

Oktober 2015

artus[®] HSV-1 /2 Quant RG PCR Kit Handbuch



Version 1

Zur Verwendung mit den Rotor-Gene[®] Q
Thermocyclern

IVD

CE

REF



R1 MAT

4515265

altona Diagnostics GmbH,
Mörkenstraße 12, D-22767 Hamburg

1096239-DE

Vertrieb durch QIAGEN GmbH, QIAGEN Straße 1, D-40724 Hilden

Sample to Insight



Inhaltsverzeichnis

Vorgesehener Verwendungszweck.....	4
Zusammenfassung und Erläuterung	4
Informationen zu den Erregern	4
Verfahrensprinzip	5
Mitgelieferte Materialien.....	6
Kit-Inhalt.....	6
Erforderliche, nicht mitgelieferte Materialien	6
Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen	7
Warnungen.....	7
Vorsichtsmaßnahmen.....	8
Lagerung und Handhabung der Reagenzien	9
Kitkomponenten	9
Verfahren	10
DNA-Aufreinigung.....	10
Protokoll: Nachweis von HSV-1- und HSV-2-spezifischer DNA.....	13
Interpretation der Ergebnisse.....	24
Gültigkeit des Laufs.....	24
Qualitative Analyse	25
Quantitative Analyse	26
Anwendungseinschränkungen	28
Qualitätskontrolle.....	29
Leistungsmerkmale	29

Analytische Sensitivität	29
Analytische Spezifität.....	31
Linearer Bereich der Quantifizierung	32
Präzision	33
Wiederholbarkeit	36
Symbole	38
Hilfe zur Fehlersuche.....	39
Bestellinformationen	40

Vorgesehener Verwendungszweck

Das *artus*[®] HSV-1/2 Quant RG PCR Kit (96) ist ein *in vitro* Diagnostest auf der Grundlage der real-time PCR-Technologie zum gleichzeitigen Nachweis und Quantifizieren von spezifischer DNA des Herpes-simplex-Virus 1 (HSV-1) und des Herpes-simplex-Virus 2 (HSV-2).

Zusammenfassung und Erläuterung

Das *artus* HSV-1/2 Quant PCR Kit ist ein gebrauchsfertiges System für den Nachweis von HSV-1- und HSV-2-spezifischer DNA durch real-time PCR auf Rotor-Gene[®] Q Thermocyclern. Das Assay umfasst ein heterologes Amplifikationssystem (Interne Kontrolle) zum Nachweis einer möglichen PCR-Inhibition und zur Bestätigung der Integrität der Reagenzien des Kits.

Informationen zu den Erregern

Das Herpes-simplex-Virus 1 (HSV-1) und das Herpes-simplex-Virus 2 (HSV-2) sind Mitglieder der Familie *Herpesviridae* und zusammen mit VZV als *Alphaherpesvirinae* klassifiziert. HSV-1 und HSV-2 weisen ein lineares doppelsträngiges DNA-Genom mit ungefähr 150 kbp auf. HSV-1 und HSV-2 teilen über 80 % der Nukleotid-Identität in ihrem Protein-codierendem Bereich.

Infektionen durch den Herpes-simplex-Virus treten weltweit auf, ohne saisonale Häufungen. Das Virus wird durch unmittelbaren Kontakt mit dem Virus in Sekreten verbreitet. Die Prävalenz der HSV-1-Infektion steigt von der Kindheit allmählich an, wobei 80 % und mehr in späteren Jahren erreicht wird, wohingegen die Seroprävalenz von HSV-2 bis zum Erwachsenenalter gering bleibt. Die meisten HSV-1-Primärinfektionen werden als subklinische oder unerkannte Infektionen erworben. Primärinfektionen mit HSV-2 zeigen sich normalerweise als Herpes genitalis. Einer Primärinfektion mit HSV-1 oder HSV-2 folgt die

Entstehung einer Latenz in den Spinalganglionen. Das Virus wird periodisch reaktiviert und wandert über das Nervenaxon zu oralen oder genitalen Orten, was zur Freisetzung infektiöser Viren und, in manchen Fällen, zur Bildung von Läsionen führt. Obwohl sie gewöhnlich asymptomatisch sind, können HSV-Infektionen ein breites Spektrum klinischer Manifestationen verursachen, einschließlich Mundherpes, Genitalherpes, Neonatal-Herpes, Enzephalitis und Augenerpes.

Verfahrensprinzip

Der HSV-1/2 RG Master A und der HSV-1/2 RG Master B enthalten die Reagenzien und Enzyme zur spezifischen Amplifikation von Zielbereichen in den Genomen von HSV-1 und HSV-2 sowie für die direkte Detektion dieser Amplifikate in den Fluoreszenzkanälen Cycling Green und Cycling Red des Rotor-Gene® Q Thermocyclers.

Zusätzlich enthält das *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kit zum Nachweis von möglichen Ausfällen beim Assay-Verfahren ein heterologes Amplifikationssystem. Dieses wird als Interne Kontrolle (IC) im Fluoreszenzkanal Cycling Yellow der Rotor-Gene® Q Thermocycler detektiert.

Spezifische Sonden für HSV-1-DNA sind mit dem Fluorophor FAM™ markiert und spezifische Sonden für HSV-2-DNA sind mit einem Fluorophor markiert, das die gleichen Eigenschaften zeigt wie Cy®5. Die spezifische Sonde für die Interne Kontrolle (IC) ist mit dem Fluorophor JOE™ markiert. Die Verwendung von Sonden, die mit spektral unterscheidbaren Fluorophoren markiert sind, ermöglicht gleichzeitigen Nachweis und Quantifizierung HSV-1- und HSV-2-spezifischer DNA sowie den Nachweis der Internen Kontrolle in den entsprechenden Kanälen des Rotor-Gene® Q Thermocyclers.

Mitgelieferte Materialien

Kit-Inhalt

artus HSV-1/2 Quant RG PCR Kit		(96)
Katalognummer		4515265
Anzahl der Reaktionen		96
Blau	HSV-1/2 RG Master A	8 x 60 µl
Purpurrot	HSV-1/2 RG Master B	8 x 180 µl
Grün	HSV-1/2 RG IC	1 x 1.000 µl
Rot	HSV-1 QS*	4 x 250 µl
Orange	HSV-2 QS*	4 x 250 µl
Weiß	H ₂ O	1 x 500 µl
	Handbuch	1

* Das artus HSV-1/2 Quant RG PCR Kit enthält 4 HSV-1-Quantifizierungsstandards (QS1 bis QS4) sowie 4 HSV-2-Quantifizierungsstandards (QS1 bis QS4).

Erforderliche, nicht mitgelieferte Materialien

Stellen Sie vor der Verwendung sicher, dass die Geräte gemäß den Herstellerempfehlungen geprüft und kalibriert wurden.

Reagenzien

- QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN Katalognr. 51304 oder 51306; siehe „DNA-Aufreinigung“ auf Seite 10)

Verbrauchsartikel

- 0,1-ml-Strip-Röhrchen und Deckel zur Verwendung mit 72-Well-Rotor (QIAGEN Katalognr. 981103 oder 981106)
- Nuklease-freie, schwach DNA-bindende Mikrozentrifugenröhrchen zum Ansetzen der Master-Mischungen
- Nuklease-freie Pipettenspitzen mit Aerosolsperrern

Ausrüstung

- Rotor-Gene® Q Thermocycler MDx 5plex, Rotor-Gene® Q 5plex oder Rotor-Gene® Q 6plex
- Rotor-Gene® Q Software ab Version 2.3.1
- Ladeblock 72 x 0,1-ml-Röhrchen, Aluminium-Block für manuelle Reaktionsdurchführung (QIAGEN Katalognr. 9018901)
- Spezielle verstellbare Pipetten zur Probenvorbereitung
- Spezielle verstellbare Pipetten zum Ansetzen der PCR-Master-Mischung
- Spezielle verstellbare Pipetten zum Ausgeben von Template-DNA
- Vortex-Mischer
- Tischzentrifuge mit Rotor für 2-ml-Reaktionsröhrchen

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

Zur Verwendung in der *in vitro* Diagnostik.

Lesen Sie alle Anweisungen vor Verwendung des Tests genau durch.

Warnungen

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille.

