjük a következő esetekben az alábbiak szerint járjon el:

- a) Szuszpendáljuk fel a liofilizált hordozó RNS-t az extrakciós kit elúciós pufferének használatával (ne használjon lízis puffert) (pl. QIAamp DNA Mini Kit AE pufferét) és készítse el az oldatot 1 µg/µl hígítási koncentrációban. Az így elkészített RNS hordozót tartalmazó oldatot az Ön igényeinek megfelelően készítsen belőle aliquotokat és –20°C-on tárolja őket. Kerülje az ismételt (több, mint kétszeri) felolvasztását és lefagyasztását a hordozó RNS aliquotoknak.
- b) 1 µg hordozó RNS-t 100 µl lízis pufferrel használjon. Például, ha az extrakciós protokoll 200 µl lízis puffert javasol, kérjük adjon hozzá 2 µl if hordozó RNS-t (1 µg/µl) közvetlenül a kimért lízis pufferbe. Minden egyes extrakciós lépés előtt a lízis puffer és a hordozó RNS keverékét (és az “*Internal Control*”, Belső kontrollt, adott esetben lásd. 8.2 Belső kontroll) frissen készítse elő az alábbi pipettázási táblázatot követve:

Mintaszám	1	12
Lízis puffer	pl. 200 µl	pl. 2,400 µl
Hordozó RNS (1 µg/µl)	2 µl	24 µl
Teljes térfogat	202 µl	2,424 µl
Extrakciónkénti térfogat	200 µl egyenként	200 µl

- c) Kérjük a frissen készített lízis puffer és hordozó RNS keveréket azonnal használja fel az extrakcióhoz. A keverék tárolása nem lehetséges.
 - A hordozó RNS alkalmazása kritikus az extrakció hatékonyságára és ennek következtében a DNS/RNS kinyerésre. QIAamp UltraSens Virus Kit használata során a hordozó RNS stabilitásának növelése érdekében, az alábbi eljárást javasoljuk, mely eltérhet az extrakciós kit felhasználói kézikönyvében leírtaktól:
- a) Szuszpendálja fel a liofilizált hordozó RNS-t az extrakciós kit első használatára előtt 310 µl elúciós pufferben a kitben javasoltak alapján (végkoncentráció 1 µg/µl, ne használjon lízis puffert). Ennek a hordozó RNS-nek a része Portion this carrier RNA solution into a number of aliquots adequate to your needs and store them at –20°C. Kérjük, hogy a hordozó RNS-t tartalmazó aliquotnak az ismételt (több, mint kétszeri) felolvasztását és lefagyasztását kerülje.
- b) Külön, minden egyes extrakció kezdete előtt a lízis puffert és hordozó RNS-t tartalmazó keveréket (és *Belső kontrollt*, ahol szükséges, lásd 8.2 *Belső kontroll*) frissen készítse elő az alábbi pipettázási táblázatot követve:

Mintaszám	1	12
Lízis puffer AC	800 µl	9,600 µl
Hordozó RNS (1 µg/µl)	5.6 µl	67.2 µl
Teljes térfogat	805.6 µl	9,667.2 µl
Extrakciónkénti térfogat	800 µl	egyenként 800 µl

c) Kérjük a frissen készített lízis puffer és hordozó RNS keveréket azonnal használja fel az extrakcióhoz. A keverék tárolása nem lehetséges.

- Ajánlott, hogy a DNS-t 50 µl elúciós pufferbe eluáljuk, hogy az *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit legnagyobb detektálási érzékenységét érijük el.
- A **QIAamp UltraSens Virus Kit** lehetővé teszi a minta koncentrációját. Amennyiben szérumtól vagy plazmától eltérő kiindulási mintát használ, kérjük adjon negatív human plazmát legalább 50 % (v/v)-ban a mintához.
- Amennyiben az izolálási protokollt **etanol** tartalmú mosópufferrel végzi, kérjük, hogy az elúció előtt további centrifugálási lépést (három perc, 13,000 rpm) illesszen be a protokollba, a visszamaradó etanol eltávolítására. Így megelőzhető a PCR lehetséges gátlása.
- Az *artus* HSV-1/2 TM PCR Kit nem használható **fenol** alapú izoláló módszerekhez.

Fontos megjegyzés az EZ1 DSP Virus Kit használata során:

- A **hordozó RNS** alkalmazása kritikus az extrakció hatékonyságára és ennek következtében a DNS/RNS kinyerésre. Adjon minden extrakcióhoz megfelelő mennyiségű hordozó RNS-t a EZ1 DSP Virus Kit kézikönyvében leírtaknak megfelelően.

Fontos: Az *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit belső kontrollja közvetlenül az izolálási eljárás során adható hozzá (lásd 8.2 *Belső kontroll*).

8.2 Belső Kontroll

A kit részét képezi a belső kontroll is (*HSV TM IC*). Ez lehetővé teszi a felhasználónak a **DNS-izolálási eljárás kontrollálását és az esetleges PCR-gátlás ellenőrzését**. (lásd 1. ábra). Az extrakcióhoz használt **EZ1 DSP Virus Kit** belső kontrollját az *EZ1 DSP Virus Kit kézikönyvében* leírt utasításokat követve adják hozzá a reakcióelegyhez. A **QIAamp UltraSens Virus Kit** vagy a **QIAamp DNA Mini Kit** használata esetén a belső kontrollt az izoláláshoz adja, 0.1 µl-t 1 µl elúciós térfogathoz. Például, ha a QIAamp UltraSens Virus Kit-et használja, akkor a DNS 50 µl AE-pufferben kerül eluálásra. Ezért az eljárás elején 5 µl belső kontrollt szükséges hozzáadni. A felhasznált belső

kontroll mennyisége **kizárólag** az elúciós térfogattól függ. A belső kontrollt és a hordozó RNS-t (lásd. 8.1 DNS izolálás) csak az alábbiakhoz kell hozzáadni,

- lízis puffer és minta keveréke vagy
- közvetlenül a lízis pufferhez.

A belső kontrollt tilos a feldolgozandó mintához adni. Amennyiben a lízis pufferhez adta a belső kontrollt, ügyeljen arra, hogy a belső kontrollt és a lízis puffert és lízis puffert/hordozó RNS-t frissen készítse elő és azonnal használja fel (a keverék szobahőmérsékleten vagy hűtőben tárolva a belső kontroll néhány órán belül tönkremegy, ezáltal csökkent extrakciós hatékonyságot okozhat). Kérjük, hogy a belső kontrollt és a hordozó RNS-t **ne** adja közvetlenül a mintához.

A belső kontroll opcionálisan **kizárólag az esetleges PCR-gátlás ellenőrzésére is alkalmazható** (lásd 2. ábra). Ebben az esetben, adjon reakciónként 0.5 µl belső kontrollt és 15 µl HSV LC *Master-t*. Minden egyes PCR reakcióhoz 15 µl master mixet készítsen az előzőekben* leírtak alapján és adjon hozzá 5 µl tisztított mintát. Amennyiben a PCR futtatást több mintára készíti elő, a mintaszámokhoz viszonyítva növelje a HSV LC *Master* és a belső kontroll térfogatát (lásd 8.4 PCR előkészítése).

Az *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit-ek és az *artus* VZV LC PCR Kit-ek ugyanazt a belső kontrollt (IC) tartalmazzák. Az *artus* EBV LC PCR Kit-ek és az *artus* CMV LC PCR Kit-ek is ugyanazt a belső kontrollt (IC) tartalmazzák.

8.3 Kvantitálás

A mellékelt kvantifikálási standardok (*HSV1 LC/RG/TM QS 1 – 4* & *HSV2 LC/RG/TM QS 1 – 4*) a korábban már megtisztított mintáknak megfelelően kerülnek kezelésre, térfogatuk is azonos (5 µl). A standard görbe *LightCycler* készülékeken történő létrehozásához mind a 4 kvantifikálási standardot használni kell a HSV-1 és HSV-2 esetében is és a “*Sample Loading Screen*” képernyőn standardként kell meghatározni specifikus koncentrációkkal (lásd “*LightCycler Operator’s Manual*” (*LightCycler kezelési útmutató*), 3.5 verzió, B fejezet, 2.4. “*Sample Data Entry*” Minta adatbevitel). Az előbbieket szerint is fel lehet használni a standard görbéket a későbbi futtatásokhoz, feltéve, ha legalább egy adott koncentrációjú standardot alkalmazunk a jelenlegi futtatás során. Erre a célra a korábban létrehozott standard görbét kell importálni (lásd *LightCycler Operator’s Manual* (*LightCycler kezelési útmutató*), 3.5 verzió, B fejezet, 4.2.5. “*Quantitation with an External Standard Curve*” (Kvantitálás külső standard görbével)). Azonban ez a kvantitációs módszer az eredményekben eltéréseket hozhat létre az eltérő PCR futások különbözősége miatt.

