

artus[®] BK Virüsü RG PCR Kiti El Kitabı



24 (katalog no. 4514263)



96 (katalog no. 4514265)

Sürüm 1

IVD

Kantitatif in vitro diagnostik

Rotor-Gene[®] Q Aletleriyle kullanılmak üzere



REF

4514263, 4514265



1056823TR



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden. ALMANYA

R4

MAT

1056823TR



QIAGEN Sample ve Assay Technologies

QIAGEN her biyolojik örneğin içeriğinin saptanması ve izolasyonunu mümkün kılacak şekilde yenilikçi örnek ve test teknolojilerinin önde gelen sağlayıcısıdır. Gelişmiş ve yüksek kalitede ürünlerimiz ve hizmetlerimiz örnekten sonuca kadar başarıyı garanti eder.

QIAGEN şunlarda standartları belirler:

- DNA, RNA ve protein saflaştırma
- Nükleik asit ve protein testleri
- microRNA araştırmaları ve RNAi
- Test ve örnek teknolojilerinin otomasyonu

Misyonumuz olağanüstü başarılar elde etmenizi ve yeni buluşlar yapmanızı sağlamaktır. Daha fazla bilgi için www.qiagen.com adresini ziyaret ediniz.

İçindekiler

Kullanım Amacı	5
Özet ve Açıklama	5
Patojen bilgisi	5
İşlemin Prensipleri	5
Sağlanan Materyal	6
Kit içeriği	6
Gereken ama Sağlanmayan Materyal	7
Uyarılar ve Önlemler	7
Genel önlemler	8
Reaktif Saklama ve Muamele	8
İşlem	9
DNA izolasyonu	9
Dahili kontrol	9
Protokol: PCR ve veri analizi	11
Sonuçların Yorumlanması	18
Kantitasyon	18
Sonuçlar	19
Sorun Giderme kılavuzu	20
Kalite Kontrol	22
Sınırlamalar	22
Performans Özellikleri	22
Analitik hassasiyet	22
Özgüllük	23
Kesinlik	24
Güçlülük	26
Tekrar Üretilebilirlik	26
Diagnostik değerlendirme	26
Referanslar	26
Semboller	26
İrtibat Bilgisi	27
Sipariş Bilgisi	28

Kullanım Amacı

artus BK Virüsü PCR Kiti insan plazma veya idrarında BK virüsü DNA'sının kantitasyonu için bir in vitro nükleik asit amplifikasyon testidir. Bu diagnostik kit, polimeraz zincir reaksiyonunu (PCR) kullanır ve Rotor-Gene Q Aletleriyle kullanılmak üzere konfigüre edilmiştir.

Not: *artus* BK Virüsü RG PCR Kiti Rotor-Gene Q 2plex Aletleriyle kullanılamaz.

Özet ve Açıklama

artus BK Virüsü RG PCR Kit Rotor-Gene Q Aletlerinde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak BK virüs DNA saptanması için kullanıma hazır bir sistem oluşturur. BK Virüsü RG Master, BK virüs genomunda 274 bp bölgenin spesifik amplifikasyonu için ve Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q veya Rotor-Gene 6000 Cycling Green floresans kanalında floresans kanalında spesifik ampikonun doğrudan saptanması için gerekli reaktifleri ve enzimleri içerir.

Ayrıca, *artus* BK Virüsü RG PCR Kiti olası PCR inhibisyonunu tanımlamak için ikinci bir heterolog amplifikasyon sistemi içerir. Bu Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q veya Rotor-Gene 6000 Cycling Orange floresans kanalında bir dahili kontrol (IC) olarak saptanır. Analitik BK Virüsü PCR saptama limiti (bakınız "Analytical sensitivity", sayfa 22) azalmaz. Harici pozitif kontroller (BK Virüsü RG QS 1–4) sağlanır ve bunlar viral DNA miktarının belirlenmesini sağlar. Daha fazla bilgi için, bakınız "Interpretation of Results", sayfa 18.

Patojen bilgisi

BK virüsü (BKV) poliyomavirüslerinden bir DNA virüsüdür. Primer enfeksiyon temel olarak çocuklukta oluşur ve genelde belirtisizdir. Yetişkinlerde seroprevalans %90'a kadardır. Primer enfeksiyondan sonra BKV böbrek hücrelerinde latent durumda kalır ve transplantasyon gibi immün yetmezlik durumlarında tekrar aktive olabilir.