Vorsichtsmaßnahmen

- Die Verwendung dieses Produkts ist auf Personal beschränkt, das speziell in real-time PCR und *in vitro* Diagnostik Verfahren unterrichtet und geschult wurde.
- Proben müssen stets als infektiös und/oder als biologische Gefahrstoffe entsprechend der sicheren Laborverfahren behandelt werden.
- Tragen Sie puderfreie Einmal-Laborhandschuhe, einen Laborkittel und eine Schutzbrille, wenn Sie mit Proben umgehen.
- Vermeiden Sie eine mikrobielle und Nuklease-(DNase/RNase)-Kontaminierung der Proben und der Kitkomponenten.
- Verwenden Sie stets DNase/RNase-freie Einmal-Pipettenspitzen mit Aerosolsperrern.
- Tragen Sie stets puderfreie Einmal-Laborhandschuhe beim Umgang mit Kitkomponenten.
- Verwenden Sie separate und räumlich getrennte Arbeitsbereiche zur Probenvorbereitung, Reaktionsdurchführung und für Amplifikations-/Nachweisaktivitäten. Der Arbeitsablauf im Labor muss in einer unidirektionalen Weise ablaufen. Tragen Sie in jedem Bereich Einmal-Laborhandschuhe und wechseln Sie diese, bevor Sie andere Bereiche betreten.
- Reservieren Sie Materialien und Ausrüstung für die separaten Arbeitsbereiche und bewegen Sie diese nicht von einem Bereich in einen anderen.
- Lagern Sie positives und/oder potenziell positives Material getrennt von allen anderen Kitkomponenten.
- Öffnen Sie nach der Amplifikation keine Reaktionsröhrchen/Platten, um Kontaminierung mit Amplifikaten zu vermeiden.
- Zusätzliche Kontrollen können nach den Leitfäden oder Anforderungen der jeweiligen lokalen Vorschriften, des Landes und/oder des Bundes oder der Akkreditierungsorganisationen getestet werden.
- Verwenden Sie keine Kitkomponenten nach Ablauf ihres Verfallsdatums.
- Entsorgen Sie Proben und Assay-Abfall nach Ihren örtlichen Sicherheitsvorschriften.

Lagerung und Handhabung der Reagenzien

Kitkomponenten

Das *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kit wird auf Trockeneis versandt. Die Kitkomponenten müssen bei Lieferung gefroren sein. Wenn eine oder mehrere Komponenten beim Empfang nicht gefroren sind oder wenn Röhrchen beim Versand beschädigt wurden, kontaktieren Sie bitte den Technischen Service von QIAGEN, der Ihnen gerne hilft. Nach Empfang lagern Sie alle Kitkomponenten bei -30 °C bis -15 °C.

Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Wiederauftauen der Master-Reagenzien (mehr als zweimal), da dies die Assay-Leistung beeinträchtigen kann. Frieren Sie die Reagenzien in Aliquots ein, wenn diese unregelmäßig gebraucht werden. Lagern Sie Reagenzien nicht länger als 2 Stunden bei 4 °C. Schützen Sie den HSV-1/2 RG Master A und den HSV-1/2 RG Master B vor Licht.

Das *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kit umfasst Folgendes:

- Zwei Master-Reagenzien (HSV-1/2 RG Master A und HSV-1/2 RG Master B)
- Template Interne Kontrolle (HSV-1/2 RG IC)
- Vier HSV-1-Quantifizierungsstandards (HSV-1 QS1 bis QS4)
- Vier HSV-2-Quantifizierungsstandards (HSV-2 QS1 bis QS4)
- Wasser in PCR-Qualität (H₂O)

Die Reagenzien HSV-1/2 RG Master A und HSV-1/2 RG Master B enthalten alle Komponenten (Puffer, Enzyme, Primer und Sonden) zur Amplifikation, Detektion und Differenzierung von HSV-1- und HSV-2-spezifischer DNA und der Internen Kontrolle in einer einzelnen Reaktion.

Die Quantifizierungsstandards enthalten standardisierte Konzentrationen HSV-1- und HSV-2-spezifischer DNA. Diese können einzeln als Positivkontrollen oder zusammen verwendet

werden, um eine Standardkurve zu erstellen, die dann verwendet werden kann, um die Konzentration von HSV-1- und/oder HSV-2-spezifischer DNA in der Probe zu bestimmen. Die Konzentrationen der Quantifizierungsstandards sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1. Konzentration der Quantifizierungsstandards

Quantifizierungsstandard	Konzentration (Kopien/µl)	
	HSV-1	HSV-2
QS1	10.000	10.000
QS2	1.000	1.000
QS3	100	100
QS4	10	10

Verfahren

DNA-Aufreinigung

HSV-1- und HSV-2-spezifische Zielsequenzen werden aus der DNA amplifiziert. Da die Assay-Leistung abhängig ist von der Qualität der Template-DNA, müssen Sie sicherstellen, dass ein Probenverarbeitungskit verwendet wird, der zur Verwendung in der nachfolgenden PCR geeignete DNA ergibt.

Das QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Katalognr. 51304 oder 51306) wird für die DNA-Aufreinigung zur Verwendung mit dem *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kit empfohlen. Führen Sie die DNA-Aufreinigung entsprechend den Anweisungen im *QIAamp DNA Mini Handbuch* durch.

Da die Waschpuffer im QIAamp DNA Mini Kit Ethanol enthalten, führen Sie vor der Elution einen zusätzlichen Zentrifugationsschritt durch. Geben Sie die QIAamp Mini Spinsäule in ein

neues 2-ml-Probennahmeröhrchen und entsorgen Sie das alte Probennahmeröhrchen mit dem Filtrat. Zentrifugieren Sie für 10 Minuten bei ungefähr $17.000 \times g$ ($\sim 13,000$ U/min) in einer Tischzentrifuge.

Wichtig: Der Einsatz von Carrier-RNA ist für die Effizienz der Aufreinigung und die Stabilität der aufgereinigten Nukleinsäure von entscheidender Bedeutung.

Wichtig: Ethanol ist ein starker Inhibitor bei der real-time PCR. Wenn Ihr Probenvorbereitungskit Waschpuffer verwendet, die Ethanol enthalten, müssen Sie sicherstellen, dass vor der Elution der Nukleinsäure alle Ethanol-Spuren entfernt werden.

Interne Kontrolle

Das *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kit enthält eine heterologe Interne Kontrolle, die entweder als eine Kontrolle einer PCR-Inhibition verwendet werden kann oder als eine Kontrolle des Probenvorbereitungsverfahrens (Nukleinsäure-Aufreinigung) und als eine Kontrolle einer PCR-Inhibition verwendet werden kann.

Wenn die Interne Kontrolle als eine Kontrolle einer PCR-Inhibition aber nicht als eine Kontrolle des Probenvorbereitungsverfahrens verwendet wird, geben Sie die Interne Kontrolle direkt zu der Mischung aus HSV-1/2 RG Master A und HSV-1/2 RG Master B hinzu, wie in Arbeitsschritt 2b des Protokolls beschrieben (Seite 14).

Ungeachtet des zur Nukleinsäure-Aufreinigung verwendeten Verfahrens/Systems darf die Interne Kontrolle nicht unmittelbar zu der Probe hinzugefügt werden. Die Interne Kontrolle muss stets zu der Mischung aus Probe und Lysepuffer hinzugefügt werden. Das Volumen der Internen Kontrolle, das zu der Mischung aus Probe und Lysepuffer hinzugefügt werden soll, hängt nur vom Elutionsvolumen ab, und stellt 10 % des Elutionsvolumens dar. Wenn beispielsweise das QIAamp DNA Mini Kit verwendet wird, ist die DNA in 60 μ l Puffer AE eluiert. Geben Sie deshalb 6 μ l Interne Kontrolle zu jeder Mischung aus Probe und Lysepuffer hinzu.

Wichtig: Geben Sie die Interne Kontrolle und/oder die Carrier-RNA nicht direkt zu der Probe hinzu.

Protokoll: Nachweis von HSV-1- und HSV-2-spezifischer DNA

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Lesen Sie vor Beginn des Verfahrens den Abschnitt „Vorsichtsmaßnahmen“ auf Seite 8.
- Machen Sie sich vor Beginn des Protokolls mit dem Rotor-Gene® Q Thermocycler vertraut. Lesen Sie das Benutzerhandbuch des Geräts.
- Achten Sie darauf, dass bei jedem PCR-Lauf mindestens eine Positivkontrolle und eine Negativkontrolle (Wasser in PCR-Qualität) mitgeführt werden.

