

# artus<sup>®</sup> HSV-1/2 LC PCR komplekta rokasgrāmata

 24 (kataloga Nr. 4500063)

 96 (kataloga Nr. 4500065)

Kvantitatīva in vitro diagnostika

Lietošanai ar *LightCycler*<sup>®</sup> ierīci

Versija 1



4500063, 4500065



1046888



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, VĀCIJA

R2

 MAT

1046888



## QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN ir vadošais inovatīvu paraugu un testu tehnoloģiju piegādātājs, kas dod iespēju izolēt un noteikt jebkura bioloģiska parauga sastāvdaļas.

Mūsu uzlabotie, augstas kvalitātes produkti un pakalpojumi nodrošina panākumus no parauga līdz rezultātam.

### **QIAGEN nosaka standartus:**

- DNS, RNS un proteīnu attīrīšanā
- Nukleīnskābju un proteīnu testos
- mikroRNS izpētē un RNSi
- Paraugu un testēšanas tehnoloģiju automatizācijā

Mūsu mērķis ir dot jums iespēju sasniegt izcilus panākumus un atklājumus. Detalizēta informācija pieejama [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) mājaslapā.

# Satura rādītājs

<b>1. Satura rādītājs</b>	<b>4</b>
<b>2. Uzglabāšana</b>	<b>4</b>
<b>3. Papildus nepieciešamie materiāli un ierīces</b>	<b>5</b>
<b>4. Vispārējie piesardzības pasākumi</b>	<b>5</b>
<b>5. Informācija par slimības izraisītāju</b>	<b>6</b>
<b>6. Reāllaika PCR princips</b>	<b>6</b>
<b>7. Produkta apraksts</b>	<b>6</b>
<b>8. Protokols</b>	<b>7</b>
8.1. DNS izolēšana	7
<b>8.2. Iekšējā kontrole</b>	<b>10</b>
8.3. Kvantitatīvā noteikšana	11
8.4. PCR sagatavošana	11
8.5. <i>LightCycler</i> ierīces programmēšana	16
<b>9. Datu analīze</b>	<b>18</b>
<b>10. Problēmu novēršana</b>	<b>22</b>
<b>11. Tehniskie parametri</b>	<b>24</b>
11.1. Analītiskā jutība	24
11.2. Specifiskums	25
11.3. Precizitāte	26
11.4. Robustums	30
11.5. Atrāžošanas spēja	31
11.6. Diagnostikas vērtējums	31
<b>12. Produkta izmantošanas ierobežojumi</b>	<b>31</b>
<b>13. Drošības informācija</b>	<b>31</b>
<b>14. Kvalitātes kontrole</b>	<b>31</b>
<b>15. Atsauces</b>	<b>32</b>
<b>16. Simboli</b>	<b>32</b>

# artus HSV-1/2 LC PCR komplekts

Lietošanai ar *LightCycler* ierīci.

## 1. Saturā rādītājs

	Marķēšana un sastāvs	Art. Nr. 4500063 24 reakcijas	Art. Nr. 4500065 96 reakcijas
Zils	HSV LC Master	2 x 12 rxns	8 x 12 rxns
Sarkans	HSV1 LC/RG/TM QS 1 <sup>α</sup> 1 x 10 <sup>4</sup> kop./μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Sarkans	HSV1 LC/RG/TM QS 2 <sup>α</sup> 1 x 10 <sup>3</sup> kop./μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Sarkans	HSV1 LC/RG/TM QS 3 <sup>α</sup> 1 x 10 <sup>2</sup> kop./μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Sarkans	HSV1 LC/RG/TM QS 4 <sup>α</sup> 1 x 10 <sup>1</sup> kop./μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Sarkans	HSV2 LC/RG/TM QS 1 <sup>α</sup> 1 x 10 <sup>4</sup> kop./μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Sarkans	HSV2 LC/RG/TM QS 2 <sup>α</sup> 1 x 10 <sup>3</sup> kop./μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Sarkans	HSV2 LC/RG/TM QS 3 <sup>α</sup> 1 x 10 <sup>2</sup> kop./μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Sarkans	HSV2 LC/RG/TM QS 4 <sup>α</sup> 1 x 10 <sup>1</sup> kop./μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Zaļš <sup>α</sup>	HSV LC IC	1 x 1000 μl	2 x 1000 μl
Balts	Water (PCR grade) (Ūdens (PCR pakāpe))	1 x 1000 μl	1 x 1000 μl

<sup>α</sup> QS = Kvantitatīvās noteikšanas standarts  
IC = Iekšējā kontrole

## 2. Uzglabāšana

artus HSV-1/2 LC PCR komplekta sastāvdaļas jāuzglabā no -15°C līdz -30°C temperatūrā un tās ir stabilas līdz derīguma termiņa beigām, kas

norādīts uz etiķetes. Atkārtota atkausēšana un sasaldēšana (> 2 reizes) nav ieteicama, jo tas var samazināt jutību. Ja reaģentus paredzēts izmantot neregulāri, tos nepieciešams sasaldēt alikvotās daļās. Uzglabāšanas ilgums +4°C temperatūrā nedrīkst pārsniegt piecas stundas.

### 3. Papildus nepieciešamie materiāli un ierīces

- Vienreizējās lietošanas cimdi bez pūdera
- DNS izolēšanas komplekts (skatīt 8.1 DNS izolēšana)
- Pipetes (pielāgojamas)
- Sterili pipetes uzgaļi ar filtriem
- Virpuļmikseris
- Galda centrifūga ar rotoru 2 ml reakcijas mēģenēm
- *Color Compensation Set* („Krāsu kompensācijas komplekts”) (Roche Diagnostics, kat. Nr. 2 158 850) faila *Crosstalk Color Compensation* instalācijai
- *LightCycler* kapilāri (20 µl)
- *LightCycler* dzesēšanas bloks
- *LightCycler* ierīce
- *LightCycler* ierīce vāciņu uzlikšanai/noņemšanai

### 4. Vispārējie piesardzības pasākumi

Lietotājam vienmēr jāpievērš uzmanība turpmāk minētajam:

- Izmantojiet sterilus pipetes uzgaļus ar filtriem.
- Uzglabājiet un ekstrahējiet pozitīvu materiālu (paraugus, kontroles un amplikonus) atsevišķi no pārējiem reaģentiem un pievienojiet to reakcijas maisījumam telpiski atdalītā iekārtā.
- Pirms testa sākšanas rūpīgi atkausējiet visas sastāvdaļas istabas temperatūrā.
- Pēc atkausēšanas sajauciet visas sastāvdaļas un īsu brīdi centrifugējiet.
- Strādājiet ātri uz ledus virsmas vai *LightCycler* dzesēšanas blokā.

## 5. Informācija par slimības izraisītāju

Herpes simplex vīruss (HSV) ir atrodams ādas bojājumu izdalījumos, siekalās un maksts sekrētā. HSV infekcija tiek pārnesta galvenokārt tiešā saskarē ar ādas bojājumiem, dzimumakta laikā, kā arī perinatāli. Lielākajā daļā HSV pozitīvu gadījumu ir raksturīgi bojājumi uz ādas, mutes gļotādas un dzimumorgāniem. HSV infekcija var būt primāra (> 90% no šiem gadījumiem tā ir asimptomātiska) vai recidivējoša (sekundāra). Primāra HSV-1 infekcija var izraisīt gingivostomatītu, herpētisku ekzēmu, keratokonjunktīvu un encefalītu; primārā HSV-2 infekcija manifestējas kā vulvovaginīts, meningīts un ģeneralizēta herpes infekcija jaundzimušajiem. Sekundāras infekcijas galvenie simptomi ir ādas bojājumi deguna, mutes un dzimumorgānu rajonā. Smagākas ir atkārtotas keratokonjunktīva un meningīta formas.

## 6. Reāllaika PCR princips

Slimības izraisītāja konstatēšana ar polimerāzes ķēdes reakciju (PCR) pamatojas uz slimības izraisītāja genoma specifisku reģionu amplifikāciju. Reāllaika PCR amplificētais produkts tiek noteikts ar fluorescējošo krāsu palīdzību. Tās parasti ir saistītas ar oligonukleotīdu zondēm, kas ir tieši saistītas ar amplificēto produktu. Novērojot fluorescences intensitāti PCR norises laikā (t.i., reāllaikā), var konstatēt un kvantitatīvi noteikt uzkrājušos produktu, atkārtoti neatverot reakcijas stobriņus pēc PCR norises (Mackay, 2004).

## 7. Produkta apraksts

*artus* HSV-1/2 LC PCR komplekts ir lietošanai gatava sistēma Herpes simplex 1 un Herpes simplex 2 vīrusa DNS noteikšanai un diferencēšanai, izmantojot polimerāzes ķēdes reakciju (PCR) ar sekojošu kušanas līknes analīzi *LightCycler* ierīcē. *HSV LC Master* satur reaģentus un enzīmus Herpes simplex vīrusa genoma 148 bp reģiona specifiskai amplifikācijai un specifiskā amplikona tiešai noteikšanai *LightCycler* ierīces fluorimetra kanālā F2. Turklāt *artus* HSV-1/2 LC komplekts satur otru heterologu amplifikācijas sistēmu iespējamai PCR inhibēšanas konstatēšanai. Tā tiek noteikta kā *lekšējā kontrole (IC)* fluorimetra kanālā F3. Analītiskā HSV PCR noteikšanas robeža netiek samazināta (skatīt 11.1. Analītiskā jutība). Lai atšķirtu vīrusa apakštipus, sistēma izmanto specifisko zondes kušanas temperatūru. Kušanas līknes noteikšanas laikā signāls fluorimetra kanālā F2 HSV-1 gadījumā tiek noteikts 69°C temperatūrā, bet HSV-2 gadījumā 66°C temperatūrā. Atkarībā no dažādiem ekstrakcijas apstākļiem un to

attiecīgo buferizācijas apstākļu dēļ šīs vērtības var atšķirties par 1–2°C. Tomēr šī novirze būs vienāda abiem apakštipiem. Komplektācijā iekļautās ārējās pozitīvās kontroles (*HSV1 LC/RG/TM QS 1 – 4* & *HSV2 LC/RG/TM QS 1 – 4*) ļauj noteikt slimības izraisītāja slodzi. Detalizētu informāciju skatīt nodaļā 8.3. Kvantitatīvā noteikšana.

