

Komplekti *artus*[®] HSV-1/2 LC PCR Kit käsiraamat

▽ 24 (kataloogi nr 4500063)

▽ 96 (kataloogi nr 4500065)

Kvantitatiivne *in vitro* diagnostika

Ette nähtud kasutamiseks koos *LightCycler*[®]-i seadmega

1. versioon



IVD

REF 4500063, 4500065

HB 1046888



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, SAKSAMAA

R2 MAT 1046888



QIAGEN-i proovivõtu- ja analüüsimeetodid

QIAGEN pakub uuenduslikke ning kõrgetasemelisi proovivõtu- ja analüüsimeetodeid, mis võimaldavad bioloogilisi proove isoleerida ja tuvastada. Meie kõrgetasemelised tooted ja teenused tagavad proovide ning tulemuste hea kvaliteedi.

QIAGEN loob standardid järgmistes valdkondades.

- DNA, RNA ja valkude puhastamine
- Nukleiinhapete ja valkude analüüs
- microRNA uurimine ja RNA interferents
- Proovivõtu- ja analüüsimeetodite automatiseerimine

Meie eesmärk on aidata teil saavutada edu ja läbimurdeid. Lisateabe saamiseks külastage veebilehte www.qiagen.com.

Sisukord

1. Komplekti sisu	4
2. Säilitamine	4
3. Vajalikud lisamaterjalid ja -seadmed	5
4. Üldised ettevaatusabinõud	5
5. Patogeeni kirjeldus	5
6. Reaalaja PCR-i põhimõte	6
7. Tootekirjeldus	6
8. Protokoll	7
8.1 DNA eraldamine	7
8.2 Sisemine kontroll	9
8.3 Kvantifitseerimine	10
8.4 PCR-analüüsi ettevalmistamine	11
9. Andmeanalüüs	17
10. Tõrkeotsing	21
11. Tehnilised andmed	23
11.1 Analüütiline tundlikkus	23
11.2 Spetsiifilisus	24
11.3 Täpsus	25
11.4 Robustsus	29
11.5 Taastatavus	29
11.6 Diagnostiline hindamine	29
12. Toote kasutuspiirangud	30
13. Ohutusteave	30
14. Kvaliteedikontroll	30
15. Viited	30
16 Sümbolite seletus	31

Komplekt artus HSV-1/2 LC PCR Kit

Kasutamiseks koos *LightCycleri* seadmega.

1. Komplekti sisu

	Märgistus ja pakendi sisu	Art nr 4500063 24 reaktsiooni	Art nr 4500065 96 reaktsiooni
Sinine	HSV LC Master	2 x 12 rxns	8 x 12 rxns
Punane	HSV1 LC/RG/TM QS 1 [⌘] 1 x 10 ⁴ koopiat/μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Punane	HSV1 LC/RG/TM QS 2 [⌘] 1 x 10 ³ koopiat /μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Punane	HSV1 LC/RG/TM QS 3 [⌘] 1 x 10 ² koopiat /μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Punane	HSV1 LC/RG/TM QS 4 [⌘] 1 x 10 ¹ koopiat /μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Punane	HSV2 LC/RG/TM QS 1 [⌘] 1 x 10 ⁴ koopiat /μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Punane	HSV2 LC/RG/TM QS 2 [⌘] 1 x 10 ³ koopiat /μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Punane	HSV2 LC/RG/TM QS 3 [⌘] 1 x 10 ² koopiat /μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Punane	HSV2 LC/RG/TM QS 4 [⌘] 1 x 10 ¹ koopiat /μl	1 x 200 μl	1 x 200 μl
Roheline	HSV LC IC	1 x 1,000 μl	2 x 1,000 μl
Valge	Water (PCR grade) (PCR-i kvaliteediga vesi)	1 x 1,000 μl	1 x 1,000 μl

⌘ QS = kvantitatiivne standard
IC = sisemine kontroll

2. Säilitamine

Säilitage *artus HSV-1/2 LC PCR Kiti* komponente temperatuuril –15 °C kuni –30 °C, need säilitavad stabiilsuse kuni etiketil näidatud aegumiskuupäevani. Vältige korduvat sulatamist ja külmutamist (> 2 x), sest reagendi tundlikkus võib väheneda. Kui reagente kasutatakse vaid aeg-ajalt, külmutage nad

alikuootidena. Reagente võib +4 °C kraadi juures hoida maksimaalselt viis tundi.

3. Vajalikud lisamaterjalid ja -seadmed

- Ühekordselt kasutatavad pulbrivabad kindad
- DNA eraldamise komplekt (vt 8.1 DNA eraldamine)
- Pipetid (reguleeritavad)
- Steriilsed filtritega pipetiotsikud
- Keerissegur
- Lauatsentrifuug koos rootoriga 2 ml reaktsioonikatsutite jaoks
- *Color Compensation Set* (Roche Diagnostics, kataloogi nr 2 158 850) *Crosstalk Color Compensation* faili installimiseks
- *LightCycleri* kapillaarid (20 µl)
- *LightCycler Cooling Block* (jahutusplokk)
- *LightCycleri* seade
- *LightCycler Capping Tool* (korkimisvahend)

4. Üldised ettevaatusabinõud

Kasutaja peab alati pöörama tähelepanu järgmisele.

- Kasutage filtritega pipetiotsikuid.
- Säilitage ja ekstraheerige positiivne materjal (proovid, kontrollid ja amplikonid) kõigist teistest reagentidest eraldi ja lisage nad reaktsioonisegule eraldi ruumiosas (eelistatavalt eraldi ruumis).
- Sulatage enne analüüsi alustamist kõik komponendid täielikult toatemperatuuril.
- Segage ülessulanud komponente ja tsentrifuugige lühidalt.
- Töötage kiirelt, kasutades jääd või *LightCycleri* jahutusplokki.

5. Patogeeni kirjeldus

Lihtherpesviirus (HSV) esineb haavavedelikus, süljes ja tupeeritises. Ülekandumine toimub peamiselt otsese kontakti kaudu haavadega või seksuaalvahekorra kaudu, samuti perinataalselt. HSV positiivsete juhtude tunnuseks on üldjuhul naha- ja limaskestade haavandid suus ja suguelunditel. HSV-ga nakatumine võib olla esmane (> 90% neist juhtudest on asümptomaatilised) või korduv (teisene). Esmane HSV-1 infektsioon võib põhjustada muuhulgas igeme-suupõletikku, herpeetilist ekseemi,

keratokonjunktiviiti ja entsefaliiti; esmane HSV-2 infektsioon võib väljenduda muuhulgas vulvovaginiidi, meningiidi ja vastsündinu generaliseerunud herpesena. Teisele nakatumise esmased sümptomid on nahahaavandid ninas, suus ja suguelundite piirkonnas. Veelgi raskekujulisemad on keratokonjunktiviidi ja meningiidi korduvad vormid.

6. Reaalaja PCR-i põhimõte

Patogeeni kindlaksmääramine polümeraasi ahelreaktsiooni (PCR) abil põhineb patogeeni genoomi spetsiifiliste piirkondade amplifitseerimisel. Reaalaja PCR-iga tuvastatakse amplifitseeritud produkt fluorestsentsvärvide abil. Need on harilikult seotud oligonukleotiidsondidele, mis seonduvad spetsiifiliselt amplifitseeritud produktile. Fluorestsentsi intensiivsuse jälgimine PCR-i tööseeria jooksul (s.o reaalajas) võimaldab akumulereeruvat produkti tuvastada ja kvantifitseerida, ilma et peaks reaktsioonikatsuteid pärast PCR-i uuesti avama (Mackay, 2004).

7. Tootekirjeldus

Komplekt *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit kujutab endast kasutusvalmis süsteemi 1. ja 2. tüüpi lihtherpesviiruse tuvastamiseks ja eristamiseks, kasutades polümeraasi ahelreaktsiooni (PCR), millele järgneb sulamiskõvera analüüs *LightCycleri* seadme abil. *HSV LC Master* sisaldab reagente ja ensüüme lihtherpesviiruse genoomi 148 ap pikkuse piirkonna spetsiifiliseks amplifitseerimiseks ja spetsiifilise amplikoni otseseks tuvastamiseks *LightCycleri* seadme fluorimeetri F2 kanalis. Lisaks sisaldab komplekt *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit täiendavat heteroloogset amplifikatsioonisüsteemi võimaliku PCR-i pärssumise kindlakstegemiseks. See tuvastatakse fluorimeetri F3 kanalis kui *sisemine kontroll* (IC). Analüütilise HSV PCR-i avastamispiir (vt 11.1 Analüütiline tundlikkus) ei vähene. Kahe alatüübi eristamine teineteisest toimub selles süsteemis sondide spetsiifiliste sulamistemperatuuride põhjal. Sulamiskõvera etapis tuvastatakse signaal fluorimeetri F2 kanalis HSV-1 puhul 69 °C ja HSV-2 puhul 66 °C juures. Sõltuvalt erinevatest ekstraktsioonitingimustest ja nende vastavatest puhvertingimustest tulenevalt võivad need näitajad 1–2 °C piires kõikuda, kuid kõrvalekalle on mõlema alatüübi puhul sama. Komplekti kuuluvad positiivsed kontrollid (*HSV1 LC/RG/TM QS 1–4* ja *HSV2 LC/RG/TM QS 1–4*) võimaldavad tuvastada patogeeni nakkusastet. Täpsema teabe saamiseks lugege peatükki 8.3 Kvantifitseerimine.

Tähelepanu! Komplekti *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit abil HSV-1 ja HSV-2 tuvastamise temperatuuriprofiil vastab komplektide *artus* EBV LC PCR Kit, *artus* VZV LC PCR Kit ja *artus* CMV LC PCR Kit profiilidele. Seetõttu võib neid *artus*-süsteemi PCR-uuringuid läbi viia ja analüüsida korraka. Palun järgige PCR-analüüsi kohta käivaid soovitusi peatükkides 8.3 Kvantifitseerimine ja 9. Andmeanalüüs.