Vor Beginn durchzuführende Arbeiten

- Achten Sie darauf, dass der Kühlblock (Zubehör zum Rotor-Gene® Q Thermocycler) auf 2 bis 8 °C vorgekühlt ist.
- Alle Reagenzien müssen vor Testbeginn vollständig bei Raumtemperatur aufgetaut, gut durchmischt (mehrfaches Auf- und Abpipettieren oder kurzes Vortex-Mischen) und anschließend anzentrifugiert werden.

Verfahren

1. Setzen Sie die gewünschte Anzahl PCR-Röhrchen in die Adapter des Kühlblocks ein.
2. Wenn Sie die Interne Kontrolle verwenden, um das DNA-Aufreinigungsverfahren zu überwachen und eine mögliche PCR-Inhibition zu kontrollieren, folgen Sie Arbeitsschritt 2a. Wenn Sie die Interne Kontrolle ausschließlich verwenden, um eine PCR-Inhibition zu kontrollieren, folgen Sie Arbeitsschritt 2b.

Verwenden Sie die Interne Kontrolle entsprechend dem Arbeitsschritt 2b für alle Proben, Kontrollen und Quantifizierungsstandards, die analysiert werden sollen.

- 2a. Die Interne Kontrolle wurde der Aufreinigung schon zugesetzt (siehe „Interne Kontrolle“ auf Seite 11). Bereiten Sie in diesem Fall eine Master-Mischung nach Tabelle 2 vor.

Die Reaktionsmischung enthält alle für die PCR benötigten Komponenten außer der Probe.

Tabelle 2. Ansetzen der Master-Mischung (Interne Kontrolle wird zum Überwachen der DNA-Aufreinigung und zum Kontrollieren einer PCR-Inhibition verwendet)

Komponente	1 Reaktion	12 Reaktionen
HSV-1/2 RG Master A	5 µl	60 µl
HSV-1/2 RG Master B	15 µl	180 µl
Gesamtvolumen	20 µl	240 µl

2b. Die Interne Kontrolle muss unmittelbar zu der Mischung aus HSV-1/2 RG Master A und HSV-1/2 Master B hinzugefügt werden. Bereiten Sie in diesem Fall eine Master-Mischung nach Tabelle 3 vor.

Die Reaktionsmischung enthält alle für die PCR benötigten Komponenten außer der Probe.

Tabelle 3. Ansetzen der Master-Mischung (Interne Kontrolle wird ausschließlich zum Kontrollieren einer PCR-Inhibition verwendet)

Komponente	1 Reaktion	12 Reaktionen
HSV-1/2 RG Master A	5 µl	60 µl
HSV-1/2 RG Master B	15 µl	180 µl
HSV-1/2 RG IC	1 µl	12 µl
Gesamtvolumen	21 µl	252 µl

* Die Volumenzunahme durch Zugabe der Internen Kontrolle wird beim Ansetzen des PCR-Assays vernachlässigt. Die Sensitivität des Detektionssystems wird dadurch nicht beeinträchtigt.

3. Pipettieren Sie 20 µl der Master-Mischung in jedes PCR-Röhrchen. Geben Sie dann 10 µl der eluierten Proben-DNA dazu, und durchmischen Sie durch wiederholtes Auf- und Abpipettieren gründlich. Geben Sie dementsprechend 10 µl Positivkontrolle oder Quantifizierungsstandard oder 10 µl H₂O (Wasser in PCR-Qualität) als eine Negativkontrolle dazu.

Achten Sie darauf, dass Sie bei jedem Lauf mindestens eine Positivkontrolle und eine Negativkontrolle mitführen. Verwenden Sie zur Quantifizierung alle 8 Quantifizierungsstandards (HSV1 QS1 bis QS4 & HSV2 QS1 bis QS4).

4. Verschließen Sie die PCR-Röhrchen. Achten Sie darauf, dass der Schließring (Locking Ring, Zubehör des Rotor-Gene® Thermocyclers) oben auf den Rotor gesetzt wird.
5. Erstellen Sie zum Nachweis von HSV-1- und HSV-2-spezifischer DNA ein Temperaturprofil entsprechend den folgenden Arbeitsschritten.

Einstellen allgemeiner Assay-Parameter	Abbildungen 1, 2, 3, 4
Initiale Aktivierung des Hot-Start-Enzyms	Abbildung 5
Amplifikation der DNA	Abbildung 6
Einstellen der Sensitivität der Fluoreszenzkanäle	Abbildung 7
Starten des Laufs	Abbildung 8

Alle Angaben beziehen sich auf die Rotor-Gene Q Software ab Version 2.3.1. Einzelheiten zur Programmierung der Rotor-Gene® Q Thermocycler entnehmen Sie bitte dem Benutzerhandbuch des Geräts. Die jeweiligen Einstellungen sind in den Abbildungen durch schwarze Rahmen hervorgehoben.

6. Zeigen Sie zunächst den Dialogbereich **New Run Wizard** (Assistent für neuen Lauf) mit der Version **Advanced** (Fortgeschritten) an und wählen Sie **Two Step** (Zwei Schritte) aus (Abbildung 1). Zum Fortfahren klicken Sie auf die Schaltfläche **Next** (Weiter).

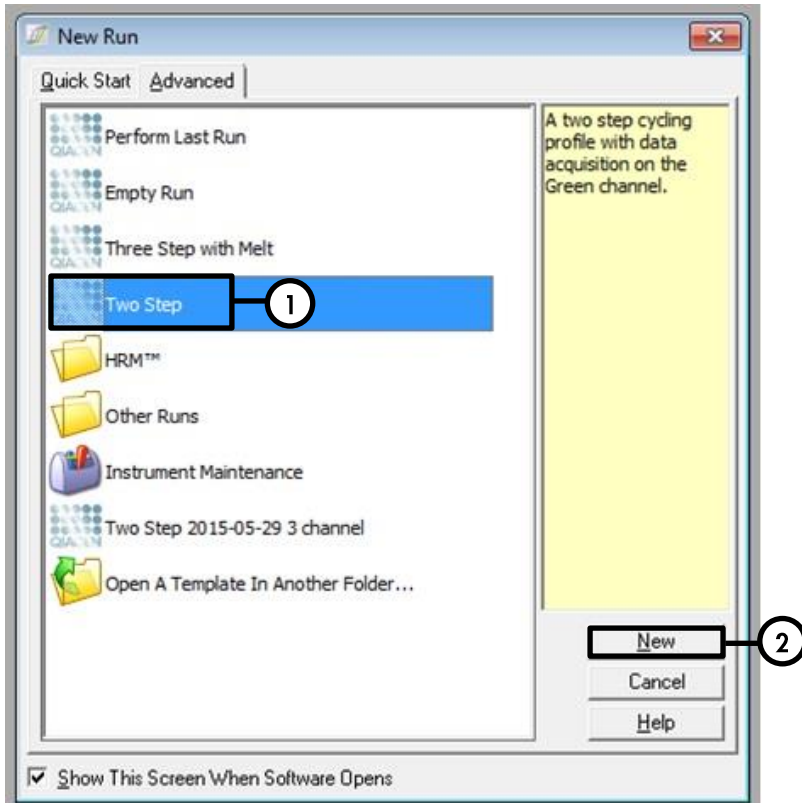


Abbildung 1. Der Dialogbereich New Run.

7. Markieren Sie im nächsten Dialogbereich **New Run Wizard** (Abbildung 2) das Ankreuzfeld **Locking Ring Attached** (Schließring befestigt) und klicken Sie auf die Schaltfläche **Next**.

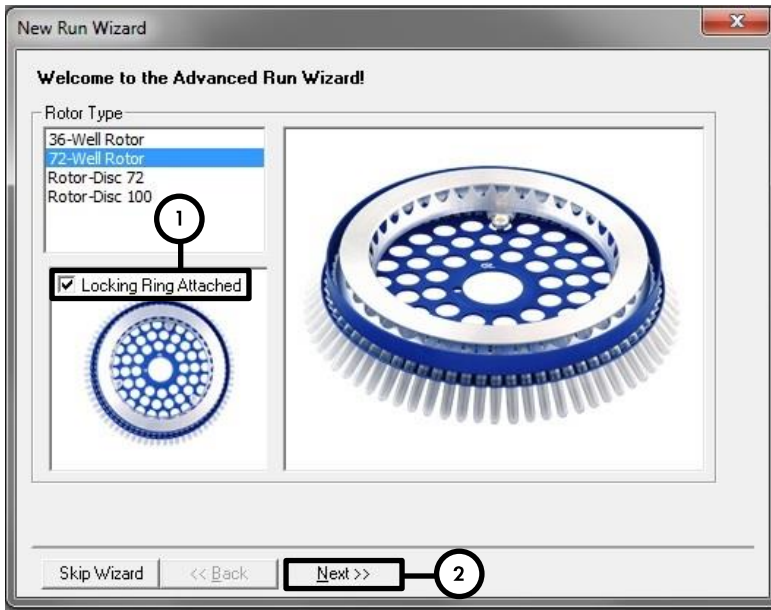


Abbildung 2. Der Dialogbereich New Run Wizard.

