

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

## Handbuch



24 (Katalog Nr. 4500063)



96 (Katalog Nr. 4500065)

Quantitatives In-vitro-Diagnostikum

Zur Verwendung mit dem *LightCycler*<sup>®</sup> Instrument

Version 1



4500063, 4500065



1046888DE



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, DEUTSCHLAND

R2

**MAT**

1046888DE

## 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 ermöglichen. 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 neue Erkenntnisse bei Ihrer Forschung zu ermöglichen. Weitere Informationen finden Sie auf der Website [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

1. Inhalt .....	4
2. Lagerung.....	4
3. Zusätzlich benötigte Materialien und Geräte .....	5
4. Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen .....	5
5. Erreger-Informationen .....	10
6. Prinzip der Real-Time PCR.....	10
7. Produktbeschreibung.....	10
8. Protokoll .....	11
8.1 DNA-Isolierung .....	11
8.2 Interne Kontrolle .....	14
8.3 Quantifizierung.....	15
8.4 Vorbereitung der PCR.....	17
8.5 Programmierung des LightCycler Instruments.....	21
9. Auswertung .....	21
10. Troubleshooting .....	25
11. Spezifikationen .....	26
11.1 Analytische Sensitivität .....	26
11.2 Spezifität.....	30
11.3 Präzision .....	31
11.4 Robustheit .....	34
11.5 Reproduzierbarkeit.....	34
11.6 Diagnostische Evaluierung .....	34
12. Besondere Hinweise zum Produkt-Gebrauch .....	34
13. Sicherheitsinformationen.....	35
14. Qualitätskontrolle .....	35
15. Literatur.....	35
16. Erklärung der Symbole .....	36

# artus HSV-1/2 LC PCR Kit

Für die Verwendung mit dem *LightCycler* Instrument.

## 1. Inhalt

	Beschriftung und Inhalt	Art. Nr. 4500063 24 Reaktionen	Art. Nr. 4500065 96 Reaktionen
<b>Blau</b>	HSV LC Master	2 x 12 rxns	8 x 12 rxns
<b>Rot</b>	HSV1 LC/RG/TM QS 1 <sup>□</sup> 1 x 10 <sup>4</sup> cop/μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
<b>Rot</b>	HSV1 LC/RG/TM QS 2 <sup>□</sup> 1 x 10 <sup>3</sup> cop/μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
<b>Rot</b>	HSV1 LC/RG/TM QS 3 <sup>□</sup> 1 x 10 <sup>2</sup> cop/μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
<b>Rot</b>	HSV1 LC/RG/TM QS 4 <sup>□</sup> 1 x 10 <sup>1</sup> cop/μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
<b>Rot</b>	HSV2 LC/RG/TM QS 1 <sup>□</sup> 1 x 10 <sup>4</sup> cop/μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
<b>Rot</b>	HSV2 LC/RG/TM QS 2 <sup>□</sup> 1 x 10 <sup>3</sup> cop/μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
<b>Rot</b>	HSV2 LC/RG/TM QS 3 <sup>□</sup> 1 x 10 <sup>2</sup> cop/μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
<b>Rot</b>	HSV2 LC/RG/TM QS 4 <sup>□</sup> 1 x 10 <sup>1</sup> cop/μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
<b>Grün</b>	HSV LC IC <sup>□</sup>	1 x 1.000 μl	2 x 1.000 μl
<b>Weiß</b>	Water (PCR grade)	1 x 1.000 μl	1 x 1.000 μl

<sup>□</sup> QS = Quantifizierungsstandard  
IC = Interne Kontrolle

## 2. Lagerung

Die Komponenten des artus HSV-1/2 LC PCR Kits werden bei -30 °C bis -15 °C gelagert und sind bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Datum haltbar. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren (> 2 x) sollte vermieden werden, da dadurch die Sensitivität verringert wird. Bei unregelmäßigem Gebrauch sollten deshalb die Reagenzien aliquotiert werden. Sollte die Notwendigkeit bestehen, die Komponenten bei +4°C zu lagern, darf ein Zeitraum von fünf Stunden nicht überschritten werden.

### 3. Zusätzlich benötigte Materialien und Geräte

- Puderfreie Laborhandschuhe
- DNA-Isolierungskit (siehe **8.1 DNA-Isolierung**)
- Pipetten (einstellbar)
- Sterile Pipettenspitzen mit Filter
- Vortex-Mixer
- Tischzentrifuge mit Rotor für 2 ml-Reaktionsgefäße
- Color Compensation Set (Roche Diagnostics, Kat.-Nr. 2 158 850) zur Erstellung einer Crosstalk Color Compensation-Datei
- *LightCycler* Kapillaren (20 µl)
- *LightCycler* Cooling Block
- *LightCycler* Instrument
- *LightCycler* Capping Tool

### 4. Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

Folgendes sollte vom Anwender immer beachtet werden:

- Sterile Pipettenspitzen mit Filter verwenden.
- Positivmaterial (Proben, Kontrollen, Amplifikate) räumlich getrennt von den übrigen Reagenzien lagern, aufreinigen und zur Reaktion zusetzen.
- Alle Komponenten vor Testbeginn vollständig bei Raumtemperatur auftauen.
- Anschließend die Komponenten gründlich durchmischen und kurz zentrifugieren.
- Zügig auf Eis oder im *LightCycler* Cooling Block arbeiten.

## 5. Erreger-Informationen

Das Herpes simplex Virus (HSV) wird in der Bläschenflüssigkeit, im Speichel und im Vaginalsekret gefunden und durch 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 (Mund und Genitale). Die HSV-Infektion kann als Primärinfektion auftreten, die in > 90 % der Fälle asymptomatisch verläuft, oder als Rezidiv. 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 des Neugeborenen auf. Als Rezidiv der HSV-Infektion kommt es vor allem zur Bläschenbildung in der Nasolabial- oder Genitalregion. Gefährlicher einzustufen sind die Rezidive der Keratokonjunktivitis und der Meningitis.

## 6. Prinzip der Real-Time PCR

Bei der Diagnostik mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) werden spezifische Bereiche aus dem Erregergenom amplifiziert. Die Detektion findet bei der Real-Time PCR mit Hilfe 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 (Mackay, 2004).

## 7. Produktbeschreibung

Der *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit ist ein gebrauchsfertiges System für den Nachweis und die Differenzierung von Herpes simplex Virus-1 und -2-DNA durch die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und anschließender Schmelzkurve im *LightCycler* Instrument. Der HSV LC Master beinhaltet Reagenzien und Enzyme für die spezifische Amplifikation eines 148 bp langen Abschnitts des Herpes simplex Virus-Genoms sowie für die unmittelbare Detektion des Amplifikats im Fluorimeter-Kanal F2 des *LightCycler* Instruments. Daneben enthält der *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit zum Nachweis einer möglichen PCR-Inhibition ein zweites heterologes Amplifikationssystem. Dieses wird als interne Kontrolle (IC) im Fluorimeter-Kanal F3 detektiert. Dabei wird die Nachweisgrenze der analytischen HSV-PCR (siehe 11.1 **Analytische Sensitivität**) nicht herabgesetzt. Zur Bestimmung der Subtypen nutzt das System die spezifische Schmelztemperatur der Sonden, die im Verlauf der Schmelzkurve im Fluorimeter-Kanal F2 ein Signal bei 69°C für HSV-1, bei 66°C für HSV-2 erzeugt. In Abhängigkeit unterschiedlicher Extraktionsbedingungen und daraus resultierender Pufferkonditionen kann es zu Schwankungen von 1 - 2°C kommen, die sich dann aber gleichermaßen auf das HSV-1 und das HSV-2-Amplikon beziehen.

Es werden externe Positivkontrollen (HSV1 LC/RG/TM QS 1 - 4 & HSV2 LC/RG/TM QS 1 - 4) mitgeliefert, mit deren Hilfe eine Bestimmung der Erregerlast vorgenommen werden kann. Dazu lesen Sie bitte den Absatz **8.3 Quantifizierung**.

**Beachte:** Das Temperaturprofil zur Detektion von Herpes simplex Virus- DNA mit Hilfe des *artus* HSV-1/2 LC PCR Kits entspricht dem des *artus* EBV LC PCR Kits, des *artus* VZV LC PCR Kits und dem des *artus* CMV LC PCR Kits. Demzufolge können die PCR-Reaktionen für diese *artus*-Systeme in einem Lauf durchgeführt und analysiert werden. Beachten Sie dabei die speziellen Hinweise zur Auswertung unter **8.3 Quantifizierung** und unter **9. Auswertung**.

## 8. Protokoll

### 8.1 DNA-Isolierung

DNA-Isolierungskits werden von verschiedenen Herstellern angeboten. In Abhängigkeit vom Protokoll des gewählten Herstellers setzen Sie die angegebene Probenmenge in die Aufreinigung ein und führen die DNA-Isolierung entsprechend der Vorschrift durch. Folgende Isolierungskits werden empfohlen:

Probenmaterial	Aufreinigungskit	Katalognummer	Hersteller	Carrier-RNA
Serum, Plasma, Liquor, Abstriche	QIAamp® UltraSens Virus Kit (50)	53 704	QIAGEN	enthalten
	QIAamp® DNA Mini Kit (50)	51 304	QIAGEN	nicht enthalten
Liquor	EZ1® DSP Virus Kit (48)*	62 724	QIAGEN	enthalten

\*Zur Verwendung in Kombination mit der BioRobot® EZ1 DSP Workstation (Kat. Nr. 9001360) und der EZ1 DSP Virus Card (Kat. Nr. 9017707)

#### Wichtige Hinweise für die Verwendung des QIAamp UltraSens Virus Kits und des QIAamp DNA Mini Kits:

- Der Einsatz von **Carrier-RNA** ist für die Effizienz der Aufreinigung und damit für die DNA-/RNA-Ausbeute von entscheidender Bedeutung. Falls der verwendete Isolierungskit keine Carrier-RNA enthalten sollte, beachten Sie bitte, dass bei der Aufreinigung von Nukleinsäuren aus zellfreien Körperflüssigkeiten bzw. Materialien mit geringem DNA-/RNA-Gehalt (z. B. Liquor) die Zugabe von Carrier-RNA (RNA-Homopolymer Poly(A), Amersham Biosciences, Kat.-Nr. 27-4110-01) dringend empfohlen wird. Bitte gehen Sie dann wie folgt vor:
  - a. Resuspendieren Sie hierzu die lyophilisierte Carrier-RNA im Elutionspuffer (nicht im Lysispuffer) des Isolierungskits (z. B. AE-Puffer des QIAamp DNA Mini Kits) und stellen Sie eine Verdünnung mit einer Konzentration von 1 µg/µl her.