Amennyiben több, mint egy Herpes *artus* rendszert használ egy PCR futás alkalmával kérjük, hogy az eltérő rendszereket a megfelelő kvantitációs standardokkal elkülönítve vizsgálja.

Megjegyzés: A kvantifikálási standardok mértékegysége kópia/μl. A standard görbe által meghatározott értékeket az alábbi egyenlet segítségével lehet átszámolni a minták kópia/ml értékeire:

Eredmény (kópia/ml) =	$\frac{\text{Eredmény (kópia/}\mu\text{l)} \times \text{Elúciós térfogat (}\mu\text{l)}}{\text{Mintatérfogat (ml)}}$
-----------------------	--

Felhívjuk figyelmét, hogy a fenti egyenletbe a kezdeti minta térfogatával kell számolni. Ezt figyelembe kell venni, amikor a minta térfogata különösen a nukleinsav extrakció során megváltozik (pl. centrifugálásnál csökken a térfogat vagy növekedhet a térfogat az izoláláshoz szükséges térfogat kiegészítési korrekció után).

Fontos: Az *artus* rendszer kvantitatív irányelvei a *LightCycler* készülék elérhetőek az alábbi weboldalon

www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX (Technical Note for quantitation on the *LightCycler* 1.1/1.2/1.5 or *LightCycler* 2.0 Instrument).

8.4 PCR előkészítése

Győződjön meg arról, hogy a hűtőblokk csakúgy, mint a kapilláris adapterek (*LightCycler* készülék tartozékai) +4°C -on előre hűtött állapotban vannak. Helyezze a hűtőblokk adapterébe a kívánt számú *LightCycler* kapillárisokat. Kérjük győződjön meg róla, hogy legalább egy *kvantifikációs standardot* (*HSV1 LC/RG/TM QS 1 – 4* & *HSV2 LC/RG/TM QS 1 – 4*) továbbá egy negatív kontrollt (*Water, PCR grade, Víz, PCR-minőségű*) tartalmaz a PCR rendszer futásonként. A standard görbe létrehozásához, a kitben lévő összes *kvantifikációs standardot* (*HSV1 LC/RG/TM QS 1 – 4* & *HSV2 LC/RG/TM QS 1 – 4*) tartalmaznia kell a PCR futásnak. Minden használat előtt az összes reagenst teljesen olvassza fel, ezután keverje meg (pipetázza többször fel és le, vagy röviden vortexelje), majd röviden centrifugálja.

Ha belső kontrollt használ a **DNS-izolálási eljárás kontrollálására és az esetleges PCR-gátlás ellenőrzésére**, azt már adja hozzá az izoláláshoz (lásd 8.2 *Belső kontroll*). Ebben az esetben kövesse az alábbi pipettázási vázlatot (vázlatos áttekintés 1. ábra):

	Mintaszám	1	12
1. Master mix előkészítése	<i>HSV LC Master</i>	15 µl	180 µl
	<i>HSV LC IC</i>	0 µl	0 µl
	Teljes térfogat	15 µl	180 µl
2. PCR assay előkészítése	Master Mix	15 µl	15 µl egyenként
	Minta	5 µl	5 µl egyenként
	Teljes térfogat	20 µl	20 µl egyenként

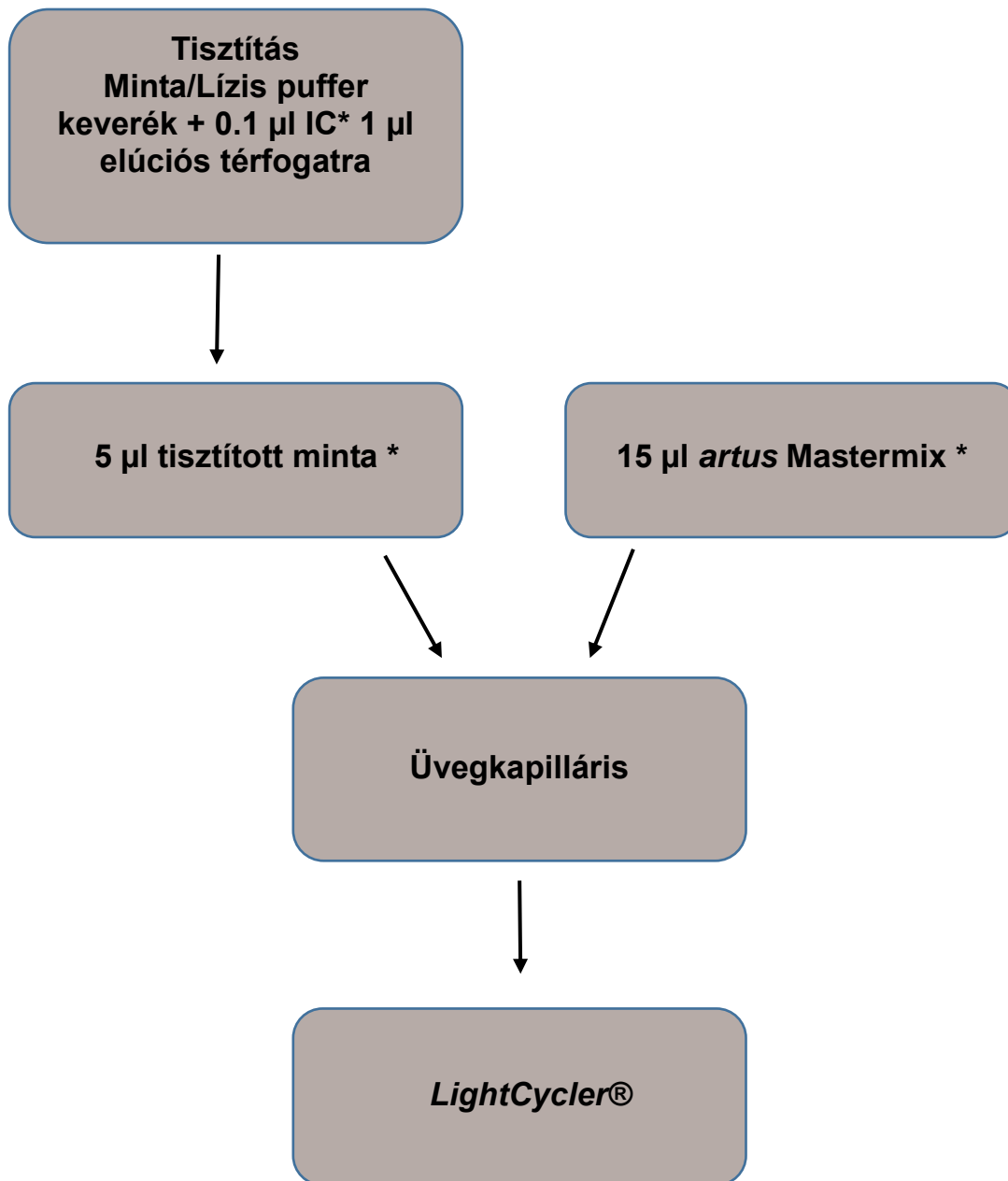
Ha belső kontrollt **csak az esetleges PCR-gátlás ellenőrzésére használja**, közvetlenül az *HSV LC Master*-hez adja azt. Ebben az esetben, kérjük az alábbi pipettázási vázlatot kövesse (vázlatos áttekintés 2. ábra):

	Mintaszám	1	12
1. Master mix előkészítése	<i>HSV LC Master</i>	15 µl	180 µl
	<i>HSV LC IC</i>	0.5 µl	6 µl
	Teljes térfogat	15.5 µl*	186 µl*
2. PCR assay előkészítése	Master Mix	15 µl*	15 µl egyenként*
	Sample	5 µl	5 µl egyenként
	Teljes térfogat	20 µl	20 µl egyenként

* A belső kontroll hozzáadása általi térfogatnövekedés elhanyagolható a PCR assay előkészítése során. A detektálási rendszer érzékenységét nem befolyásolja.