8. Wählen Sie die Option **30** für das Volumen der PCR-Reaktion aus und klicken Sie auf die Schaltfläche **Next** (Abbildung 3).

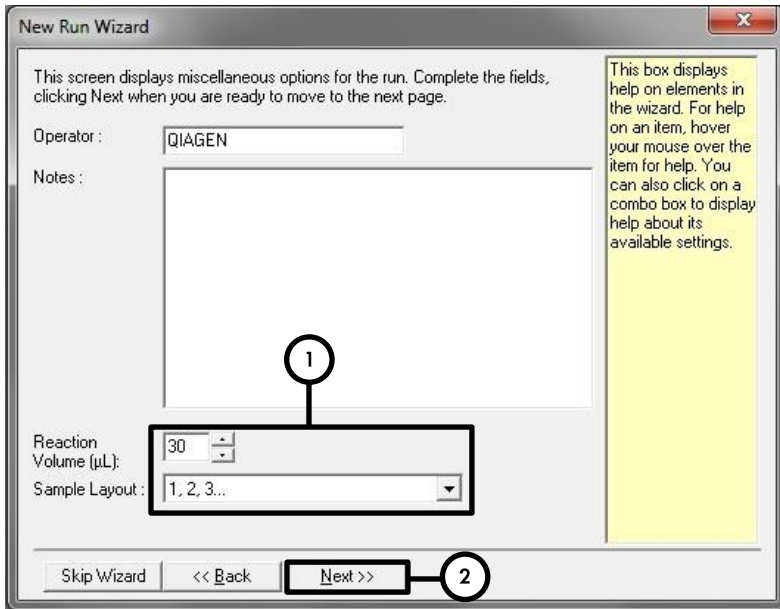


Abbildung 3. Einstellen allgemeiner Assay-Parameter.

9. Klicken Sie im nächsten Dialogbereich **New Run Wizard** (Abbildung 4) auf die Schaltfläche **Edit Profile** (Profil bearbeiten) und programmieren Sie das Temperaturprofil wie in Abbildung 5 und 6 gezeigt.

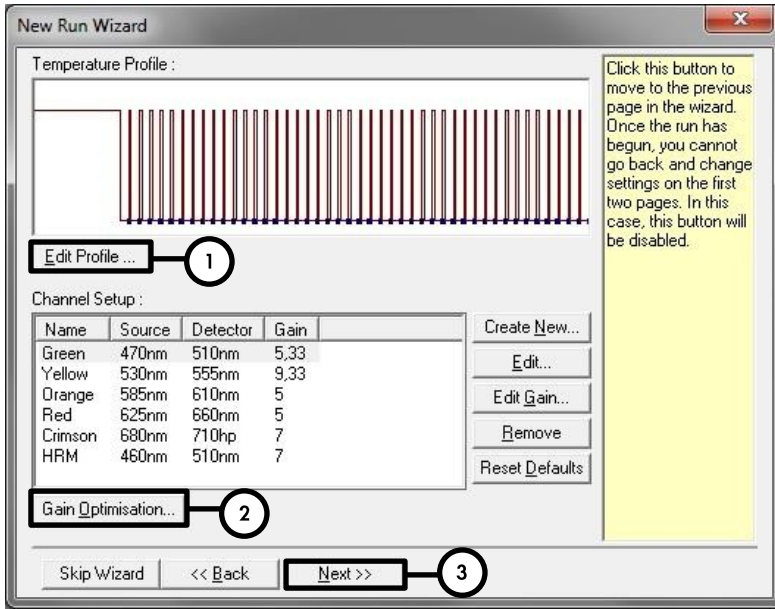


Abbildung 4. Bearbeiten des Profils.

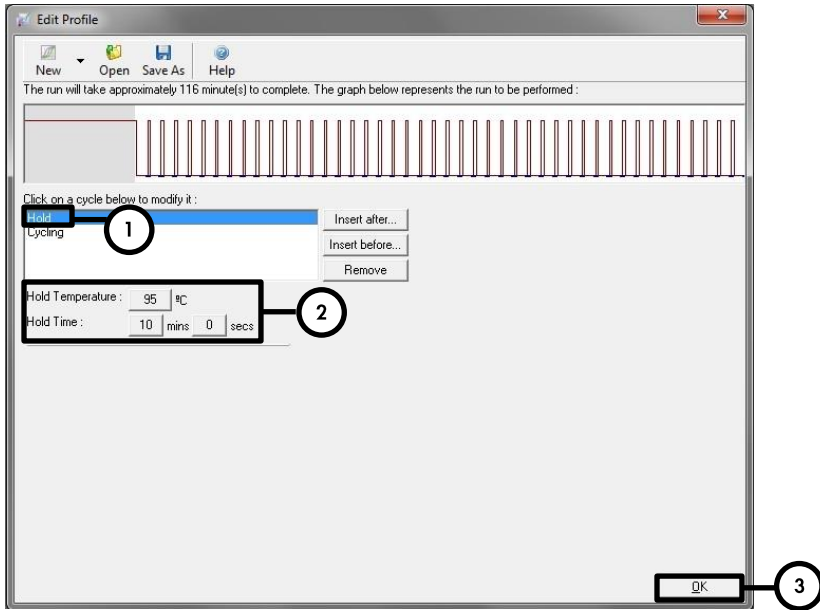


Abbildung 5. Initiale Aktivierung des Hot-Start-Enzyms.

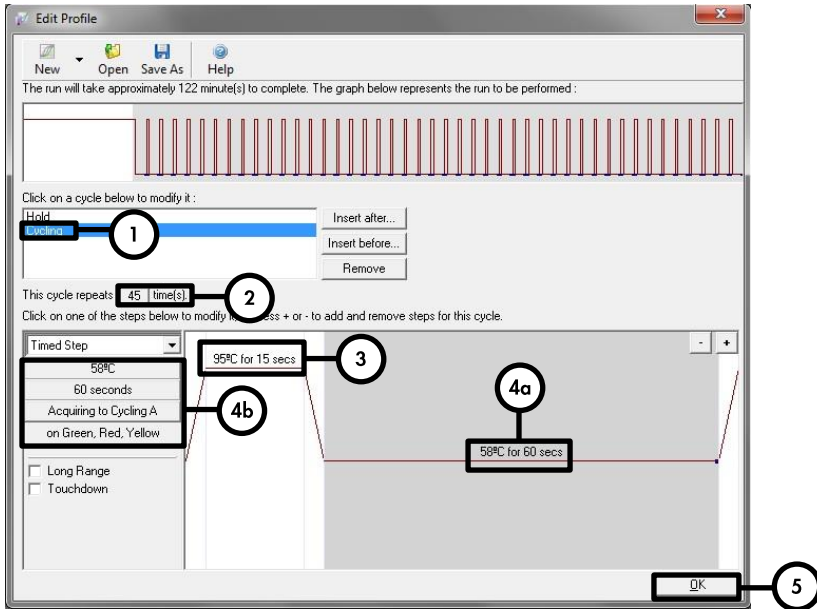


Abbildung 6. Amplifikation der DNA.