8. Protokoll

8.1 DNA eraldamine

DNA eraldamise komplekte pakuvad erinevad tootjad. DNA eraldamise protseduuriks vajaliku proovi suurus sõltub kasutatavast meetodist. Palun eraldage DNA proovist komplekti tootja juhiste kohaselt. Soovitame järgnevaid nukleiinhappe (nh) eraldamise komplekte.

Proovi-materjal	Nh eraldamise komplekt	Kataloogi number	Tootja	Kandur-RNA
Seerum, plasma, CSF, vatitükid	QIAamp [®] UltraSens [®] Virus Kit (50)	53 704	QIAGEN	kuulub komplekti
	QIAamp DNA Mini Kit (50)	51 304	QIAGEN	ei kuulu komplekti
CSF	EZ1 [®] DSP Virus Kit (48)*	62 724	QIAGEN	kuulub komplekti

*Kasutamiseks kombineeritult BioRobot[®] EZ1 DSP Workstationiga (kataloogi nr 9001360) ja viiruskaardiga EZ1 DSP Virus Card (kataloogi nr 9017707).

Tähtis märkus komplektide QIAamp UltraSens Virus Kit ja QIAamp DNA Mini Kit kasutajatele.

- Ekstraheerimise tõhusus ja seega ka saadava DNA/RNA hulk sõltub suurel määral kandur-RNA kasutamisest. Kui valitud nh eraldamise komplekt ei sisalda kandur-RNA-d, soovitame rakuvabadest kehavedelikest ja väikese DNA/RNA sisaldusega materjalist (nt CSF) nukleiinhapete eraldamiseks kasutada lisaks kandurit (RNA-Homopolymer Poly(A), Amersham Biosciences, kataloogi nr 27-4110-01) järgmiselt.
 - a) Resuspendeerige lüofiliseeritud kandur-RNA ekstraktsioonikomplekti elueerimispuhvrts (nt AE puhver komplektist QIAamp DNA Mini Kit) (ärge kasutage lüüsi puhvrit) ja valmistage lahus kontsentratsiooniga 1 µg/µl. Jagage see kandur-RNA lahus nii mitmeks alikvoodiks, kui vajalikuks peate, ja säilitage alikvoote -20 °C juures. Vältige kandur-RNA alikvootide korduvat ülessulatamist (> 2 x).
 - b) Kasutage 1 µg kandur-RNA-d 100 µl lüüsi puhvri kohta. Näiteks kui ekstraktsiooniprotokollis on ette nähtud 200 µl lüüsi puhvrit, lisage 2 µl kandur-RNA-d (1 µg/µl) otse lüüsi puhvrtsse. Enne iga ekstraktsiooniprotsessi alustamist tuleb värskelt ette valmistada lüüsi puhvri ja kandur-RNA (ja sisemise kontrolli, kui on asjakohane, vt 8.2 Sisemine kontroll) segu järgneva pipeteerimisskeemi kohaselt.

Proovide arv	1	12
Lüüsi puhver	nt 200 µl	nt 2400 µl
Kandur-RNA (1 µg/µl)	2 µl	24 µl
Kogumaht	202 µl	2424 µl
Maht ekstraksiooni kohta	200 µl iga	200 µl

c) Ekstraksiooniks kasutage värskelt valmistatud lüüsi puhvri ja kandur-RNA segu viivitamata. Segu ei säili.

- Ekstraheerimise tõhusus ja seega ka saadava DNA/RNA hulk sõltub olulisel määral kandur-RNA kasutamisest. QIAamp UltraSens Virus Kit komplekti kuuluva kandur-RNA stabiilsuse suurendamiseks soovitame järgmist protseduuri, mis erineb ekstraksioonikomplekti kasutusjuhendis välja toodust:

d) Resuspendeerige lüofiliseeritud kandur-RNA enne ekstraksiooni-komplekti esimest kasutuskorda 310 µl komplekti kuuluvas elueerimis-puhvris (lõppkontsentratsioon 1 µg/µl, ärge kasutage lüüsi puhvrit). Jagage see kandur-RNA lahus nii mitmeks alikvoodiks kui vajalikuks peate ja säilitage alikvoote -20 °C juures. Vältige kandur-RNA alikvootide korduvat ülessulatamist (> 2 x).

e) Enne iga ekstraksiooni alustamist tuleb värskelt ette valmistada lüüsi puhvri ja kandur-RNA (ja *sisemise kontrolli*, kui on asjakohane, vt. 8.2 *Sisemine kontroll*) segu järgneva pipeteerimisskeemi kohaselt.

Proovide arv	1	12
Lüüsi puhver AC	800 µl	9600 µl
Kandur-RNA (1 µg/µl)	5,6 µl	67,2 µl
Kogumaht	805,6 µl	9667,2 µl
Maht ekstraksiooni kohta	800 µl iga	800 µl

f) Ekstraksiooniks kasutage värskelt valmistatud lüüsi puhvri ja kandur-RNA segu viivitamata. Segu ei säili.

- Suurima tundlikkuse saavutamiseks komplektiga *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit soovitame elueerida DNA 50 µl elueerimispuhvris.
- Komplekt **QIAamp UltraSens Virus Kit** võimaldab proovi kontsentratsiooni suurendada. Kasutades muud proovimaterjali kui seerum või plasma, lisage proovile vähemalt 50% (v/v) negatiivset inimese plasmat.

- Eraldamisprotokollide puhul, kus on ette nähtud **etanooli**sisaldusega pesupuhvrite kasutamine, tuleb võimalike etanoolijääkide eemaldamiseks proovi enne elueerimist lisaks veel üks kord tsentrifuugida (kolm minutit, 13 000 rpm). Sellega välditakse võimalikku PCR-i pärssumist.
- Ärge kasutage komplekti *artus HSV-1/2 LC PCR Kiti* koos **fenooli**põhiste eraldamismeetoditega.

Tähtis märkus komplekti **EZ1 DSP Virus Kit** kasutajatele.

- Ekstraktsiooni tõhusus ja seega ka saadava DNA/RNA hulk sõltub suurel määral **kandur-RNA** kasutamisest. Lisage sobiv kogus kandur-RNA-d igale ekstraktsioonile, järgides komplekti *EZ1 DSP Virus Kit* käsiraamatu juhiseid.

Tähtis! Komplekti *artus HSV-1/2 LC PCR Kit* *sisemist kontrolli* võib kasutada vahetult eraldamise protseduuris (vt 8.2 *Sisemine kontroll*).

8.2 Sisemine kontroll

Komplekti kuulub *sisemine kontroll* (HSV LC IC). See võimaldab kasutajal **kontrollida nii DNA eraldamise protseduuri kui ka võimalikku PCR-i pärssumist** (vt joonis 1). Kasutades ekstraktsiooniks komplekti **EZ1 DSP Virus Kit**, tuleb *sisemine kontroll* lisada, järgides *EZ1 DSP Virus Kiti* käsiraamatu juhiseid. Kasutades komplekti **QIAamp UltraSens Virus Kit** või **QIAamp DNA Mini Kit**, lisage *sisemine kontroll* eraldamisreaktsioonile vahekorras 0,1 µl / 1 µl elueerimismahu kohta. Näiteks kasutades komplekti QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN), elueeritakse DNA 50 µl AE puhvril. Seega tuleb esialgu lisada 5 µl *sisemist kontrolli*. *Sisemise kontrolli* kogus sõltub **üksnes** elueerimismahust. *Sisemise kontrolli* ja kandur-RNA (vt 8.1. DNA eraldamine) võib lisada üksnes

- lüüsipuhvri ja proovimaterjali segule või
- otse lüüsipuhvrile.

Sisemist kontrolli ei tohi lisada otse proovimaterjalile. Lüüsipuhvrile lisamisel pidage silmas, et *sisemise kontrolli* ja lüüsipuhvri / kandur-RNA segu tuleb valmistada värskelt ning kasutada kohe (vaid mõni tund toatemperatuuril või külmikus hoidmist võib viia *sisemise kontrolli* ebaõnnestumiseni ja vähendada ekstraktsiooni tõhusust). *Sisemist kontrolli* ja kandur-RNA-d ei tohi lisada otse proovimaterjalile.

Sisemist kontrolli võib vajaduse korral kasutada ka **võimaliku PCR-i pärssumise kontrollimiseks** (vt joonis 2). Selleks lisage *sisemist kontrolli* 0,5 µl reaktsiooni kohta otse 15 µl reagendile *HSV LC Master*. Iga PCR-i reaktsiooni kohta kasutage 15 µl põhisegu (*master mix*), mis on valmistatud eespool

kirjeldatud viisil¹, ja lisage 5 µl puhastatud proovi. Kui te valmistate ette PCR-i tööseeriat mitme prooviga, suurendage *HSV LC Masteri* ja *sisemise kontrolli* mahtu proovide arvu järgi (vt 8.4 PCR-analüüsi ettevalmistamine).

Komplektid *artus HSV-1/2 LC PCR Kit* ja *artus VZV LC PCR Kit* sisaldavad identset *sisemist kontrolli* (IC). Ka komplektid *artus EBV LC PCR Kit* ja *artus CMV LC PCR Kit* sisaldavad identset *sisemist kontrolli*.