**Uzmanību:** Temperatūras profils HSV-1 un HSV-2 noteikšanai, izmantojot *artus HSV-1/2 LC PCR* komplektu, atbilst *artus EBV LC PCR* komplekta, *artus VZV LC PCR* komplekta un *artus CMV LC PCR* komplekta profiliem. Tātad šo *artus* sistēmu PCR testus var veikt un analizēt vienā norisē. Lūdzu, ņemiet vērā PCR analīzes veikšanas rekomendācijas, kas sniegtas 8.3. nodaļā Kvantitatīvā noteikšana un 9. nodaļā Datu analīze.

## 8. Protokols

### 8.1. DNS izolēšana

Dažādi ražotāji piedāvā DNS izolēšanas komplektus. Paraugu daudzums DNS izolēšanas procedūrai ir atkarīgs no izmantotā protokola. Lūdzu, veiciet DNS izolēšanu saskaņā ar ražotāja norādījumiem. Ieteicams izmantot šādus izolēšanas komplektus:

Parauga materiāls	Nukleīnskābes izolēšanas komplekts	Kataloga numurs	Ražotājs	Nesēja RNS
Serums, plazma, CSF, uztriepes	QIAamp® UltraSens® Virus komplekts (50)	53 704	QIAGEN	iekļauta
	QIAamp DNA Mini komplekts (50)	51 304	QIAGEN	nav iekļauta
CSF	EZ1® DSP Virus komplekts (48)*	62 724	QIAGEN	iekļauta

\*Lietošanai ar BioRobot® EZ1 DSP darbstaciju (kat. Nr. 9001360) un EZ1 DSP Virus karti (kat. Nr. 9017707).

**Svarīga piezīme QIAamp UltraSens Virus komplekta un QIAamp DNA Mini komplekta lietotājiem:**

- Nesēja RNS izmantošana ir būtiski svarīga ekstrakcijas efektivitātei un tātad arī DNS/RNS iegūšanai. Ja izvēlētajā izolēšanas komplektā nav iekļauta nesēja RNS, ņemiet vērā, ka nesēja (RNS-Homopolymer Poly(A), Amersham Biosciences, kat. Nr. 27-4110-01) pievienošana ir stingri ieteicama nukleīnskābju ekstrakcijai no

bezšūnu organisma šķidrumiem un materiāliem ar zemu DNS/RNS saturu (piemēram, CSF). Šajos gadījumos rīkojieties šādi:

- a) Izšķīdiniet liofilizēto nesēja RNS, izmantojot ekstrakcijas komplekta eluēšanas buferšķīdumu (piemēram, QIAamp DNA Mini komplekta AE buferšķīdumu) (neizmantojiet līzes buferšķīdumu) un sagatavojiet atšķaidījumu ar 1 µg/µl koncentrāciju. Sadaliet šo nesēja RNS šķīdumu alikvotās daļās atbilstoši Jūsu vajadzībām un uzglabājiet tās -20°C temperatūrā. Izvairieties no atkārtotas RNS alikvoto daļu atkausēšanas un sasaldēšanas (> 2 reizes).
- b) Izmantojiet 1 µg nesēja RNS uz 100 µl līzes buferšķīduma. Piemēram, ja saskaņā ar ekstrakcijas protokolu ieteicams izmantot 200 µl līzes buferšķīduma, pievienojiet 2 µl nesēja RNS (1 µg/µl) tieši līzes buferšķīdumam. Pirms katras ekstrakcijas jāgatavo svaigs līzes buferšķīduma un nesēja RNS maisījums (un *leķšējā kontrole*, ja nepieciešams, skatīt nodaļu 8.2. leķšējā kontrole) saskaņā ar tālāk izskaidroto pipetēšanas shēmu:

Paraugu daudzums	1	12
Līzes buferšķīdums	piemēram, 200 µl	piemēram, 2,400 µl
Nesēja RNS (1 µg/µl)	2 µl	24 µl
Kopējais tilpums	202 µl	2424 µl
Tilpums uz ekstrakciju	katrs 200 µl	200 µl

- c) Lai veiktu ekstrakciju, uzreiz izmantojiet tikko sagatavotu līzes buferšķīduma un nesēja RNS maisījumu. Maisījuma uzglabāšana nav iespējama.

- Nesēja RNS izmantošana ir būtiski svarīga ekstrakcijas efektivitātei un tāpat arī DNS/RNS iegūšanai. Lai palielinātu QIAamp UltraSens Virus komplektā iekļautās nesēja RNS stabilitāti, ieteicams veikt šādas darbības, kas atšķiras no ekstrakcijas komplekta lietotāja rokasgrāmatā aprakstītā:

- a) Izšķīdiniet liofilizēto nesēja RNS pirms ekstrakcijas komplekta pirmās izmantošanas 310 µl komplektā iekļautā eluēšanas buferšķīduma (gala koncentrācija 1 µg/µl, neizmantojiet līzes buferšķīdumu). Sadaliet šo nesēja RNS šķīdumu alikvotās daļās atbilstoši Jūsu vajadzībām un uzglabājiet tās -20°C temperatūrā. Izvairieties no atkārtotas RNS alikvoto daļu atkausēšanas un sasaldēšanas (> 2 reizes).



b) Pirms katras ekstrakcijas jā sagatavo svaigs līzes buferšķīduma un nesēja RNS maisījums (un *lekšējā kontrole*, ja nepieciešams, skatīt 8.2. nodaļu *lekšējā kontrole*) saskaņā ar turpmāk izskaidroto pipetēšanas shēmu:

Paraugu daudzums	1	12
Līzes buferšķīdums AC	800 µl	9600 µl
Nesēja RNS (1 µg/µl)	5,6 µl	67,2 µl
Kopējais tilpums	805,6 µl	9667,2 µl
Tilpums uz ekstrakciju	katrs 800 µl	800 µl

c) Lai veiktu ekstrakciju, uzreiz izmantojiet tikko sagatavotu līzes buferšķīduma un nesēja RNS maisījumu. Maisījuma uzglabāšana nav iespējama.

- Lai sasniegtu visaugstāko *artus* HSV-1/2 LC PCR komplekta jutību, DNS ir ieteicams eluēt 50 µl eluēšanas buferšķīduma.
- **QIAamp UltraSens Virus komplekts** ļauj veikt parauga koncentrēšanu. Ja izmantojat parauga materiālu, kas nav serums vai plazma, pievienojiet paraugam vismaz 50% (tilpumkoncentrācijas) negatīvu cilvēka plazmu.
- Izmantojot izolēšanas protokolus ar **etilspirtu** saturošiem mazgāšanas buferšķīdumiem, pirms eluēšanas veiciet papildu centrifugēšanu (trīs minūtes, 13 000 apgr./min), lai noņemtu atlikušo etilspirtu. Tas novērš iespējamo PCR inhibēšanu.
- *artus* HSV-1/2 LC PCR komplektu nedrīkst izmantot ar **fenolus** saturošām izolēšanas metodēm.

#### Svarīga piezīme EZ1 DSP Virus komplekta lietotājiem:

- **Nesēja RNS** izmantošana ir būtiski svarīga ekstrakcijas efektivitātei un tāpat arī DNS/RNS iegūšanai. Pievienojiet atbilstošu nesēja RNS daudzumu katrai ekstrakcijai saskaņā ar *EZ1 DSP Virus komplekta rokasgrāmatas* norādījumiem.

**Svarīgi:** *artus* HSV-1/2 LC PCR komplekta *lekšējo kontroli* var lietot tieši izolēšanas procedūrā (skatīt 8.2. nodaļu *lekšējā kontrole*).

## 8.2. Iekšējā kontrole

*Iekšējā kontrole (HSV LC IC)* ietilpst komplektā. Tas ļauj lietotājam **gan kontrolēt DNS izolēšanas procedūru, gan pārbaudīt iespējamo PCR inhibēšanu** (skatīt 1. att.). Izmantojot **EZ1 DSP Virus komplektu** ekstrakcijai, nepieciešams pievienot *iekšējo kontroli* saskaņā ar *EZ1 DSP Virus komplekta rokasgrāmatas* norādījumiem. Izmantojot **QIAamp UltraSens Virus komplektu** vai **QIAamp DNA Mini komplektu**, pievienojiet izolējumam *iekšējo kontroli* attiecībā 0,1 µl uz 1 µl eluēšanas tilpuma. Piemēram, izmantojot QIAamp DNA Mini komplektu, DNS tiek eluēta 50 µl AE buferšķīduma. Tas nozīmē, ka sākumā jāpievieno 5 µl *iekšējās kontroles*. *Iekšējās kontroles* daudzums ir atkarīgs **tikai** no eluēšanas tilpuma. *Iekšējā kontrole* un nesēja RNS (skatīt 8.1. nodaļu DNS izolēšana) jāpievieno tikai

- līzes buferšķīduma un parauga materiāla maisījumam vai
- tieši līzes buferšķīdumam.

*Iekšējo kontroli* nedrīkst pievienot tieši paraugu materiālam. Ja to pievieno līzes buferšķīdumam, ņemiet vērā, ka *iekšējās kontroles* un līzes buferšķīduma/nesēja RNS maisījumam jābūt svaigi sagatavotam, un tas jāizmanto uzreiz (maisījuma uzglabāšana istabas temperatūrā vai ledusskapī tikai dažas stundas var izraisīt *iekšējās kontroles* darbības zudumu un mazināt ekstrakcijas efektivitāti). Nepievienojiet *iekšējo kontroli* un nesēja RNS tieši parauga materiālam.

Pēc izvēles *iekšējo kontroli* var izmantot **tikai iespējamās PCR inhibēšanas pārbaudei** (skatīt 2. att.). Šim nolūkam pievienojiet 0,5 µl *iekšējās kontroles* uz reakciju tieši 15 µl *HSV LC Master* šķīdumam. Katrai PCR reakcijai izmantojiet 15 µl *Master Mix* šķīduma, kas ir sagatavots pēc iepriekš minētā apraksta\*, un pievienojiet 5 µl attīrītā parauga. Ja PCR norise paredzēta vairākiem paraugiem, palieliniet *HSV LC Master* un *iekšējās kontroles* tilpumu atbilstoši paraugu daudzumam (skatīt 8.4. nodaļu PCR sagatavošana).

*artus HSV-1/2 LC PCR komplekti* un *artus VZV LC PCR komplekti* satur identisku *iekšējo kontroli (IC)*. *artus EBV LC PCR komplekti* un *artus CMV LC PCR komplekti* arī satur identisku *iekšējo kontroli*.