BKV enfeksiyonu böbrek nakli yapılmış olanlarda tübulointerstisyel nefrit ve üreter stenozuyla ve ayrıca kemik iliği nakli yapılmış olanlarda hemorajik sistitle ilişkili olabilir. Ayrıca vaskülopati, pnömonit, ensefalit, retinit veya hatta çoklu organ yetmezliği için hastalık paternleriyle ilişkilendirilmiştir.

Uzun süreli yüksek düzey BKV replikasyonu böbrek nakli hastalarında poliyomavirüsle ilişkili nefropatinin (PAN) tipik özelliğidir. Klinik olarak ilgili enfeksiyonlar genelde immün sistemi baskılanmış kişilerle sınırlıdır.


İşlemin Prensipleri

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile patojen saptanması patojen genomunun spesifik bölgelerinin amplifikasyonunu temel alır. Gerçek zamanlı PCR ile amplifiye edilen ürün floresan boyalar yoluyla saptanır. Bunlar genellikle

amplifiye edilmiş ürüne spesifik olarak bağlanan oligonükleotid problemleriyle bağlantılıdır. PCR çalışması sırasında (yani, gerçek-zamanlı olarak) floresans şiddetlerinin izlenmesi PCR çalışması sonrasında reaksiyon tüplerinin tekrar açılmasına gerek kalmadan biriken ürünün saptanması ve kantitasyonunu mümkün kılar.*

Sağlanan Materyal

Kit içeriği

artus BK Virus RG PCR Kit			(24)	(96)
Katalog no.			4514263	4514265
Reaksiyon sayısı			24	96
Mavi	BK Virüsü RG Master		2 x 12 reaksiyon	8 x 12 reaksiyon
Sarı	BK Virüsü RG Mg-Sol [†]	Mg-Sol	400 µl	400 µl
Kırmızı	BK Virüsü RG QS 1 [‡] (1 x 10 ⁴ kopya/µl)	QS	200 µl	200 µl
Kırmızı	BK Virüsü RG QS2 [‡] (1 x 10 ³ kopya/µl)	QS	200 µl	200 µl
Kırmızı	BK Virüsü RG QS3 [‡] (1 x 10 ² kopya/µl)	QS	200 µl	200 µl
Kırmızı	BK Virüsü RG QS4 [‡] (1 x 10 ¹ kopya/µl)	QS	200 µl	200 µl
Yeşil	BK Virüsü RG IC [§]	IC	1000 µl	2 x 1000 µl
Beyaz	Water (PCR grade) (Su (PCR sınıfı))		1000 µl	1000 µl
	El Kitabı		1	1

[†] Magnezyum solüsyonu.

[‡] Kantitasyon standardı.

[§] Dahili kontrol.

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

Gereken ama Sağlanmayan Materyal

Kimyasallarla çalışırken daima uygun bir laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldivenler ve koruyucu gözlükler kullanın. Daha fazla bilgi için ürün tedarikçisinden elde edilebilecek uygun güvenlik veri sayfalarına (SDS'ler) başvurun.

Reaktifler

- DNA izolasyon kiti (bakınız "DNA isolation", sayfa 9)

Sarf Malzemeleri

- Filtreli steril pipet uçları
- Strip Tüpleri ve Kapakları, 0,1 ml, 72 kuyulu rotor ile kullanım için (kat. no. 981103 veya 981106)
- Alternatif olarak: PCR Tüpleri, 0,2 ml, 36 kuyulu rotor ile kullanım için (kat. no. 981005 veya 981008)

Ekipman

- Pipetler (ayarlanabilir)*
- Vorteks karıştırıcı*
- 2 ml reaksiyon tüpleri için rotorlu Tezgah santrifüjü*
- Cycling Green ve Cycling Orange için floresans kanallı Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q veya Rotor-Gene Aleti*†
- Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q yazılım versiyon 1.7.94 veya üstü (Rotor-Gene 6000 yazılım versiyonu 1.7.65)
- Soğutma bloğu (Yükleme Bloğu 72 x 0,1 ml Tüp, kat. no. 9018901 veya Yükleme Bloğu 96 x 0,2 ml Tüp, kat. no. 9018905)