Portionieren Sie diese Carrier-RNA-Lösung auf eine Ihren Anforderungen entsprechende Anzahl von Aliquots, die bei -20°C gelagert werden müssen. Vermeiden Sie das wiederholte Auftauen (> 2 x) eines Carrier-RNA-Aliquots.

- b. Pro Aufreinigung sollte 1 µg Carrier-RNA pro 100 µl Lysispuffer eingesetzt werden. Sieht das Extraktionsprotokoll beispielsweise 200 µl Lysispuffer pro aufzureinigende Probe vor, dann setzen Sie 2 µl der Carrier-RNA (1 µg/µl) direkt in den Lysispuffer ein. Vor Beginn jeder Aufreinigung muss ein Gemisch aus Lysispuffer und Carrier-RNA (und ggf. Interner Kontrolle, siehe **8.2 Interne Kontrolle**) gemäß folgendem Pipettierschema frisch hergestellt werden.

Anzahl der Proben	1	12
Lysispuffer	z. B. 200 µl	z. B. 2.400 µl
Carrier-RNA (1 µg/µl)	2 µl	24 µl
<b>Gesamtvolumen</b>	<b>202 µl</b>	<b>2.424 µl</b>
<b>Volumen für die Aufreinigung</b>	<b>200 µl</b>	<b>je 200 µl</b>

- c. Setzen Sie das frisch hergestellte Gemisch aus Lysispuffer und Carrier-RNA sofort für die Aufreinigung ein. Eine Lagerung des Gemisches ist nicht möglich.

■ Der Einsatz von **Carrier-RNA** ist für die Effizienz der Aufreinigung und damit für die DNA-/RNA-Ausbeute von entscheidender Bedeutung. Um eine höhere Stabilität der im QIAamp UltraSens Virus Kit mitgelieferten Carrier-RNA zu erzielen, empfehlen wir folgendes von den Angaben im Handbuch des Isolierungskits abweichendes Vorgehen:

- a. Resuspendieren Sie die lyophilisierte Carrier-RNA vor Erstbenutzung des Isolierungskits in 310 µl des im Kit enthaltenen Elutionspuffers (Endkonzentration 1 µg/µl, keinen Lysispuffer verwenden) und portionieren Sie diese Carrier-RNA-Lösung auf eine Ihren Anforderungen entsprechende Anzahl von Aliquots, die bei -20°C gelagert werden müssen. Vermeiden Sie das wiederholte Auftauen (> 2 x) eines Carrier-RNA-Aliquots.
- b. Vor Beginn jeder Aufreinigung muss ein Gemisch aus Lysispuffer und Carrier-RNA (und ggf. Interner Kontrolle, siehe **8.2 Interne Kontrolle**) gemäß folgendem Pipettierschema frisch hergestellt werden.



Anzahl der Proben	1	12
Lysispuffer AC	800 $\mu$ l	9.600 $\mu$ l
Carrier-RNA (1 $\mu$ g/ $\mu$ l)	5,6 $\mu$ l	67,2 $\mu$ l
<b>Gesamtvolumen</b>	<b>805,6 <math>\mu</math>l</b>	<b>9.667,2 <math>\mu</math>l</b>
<b>Volumen für die Aufreinigung</b>	<b>800 <math>\mu</math>l</b>	<b>je 800 <math>\mu</math>l</b>

c. Setzen Sie das frisch hergestellte Gemisch aus Lysispuffer und Carrier-RNA sofort für die Aufreinigung ein. Eine Lagerung des Gemisches ist nicht möglich.

- Es wird empfohlen, für die Elution der DNA 50  $\mu$ l Elutionspuffer zu verwenden, um eine maximale Sensitivität des artus HSV-1/2 LC PCR Kit zu erlangen.
- Durch die Benutzung des **QIAamp UltraSens Virus Kits** kann eine Aufkonzentrierung der Probe erzielt werden. Sollte es sich bei Ihrem Probenmaterial nicht um Serum oder Plasma handeln, so geben Sie bitte mindestens 50 % (v/v) negatives Humanplasma zur Probe.
- Bei Aufreinigungen, die **Ethanol**-haltige Waschpuffer benutzen, stellen Sie unbedingt sicher, dass vor der Elution ein zusätzlicher Zentrifugations- schritt (drei Minuten, 13.000 Upm) zur Beseitigung von Ethanol- Rückständen durchgeführt wird. Dies verhindert mögliche PCR- Inhibitionen.
- Der artus HSV-1/2 LC PCR Kit ist nicht geeignet für Aufreinigungsverfahren, die auf der Grundlage von **Phenol** arbeiten.

#### **Wichtiger Hinweis für die Verwendung des EZ1 DSP Virus Kits:**

- Der Einsatz von **Carrier-RNA** ist für die Effizienz der Aufreinigung und damit für die DNA-/RNA-Ausbeute von entscheidender Bedeutung. Geben Sie deshalb bitte zu jeder Aufreinigung die erforderliche Menge an Carrier RNA hinzu und halten Sie sich dabei an die Anweisungen im *EZ1 DSP Virus Kit Handbuch*.

**Wichtig:** Die *Interne Kontrolle* des artus HSV-1/2 LC PCR Kits kann direkt in die Aufreinigung eingesetzt werden (siehe **8.2 Interne Kontrolle**)

## 8.2 Interne Kontrolle

Es wird eine *Interne Kontrolle (HSV LC IC)* mitgeliefert. Mit dieser haben Sie die Möglichkeit, **sowohl die Aufreinigung der DNA als auch eine mögliche Inhibition der PCR** zu kontrollieren (siehe Abb. 1). Bei der Verwendung des **EZ1 DSP Virus Kits** muss die Interne Kontrolle gemäß den Angaben im EZ1 DSP Virus Kit Handbuch eingesetzt werden. Beim **QIAamp UltraSens Virus Kit** oder dem **QIAamp DNA Mini Kit** geben Sie die Interne Kontrolle in einem Verhältnis von 0,1 µl pro 1 µl Elutionsvolumen zur Aufreinigung hinzu. Verwenden Sie beispielsweise den QIAamp DNA Mini Kit und eluieren die DNA in 50 µl AE-Puffer, dann setzen Sie bitte 5 µl der Internen Kontrolle ein. Die Menge der eingesetzten Internen Kontrolle ist **nur** abhängig vom Elutionsvolumen. Die Interne Kontrolle und Carrier-RNA (siehe **8.1 DNA-Isolierung**) dürfen nur zugesetzt werden zum

- Gemisch aus Lysispuffer und Probenmaterial oder
- direkt zum Lysispuffer.

Die *Interne Kontrolle* darf nicht direkt zum Probenmaterial gegeben werden. Bei Zugabe zum Lysispuffer ist zu beachten, dass das Gemisch aus Interner Kontrolle und Lysispuffer/Carrier-RNA frisch angesetzt werden muss und sofort einzusetzen ist (Lagerung des Gemischs bei Raumtemperatur oder im Kühlschrank kann bereits nach wenigen Stunden zum Ausfall der Internen Kontrolle und zu einer Verminderung der Aufreinigungseffizienz führen). Pipettieren Sie die Interne Kontrolle und die Carrier-RNA **nicht** direkt zum Probenmaterial.

Optional kann die *Interne Kontrolle* **ausschließlich zur Kontrolle einer möglichen PCR-Inhibition** verwendet werden (siehe Abb. 2). Hierfür geben Sie pro Ansatz 0,5 µl der *Internen Kontrolle* direkt zu 15 µl *HSV LC Master* hinzu. Verwenden Sie für jede PCR-Reaktion 15 µl des so hergestellten

Master Mixes\* und fügen Sie anschließend 5 µl der aufgereinigten Probe hinzu. Sollten Sie einen Lauf für mehrere Proben ansetzen, so erhöhen Sie die benötigten Mengen des HSV LC Masters und der Internen Kontrolle entsprechend der Probenzahl (siehe **8.4 Vorbereitung der PCR**).

Die *artus HSV-1/2 LC PCR Kits* und die *artus VZV LC PCR Kits* beinhalten eine identische *Interne Kontrolle (IC)*. Auch die *artus EBV LC PCR Kits* und die *artus CMV LC PCR Kits* beinhalten eine identische *Interne Kontrolle*.

---

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

## 8.3 Quantifizierung

Die mitgelieferten Quantifizierungsstandards (*HSV1 LC/RG/TM QS 1 - 4 & HSV2 LC/RG/TM QS 1 - 4*) werden wie eine bereits aufgereinigte Probe behandelt und im gleichen Volumen eingesetzt (5 µl). Um im *LightCycler* Instrument eine Standardkurve zu erstellen, setzen Sie bitte sowohl für HSV-1 als auch für HSV-2 alle vier mitgelieferten Quantifizierungsstandards ein, definieren Sie diese in dem *Sample Loading Screen* als Standards und geben

Sie die angegebenen Konzentrationen ein (siehe *LightCycler Operator's Manual*, Version 3.5, Chapter B, 2.4. Sample Data Entry). Auch für nachfolgende Quantifizierungen kann diese Standardkurve verwendet werden, wenn mindestens ein Standard **einer** definierten Konzentration während des aktuellen Laufs mitgeführt wird. Dafür ist es erforderlich, die zuvor erstellte Standardkurve zu importieren (siehe *LightCycler Operator's Manual*, Version 3.5, Chapter B, 4.2.5. Quantification with an External Standard Curve). Bei dieser Form der Quantifizierung muss jedoch berücksichtigt werden, dass es infolge der Variabilität zwischen den PCR- Läufen zu Abweichungen im Ergebnis kommen kann.