\* Tilpuma palielināšanās *iekšējās kontroles* pievienošanas rezultātā netiek ņemta vērā PCR testa sagatavošanas laikā. Detektēšanas sistēmas jutība netiek samazināta.

### 8.3. Kvantitatīvā noteikšana

Pievienotie *Kvantitatīvās noteikšanas standarti (HSV1 LC/RG/TM QS 1–4 & HSV2 LC/RG/TM QS 1–4)* tiek apstrādāti kā iepriekš attīrīti paraugi un tiek izmantots tāds pats tilpums (5 µl). Lai izveidotu standarta līkni *LightCycler* ierīcē, jāizmanto visi četri HSV-1, kā arī HSV-2 *Kvantitatīvās noteikšanas standarti* un logā *Sample Loading Screen* tie jādefinē kā standarti ar norādītu koncentrāciju (skatīt *LightCycler lietotāja instrukciju*, versija 3.5, B nodaļa, 2.4. punkts *Paraugu datu ieraksts*). Pēc iepriekš minētā apraksta izveidoto standarta līkni iespējams izmantot turpmākajām norisēm, nodrošinot, lai vismaz viens standarts no **vienas** koncentrācijas ir izmantots pašreizējā norisē. Šim nolūkam jāimportē iepriekš izveidotā standarta līkne (skatīt *LightCycler lietotāja instrukciju*, versija 3.5, B nodaļa, 4.2.5. punkts *Kvantitatīvā noteikšana ar ārējo standarta līkni*). Tomēr šī kvantitatīvās noteikšanas metode var izraisīt rezultātu novirzes variācijas dēļ starp dažādām PCR norisēm.

**Ja PCR norisē integrēta vairāk nekā viena Herpes *artus* sistēma, lūdzu, analizējiet šīs dažādās sistēmas atsevišķi, izmantojot atbilstošos *Kvantitatīvās noteikšanas standartus*.**

**Uzmanību:** *Kvantitatīvās noteikšanas standarti* ir definēti kā kopijas/µl. Lai konvertētu ar standarta līkni iegūtās vērtības parauga materiāla kopijās/ml, izmantojiet šādu vienādojumu:

Rezultāts (kopijas/ml)	Rezultāts (kop./µl) x Eluēšanas tilpums (µl)
=	<hr/> Parauga tilpums (ml)

Lūdzu, ņemiet vērā, ka iepriekš sniegtajā vienādojumā ir būtiski ievadīt sākotnējo parauga tilpumu. Tas jāievēro, ja parauga tilpums ir mainīts pirms nukleīnskābes ekstrakcijas (piemēram, samazinot tilpumu ar centrifugēšanu vai palielinot tilpumu atkārtotas papildināšanas rezultātā līdz izolējumam nepieciešamajam tilpumam).

**Svarīgi:** Norādījumi *artus* sistēmu kvantitatīvajai analīzei *LightCycler* ierīcē ir pieejami interneta vietnē [www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX](http://www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX) (**Tehniskā piezīme kvantitatīvajai noteikšanai *LightCycler* 1.1/1.2/1.5 vai *LightCycler* 2.0 ierīcē**).

### 8.4. PCR sagatavošana

Pārliedziniet, vai dzesēšanas bloks, kā arī kapilāru adapteri (*LightCycler* ierīces piederumi) ir iepriekš atdzesēti līdz +4°C temperatūrai. Ievietojiet vēlamo *LightCycler* kapilāru skaitu dzesēšanas

bloka adapteros. Pārlicinieties, vai PCR norisē ir iekļauts vismaz viens *Kvantitatīvās noteikšanas standarts (HSV1 LC/RG/TM QS 1–4 & HSV2 LC/RG/TM QS 1–4)*, kā arī viena negatīva kontrole (*Water, PCR grade*). Lai izveidotu standarta līkni, katrai PCR norisei izmantojiet visus piedāvātos *Kvantitatīvās noteikšanas standartus (HSV1 LC/RG/TM QS 1–4 & HSV2 LC/RG/TM QS 1–4)*. Pirms katras lietošanas reizes visi reaģenti pilnībā jāatkausē, jāsamaisa (atkārtoti ievielkot pipetē un izspiežot no tās vai ātri sajaucot virpuļmikserī) un īsu brīdi jācentrifugē.

Ja vēlaties izmantot *lekšējo kontroli*, lai monitorētu DNS izolēšanas procedūru un pārbaudītu iespējamo PCR inhibēšanu, tā jau ir pievienota izolējumam (skatīt 8.2. nodaļu *lekšējā kontrole*). Šajā gadījumā, lūdzu, izmantojiet turpmāk izskaidroto pipetēšanas shēmu (shematisku attēlojumu skatīt 1. att.):

	Paraugu daudzums	1	12
<b>1. Master Mix sagatavošana</b>	<i>HSV LC Master</i>	15 µl	180 µl
	<i>HSV LC IC</i>	0 µl	0 µl
	Kopējais tilpums	15 µl	180 µl
<b>2. PCR testa sagatavošana</b>	Master Mix	15 µl	katrs 15 µl
	Paraugs	5 µl	katrs 5 µl
	Kopējais tilpums	20 µl	katrs 20 µl

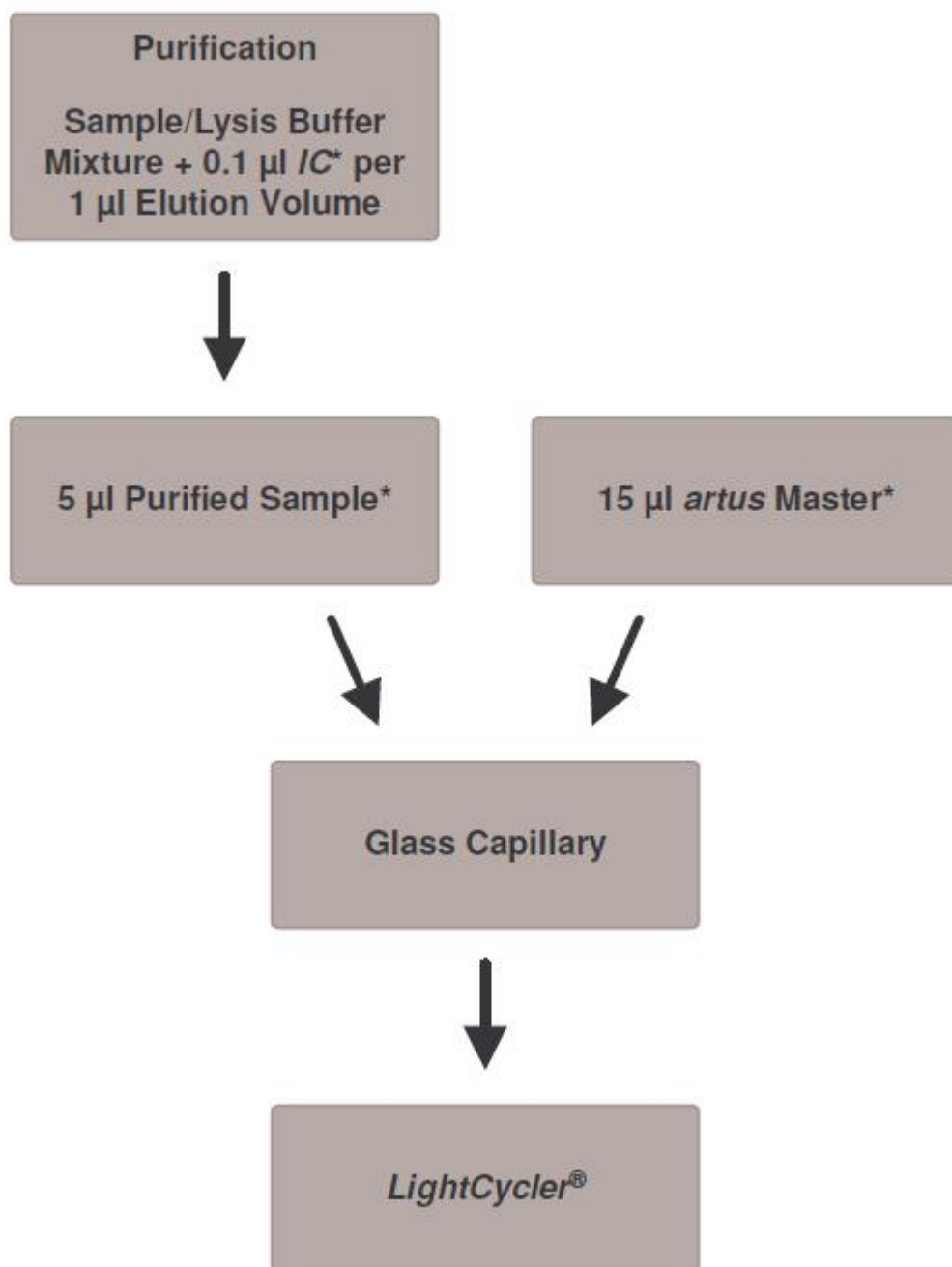
Ja vēlaties izmantot *lekšējo kontroli tikai PCR inhibēšanas pārbaudei*, to jāpievieno tieši *HSV LC Master* šķīdumam. Šajā gadījumā, lūdzu, izmantojiet turpmāk izskaidroto pipetēšanas shēmu (shematisku attēlojumu skatīt 2. att.):

	Paraugu daudzums	1	12
<b>1. Master Mix sagatavošana</b>	<i>HSV LC Master</i>	15 µl	180 µl
	<i>HSV LC IC</i>	0,5 µl	6 µl
	Kopējais tilpums	15,5 µl*	186 µl*
<b>2. PCR testa sagatavošana</b>	Master Mix	15 µl*	katrs 15 µl*
	Paraugs	5 µl	katrs 5 µl
	Kopējais tilpums	20 µl	katrs 20 µl

\* Tilpuma palielināšanās *lekšējās kontroles* pievienošanas rezultātā netiek ņemta vērā PCR testa sagatavošanas laikā. Detektēšanas sistēmas jutība netiek samazināta.

Ar pipeti iepilniet 15 µl Master Mix katra kapilāra plastmasas rezervuārā. Tad pievienojiet 5 µl eluētā parauga DNS. Izmantojiet 5 µl vismaz viena *Kvantitatīvās noteikšanas standarta (HSV1 LC/RG/TM QS 1–4 & HSV2 LC/RG/TM QS 1–4)* kā pozitīvu kontroli un 1 µl ūdens (*Water, PCR grade*) kā negatīvu kontroli. Noslēdziet kapilārus. Lai pārnestu maisījumu no plastmasas rezervuāra uz kapilāru, 10 sekundes centrifugējiet adapterus ar kapilāriem galda centrifūgā ar maksimālo ātrumu 400 x g (2000 apgr./min).