Uyarılar ve Önlemler

İn vitro diagnostik kullanım için

Kimyasallarla çalışırken daima uygun bir laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldivenler ve koruyucu gözlükler kullanın. Daha fazla bilgi için lütfen uygun güvenlik veri sayfalarına (SDS'ler) başvurun. Bunlar çevrim içi olarak PDF halinde www.qiagen.com/safety adresinde yer almaktadır ve kullanıcılar burada her QIAGEN® kiti ve kit bileşeni için SDS'yi bulabilir, okuyabilir ve yazdırabilir.

Örnek ve tahlil atığını yerel güvenlik düzenlemelerinize uygun olarak atın.

* Aletlerin üreticinin önerilerine göre kontrol edildiği ve kalibre edildiğinden emin olun.

† artus BK Virüsü RG PCR Kiti, Rotor-Gene Q 2plex Aletleriyle kullanılamaz.

Genel önlemler

Kullanıcı şunlara daima dikkat etmelidir:

- Filtreli steril pipet uçları kullanın.
- Pozitif materyalleri (örnekler, pozitif kontroller ve amplikonlar) tüm diğer reaktiflerden ayrı saklayın ve ekstrakte edin ve bunları reaksiyon karışımına konumsal açıdan ayrılmış bir yerde ekleyin.
- Bir tahlile başlamadan önce tüm bileşenleri oda sıcaklığında (15–25°C) iyice çözün.
- Çözüldüğünde, bileşenleri karıştırın (tekrar tekrar yukarı ve aşağı pipetleyerek veya puls vortekslemeyle) ve kısa süre santrifüje edin.
- Hızlı çalışın ve yüklemeye önce bileşenleri buz üzerinde veya soğutma bloğunda tutun (72/96-kuyu yükleme bloğu).

Reaktif Saklama ve Muamele

artus BK Virüsü PCR Kiti bileşenleri –15°C - –30°C'de saklanmalıdır ve etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir. Tekrarlanan çözme ve dondurmadan (> 2 x) kaçınılmalıdır çünkü tahlil hassasiyetini azaltabilir. Reaktifler sadece arada kullanılacaksa alikotlar halinde dondurulmaları gerekir. 2–8°C'de saklama 5 saatlik bir dönemi geçmemelidir.

İşlem

DNA izolasyonu

EZ1 DSP Virüs Kiti (QIAGEN, kat. no. 62724)* *artus* BK Virüsü RG PCR Kitiyle kullanılmak üzere insan plazma veya idrarında viral nükleik asit saflaştırma için doğrulanmıştır. Viral DNA saflaştırmayı *EZ1 DSP Virüs Kiti El Kitabındaki* talimata göre 400 µl başlangıç örnek büyüklüğüyle yapın.

Not: *artus* BK Virüsü RG PCR Kiti fenol bazlı izolasyon yöntemleriyle kullanılmamalıdır.

Not: Ekstraksiyon etkinliği ve sonuçta DNA/RNA verimi açısından taşıyıcı RNA kullanılması çok önemlidir. Her ekstraksiyona *EZ1 DSP Virüs Kiti El Kitabı* talimatını izleyerek uygun miktarda taşıyıcı RNA ekleyin.

Not: *artus* BK Virüsü RG PCR Kit dahili kontrolü doğrudan izolasyon işleminde kullanılabilir (bakınız "Internal control", sayfa 9).

Not: Saflaştırılmış viral nükleik asitleri PCR için EZ1 DSP Virüs Kiti kullanılarak ekstraksiyondan sonra hemen kullanmayı kuvvetle öneriyoruz. Alternatif olarak elütler PCR analizinden önce 3 güne kadar 4°C'de saklanabilir.

Dahili kontrol

Dahili kontrol (BK Virüsü RG IC) sağlanmıştır. Bu durum kullanıcının hem DNA izolasyon prosedürünü kontrol etmesine hem de olası PCR inhibisyonunu kontrol etmesine izin verir. Bu uygulama için dahili kontrolü 1 µl elüsyon hacmi başına 0,1 µl oranında izolasyona ekleyin. Örneğin EZ1 DSP Virüs Kitini kullanırken viral nükleik asitlerin elüsyon 60 µl Elüsyon Tamponu (AVE) içinde yapılırsa başlangıçta dahili kontrolden 6 µl eklenmelidir.