**Sollten Sie mehr als ein Herpes-artus-System in Ihren Lauf integriert haben, so achten Sie bitte darauf, diese mit den zugehörigen *Quantifizierungsstandards* getrennt voneinander zu analysieren.**

**Beachte:** Die *Quantifizierungsstandards* sind definiert als Kopien/µl. Zur Umrechnung der anhand der Standardkurve ermittelten Werte in Kopien/ml Probenmaterial ist folgende Formel anzuwenden:

Ergebnis (Kopien/ml)	=	$\frac{\text{Ergebnis (Kopien/}\mu\text{l)} \times \text{Elutionsvolumen (}\mu\text{l)}}{\text{Probenvolumen (ml)}}$
----------------------	---	--

Bitte beachten Sie, dass grundsätzlich das ursprüngliche Probenvolumen in die o. g. Formel einzusetzen ist. Das ist zu berücksichtigen, wenn das Probenvolumen vor der Nukleinsäure-Aufreinigung verändert worden ist (z. B. Einengung durch Zentrifugation oder Erhöhung durch Auffüllen auf das für die Aufreinigung geforderte Volumen).

**Wichtig:** Zur Vereinfachung der quantitativen Auswertung von artus- Systemen am LightCycler Instrument gibt es unter [www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX](http://www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX) einen Leitfaden (**Technical Note zur Quantifizierung am LightCycler 1.1/1.2/1.5 bzw. LightCycler 2.0 Instrument**).

## 8.4 Vorbereitung der PCR

Stellen Sie sicher, dass der Cooling Block mit den darin enthaltenen Adaptern (Zubehör des *LightCycler* Instruments) auf etwa +4°C vorgekühlt ist. Setzen Sie die für die geplanten Reaktionen erforderliche Anzahl *LightCycler* Kapillaren in die Adapter des Cooling Blocks. Beachten Sie dabei, dass pro PCR-Lauf mindestens ein Quantifizierungsstandard (*HSV1 LC/RG/TM QS 1 - 4* & *HSV2 LC/RG/TM QS 1 - 4*) sowie eine Negativkontrolle (Water, PCR grade) mitgeführt werden. Zur Erstellung einer Standardkurve nutzen Sie pro PCR-Lauf bitte alle mitgelieferten Quantifizierungsstandards (*HSV1 LC/RG/TM QS 1 - 4* & *HSV2 LC/RG/TM QS 1 - 4*). Alle Reagenzien sollten vor Testbeginn vollständig bei Raumtemperatur aufgetaut, gut durchmischt (mehrfaches Auf- und Abpipettieren oder kurzes Vortexen) und anschließend anzenrifugiert werden.

Wollen Sie mit der *Internen Kontrolle* sowohl die **Aufreinigung der DNA als auch eine mögliche Inhibition der PCR** kontrollieren, so muss zuvor die Interne Kontrolle zur Aufreinigung zugegeben werden (siehe **8.2 Interne Kontrolle**). Verwenden Sie in diesem Fall folgendes Pipettierschema (siehe auch schematische Übersicht in Abb. 1):

		Anzahl der Proben	
		1	12
1. Ansetzen des Master Mixes	HSV LC Master	15 µl	180 µl
	HSV LC IC	0 µl	0 µl
	<b>Gesamtvolumen</b>	<b>15 µl</b>	<b>180 µl</b>
2. Ansetzen der PCR-Reaktion	Master Mix	15 µl	je 15 µl
	Probe	5 µl	je 5 µl
	<b>Gesamtvolumen</b>	<b>20 µl</b>	<b>je 20 µl</b>

Wollen Sie die *Interne Kontrolle* **ausschließlich zur Kontrolle einer PCR- Inhibition** einsetzen, so muss sie direkt zum *HSV LC Master* zugesetzt werden. In diesem Fall verwenden sie folgendes Pipettierschema (siehe auch schematische Übersicht in Abb. 2):

		Anzahl der Proben	
		1	12
1. Ansetzen des Master Mixes	HSV LC Master	15 µl	180 µl
	HSV LC IC	0,5 µl	6 µl
	<b>Gesamtvolumen</b>	<b>15,5 µl*</b>	<b>186 µl*</b>
2. Ansetzen der PCR-Reaktion	Master Mix	15 µl*	je 15 µl*
	Probe	5 µl	je 5 µl
	<b>Gesamtvolumen</b>	<b>20 µl</b>	<b>je 20 µl</b>

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

Pipettieren Sie in das Plastikreservoir jeder Kapillare 15  $\mu$ l des Master Mixes. Anschließend geben Sie 5  $\mu$ l des Eluats aus der DNA-Isolierung hinzu. Entsprechend müssen als Positivkontrolle 5  $\mu$ l von mindestens einem der Quantifizierungsstandards von jeder *Quantifizierungsstandard*-Reihe (*HSV1 LC/RG/TM QS 1 - 4* & *HSV2 LC/RG/TM QS 1 - 4*) und als Negativkontrolle 5  $\mu$ l Wasser (Water, PCR grade) eingesetzt werden. Verschließen Sie die Kapillaren. Um den Ansatz aus dem Plastikreservoir in die Kapillare zu überführen, zentrifugieren Sie die Adapter mit den darin enthaltenen Kapillaren in einer Tischzentrifuge für zehn Sekunden bei maximal 400 x g (2.000 Upm).

## Zugabe der Internen Kontrolle zur Aufreinigung

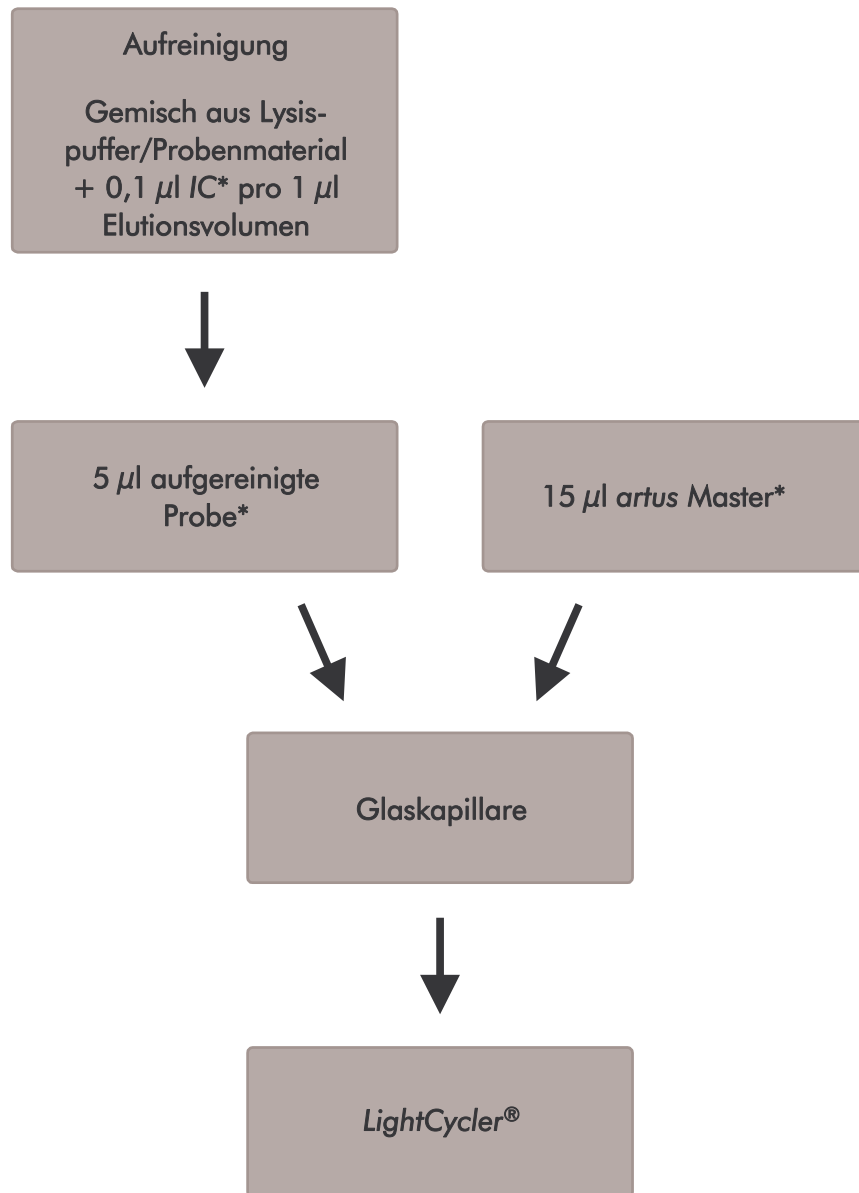


Abb. 1: Schematischer Arbeitsablauf zur Kontrolle von Aufreinigung und PCR-Inhibition.

\* Bei jedem Pipettierschritt ist unbedingt darauf zu achten, dass die zu verwendenden Lösungen vollständig aufgetaut, gut durchmischt und kurz zentrifugiert sind.