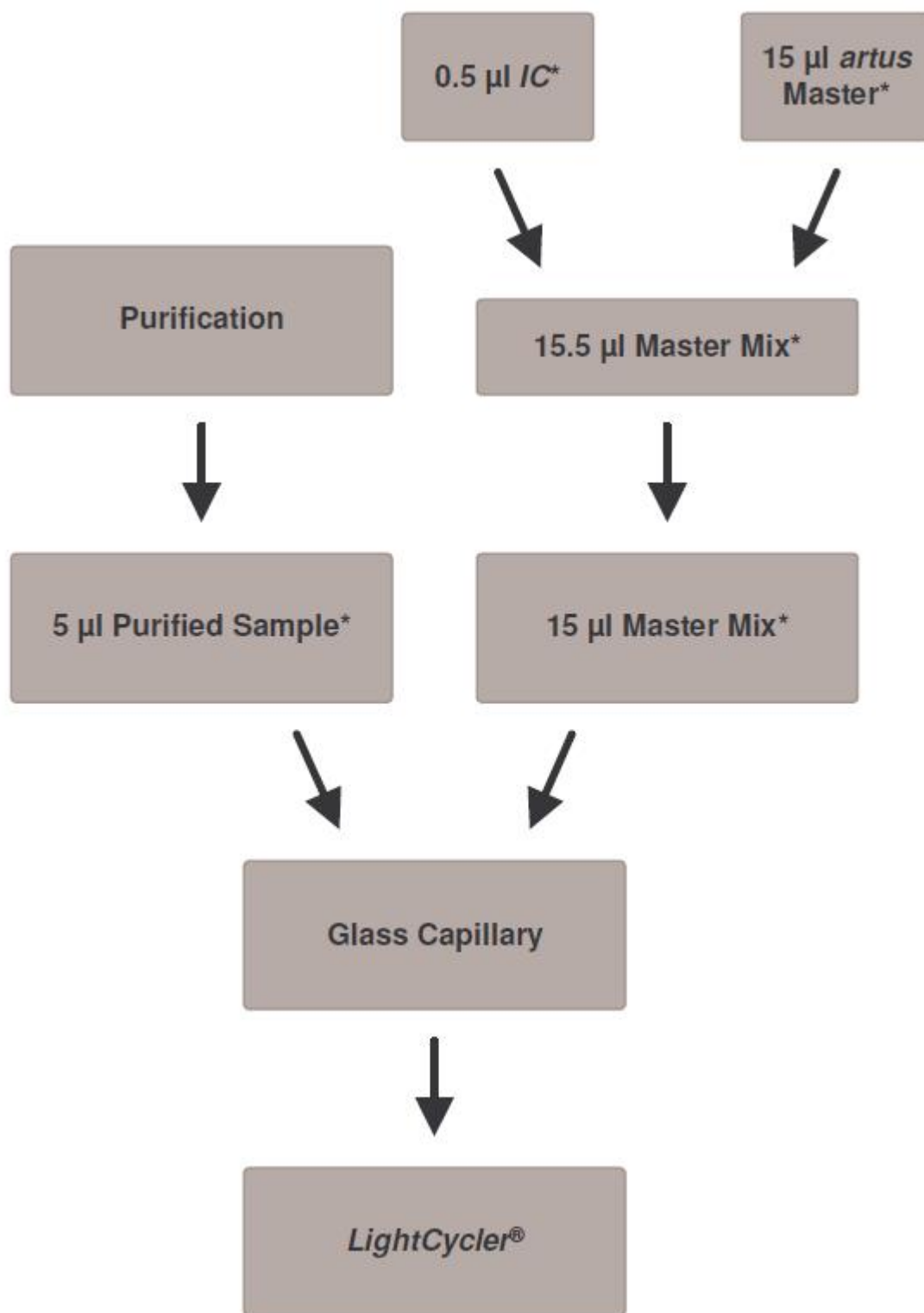
***lekšējās kontroles*** pievienošana attīrīšanas procedūrai



1. att. Shematiska darba plūsma attīrīšanas procedūras un PCR inhibēšanas kontrolei.

\* Pārliedzinieties, vai šķīdumi ir pilnībā atkausēti, rūpīgi sajaukti un īsu brīdi centrifugēti.

***lekšējās kontroles*** pievienošana *artus Master* šķīdumam



2. att. Shematiska darba plūsuma PCR inhibēšanas kontrolei.

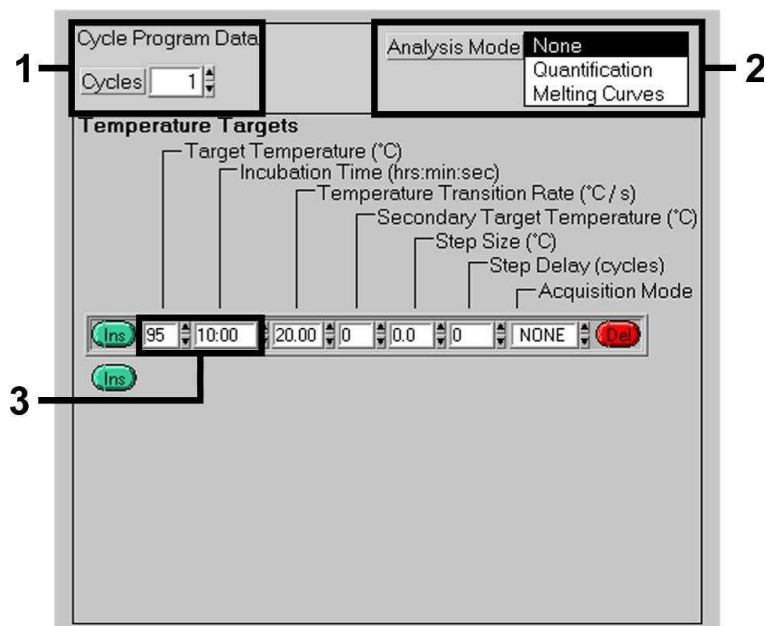
\* Pārliedzinieties, vai šķīdumi ir pilnībā atkausēti, rūpīgi sajaukti un īsu brīdi centrifugēti.

## 8.5. *LightCycler* ierīces programmēšana

Lai noteiktu Herpes simplex vīrusa DNS, izveidojiet temperatūras profilu savā *LightCycler* ierīcē, ievērojot piecas turpmāk minētās darbības ( 3.–7. att.).

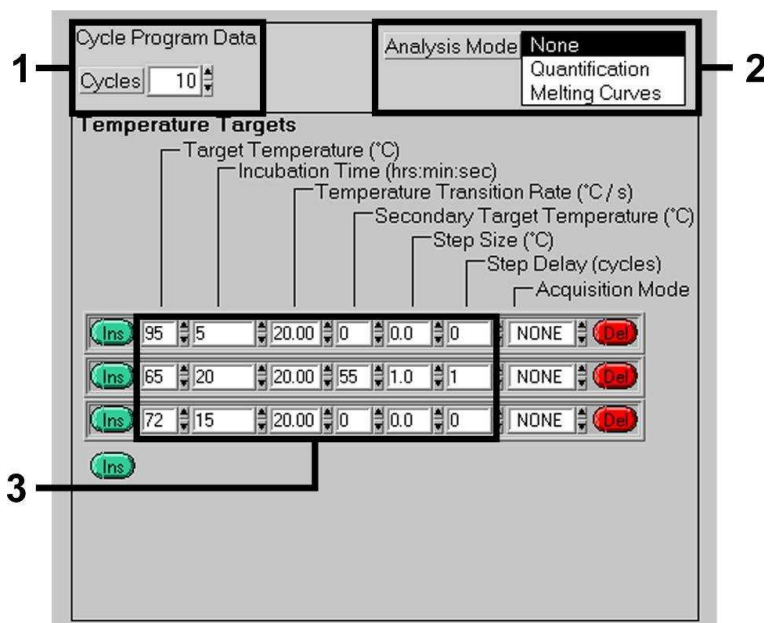
- A. Karstā starta enzīma sākotnējā aktivizēšana, 3. att.
- B. “Touch Down” solis, 4. att.
- C. DNS amplifikācija, 5. att.
- D. Kušanas līkne, 6. att.
- E. Dzesēšana, 7. att.

Īpašu uzmanību pievēršiet *Analysis Mode*, *Cycle Program Data* un *Temperature Targets* iestatījumiem. Attēlos šie iestatījumi attēloti melnajos rāmjos. Detalizēta informācija par *LightCycler* ierīces programmēšanu pieejama *LightCycler* lietotāja instrukcijā.

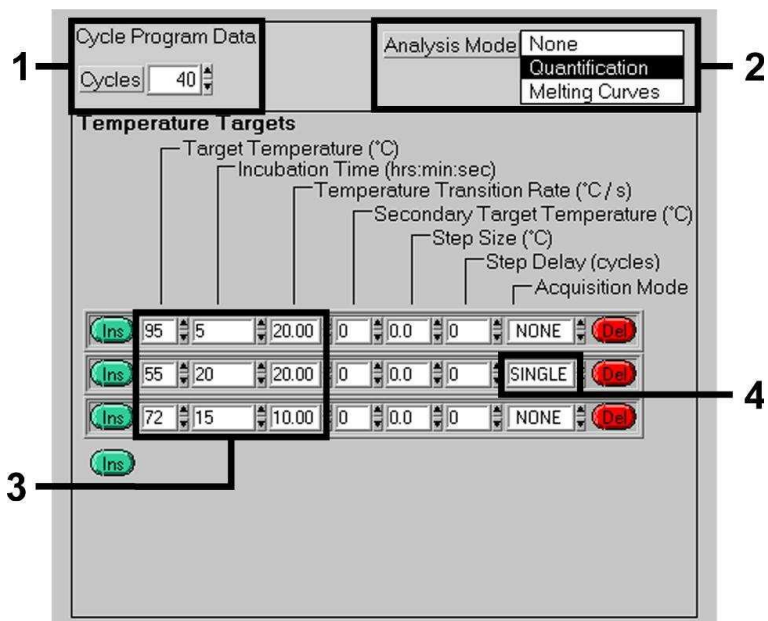


3. att. Karstā starta enzīma sākotnējā aktivizēšana.

