

artus[®] HSV-1/2 RG PCR Kit Handbuch

 24 (Katalog-Nr. 4500263)

 96 (Katalog-Nr. 4500265)

Version 1



Qualitatives In-vitro-Diagnostikum

Zur Verwendung mit Rotor-Gene[®] Q Thermocyclern



4500263, 4500265



1060171DE



QIAGEN GmbH, QIAGEN-Straße 1, 40724 Hilden, DEUTSCHLAND

R2

MAT

1060171DE



QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN ist der führende Anbieter von innovativen Probenvorbereitungs- und Testtechnologien, die die Isolierung und die Analyse von Nukleinsäuren und Proteinen in jedem biologischen Probenmaterial ermöglicht. Unsere fortschrittlichen, qualitativ hochwertigen Produkte und Dienstleistungen stellen den Erfolg von der Probe bis zum Ergebnis sicher.

QIAGEN setzt Standards in:

- der Reinigung von DNA, RNA und Proteinen
- Nukleinsäure- und Protein-Assays
- microRNA-Forschung und RNAi
- der Automatisierung von Probenvorbereitungs- und Testtechnologien

Unsere Mission ist es, Ihnen herausragende Erfolge und bahnbrechend neue Erkenntnisse bei Ihrer Forschung zu ermöglichen. Weitere Informationen finden Sie auf der Website www.qiagen.com.

Inhalt

Kit-Inhalt	4
Symbole	4
Lagerung	5
Vorgesehener Verwendungszweck	5
Anwendungseinschränkungen	6
Technischer Service	6
Qualitätskontrolle	6
Sicherheitshinweise	7
Einleitung	8
Prinzip	8
Erreger-Informationen	8
Leistungscharakteristik	9
Vom Anwender bereitzustellende Ausrüstung und Reagenzien	17
Wichtige Hinweise	18
Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen	18
DNA-Isolierung	18
Interne Kontrolle	19
Protokoll	
■ PCR und Auswertung	20
Hilfe zur Fehlersuche	31
Literatur	34
Bestellinformationen	35

Kit-Inhalt

artus HSV-1/2 RG PCR Kit		(24)	(96)
Katalog-Nr.		4500263	4500265
Anzahl Reaktionen		24	96
Blau	HSV-1/2 RG Master	2 x 300 µl	8 x 300 µl
Gelb	HSV-1/2 RG Mg-Sol* Mg-Sol	600 µl	600 µl
Rot	HSV-1 RG PC [†] (100 Kopien/µl)	200 µl	200 µl
Braun	HSV-2 RG PC [†] (100 Kopien/µl)	200 µl	200 µl
Grün	HSV-1/2 RG IC [‡] IC	1000 µl	2 x 1000 µl
Weiß	Wasser (für PCR geeignet)	1000 µl	1000 µl
	Handbuch 	1	1

* Magnesiumlösung.

† Positivkontrolle.

‡ Interne Kontrolle.

Symbole



<N>

Kit enthält Reagenzien für <N> Tests



Zur Verwendung bis



In-vitro-diagnostisches Medizinprodukt



Katalognummer



Chargennummer



Materialnummer



Komponenten



Enthält



Anzahl



Global Trade Item Number (Globale Artikelnummer)



Zulässiger Temperaturbereich



Hersteller i.S.d. Gesetzes



Lesen Sie die detaillierten Informationen im Handbuch



Wichtiger Hinweis

Lagerung

Die Komponenten des *artus* HSV-1/2 RG PCR Kits sollten bei -15 °C bis -30 °C gelagert werden; sie sind bei diesen Temperaturen bis zu dem auf der Kit-Verpackung angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren (mehr als 2-mal) sollte vermieden werden, weil dadurch die Assay-Sensitivität verringert werden könnte. Bei unregelmäßigem Gebrauch sollten die Reagenzien daher in Aliquots eingefroren werden. Die Komponenten sollten nicht länger als fünf Stunden bei $2-8\text{ °C}$ aufbewahrt werden.

Vorgesehener Verwendungszweck

Der *artus* HSV-1/2 RG PCR Kit basiert auf der Methode der Real-Time-Polymerase-Kettenreaktion (Real-Time-PCR) zum Nachweis und zur Unterscheidung der DNA der humanen Herpes-simplex-Viren 1 und 2 mithilfe der Rotor-Gene Q Thermocycler. Die dabei eingesetzten DNA-Proben werden zuvor voll automatisiert aus CSF-Proben (= Cerebrospinalflüssigkeit, Liquor), die aus HSV-infizierten Individuen entnommen wurden, mithilfe des EZ1[®] DSP Virus Kits isoliert.



Der *artus* HSV-1/2 RG PCR Kit darf nicht zusammen mit den Geräten der Typreihe Rotor-Gene Q 2plex verwendet werden.

Der *artus* HSV-1/2 RG PCR Kit ist für den Gebrauch in Verbindung mit der klinischen Präsentation und anderen labormedizinischen prognostischen Krankheits-Markern vorgesehen.

Anwendungseinschränkungen

Alle Reagenzien dürfen ausschließlich als In-vitro-Diagnostika verwendet werden.

Das Produkt darf nur von speziell unterwiesenem Personal verwendet werden, das in der Anwendung in-vitro-diagnostischer Verfahren (EN 375) geschult ist.

Um optimale PCR-Ergebnisse zu erzielen, ist es erforderlich, dass Sie die Angaben im Handbuch genau einhalten.

Achten Sie auf die Haltbarkeitsdaten, die auf der Kit-Verpackung und den Etiketten der einzelnen Komponenten des Kits aufgedruckt sind. Verwenden Sie keine Kit-Komponenten, deren Haltbarkeitsdatum abgelaufen ist.

Technischer Service

Der Technische Service von QIAGEN garantiert Qualität auch in der wissenschaftlichen Beratung unserer Kunden. Hier stehen Ihnen erfahrene Wissenschaftler für Ihre Fragen zu Probenvorbereitungs- und Testtechnologien sowie zur Anwendung der QIAGEN® Produkte gerne zur Verfügung. Rufen Sie uns an, wenn Sie Fragen zum *artus* HSV-1/2 RG PCR Kit oder zu anderen QIAGEN Produkten haben.

Die Erfahrungen unserer Kunden sind eine wichtige Informationsquelle bei der Entwicklung und Verbesserung unserer Produkte. Rufen Sie uns an, denn Ihre Vorschläge und Ideen zu unseren Produkten und zu neuen Techniken interessieren uns.

Technische Hinweise und zusätzliche nützliche Informationen finden Sie in unserem Technischen Support Center unter www.qiagen.com/support. Darüber hinaus ist Ihnen das Team vom Technischen Service gerne behilflich, falls Sie Rat oder weitere Informationen zu QIAGEN Produkten benötigen (Kontaktinformationen siehe hintere Umschlagseite oder unter www.qiagen.com).

Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagement-System von QIAGEN wird jede Charge des *artus* HSV-1/2 RG PCR Kits nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Schutzhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheits-Datenblättern entnehmen (Safety Data Sheets, SDSs). In unserer Online-Sammlung der Materialsicherheits-Datenblätter unter www.qiagen.com/safety finden Sie zu jedem QIAGEN® Kit und zu jeder Kit-Komponente das jeweilige SDS als PDF-Datei, die Sie einsehen und ausdrucken können.

Entsorgen Sie den bei Probenverarbeitung und PCR-Reaktion angefallenen (Flüssig-)Abfall gemäß den geltenden Sicherheitsbestimmungen.

Einleitung

Der *artus* HSV-1/2 RG PCR Kit ist ein gebrauchsfertiges System für den Nachweis von HSV-1- und HSV-2-DNA durch die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) mit Rotor-Gene Q Thermocyclern. Der HSV-1/2-RG-Master-Mix (*HSV-1/2 RG Master*) beinhaltet Reagenzien und Enzyme für die spezifische Amplifikation eines 154 bp langen Abschnitts des HSV-1- und HSV-2-Genoms sowie für die unmittelbare Detektion des spezifischen Amplikons im Fluoreszenz-Kanal "Cycling Green" (Anregung: 470 nm; Detektion: 510 nm) oder "Cycling Orange" (Anregung: 585 nm; Detektion: 610 nm) der Rotor-Gene Q Thermocycler.

Darüber hinaus enthält der *artus* HSV-1/2 RG PCR Kit zum Nachweis einer möglichen PCR-Inhibierung ein zweites heterologes Amplifikationssystem. Dieses wird als interne Kontrolle (IC) im Fluoreszenz-Kanal "Cycling Yellow" (Anregung: 530 nm; Detektion: 555 nm) der Rotor-Gene Q Geräte detektiert. Dabei wird die Nachweisgrenze der analytischen HSV-1/2-RG-PCR (siehe „Analytische Sensitivität“ auf Seite 9) nicht herabgesetzt. Es werden externe Positivkontrollen (HSV-1 RG PC und HSV-2 RG PC) mitgeliefert.

Prinzip

Bei dem Nachweis mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) werden spezifische Bereiche aus dem Genom des Erregers amplifiziert. Die Detektion findet bei der Real-Time-PCR mithilfe von Fluoreszenzfarbstoffen statt. Diese sind in der Regel an Oligonukleotid-Sonden gekoppelt, die spezifisch an das PCR-Amplifikat binden. Die Detektion der Fluoreszenzintensitäten im Verlauf der Real-Time-PCR ermöglicht den Nachweis und die Quantifizierung der Produkte, ohne die Probenröhrchen nach der PCR wieder öffnen zu müssen.*

Erreger-Informationen

Das Herpes-simplex-Virus (HSV) wird in der Bläschenflüssigkeit, Zerebrospinalflüssigkeit (CSF, Liquor), im Speichel und Vaginalsekret gefunden und primär durch direkten Kontakt mit Läsionen (Schmierinfektionen) sowie durch Sexualverkehr und perinatal übertragen. Bei einem Großteil der HSV-bedingten Erkrankungen dominiert das Bild der Bläschenbildung auf der Haut und an den Schleimhäuten des Mundes und im Genitalbereich. Die HSV-Infektion kann als Primärinfektion auftreten, die in über 90 % der Fälle asymptomatisch verläuft, oder als Rezidiv (Sekundärinfektion). Zu den v. a. durch HSV-1 ausgelösten Primärinfektionen zählen die Gingivostomatitis, das Ekzema herpeticum, die Keratokonjunktivitis und die Enzephalitis. HSV-2 tritt im Rahmen der Primärinfektion v. a. als Vulvovaginitis, als Meningitis und als generalisierter Herpes

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

des Neugeborenen auf. Als Hauptsymptome eines Rezidivs der HSV-Infektion kommt es vor allem zu Hautläsionen (Bläschenbildung) in der Nasolabial- oder Genitalregion. Gefährlicher einzustufen sind die rezidivierenden Formen der Keratokonjunktivitis und der Meningitis.