8.3 Kvantifitseerimine

Lisatud *kvantitatiivseid standardeid* (*HSV1 LC/RG/TM QS 1–4* ja *HSV2 LC/RG/TM QS 1–4*) käsitletakse samamoodi ja samas mahus (5 µl) kui varem puhastatud proove. Standardkövera loomiseks *LightCycleri* seadmel kasutage nii HSV-1 kui ka HSV-2 kõiki nelja *kvantitatiivset standardit*, defineerige need *Sample Loading Screenil* (Proovi laadimise vaade) kui standardid ja sisestage ettenähtud kontsentratsioonid (vt *LightCycler Operator's Manual*, versioon 3.5, ptk B, 2.4. Sample Data Entry). Sel viisil loodud standardköverat võib kasutada järgnevate tööseeriatega juures eeldusel, et tööseerias kasutatakse vähemalt ühte antud kontsentratsiooniga standardit. Selleks tuleb importida enne loodud standardkövera (vt *LightCycler Operator's Manual*, versioon 3.5, ptk B, 4.2.5. Quantitation with an External Standard Curve). See kvantifitseerimismeetod võib aga erinevate PCR-i tööseeriatega varieeruvuse tõttu põhjustada hälbeid tulemustes.

Kui te integreerisite PCR-analüüsi enam kui ühe Herpes *artuse* süsteemi, tuleb neid erinevaid süsteeme analüüsida eraldi, kasutades vastavaid kvantitatiivseid standardeid.

Tähelepanu! *Kvantitatiivsed standardid* on defineeritud suhtarvuna koopiat/µl. Standardkövera abil määratud väärtuste konverteerimiseks nii, et neid saaks esitada suhtarvuna koopiat/ml proovimaterjali kohta, sobib järgnev valem.

$$\text{Tulemus (koopiat/ml)} = \frac{\text{Tulemus (koopiat/}\mu\text{l)} \times \text{elueerimismaht (}\mu\text{l)}}{\text{Proovi maht (ml)}}$$

Arvestage, et ülaltoodud valemisse tuleb põhimõtteliselt sisestada algne proovi maht. Seda tuleb silmas pidada, kui proovi mahtu on muudetud enne nukleiinhappe ekstraheerimist (nt mahtu on tsentrifuugimise teel vähendatud või eraldamiseks vajamineva mahu saavutamiseks on proovi mahtu suurendatud).

¹*Sisemise kontrolli* lisamisest tingitud reaktsioonisegu mahu suurenemine ei ole PCR-analüüsi ettevalmistamisel tähtis. Tuvastussüsteemi tundlikkus sellest ei vähene.

Tähtis! *LightCycleri* seadme *artus*-süsteemide kvantitatiivse analüüsi juhend on saadaval veebilehel www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX (**Technical Note for quantitation on the *LightCycler* 1.1/1.2/1.5 or *LightCycler* 2.0 Instrument**).

8.4 PCR-analüüsi ettevalmistamine

Veenduge, et jahutusplokk ja kapillaaride adapterid (*LightCycleri* seadme tarvikud) on eeljahutatud +4 °C kraadini. Asetage soovitud arv *LightCycleri* kapillaare jahutusploki adapteritesse. Veenduge, et iga PCR-i tööseria kohta on kaasatud vähemalt üks kvantitatiivne standard (*HSV1 LC/RG/TM QS 1–4* ja *HSV2 LC/RG/TM QS 1–4*) ja üks negatiivne kontroll (*Water, PCR grade* – PCR-i kvaliteediga vesi). Kasutage igas PCR-i tööserias kõiki kvantitatiivseid standardeid (*HSV1 LC/RG/TM QS 1–4* ja *HSV2 LC/RG/TM QS 1–4*). Enne igat kasutamist tuleb kõik reagentid täielikult üles sulatada, segada (korduva üles-alla pipeteerimise või kiire keeristamise teel) ja lühiajaliselt tsentrifuugida.

Kui te soovite kasutada *sisemist kontrolli*, **et lisaks DNA eraldamise protseduuri jälgimisele kontrollida ka võimalikku PCR-i pärssumist**, siis tuleb see lisada juba eraldamisel (vt 8.2 *Sisemine kontroll*). Sellisel juhul järgige alltoodud pipeteerimisskeemi (ülevaatlikku skeemi vt joonis 1).

	Proovide arv	1	12
1. Põhisegu (master mix) ettevalmistamine	<i>HSV LC Master</i>	15 µl	180 µl
	<i>HSV LC IC</i>	0 µl	0 µl
	Kogumaht	15 µl	180 µl
2. PCR-analüüsi ettevalmistamine	Põhisegu	15 µl	15 µl iga
	Proov	5 µl	5 µl iga
	Kogumaht	20 µl	20 µl iga

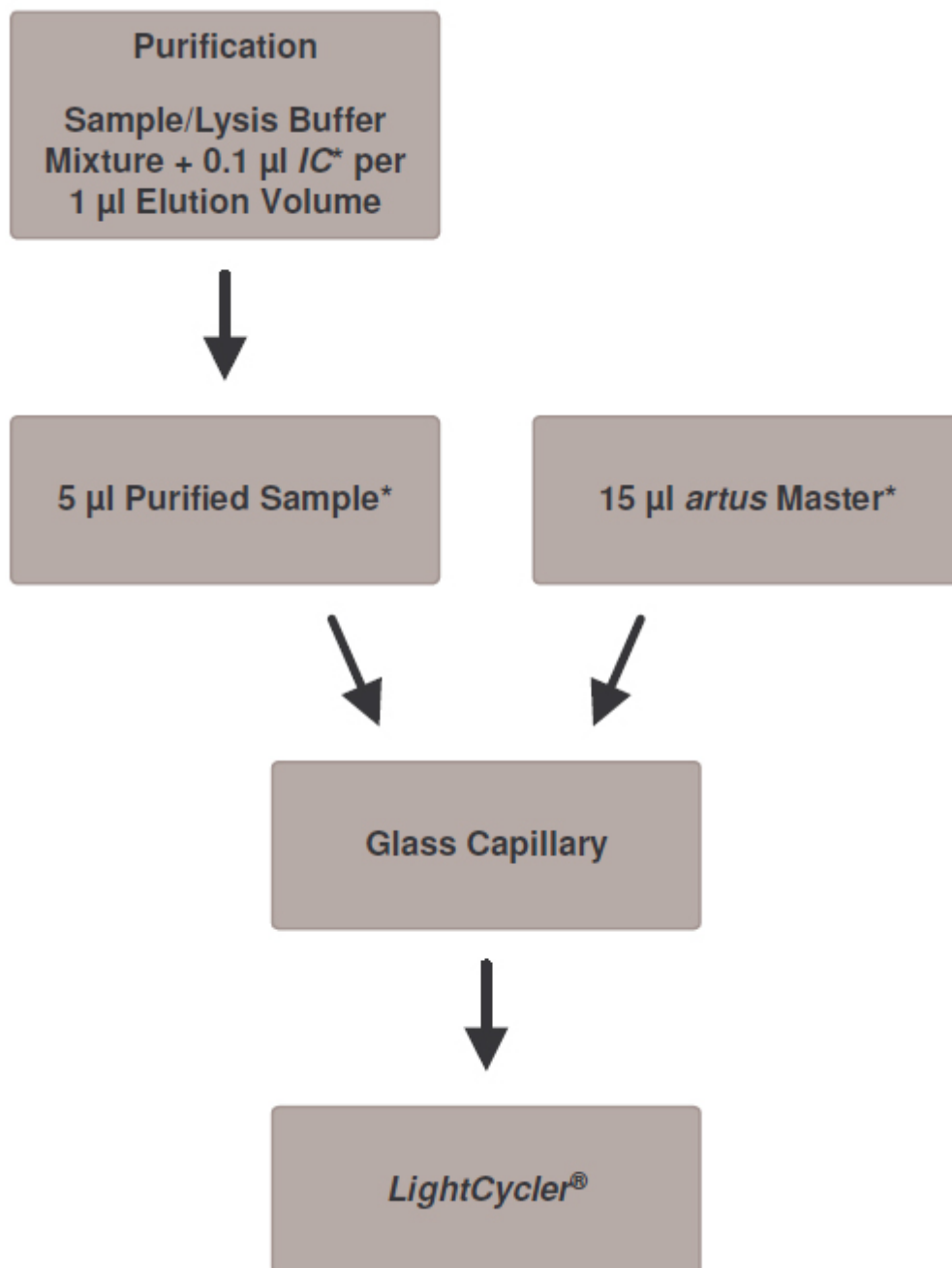
Kui te soovite kasutada sisemist kontrolli **üksnes selleks, et kontrollida võimalikku PCR-i pärssumist**, siis tuleb see lisada otse reagendile *HSV LC Master*. Sellisel juhul järgige alltoodud pipeteerimisskeemi (ülevaatlikku skeemi vt joonisel 2):

	Proovide arv	1	12
1. Põhisegu (master mix) ettevalmistamine	<i>HSV LC Master</i>	15 µl	180 µl
	<i>HSV LC IC</i>	0,5 µl	6 µl
	Kogumaht	15,5 µl*	186 µl*
2. PCR-analüüsi ettevalmistamine	Master Mix	15 µl*	15 µl iga
	Proov	5 µl	5 µl iga
	Kogumaht	20 µl	20 µl iga

* *Sisemise kontrolli* lisamisest tingitud reaktsioonisegu mahu suurenemine ei ole PCR-analüüsi ettevalmistamisel tähtis. Tuvastussüsteemi tundlikkus ei vähene.

Pipeteerige 15 µl põhisegu iga kapillaari plastist reservuaari. Seejärel lisage 5 µl elueeritud proovi DNA-d. Kasutage positiivse kontrollina vastavalt 5 µl vähemalt ühte kvantitatiivset standardit (*HSV1 LC/RG/TM QS 1–4* ja *HSV2 LC/RG/TM QS 1–4*) ja negatiivse kontrollina 5 µl PCR-kvaliteediga vett (*Water, PCR grade*). Sulgege kapillaarid. Segu liikumiseks plastreservuaarist kapillaari tsentrifuugige kapillaare sisaldavaid adaptereid lauatsentrifuugis kümme sekundit kiirusel maksimaalselt 400 x g (2000 rpm).