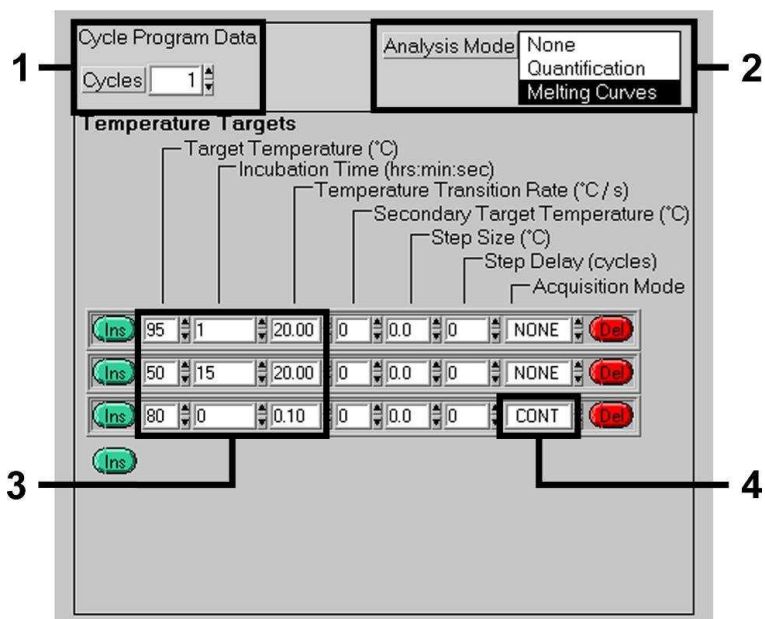




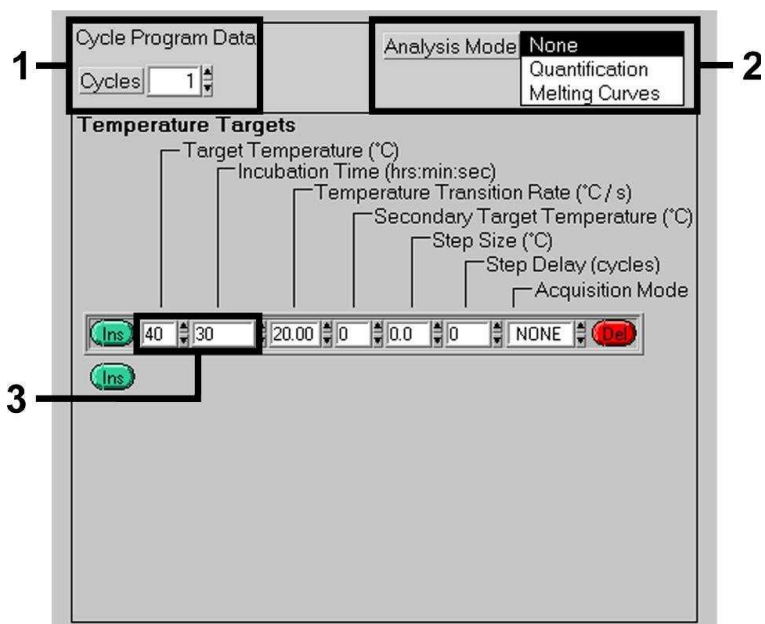
4. att. "Touch Down" solis.



5. att. DNS amplifikācija.



6. att. Kušanas līkne.



7. att. Dzesēšana.

## 9. Datu analīze

Veicot daudzkrāsu analīzi, rodas traucējumi starp fluorimetra kanāliem. *LightCycler* ierīces programmatūrā atrodas fails ar nosaukumu *Color Compensation File*, kas kompensē šos traucējumus. Atveriet šo failu pirms, pēc vai PCR norises laikā, aktivizējot pogu *Choose CCC File* vai *Select CC Data*. Ja fails *Color Compensation File* nav instalēts, izveidojiet to saskaņā ar *LightCycler* lietotāja instrukcijas norādījumiem. Pēc *Color Compensation File* aktivizēšanas parādās atsevišķi signāli fluorimetra kanālos F1, F2 un F3. Ar *artus HSV-1/2 LC PCR* komplektu

iegūto PCR rezultātu analīzei izvēlieties fluorescences displeja iespēju F2/Back-F1 analītiskajai HSV PCR un F3/Back-F1 *lekšējās kontroles* PCR. Lai veiktu norīšu kvantitatīvo analīzi, sekojiet norādījumiem 8.3. nodaļā Kvantitatīvā noteikšana un **Tehniskajā piezīmē kvantitatīvajai noteikšanai *LightCycler 1.1/1.2/1.5* vai *LightCycler 2.0* ierīcēs** interneta vietnē [www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX](http://www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX).

Ja PCR norisē integrēta vairāk nekā viena Herpes *artus* sistēma, lūdzu, analizējiet šīs dažādās sistēmas atsevišķi, izmantojot atbilstošos **Kvantitatīvās noteikšanas standartus**. Tas attiecas arī uz abu HSV apakštipu analīzi. HSV-1 paraugu kvantitatīvās noteikšanas rezultātus skatiet standarta līknē, kas izveidota ar HSV-1 standartiem (*HSV1 LC/RG/TM QS 1–4*). HSV-2 izmantojiet standarta līkni, kas izveidota pamatojoties uz HSV-2 standartu analīzi (*HSV2 LC/RG/TM QS 1–4*).

Ir iespējami šādi rezultāti:

1. Signāls ir uztverts fluorimetra kanālā F2/Back-F1.

**Analīzes rezultāts ir pozitīvs: Paraugs satur HSV DNS.**

Šajā gadījumā signāla uztveršana F3/Back-F1 kanālā nav obligāta, jo augstas HSV DNS sākotnējas koncentrācijas (pozitīvs signāls F2/Back-F1 kanālā) var novest pie vāja *lekšējās kontroles* fluorescences signāla vai fluorescences signāla trūkuma F3/Back-F1 kanālā (konkurence).

**HSV-1 un HSV-2 amplikonus iespējams diferencēt pēc kušanas temperatūras (kanāls F2/Back-F1, programmas *melting curve*); HSV-1 kušanas temperatūra ir 69°C, bet HSV-2 – 66°C. Atkarībā no dažādiem ekstrakcijas apstākļiem un to attiecīgo buferizācijas apstākļu dēļ šīs vērtības var atšķirties par 1–2°C. Tomēr šī novirze būs vienāda abiem apakštipiem.**

2. Fluorimetra kanālā F2/Back-F1 nav uztverts signāls. Vienlaicīgi *lekšējās kontroles* signāls parādās F3/Back-F1 kanālā.

Paraugā nav nosakāms HSV DNS. Rezultātu var uzskatīt par negatīvu.

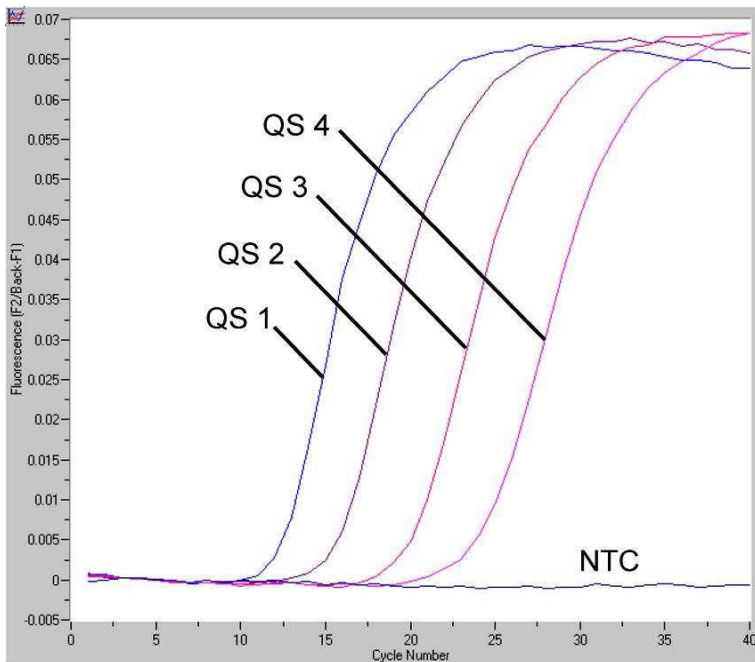
Negatīvas HSV PCR gadījumā uztverts *lekšējās kontroles* signāls izslēdz PCR inhibēšanas iespēju.

3. Signāls nav uztverts ne F2/Back-F1, ne F3/Back-F1 kanālā.

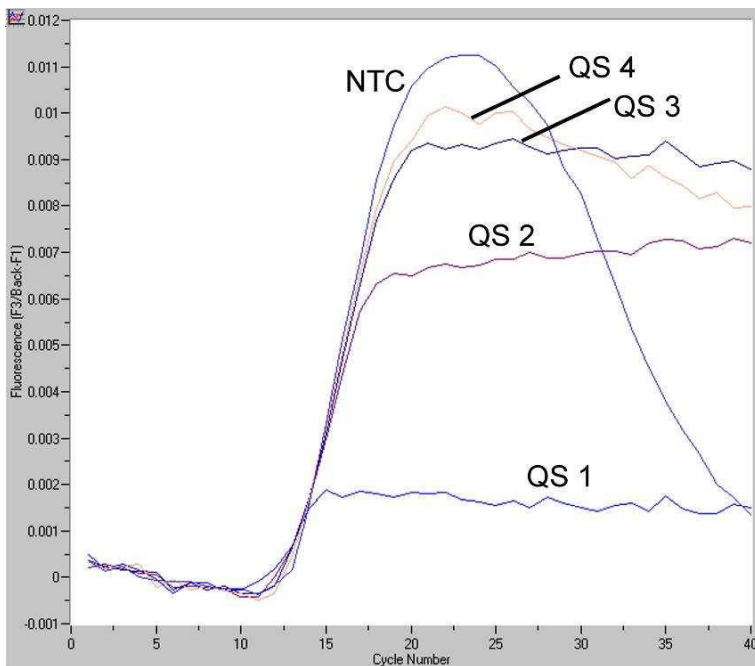
**Diagnozi nevar uzstādīt.**

Informācija par kļūdu avotiem un to risinājumu pieejama 10. nodaļā Problēmu novēršana.