Leistungscharakteristik

Analytische Sensitivität

Zur Bestimmung der analytischen Sensitivität des *artus* HSV-1/2 RG PCR Kits wurde eine Standard-Verdünnungsreihe von 10 bis 0,001 Kopien/ μ l erstellt und unter Verwendung des *artus* HSV-1/2 RG PCR Kits mit dem Rotor-Gene Q/6000 analysiert. Die Untersuchungen wurden an drei verschiedenen Tagen in Form von Achtfach-Bestimmungen durchgeführt. Die Ergebnisse wurden mittels Probit-Analyse bestimmt. Die analytische Nachweisgrenze des *artus* HSV-1/2 RG PCR Kits in Kombination mit dem Rotor-Gene Q/6000 beträgt 0,12 Kopien/ μ l ($p = 0,05$) für HSV-1 bzw. 0,16 Kopien/ μ l ($p = 0,05$) für HSV-2. Dies bedeutet, dass 0,12 Kopien/ μ l (HSV-1-DNA) bzw. 0,16 Kopien/ μ l (HSV-2-DNA) mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % detektiert werden können. Die Probit-Analyse für HSV-1-DNA ist in Abbildung 1 unten grafisch dargestellt, das Diagramm der Probit-Analyse für HSV-2-DNA ist in Abbildung 2 wiedergegeben.

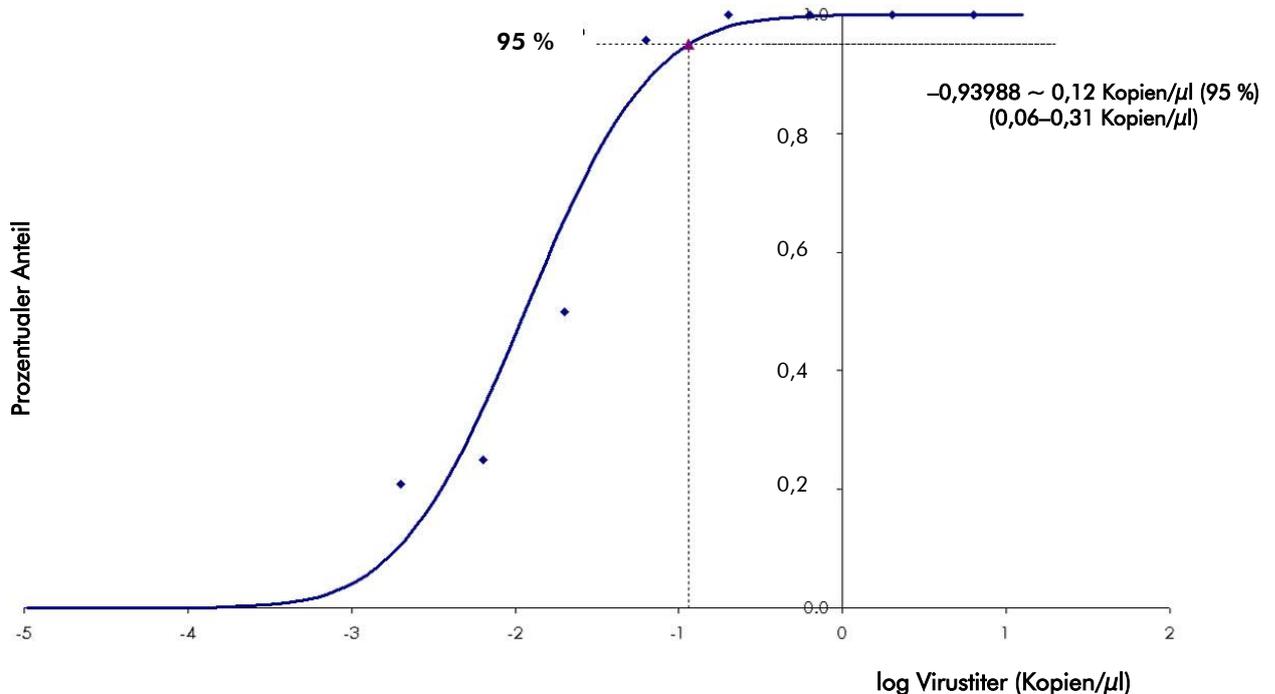


Abbildung 1. Probit-Analyse: HSV-1 (Rotor-Gene Q/6000). Analytische Sensitivität des *artus* HSV-1/2 RG PCR Kits für HSV-1 bei Verwendung mit dem Rotor-Gene Q/6000.

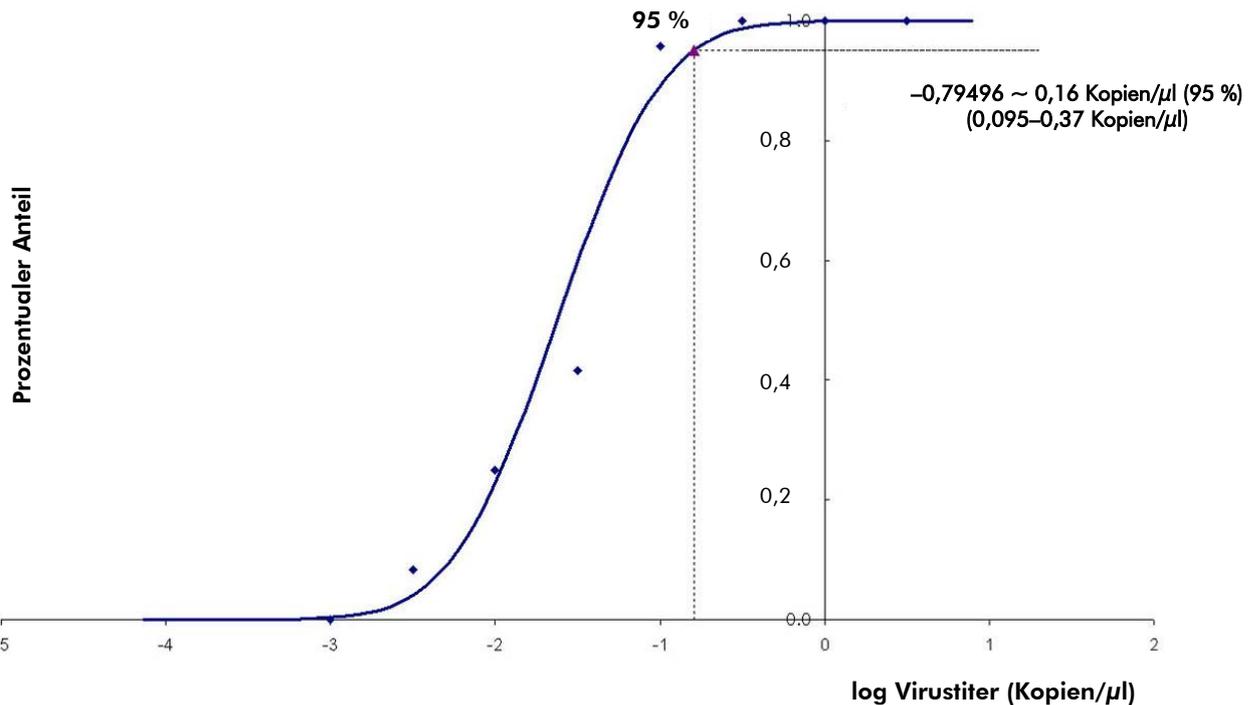


Abbildung 2. Probit-Analyse: HSV-2 (Rotor-Gene Q/6000). Analytische Sensitivität des *artus* HSV-1/2 RG PCR Kits für HSV-2 bei Verwendung mit dem Rotor-Gene Q/6000.

Spezifität

Die Spezifität des *artus* HSV-1/2 PCR Kits wird in erster Linie durch die Auswahl der Primer und Sonden sowie die Wahl stringenter Reaktionsbedingungen gewährleistet. Die Primer und Sonden sind anhand einer Sequenzvergleichsanalyse auf eventuelle Homologien zu allen in Genbanken publizierten Sequenzen überprüft worden. Die Detektierbarkeit aller relevanten Genotypen wurde sowohl durch ein Datenbank-Alignment als auch durch eine PCR auf den Rotor-Gene Geräten mit Proben der folgenden Stämme (siehe Tabelle 1) sichergestellt.

Die Spezifität wurde zudem mit 30 verschiedenen HSV-1- und HSV-2-negativen Liquorproben (CSF) validiert. Bei keiner dieser Proben wurde mit den im HSV-1/2 RG Master-Mix enthaltenen HSV-1- und HSV-2-spezifischen Primern und Sonden ein Signal erhalten.

Zur Überprüfung einer potenziellen Kreuzreaktivität des *artus* HSV-1/2 RG PCR Kits wurde die in Tabelle 2 aufgeführte Kontrollgruppe getestet. Keiner der getesteten Erreger war reaktiv.

Tabelle 1. Spezifitätstestung relevanter Genotypen

Virus	Stamm	Bezugs- quelle	HSV-1 (Cycling Green)	HSV-2 (Cycling Orange)	Interne Kontrolle (Cycling Yellow)
HSV-1	HF	ATCC*	+	–	+
HSV-1	KOS	INSTAND†	+	–	+
HSV-1	MacIntyre	QCMD‡	+	–	+
HSV-2	HG-52	NCPV§	–	+	+
HSV-2	G	ATCC*	–	+	+
HSV-2	MS	QCMD‡	–	+	+

* ATCC: American Type Culture Collection.

† INSTAND: Society for Promotion of Quality Assurance in the Medical Laboratories (dt.: Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien).

‡ QCMD: Quality Control for Molecular Diagnostics (dt.: Qualitätskontrolle für molekulare Diagnostik).