Not: Dahili kontrol ve taşıyıcı RNA (bakınız "DNA isolation", sayfa 9) sadece lizis tamponu ile örnek materyali karışımına veya doğrudan lizis tamponuna eklenmelidir.

Dahili kontrol örnek materyaline doğrudan eklenmemelidir. Lizis tamponuna eklenirse dahili kontrol ve lizis tamponu–taşıyıcı RNA karışımının taze olarak hazırlanıp hemen kullanılması gerektiğine dikkat edin (karışımın oda sıcaklığı veya buzdolabında sadece birkaç saatliğine bile saklanması dahili kontrol başarısızlığı ve azalmış ekstraksiyon etkinliğine yol açabilir).

Not: Dahili kontrol ve taşıyıcı RNA'yı doğrudan örnek materyaline eklemeyin.

* EZ1 DSP Virüs Kiti, *artus* BK Virüsü RG PCR Kitiyle kombine olarak CE-IVD-işaretli EASYartus® BK Virüsü RG PCR Kitleri olarak da sağlanmaktadır (sipariş bilgisi için bakınız sayfa 28).

Dahili kontrol isteğe bağlı olarak sadece olası PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanılabilir. Bu uygulama için dahili kontrolü protokolde adım 2b içinde tanımlandığı şekilde BK Virüsü RG Master ve BK Virüsü RG Mg-Sol karışımına doğrudan ekleyin (sayfa 12).

Protokol: PCR ve veri analizi

Başlamadan önce önemli noktalar

- Protokole başlamadan önce Rotor-Gene Q Aletine aşına hale gelmek için zaman ayırın. Alet kullanıcı el kitabına bakınız.
- Her PCR çalışmasında en az bir kantitasyon standardı ve ayrıca bir negatif kontrol (Su, PCR sınıfı) dahil edildiğinden emin olun. Standart bir eğri oluşturmak için her PCR çalışması için sağlanan 4 kantitasyon standardının (BK Virüsü QS 1–4) hepsini kullanın.

Başlamadan önce yapılacaklar

- Soğutma bloğunun (Rotor-Gene Q Aletinin aksesuarı) 2–8°C'ye önceden soğutulduğundan emin olun.
- Her kullanımdan önce tüm reaktiflerin tamamen çözülmesi, karıştırılması (tekrarlanan yukarı - aşağı pipetleme veya hızlı vorteksleme ile) ve kısa süre santrifüje edilmesi gerekir.

İşlem

1. İstenecek sayıda PCR tüpünü soğutma bloğunun adaptörlerine yerleştirin.
2. Dahili kontrolü DNA izolasyon işlemi izlemek ve olası PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanıyorsanız adım 2a'yı izleyin. Dahili kontrolü sadece PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanıyorsanız adım 2b'yi izleyin.
- 2a. Dahili kontrol, izolasyona zaten eklenmiştir (bakınız "Internal control", sayfa 9). Bu durumda Tablo 1 uyarınca bir master karışımı hazırlayın.

Reaksiyon karışımı tipik olarak örnek dışında PCR için gerekli tüm bileşenleri içerir.

Tablo 1. Master karışımın hazırlanması (dahili kontrol DNA izolasyonunu izlemek ve PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanılıyor)

Örnek sayısı	1	12
BK Virüsü RG Master	7 µl	84 µl
BK Virüsü RG Mg-Sol	3 µl	36 µl
BK Virüsü RG IC	0 µl	0 µl
Toplam hacim	10 µl	120 µl

2b. Dahili kontrol doğrudan BK Virüsü RG Master ve BK Virüsü RG Mg-Sol karışımına eklenmelidir. Bu durumda Tablo 2 uyarınca bir master karışımı hazırlayın.

Reaksiyon karışımı tipik olarak örnek dışında PCR için gerekli tüm bileşenleri içerir.