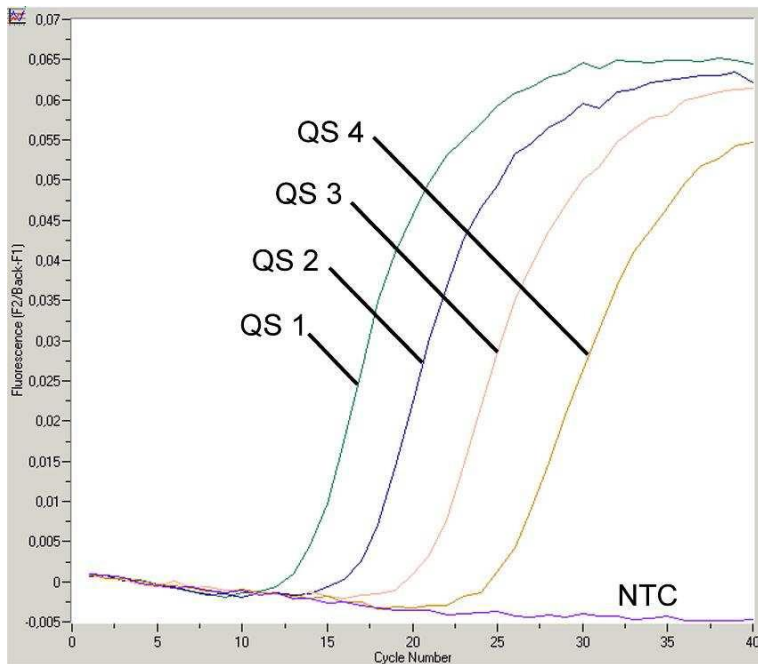
Pozitīvo un negatīvo PCR reakciju, kā arī diferenciacijas kušanas līkņu piemēri attēloti 8.–12. attēlā.



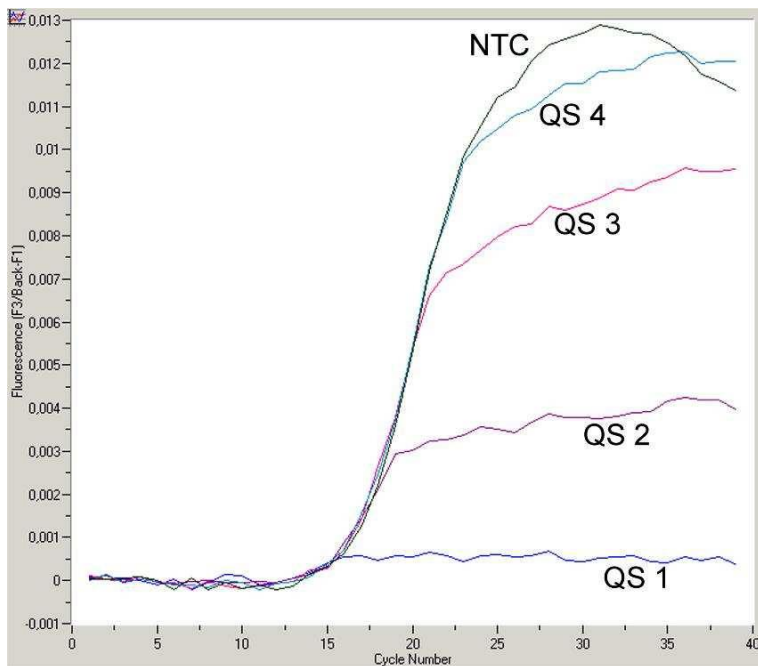
8. att. Kvantitatīvās noteikšanas standartu (*HSV1* LC/RG/TM QS 1–4) detektēšana fluorimetra kanālā F2/Back-F1. NTC: bez matricas kontrole (negatīva kontrole).



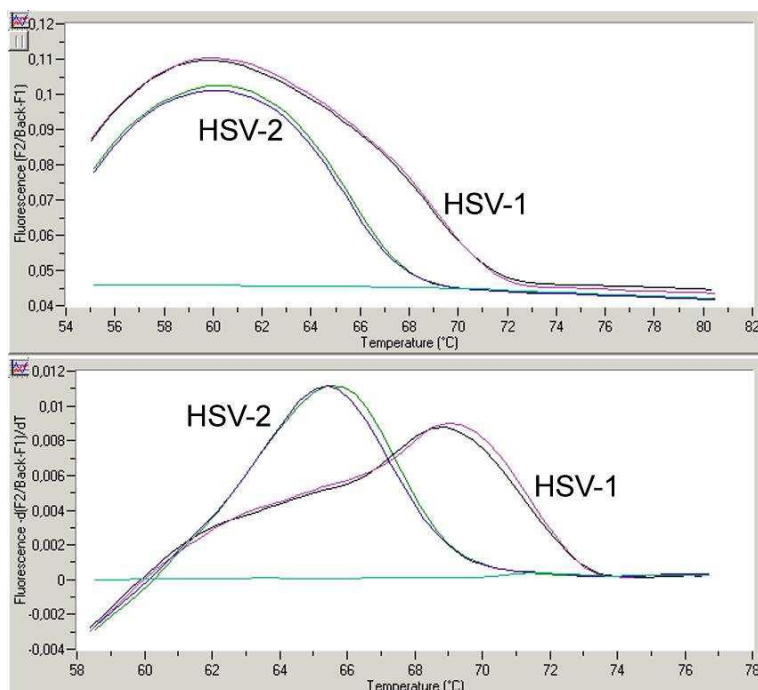
9. att. Iekšējās kontroles (IC) detektēšana fluorimetra kanālā F3/Back-F1, vienlaikus veicot Kvantitatīvās noteikšanas standartu (*HSV1* LC/RG/TM QS 1–4) amplifikāciju. NTC: bez matricas kontrole (negatīva kontrole).



10. att. Kvantitatīvās noteikšanas standartu (*HSV2 LC/RG/TM QS 1–4*) detektēšana fluorimetra kanālā F2/Back-F1. NTC: bez matricas kontrole (negatīva kontrole).



11. att. Iekšējās kontroles (IC) detektēšana fluorimetra kanālā F3/Back-F1, vienlaikus veicot Kvantitatīvās noteikšanas standartu (*HSV2 LC/RG/TM QS 1–4*) amplifikāciju.



12. att. HSV-1 un HSV-2 diferenciācijas piemērs fluorimetra kanālā **F2/Back-F1** (programmā *Melting Curve*).

## 10. Problēmu novēršana

Nav signāla ar pozitīvām kontrolēm (*HSV1 LC/RG/TM QS 1–4 & HSV2 LC/RG/TM QS 1–4*) fluorimetra kanālā **F2/Back-F1**:

- PCR datu analīzei izvēlētais fluorimetra kanāls neatbilst protokolam.
  - ➔ Analītiskajai HSV PRC datu analīzei izvēlieties fluorimetra kanālu **F2/Back-F1** un *leikšējās kontroles* PCR fluorimetra kanālu **F3/Back-F1**.
- Nepareiza *LightCycler* ierīces temperatūras profila programmēšana.
  - ➔ Salīdziniet temperatūras profilu ar protokolu (skatīt 8.5. nodaļu *LightCycler* ierīces programmēšana).
- Nepareiza PCR reakcijas konfigurācija.
  - ➔ Pārbaudiet darba soļus ar pipetēšanas shēmas palīdzību (skatīt nodaļu 8.4. PCR sagatavošana) un nepieciešamības gadījumā atkārtojiet PCR.
- Uzglabāšanas nosacījumi vienai vai vairākām komplekta sastāvdaļām neatbilst norādījumiem 2. nodaļā Uzglabāšana vai *artus HSV-1/2 LC PCR* komplekta derīguma termiņš ir beidzies.

- Pārbaudiet reaģentu uzglabāšanas nosacījumus un derīguma termiņu (skatīt komplekta etiķeti) un, ja nepieciešams, izmantojiet jaunu komplektu.

### **Vājš *lekšējās kontroles* signāls vai nav signāla fluorimetra kanālā F3/Back-F1 un vienlaikus nav signāla kanālā F2/Back-F1:**

- PCR apstākļi neatbilst protokolam.
  - Pārbaudiet PCR apstākļus (skatīt iepriekš) un nepieciešamības gadījumā atkārtojiet PCR ar pareiziem iestatījumiem.
- PCR ir inhibēta.
  - Pārliedzinieties, vai izmantojat rekomendēto izolēšanas metodi (skatīt 8.1. nodaļu DNS izolēšana) un stingri ievērojat ražotāja norādījumus.
  - Pārliedzinieties, vai DNS izolēšanas laikā pirms eluēšanas tika veikta rekomendētā papildu centrifugēšana, lai noņemtu jebkādus etilspirta atlikumus (skatīt 8.1. nodaļu DNS izolēšana).
- DNS ekstrakcijas laikā ir pazaudēta.
  - Ja ekstrakcijai tika pievienota *lekšējā kontrole*, *lekšējās kontroles* signāla trūkums var norādīt uz DNS pazaudēšanu ekstrakcijas laikā. Pārliedzinieties, vai izmantojat rekomendēto izolēšanas metodi (skatīt 8.1. nodaļu DNS izolēšana) un stingri ievērojat ražotāja norādījumus.
- Uzglabāšanas nosacījumi vienai vai vairākām komplekta sastāvdaļām neatbilst norādījumiem 2. nodaļā Uzglabāšana vai *artus HSV-1/2 LC PCR* komplekta derīguma termiņš ir beidzies.
  - Pārbaudiet reaģentu uzglabāšanas nosacījumus un derīguma termiņu (skatīt komplekta etiķeti) un, ja nepieciešams, izmantojiet jaunu komplektu.

### **Signāli ar negatīvu kontroli analītiskās PCR fluorimetra kanālā F2/Back-F1.**

- PCR sagatavošanas laikā radās kontaminācija.
  - Atkārtojiet PCR ar jauniem reaģentiem replikātos.
  - Ja iespējams, noslēdziet PCR mēģenes tieši pēc testējamā parauga pievienošanas.
  - Pozitīvo kontroli vienmēr pipetējiet pēdējo.
  - Pārliedzinieties, vai darba vieta un ierīces tiek regulāri tīrītas.
- Ekstrakcijas laikā radās kontaminācija.

- ➔ Atkārtojiet testējamā parauga ekstrakciju un PCR, izmantojot jaunus reaģentus.
- ➔ Pārliedzinieties, vai darba vieta un ierīces tiek regulāri tīrītas.