10. Der Messbereich der Fluoreszenzkanäle muss auf die Fluoreszenzintensitäten in den PCR-Röhrchen abgestimmt werden. Klicken Sie im Dialogbereich **New Run Wizard** auf **Gain Optimisation** (Optimierung der Verstärkung) (siehe Abbildung 4, Schritt 2), um den Dialogbereich **Auto-Gain Optimisation Setup** (Einrichten der Optimierung der automatischen Verstärkung) anzuzeigen (Abbildung 7). Markieren Sie das Ankreuzfeld **Perform Optimisation Before 1st Acquisition** (Optimierung vor 1. Akquisition durchführen) (Abbildung 7). Achten Sie darauf, dass alle drei Kanäle (Green, Orange und Yellow) für **Auto-Gain Optimisation** (Optimierung der automatischen Verstärkung) ausgewählt sind (Abbildung 7). (Wählen Sie die Kanäle im Dropdown-Menü unter **Channel Settings** [Kanaleinstellungen] aus und klicken Sie auf die Schaltfläche **Add** [Hinzufügen]). Klicken Sie nach Beenden der Verstärkungskalibrierung auf die Schaltfläche **Close** (Schließen) des Dialogbereichs **Auto-Gain Optimisation Setup**.

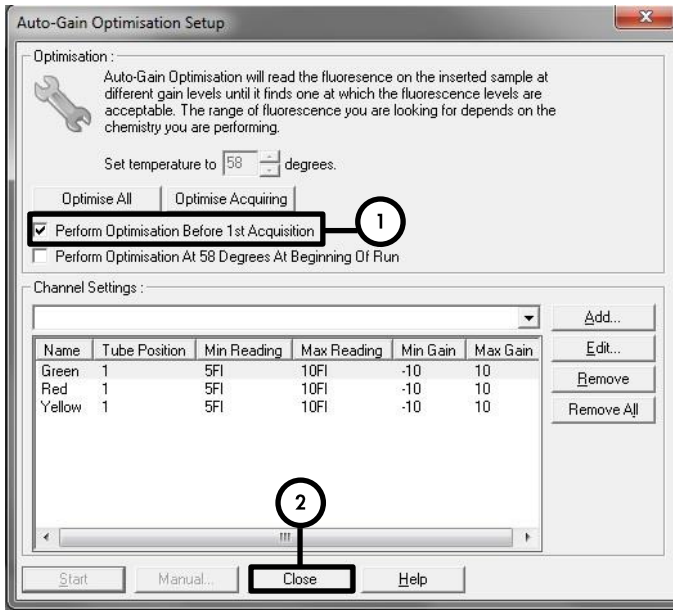


Abbildung 7. Einstellen der Sensitivität der Fluoreszenzkanäle.

11. Die bei der Kalibrierung der Kanäle ermittelten Verstärkungswerte werden automatisch gespeichert und im letzten Menüfenster des Programmierverfahrens aufgeführt (Abbildung 8). Klicken Sie auf die Schaltfläche **Start Run** (Lauf starten).

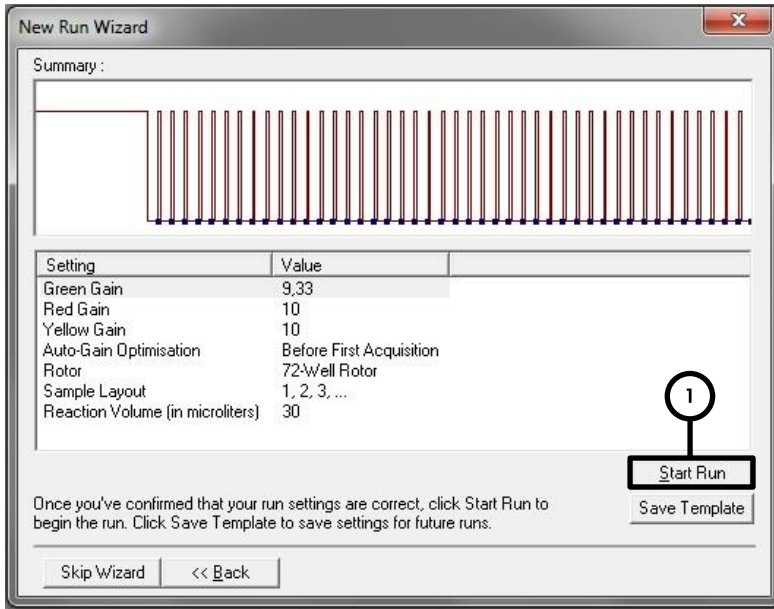


Abbildung 8. Starten des Laufs.

12. Nachdem der Lauf beendet ist, analysieren Sie die Daten (siehe „Interpretation der Ergebnisse“ auf Seite 24).

Interpretation der Ergebnisse

Gültigkeit des Laufs

Gültiger qualitativer Lauf

Die folgenden Kontrollbedingungen müssen erfüllt sein, damit ein qualitativer Lauf gültig ist (Tabelle 4).

Tabelle 4. Kontrollbedingungen für einen gültigen qualitativen Lauf

ID der Kontrolle	Detektionskanal		
	Cycling Green	Cycling Red	Cycling Yellow
HSV-1-positive Kontrolle (QS)	POSITIV	NEGATIV	POSITIV
HSV-2-positive Kontrolle (QS)	NEGATIV	POSITIV	POSITIV
Negativkontrolle	NEGATIV	NEGATIV	POSITIV

Ungültiger qualitativer Lauf

Ein qualitativer Lauf ist ungültig, wenn der Lauf nicht beendet wurde oder wenn eine der Kontrollbedingungen für einen gültigen qualitativen Lauf nicht erfüllt wurde.

Im Fall eines ungültigen qualitativen Laufs wiederholen Sie die PCR, oder reinigen Sie erneut DNA aus den ursprünglichen Proben auf, wenn keine DNA mehr übrig ist.

Gültiger quantitativer Lauf

Ein quantitativer Lauf ist gültig, wenn alle Kontrollbedingungen für einen gültigen quantitativen Lauf erfüllt sind (siehe oben stehende Tabelle 4). Außerdem muss für genaue Quantifizierungsergebnisse eine gültige Standardkurve erstellt werden. Für einen gültigen

quantitativen Lauf muss die Standardkurve die folgenden Kontrollparameter aufweisen (Tabelle 5).

Tabelle 5. Kontrollparameter für eine gültige Standardkurve

Kontrollparameter	Gültiger Wert
Steigung	-3,743/-2,765
PCR-Effizienz	85 %/130 %
R-Quadratwert (R ²)	>0,98

Ungültiger quantitativer Lauf

Ein quantitativer Lauf ist ungültig, wenn der Lauf nicht beendet wurde oder wenn eine der Kontrollbedingungen für einen gültigen quantitativen Lauf nicht erfüllt wurde.

Im Fall eines ungültigen quantitativen Laufs wiederholen Sie die PCR, oder reinigen Sie erneut DNA aus den ursprünglichen Proben auf, wenn keine DNA mehr übrig ist.

Qualitative Analyse

Eine Zusammenfassung der Interpretation von Ergebnissen ist in Tabelle 6 aufgeführt.

Tabelle 6. Zusammenfassung der Interpretation von Ergebnissen

Proben-ID	Detektionskanal			Ergebnisinterpretation
	Cycling Green	Cycling Red	Cycling Yellow	
A	POSITIV	NEGATIV	POSITIV*	HSV-1-spezifische DNA nachgewiesen.
B	NEGATIV	POSITIV	POSITIV*	HSV-2-spezifische DNA nachgewiesen.
C	NEGATIV	NEGATIV	POSITIV	Weder HSV-1- noch HSV-2-spezifische DNA nachgewiesen. Die Probe enthält keine nachweisbaren Mengen HSV-1- oder HSV-2-spezifische DNA.
D	NEGATIV	NEGATIV	NEGATIV	PCR-Inhibition oder Reagenzversagen. Wiederholen Sie das Verfahren mit der ursprünglichen Probe oder entnehmen und testen Sie eine neue Probe.

* Für positive Ergebnisse in einem der Detektionskanäle Cycling Green oder Cycling Red ist kein Nachweis der Internen Kontrolle im Kanal Cycling Yellow erforderlich. Hohe Konzentrationen HSV-1 oder HSV-2 in der Probe können zu reduzierten oder nicht vorhandenen Signalen der Internen Kontrolle führen.