Tablo 2. Master karışımın hazırlanması (dahili kontrol sadece PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanılıyor)

Örnek sayısı	1	12
BK Virüsü RG Master	7 µl	84 µl
BK Virüsü RG Mg-Sol	3 µl	36 µl
BK Virüsü RG IC	1,5 µl	18 µl
Toplam hacim	11,5 µl*	138 µl*

* Dahili kontrolü eklemenin neden olduğu hacim artışı, PCR tahlili hazırlanırken dikkate alınmaz. Saptama sisteminin hassasiyeti etkilenmez.

3. Her PCR tüpüne master karışımdan 10 µl pipetleyin. Sonra elüsyon yapılmış örnek DNA'sından 15 µl ekleyin (bakınız Tablo 3). Buna karşılık olarak kantitasyon standartlarının (BK Virüsü RG QS 1–4) en az birinden 15 µl pozitif kontrol olarak ve 15 µl su (Su, PCR sınıfı) negatif kontrol olarak kullanılmalıdır.

Tablo 3. PCR tahlilini hazırlama

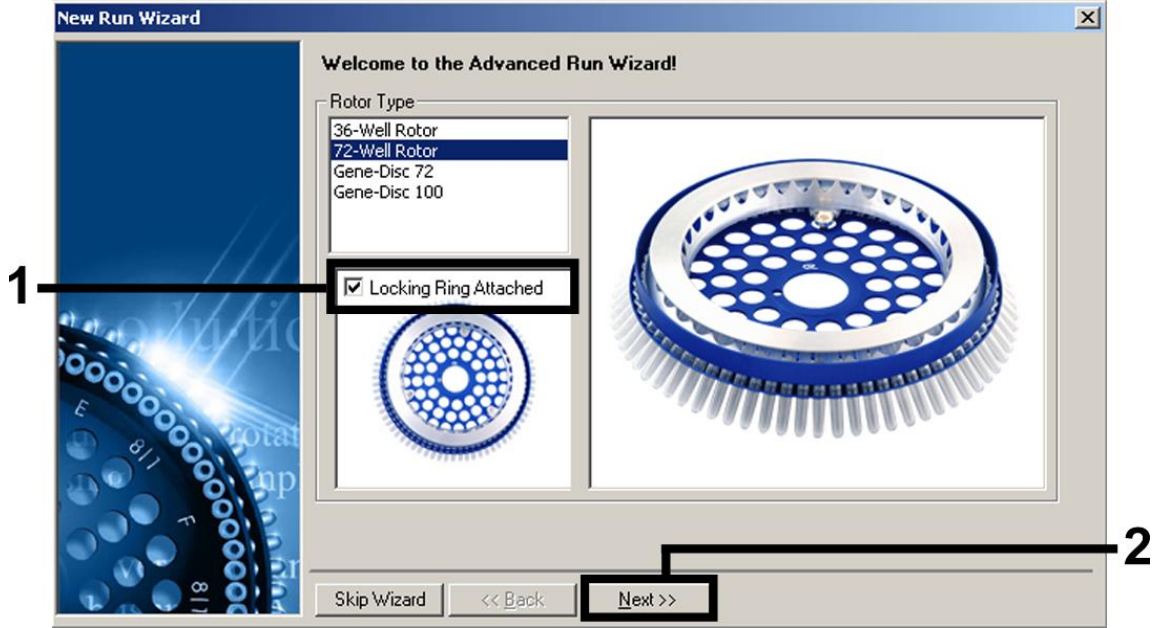
Örnek sayısı	1	12
Master karışım	10 μ l	her birinden 10 μ l
Örnek	15 μ l	her birinden 15 μ l
Toplam hacim	25 μl	her birinden 25 μl

- 4. PCR tüplerini kapatın. Kilitleme halkasının (Rotor-Gene Aletinin aksesuarı) tüplerin çalışma sırasında yanlışlıkla açılmasını önlemek üzere rotorun üstüne yerleştirildiğinden emin olun.**
- 5. BK virüsü DNA saptamak için aşağıdaki adımlara göre bir sıcaklık profili oluşturun.**

Genel tahlil parametrelerini kurma	Şekil 1, 2, 3
Hot-start enziminin başlangıç aktivasyonu	Şekil 4
DNA amplifikasyonu	Şekil 5
Floresans kanalı hassasiyetini ayarlama	Şekil 6
Çalışmayı başlatma	Şekil 7