## Zugabe der Internen Kontrolle zum artus Master

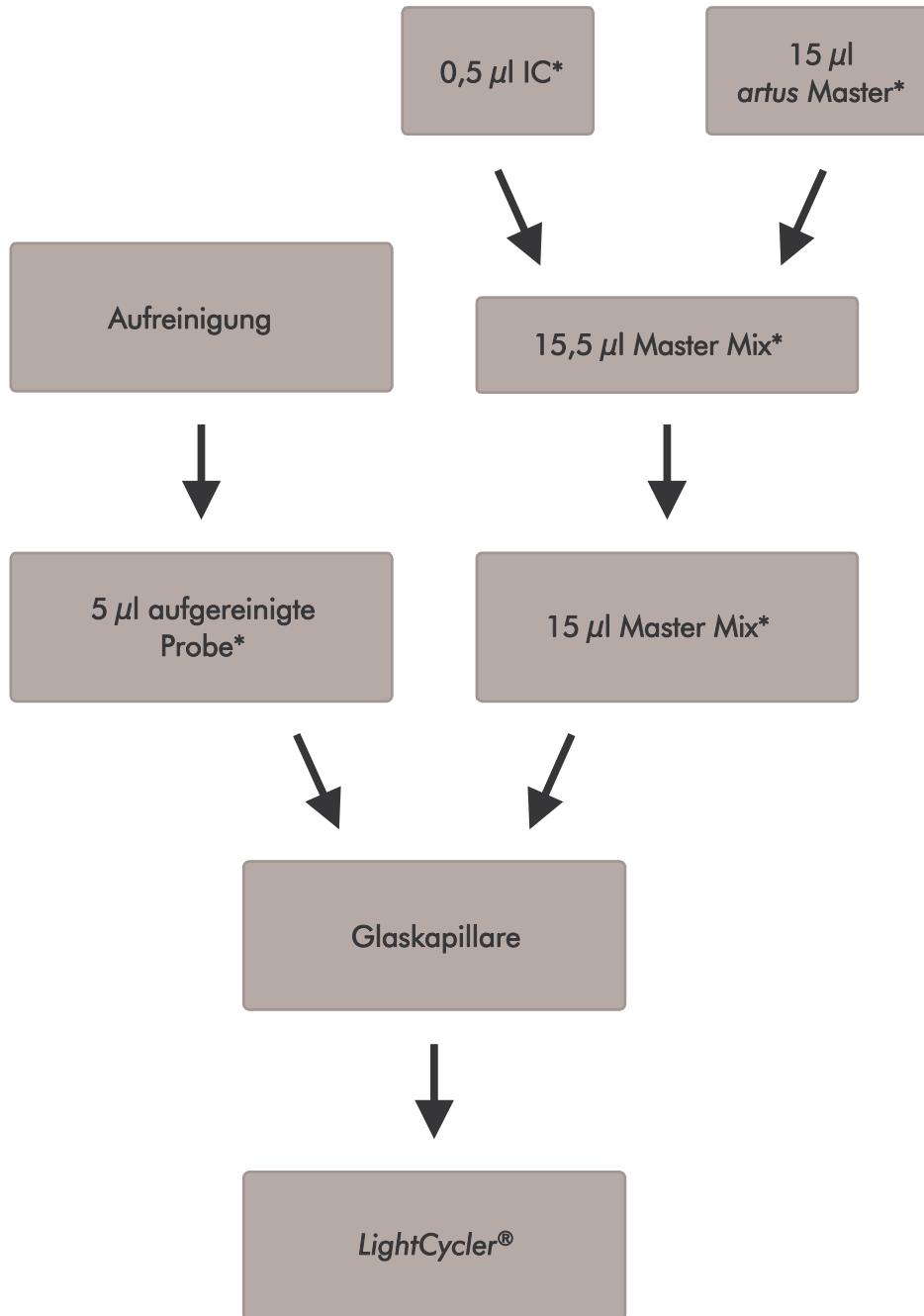


Abb. 2: Schematischer Arbeitsablauf zur Kontrolle der PCR-Inhibition.

\* Bei jedem Pipettierschritt ist unbedingt darauf zu achten, dass die zu verwendenden Lösungen vollständig aufgetaut, gut durchmischt und kurz zentrifugiert sind.



## 8.5 Programmierung des LightCycler Instruments

Zur Detektion der Herpes simplex Virus-DNA erstellen Sie auf Ihrem *LightCycler*<sup>®</sup> Instrument ein Temperaturprofil gemäß den folgenden fünf Arbeitsschritten (siehe Abb. 3 - 7).

- |    |   |        |
|----|---|--------|
| A. | Initiale Aktivierung des Hot Start-Enzyms | Abb. 3 |
| B. | Touch-Down-Schritt                        | Abb. 4 |
| C. | Amplifikation der DNA                     | Abb. 5 |
| D. | Schmelzkurve                              | Abb. 6 |
| E. | Kühlung                                   | Abb. 7 |

Beachten Sie insbesondere die Einstellungen für *Analysis Mode*, *Cycle Program Data* und *Temperature Targets*. In den Abbildungen sind diese Einstellungen durch schwarze Rahmen hervorgehoben. Hinweise zur Programmierung des *LightCycler* Instruments finden Sie im *LightCycler* Operator's Manual.

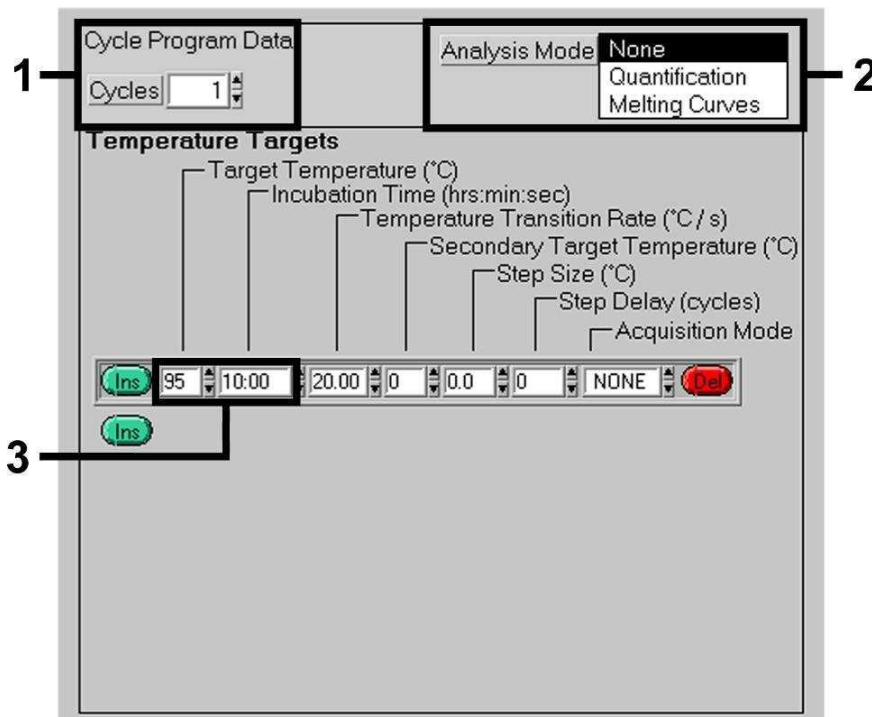


Abb. 3: Initiale Aktivierung des Hot Start-Enzyms.

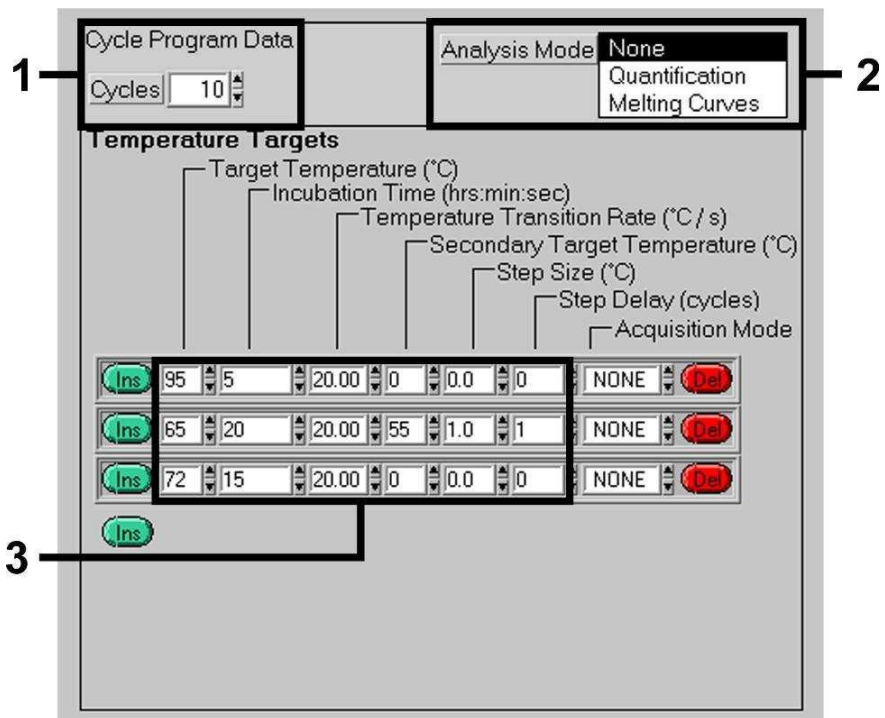


Abb. 4: Touch Down-Schritt.

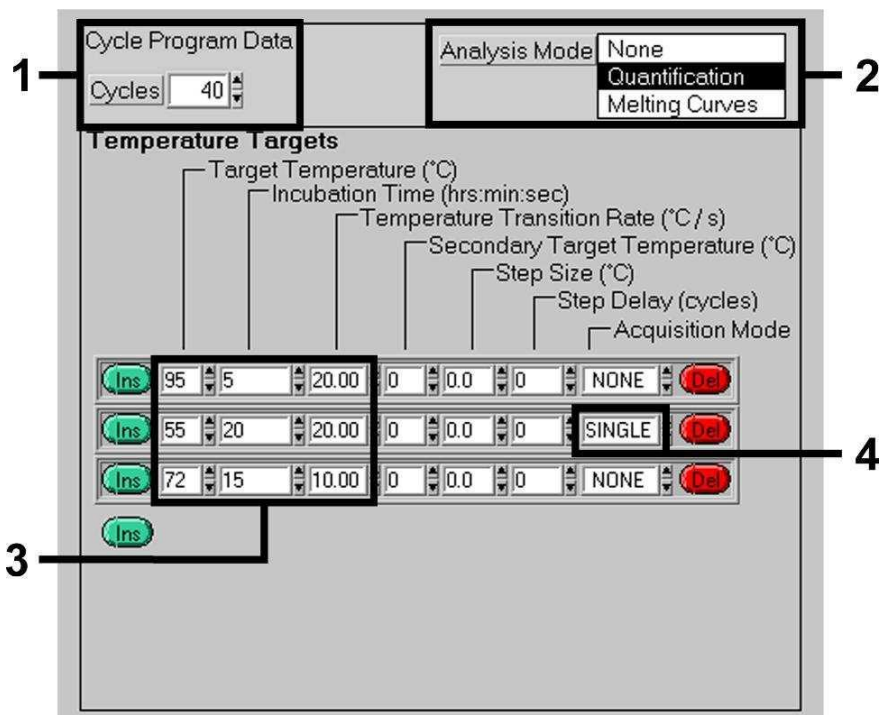


Abb. 5: Amplifikation der DNA.