§ NCPV: National Collection of Pathogenic Viruses (dt.: Nationale Sammlung pathogener Viren)

Tabelle 2. Spezifitätstestung des Kits mit potenziell kreuzreaktiven Erregern

Kontrollgruppe	HSV-1 (Cycling Green)	HSV-2 (Cycling Orange)	Interne Kontrolle (Cycling Yellow)
Humanes Herpesvirus 3 (Varicella-Zoster-Virus)	–	–	+
Humanes Herpesvirus 4 (Epstein-Barr-Virus)	–	–	+
Humanes Herpesvirus 5 (Cytomegalie-Virus)	–	–	+
Humanes Herpesvirus 6A	–	–	+
Humanes Herpesvirus 6B	–	–	+
Humanes Herpesvirus 7	–	–	+
Humanes Herpesvirus 8 (Kaposi- Sarkom-assoziiertes Herpesvirus)	–	–	+
Hepatitis-A-Virus	–	–	+
Hepatitis-B-Virus	–	–	+
Hepatitis-C-Virus	–	–	+
Humanes Immundefizienz-Virus (HIV)	–	–	+
Humanes T-Zell-Leukämievirus 1	–	–	+
Humanes T-Zell-Leukämievirus 2	–	–	+
Enterovirus	–	–	+
Parvovirus B19	–	–	+
West-Nil-Virus	–	–	+

Präzision

Die Daten zur Präzision des *artus* HSV-1/2 RG PCR Kits wurden unter Verwendung der Rotor-Gene Geräte erhoben und erlauben die Ermittlung der Totalvarianz (Gesamtstreuung) des Assay-Systems. Diese Totalvarianz setzt sich aus der Intra-Assay-Variabilität (Streuung von Proben derselben Konzentration innerhalb eines Versuchsansatzes), der Inter-Assay-Variabilität (Streuung aufgrund der Anwendung durch verschiedene Personen innerhalb eines Labors und unter Benutzung verschiedener Geräte des gleichen Typs) und der Inter-Chargen-Variabilität (Streuung unter Verwendung unterschiedlicher Chargen) zusammen. Dabei wurden aus den erhaltenen Daten jeweils die Standardabweichung, die Varianz und der Variationskoeffizient sowohl für die erregerspezifische PCR als auch für die PCR der internen Kontrolle berechnet.

Die Daten zur Präzision des *artus* HSV-1/2 RG PCR Kits wurden mittels HSV-1- und HSV-2-DNA bei einer Konzentration von 10 Kopien/ μ l ermittelt. Die Untersuchungen wurden in Form von Achtfach-Bestimmungen durchgeführt. Die Berechnung der Präzision erfolgte anhand der C_T -Werte der Amplifikationskurven (C_T : threshold cycle; siehe Tabelle 3 und Tabelle 4). Demnach beträgt die Gesamtstreuung einer beliebigen Probe der genannten Konzentration 1,82 % (C_T) für HSV-1 und 0,67 % (C_T) für HSV-2 bzw. 1,24 % (C_T) und 1,58 % (C_T) für den Nachweis der internen Kontrolle. Diese Werte basieren auf der Gesamtheit aller Einzelwerte der ermittelten Variabilitäten.

Tabelle 3. Daten zur Assay-Präzision für HSV-1 auf Grundlage der C_T-Werte

	C_T-Wert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient (%)
Intra-Assay- Variabilität: HSV-1 10 Kopien/ μ l	30,46	0,25	0,81
Intra-Assay- Variabilität: interne Kontrolle	25,29	0,08	0,3
Inter-Assay- Variabilität: HSV-1 10 Kopien/ μ l	29,69	0,69	2,05
Inter-Assay- Variabilität: interne Kontrolle	24,97	0,31	1,25
Inter-Chargen- Variabilität: HSV-1 10 Kopien/ μ l	29,95	0,40	1,35
Inter-Chargen- Variabilität: interne Kontrolle	24,90	0,30	1,20
Totalvarianz: HSV-1 10 Kopien/ μ l	29,91	0,55	1,82
Totalvarianz: interne Kontrolle	24,99	0,31	1,24

Tabelle 4. Daten zur Assay-Präzision für HSV-2 auf Grundlage der C_T-Werte

	C_T-Wert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient (%)
Intra-Assay-Variabilität: HSV-2 10 Kopien/μl	29,85	0,15	0,50
Intra-Assay-Variabilität: interne Kontrolle	25,17	0,39	1,55
Inter-Assay-Variabilität: HSV-2 10 Kopien/μl	29,92	0,15	0,49
Inter-Assay-Variabilität: interne Kontrolle	25,11	0,41	1,63
Inter-Chargen- Variabilität: HSV-2 10 Kopien/μl	29,80	0,23	0,79
Inter-Chargen- Variabilität: interne Kontrolle	24,89	0,33	1,32
Totalvarianz: HSV-2 10 Kopien/μl	29,88	0,20	0,67
Totalvarianz: interne Kontrolle	25,07	0,40	1,58

Robustheit

Die Überprüfung der Robustheit dient der Ermittlung der Gesamtausfallrate des *artus* HSV-1/2 RG PCR Kits. Zur Herstellung von Proben mit sehr niedrigem Virustiter (sowohl HSV-1 als auch HSV-2) wurden 30 negative Liquorproben mit 0,36 Kopien/ μ l Elutionsvolumen (HSV-1-DNA) bzw. mit 0,48 Kopien/ μ l Elutionsvolumen (HSV-2-DNA; entspricht der dreifachen Konzentration der analytischen Sensitivitätsgrenze) versetzt, anschließend daraus die Nukleinsäure mithilfe des EZ1 DSP Virus Kits isoliert und diese Proben mit dem *artus* HSV-1/2 RG PCR Kit analysiert. Alle 30 Proben wurden bei beiden HSV-Typen korrekt als schwach positiv bestimmt, entsprechend einer Ausfallrate von 0 %. Die Robustheit der internen Kontrolle wurde zusätzlich durch die Aufreinigung und Analyse von 30 HSV-1- und HSV-2-negativen Liquorproben überprüft. Eine PCR-Inhibierung wurde nicht beobachtet, die Gesamtausfallrate betrug 0 %. Damit ist die Robustheit des *artus* HSV-1/2 RG PCR Kits ≥ 99 %.

Reproduzierbarkeit

Die Daten zur Reproduzierbarkeit ermöglichen eine regelmäßige Leistungsbewertung des *artus* HSV-1/2 RG PCR Kits sowie einen Vergleich der Leistungsfähigkeit mit anderen Produkten. Diese Daten werden durch die Teilnahme an etablierten Ringversuchsprogrammen erhoben.

Vom Anwender bereitzustellende Ausrüstung und Reagenzien

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Schutzhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheits-Datenblättern (Safety Data Sheets, SDSs) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

- Kit für die DNA-Isolierung (siehe Abschnitt „DNA-Isolierung“ auf Seite 18)
- Pipetten (verstellbar)*
- sterile Pipettenspitzen mit Filter
- Laborschüttler (Vortex-Mixer)*
- Tischzentrifuge* mit Rotor für 2-ml-Reaktionsgefäße
- Cooling block (Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes, cat. no. 9018901, or Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes, cat. no. 9018905)
- Rotor-Gene Q oder Rotor-Gene Thermocycler*[†] mit Fluoreszenz-Kanälen für Cycling Green, Cycling Orange und Cycling Yellow
- Rotor-Gene Q Software, Version 1.7.94 oder höher (Rotor-Gene 6000 Software, Version 1.7.65 oder höher)
- 0,1-ml-PCR-Reaktionsgefäße mit Deckel, als 4er-Streifen (Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, Kat.-Nr. 981103 oder 981106), bei Verwendung des 72-Well-Rotors
- Alternativ: 0,2-ml-PCR-Reaktionsgefäße (Kat.-Nr. 981005 oder 981008), bei Verwendung des 36-Well-Rotors
- Kühlblock (Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes, Kat.-Nr. 9018901, oder Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes, Kat.-Nr. 9018905)

* Stellen Sie sicher, dass die Geräte regelmäßig und gemäß den Herstellerangaben überprüft und kalibriert werden.

[†] Der *artus* HSV-1/2 RG PCR Kit darf nicht zusammen mit den Geräten der Typreihe Rotor-Gene Q 2plex verwendet werden.

Wichtige Hinweise

Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

Folgendes sollte vom Anwender immer beachtet werden:

- Verwenden Sie sterile Pipettenspitzen mit Filter.
- Positivmaterial (Proben, Kontrollen, Amplifikate) räumlich getrennt von den übrigen Reagenzien lagern, aufreinigen und zur Reaktion zugeben.
- Tauen Sie alle Komponenten vor Testbeginn vollständig bei Raumtemperatur (15–25 °C) auf.
- Anschließend die Komponenten gründlich durchmischen (durch mehrmaliges Auf- und Abpipettieren oder kurzes Mischen auf dem Vortex-Schüttler) und kurz zentrifugieren.
- Führen Sie alle Arbeitsschritte rasch und ohne Unterbrechung durch; halten Sie die Komponenten gekühlt auf Eis oder stellen Sie sie in den Kühlblock (72-/96-Well-Loading-Block).

DNA-Isolierung

Der EZ1 DSP Virus Kit (QIAGEN, Kat.-Nr. 62724*) ist für die Isolierung viraler DNA aus humanem Liquor für die Verwendung mit dem *artus* HSV-1/2 RG PCR Kit validiert. Führen Sie die Isolierung viraler DNA entsprechend den Angaben im *EZ1 DSP Virus Kit Handbuch* durch.

ⓘ Der *artus* HSV-1/2 RG PCR Kit sollte nicht in Kombination mit Nukleinsäure-Reinigungsmethoden, die auf der Anwendung von Phenol basieren, verwendet werden.

ⓘ Der Einsatz von Carrier-RNA ist für die Effizienz der Nukleinsäure-Reinigung und damit für die DNA-Ausbeute von entscheidender Bedeutung. Geben Sie bei jeder Nukleinsäure-Reinigung die geeignete Menge Carrier-RNA gemäß den Anweisungen im *EZ1 DSP Virus Kit Handbuch* zum Ansatz.

ⓘ Die interne Kontrolle des *artus* HSV-1/2 RG PCR Kits kann direkt für die Nukleinsäure-Reinigung eingesetzt werden (siehe unten den Abschnitt „Interne Kontrolle“).

* Der EZ1 DSP Virus Kit ist – zusammen mit dem *artus* HSV-1/2 RG PCR Kit – als Kombinations-Kit erhältlich, und zwar im CE-IVD-markierten EASY*artus*® HSV-1/2 RG PCR Kit (Bestellinformationen siehe Seite 35).

Interne Kontrolle

Im Kit wird eine interne Kontrolle (HSV-1/2 RG IC) mitgeliefert. Mit dieser haben Sie die Möglichkeit, die DNA-Isolierung zu kontrollieren und die PCR auf eine mögliche Inhibierung zu prüfen. Für diese Anwendung geben Sie die interne Kontrolle in einem Verhältnis von 0,1 µl pro 1 µl Elutionsvolumen zur Probe für die Nukleinsäure-Reinigung hinzu. Wenn Sie beispielsweise den EZ1 DSP Virus Kit verwenden und die DNA in 60 µl Elutionspuffer (AVE) eluieren, dann setzen Sie 6 µl der internen Kontrolle ein.

i Die interne Kontrolle und Carrier-RNA dürfen nicht direkt zum Probenmaterial pipettiert werden, sondern in das Gemisch aus Lysepuffer und Probenmaterial oder direkt in den Lysepuffer.

Optional kann die interne Kontrolle ausschließlich zur Prüfung auf eventuell vorliegende Inhibierung der PCR verwendet werden. Geben Sie die interne Kontrolle zu diesem Zweck direkt zur Mischung aus HSV-1/2 RG Master und HSV-1/2 RG Mg-Sol (siehe Schritt 2b des Protokolls auf Seite 21).