Pipetázzon 15 µl master mixet minden egyes kapilláris műanyag tartályába. Ezután adjon hozzá 5 µl-t az eluált minta DNS-ből. Ennek megfelelően minden standard sorozat legalább egy 5 µl-nyi kvantitációs standardját pozitív kontrollként (*HSV1 LC/RG/TM QS 1– 4 & HSV2 LC/RG/TM QS 1 – 4*) kell használni és 5 µl vizet (*Water, PCR grade, Víz PCR-minőségű*) negatív kontrollként. Zárja le a kapillárisokat. A keverékek műanyag tartályból kapillárisokba való juttatását a kapillárisokat tartalmazó adapterek asztali centrifugálásával érhetjük el, 10 másodpercig maximum 400 x g (2,000 rpm).

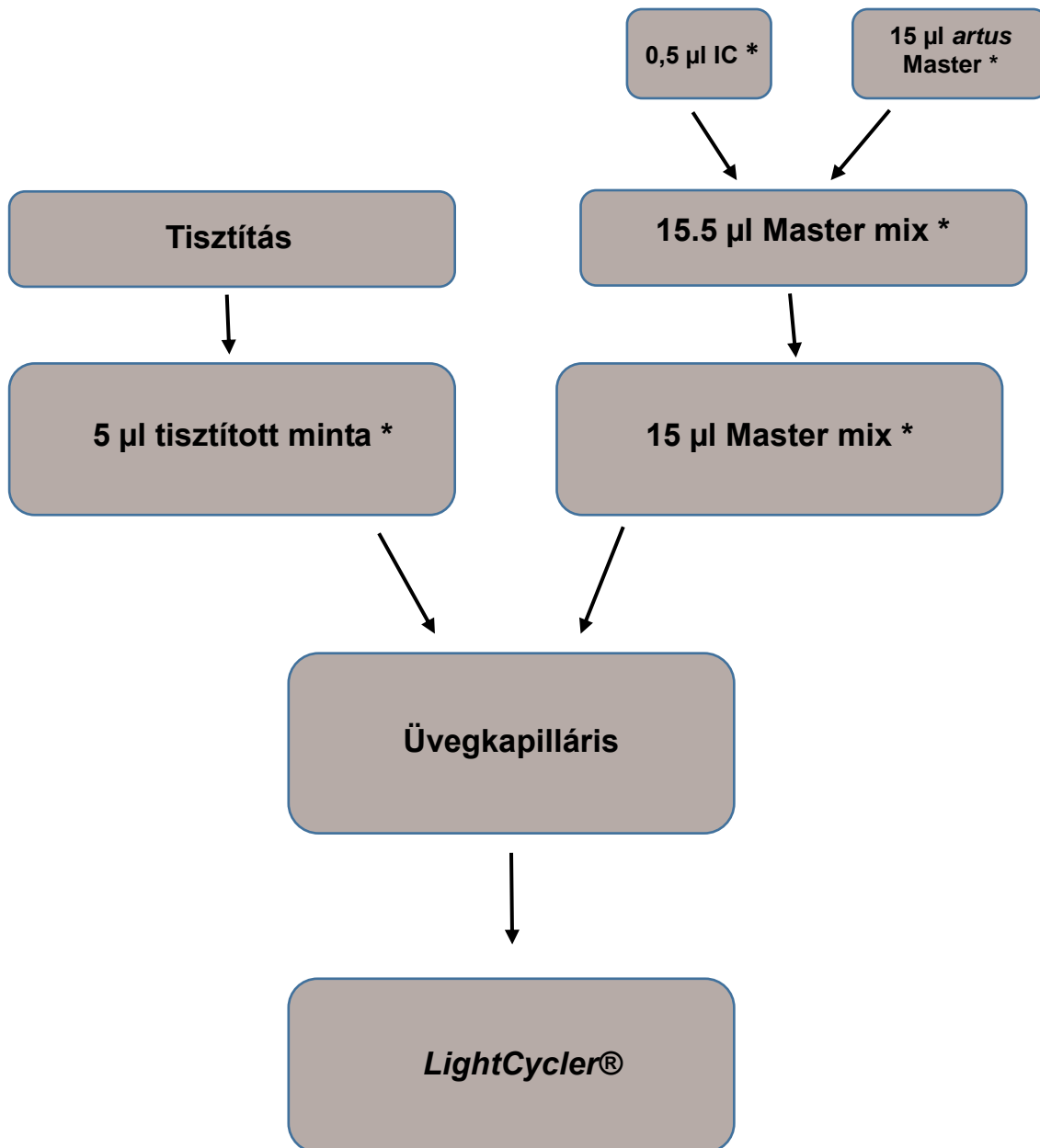
A Belső kontroll hozzáadása a tisztítási eljáráshoz



1.ábra: Sematikus munkafolyamat a tisztítási eljárás és PCR gátlás ellenőrzéséhez.

*Kérjük ügyeljen arra, hogy az oldatot megfelelően rázza össze, jól keverje fel és óvatosan centrifugálja le.

Az *artus* master mixhez történő belső kontroll hozzáadása



2.ábra: Sematikus munkafolyamat a PCR gátlás ellenőrzéséhez.

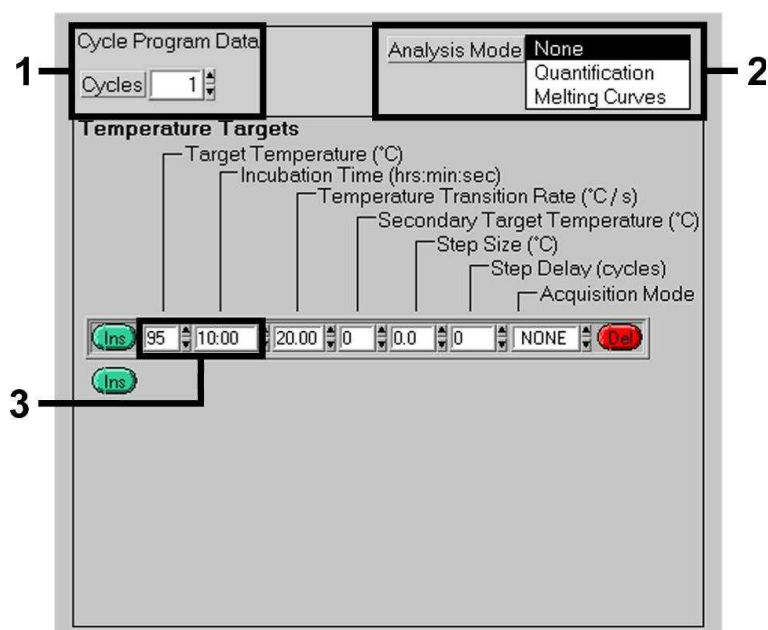
* Kérjük ügyeljen arra, hogy az oldatot megfelelően rázza össze, jól keverje fel és óvatosan centrifugálja le.

8.5 LightCycler készülék programozása

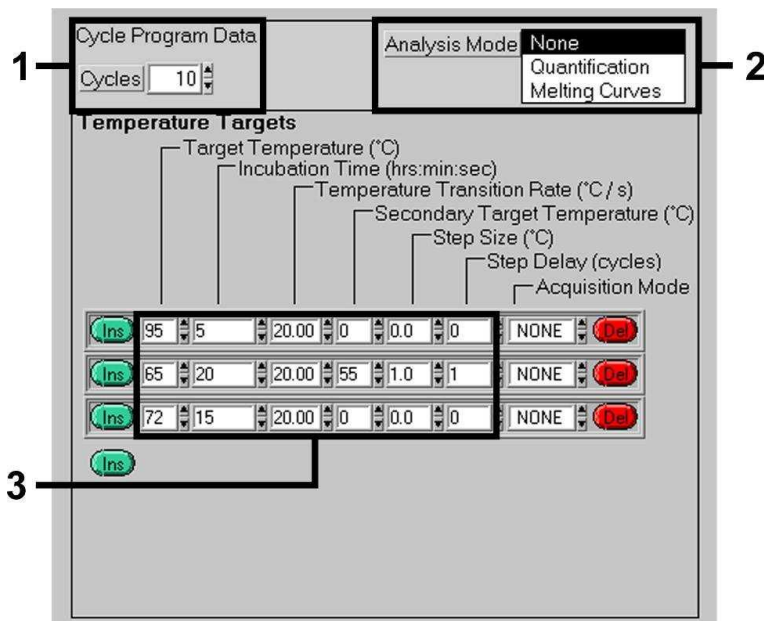
Herpesz simplex vírus DNS detektálására hozzon létre egy hőmérséklet profilt a *LightCycler* készüléken a következő öt lépés alapján (lásd 3. – 7. ábra).