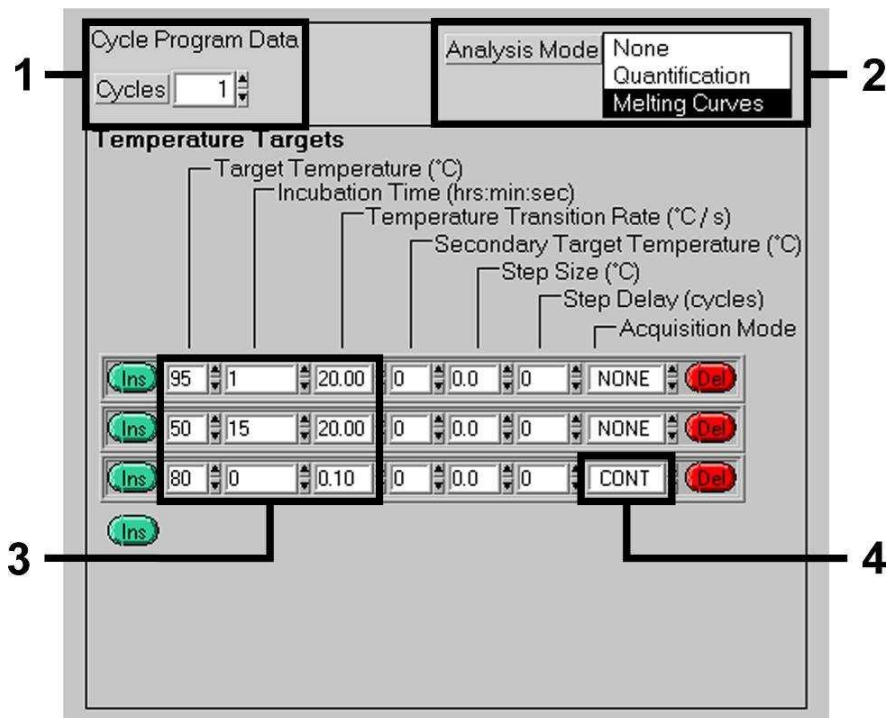


Abb. 6: Schmelzkurve.

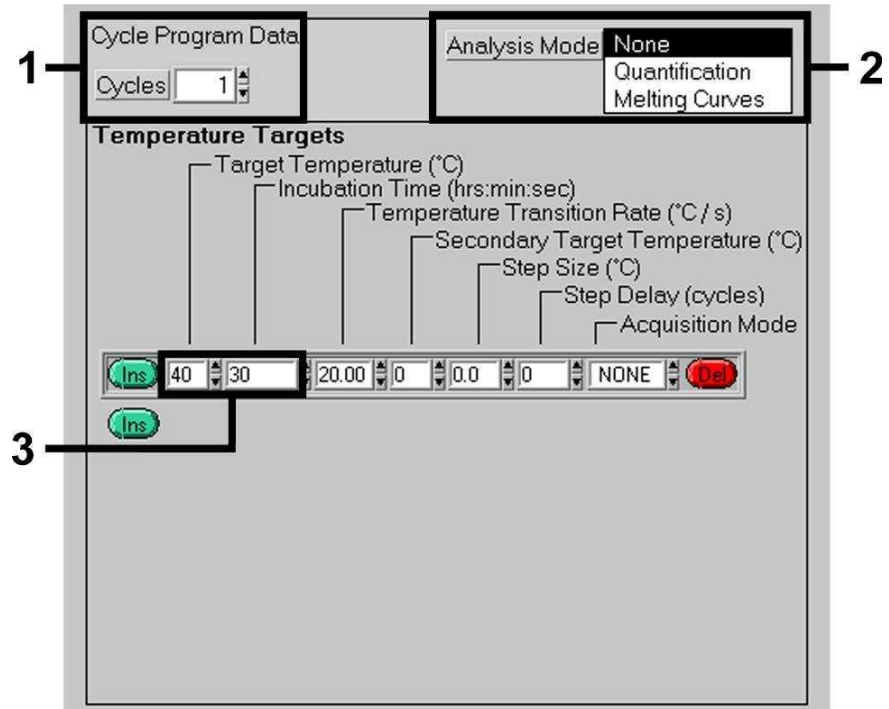


Abb. 7: Kühlung.

## 9. Auswertung

Bei Multicolor-Analysen treten Interferenzen zwischen den Fluorimeter- Kanälen auf. Die Software des *LightCycler* Instruments enthält eine als *Color Compensation File* bezeichnete Datei, welche diese Einstrahlungen kompensiert. Diese Datei öffnen Sie vor, während oder im Anschluss des PCR-Laufs durch Aktivierung der Schaltfläche *Choose CCC File* bzw. *Select CC Data*. Sollte kein Color Compensation File installiert sein, erstellen Sie die Datei bitte unter Beachtung der Anleitung im *LightCycler Operator's Manual*. Nach Aktivierung des Color Compensation File erscheinen in den Fluorimeter- Kanälen F1, F2 und F3 getrennte Signale. Zur Analyse der PCR-Ergebnisse, die mit dem *artus HSV-1/2 LC PCR Kit* gewonnen werden, wählen Sie bitte die Ansichtsfunktionen F2/Back-F1 für die analytische HSV-PCR bzw. F3/Back-F1 für die PCR der Internen Kontrolle. Für die Analyse quantitativer Läufe beachten Sie bitte unbedingt den Abschnitt **8.3 Quantifizierung** sowie die **Technical Note zur Quantifizierung am LightCycler 1.1/1.2/1.5 bzw. LightCycler 2.0 Instrument** unter

[www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX](http://www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX).

Sollten Sie mehr als ein Herpes-*artus*-System in Ihren PCR-Lauf integriert haben, so achten Sie bitte darauf, die HSV-Proben und die zugehörigen Standardkurven getrennt von allen anderen Systemen zu analysieren. Dabei ist darauf zu achten, dass die HSV-1-Proben mit der Standardkurve der zugehörigen HSV-1-Standards (*HSV1 LC/RG/TM QS 1 - 4*) und die HSV-2-Proben mit der Standardkurve der zugehörigen HSV-2-Standards (*HSV2 LC/RG/TM QS 1 - 4*) analysiert werden.

Folgende Ergebnisse können auftreten:

1. Im Fluorimeter-Kanal F2/Back-F1 wird ein Signal detektiert.

**Das Ergebnis der Analyse ist positiv: Die Probe enthält HSV-DNA.**

In diesem Fall ist die Detektion eines Signals im Kanal F3/Back-F1 unwesentlich, da hohe Ausgangskonzentrationen an HSV-DNA (positives Signal im Kanal F2/Back-F1) zu einem reduzierten bis ausbleibenden Fluoreszenz-Signal der Internen Kontrolle im Kanal F3/Back-F1 führen können (Kompetition).

Die Differenzierung kann anhand des Schmelzpunktes (Kanal F2/Back-F1, Programm *Melting Curve*) für das HSV-1-Amplikon bei 69°C, für das HSV-2- Amplikon bei 66°C durchgeführt werden. In Abhängigkeit unterschiedlicher Extraktionsbedingungen und daraus resultierender Pufferkonditionen kann es zu Schwankungen von 1 - 2°C kommen, die sich dann aber gleichermaßen auf das HSV-1- und das HSV-2-Amplikon beziehen.

2. Im Fluorimeter-Kanal F2/Back-F1 wird kein Signal detektiert, sondern nur im Kanal F3/Back-F1 (Signal der *Internen Kontrolle*).

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

Bei negativer HSV-PCR schließt das detektierte Signal der Internen Kontrolle die Möglichkeit einer PCR-Inhibition aus.

3. Weder im Kanal F2/Back-F1 noch im Kanal F3/Back-F1 wird ein Signal detektiert.

**Eine diagnostische Aussage ist nicht möglich.**

Hinweise zu Fehlerquellen und deren Beseitigung sind unter **10. Troubleshooting** aufgeführt.

Beispiele für positive und negative PCR-Reaktionen sowie für eine Schmelzkurvenanalyse sind in Abb. 8 bis Abb. 12 wiedergegeben.

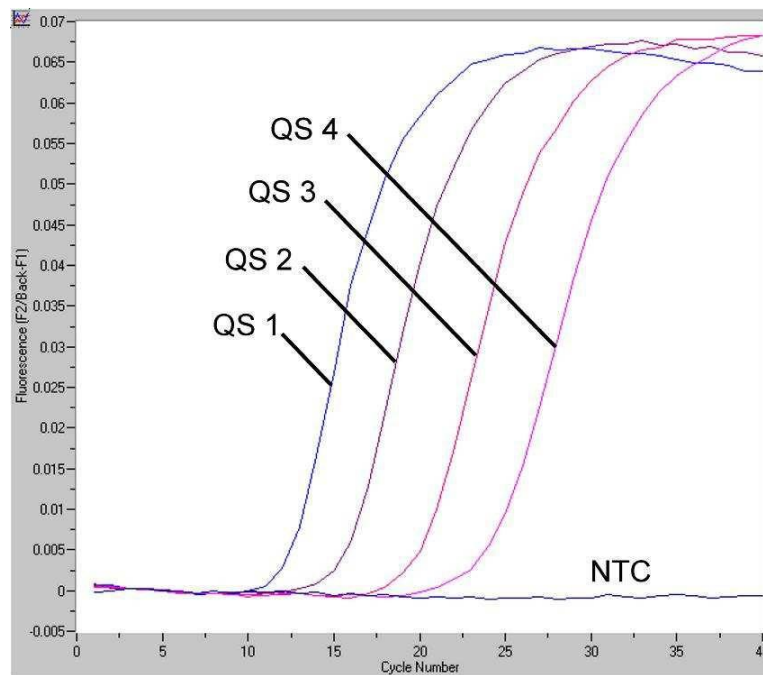


Abb.8: Nachweis der Quantifizierungsstandards (*HSV1 LC/RG/TM* QS 1 - 4) im Fluorimeter-Kanal F2/Back-F1. NTC: non- template control (Negativkontrolle).