Protokoll: PCR und Auswertung

i Wichtige Hinweise vor Beginn des Tests

- Lesen Sie bitte den Abschnitt „Wichtige Hinweise“ auf Seite 18.
- Machen Sie sich vor dem Beginn des Protokolls mit dem Rotor-Gene Q Thermocycler vertraut. Lesen Sie das Geräte-Handbuch.
- Stellen Sie sicher, dass pro PCR-Lauf mindestens eine Positivkontrolle und eine Negativkontrolle (Wasser, für PCR geeignet) mitgeführt werden.

Wichtige Hinweise, bevor Sie mit der Durchführung beginnen

- Stellen Sie sicher, dass der Kühlblock (Zubehör des Rotor-Gene Q) auf 2–8 °C vorgekühlt ist.
- Tauen Sie alle Reagenzien vor Testbeginn bei Raumtemperatur vollständig auf, mischen Sie sie gut durch (durch mehrfaches Auf- und Abpipettieren oder kurzes Mischen auf einem Laborschüttler) und zentrifugieren Sie sie kurz.

Durchführung

1. **Setzen Sie die für die geplanten Reaktionen erforderliche Anzahl PCR-Reaktionsgefäße in die Adapter des Kühlblocks ein.**
2. **Falls Sie mit der internen Kontrolle sowohl die DNA-Isolierung als auch die PCR auf eine mögliche Inhibierung kontrollieren wollen, dann folgen Sie dem Schritt 2a.**
Wollen Sie mit der internen Kontrolle die PCR ausschließlich auf eine Inhibierung überprüfen, dann gehen Sie gemäß Schritt 2b vor.
Verwenden Sie die interne Kontrolle gemäß Schritt 2b für alle Positiv- und Negativkontrollen.
- 2a. **Die interne Kontrolle wurde bereits zur DNA-Isolierung gegeben (siehe den Abschnitt „Interne Kontrolle“ auf Seite 19). Setzen Sie in diesem Fall den Master-Mix gemäß Tabelle 5 an.**

Typischerweise enthält das Reaktionsgemisch – abgesehen von der Probe – alle Komponenten, die für die PCR benötigt werden.

Tabelle 5. Ansetzen des Master-Mix (interne Kontrolle zur Kontrolle der DNA-Isolierung und zum Prüfen auf mögliche PCR-Inhibierung verwendet)

Anzahl Proben	1	12
HSV-1/2 RG Master	25 µl	300 µl
HSV-1/2 RG Mg-Sol	5 µl	60 µl
HSV-1/2 RG IC	0 µl	0 µl
Gesamtvolumen	30 µl	360 µl

- 2b. Die interne Kontrolle muss direkt zum Gemisch aus HSV-1/2 RG Master und HSV-1/2 RG Mg-Sol pipettiert werden. Setzen Sie in diesem Fall den Master-Mix gemäß Tabelle 6 an.**

Typischerweise enthält das Reaktionsgemisch – abgesehen von der Probe – alle Komponenten, die für die PCR benötigt werden.

Tabelle 6. Ansetzen des Master-Mix (interne Kontrolle ausschließlich zum Prüfen auf mögliche PCR-Inhibierung verwendet)

Anzahl Proben	1	12
HSV-1/2 RG Master	25 µl	300 µl
HSV-1/2 RG Mg-Sol	5 µl	60 µl
HSV-1/2 RG IC	2 µl	24 µl
Gesamtvolumen	32 µl*	384 µl*

* Die durch die Zugabe der internen Kontrolle bedingte Volumenerhöhung wird beim Ansetzen der PCR-Reaktion vernachlässigt. Die Sensitivität des Nachweissystems wird nicht beeinträchtigt.

- 3. Pipettieren Sie 30 µl Master-Mix in jedes PCR-Reaktionsgefäß. Geben Sie anschließend 20 µl des Eluats aus der DNA-Isolierung hinzu (siehe Tabelle 7) und mischen Sie gut durch wiederholtes Auf- und Abpipettieren. Entsprechend müssen 20 µl HSV-1 RG PC und HSV-2 RG PC als Positivkontrolle bzw. 20 µl Wasser (Water, für PCR geeignet) als Negativkontrolle eingesetzt werden.**

Tabelle 7. Ansetzen der PCR

Anzahl Proben	1	12
Master-Mix	30 μ l	je 30 μ l
Probe	20 μ l	je 20 μ l
Gesamtvolumen	50 μl	je 50 μl

- 4. Verschließen Sie die PCR-Reaktionsgefäße. Achten Sie darauf, dass der Sicherungsring (Locking Ring; Zubehör des Rotor-Gene Thermocyclers) auf den Rotor aufgesetzt wird, um ein unbeabsichtigtes Öffnen der Reaktionsgefäße während des Laufs zu verhindern.**
- 5. Erstellen Sie zur Detektion der HSV-1-DNA oder HSV-2-DNA ein Temperaturprofil gemäß den folgenden Arbeitsschritten.**

Einstellung allgemeiner Assay-Parameter	Abbildung 3, 4, 5
Initiale Aktivierung des Hot-Start-Enzyms	Abbildung 6
Amplifikation der DNA	Abbildung 7
Einstellung der Sensitivität der Fluoreszenz-Kanäle	Abbildung 8
Start des Laufs	Abbildung 9

Alle Angaben beziehen sich auf die Rotor-Gene Q Software, Version 1.7.94 oder höher, bzw. auf die Rotor-Gene 6000 Software, Version 1.7.65 oder höher. Weitere Einzelheiten zur Programmierung der Rotor-Gene Thermocycler entnehmen Sie bitte dem jeweiligen Geräte-Handbuch. In den Abbildungen sind diese Einstellungen durch schwarze Rahmen hervorgehoben. Abgebildet sind die Einstellungen für die Rotor-Gene Q Geräte.

6. Öffnen Sie zunächst das Dialogfenster "New Run Wizard" („Neuer Lauf“-Assistent) in der "Advanced"-Version (siehe Abb. 3). Aktivieren Sie das Kontrollkästchen "Locking Ring Attached" („Sicherungsring angebracht") und klicken Sie dann auf "Next" („Weiter“).

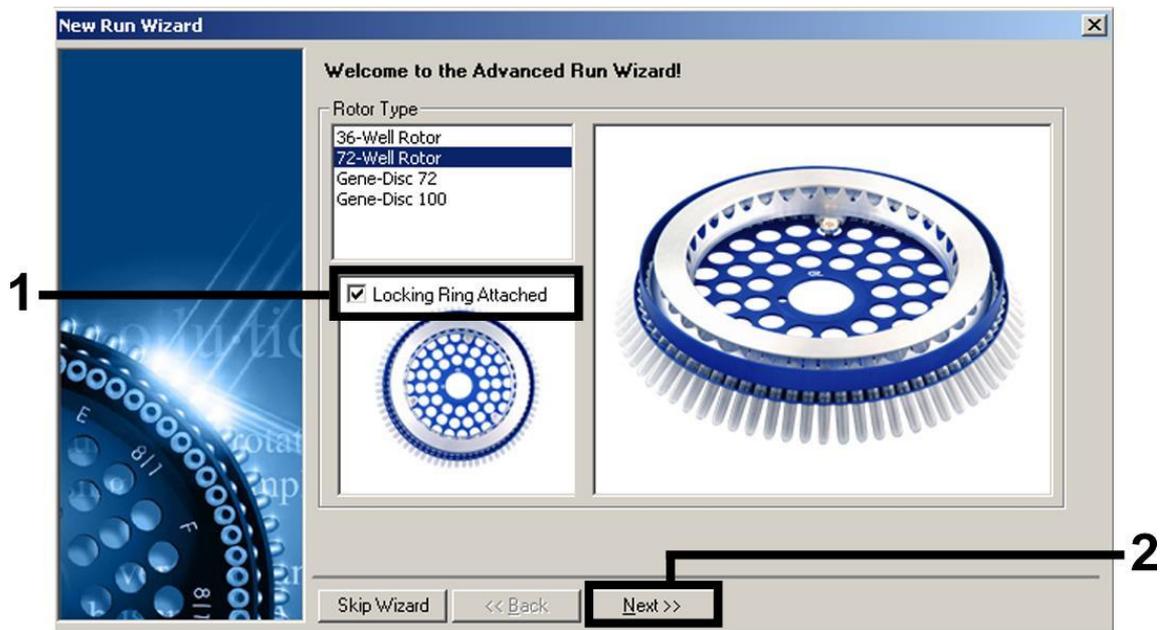


Abbildung 3. Das Dialogfenster "New Run Wizard".

- Wählen Sie „50“ als das Reaktionsvolumen der PCR und klicken Sie auf „Next“ („Weiter“; siehe Abb. 4).

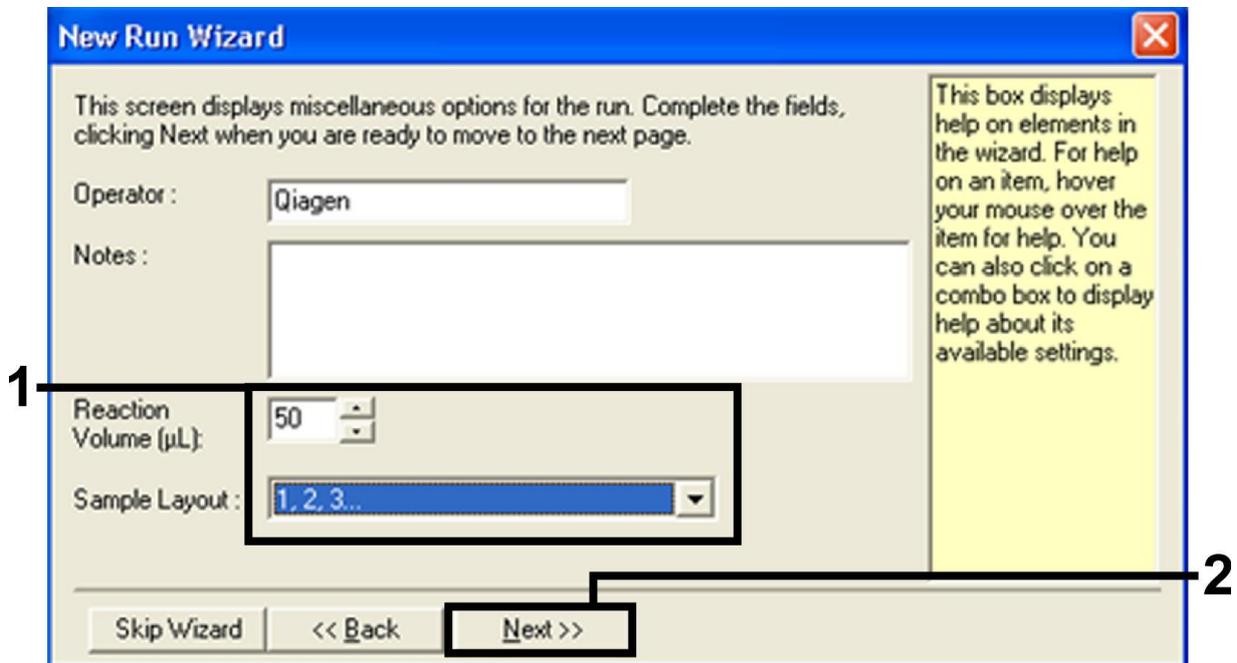


Abbildung 4. Einstellung der allgemeinen PCR-Parameter.