- A. Hot Start enzim kezdeti aktiválása 3. ábra
- B. “Touch Down” lépés 4. ábra
- C. DNS amplifikáció 5. ábra
- D. Olvadási görbe 6. ábra
- E. Hűtés 7. ábra

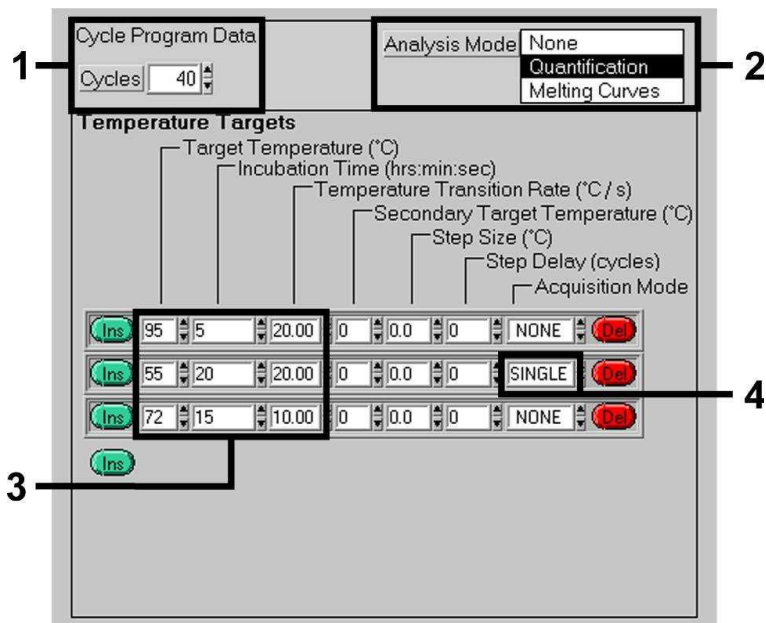
Különösen fordítson figyelmet az “*Analysis Mode*”, “*Cycle Program Data*” és a “*Temperature Targets*” beállításaira. Az illusztrációkban ezeket a beállításokat vastag keretbe foglalva találja. A *LightCycler* készülék további programozásra vonatkozó információit a *LightCycler Operator’s Manual (LightCycler készülék Felhasználói kézikönyv)*-ben találja.



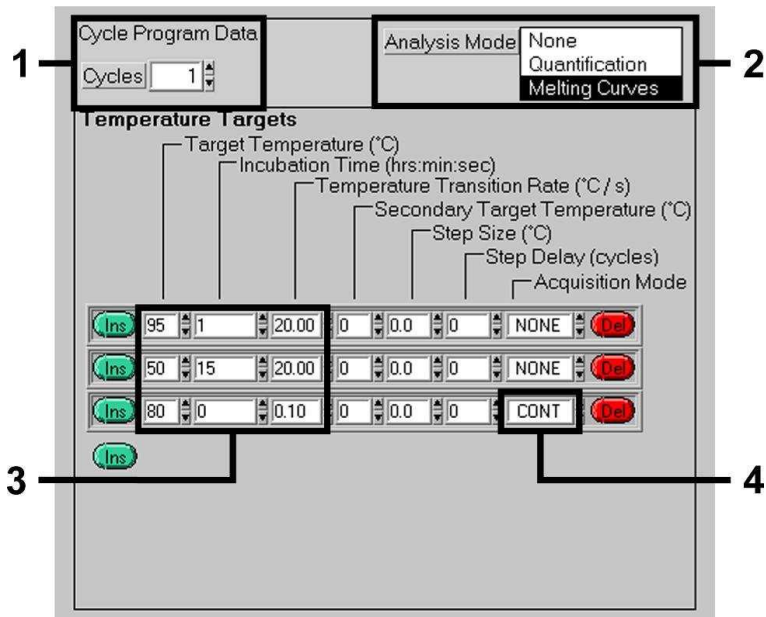
3. ábra: Hot Start enzim kezdeti aktiválása.



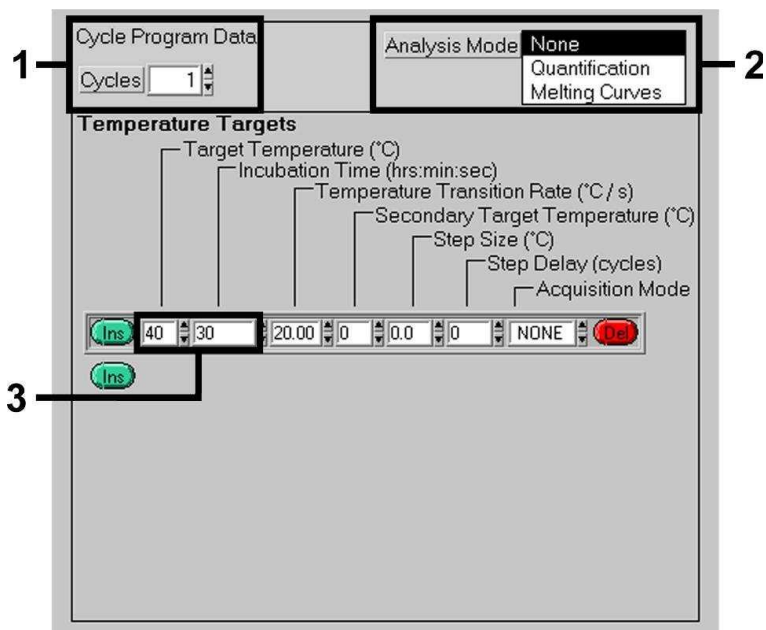
4. ábra: "Touch Down" lépés.



5. ábra: DNS amplifikáció.



6. ábra: Olvadási görbe.



7. ábra: Hűtés.

9. Adatelemzés

Többszínű vizsgálatok során interferencia alakulhat ki a fluoriméterek csatornái között. A *LightCycler* készülék szoftvere tartalmaz egy *Color Compensation File*-t, ami ezeket az interferenciákat hivatott kiküszöbölni. Nyissa meg ezt a fájlt a PCR futás előtt vagy alatt, hogy aktiválja “*Choose CCC File*”-t vagy a “*Select CC Data*” gombot. Amennyiben nincs “*Color Compensation File*” telepítve, hozza létre a fájlt a *LightCycler Operator’s Manual (LightCycler felhasználói kézikönyv)*-ben leírt utasításokat követve. A “*Color Compensation File*” aktiválása után, a fluoriméter F1, F2 és F3 csatornájában megjelenő jelek szeparálva lesznek. A PCR analízisre használt *artus HSV-1/2 LC PCR Kit* segítségével nyert adatok HSV PCR analitikai vizsgálatához kérjük válassza ki a fluoreszcencia kijelző opciót “F2/Back-F1”-et, míg a *belső kontroll* PCR eredményeihez az “F3/Back-F1”-et. A kvantitatív vizsgálatok futásához kérjük kövesse a 8.3 Kvantitálás fejezetben található utasításokat és a kvantitálás technikai megjegyzéseit a *LightCycler 1.1/1.2/1.5* vagy *LightCycler 2.0* készülék esetén a következő weboldalon: www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX.

Amennyiben több, mint egy Herpes *artus* rendszert használ egy PCR futás alkalmával kérjük, hogy az eltérő rendszereket a megfelelő kvantitációs standardokkal elkülönítve vizsgálja. Ez a HSV két szubtypusának a vizsgálatára is vonatkozik. Így, HSV-1 minták kvantitatív vizsgálatához a standard görbét a HSV-1 standarddal készítsük (*HSV1 LC/RG/TM QS 1 – 4*). Ennek megfelelően járjon, a HSV-2 esetében, használja a HSV-2 standardok alapján vizsgált standard görbéket (*HSV2 LC/RG/TM QS 1 – 4*).

A következő eredmények fordulhatnak elő:

1. Detektált jel a fluoriméter F2/Back-F1 csatornájában.

A vizsgálat eredménye pozitív: A minta HSV DNS-t tartalmaz.