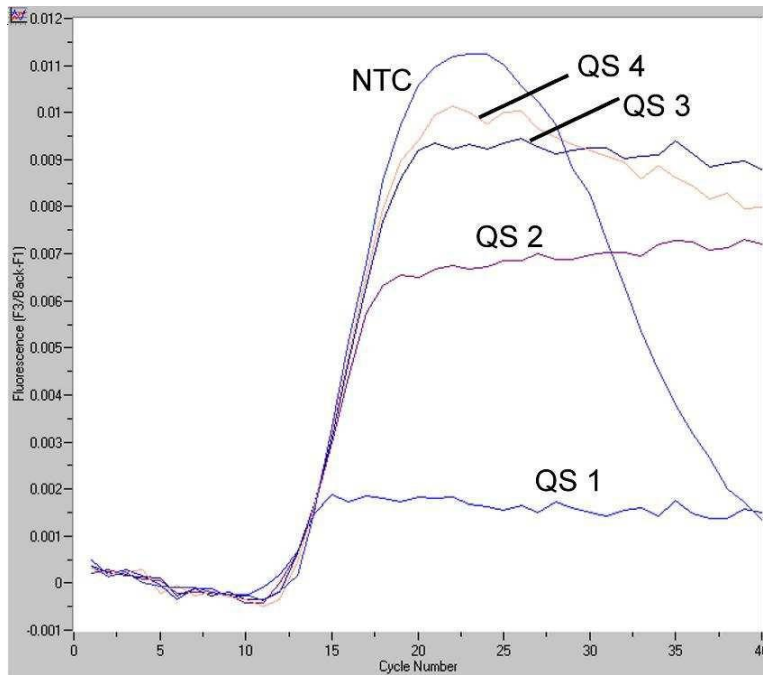


Abb.9: Nachweis der Internen Kontrolle (IC) im Fluorimeter-Kanal F3/Back-F1 bei gleichzeitiger Amplifikation der Quantifizierungsstandards (HSV1 LC/RG/TM QS 1 - 4). NTC: non-template control (Negativkontrolle).

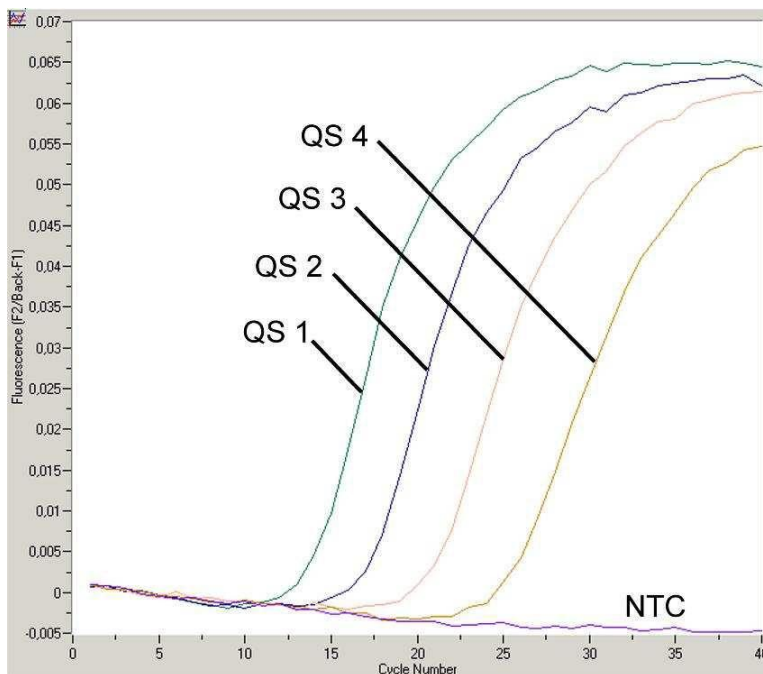


Abb. 10: Nachweis der Quantifizierungsstandards (HSV2 LC/RG/TM QS 1 - 4) im Fluorimeter-Kanal F2/Back-F1. NTC: non-template control (Negativkontrolle).

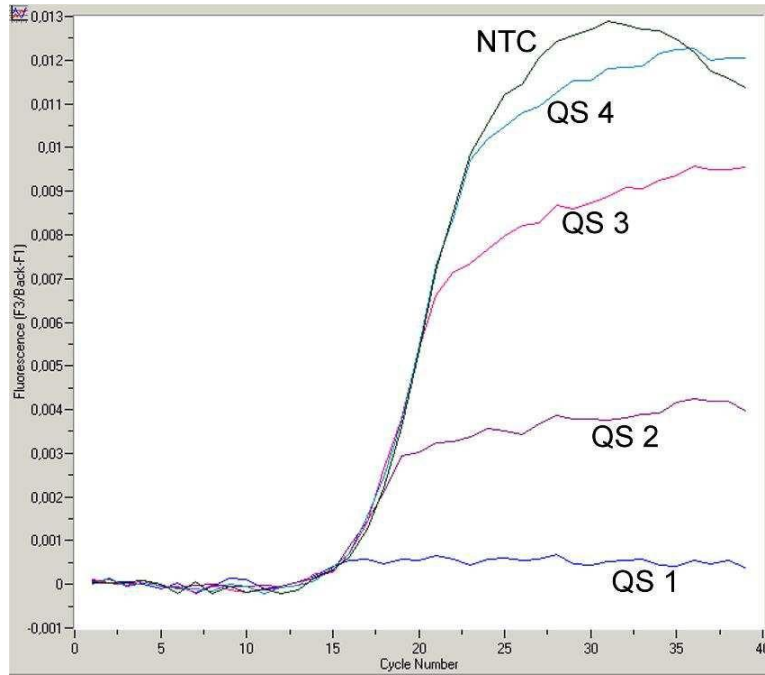


Abb. 11: Nachweis der Internen Kontrolle (IC) im Fluorimeter-Kanal F3/Back-F1 bei gleichzeitiger Amplifikation der Quantifizierungsstandards (*HSV2* LC/RG/TM QS 1 - 4). NTC: non-template control (Negativkontrolle).

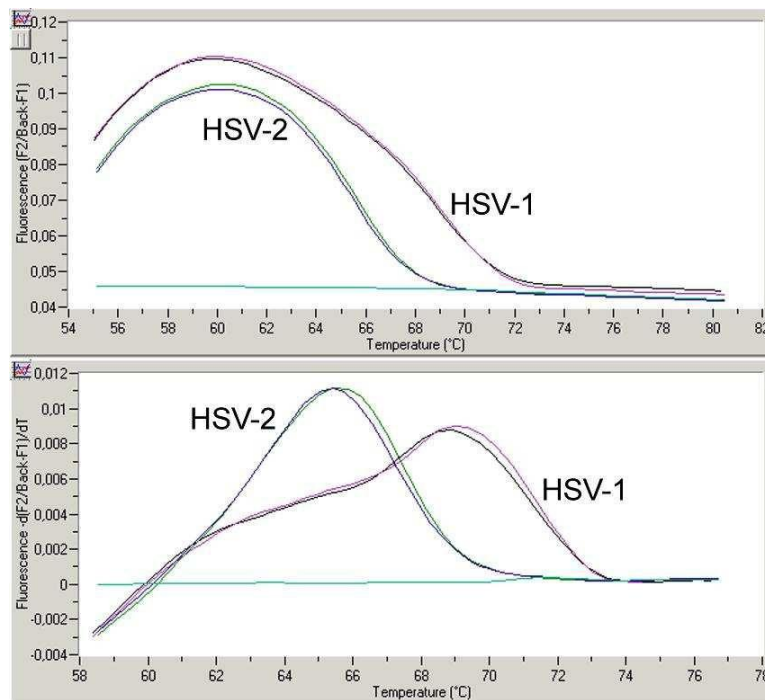


Abb. 12: Differenzierung zwischen HSV-1 und HSV-2 im Fluorimeter-Kanal F2/Back-F1 (Programm *Melting Curve*).



# 10. Troubleshooting

Kein Signal bei den Positivkontrollen (*HSV1 LC/RG/TM QS 1 - 4* &

*HSV2 LC/RG/TM QS 1 - 4*) im Fluorimeter-Kanal F2/Back-F1:

- Die Wahl des Fluorimeter-Kanals bei der PCR-Datenanalyse entspricht nicht den Protokollangaben.
  - Wählen Sie für die Datenanalyse den Fluorimeter-Kanal F2/Back-F1 für die analytische HSV-PCR und den Fluorimeter-Kanal F3/Back-F1 für die PCR der *Internen Kontrolle*.
- Die Programmierung des Temperaturprofils des *LightCycler* Instruments ist fehlerhaft.
  - Vergleichen Sie das Temperaturprofil mit den Protokollangaben (siehe **8.5 Programmierung des *LightCycler* Instruments**).
- Fehlerhaftes Zusammenstellen der PCR-Reaktion.
  - Überprüfen Sie Ihre Arbeitsschritte mit Hilfe des Pipettierschemas (siehe **8.4 Vorbereitung der PCR**) und wiederholen Sie ggf. die PCR.
- Die Lagerungsbedingungen für eine oder mehrere Kit-Komponenten entsprechen nicht den in **2. Lagerung** angeführten Vorschriften oder das Haltbarkeitsdatum des *artus HSV-1/2 LC PCR Kits* wurde überschritten.
  - Bitte überprüfen Sie sowohl Lagerungsbedingungen als auch Haltbarkeitsdatum (siehe Kit-Etikett) der Reagenzien und verwenden Sie ggf. einen neuen Kit.