Quantitative Analyse

Das *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kit enthält 4 Quantifizierungsstandards (QS) für HSV-1 sowie 4 Quantifizierungsstandards (QS) für HSV-2. Zum Erstellen einer Standardkurve zur quantitativen Analyse müssen diese als Standards mit den entsprechenden Konzentrationen definiert werden (siehe Tabelle 1 auf Seite 10). Eine Standardkurve zur quantitativen Analyse kann mit den Standards bekannter Konzentrationen erstellt werden.

$$C_T = m \log(N_0) + b$$

- C_T = Threshold Cycle
- m = Steigung
- N_0 = Anfangskonzentration
- b = Achsenabschnitt

Die Konzentrationen positiver Proben unbekannter Konzentration können aus der Standardkurve abgeleitet werden (Abbildung 9).

$$N_0 = 10^{(C_T - b)/m}$$

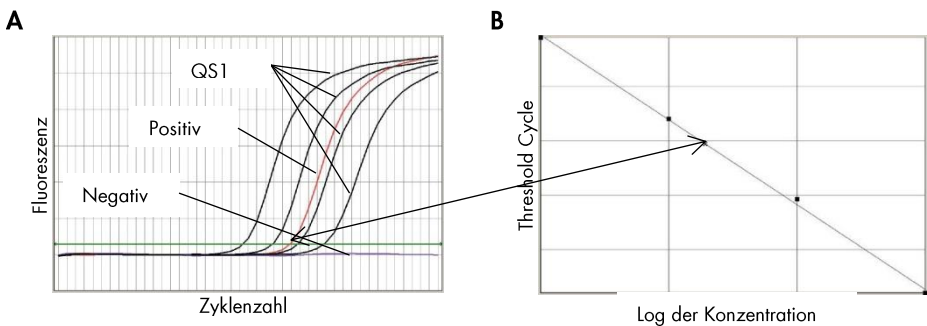


Abbildung 9. Quantifizierungsstandards, eine positive und eine negative Probe sind (A) in einer Analyse durch Amplifikationsauftragung und (B) in einer Analyse mit Standardkurve gezeigt.

Hinweis: Die Konzentration der Probe ist in Kopien/ μ l gezeigt und bezieht sich auf die Konzentration viraler DNA im Eluat.

Verwenden Sie die folgende Formel zum Bestimmen der viralen Belastung der ursprünglichen Probe.

$$\text{Virale Belastung (Probe)} \quad [\text{Kopien/ml}] = \frac{\text{Volumen (Eluat)} \quad [\mu\text{l}] \times \text{virale Belastung (Eluat)} \quad [\text{Kopien}/\mu\text{l}]}{\text{Probeneinsatz} \quad [\text{ml}]}$$

Anwendungseinschränkungen

- Die Verwendung dieses Produkts ist auf Personal beschränkt, das speziell in real-time PCR und *in vitro* Diagnostik Verfahren unterrichtet und geschult wurde.
- Fachgerechte Laborverfahrensweisen sind wesentlich für eine ordnungsgemäße Leistung dieses Assays.
- Achten Sie peinlich genau darauf, die Reinheit der Komponenten des Kits und der Reaktionsanordnung zu erhalten. Prüfen Sie alle Reagenzien auf Unreinheiten und Kontaminationen. Verwerfen Sie alle Reagenzien mit Verdacht auf Kontamination.
- Geeignete Verfahren zur Probenentnahme, zum Transport, zur Lagerung und zur Verarbeitung sind für eine optimale Leistung des Assays erforderlich.
- Verwenden Sie dieses Assay nicht unmittelbar mit dem Probenmaterial. Führen Sie die entsprechenden Nukleinsäure-Aufreinigungsverfahren vor einer Verwendung dieses Assays durch.
- Die Anwesenheit von PCR-Inhibitoren kann falsch-negative oder ungültige Ergebnisse bewirken.
- Mögliche Mutationen innerhalb der Zielbereiche des HSV-1- und/oder HSV-2-Genoms, die von den in dem Kit verwendeten Primern und/oder Sonden abgedeckt sind, können zum Nachweisversagen der Anwesenheit der Pathogene führen.
- Interpretieren Sie, wie bei allen diagnostischen Tests, die mit dem *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kit erhaltenen Ergebnisse unter Berücksichtigung aller klinischen Beobachtungen und Laborbefunde.

Qualitätskontrolle

Jede Charge des *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kits wird nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

Leistungsmerkmale

Die spezifischen Leistungsmerkmale des *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kits wurden mit HSV-1-spezifischer DNA (ATCC®-Nummer: VR-1493) und HSV-2-spezifischer DNA (ATCC-Nummer: VR-540) bekannter Konzentrationen bestimmt.

Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität des *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kits ist definiert als die Konzentration (Kopien pro μl Eluat) von HSV-1- oder HSV-2-spezifischer DNA, die mit einer Positivrate von $\geq 95\%$ nachgewiesen werden kann. Die analytische Sensitivität wurde durch Analyse einer Verdünnungsreihe von HSV-1-DNA und HSV-2-DNA bekannter Konzentration bestimmt (Tabelle 7 und 8).

Tabelle 7. Zum Berechnen der analytischen Sensitivität der HSV-1-spezifischen Amplifikation verwendete PCR-Ergebnisse

Eingangskonzentration (Kopien/ μl)	Anzahl der Replikate	Anzahl positiver Ergebnisse	Trefferquote (%)
3,16	12	12	100
1,0	12	12	100
0,32	12	11	91,6
0,1	12	9	75
0,03	12	6	50

Eingangskonzentration (Kopien/μl)	Anzahl der Replikate	Anzahl positiver Ergebnisse	Trefferquote (%)
0,01	12	2	16,7
0,003	12	0	0
0,001	12	0	0
NTC	12	0	0

Tabelle 8. Zum Berechnen der analytischen Sensitivität der HSV-2-spezifischen Amplifikation verwendete PCR-Ergebnisse

Eingangskonzentration (Kopien/ μ l)	Anzahl der Replikate	Anzahl positiver Ergebnisse	Trefferquote (%)
3,16	18	18	100
1,0	18	18	100
0,32	18	11	61,1
0,1	18	7	38,9
0,03	18	3	16,7
0,01	18	1	5,6
0,003	18	0	0
0,001	18	0	0
NTC	18	0	0

Die analytische Sensitivität des *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kits, bestimmt durch Probit-Analyse, für den Nachweis von HSV-1-spezifischer DNA beträgt 0,33 Kopien/ μ l Eluat (95 % Konfidenzintervall [KI]: 0,16 bis 1,3 Kopien/ μ l) und die analytische Sensitivität für den Nachweis von HSV-2-spezifischer DNA beträgt 1,2 Kopien/ μ l Eluat (95 % KI: 0,7 bis 3,5 Kopien/ μ l).

Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität des *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kits ist durch sorgfältige Auswahl der Oligonukleotide (Primer und Sonden) sichergestellt. Die Oligonukleotide werden durch Sequenzvergleichsanalyse gegen öffentlich verfügbaren Sequenzen geprüft, um zu gewährleisten, dass alle relevanten HSV-Genotypen detektiert werden. Zusätzlich wurde die Spezifität des *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kits durch Testen eines Panels genomischer DNA/RNA bewertet, die aus anderen Herpesviren oder anderen Pathogenen aufgereinigt wurde, die für immundefiziente Patienten relevant sind (Tabelle 9).

Tabelle 9. Getestete Organismen für Kreuzreaktivität

Organismus	Detektionskanal		
	Cycling Green (HSV-1)	Cycling Red (HSV-2)	Cycling Yellow (IC)
Varicella-zoster-Virus	Negativ	Negativ	Gültig
Epstein-Barr-Virus	Negativ	Negativ	Gültig
Cytomegalovirus	Negativ	Negativ	Gültig
Humanes Herpesvirus 6 (A, B)	Negativ	Negativ	Gültig
Humanes Herpesvirus 7	Negativ	Negativ	Gültig
Humanes Herpesvirus 8	Negativ	Negativ	Gültig
BK-Virus	Negativ	Negativ	Gültig
JC-Virus	Negativ	Negativ	Gültig
Parvovirus B19	Negativ	Negativ	Gültig
Hepatitis-A-Virus	Negativ	Negativ	Gültig
Hepatitis-B-Virus	Negativ	Negativ	Gültig
Hepatitis-C-Virus	Negativ	Negativ	Gültig
Humanes Immundefizienz-Virus 1	Negativ	Negativ	Gültig

Das *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kit geht keine Kreuzreaktionen mit einem der angegebenen Organismen ein.

Linearer Bereich der Quantifizierung

Der lineare Bereich der Quantifizierung für das *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kit wurde durch Analyse einer logarithmischen Verdünnungsreihe von HSV-1- und HSV-2-spezifischer DNA über einen Konzentrationsbereich von 10^8 Kopien/ μ l bis 10 Kopien/ μ l (HSV-1) (Abbildung 10) und 10^7 Kopien/ μ l bis 10 Kopien/ μ l (HSV-2) bestimmt. Pro Verdünnung wurden mindestens 6 Replikate analysiert.