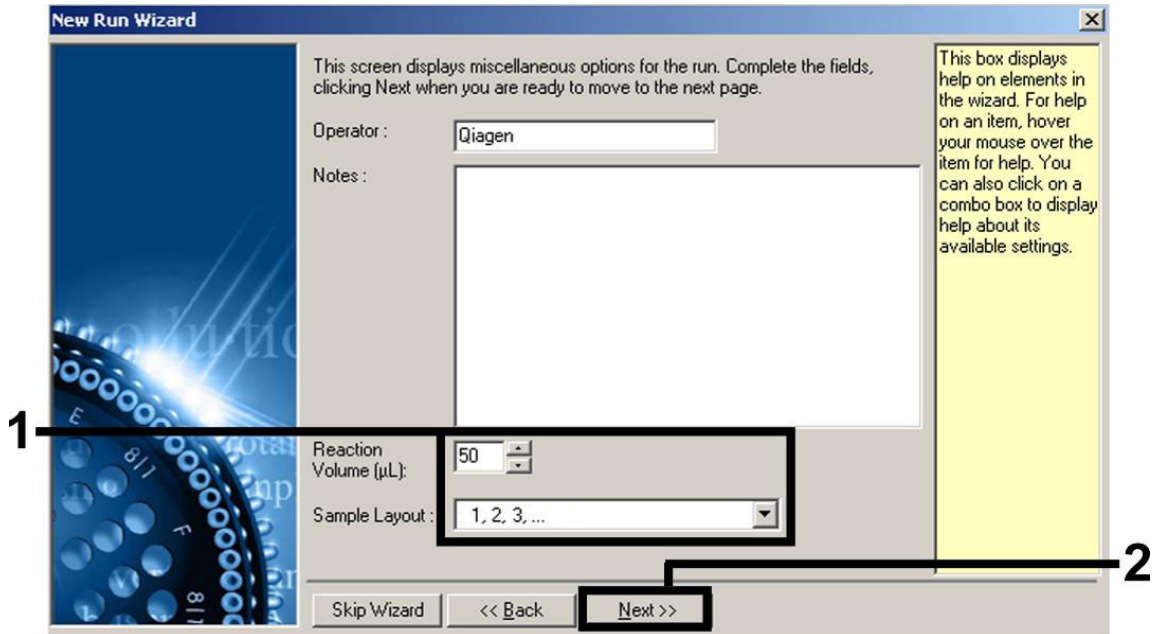
Tüm spesifikasyonlar Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q yazılım versiyonu 1.7.94 ve Rotor-Gene 6000 yazılım versiyonu 1.7.65 ile ilişkilidir. Rotor-Gene Aletlerini programlamak ile ilgili ek bilgiyi alet kullanıcı el kitabında bulabilirsiniz. Şekillerde bu ayarlar kalın siyah çerçeveyle gösterilmiştir. Rotor-Gene Q Aletleri için şekiller dahil edilmiştir.

6. Önce “New Run Wizard” (Yeni Çalışma Sihirbazı) diyalog kutusunu açın (Şekil 1). “Locking Ring Attached” (Kilitleme Halkası Tutturulmuş) kutusunu seçin ve “Next” (Sonraki) kısmına tıklayın.



Şekil 1. “New Run Wizard” diyalog kutusu.