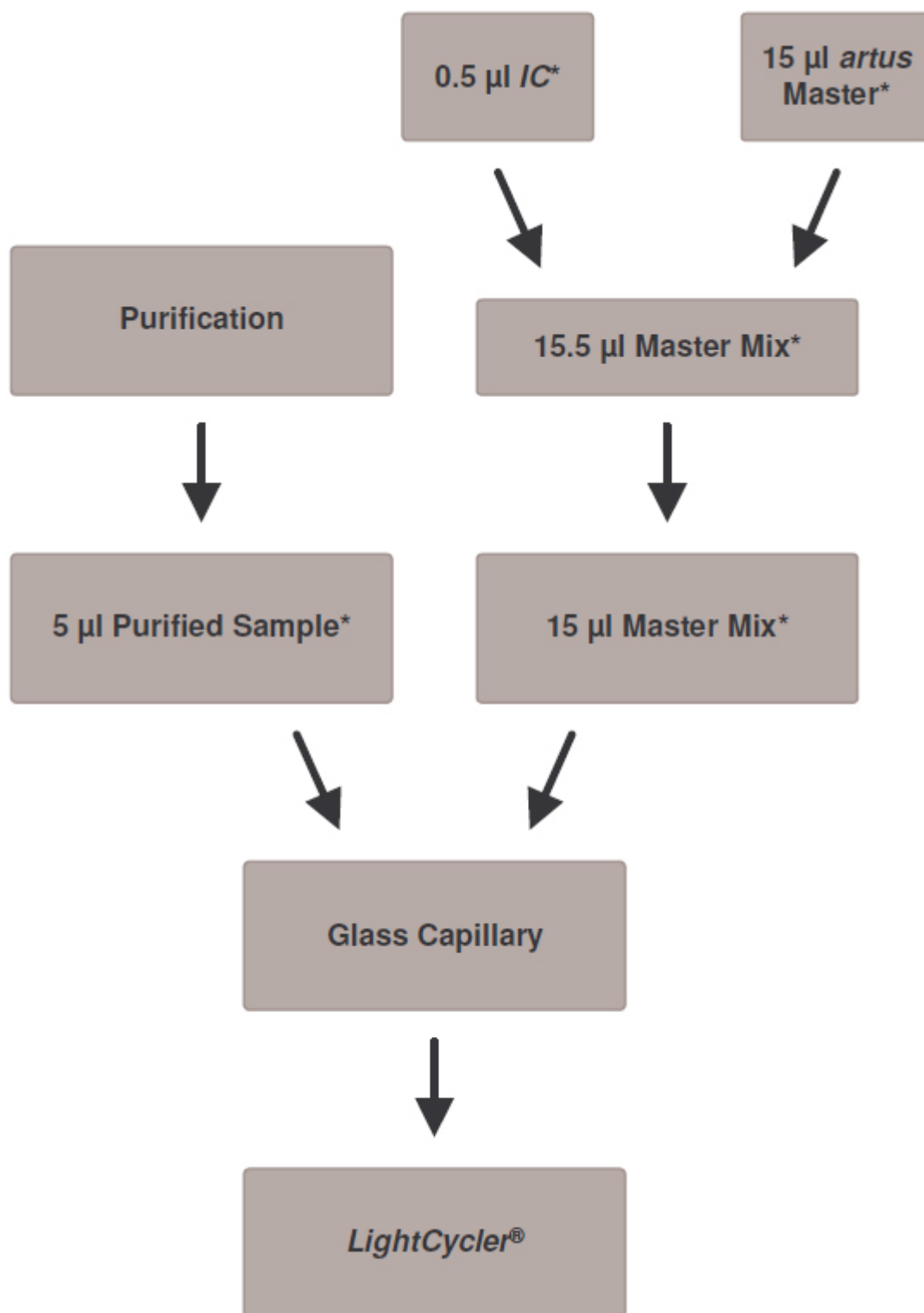
Sisemise kontrolli lisamine puhastamisprotseduuris.



Joonis 1. Töövo skeem puhastamisprotseduuri ja PCR-i pärssumise kontrolliks.

* Veenduge, et kõik lahused on täielikult üles sulanud, hoolikalt segatud ja lühiajaliselt tseentrifuugitud.

Sisemise kontrolli lisamine reagendile *artus* Master.



Joonis 2. Töövo skeem PCR-i pärssumise kontrolliks.

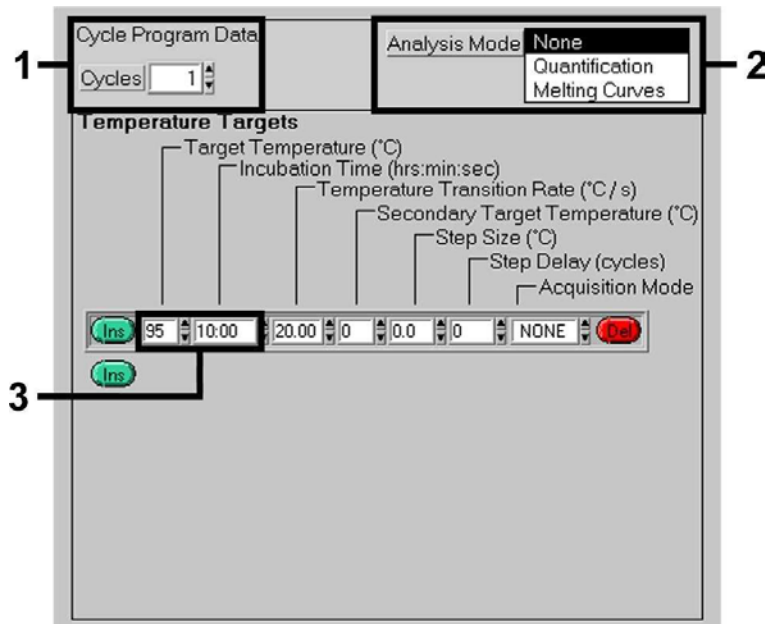
* Veenduge, et kõik lahused on täielikult üles sulanud, hoolikalt segatud ja lühiajaliselt tseentrifuugitud.

8.5 Seadme *LightCycler* programmeerimine

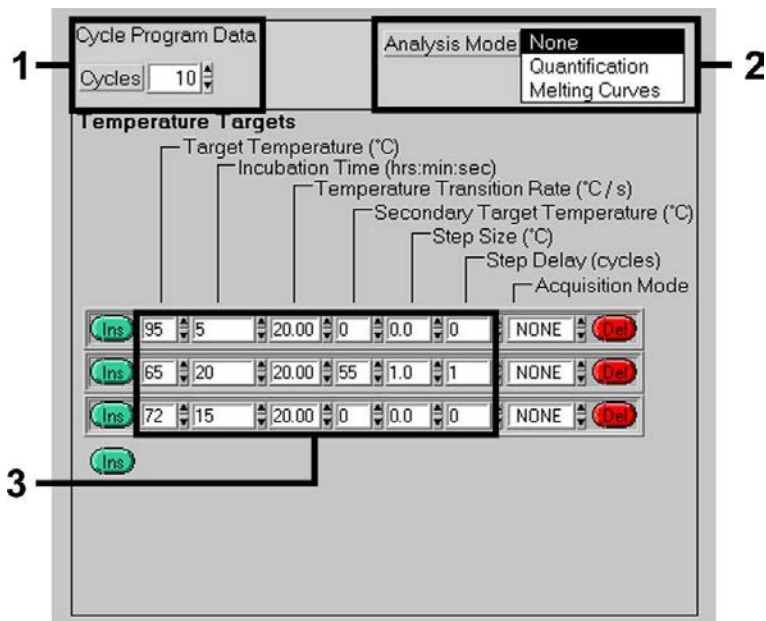
Lihtherpesviiruse DNA tuvastamiseks looge oma LightCycleri seadmel temperatuuriprofiil järgneva viie punkti kohaselt (vt joonised 3 – 7).

- A. Hot-starti ensüümi algne aktiveerimine, joonis 3
- B. Touchdowni etapp, joonis 4
- C. DNA amplifitseerimine, joonis 5
- D. Sulamiskõver, joonis 6
- E. Jahutamine, joonis 7.

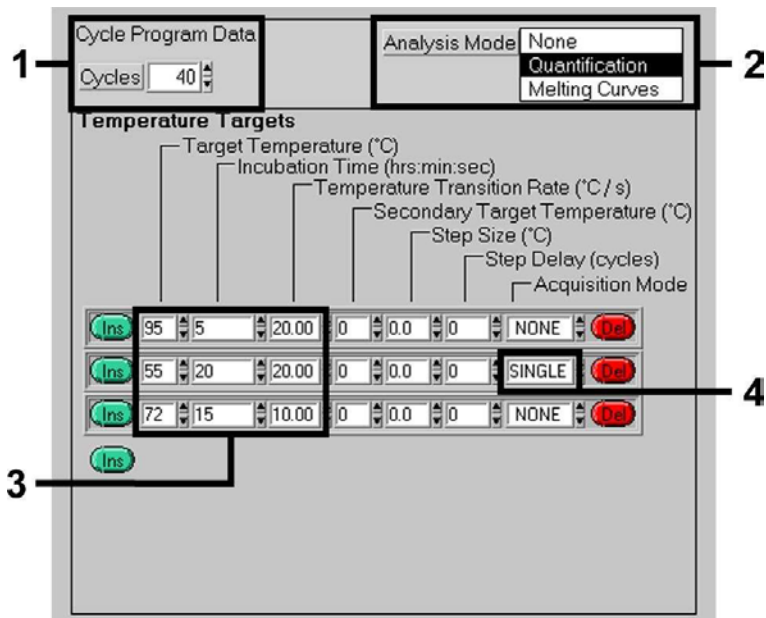
Pöörake erilist tähelepanu seadetele *Analysis Mode* (Analüüsirežiim), *Cycle Program Data* (Tsükli programmi andmed) ja *Temperature Targets* (Temperatuuri sihtmärgid). Need seaded on joonisel jämeda musta raamiga esile toodud. Lisateavet *LightCycleri* seadme programmeerimise kohta leiate seadme kasutusjuhendist *LightCycler Operator's Manual*.