Ebben az esetben az “F3/Back-F1” csatornában detektált jel elhanyagolható, mivel a magas HSV DNS kezdeti koncentráció (pozitív jel az “F2/Back-F1” csatornában) csökkent vagy hiányzó *belső kontroll* fluoreszcens jelhez vezethet az “F3/Back-F1” csatornában (kompetíció).

Különbséget lehet tenni a HSV-1 és HSV-2 ampikonok között az oladási pont alapján (F2/Back-F1 csatorna, “*melting curve*” *oladási görbe programozása*); ez HSV-1 esetén, 69°C és HSV-2 esetén, 66°C. A változó extrakciós körülményektől és ennek eredményeként a pufferező közegtől ezek az értékek 1 – 2°C-al eltérhetnek. Azonban ez az eltérés mind a két szubtypusra értendő.

2. A fluoriméter “F2/Back-F1” csatornájában nincs detektált jel. Ugyanakkor, ezzel egyidőben jelenik meg a *belső kontrollból* a fluoreszcens jel az “F3/Back-F1” csatornában.

A mintában nem detektálható HSV DNS. Negatívnak tekinthető.

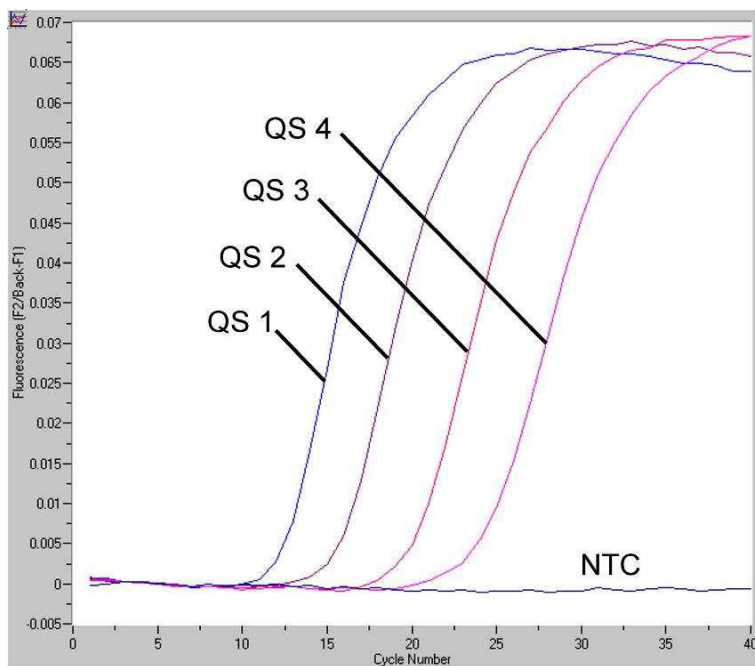
A negatív HSV PCR esetében a belső kontroll detektált jele alapján kizárható a PCR gátlás lehetősége.

3. Nincs detektált jel az "F2/Back-F1" vagy az "F3/Back-F1" csatornában.

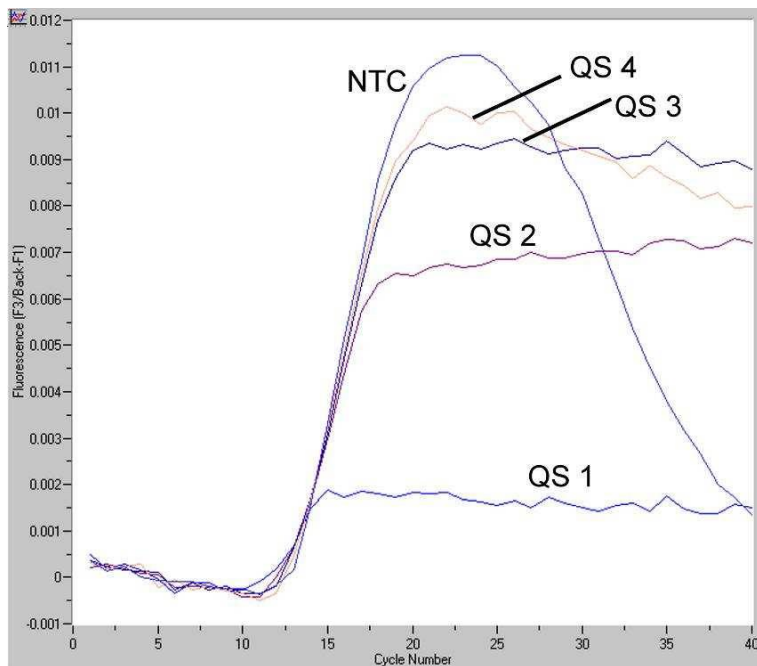
Nem lehet diagnózisra következtetni.

A hibaforrásokat és ezek megoldására vonatkozó információkat a 10. Hibaelhárítási útmutatóban találja.

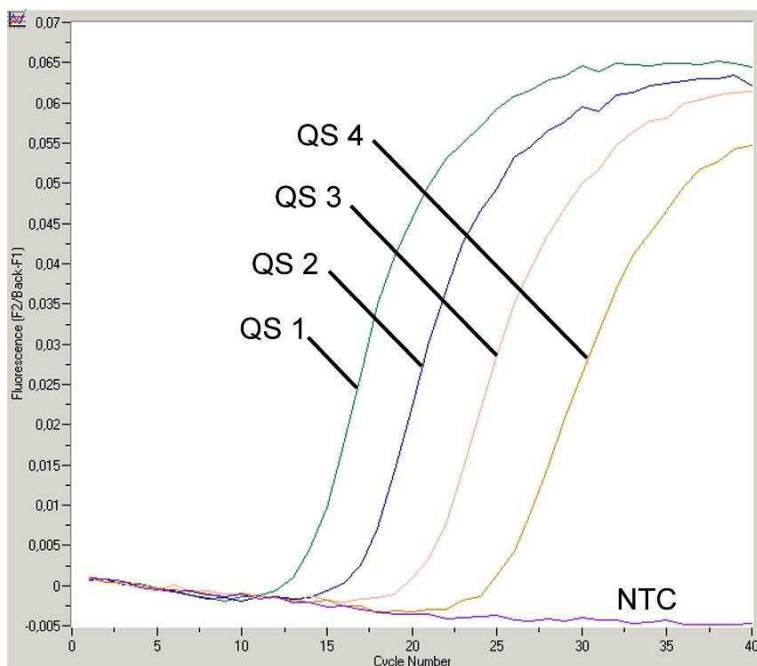
Példák a pozitív és negatív PCR reakciókra, valamint olvadási görbe használata a megkülönböztetésre a 8. ábrától a 12. ábráig található.



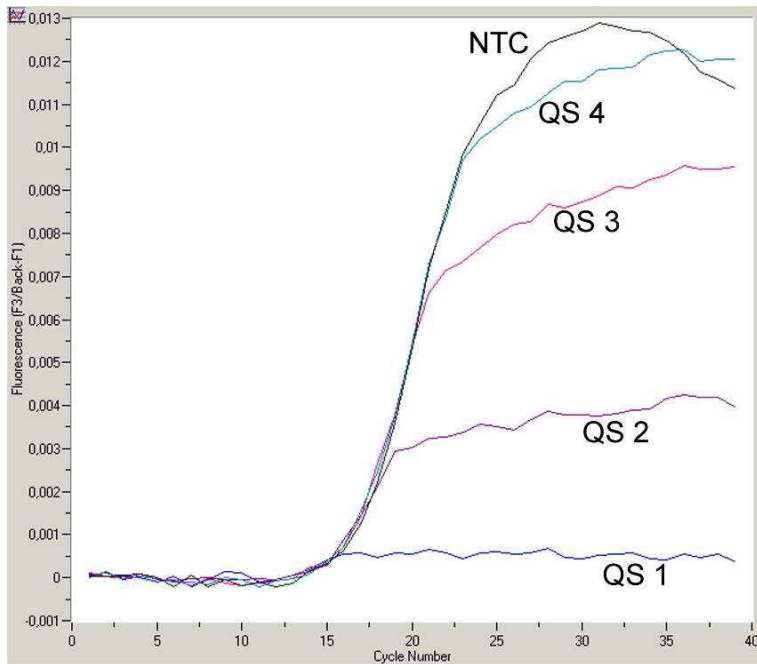
8. ábra: *Kvantitációs standardok* detektálása (*HSV1 LC/RG/TM QS 1 – 4*) az "F2/Back-F1" fluoriméter csatornában. NTC: nem-templát kontroll (negatív kontroll).