**Schwaches oder ausbleibendes Signal der Internen Kontrolle im Fluorimeter-Kanal F3/Back-F1 bei gleichzeitiger Abwesenheit eines Signals im Kanal F2/Back-F1:**

- Die PCR-Bedingungen entsprechen nicht dem Protokoll.
  - Überprüfen Sie die PCR-Bedingungen (siehe oben) und wiederholen Sie ggf. die PCR mit korrigierten Einstellungen.
- Die PCR wurde inhibiert.
  - Stellen Sie sicher, dass Sie ein von uns empfohlenes Aufreinigungsverfahren benutzen (siehe **8.1 DNA-Isolierung**) und halten Sie sich exakt an die Herstellervorschrift
  - Vergewissern Sie sich, dass bei der DNA-Aufreinigung der zusätzliche empfohlene Zentrifugationsschritt zur vollständigen Entfernung von Ethanol-Resten vor der Elution durchgeführt wurde (siehe **8.1 DNA-Isolierung**).
- Es liegen aufreinigungsbedingte DNA-Verluste vor.
  - Sollte die *Interne Kontrolle* zur Aufreinigung zugegeben worden sein, kann ein Ausbleiben des Signals der *Internen Kontrolle* bedeuten, dass aufreinigungsbedingte DNA-Verluste vorliegen. Stellen Sie sicher, dass Sie ein von uns empfohlenes Aufreinigungsverfahren anwenden (siehe **8.1 DNA-Isolierung**) und halten Sie sich an die Herstellervorschrift.

- Die Lagerungsbedingungen für eine oder mehrere Kit-Komponenten entsprachen nicht den in **2. Lagerung** angeführten Vorschriften oder das Haltbarkeitsdatum des *artus* HSV-1/2 LC PCR Kits wurde überschritten.
- Bitte überprüfen Sie sowohl Lagerungsbedingungen als auch Haltbarkeitsdatum (siehe Kit-Etikett) der Reagenzien und verwenden Sie ggf. einen neuen Kit.

### Signale bei den Negativkontrollen im Fluorimeter-Kanal F2/Back-F1 der analytischen PCR.

- Es liegt eine Kontamination während der Vorbereitung der PCR vor.
  - Wiederholen Sie die PCR mit noch unbenutzten Reagenzien in Replikaten.
  - Verschließen Sie die einzelnen PCR-Gefäße nach Möglichkeit jeweils unmittelbar nach Zugabe der zu untersuchenden Probe.
  - Pipettieren Sie die Positivkontrollen grundsätzlich zuletzt.
  - Stellen Sie sicher, dass Arbeitsflächen und -geräte regelmäßig dekontaminiert werden.
- Es liegt eine aufreinigungsbedingte Kontamination vor.
  - Wiederholen Sie die Aufreinigung und PCR der zu untersuchenden Proben unter Verwendung noch unbenutzter Reagenzien.
  - Stellen Sie sicher, dass Arbeitsflächen und -geräte regelmäßig dekontaminiert werden. Sollten weitere Fragen oder Probleme auftreten, kontaktieren Sie bitte unseren Technischen Service.

## 11. Spezifikationen

### 11.1 Analytische Sensitivität

Zur Bestimmung der analytischen Sensitivität des *artus* HSV-1/2 LC PCR Kits wurde eine Standard-Verdünnungsreihe von 31,6 bis nominal 0,01 HSV-1- bzw. HSV-2-Kopieäquivalenten<sup>\*</sup>/μl erstellt und mit dem *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit analysiert. Die Untersuchungen wurden an drei verschiedenen Tagen in Form von Achtfach-Bestimmungen durchgeführt. Das Ergebnis ist mit Hilfe einer Probit-Analyse ermittelt worden. Deren graphische Auswertung sind in Abb. 13 und Abb. 14 dargestellt. Die analytische Nachweisgrenze des *artus* HSV-1/2 LC PCR Kits liegt demzufolge sowohl für HSV-1 als auch für HSV-2 bei 1 Kopie/μl ( $p = 0,05$ ). Dies bedeutet, dass 1 Kopie/μl mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % detektiert werden kann.

---

<sup>\*</sup> Bei dem hier verwendeten Standard handelt es sich um ein kloniertes PCR-Produkt, dessen Konzentration spektral- und fluoreszenzphotometrisch bestimmt wurde.

### Probit-Analyse: Herpes-simplex-Virus 1 (LightCycler)

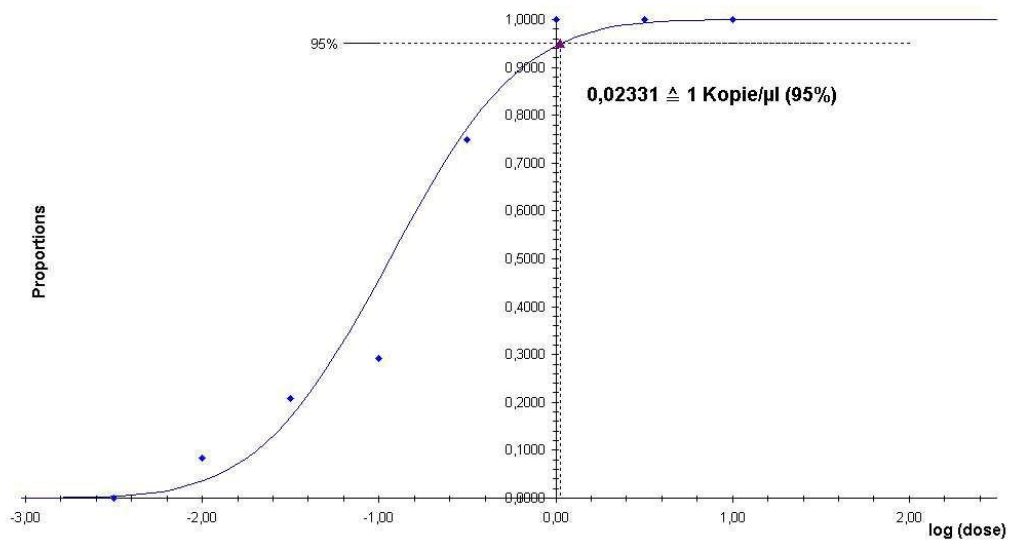


Abb. 13: Analytische Sensitivität des artus HSV-1/2 LC PCR Kits (HSV-1).

### Probit-Analyse: Herpes-simplex-Virus 2 (LightCycler)

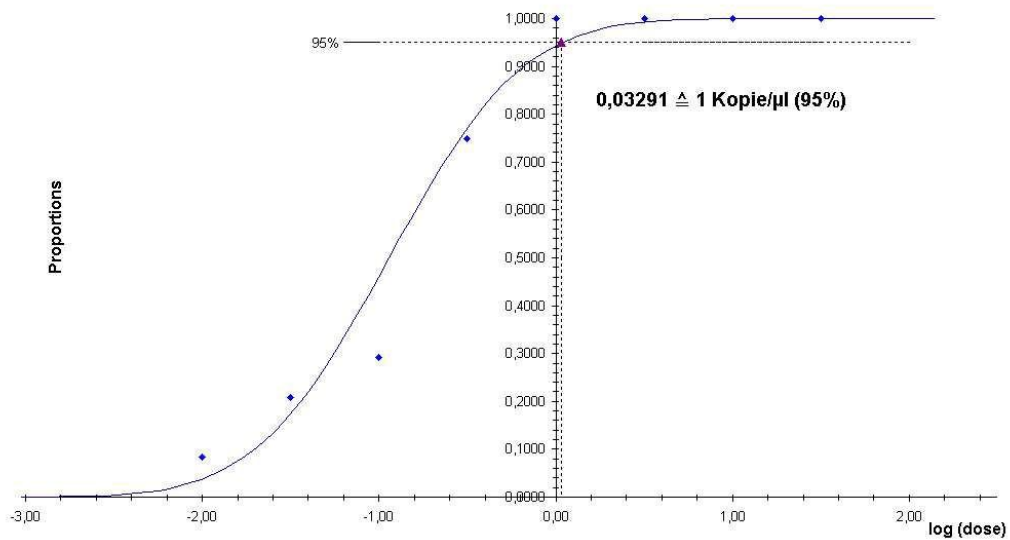


Abb. 14: Analytische Sensitivität des artus HSV-1/2 LC PCR Kits (HSV-2).

## 11.2 Spezifität

Die Spezifität des *artus* HSV-1/2 LC 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. Auf diese Weise wurde auch die Detektierbarkeit aller relevanten Stämme kontrolliert.

Die Validierung der Spezifität erfolgte zudem an 30 verschiedenen HSV-negativen Liquorproben, die mit den im *HSV LC Master* enthaltenen HSV-spezifischen Primern und Sonden kein Signal generierten.

Für die Bestimmung der Spezifität des *artus* HSV-1/2 LC PCR Kits wurde die in Tabelle 1 aufgeführte Kontrollgruppe auf ihre Kreuzreaktivität untersucht. Keiner der getesteten Erreger war reaktiv.

Tabelle 1: Spezifitätstestung des Kits mit potentiell kreuzreaktiven Erregern.

Kontrollgruppe	HSV-1/2 (F2/Back-F1)	Interne Kontrolle (F3/Back-F1)
Humanes Herpesvirus 3 (Varizella-Zoster-Virus)	-	+
Humanes Herpesvirus 4 (Epstein-Barr-Virus)	-	+
Humanes Herpesvirus 5 (Zytomegalievirus)	-	+
Humanes Herpesvirus 6 A	-	+
Humanes Herpesvirus 6 B	-	+
Humanes Herpesvirus 7	-	+
Humanes Herpesvirus 8 (Kaposi-Sarkom-assoziiertes Herpesvirus)	-	+

## 11.3 Präzision

Die Präzisionsdaten für den *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit erlauben die Ermittlung der Totalvarianz (Gesamtstreuung) des Testsystems. Diese Totalvarianz setzt sich zusammen 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 gleichen Typs) und der **Inter-Chargen Variabilität** (Streuung unter Verwendung unterschiedlicher Chargen). Dabei werden jeweils die Standardabweichung, die Varianz und der Variationskoeffizient sowohl für die Erreger-spezifische als auch für die PCR der *Internen Kontrolle* berechnet.