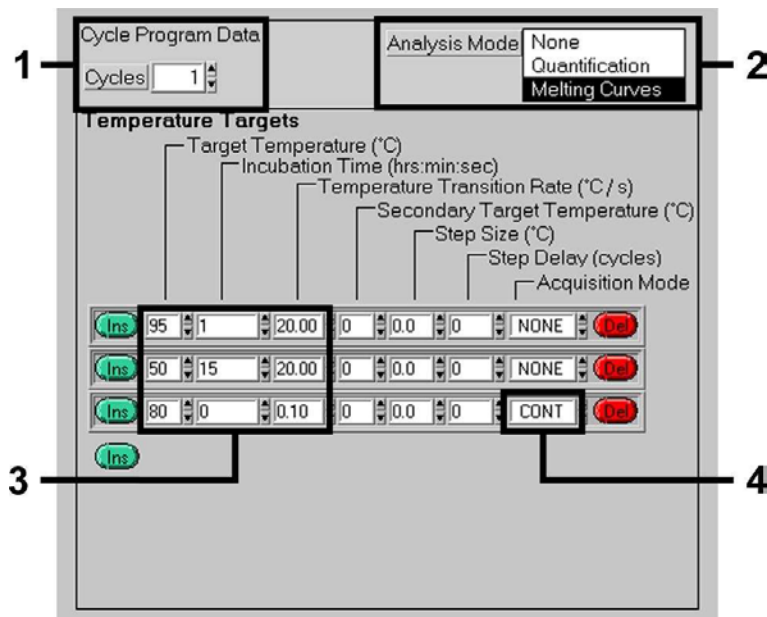
Joonis 3. Hot-starti ensüümi algne aktiveerimine.



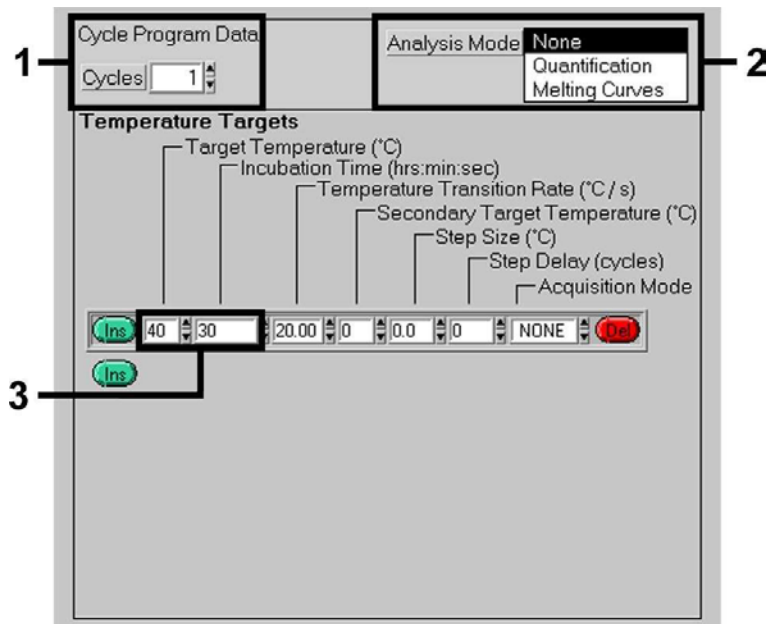
Joonis 4. Touchdowni etapp.



Joonis 5. DNA amplifitseerimine



Joonis 6. Sulamisköver.



Joonis 7. Jahutamine.

9. Andmeanalüüs

Mitmevärvilise analüüsi korral tekib fluorimeetris kanalite vaheline interferents. *LightCycleri* seadme tarkvara sisaldab nende interferentside kompenseerimiseks faili *Color Compensation File* (Värvuse kompenseerimise fail). Avage see fail enne PCR-i, selle ajal või lõpus, klõpsates nupul *Choose CCC File* (Vali CCC fail) või *Select CC Data* (Vali CC andmed). Kui *Color Compensation File* ei ole installitud, looge see fail kasutusjuhendi *LightCycler Operator's Manual* juhiste. Pärast faili *Color Compensation File* aktiveerimist ilmuvad fluorimeetri kanalites F1, F2 ja F3 eraldi signaalid. Komplekti *artus HSV-1/2 LC PCR Kit* abil saadud PCR-i tulemuste analüüsiks valige ekraanil vastavalt analüütilise HSV

PCR-i jaoks F2/Back-F1 ja *sisemise kontrolli* PCR-i jaoks F3/Back-F1. Kvantitatiivsete tööseeriade analüüsimiseks järgige juhiseid, mis on välja toodud peatükis 8.3 Kvantifitseerimine, ja tehnilises märkuses **kvantifitseerimise kohta seadmel *LightCycler 1.1/1.2/1.5* või *LightCycler 2.0* veebilehel www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX.**

Kui te integreerisite PCR-analüüsi enam kui ühe Herpes *artuse* süsteemi, analüüsige neid erinevaid süsteeme eraldi, kasutades vastavaid kvantitatiivseid standardeid. See kehtib ka kahe HSV alatüübi analüüsi kohta. HSV-1 proovide kvantifitseerimisel tuleb seega kasutada HSV-1 standardite (*HSV1 LC/RG/TM QS 1–4*) abil loodud standardkõverat ja HSV-2 puhul vastavalt HSV-2 standardite (*HSV2 LC/RG/TM QS 1–4*) abil loodud standardkõverat.

Võimalikud tulemused

1. Signaal fluorimeetri kanalis F2/Back-F1.

Analüüsi tulemus on positiivne: proov sisaldab HSV DNA-d.

Sellisel juhul pole signaali tuvastamine F3/Back-F1 kanalis vajalik, sest HSV DNA algsed suured kontsentratsioonid (positiivne signaal F2/Back-F1 kanalis) võivad põhjustada *sisemise kontrolli* fluorestsentssignaali vähenemist või kadu F3/Back-F1 kanalis (konkurents).

HSV-1 ja HSV-2 amplikonide vahel saab vahet teha sulamispunktide põhjal (kanal F2/Back-F1, programm *melting curve* (Sulamiskõver)); see peab olema 69 °C HSV-1 puhul ja 66 °C HSV-2 puhul. Sõltuvalt erinevatest ekstraktsioonitingimustest ja nende vastavatest puhvertingimustest võivad need näitajad 1–2 °C piires kõikuda, kuid kõrvalekalle on mõlema alatüübi puhul sama.

2. Signaal fluorimeetri kanalis F2/Back-F1 puudub. Samas on tuvastatav *sisemise kontrolli* signaal F3/Back-F1 kanalis.

HSV DNA ei ole proovis tuvastatav. Tulemust võib lugeda negatiivseks.

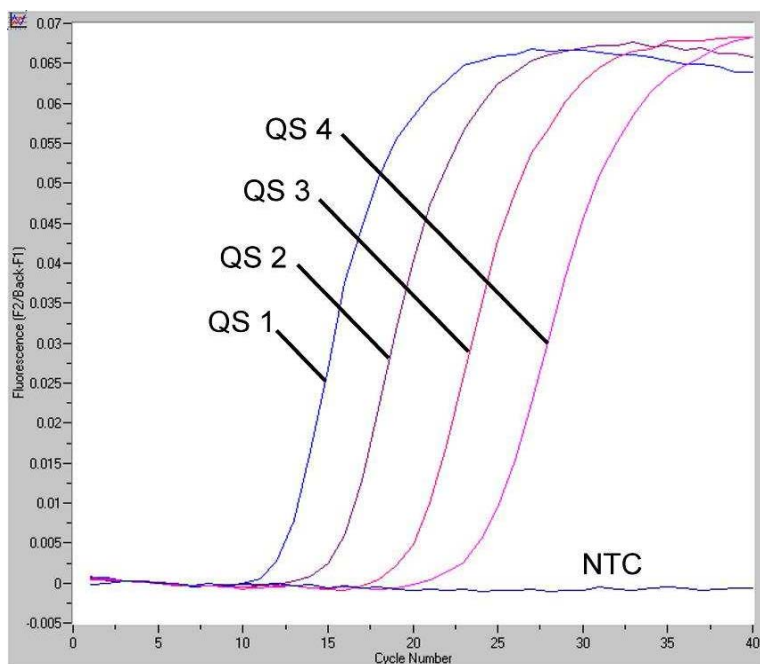
Negatiivse HSV PCR-i puhul välistab tuvastatud *sisemise kontrolli* signaal PCR-i pärssumise.

3. F2/Back-F1 ega F3/Back-F1 kanalis ei ole signaal tuvastatav.

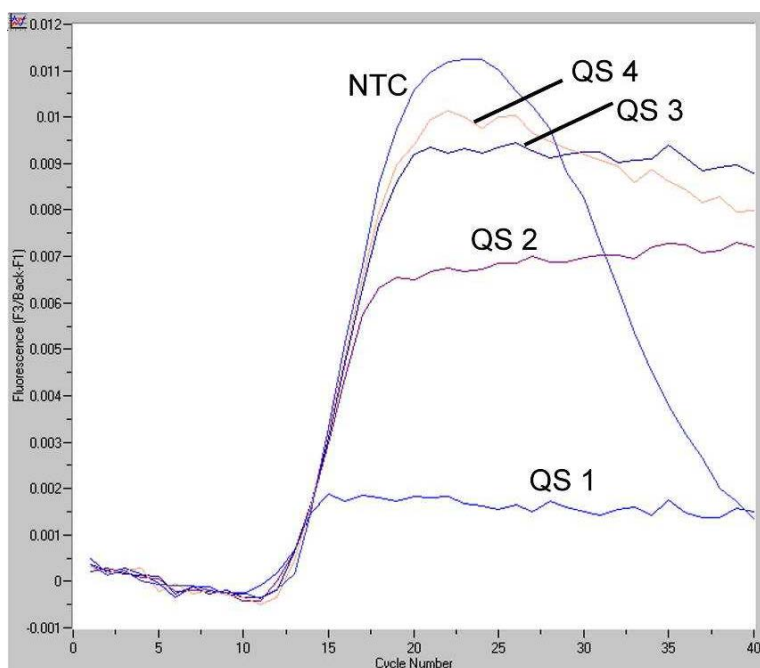
Diagnoosi ei ole võimalik määrata.