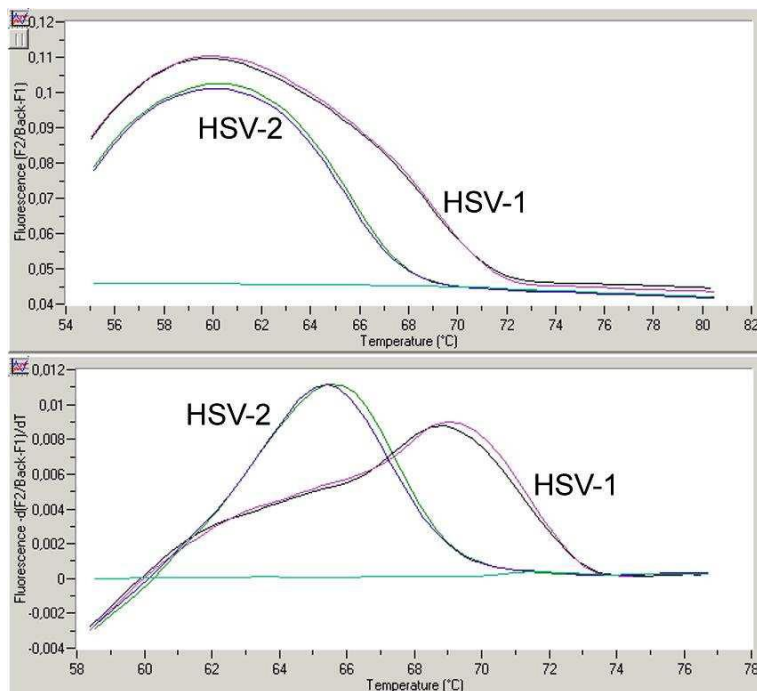
9. ábra: *Belső kontroll (IC) detektálása az “F3/Back-F1” fluoriméter csatornában a kvantitációs standardok (HSV1 LC/RG/TM QS 1 – 4) egyidejű amplifikálásával. NTC: nem-templát kontroll (negatív kontroll).*



10. ábra: *Kvantitációs standardok detektálása (HSV2 LC/RG/TM QS 1 – 4) a fluoriméter “F2/Back-F1” csatornájában. NTC: nem-templát kontroll (negatív kontroll).*



11. ábra: *Belső kontroll (IC)* detektálása a fluoriméter “F3/Back-F1” csatornájában a kvantitációs standardok (**HSV2** LC/RG/TM QS 1-4) egyidejű amplifikálásával. NTC: nem-templát kontroll (negatív kontroll).



12. ábra: HSV-1 és HSV-2 megkülönböztetésének szemléltetése a fluoriméter “F2/Back-F1” csatornájában (Programme *Melting Curve*).

10. Hibaelhárítási útmutató

Nincs jel a pozitív kontrollokban (HSV1 LC/RG/TM QS 1 – 4 & HSV2 LC/RG/TM QS 1 – 4) a fluoriméter “F2/Back-F1” csatornájában:

- A PCR adatok elemzéséhez választott fluoriméter csatorna nem felel meg a protokollnak.
 - ➔ Az adatelemzéshez válassza ki az “F2/Back-F1” fluoriméter csatornát a HSV analitikai PCR (analytical HSV PCR) és a “F3/Back-F1” fluoriméter csatornát a belső kontroll PCR (*Internal Control* PCR) detektálásához.
- *LightCycler* készülék hőmérséklet profiljának helytelen programozása.
 - ➔ Hasonlítsa össze a hőmérséklet profilt a protokollal (lásd 8.5 *LightCycler* készülék programozása).
- PCR reakció helytelen konfigurálása.
 - ➔ Ellenőrizze a munkalépéseket a pipettázási vázlat alapján (lásd 8.4 PCR előkészítése) és ismétlje meg a PCR futtatást, amennyiben szükséges.
- A kit egy vagy több összetevőjének a tárolási körülménye nem a 2. Tárolás fejezetben leírt útmutatások szerint történt vagy az *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit lejárt.
 - ➔ Kérjük ellenőrizze a tárolási körülményeket és a reagensek lejárat dátumát (lásd a kit jelzésinél), használjon új kitet, amennyiben szükséges.

Belső kontroll fluoreszcens jele gyengén vagy egyáltalán nem detektálható a fluoriméter “F3/Back-F1” csatornájában, ezzel egyidejűleg az “F2/Back-F1” csatornában jel detektálható.

- A PCR körülményei nem felelnek meg a protokollnak.
 - ➔ Ellenőrizze a PCR körülményeket (lásd fentebb) és ismétlje meg a PCR futtatást a helyes beállításokkal, amennyiben szükséges.
- A PCR gátolt.
 - ➔ Bizonyosodjon meg róla, hogy a javasolt izoláló módszert használta (lásd 8.1 DNS izolálás) és szorosan ragaszkodjon a gyártó utasításaihoz.
 - ➔ Győződjön meg arról, hogy a DNS izolálás alatt a javasolt további centrifugálási lépés kivitelezése az elúció előtt megtörtént, annak érdekében, hogy a visszamaradt etanol eltávolítsa a rendszerből. (lásd 8.1 DNS izolálás).
- Az extrakció során a DNS elveszett.
 - ➔ Amennyiben a belső kontroll hozzá lett adva az extrakcióhoz, a belső kontroll meglévő jele utalhat a DNS elvesztésére az extrakciós lépés alatt. Győződjön meg arról, hogy a javasolt izolálási módszer szerint járt

el. (lásd 8.1 DNS izolálás) és szorosan ragaszkodjon a gyártó utasításaihoz.

- A kit egy vagy több összetevőjének a tárolási körülménye nem a 2. Tárolás fejezetben leírt útmutatások szerint történt vagy az *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit lejárt.
 - Kérjük ellenőrizze a tárolási körülményeket és a reagensek lejárat dátumát (lásd a kit jelzésinél), használjon új kitet, amennyiben szükséges.

Az analitikai PCR detektált jelei negatív kontrollokkal a fluoriméter “F2/Back-F1” csatornájában.

- Szennyeződés történt a PCR előkészítése során.
 - Ismétlje meg a PCR futást replikátumban új reagensekkel.
 - Amennyiben lehetséges, zárja le a PCR csövet közvetlenül a vizsgálati minta hozzáadása után.
 - A pozitív kontrollt szigorúan a végén pipettázza az elegyhez.
 - Győződjön meg róla, hogy a munkafelület és a készülékek tisztítása rendszeresen megtörténjen.
- Szennyeződés történt a extrakció során.
 - Ismétlje meg az extrakciót és a PCR futást a vizsgálni kívánt mintával és új reagensekkel.
 - Győződjön meg róla, hogy a munkafelület és a készülékek tisztítása rendszeresen megtörténjen.

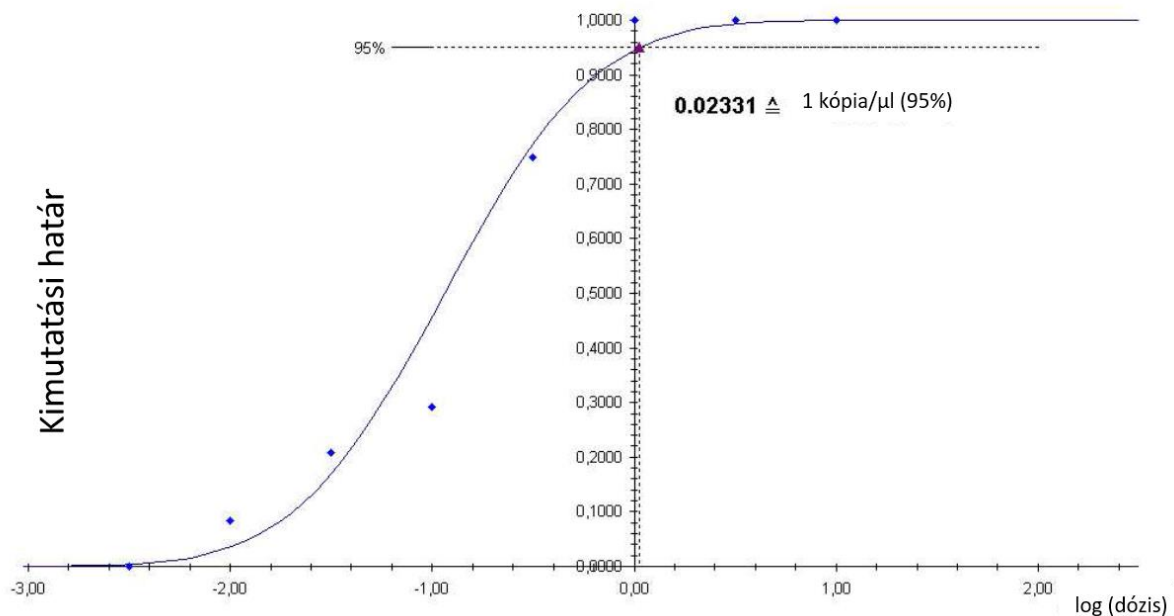
Ha bármilyen további kérdése van vagy ha probléma merülne fel kérjük forduljon bizalommal a műszaki szolgálatunkhoz.