- Klicken Sie im nächsten „New Run Wizard“-Dialogfenster auf „Edit Profile“ („Profil bearbeiten“; siehe Abb. 5) und programmieren Sie das Temperaturprofil gemäß den Abbildungen 6 und 7.

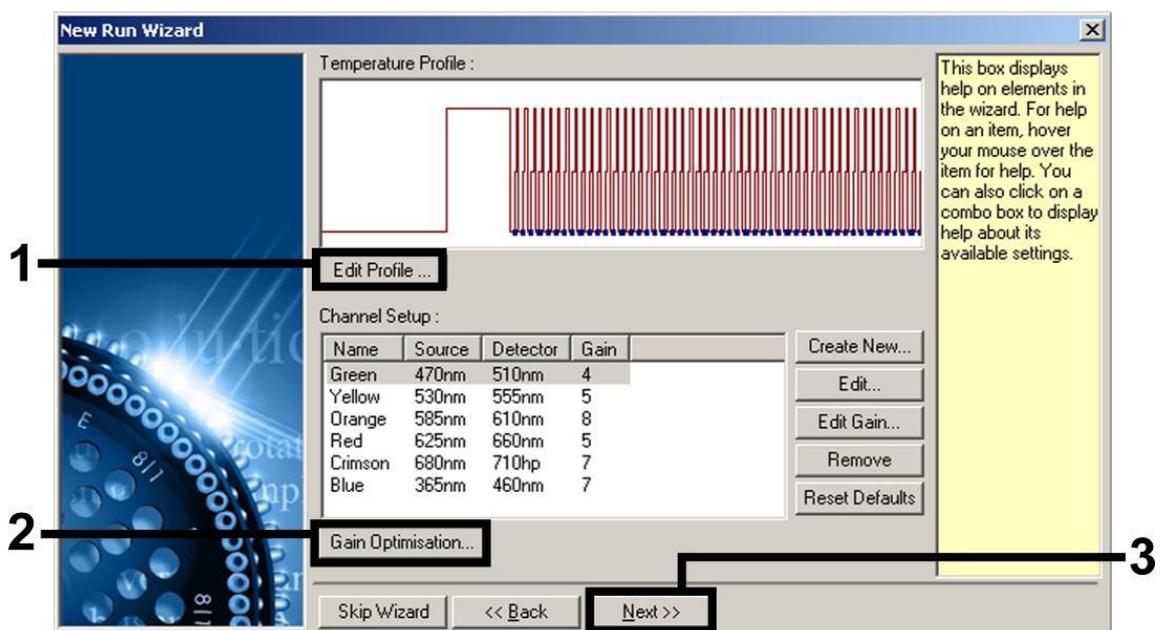


Abbildung 5. Bearbeitung des Profils.

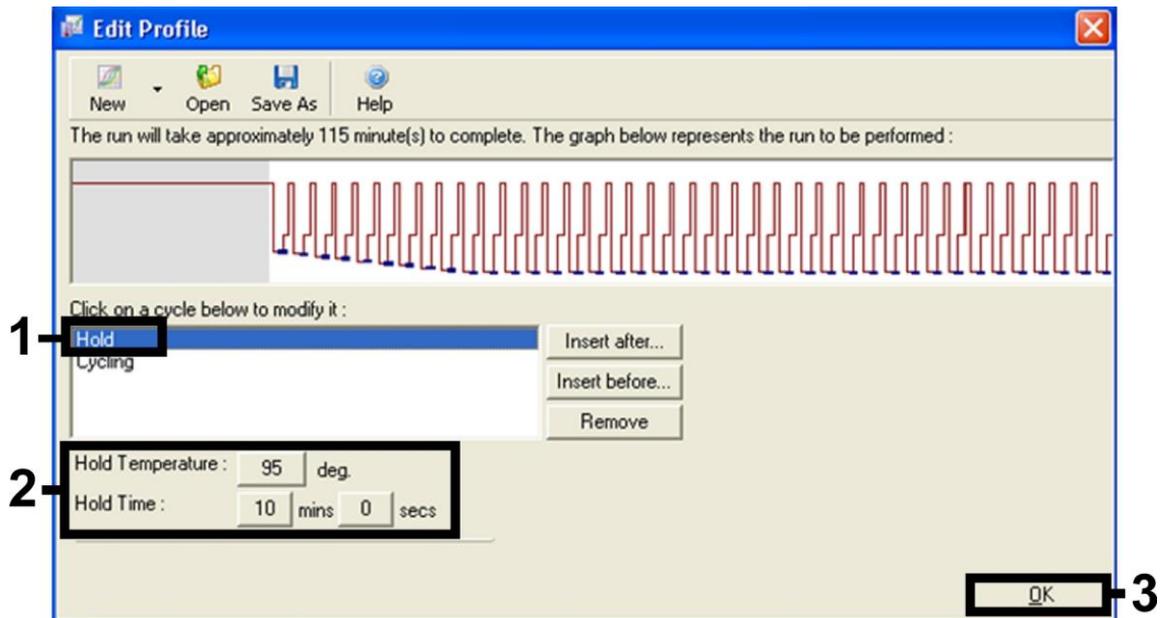


Abbildung 6. Initiale Aktivierung des Hot-Start-Enzyms.

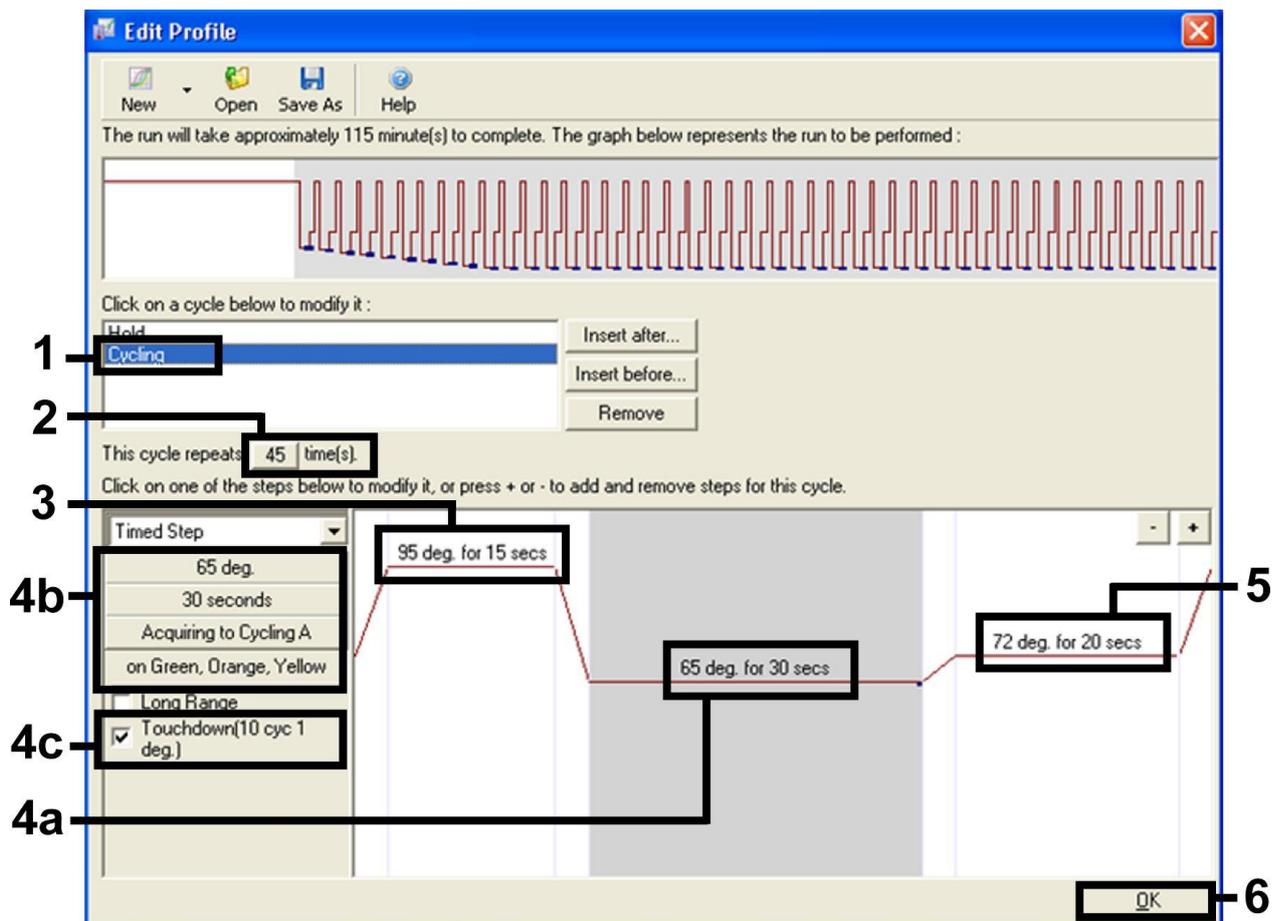


Abbildung 7. Amplifikation der DNA. Stellen Sie sicher, dass bei dem Annealing-Schritt die Touchdown-Funktion für zehn Zyklen aktiviert ist.

9. Der Messbereich der Fluoreszenz-Kanäle muss entsprechend den Fluoreszenzintensitäten in den PCR-Ansätzen bestimmt werden. Klicken Sie im "New Run Wizard"-Dialogfenster (siehe Abb. 5, Ziffer 2) auf die Option "Gain Optimisation" („Verstärkungsoptimierung“), um das Dialogfenster "Auto-Gain Optimisation Setup" („Einstellung der Auto-Verstärkungsoptimierung“; siehe Abb. 8) zu öffnen. Bitte stellen Sie die Kalibrierungs-Temperatur auf „65“, damit diese der Annealing-Temperatur des Amplifikations-Programms entspricht (siehe Abb. 7, Ziffer 4b). Stellen Sie sicher, dass alle drei Kanäle ("Green", "Orange" und "Yellow") für die "Auto-Gain Optimisation" ausgewählt sind. (Um einen Kanal hinzuzufügen, wählen Sie ihn aus der Drop-down-Liste unter "Channel Settings" („Kanaleinstellungen“) aus und klicken anschließend auf "Add" („Hinzufügen“).) Klicken Sie auf "Start", um die Verstärkungsoptimierung zu starten. Wenn die Kalibrierung der Verstärkung beendet ist, klicken Sie auf "Close" („Schließen“), um das "Auto-Gain Optimisation Setup"-Dialogfenster zu schließen.