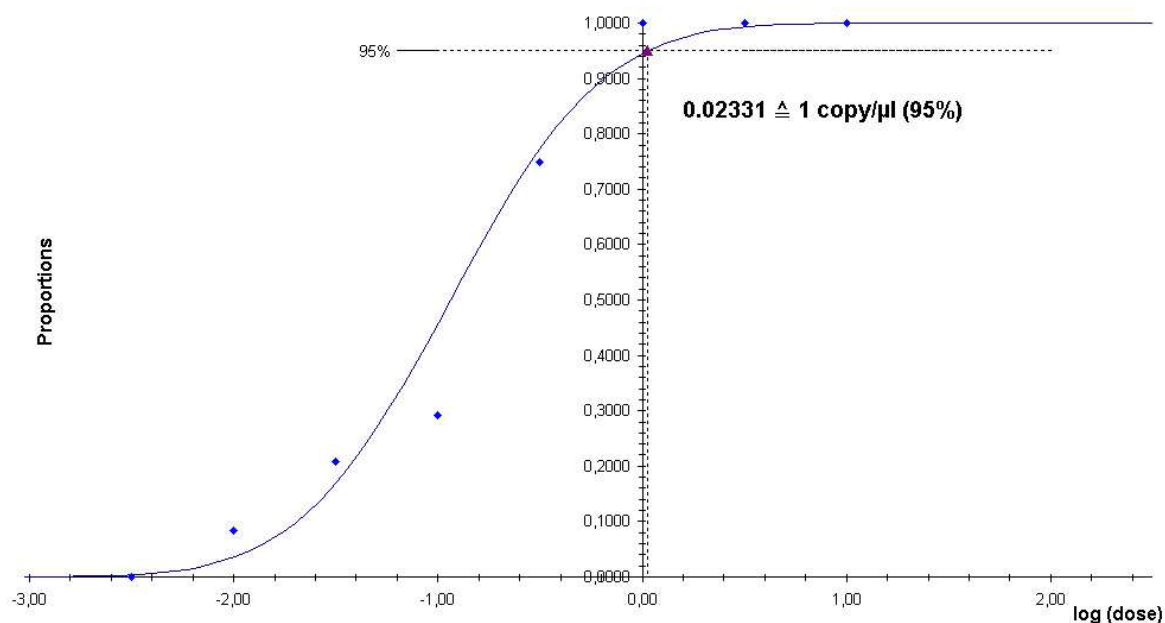
Ja Jums rodas jautājumi vai problēmas, sazinieties ar mūsu tehnisko dienestu.

## 11. Tehniskie parametri

### 11.1. Analītiskā jutība

Lai noteiktu *artus* HSV-1/2 LC PCR komplekta analītisko jutību, tika uzstādītas HSV-1 un HSV-2 standarta atšķaidījumu sērijas no 31,6 līdz nominālam 0,0115 kopijas ekvivalenti\*/ $\mu$ l un analizētas, izmantojot *artus* HSV-1/2 LC PCR komplektu. Testēšana tika veikta trīs dažādās dienās, izmantojot astoņus replikātus. Rezultāti tika noteikti ar probita analīzi. Probita analīzes grafiskais attēlojums ir redzams 13. un 14. attēlā. *artus* HSV-1/2 LC PCR komplekta analītiskā HSV-1 un HSV-2 detektēšanas robeža konstanti ir 1 kopija/ $\mu$ l ( $p = 0,05$ ). Tas nozīmē, ka pastāv 95% kopijas detektēšanas varbūtība.

#### Probita analīze: Herpes simplex vīruss 1 (LightCycler)

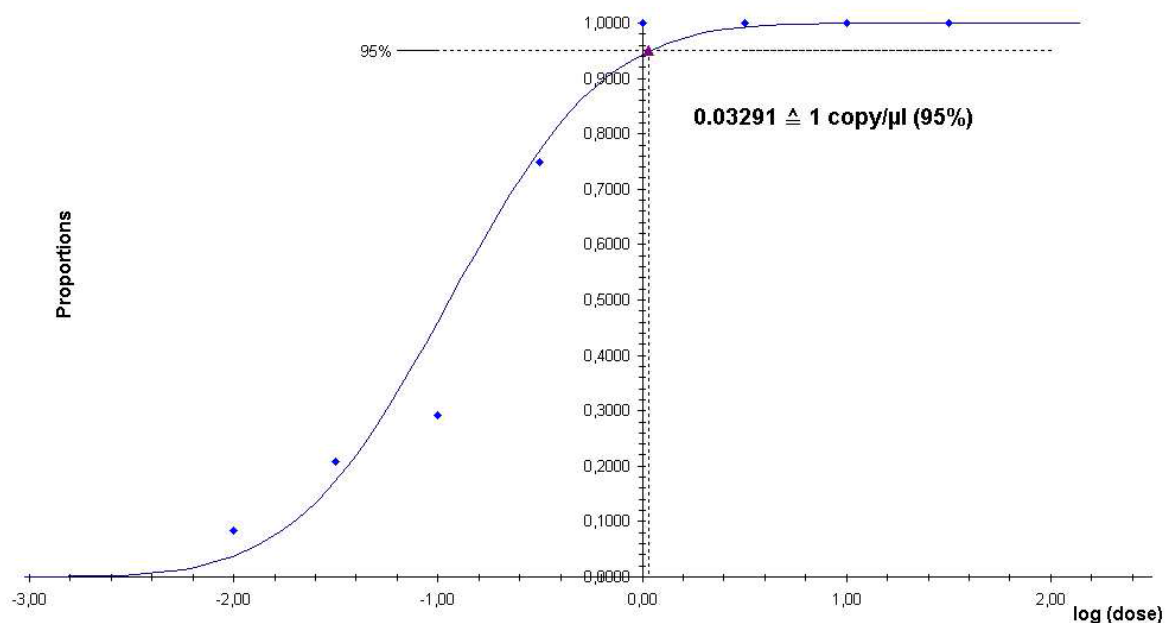


13. att. *artus* HSV-1/2 LC PCR komplekta analītiskā jutība (HSV-1).

\* Standarts ir klonēts PCR produkts, kura koncentrācija ir noteikta absorbcijas un fluorescences spektroskopijas ceļā.



## Probita analīze: Herpes simplex vīruss 2 (*LightCycler*)



14. att. *artus* HSV-1/2 LC PCR komplekta analītiskā jutība (HSV-2).

## 11.2. Specifiskums

*artus* HSV-1/2 LC PCR komplekta specifiskumu pirmkārt un galvenokārt nodrošina praimeru un zonžu, kā arī stingru reakcijas apstākļu izvēle. Praimeru un zondes ar sekvenču salīdzināšanas analīzes palīdzību tika pārbaudīti uz iespējamām homologijām visām gēnu bankās publicētajām sekvencēm. Tādējādi ir nodrošināta visu attiecīgo celmu identificējamība.

Turklāt specifiskums tika apstiprināts ar 30 dažādiem HSV negatīviem cerebrospinālā šķidruma paraugiem. Paraugi neradīja nekādus signālus ar *HSV LC Master* iekļautajiem HSV specifiskajiem praimeriem un zondēm.

Lai noteiktu *artus* HSV-1/2 LC PCR komplekta specifiskumu, nākamajā tabulā (1. tabula) minētā kontroles grupa tika pārbaudīta uz krustenisko reaktivitāti. Neviens no pārbaudītajiem slimības izraisītājiem nebija reaktīvs.

**1. tabula. Komplekta specifiskuma pārbaude ar potenciāli krusteniski reaģējošiem slimības izraisītājiem.**

Kontroles grupa	HSV-1/2 (F2/Back-F1)	<i>lekšējā kontrole</i> (F3/Back-F1)
Cilvēka herpes vīruss 3 (Varicella zoster vīruss)	–	+
Cilvēka herpes vīruss 4 (Epšteina-Barra vīruss)	–	+
Cilvēka herpes vīruss 5 (Citomegalovīruss)	–	+
Cilvēka herpes vīruss 6 A	–	+
Cilvēka herpes vīruss 6 B	–	+
Cilvēka herpes vīruss 7	–	+
Cilvēka herpes vīruss 8 (ar Kapoši sarkomu asociētais herpes vīruss)	–	+

### 11.3. Precizitāte

*artus* HSV-1/2 LC PCR komplekta precizitātes dati ļauj noteikt kopējo testa novirzi. Kopējo novirzi veido **vienas analīzes rezultātu variācija** (daudzu paraugu rezultātu mainīgums tādai pašai koncentrācijai viena eksperimenta ietvaros), **dažādu analīžu rezultātu variācija** (daudzu testu rezultātu mainīgums, kas ir iegūti ar tāda paša tipa dažādiem instrumentiem un ko ir veikuši dažādi operatori vienā laboratorijā) un **dažādu partiju analīžu rezultātu variācija** (daudzu testu rezultātu mainīgums, izmantojot dažādas partijas). Iegūtie dati tika izmantoti, lai noteiktu slimības izraisītājam specifiskās un *lekšējās kontroles* PCR standartnovirzi, variāciju un variācijas koeficientu.

*artus* HSV-1/2 LC PCR komplekta precizitātes dati tika savākti, izmantojot zemākās koncentrācijas *Kvantitatīvās noteikšanas standartu* (QS 4; 10 kopijas/μl). Testēšana tika veikta, izmantojot astoņus replikātus. Precizitātes dati tika aprēķināti, pamatojoties uz amplifikācijas līkņu Ct vērtībām (Ct: slietņa cikls, skatīt 2. tabulu/4. tabulu). Turklāt kvantitatīvo rezultātu precizitātes dati kā kopijas/μl tika noteikti, izmantojot atbilstošās Ct vērtības (3. tabula/5. tabula). Pamatojoties uz šiem rezultātiem, katra dotā parauga vispārējā statistiskā izkliede ar minēto koncentrāciju ir 1,67% (Ct; HSV-1) un 1,95% (Ct; HSV-2) vai 20,66% (konc.,

HSV-1) un 22,42% (konc., HSV-2), *lekšējās kontroles* noteikšanai 1,23% (Ct; HSV-1) un 1,04% (Ct; HSV-2). Šo vērtību pamatā ir noteikto variāciju visu atsevišķu vērtību kopums.