Teavet võimalike vigade allikate ja lahenduste kohta võib leida peatükis 10. Tõrkeotsing.

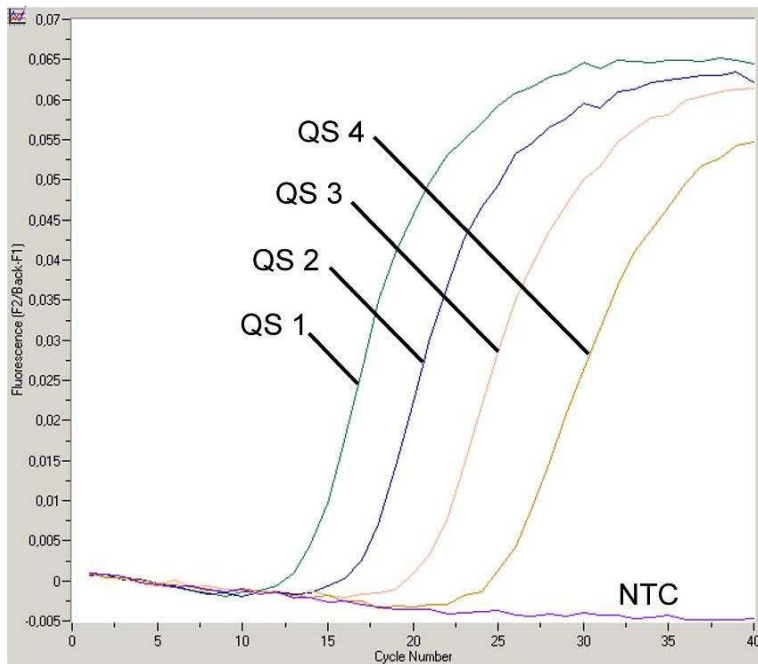
Vt näiteid positiivsete ja negatiivsete PCR-i reaktsioonide ning eristamisel kasutatavate sulamiskõverate kohta joonistel 8–12.



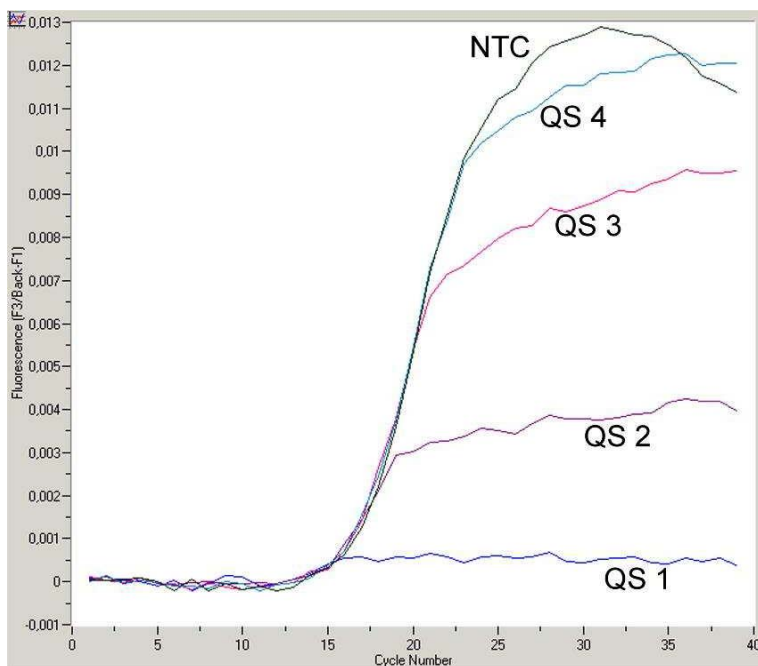
Joonis 8. Kvantitatiivsete standardite (HSV1 LC/RG/TM QS 1–4) tuvastamine fluorimeetri kanalis F2/Back-F1. NTC: nontemplate control (negatiivne kontroll).



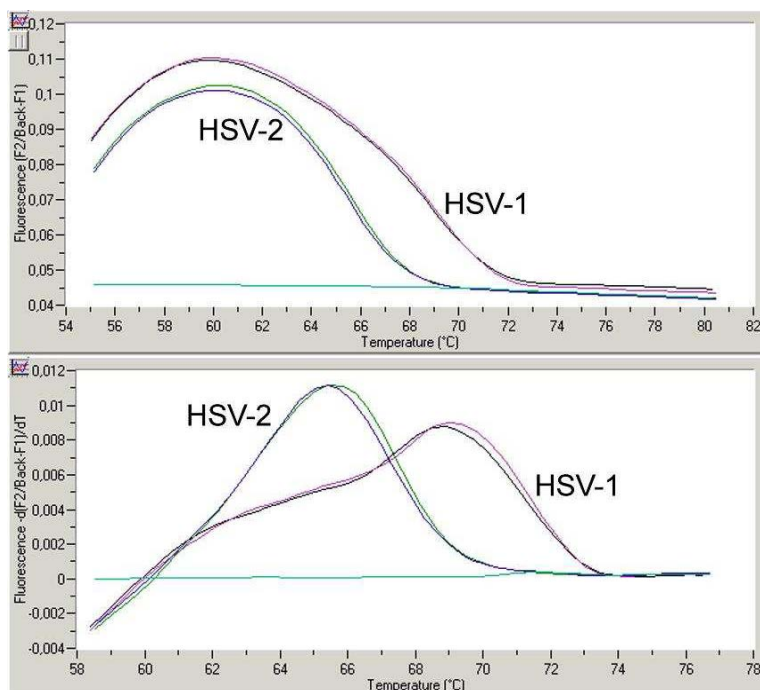
Joonis 9. Sisemise kontrolli (IC) tuvastamine fluorimeetri kanalis F3/Back-F1 ja samaaegne kvantitatiivsete standardite (HSV1 LC/RG/TM QS 1–4) amplifitseerimine. NTC: nontemplate control (negatiivne kontroll).



Joonis 10. Kvantitatiivsete standardite (HSV2 LC/RG/TM QS 1–4) tuvastamine fluorimeetri kanalis F2/Back-F1. NTC: nontemplate control (negatiivne kontroll).



Joonis 11. Sisemise kontrolli (IC) tuvastamine fluorimeetri kanalis F3/Back-F1 ja samaaegne kvantitatiivsete standardite (HSV2 LC/RG/) amplifitseerimine.



Joonis 12. HSV-1 ja HSV-2 eristamine fluorimeetri kanalil **F2/Back-F1** (Programm *Melting Curve* (Sulamisköver)).

10. Tõrkeotsing

Fluorimeetri kanalil F2/Back-F1 puudub positiivsete kontrollide (HSV1 LC/RG/TM QS 1–4 ja HSV2 LC/RG/TM QS 1–4) signaal.

- PCR-i andmeanalüüsiks valitud fluorimeetri kanal ei vasta protokollile.
 - ➔ Andmeanalüüsi tegemiseks valige analüütilise HSV PCR-i jaoks fluorimeetri kanal F2/Back-F1 ja sisemise kontrolli PCR-i jaoks F3/Back-F1.
- *LightCycleri* seadme temperatuuriprofiili ebakorrektnen programmeerimine.
 - ➔ Võrrelge temperatuuriprofiili protokolliga (vt 8.5 *LightCycleri* seadme programmeerimine).
- PCR-i ebakorrektnen konfiguratsioon.
 - ➔ Kontrollide punkthaaval üle oma töövoog, kas kõik vastab pipeteerimisskeemile (vt 8.4 PCR-i ettevalmistamine) ja vajaduse korral korrake PCR-i.
- Komplekti ühe või enama komponendi säilitamistingimused ei vasta peatükis 2. Säilitamine antud juhistele või on komplekt *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit aegunud.
 - ➔ Kontrollide säilitamistingimusi ja reagentide aegumistähtaega (vt komplekti etiketti) ning kasutage vajaduse korral uut komplekti.

Sisemise kontrolli signaal fluorimeetri kanalis F3/Back-F1 on nõrk või puudub ja samas puudub signaal kanalis F2/Back-F1.

- PCR-i tingimused ei vasta protokollile.
 - Kontrollige PCR-i tingimusi (vt eespoolt) ja vajaduse korral korrake PCR-i parandatud seadetega.
- PCR oli pärssunud.
 - Veenduge, et te kasutate soovitatud eraldamismeetodit (vt 8.1 DNA eraldamine) ja järgige täpselt tootja juhiseid.
 - Veenduge, et DNA eraldamise käigus tsentrifuugisite proovi enne elueerimist veel üks kord, et eemaldada võimalikud etanoolijäägid (nagu soovitatud peatükis 8.1 DNA eraldamine).
- DNA kadu ekstraksiooni käigus.
 - Kui ekstraksioonisegule on lisatud *sisemine kontroll*, viitab *sisemise kontrolli* signaali puudumine DNA kaole ekstraheerimise käigus. Veenduge, et te kasutate soovitatud eraldamismeetodit (vt 8.1 DNA eraldamine) ja järgige täpselt tootja juhiseid.
- Komplekti ühe või enama komponendi säilitamistingimused ei vasta peatükis 2. Säilitamine antud juhistele või on komplekt *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit aegunud.
 - Kontrollige säilitamistingimusi ja reagentide aegumistähtaega (vt komplekti etiketti) ning kasutage vajaduse korral uut komplekti.

Negatiivsete kontrollide signaalid analüütilise PCR-i fluorimeetri kanalis F2/Back-F1.