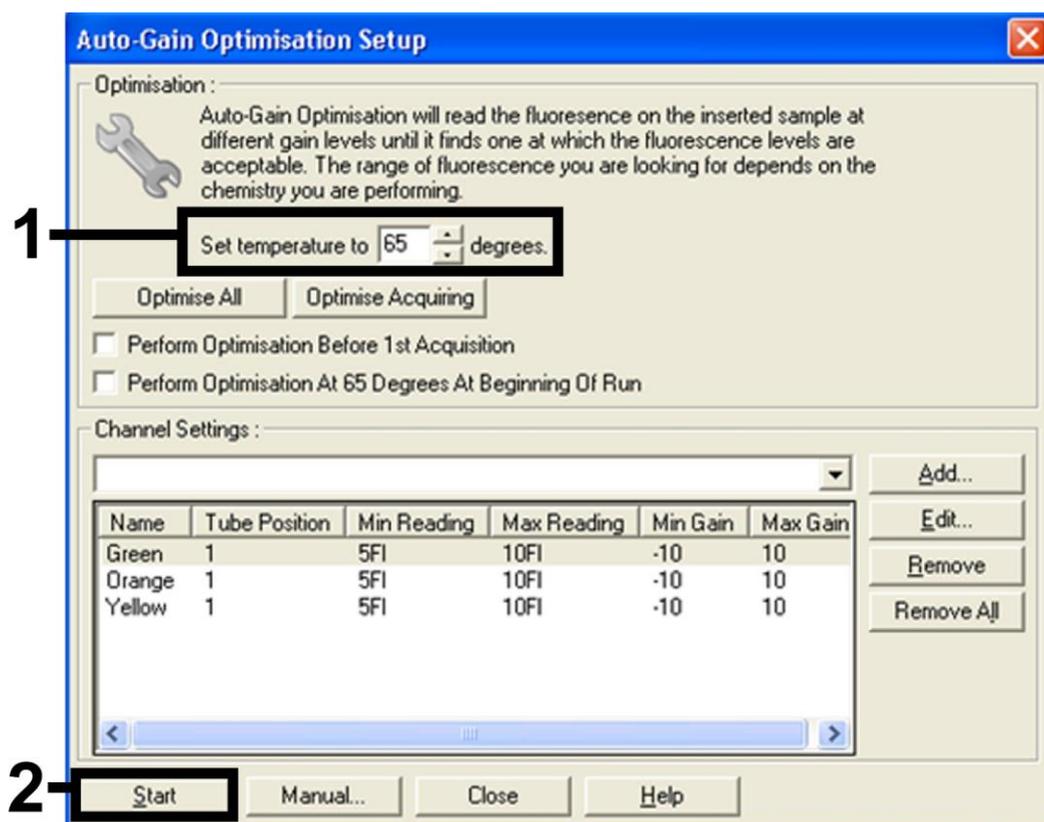


Abbildung 8. Einstellung der Sensitivität der Fluoreszenz-Kanäle.

10. Die durch die Kanal-Kalibrierung ermittelten Gain-Werte werden automatisch gespeichert und sind im letzten Dialogfenster der Programmierung aufgeführt (siehe Abb. 9). Klicken Sie auf "Start Run" („Lauf starten“).

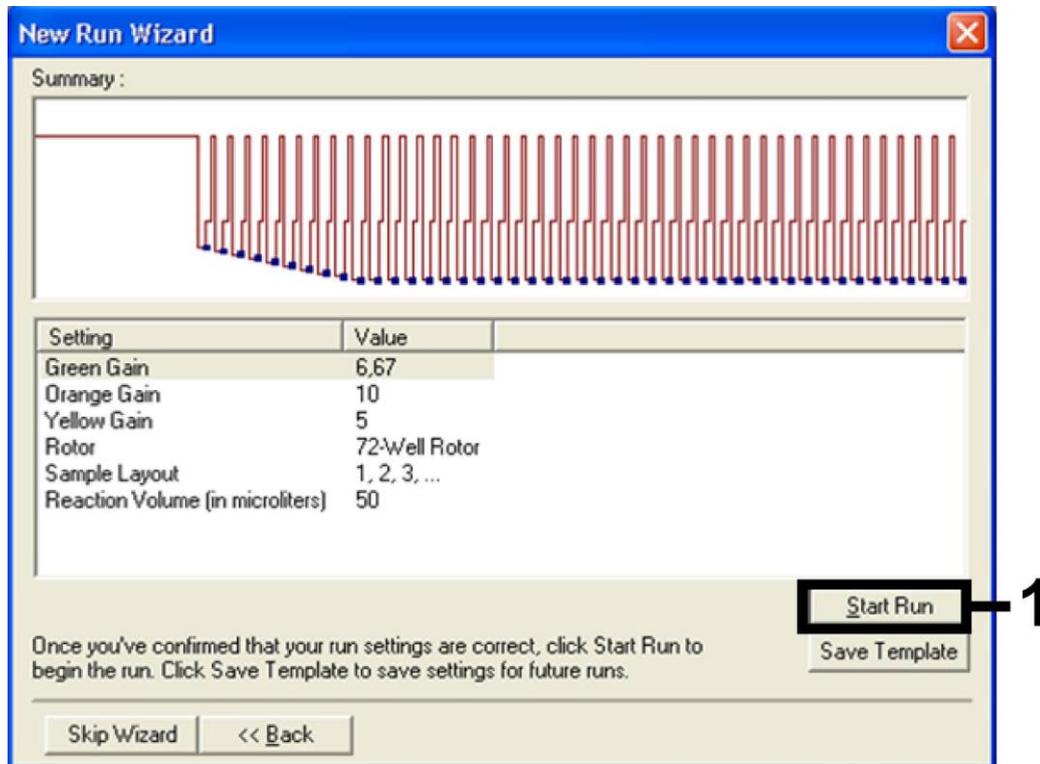


Abbildung 9. Starten des Laufs.

11. Führen Sie nach dem Lauf die Datenauswertung durch. Folgende Ergebnisse können auftreten (11a, 11b, 11c, 11d, 11e und 11f).

Beispiele für positive und negative PCR-Reaktionen sind in Abbildung 10, Abbildung 11 und Abbildung 12 wiedergegeben.

- 11a. Im Fluoreszenz-Kanal "Cycling Green" wird ein Signal detektiert. Das Ergebnis der Analyse ist positiv: Die Probe enthält HSV-1-DNA.

In diesem Fall ist die Detektion eines Signals im Kanal "Cycling Yellow" unwesentlich, da hohe Ausgangskonzentrationen an HSV-1-DNA (positives Signal im Kanal "Cycling Green") zu einem reduzierten oder ausbleibenden Fluoreszenz-Signal der internen Kontrolle im Kanal "Cycling Yellow" führen können (Kompetition).

11b. Im Fluoreszenz-Kanal "Cycling Green" wird kein Signal detektiert. Gleichzeitig wird im Kanal "Cycling Yellow" ein Signal der internen Kontrolle detektiert.

In der Probe ist keine HSV-1-DNA nachweisbar. Sie kann daher als HSV-1-negativ angesehen werden.

Bei negativer HSV-1-PCR schließt das detektierte Signal der internen Kontrolle die Möglichkeit einer PCR-Inhibierung aus.

11c. Im Fluoreszenz-Kanal "Cycling Orange" wird ein Signal detektiert. Das Ergebnis der Analyse ist positiv: Die Probe enthält HSV-2-DNA.

In diesem Fall ist die Detektion eines Signals im Kanal "Cycling Yellow" unwesentlich, da hohe Ausgangskonzentrationen an HSV-2-DNA (positives Signal im Kanal "Cycling Orange") zu einem reduzierten oder ausbleibenden Fluoreszenz-Signal der internen Kontrolle im Kanal "Cycling Yellow" führen können (Kompetition).

11d. Im Fluoreszenz-Kanal "Cycling Orange" wird kein Signal detektiert. Gleichzeitig wird im Kanal "Cycling Yellow" ein Signal der internen Kontrolle detektiert.

In der Probe ist keine HSV-2-DNA nachweisbar. Sie kann daher als HSV-2-negativ angesehen werden.

Bei negativer HSV-2-PCR schließt das detektierte Signal der internen Kontrolle die Möglichkeit einer PCR-Inhibierung aus.

11e. Sowohl im Cycling-Green- als auch im Cycling-Orange-Kanal wird ein Signal detektiert.

Das Ergebnis der Analyse ist positiv: Die Probe enthält sowohl HSV-1-DNA als auch HSV-2-DNA.

In diesem Fall ist die Detektion eines Signals im Kanal "Cycling Yellow" unwesentlich, da hohe Ausgangskonzentrationen an HSV-1 und HSV-2-DNA (positives Signal in den Kanälen "Cycling Green" und "Cycling Orange") zu einem reduzierten oder ausbleibenden Fluoreszenz-Signal der internen Kontrolle im Kanal "Cycling Yellow" führen können (Kompetition).

11f. In keinem der Kanäle "Cycling Green", "Cycling Orange" und "Cycling Yellow" wird ein Signal detektiert.

Eine Aussage ist nicht möglich.

Hinweise zu Fehlerquellen und deren Beseitigung sind unter im Abschnitt „Hilfe zur Fehlersuche“ auf Seite 31 ff. aufgeführt.