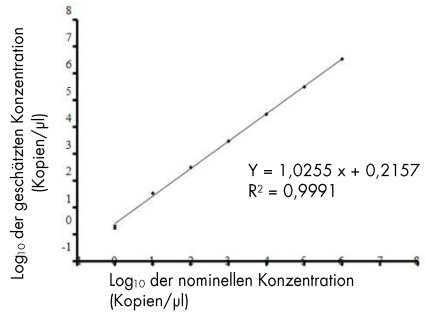
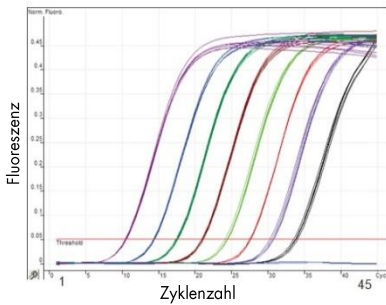
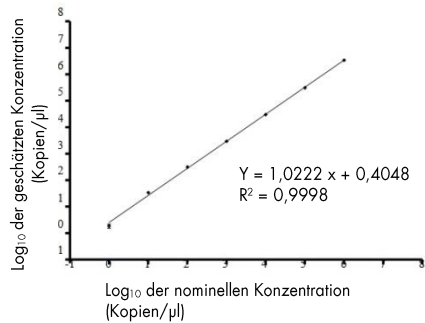
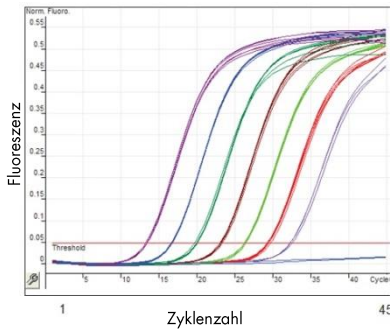
A**B**

Abbildung 10. Amplifikationskurven und lineare Regressionsanalyse einer Verdünnungsreihe von (A) HSV-1- und von (B) HSV-2-spezifischer DNA.

Der lineare Bereich der Quantifizierung des *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kits erstreckt sich über ein Intervall von mindestens 7 Größenordnungen für HSV-1- und über ein Intervall von mindestens 6 Größenordnungen für HSV-2-spezifische DNA.

Präzision

Die Präzision des *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kits wurde bestimmt als Intra-Assay-Variabilität (Variabilität innerhalb eines Experiments), Inter-Assay-Variabilität (Variabilität zwischen verschiedenen Experimenten) und Inter-Chargen-Variabilität (Variabilität zwischen verschiedenen Produktionschargen).

Die Variabilitätsdaten sind ausgedrückt mit Bezug auf Standardabweichung, Varianz und Variationskoeffizient. Die Daten basieren auf einer Quantifizierungsanalyse definierter Konzentrationen HSV-1- und HSV-2-spezifischer DNA und auf Werten des Threshold Cycle (C_T) hinsichtlich der Internen Kontrolle (Tabelle 10 bis 13). Pro Probe wurden mindestens 6 Replikate auf Intra-Assay-, Inter-Assay und Inter-Chargen-Variabilität analysiert. Die Totalvarianz wurde durch Kombination der 3 Analysen berechnet.

Tabelle 10. Präzision der Amplifikation HSV-1-spezifischer DNA

HSV-1-spezifisches System	Mittlere Konzentration (Kopien/ μ l)	Standardabweichung	Varianz	Variationskoeffizient (%)
Intra-Assay-Variabilität	91	5,3	29	5,9
	8,8	1,5	2,2	16,7
Inter-Assay-Variabilität	94,2	5,3	29,3	5,7
	8,9	1,2	1,4	13,1
Inter-Chargen-Variabilität	90,3	5,1	25,5	5,6
	8,7	1,2	1,5	14,2
Totalvarianz	92,7	5,5	30,7	6,0
	8,8	1,1	1,2	12,7

Tabelle 11. Präzision der Amplifikation der Internen Kontrolle für HSV-1

Interne Kontrolle	Mittelwert des Threshold Cycle (C_T)	Standardabweichung	Varianz	Variationskoeffizient (%)
Intra-Assay-Variabilität	23,0	0,05	0,003	0,23
Inter-Assay-Variabilität	22,9	0,12	0,01	0,51

Interne Kontrolle	Mittelwert des Threshold Cycle (C_T)	Standardabweichung	Varianz	Variationskoeffizient (%)
Inter-Chargen-Variabilität	23,5	0,61	0,37	2,6
Totalvarianz	23,3	0,61	0,37	2,6

Tabelle 12. Präzision der Amplifikation HSV-2-spezifischer DNA

HSV-2-spezifisches System	Mittlere Konzentration (Kopien/ μ l)	Standardabweichung	Varianz	Variationskoeffizient (%)
Intra-Assay-Variabilität	108	5,9	35	5,5
	9,8	1,8	3,4	18,0
Inter-Assay-Variabilität	99,2	9,4	87,7	9,4
	10	2,0	4,15	20,4
Inter-Chargen-Variabilität	102,5	9,5	90,8	9,3
	9,0	2,0	4,0	22,2
Totalvarianz	99,6	9,0	81,7	9,1
	9,5	2,1	4,5	22,3

Tabelle 13. Präzision der Amplifikation der Internen Kontrolle für HSV-2

Interne Kontrolle	Mittelwert des Threshold Cycle (C_T)	Standardabweichung	Varianz	Variationskoeffizient (%)
Intra-Assay-Variabilität	24,0	0,1	0,004	0,43
Inter-Assay-Variabilität	23,8	0,3	0,13	1,27
Inter-Chargen-Variabilität	24,0	0,14	0,02	0,59
Totalvarianz	23,9	0,25	0,06	1,03

Wiederholbarkeit

Die Spezifität, Sensitivität und Genauigkeit der Quantifizierung des *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kits wurden durch Analysieren von Ringversuchen für HSV bewertet. Um die







Wiederholbarkeit des *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kits zu garantieren, werden die Spezifität und Sensitivität durch Analysieren von Ringversuchen für HSV-1 und HSV-2 sowie von charakterisierten diagnostischen Proben regelmäßig bewertet (Tabelle 15 zeigt ein Beispiel).

Tabelle 15. Ergebnisse der Analyse von Ringversuchen für HSV (QCMD)

Proben-ID	Ringversuch		<i>artus</i> HSV-1/2 Quant RG PCR Kit		
	Probeninhalt	Erwartete Konzentration (Kopien/ml)	Nachgewiesene Konzentration von HSV-1 (Kopien/ml)	Nachgewiesene Konzentration von HSV-2 (Kopien/ml)	Interne Kontrolle
HSVDNA14-01	HSV-1	5.408	2.460	–	Gültig
HSVDNA14-02	HSV-negativ	–	–	–	Gültig
HSVDNA14-03	HSV-1	1.135	855	–	Gültig
HSVDNA14-04	HSV-1	213	44	–	Gültig
HSVDNA14-05	HSV-1	12.794	8.490	–	Gültig
HSVDNA14-06	HSV-2	1.982	–	1.881	Gültig
HSVDNA14-07	HSV-2	275	–	525	Gültig
HSVDNA14-08	HSV-2	5.023	–	11.370	Gültig
HSVDNA14-09	HSV-1	341	70	–	Gültig
HSVDNA14-10	VZV	–	–	–	Gültig

Symbole

Die Symbole in der folgenden Tabelle werden in dieser Gebrauchsanweisung verwendet.

Symbol	Symboledefinition
 96	Inhalt ausreichend für 96 Tests
	<i>in vitro</i> Diagnostikum
	Katalognummer
	Chargennummer
	Zulässiger Temperaturbereich
	Hersteller

Symbol

Symboldefinition



Verfallsdatum



Materialnummer



Internationale Artikelnummer



Beachten Sie die Anwendungshinweise

Hilfe zur Fehlersuche

Außerdem beantworten die Wissenschaftler des Technischen Service bei QIAGEN gerne Ihre Fragen zu den Angaben und/oder Protokollen in diesem Handbuch sowie zu Probenvorbereitungs- und Testtechnologien allgemein (Möglichkeiten der Kontaktaufnahme finden Sie im Internet unter www.qiagen.com).