Diese Daten wurden für den *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit anhand des *Quantifizierungsstandards* mit der geringsten Konzentration (QS 4; 10 Kopien/ $\mu$ l) ermittelt. Die Untersuchungen wurden in Form von Achtfach- Bestimmungen durchgeführt. Die Auswertung der Ergebnisse wurde anhand der Ct-Werte der Amplifikationskurven (Ct: *threshold cycle*, siehe Tabelle 2/Tabelle 4) und der daraus ermittelten quantitativen Werte in Kopien/ $\mu$ l (siehe Tabelle 3/Tabelle 5) vorgenommen. Demnach beträgt die Gesamtstreuung einer beliebigen Probe der genannten Konzentration 1,67 % (Ct, HSV-1) und 1,95 % (Ct, HSV-2) bzw. 20,66 % (Konz., HSV-1) und 22,42 % (Konz., HSV-2), für den Nachweis der *Internen Kontrolle* 1,23 % (Ct, HSV-1) und 1,04 % (Ct, HSV-2). Diese Werte basieren auf der Gesamtheit aller Einzelwerte der ermittelten Variabilitäten.

Tabelle 2: Präzisionsdaten für HSV-1 auf Grundlage der Ct-Werte.

	Standard- abweichung	Varianz	Variations- koeffizient [%]
Intra-Assay Variabilität: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	0,27	0,07	1,13
Intra-Assay Variabilität: <i>Interne Kontrolle</i>	0,03	0,00	0,23
Inter-Assay Variabilität: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	0,39	0,15	1,66
Inter-Assay Variabilität: <i>Interne Kontrolle</i>	0,12	0,01	0,99
Inter-Chargen Variabilität: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	0,41	0,17	1,72
Inter-Chargen Variabilität: <i>Interne Kontrolle</i>	0,17	0,03	1,40
Totalvarianz: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	0,39	0,15	1,67
Totalvarianz: <i>Interne Kontrolle</i>	0,15	0,02	1,23

Tabelle 3: Präzisionsdaten für HSV-1 auf Grundlage der quantitativen Werte (in Kopien/ $\mu$ l).

	Standard- abweichung	Varianz	Variations- koeffizient [%]
Intra-Assay Variabilität: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	1,76	3,08	17,34
Inter-Assay Variabilität: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	2,02	4,08	19,82
Inter-Chargen Variabilität: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	2,37	5,64	23,10
Totalvarianz: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	2,11	4,46	20,66

Tabelle 4: Präzisionsdaten für HSV-2 auf Grundlage der Ct-Werte.

	Standard- abweichung	Varianz	Variations- koeffizient [%]
Intra-Assay Variabilität: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	0,22	0,05	0,90
Intra-Assay Variabilität: <i>Interne Kontrolle</i>	0,04	0,00	0,33
Inter-Assay Variabilität: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	0,62	0,38	2,51
Inter-Assay Variabilität: <i>Interne Kontrolle</i>	0,12	0,01	0,98
Inter-Chargen Variabilität: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	0,38	0,14	1,52
Inter-Chargen Variabilität: <i>Interne Kontrolle</i>	0,14	0,02	1,12
Totalvarianz: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	0,48	0,23	1,95
Totalvarianz: <i>Interne Kontrolle</i>	0,13	0,02	1,04

Tabelle 5: Präzisionsdaten für HSV-2 auf Grundlage der quantitativen Werte (in Kopien/ $\mu$ l).

	Standard- abweichung	Varianz	Variations- koeffizient [%]
Intra-Assay Variabilität: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	1,39	1,94	13,82
Inter-Assay Variabilität: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	2,86	8,20	27,46
Inter-Chargen Variabilität: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	1,96	3,85	19,27
Totalvarianz: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	2,30	5,31	22,42

## 11.4 Robustheit

Die Überprüfung der Robustheit dient der Ermittlung der Gesamtausfallrate des *artus* HSV-1/2 LC PCR Kits. Hierzu wurden 30 HSV negative Liquorproben mit je 3 Kopien/ $\mu$ l Elutionsvolumen HSV-1-Kontroll-DNA (dreifache Konzentration der analytischen Sensitivitätsgrenze) versetzt, mit dem QIAamp DNA Mini Kit aufgereinigt (siehe **8.1 DNA-Isolierung**) und mit dem *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit analysiert. In gleicher Weise wurde die Untersuchung für HSV-2 durchgeführt (30 Liquorproben; 3 Kopien/ $\mu$ l HSV-2- Kontroll-DNA). Die Ausfallrate betrug sowohl für HSV-1 als auch für HSV-2 für die Gesamtheit der Proben 0 %. Die Robustheit der *Internen Kontrolle* wurde zusätzlich durch die Aufreinigung und Analyse von 30 HSV negativen Liquorproben überprüft. Die Gesamtausfallrate betrug 0 %. Inhibitionen wurden nicht beobachtet. Damit beträgt die Robustheit des *artus* HSV-1/2 LC PCR Kits  $\geq 99$  %.

## 11.5 Reproduzierbarkeit

Die Daten der Reproduzierbarkeit werden zum Zweck der regelmäßigen Leistungsbewertung des *artus* HSV-1/2 LC PCR Kits sowie des Leistungsvergleichs mit anderen Produkten durch die Teilnahme an Ringversuchen erhoben.

## 11.6 Diagnostische Evaluierung

Der *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit wird derzeit noch in mehreren Studien evaluiert.

## 12. Besondere Hinweise zum Produkt-Gebrauch

- Alle Reagenzien dürfen ausschließlich zur In-vitro-Diagnostik verwendet werden.
- Die Anwendung sollte durch Personal erfolgen, das speziell in In-vitro-Diagnostika-Verfahren unterrichtet und ausgebildet wurde.
- Die genaue Einhaltung des Protokolls ist unbedingt erforderlich, um optimale PCR-Ergebnisse zu erreichen.
- Die auf der Verpackung und den Etiketten der einzelnen Komponenten angegebenen Verfallsdaten sind zu beachten. Abgelaufene Reagenzien sind nicht zu benutzen.



## 13. Sicherheitsinformationen

Sicherheitsinformationen zum *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit können Sie dem entsprechenden Sicherheitsdatenblatt entnehmen (Safety Data Sheet, SDS). Dieses finden Sie als kompakte und anwenderfreundliche PDF-Datei unter [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety).












## 14. Qualitätskontrolle

In Übereinstimmung mit dem ISO 9001 und ISO 13485-zertifizierten Qualitäts-Management-System von QIAGEN wurde jede Charge des *artus* HSV-1/2 LC PCR Kits gegen vorgegebene Spezifikationen getestet, um eine einheitliche Produktqualität zu gewährleisten.

## 15. Literatur

- (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. Erklärung der Symbole

	Zur Verwendung bis
	Chargennummer
	Hersteller i. S. d. Gesetzes
	Katalognummer
	Materialnummer
	Handbuch
	In-vitro-diagnostisches Medizinprodukt
	Ethanol
	Global Trade Item Number (Globale Artikelnummer)
 $\Sigma$	Inhalt reicht für $\langle N \rangle$ Tests
	Zulässiger Temperaturbereich
<b>QS</b>	<i>Quantifizierungsstandard</i>
<b>IC</b>	<i>Interne Kontrolle</i>

## artus HSV-1/2 LC PCR Kit

### Marken und Disclaimer

QIAGEN®, QIAamp®, artus®, BioRobot®, EZ1®, UltraSens® (QIAGEN Gruppe); LightCycler® (Roche Diagnostics).

Registrierte Namen, Warenzeichen usw. in diesem Dokument können nicht, auch bei fehlender Kennzeichnung als solche, als gesetzlich ungeschützt betrachtet werden.

Der artus HSV-1/2 LC PCR Kit, die BioRobot EZ1 DSP Workstation und die EZ1 DSP Virus Kit und Card sind CE-markierte diagnostische Instrumente und Kits in Übereinstimmung mit der Europäischen Richtlinie 98/79/EG über in-vitro-Diagnostika. Nicht in allen Ländern erhältlich.

Die QIAamp Kits sind für den allgemeinen Laborgebrauch. Die Produktangaben oder Produktdarstellungen sind nicht dazu vorgesehen, Informationen für die Diagnose, Prävention oder Behandlung einer Erkrankung zu liefern.

Der Erwerb der artus PCR Kits beinhaltet eine limitierte Lizenz für ihre Verwendung zur Durchführung des Polymerasekettenreaktion-Verfahrens (PCR) in der humanen und veterinären In-vitro-Diagnostik in Verbindung mit einem Thermocycler, dessen Einsatz bei der automatisierten Durchführung der PCR durch die up-front Lizenzgebühr abgedeckt ist, die entweder an Applied Biosystems abgeführt wird oder durch den Erwerb eines autorisierten Thermocyclers entrichtet wird. Das PCR Verfahren ist geschützt durch entsprechende nationale Schutzrechte der U.S. Patente der Nummern 5,219,727 und 5,322,770 und 5,210,015 und 5,176,995 und 6,040,166 und 6,197,563 und 5,994,056 und 6,171,785 und 5,487,972 und 5,804,375 und 5,407,800 und 5,310,652 und 5,994,056; Eigentum der F. Hoffmann-La Roche LTD.

© 2007-2015 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten

---

**www.qiagen.com**

**Australia** ■ techservice-au@qiagen.com

**Austria** ■ techservice-at@qiagen.com

**Belgium** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Brazil** ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

**Canada** ■ techservice-ca@qiagen.com

**China** ■ techservice-cn@qiagen.com

**Denmark** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Finland** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**France** ■ techservice-fr@qiagen.com

**Germany** ■ techservice-de@qiagen.com

**Hong Kong** ■ techservice-hk@qiagen.com

**India** ■ techservice-india@qiagen.com

**Ireland** ■ techservice-uk@qiagen.com

**Italy** ■ techservice-it@qiagen.com

**Japan** ■ techservice-jp@qiagen.com

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

**Luxembourg** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Mexico** ■ techservice-mx@qiagen.com

**The Netherlands** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Norway** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Singapore** ■ techservice-sg@qiagen.com

**Sweden** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Switzerland** ■ techservice-ch@qiagen.com

**UK** ■ techservice-uk@qiagen.com

**USA** ■ techservice-us@qiagen.com