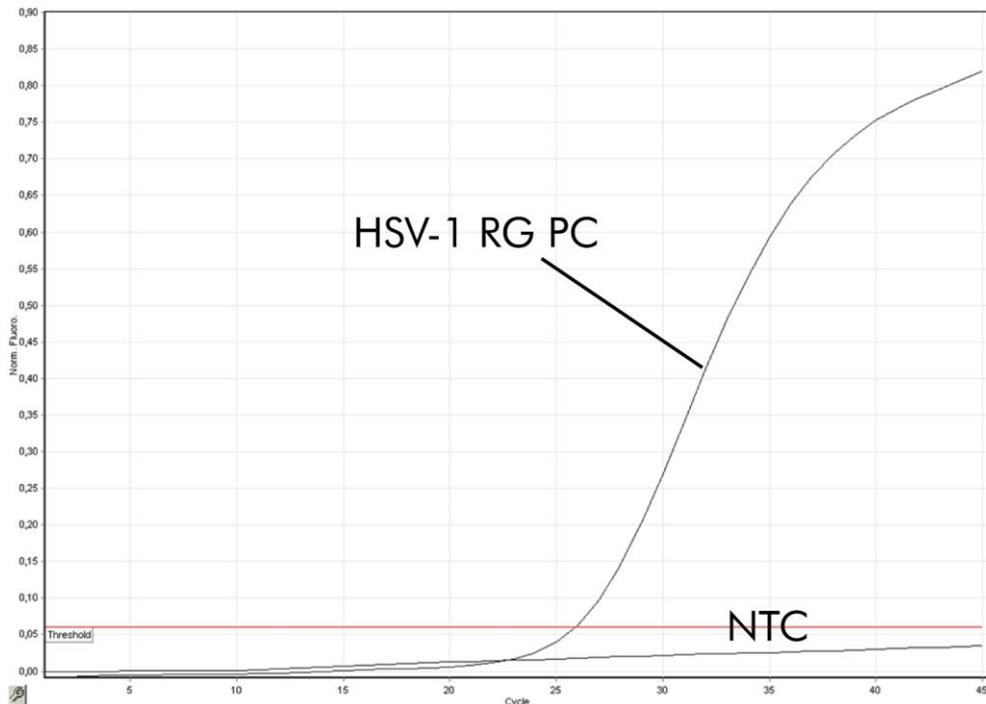


Abbildung 10. Nachweis der HSV-1-Positivkontrolle (HSV-1 RG PC) im Fluoreszenz-Kanal "Cycling Green". NTC: No Template Control (Negativkontrolle).

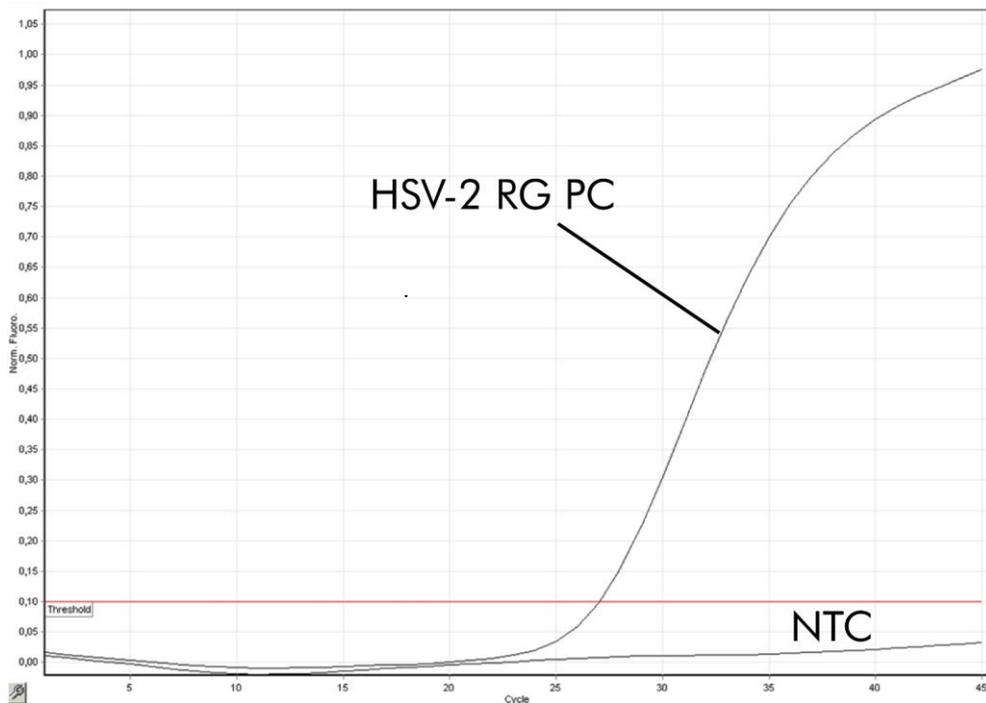


Abbildung 11. Nachweis der HSV-2-Positivkontrolle (HSV-2 RG PC) im Fluoreszenz-Kanal "Cycling Orange". NTC: No Template Control (Negativkontrolle).

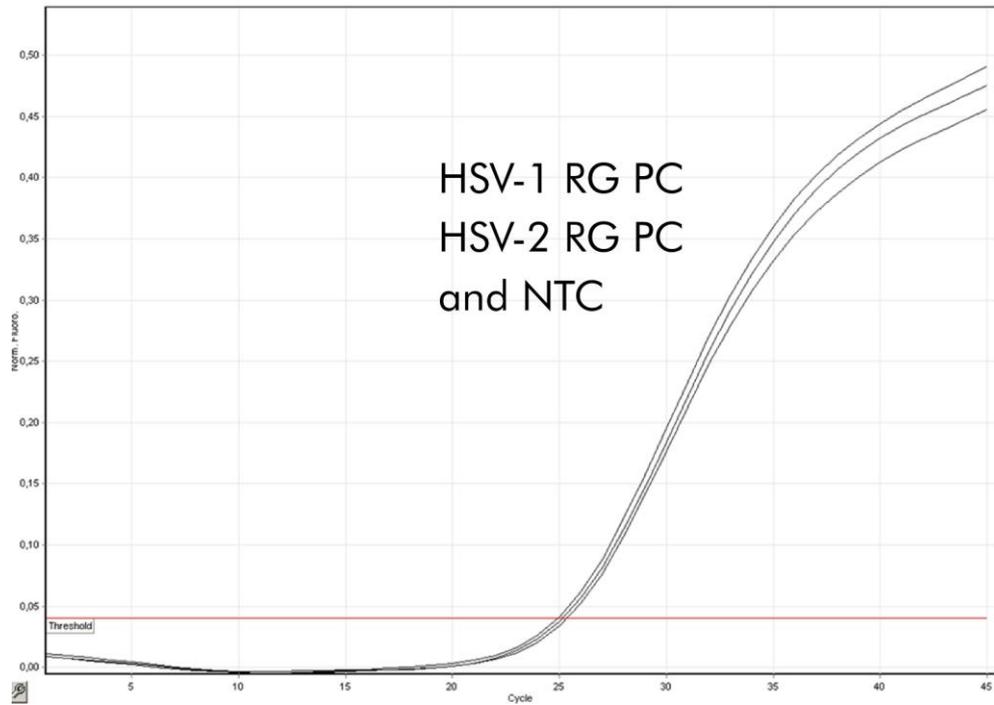


Abbildung 12. Nachweis der internen Kontrolle (IC) in Fluoreszenz-Kanal "Cycling Yellow" bei gleichzeitiger Amplifikation der Positivkontrollen (HSV-1 RG PC und HSV-2 RG PC). NTC: No template control (Negativkontrolle).

Hilfe zur Fehlersuche

Diese Anleitung zur Fehlersuche soll Ihnen eine Hilfe geben, falls einmal Probleme auftreten sollten. Weitere Informationen finden Sie auch auf der „Frequently Asked Questions“-Seite unseres Support-Centers unter: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Darüber hinaus steht Ihnen unser Technischer Service (Tel.-Nr. siehe hintere Umschlagseite oder unter www.qiagen.com) unterstützend zur Seite, falls Sie Fragen zum Protokoll oder zu anderen Angaben in diesem Handbuch haben sollten. Das Team besteht aus erfahrenen Wissenschaftlern, die Ihnen in allen molekularbiologischen Fragen gerne weiterhelfen.

Kommentare und Vorschläge

Kein Signal bei den Positivkontrollen (HSV-1 RG PC und HSV-2 RG PC) in den Fluoreszenz-Kanälen "Cycling Green" oder "Cycling Orange"

- | | |
|---|---|
| a) Wahl des Fluoreszenz-Kanals für die PCR-Datenauswertung entspricht nicht den Angaben im Protokoll |  Wählen Sie für die Datenauswertung die Fluoreszenz-Kanäle "Cycling Green" und "Cycling Orange" für die analytische HSV-1/2-PCR und den Fluoreszenz-Kanal "Cycling Yellow" für die PCR der internen Kontrolle. |
| b) Programmierung des Temperaturprofils des Rotor-Gene Thermocyclers ist fehlerhaft |  Vergleichen Sie das Temperaturprofil mit den Angaben im Protokoll (siehe „Protokoll: PCR und Auswertung“ ab Seite 20). |
| c) Fehlerhaftes Ansetzen der PCR-Reaktion |  Überprüfen Sie Ihre Arbeitsschritte mithilfe des Pipettierschemas (siehe „Protokoll: PCR und Auswertung“ ab Seite 20 und wiederholen Sie ggf. die PCR. |
| d) Lagerungsbedingungen für eine oder mehrere Kit-Komponenten entsprechen nicht den Angaben im Abschnitt „Lagerung“ (siehe Seite 5) |  Überprüfen Sie Lagerungsbedingungen und Haltbarkeitsdatum (siehe Kit-Etikett) der Reagenzien und verwenden Sie ggf. einen neuen Kit. |
| e) Haltbarkeitsdatum des <i>artus</i> HSV-1/2 RG PCR Kits ist abgelaufen |  Überprüfen Sie Lagerungsbedingungen und Haltbarkeitsdatum (siehe Kit-Etikett) der Reagenzien und verwenden Sie ggf. einen neuen Kit. |

Kommentare und Vorschläge

Schwaches oder ausbleibendes Signal der internen Kontrolle einer negativen Liquorprobe, bei der die DNA unter Verwendung des EZ1 DSP Virus Kits isoliert wurde, im Fluoreszenz-Kanal "Cycling Yellow" bei gleichzeitiger Abwesenheit eines Signals im Kanal "Cycling Green" oder "Cycling Orange"

- a) PCR-Bedingungen entsprechen nicht den Angaben im Protokoll ❗ Überprüfen Sie die PCR-Bedingungen (siehe oben) und wiederholen Sie ggf. die PCR mit korrigierten Einstellungen.

- b) PCR wurde inhibiert ❗ Stellen Sie sicher, dass die empfohlene Methode der DNA-Isolierung benutzt wird und halten Sie sich exakt an die Gebrauchsanweisungen des Herstellers.

- c) DNA-Verluste während der DNA-Isolierung ❗ Falls die interne Kontrolle zur Probe für die DNA-Isolierung zugegeben wurde, kann ein Ausbleiben des Signals bei der internen Kontrolle bedeuten, dass es während der Isolierung zu DNA-Verlusten gekommen ist. Stellen Sie sicher, dass die empfohlene Methode der DNA-Isolierung benutzt wird (siehe den Abschnitt „DNA-Isolierung“ auf Seite 18) und halten Sie sich exakt an die Gebrauchsanweisungen des Herstellers.