11. Teljesítmény-jellemzők

11.1 Analitikai érzékenység

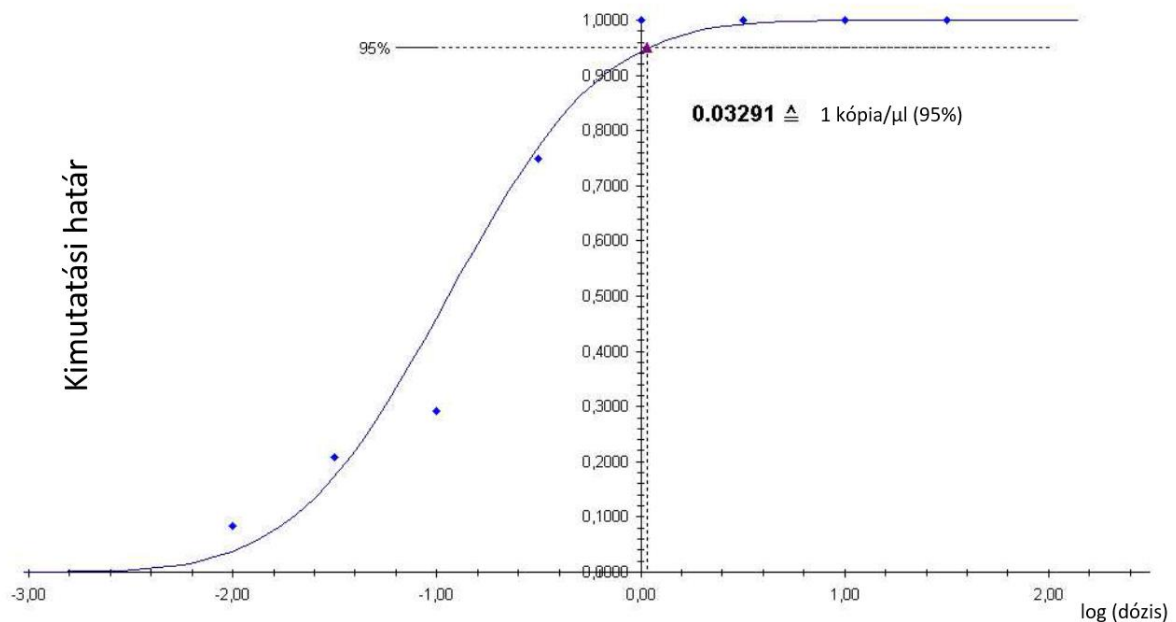
Az *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit analitikai érzékenységének a meghatározásához egy $31.6 - 0.01$ nominális HSV-1 és HSV-2 kópia/ μl -nek megfelelő* standard hígítási sort kell készíteni és vizsgálni *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit segítségével. A vizsgálatot három különböző napon nyolc párhuzamos mintával végezték. Az eredményeket probit-elemzéssel határozták meg. A probit-elemzés grafikai megjelenítése a 13. ábrán és 14. ábrán látható. Az *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit HSV-1 és HSV-2 analitikai kimutatási határát egységesen 1 kópia/ μl -ben állapították meg ($p = 0.05$). Ez azt jelenti, hogy az 1 kópia/ μl 95%-a detektálásra kerül.

Probit elemzés: Herpesz simplex vírus 1 (*LightCycler*)



13. ábra: Az *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit (HSV-1) analitikai érzékenysége.

Probit elemzés: Herpesz simplex vírus 2 (*LightCycler*)



14. ábra: Az *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit (**HSV-2**) analitikai érzékenysége.

11.2 Specifititás

Az *artus* HSV-1/2 LC PCR kit specifitása elsősorban és leginkább a primerek és próbák kiválasztásán, illetve a szigorúan meghatározott reakciófeltételeken alapul. A primerek és próbák a lehetséges homológiákra ellenőrzésre kerültek szekvencia-összehasonlítási elemzéssel minden génbankokban publikált szekvenciával szemben. Minden releváns törzs detektálhatóság ezáltal biztosítva van.

Emellett a specifitást 30 különböző HSV-negatív agy-gerincvelői folyadékmintán is validálták. Ezek nem adtak jelet az *HSV LC* Master mixben található primerekkel és próbákkal.

Az *artus* HSV-1/2 LC PCR kit lehetséges keresztreaktivitása az 1. táblázatban található kontrollcsoporttal lett tesztelve. A tesztelt patogének egyike sem mutatott keresztreaktivitást.

1. táblázat: A kit specificitásának vizsgálata potenciális keresztreaktív patogénekkal

Kontrollcsoport	HSV-1/2 (F2/Back-F1)	Belső kontroll (F3/Back-F1)
Humán herpeszvírus 3 (Varicella-zoster vírus)	–	+
Humán herpeszvírus 4 (Epstein-Barr vírus)	–	+
Humán herpeszvírus 5 (Cytomegalovírus)	–	+
Humán herpeszvírus 6 A	–	+
Humán herpeszvírus 6 B	–	+
Humán herpeszvírus 7	–	+
Humán herpeszvírus 8 (Kaposi szarkómával társult herpeszvírus)	–	+

11.3 Precízió

Az *artus* HSV-1/2 TM PCR Kit precíziós adatai által meghatározhatjuk a vizsgálatok teljes variabilitásának összegét. A teljes variabilitás a vizsgálaton belüli variabilitásból (**intra-assay variability**) (azonos koncentrációjú minták egy kísérletben mért eredményeinek variabilitása), a vizsgálatok közötti variabilitásból (**inter-assay variability**) (egy laboratóriumon belül különböző, de azonos típusú készüléken, több operator által végzett vizsálatok eredményeinek variabilitása) és a gyártási tételek közötti variabilitásból (**inter-batch variability**) (különböző gyártási tételek felhasználásával végzett vizsgálatok eredményeinek variabilitása) áll. A mért adatok alapján meghatározásra került a patogén-specifikus, illetve a belső kontroll PCR eredmények szórása, varianciája és variációs koefficiense.

Az *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit pontossági adatai a legkisebb koncentrációjú kvantitációs standard (QS 4; 10 kópia/μl) használatával határozták meg. A vizsgálatot 8 párhuzamos mintával végezték. A pontossági adatokat az amplifikációs görbe CT-értéke alapján határozták meg (CT: küszöbciklus, lásd 2. és 4. táblázat). Továbbá a pontossági adat kópia/μl-ben megadott kvantitatív eredményét a megfelelő Ct használatával határozták meg (lásd 3. és 5. táblázat). Ezen eredmények alapján bármely, a fenti koncentrációjú adott minta átlagos statisztikai eloszlása: 1.67 % (Ct; HSV-1), 1.95 % (Ct; HSV-2) vagy 20.66 % (konc., HSV-1) és 22.42 % (konc., HSV-2), belső kontroll detektálásakor 1.23 % (Ct; HSV-1) és 1.04 % (Ct; HSV-2). Ezek az értékek a meghatározott variabilitás minden egyes értéken teljességén alapszanak.