- PCR-i ettevalmistamine käigus toimus saastumine.
 - Korrake PCR-i uute reagentidega, paralleelproovidega.
 - Võimaluse korral sulgege PCR-i katsutid vahetult pärast analüüsitava proovi lisamist.
 - Pipeteerige positiivsed kontrollid alati viimasena.
 - Veenduge, et tööruume ja seadmeid puhastatakse saastusest korrapäraste ajavahemike tagant.
- Ekstraksiooni käigus toimus saastumine.
 - Korrake analüüsitava proovi ekstraksiooni ja PCR-i kasutades uusi reagente.
 - Veenduge, et tööruume ja seadmeid puhastatakse saastusest korrapäraste ajavahemike tagant.

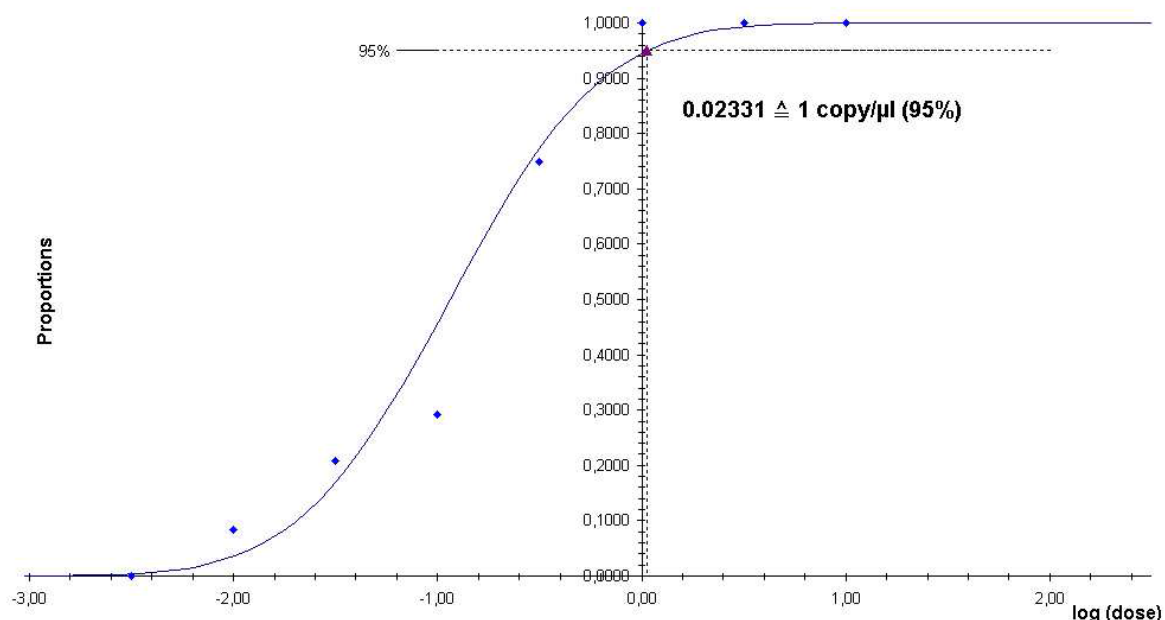
Kui teil on lisaküsimusi või esineb probleeme, võtke ühendust meie tehnilise toega.

11. Tehnilised andmed

11.1 Analüütiline tundlikkus

Komplekti *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit analüütilise tundlikkuse kindlakstegemiseks valmistati ette standardlahuste seeria vahemikus 31,6 kuni nominaalne 0,01 HSV-1 ja HSV-2 koopia ekvivalenti 2/μl ning tehti analüüs komplekti *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit abil. Katse viidi läbi kolmel erineval päeval kaheksa paralleelprooviga. Tulemused määrati kindlaks probitanalüüsi abil. Probitanalüüsi on kujutatud joonistel 13 ja 14. Komplekti *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit analüütiline avastamispiir on HSV-1 ja HSV-2 puhul püsivalt 1 koopia/μl ($p = 0,05$). See tähendab, et 1 koopia/μl tuvastatakse 95%-lise tõenäosusega.

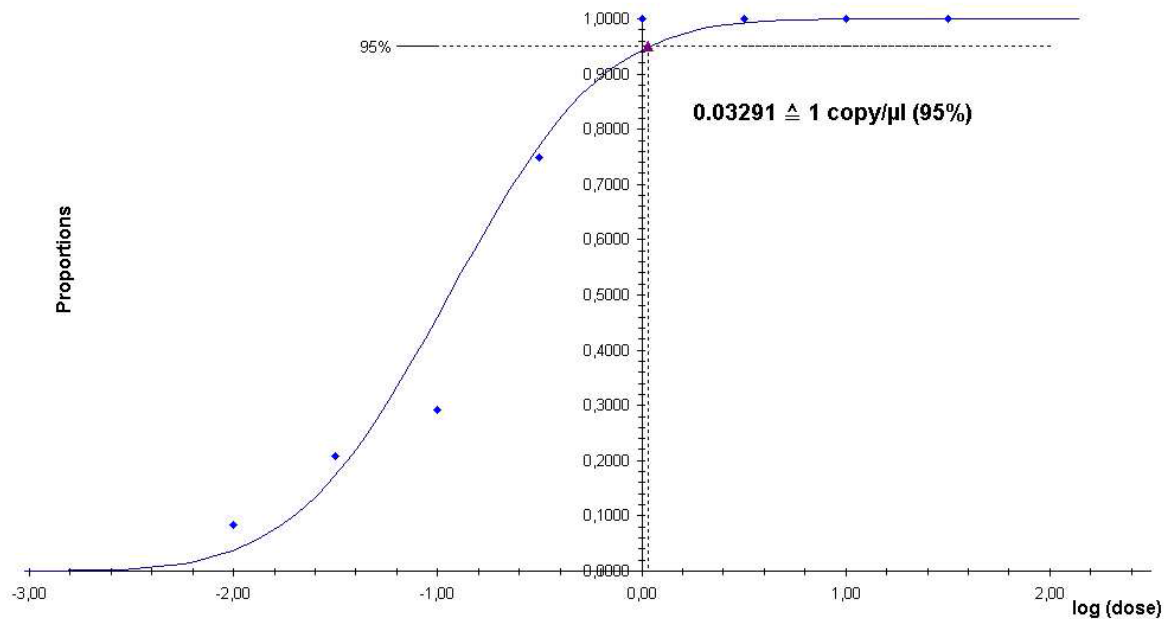
Probitanalüüs: lihtherpesviirus 1 (LightCycler)



Joonis 13. Komplekti *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit (**HSV-1**) analüütiline tundlikkus.

² Standardiks on kloneeritud PCR-i produkt, mille kontsentratsioon on kindlaks määratud neeldumis- ja fluorestsentsspektroskoopia abil.

Probitanalüüs: lihtherpesviirus 2 (LightCycler)



Joonis 14. Komplekti *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit (**HSV-2**) analüütiline tundlikkus.

11.2 Spetsiifilisus

Komplekti *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit spetsiifilisus on tagatud eelkõige praimerite ja sondide valikuga ning rangete reaktsioonitingimuste valikuga. Praimereid ja sonde analüüsiti, võrreldes nende järjestusi geenipankades avaldatud järjestustega, et kontrollida võimalike homoloogiate olemasolu. Seega on tagatud kõikide tähtsate tüvede tuvastamine.

Lisaks valideeriti spetsiifilisus 30 erineva HSV suhtes negatiivse tserebrospinaalvedeliku proovi abil. Nende puhul ei tuvastatud HSV LC Masterisse kuuluvate HSV spetsiifiliste praimerite ja sondide kasutamisel ühtegi signaali.

Komplekti *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit spetsiifilisuse kindlakstegemiseks kontrolliti järgnevas tabelis (vt tabel 1) loetletud kontrollrühma ristreaktiivsuse suhtes. Ükski testitud patogeenidest polnud reaktiivne.

Tabel 1. Komplekti spetsiifilisuse kontroll potentsiaalselt ristreaktiivsete patogeenide suhtes.

Kontrollrühm	HSV-1/2 (F2/Back-F1)	Sisemine kontroll (F3/Back-F1)
Inimese herpesviirus 3 (<i>Varicella zoster</i> 'i viirus)	–	+
Inimese herpesviirus 4 (Epsteini-Barri viirus)	–	+
Inimese herpesviirus 5 (tsütomegaloviirus)	–	+
Inimese herpesviirus 6 A	–	+
Inimese herpesviirus 6 B	–	+
Inimese herpesviirus 7	–	+
Inimese herpesviirus 8 (Kaposi sarkoomiga seostatud herpesviirus)	–	+

11.3 Täpsus

Komplekti *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit täpsust iseloomustavad andmed võimaldavad määrata kindlaks analüüsi kogudispersiooni. Kogudispersioon sisaldab **analüüsisisest varieeruvust** (sama kontsentratsiooniga proovide mitme tulemuse varieeruvust sama eksperimendi käigus), **analüüsidevahelist varieeruvust** (erinevate operaatorite poolt erinevatel sama tüüpi seadmetel samas laboratooriumis läbi viidud analüüsi mitme tulemuse varieeruvus) ja **partiidevahelist varieeruvust** (analüüsi mitme tulemuse varieeruvus, kasutades erinevaid partiid). Saadud andmeid kasutati spetsiifilise patogeeni ja *sisemise kontrolli* PCR-i standardhälbe, dispersiooni ja variatsioonikoefitsiendi kindlaksmääramiseks.