**2. tabula. HSV-1 precizitātes dati uz Ct vērtību pamata**

	Standartnovirze	Variācija	Variācijas koeficients [%]
Vienas analīzes rezultātu variācija: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	0,27	0,07	1,13
Vienas analīzes rezultātu variācija: <i>lekšējā kontrole</i>	0,03	0,00	0,23
Dažādu analīžu rezultātu variācija: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	0,39	0,15	1,66
Dažādu analīžu rezultātu variācija: <i>lekšējā kontrole</i>	0,12	0,01	0,99
Dažādu partiju analīžu rezultātu variācija: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	0,41	0,17	1,72
Dažādu partiju analīžu rezultātu variācija: <i>lekšējā kontrole</i>	0,17	0,03	1,40
Kopējā variācija: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	0,39	0,15	1,67
Kopējā variācija: <i>lekšējā kontrole</i>	0,15	0,02	1,23

3. tabula. HSV-1 precizitātes dati, balstoties uz kvantitatīviem rezultātiem (kopijās/ $\mu$ l)

	Standartnovirze	Variācija	Variācijas koeficients [%]
Vienas analīzes rezultātu variācija: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	1,76	3,08	17,34
Dažādu analīžu rezultātu variācija: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	2,02	4,08	19,82
Dažādu partiju analīžu rezultātu variācija: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	2,37	5,64	23,10
Kopējā variācija: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	2,11	4,46	20,66

4. tabula. HSV-2 precizitātes dati uz Ct vērtību pamata

<i>Herpes simplex</i> vīruss 2	Standartnovirze	Variācija	Variācijas koeficients [%]
Vienas analīzes rezultātu variācija: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	0,22	0,05	0,90
Vienas analīzes rezultātu variācija: <i>Iekšējā kontrole</i>	0,04	0,00	0,33
Dažādu analīžu rezultātu variācija: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	0,62	0,38	2,51
Dažādu analīžu rezultātu variācija: <i>Iekšējā kontrole</i>	0,12	0,01	0,98
Dažādu partiju analīžu rezultātu variācija: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	0,38	0,14	1,52
Dažādu partiju analīžu rezultātu variācija: <i>Iekšējā kontrole</i>	0,14	0,02	1,12
Kopējā variācija: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	0,48	0,23	1,95
Kopējā variācija: <i>Iekšējā kontrole</i>	0,13	0,02	1,04

5. tabula. HSV-2 precizitātes dati, balstoties uz kvantitatīviem rezultātiem (kopijās/ $\mu$ l)

<i>Herpes simplex</i> vīruss 2	Standartnovirze	Variācija	Variācijas koeficients [%]
Vienas analīzes rezultātu variācija: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	1,39	1,94	13,82
Dažādu analīžu rezultātu variācija: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	2,86	8,20	27,46
Dažādu partiju analīžu rezultātu variācija: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	1,96	3,85	19,27
Kopējā variācija: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	2,30	5,31	22,42

## 11.4. Robustums

Robustuma pārbaude ļauj noteikt kopējo *artus* HSV-1/2 LC PCR komplekta atteižu biežumu. 30 HSV negatīvos cerebrospinālā šķidruma paraugos tika ievadītas 3 kopijas/ $\mu$ l HSV-1 kontroles DNS eluēšanas tilpuma (analītiskās jutības robežas aptuveni trīskārtējā koncentrācija). Pēc ekstrakcijas ar QIAamp DNA Mini komplektu (QIAGEN; skatīt 8.1. nodaļu DNS izolēšana) šos paraugus analizēja, izmantojot *artus* HSV-1/2 LC PCR komplektu. HSV-2 analīzi veica līdzīgi (30 cerebrospinālā šķidruma paraugi, 3 kopijas/ $\mu$ l HSV-2 kontroles DNS). Visiem HSV-1 un HSV-2 paraugiem kļūdu intensitāte sastādīja 0%. Turklāt *lekšējās kontroles* robustums tika novērtēts, attīrot un analizējot 30 HSV negatīvos cerebrospinālā šķidruma paraugus. Kopējā kļūdu intensitāte veidoja 0%. Inhibīcijas netika novērotas. Tātad *artus* HSV-1/2 LC PCR komplekta robustums ir  $\geq 99\%$ .

## 11.5. Atražošanas spēja

Atražošanas spējas dati ļauj veikt *artus* HSV-1/2 LC PCR komplekta regulāru darbības vērtēšanu, kā arī efektivitātes salīdzināšanu ar citiem produktiem. Šie dati ir iegūti, piedaloties izveidotajās efektivitātes programmās.

## 11.6. Diagnostikas vērtējums

Šobrīd *artus* HSV-1/2 LC PCR komplekts ir pakļauts vairākiem vērtēšanas pētījumiem

## 12. Produkta izmantošanas ierobežojumi

- Visi reaģenti ir paredzēti izmantošanai tikai in vitro diagnostikā.
- Produktu ir atļauts izmantot tikai personālam, kas ir speciāli apmācīts un trenēts in vitro diagnostikas procedūru veikšanā.
- Lai nodrošinātu optimālus PCR rezultātus, obligāti jāievēro lietotāja instrukcijas norādījumi.
- Nepieciešams pievērst uzmanību derīguma termiņam, kas norādīts uz kastes un visu sastāvdaļu etiķetēm. Neizmantojiet sastāvdaļas, kurām ir beidzies derīguma termiņš.

## 13. Drošības informācija

*artus* HSV-1/2 LC PCR komplekta drošības informācija ir pieejama attiecīgajās drošības datu lapās (SDS). Drošības datu lapas ērtā un kompaktā PDF formātā ir pieejamas tiešsaistē [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety).

## 14. Kvalitātes kontrole

Saskaņā ar QIAGEN ISO 9001 un ISO 13485 sertificēto Vispārējo kvalitātes kontroles sistēmu, katra *artus* HSV-1/2 LC PCR komplekta partija ir pārbaudīta uz iepriekš noteiktām specifiskajām, lai nodrošinātu pastāvīgu produkta kvalitāti.

## 15. Atsauces

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

(2) Whiley DM, Syrmis 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. Simboli



Derīgs līdz



Partijas numurs



Ražotājs



Kataloga numurs



Materiāla numurs



Rokasgrāmata



In vitro diagnostikas medicīnas ierīce



Etilspirts



Globālais tirdzniecības identifikācijas numurs



<N>

Satur atbilstošu daudzumu <N> testiem



Temperatūras ierobežojums

**QS**

*Kvantitatīvās noteikšanas standarts*

**IC**

*Iekšējā kontrole*



artus HSV-1/2 LC PCR komplekts

Preču zīmes un atrunas

QIAGEN®, QIAamp®, artus®, BioRobot®, EZ1®, UltraSens® (QIAGEN Group); Light Cycler® (Roche Diagnostics).

Šajā dokumentā lietotie reģistrētie nosaukumi, preču zīmes u. tml., pat ja nav īpaši atzīmēti, ir aizsargāti ar likumu.

artus HSV-1/2 LC PCR komplekts, BioRobot EZ1 DSP darbstacija un EZ1 DSP Virus komplekts un karte ir diagnostikas ierīces ar CE marķējumu, kas atbilst Eiropas Parlamenta un Padomes Direktīvai 98/78/EK par medicīnas ierīcēm, ko lieto in vitro diagnostikā. Nav pieejams visās valstīs.

QIAamp komplekti ir paredzēti vispārējai izmantošanai laboratorijā. Netiek pieņemtas nekādas pretenzijas attiecībā uz informācijas sniegšanu par slimības diagnozi, profilaksi vai ārstēšanu.

Iegādājoties artus PCR komplektus, tiek piešķirta ierobežota licence, kas ļauj izmantot tos polimerāzes ķēdes reakcijas (PCR) procesos cilvēku un dzīvnieku in vitro diagnostikā kopā ar termocikleru, kura izmantošanu PCR procesa automatizētā funkcionēšanā paredz licences priekšapmaksu, veicot maksājumu uzņēmumam Applied Biosystems, vai pirkšana, t. i., autorizēts termociklers. Uz PCR procesu attiecas ārvalstu partneriem piemērojami ASV patenti Nr. 5219727; 5322770; 5210015; 5176995; 6040166; 6197563; 5994056; 6171785; 5487972; 5804375; 5407800; 5310652 un 5994056, kuru īpašnieks ir F. Hoffmann-La Roche Ltd.

© 2007–2015 QIAGEN, visas tiesības aizsargātas.

---

[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

**Austrālija** ■ [techservice-au@qiagen.com](mailto:techservice-au@qiagen.com)

**Austrija** ■ [techservice-at@qiagen.com](mailto:techservice-at@qiagen.com)

**Beļģija** ■ [techservice-bnl@qiagen.com](mailto:techservice-bnl@qiagen.com)

**Brazīlija** ■ [suportetecnico.brasil@qiagen.com](mailto:suportetecnico.brasil@qiagen.com)

**Kanāda** ■ [techservice-ca@qiagen.com](mailto:techservice-ca@qiagen.com)

**Ķīna** ■ [techservice-cn@qiagen.com](mailto:techservice-cn@qiagen.com)

**Dānija** ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

**Somija** ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

**Francija** ■ [techservice-fr@qiagen.com](mailto:techservice-fr@qiagen.com)

**Vācija** ■ [techservice-de@qiagen.com](mailto:techservice-de@qiagen.com)

**Honkongā** ■ [techservice-hk@qiagen.com](mailto:techservice-hk@qiagen.com)

**Indija** ■ [techservice-india@qiagen.com](mailto:techservice-india@qiagen.com)

**Īrija** ■ [techservice-uk@qiagen.com](mailto:techservice-uk@qiagen.com)

**Itālija** ■ [techservice-it@qiagen.com](mailto:techservice-it@qiagen.com)

**Japāna** ■ [techservice-jp@qiagen.com](mailto:techservice-jp@qiagen.com)

**Dienvīdķoreja** ■ [techservice-kr@qiagen.com](mailto:techservice-kr@qiagen.com)

**Luksemburģa** ■ [techservice-bnl@qiagen.com](mailto:techservice-bnl@qiagen.com)

**Meksika** ■ [techservice-mx@qiagen.com](mailto:techservice-mx@qiagen.com)

**Nīderlande** ■ [techservice-bnl@qiagen.com](mailto:techservice-bnl@qiagen.com)

**Norvēģija** ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

**Singapūra** ■ [techservice-sg@qiagen.com](mailto:techservice-sg@qiagen.com)

**Zviedrija** ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

**Šveice** ■ [techservice-ch@qiagen.com](mailto:techservice-ch@qiagen.com)

**Apvienotā Karaliste** ■ [techservice-uk@qiagen.com](mailto:techservice-uk@qiagen.com)

**ASV** ■ [techservice-us@qiagen.com](mailto:techservice-us@qiagen.com)