2. tábla A HSV-1 precíziós adatai a Ct értékek alapján

	Standard deviáció	Variancia	Variációs koefficiens [%]
Intra-assay variabilitás: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	0.27	0.07	1.13
Intra-assay variabilitás: Belső kontroll <i>(Internal Control)</i>	0.03	0.00	0.23
Inter-assay variabilitás: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	0.39	0.15	1.66
Inter-assay variabilitás: Belső kontroll <i>(Internal Control)</i>	0.12	0.01	0.99
Inter-batch variabilitás: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	0.41	0.17	1.72
Inter-batch variabilitás: Belső kontroll <i>(Internal Control)</i>	0.17	0.03	1.40
Teljes variancia: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	0.39	0.15	1.67
Teljes variancia: Belső kontroll <i>(Internal Control)</i>	0.15	0.02	1.23

3. tábla A HSV-1 precíziós adatai kvantitatív eredmények alapján (kópia/μl)

	Standard deviáció	Variancia	Variációs koefficiens [%]
Intra-assay variabilitás: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	1.76	3.08	17.34
Inter-assay variabilitás: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	2.02	4.08	19.82
Inter-batch variabilitás: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	2.37	5.64	23.10
Teljes variancia: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	2.11	4.46	20.66

4.táblázat: A HSV-2 precíziós adatai a Ct értékek alapján

Herpesz simplex vírus 2	Standard deviáció	Variancia	Variációs koefficiens [%]
Intra-assay variabilitás: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	0.22	0.05	0.90
Intra-assay variabilitás: Belső kontroll (Internal Control)	0.04	0.00	0.33
Inter-assay variabilitás: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	0.62	0.38	2.51
Inter-assay variabilitás: Belső kontroll (Internal Control)	0.12	0.01	0.98
Inter-batch variabilitás: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	0.38	0.14	1.52
Inter-batch variabilitás: Belső kontroll (Internal Control)	0.14	0.02	1.12
Teljes variancia: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	0.48	0.23	1.95
Teljes variancia: Belső kontroll (Internal Control)	0.13	0.02	1.04

5.táblázat: A HSV-1 precíziós adatai kvantitatív eredmények alapján (kópia/μl)

Herpesz simplex vírus 2	Standard deviáció	Variancia	Variációs koefficiens [%]
Intra-assay variabilitás: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	1.39	1.94	13.82
Inter-assay variabilitás: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	2.86	8.20	27.46
Inter-batch variabilitás: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	1.96	3.85	19.27
Teljes variancia: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	2.30	5.31	22.42

11.4 Robosztusság

Az *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit robusztusságának ellenőrzése lehetővé teszi a kit teljes hibaszázalékának meghatározását. 30 HSV negatív agy-gerincvelői folyadékmintát 5.4 kópia/μl elúciós térfogatú HSV-1 kontroll DNS-el kezeltek (kimutatási határ háromszoros koncentrációja). A QIAamp DNA Mini Kit-el (QIAGEN; lásd 8.1 DNS izolálás) történő extrakció után az *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit segítségével vizsgálták ezeket a mintákat. A HSV-2 vizsgálata hasonló módon történt az előzőekhez. (30 agy-gerincvelői folyadékminta, 6 copies/μl HSV-2 kontroll DNS). Az összes HSV-1 és HSV-2 minta hibaszázaléka 0 % volt. Továbbá, a belső kontroll robusztusságának értékelése a 30 HSV negatív agy-gerincvelői minta tisztítása és vizsgálata alapján történik. A teljes hibaszázalék 0 % volt. Így az *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit robusztussága ≥ 99 %.

11.5 Reprodukálhatóság

A reprodukálhatósági adatok lehetővé teszik az *artus* HSV-1/2 LC PCR kit teljesítmény-jellemzőinek rendszeres mérését, valamint más termékekkel történő hatékonysági összehasonlítást. Ezek az adatok laboratóriumi szakmai alkalmassági programokban történő részvételből származnak.

11.6 Diagnosztikai kiértékelés

Jelenleg az *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit egy sor értékelő tanulmányban vesz részt.

12. A termék használatának korlátjai

- Minden reagens kizárólag in vitro diagnosztikai célra használható.
- Ezt a terméket kizárólag olyan személy használhatja, aki képzett és gyakorlott az in vitro diagnosztikai eljárások területén.
- Az optimális PCR-eredmények eléréséhez a felhasználói kézikönyv pontos követése szükséges.
- Figyelni kell a dobozon és minden összetevő címkéjén található lejárat időkre. Ne használjon lejárt reagenst.

13. Figyelmeztetések és óvintézkedések

Az *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit további információjáért, kérjük olvassa el a megfelelő biztonsági adatlapokat (SDS). Ezek kényelmesen hozzáférhetőek és tömörített PDF formátumban megtalálhatóak online a www.qiagen.com/safety címen.

14. Minőség-ellenőrzés

A QIAGEN ISO 9001 és ISO 13485-minősített minőség-ellenőrzési rendszerének megfelelően az *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit minden egyes gyártási tételét leellenőrzik, hogy az megfelel-e az előírt paramétereknek, ezzel biztosítják a kit egyenletes és kifogástalan minőségét.

15. Hivatkozások

(1) Mackay IM. Real-time PCR in the microbiology laboratory. Clin. Microbiol. Infect. 2004; 10 (3): 190 – 212.

(2) Whiley DM, Szymis MW, Mackay IM, Sloots TP. Preliminary comparison of three *LightCycler* PCR assays for the detection of Herpes Simplex virus in swab specimens. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2003; 22: 764 – 767.

16. Jelmagyarázat



Lejárat



Tételszám



Jogi gyártó



Katalógusszám



Anyagszám



Kézikönyv



In vitro diagnosztikus orvosi eszköz



<N> vizsgálat elvégzéséhez elegendő reagenst tartalmaz



Globális kereskedelmi áruazonosító szám (GTIN)



<N>

Hőmérséklet-korlátozás



Kvantitációs standard

QS

Belső kontroll

IC

Tételszám

artus HSV-1/2 LC PCR Kit

Védjegyek és Jogi nyilatkozat

QIAGEN®, QIAamp®, *artus*®, BioRobot®, EZ1®, UltraSens® (QIAGEN Group); *ABI PRISM*®, MicroAmp®, GeneAmp® (Life Technologies Corporation).

Jelen dokumentumban használt bejegyzett elnevezések, védjegyek stb. törvény által védettnek tekintendők abban az esetben is, ha specifikusan ez nincs feltüntetve.

Az *artus* HSV-1/2 TM PCR Kit, a BioRobot EZ1 Workstation (munkaállomás) és az EZ1 DSP Virus Kit, valamint a Card (kártya) az in vitro diagnosztikai orvostechikai eszközökről szóló 98/79/EC direktíva alapján CE-jelöléssel rendelkezik. Nem minden országban elérhető.

The QIAamp Kitek általános laboratóriumi használatra javasolt. Nem tartunk igényt és képviselőt a diagnózisra, megelőzésre vagy a betegség kezelésére irányuló információ adással kapcsolatban.

Az *artus* PCR Kitek beszerzése korlátozott engedéllyel történik, a polimeráz láncreakció (PCR) eljárás során humán és állatgyógyászati in vitro diagnosztikai használatra javasolt thermal cycler készülékkel együtt. A PCR eljárás automatikus teljesítménye a kezdeti előfizetési díj hatálya alá tartozik, akár az Applied Biosystems felé fizet vagy Ön pl. felhatalmazott thermal cycler vásárló. A PCR eljárás hatálya alá tartoznak az Egyesült Államok-beli szabadalmak külföldi szabadalmak is Nos. 5,219,727 és 5,322,770 és 5,210,015 és 5,176,995 és 6,040,166 és 6,197,563 és 5,994,056 és 6,171,785 és 5,487,972 és 5,804,375 és 5,407,800 és 5,310,652 és 5,994,056, melyek a F. Hoffmann-La Roche Ltd. tulajdona.

© 2016 QIAGEN, minden jog fenntartva.

www.qiagen.com

Australia ■ techservice-au@qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Belgium ■ techservice-bnl@qiagen.com

Brazil ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

Canada ■ techservice-ca@qiagen.com

China ■ techservice-cn@qiagen.com

Denmark ■ techservice-nordic@qiagen.com

Finland ■ techservice-nordic@qiagen.com

France ■ techservice-fr@qiagen.com

Germany ■ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ■ techservice-hk@qiagen.com

India ■ techservice-india@qiagen.com

Ireland ■ techservice-uk@qiagen.com

Italy ■ techservice-it@qiagen.com

Japan ■ techservice-jp@qiagen.com

Korea (South) ■ techservice-kr@qiagen.com

Luxembourg ■ techservice-bnl@qiagen.com

Mexico ■ techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands ■ techservice-bnl@qiagen.com

Norway ■ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ■ techservice-sg@qiagen.com

Sweden ■ techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland ■ techservice-ch@qiagen.com

UK ■ techservice-uk@qiagen.com

USA ■ techservice-us@qiagen.com