Komplekti *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit täpsust iseloomustavad andmed on kogutud, kasutades väikseima kontsentratsiooniga *kvantitatiivset standardit* (QS 4; 10 koopiat/ μ l). Katse viidi läbi kaheksa paralleelprooviga. Täpsust iseloomustavate andmete arvutamine põhines amplifikatsioonikõverate Ct-väärtustel (Ct: lävetsükkel, vt tabel 2 / tabel 4). Veel määrati kvantitatiivsete tulemuste täpsust iseloomustavad andmed suhtarvuna koopiat/ μ l, kasutades vastavaid Ct-väärtusi (vt tabel 3 / tabel 5). Neil tulemustel põhinevana on iga antud proovi üldine statistiline hajuvus eelmainitud kontsentratsioonil 1,67% (Ct; HSV-1) ja 1,95% (Ct; HSV-2) või 20,66% (konts., HSV-1) ja 22,42% (konts., HSV-2), sisemise kontrolli tuvastamiseks 1,23% (Ct; HSV-1) ja 1,04% (Ct; HSV-

2). Need väärtused põhinevad kõikide üksikväärtuste kindlaksmääratud varieeruvuste summal.

Tabel 2. Ct-väärtustel põhinevad HSV-1 täpsust iseloomustavad andmed.

	Standardhälve	Dispersioon	Variatsiooni-kordaja [%]
Analüüsisisene varieeruvus: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	0,27	0,07	1,13
Analüüsisisene varieeruvus: <i>Sisemine kontroll</i>	0,03	0,00	0,23
Analüüsidevaheline varieeruvus: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	0,39	0,15	1,66
Analüüsidevaheline varieeruvus: <i>Sisemine kontroll</i>	0,12	0,01	0,99
Partiidevaheline varieeruvus: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	0,41	0,17	1,72
Partiidevaheline varieeruvus: <i>Sisemine kontroll</i>	0,17	0,03	1,40
Koguvarieeruvus: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	0,39	0,15	1,67
Koguvarieeruvus: <i>Sisemine kontroll</i>	0,15	0,02	1,23

Tabel 3. Kvantitatiivsetel tulemustel (suhtarvuna koopiat/ μ l) põhinevad HSV-1 täpsust iseloomustavad andmed.

	Standardhälve	Dispersioon	Variatsiooni-kordaja [%]
Analüüsisisene varieeruvus: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	1,76	3,08	17,34
Analüüsidevaheline varieeruvus: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	2,02	4,08	19,82
Partiidevaheline varieeruvus: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	2,37	5,64	23,10
Koguvarieeruvus: <i>HSV1 LC/RG/TM QS 4</i>	2,11	4,46	20,66

Tabel 4. Ct-väärtustel põhinevad HSV-2 täpsust iseloomustavad andmed.

Lihtherpesviirus - 2	Standardhälve	Dispersioon	Variatsioonikordaja [%]
Analüüsisisene varieeruvus: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	0,22	0,05	0,90
Analüüsisisene varieeruvus: <i>Sisemine kontroll</i>	0,04	0,00	0,33
Analüüsidevaheline varieeruvus: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	0,62	0,38	2,51
Analüüsidevaheline varieeruvus: <i>Sisemine kontroll</i>	0,12	0,01	0,98
Partiidevaheline varieeruvus: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	0,38	0,14	1,52
Partiidevaheline varieeruvus: <i>Sisemine kontroll</i>	0,14	0,02	1,12
Kogu varieeruvus: <i>HSV2 LC/RG/TM QS 4</i>	0,48	0,23	1,95
Koguvarieeruvus: <i>Sisemine kontroll</i>	0,13	0,02	1,04

Tabel 5. Kvantitatiivsetel tulemustel (suhtarvuna koopiat/ μ l) põhinevad HSV-2 täpsust iseloomustavad andmed.

Lihtherpesviirus - 2	Standard- hälve	Dispersi- oon	Variatsiooni kordaja [%]
Analüüsisisene varieeruvus: HSV2 LC/RG/TM QS 4	1,39	1,94	13,82
Analüüsidevaheline varieeruvus: HSV2 LC/RG/TM QS 4	2,86	8,20	27,46
Partiidevaheline varieeruvus: HSV2 LC/RG/TM QS 4	1,96	3,85	19,27
Koguvarieeruvus: HSV2 LC/RG/TM QS 4	2,30	5,31	22,42

11.4 Robustsus

Robustsuse kontroll võimaldab kindlaks määrata komplekti *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit kogu tõrkemäära. 30 HSV suhtes negatiivset tserebrospinaalvedeliku proovi tembiti elueerimislahusega, mis sisaldas HSV-1 kontroll-DNA-d, mahus 3 koopiat/ μ l (kolmekordne avastamispiiri kontsentratsioon). Pärast ekstraheerimist komplektiga QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN; vt 8.1 DNA eraldamine) analüüsiti neid proove komplekti *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit abil. HSV-2 analüüs viidi läbi samamoodi (30 tserebrospinaalvedeliku proovi, 3 koopiat/ μ l HSV-2 kontroll-DNA-d). Kõikide HSV-1 ja HSV-2 proovide tõrkemäär oli 0%. Lisaks hinnati 30 HSV suhtes negatiivse tserebrospinaalvedeliku proovi puhastamise ja analüüsi teel *sisemise kontrolli* robustsust. Kogu tõrkemäär oli 0%. Pärssumist ei täheldatud. Komplekti *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit robustsus on $\geq 99\%$.

11.5 Taastatavus

Taasteandmed võimaldavad pidevalt hinnata komplekti *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit tulemuslikkust ja selle tõhusust võrreldes teiste toodetega. Need andmed on saadud kindlates pädevusprogrammides osalemisel.

11.6 Diagnostiline hindamine

Komplektiga *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit viiakse käesoleval ajal läbi hindamisuuringute seeriat.

12. Toote kasutuspiirangud

- Kõiki reagente võib kasutada üksnes *in vitro* diagnostikaks.
- Toodet võib käsitseda üksnes spetsiaalselt *in vitro* diagnostika protseduuride osas väljaõppe saanud personal.
- Optimaalsete PCR-i tulemuste saavutamiseks on tähtis kasutusjuhendis välja toodud juhiste range järgimine.
- Tähelepanu tuleb pöörata kõigi komponentide karpidele ja etikettidele trükitud aegumistähtaegadele. Ärge kasutage kõlblikkusaja ületanud komponente.

13. Ohutusteave

Komplekti *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit ohutusteave on saadaval vastaval ohutuskaardil (SDS), mille leiate mugava ja kompaktse PDF-formaadis faili kujul veebilehelt www.qiagen.com/safety.

14. Kvaliteedikontroll

QIAGEN-i ISO 9001 ja ISO 13485 sertifikaadiga kvaliteedihalduse süsteemi kohaselt on iga komplekti *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit partiid testitud eelnevalt määratud nõuete kohaselt, et tagada toote ühtlane kvaliteet.

15. Viited

(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 Sümbolite seletus



Kõlblikusaeg



Partii number



Tootja



Kataloogi number



Materjali number



Käsiraamat



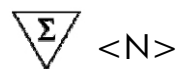
In vitro diagnostiline meditsiiniseade



Etanool



Globaalne kaubaartikli number



<N>

Sisaldab piisavalt <N> testi jaoks



Temperatuuri piirväärtused

QS

Kvantitatiivne standard

IC

Sisemine kontroll

Komplekt *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit

Kaubamärgid ja vastutusest lahtiütlemised

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

Seadus kaitseb käesolevas dokumendis kasutatud registreeritud nimetusi, kaubamärke jne, ka juhul, kui need ei ole kaubamärkidena tähistatud.

artus HSV-1/2 LC PCR Kit, BioRobot EZ1 DSP Workstation ja EZ1 DSP Virus Kit ja Card on Euroopa *in vitro* diagnostika meditsiiniseadmete direktiivi 98/78/EÜ kohaselt CE-vastavusmärgisega diagnostikaseadmed. Need ei pruugi olla kättesaadavad kõigis riikides.

QIAamp Kiti komplektid on mõeldud laboratoorseks kasutamiseks. Ühtegi väidet või kirjeldust, mis annaks teavet haiguse diagnoosi, ennetamise või ravi kohta, ei ole kavatsetud esitada.

artus PCR Kiti komplektide ostuga kaasneb piiratud litsents nende kasutamiseks polümeraasi ahelreaktsiooni (PCR) protsessi läbiviimiseks inimeste ja veterinaardiagnostikas *in vitro* koos termotsükleriga, mille kasutamine automatiseeritud PCR-i protsessi läbiviimisel kaetakse ettemakstava litsentsitasuga makse näol Applied Biosystemsile või ostu käigus, st autoriseeritud termotsükleriga. PCR-i protsess on patendiõigustega kaitstud välisriikide analoogidega USA patentidele nr 5 219 727, 5 322 770, 5 210 015, 5 176 995, 6 040 166, 6 197 563, 5 994 056, 6 171 785, 5 487 972, 5 804 375, 5 407 800, 5 310 652 ja 5 994 056, mille omanik on F. Hoffmann-La Roche Ltd.

© 2007–2015 QIAGEN, kõik õigused kaitstud.

www.qiagen.com

Australia ■ techservice-au@qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Belgia ■ techservice-bnl@qiagen.com

Brasilia ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

Kanada ■ techservice-ca@qiagen.com

Hiina ■ techservice-cn@qiagen.com

Taani ■ techservice-nordic@qiagen.com

Soome ■ techservice-nordic@qiagen.com

Prantsusmaa ■ techservice-fr@qiagen.com

Saksamaa ■ techservice-de@qiagen.com

Hongkong ■ techservice-hk@qiagen.com

India ■ techservice-india@qiagen.com

Iirimaa ■ techservice-uk@qiagen.com

Itaalia ■ techservice-it@qiagen.com

Jaapan ■ techservice-jp@qiagen.com

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

Luxembourg ■ techservice-bnl@qiagen.com

Mehhiko ■ techservice-mx@qiagen.com

Madalmaad ■ techservice-bnl@qiagen.com

Norra ■ techservice-nordic@qiagen.com

Singapur ■ techservice-sg@qiagen.com

Rootsi ■ techservice-nordic@qiagen.com

Šveits ■ techservice-ch@qiagen.com

Ühendkuningriik ■ techservice-uk@qiagen.com

USA ■ techservice-us@qiagen.com