- d) Lagerungsbedingungen für eine oder mehrere Kit-Komponenten entsprachen nicht den Angaben im Abschnitt „Lagerung“ (siehe Seite 5) ❗ Überprüfen Sie Lagerungsbedingungen und Haltbarkeitsdatum (siehe Kit-Etikett) der Reagenzien und verwenden Sie ggf. einen neuen Kit.

- e) Haltbarkeitsdatum des *artus* HSV-1/2 RG PCR Kits ist abgelaufen ❗ Überprüfen Sie Lagerungsbedingungen und Haltbarkeitsdatum (siehe Kit-Etikett) der Reagenzien und verwenden Sie ggf. einen neuen Kit.

Kommentare und Vorschläge

Signale bei den Negativkontrollen im Fluoreszenz-Kanal "Cycling Green" oder "Cycling Orange" der analytischen PCR

- a) Kontamination beim Ansetzen der PCR
- ① Wiederholen Sie die PCR mit noch unbenutzten Reagenzien (Mehrfachbestimmung).
 - ① Verschließen Sie die einzelnen PCR-Reaktionsgefäße nach Möglichkeit jeweils unmittelbar nach Zugabe der zu analysierenden Probe.
 - ① Pipettieren Sie die Positivkontrollen grundsätzlich zuletzt.
 - ① Stellen Sie sicher, dass Arbeitsflächen und -geräte regelmäßig dekontaminiert werden.
- b) Kontamination während der DNA-Isolierung
- ① Wiederholen Sie die DNA-Isolierung und PCR der zu analysierenden Proben unter Verwendung noch unbenutzter Reagenzien.
 - ① Stellen Sie sicher, dass Arbeitsflächen und -geräte regelmäßig dekontaminiert werden.

Literatur

QIAGEN unterhält eine umfangreiche, regelmäßig aktualisierte Online-Datenbank mit wissenschaftlichen Publikationen, in denen QIAGEN Produkte verwendet werden. Mehrere Suchoptionen ermöglichen es Ihnen, die Artikel zu finden, die Sie brauchen – entweder mit der einfachen Suche nach Stichwörtern oder durch Eingabe der Applikation, des Forschungsgebiets, des Titels etc.

Eine vollständige Liste der Referenzen finden Sie online in der QIAGEN Referenz-Datenbank unter www.qiagen.com/RefDB/search.asp. Sie können sich auch an den Technischen Service von QIAGEN wenden, um sie anzufordern.

Bestellinformationen

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
<i>artus</i> HSV-1/2 RG PCR Kit (24)	Für 24 Reaktionen: Master, Magnesium-Lösung, 2 Positivkontrollen, interne Kontrolle, Wasser (für PCR geeignet)	4500263
<i>artus</i> HSV-1/2 RG PCR Kit (96)	Für 96 Reaktionen: Master, Magnesium-Lösung, 2 Positivkontrollen, interne Kontrolle, Wasser (für PCR-Zwecke geeignet)	4500265
EZ1 DSP Virus Kit – für die Reinigung viraler Nukleinsäuren aus humanen Liquorproben für in-vitro-diagnostische Zwecke		
EZ1 DSP Virus Kit	Für 48 Präparationen viraler Nukleinsäure: gefüllte Reagenzienkartuschen, Einmalpipettenspitzen-Halter, Einmal-Pipettenspitzen (mit Filter), Probengefäße, Elutionsgefäße, Puffer, Carrier-RNA	62724
EASYartus HSV-1/2 RG PCR Kits – für die integrierte, vollständig CE-IVD-konforme automatisierte Probenaufreinigung und Erregernachweis		
EASYartus HSV-1/2 RG PCR Kit 1	Für 48 Präparationen viraler Nukleinsäure und 24 Nachweisreaktionen: 1 x EZ1 DSP Virus Kit, 1 x <i>artus</i> HSV-1/2 RG PCR Kit (24)	EA10023
EASYartus HSV-1/2 RG PCR Kit 2	Für 48 Präparationen viraler Nukleinsäure und 48 Nachweisreaktionen: 1 x EZ1 DSP Virus Kit, 2 x <i>artus</i> HSV-1/2 RG PCR Kit (24)	EA10024
Rotor-Gene Q und Zubehör		
Rotor-Gene Q 5plex HRM	Real-Time-PCR-Cycler mit 5 Fluoreszenz-Kanälen (grün, gelb, orange, rot, dunkelrot) sowie Kanal für die hoch aufgelöste Schmelzkurvenanalyse (HRM), Laptop, Software, Zubehör, 1 Jahr Garantie auf alle Teile; Arbeitskosten inklusive	auf Anfrage

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Aluminium-Block für manuellen Reaktionsansatz mit einer 1-Kanal-Pipette in 72 x 0,1-ml-Reaktionsgefäßen	9018901
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Aluminium-Block für manuellen Reaktionsansatz in 96 x 0,2-ml-Reaktionsgefäßen (im Standard-8-x-12-Format)	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 Streifen mit jeweils 4 Gefäßen und Deckeln für insgesamt 1000 Reaktionen	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 Streifen mit jeweils 4 Gefäßen und Deckeln für insgesamt 10.000 Reaktionen	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 dünnwandige 0,2-ml-Reaktionsgefäße für insgesamt 1000 Reaktionen	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 dünnwandige 0,2-ml-Reaktionsgefäße für insgesamt 10.000 Reaktionen	981008

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Anwendungseinschränkungen finden Sie im jeweiligen QIAGEN Kit- oder Geräte-Handbuch. QIAGEN Kit- und Geräte-Handbücher stehen unter www.qiagen.com zur Verfügung oder können Sie vom QIAGEN Technischen Service oder dem für Sie zuständigen Außendienstmitarbeiter oder Distributor anfordern.

Notizen

Notizen

Notizen

Der Kauf dieses Produkts berechtigt den Käufer zu dessen Nutzung in der humanen In-vitro-Diagnostik. Hiermit wird kein allgemeines Patent oder eine andere Lizenz jedweder Art als das durch den Kauf erworbene spezifische Nutzungsrecht gewährt.

Warenzeichen/Markennamen: QIAGEN®, artus®, EZ1®, EASYartus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

Der artus HSV-1/2 RG PCR Kit und der EZ1 DSP Virus Kit sind CE-markierte diagnostische Kits gemäß der Europäischen Richtlinie 98/79/EG über In-vitro-Diagnostika. Nicht in allen Ländern erhältlich.

Eingeschränkte Nutzungsvereinbarung

Mit der Nutzung dieses Produkts erkennen Käufer und Anwender des artus HSV-1/2 RG PCR Kits die folgenden Bedingungen an:

1. Der artus HSV-1/2 RG PCR Kit darf nur gemäß den Angaben im artus HSV-1/2 RG PCR Kit Handbuch und 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 im artus HSV-1/2 RG PCR Kit Handbuch und in zusätzlichen, unter www.qiagen.com verfügbaren Protokollen beschriebenen Anwendungen.
2. Über die ausdrücklich erwähnten Lizenzanwendungen hinaus übernimmt QIAGEN keinerlei Garantie dafür, dass dieser Kit und/oder die mit ihm durchgeführte(n) Anwendung(en) die Rechte Dritter nicht verletzt.
3. Dieser Kit und seine Komponenten sind für die einmalige Verwendung lizenziert und dürfen nicht wiederverwendet, wiederaufgearbeitet oder weiterverkauft werden.
4. QIAGEN lehnt außer den ausdrücklich erwähnten Lizenzanwendungen jede weitere Lizenzgewährung ab, sowohl ausdrücklich als auch konkludent.
5. Käufer und Anwender des Kits stimmen zu, keinerlei Schritte zu unternehmen oder anderen die Einleitung von Schritten zu gestatten, 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 seiner geistigen Eigentumsrechte im Zusammenhang mit dem Kit und/oder dessen Komponenten entstehen.

Aktualisierte Nutzungs- und Lizenzbedingungen können unter www.qiagen.com nachgelesen werden.

© 2010-2014 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

www.qiagen.com

Australien ■ Bestellungen 1-800-243 -800 ■ Fax 03-9840-9888 ■ Technischer Service 1-800-243-066

Belgien ■ Bestellungen 0800-79612 ■ Fax 0800-79611 ■ Technischer Service 0800-79556

Brasilien ■ Bestellungen 55-11-5079 -4000 ■ Fax 55-11-5079 -4001 ■ Technischer Service 0800-557779

China ■ Bestellungen 800-988-0326 ■ Fax 800-988-0329 ■ Technischer Service 800-988-0325

Dänemark ■ Bestellungen 80-885945 ■ Fax 80-885944 ■ Technischer Service 80-885942

Deutschland ■ Bestellungen 02103-29-12000 ■ Fax 02103-29-22000 ■ Technischer Service 02103-29-12400

Finnland ■ Bestellungen 0800-914416 ■ Fax 0800-914415 ■ Technischer Service 0800-914413

Frankreich ■ Bestellungen 01-60-920-926 ■ Fax 01-60-920-925 ■ Technischer Service 01-60-920-930

Hongkong ■ Bestellungen 800 933 965 ■ Fax 800 930 439 ■ Technischer Service 800 930 425

Irland ■ Bestellungen 1800 555 049 ■ Fax 1800 555 048 ■ Technischer Service 1800 555 061

Italien ■ Bestellungen 800-789-544 ■ Fax 02-33430-4826 ■ Technischer Service 800-787980

Japan ■ Telefon 03-6890-7290 ■ Fax 03-5547-0818 ■ Technischer Service 03-6890-7300

Luxemburg ■ Bestellungen 8002-2076 ■ Fax 8002-2073 ■ Technischer Service 8002-2067

Mexiko ■ Bestellungen 01-800-7742-639 ■ Fax 01-800-1122-330 ■ Technischer Service 01-800-7742-436

Niederlande ■ Bestellungen 0800-0229592 ■ Fax 0800-0229593 ■ Technischer Service 0800-0229602

Norwegen ■ Bestellungen 800-18859 ■ Fax 800-18817 ■ Technischer Service 800-18712

Österreich ■ Bestellungen 0800-28-10-10 ■ Fax 0800-28-10-19 ■ Technischer Service 0800-28-10-11

Schweden ■ Bestellungen 020-790282 ■ Fax 020-790582 ■ Technischer Service 020-798328

Schweiz ■ Bestellungen 055-254-22-11 ■ Fax 055-254-22-13 ■ Technischer Service 055-254-22-12

Singapur ■ Bestellungen 1800-742-4362 ■ Fax +65-68548184 ■ Technischer Service 1800-742-4368

Spanien ■ Bestellungen +34-91-630-7050 ■ Fax +34-91-630-5145 ■ Technischer Service +34-91-630-7050

Südkorea ■ Bestellungen 080 -000-7146 ■ Fax 1544 7146 ■ Technischer Service 1544 7145

UK ■ Bestellungen 01293-422-911 ■ Fax 01293-422-922 ■ Technischer Service 01293-422-999