Bestellinformationen

Produkt	Inhalt	Katalognr.
artus HSV-1/2 Quant RG PCR Kit (96)	Für 96 Reaktionen: Master A, Master B, 4 Quantifizierungsstandards HSV-1, 4 Quantifizierungsstandards HSV-2, Interne Kontrolle, H ₂ O (Wasser in PCR-Qualität)	4515265
QIAamp DNA Mini Kit (50)	Für 50 DNA-Präparationen: 50 QIAamp Mini Spin Columns, Proteinase K, Reagenzien, Puffer, Probenentnahmeröhrchen (2 ml)	51304
QIAamp DNA Mini Kit (250)	Für 250 DNA-Präparationen: 250 QIAamp Mini Spin Columns, Proteinase K, Reagenzien, Puffer, Probenentnahmeröhrchen (2 ml)	51306
Rotor-Gene® Q Thermocycler und Zubehör		
Rotor-Gene® Q MDx 5plex System	Realtime PCR-Cycler mit 5 Kanälen (grün, gelb, orange, rot, dunkelrot), Laptop-Computer, Software, Zubehör: umfasst 1 Jahr Garantie auf Teile und Arbeit, Installation und Schulung	9002023
Rotor-Gene® Q MDx 5plex Plattform	Realtime PCR-Cycler mit 5 Kanälen (grün, gelb, orange, rot, dunkelrot), Laptop-Computer, Software, Zubehör: umfasst 1 Jahr Garantie auf Teile und Arbeit, ohne Installation und Schulung	9002022

Produkt	Inhalt	Katalognr.
Rotor-Gene® Q 5plex Priority Package Plus	Realtime PCR-Cycler mit 5 Kanälen (grün, gelb, orange, rot, dunkelrot), Laptop-Computer, Software, Zubehör: umfasst Priority Package mit Software, Installation, Schulung, 3 Jahre Garantie auf Teile und Arbeit sowie 3 Vorsorgewartungen vor Ort	9001866
Rotor-Gene® Q 5plex Priority Package	Realtime PCR-Cycler mit 5 Kanälen (grün, gelb, orange, rot, dunkelrot), Laptop-Computer, Software, Zubehör: umfasst Priority Package mit Software, Installation, Schulung, 2 Jahre Garantie auf Teile und Arbeit sowie 2 Vorsorgewartungen vor Ort	9001865
Rotor-Gene® Q 5plex System	Realtime PCR-Cycler mit 5 Kanälen (grün, gelb, orange, rot, dunkelrot), Laptop-Computer, Software, Zubehör: umfasst 1 Jahr Garantie auf Teile und Arbeit, Installation und Schulung	9001640
Rotor-Gene® Q 5plex Plattform	Realtime PCR-Cycler mit 5 Kanälen (grün, gelb, orange, rot, dunkelrot), Laptop-Computer, Software, Zubehör: umfasst 1 Jahr Garantie auf Teile und Arbeit, ohne Installation und Schulung	9001570

Produkt	Inhalt	Katalognr.
Rotor-Gene® Q 6plex Priority Package Plus	Realtime PCR-Thermocycler mit 6 Kanälen (blau, grün, gelb, orange, rot, dunkelrot), Laptop-Computer, Software, Zubehör: umfasst Priority Package mit Software, Installation, Schulung, 3 Jahre Garantie auf Teile und Arbeit sowie 3 Vorsorgewartungen vor Ort	9001870
Rotor-Gene® Q 6plex Priority Package	Realtime PCR-Thermocycler mit 6 Kanälen (blau, grün, gelb, orange, rot, dunkelrot), Laptop-Computer, Software, Zubehör: umfasst Priority Package mit Software, Installation, Schulung, 2 Jahre Garantie auf Teile und Arbeit sowie 2 Vorsorgewartungen vor Ort	9001869
Rotor-Gene® Q 6plex System	Realtime PCR-Thermocycler mit 6 Kanälen (blau, grün, gelb, orange, rot, dunkelrot), umfasst Laptop-Computer, Software, Zubehör: umfasst 1 Jahr Garantie auf Teile und Arbeit, Installation und Schulung	9001660
Rotor-Gene® Q 6plex Plattform	Realtime PCR-Thermocycler mit 6 Kanälen (blau, grün, gelb, orange, rot, dunkelrot), umfasst Laptop-Computer, Software, Zubehör: umfasst 1 Jahr Garantie auf Teile und Arbeit, ohne Installation und Schulung	9001590

Produkt	Inhalt	Katalognr.
Loading Block 72 x 0,1 ml Tubes	Aluminium-Block für manuelles Ansetzen der Reaktion mit einer Einkanal-Pipette in 72 x 0,1-ml-Röhrchen	9018901
Strip Tubes und Caps, 0,1 ml (250)	250 Streifen mit je 4 Röhrchen und Deckeln, für 1.000 Reaktionen	981103
Strip Tubes und Caps, 0,1 ml (2.500)	10 x 250 Streifen mit je 4 Röhrchen und Deckeln, für 10.000 Reaktionen	981106

Notizen

Notizen

Eingeschränkte Lizenzvereinbarung für das *artus* HSV-1/2 Quant RG PCR Kit

Mit der Nutzung dieses Produkts erkennen Käufer und Nutzer des Produkts die folgenden Bedingungen an:

1. Das Produkt darf nur gemäß den Angaben in den Protokollen und in diesem Handbuch zu diesem Produkt und ausschließlich mit den Komponenten, die im Kit geliefert werden, verwendet werden. QIAGEN gewährt im Rahmen Ihrer Eigentumsrechte keinerlei Lizenz, die zum Kit gehörenden Komponenten mit anderen Komponenten, die nicht zum Kit gehören, zu verwenden oder zu kombinieren, mit Ausnahme der in den Protokollen, die mit dem Produkt bereitgestellt werden, in diesem Handbuch und in zusätzlichen, im Internet unter www.qiagen.com verfügbaren Protokollen beschriebenen Anwendungen. Einige dieser Zusatzprotokolle wurden von QIAGEN-Nutzern für QIAGEN-Nutzer bereitgestellt. Diese Protokolle sind nicht durch QIAGEN gründlich getestet oder optimiert. Weder garantiert QIAGEN für sie noch garantiert QIAGEN, dass sie keine Rechte Dritter verletzen.
2. Über die ausdrücklich erwähnten Lizenzanwendungen hinaus übernimmt QIAGEN keinerlei Garantie dafür, dass dieses Kit und/oder die mit ihm durchgeführten Anwendungen die Rechte Dritter nicht verletzen.
3. Dieses Kit und seine Komponenten sind für die einmalige Verwendung lizenziert und dürfen nicht wiederverwendet, wiederaufgearbeitet oder weiterverkauft werden.
4. QIAGEN lehnt außer der ausdrücklich gewährten Lizenzgewährung jede weitere Lizenzgewährung ab, sowohl ausdrücklich als auch konkludent.
5. Käufer und Nutzer des Kits stimmen zu, keinerlei Schritte zu unternehmen oder anderen die Einleitung von Schritten zu gestalten, die zu unerlaubten Handlungen im obigen Sinne führen könnten oder solche erleichtern könnten. QIAGEN kann die Verbote dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung an jedem Ort gerichtlich geltend machen und wird sämtliche Ermittlungs- und Gerichtskosten, inklusive Anwaltsgebühren, zurückfordern, die ihr bei der Geltendmachung dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung oder irgendeines ihrer geistigen Eigentumsrechte im Zusammenhang mit dem Kit und/oder dessen Komponenten entstehen.

Aktualisierte Nutzungs- und Lizenzbedingungen finden Sie im Internet unter www.qiagen.com.

Der Erwerb dieses Produkts berechtigt den Käufer zur Nutzung des Produkts in der humanmedizinischen *in vitro* Diagnostik. Eine allgemeine Patent- oder sonstige Lizenz, welche über vorgenanntes Nutzungsrecht des Käufers dieses Produkts hinausgeht, wird nicht gewährt.

Marken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, *artus*®, RotorGene® (QIAGEN Group); ATCC® (American Type Culture Collection); FAM™, JOET™ (Life Technologies Corporation); Cy® (GE Healthcare).

HB-2016-001

© 2015 altona Diagnostics GmbH, alle Rechte vorbehalten.

Bestellungen www.qiagen.com/contact | Technische Beratung support.qiagen.com | Internetseite www.qiagen.com