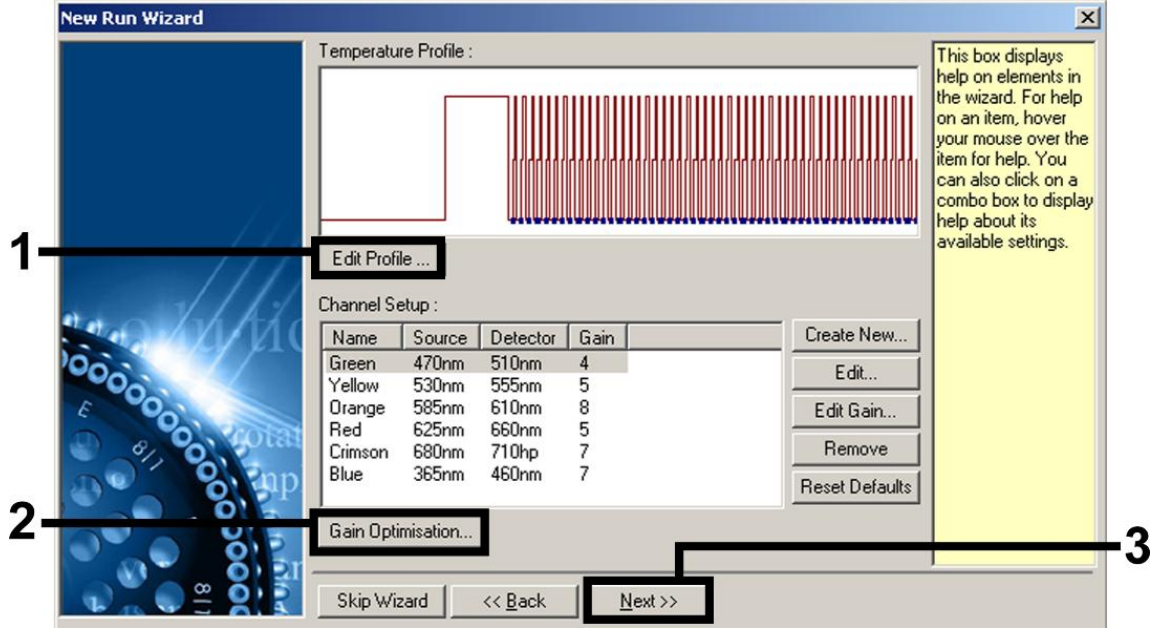
7. PCR reaksiyon hacmi için 50 seçin ve “Next” kısmına tıklayın (Şekil 2).



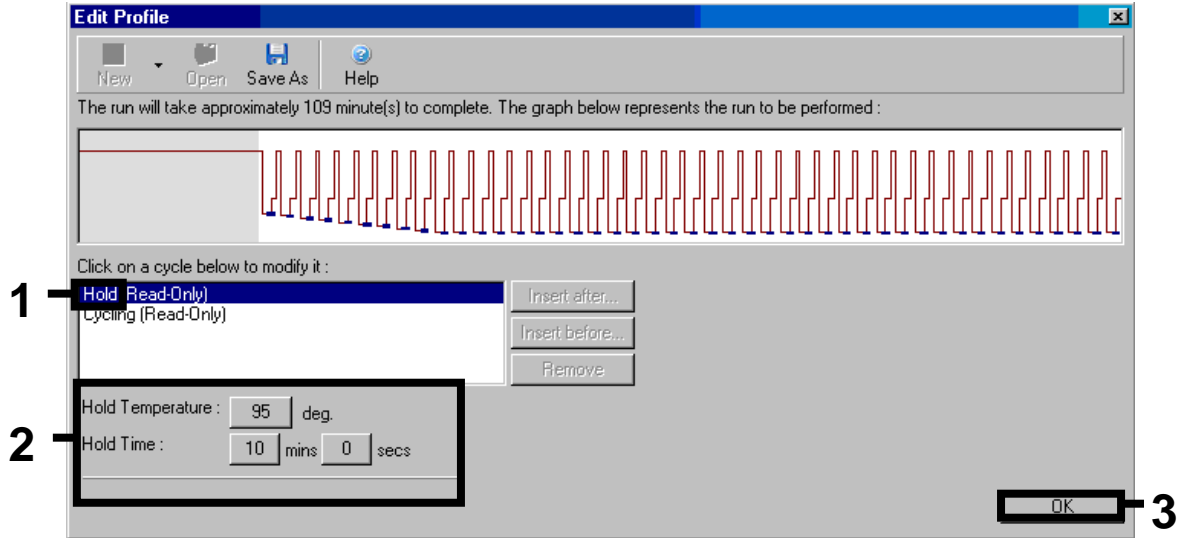
Şekil 2. Genel tahlil parametrelerini kurma.

Not: Fiziksel reaksiyon hacmi 25 µl olsa bile Rotor-Gene yazılımı içinde reaksiyon hacmi olarak 50 seçtiğinizden emin olun.

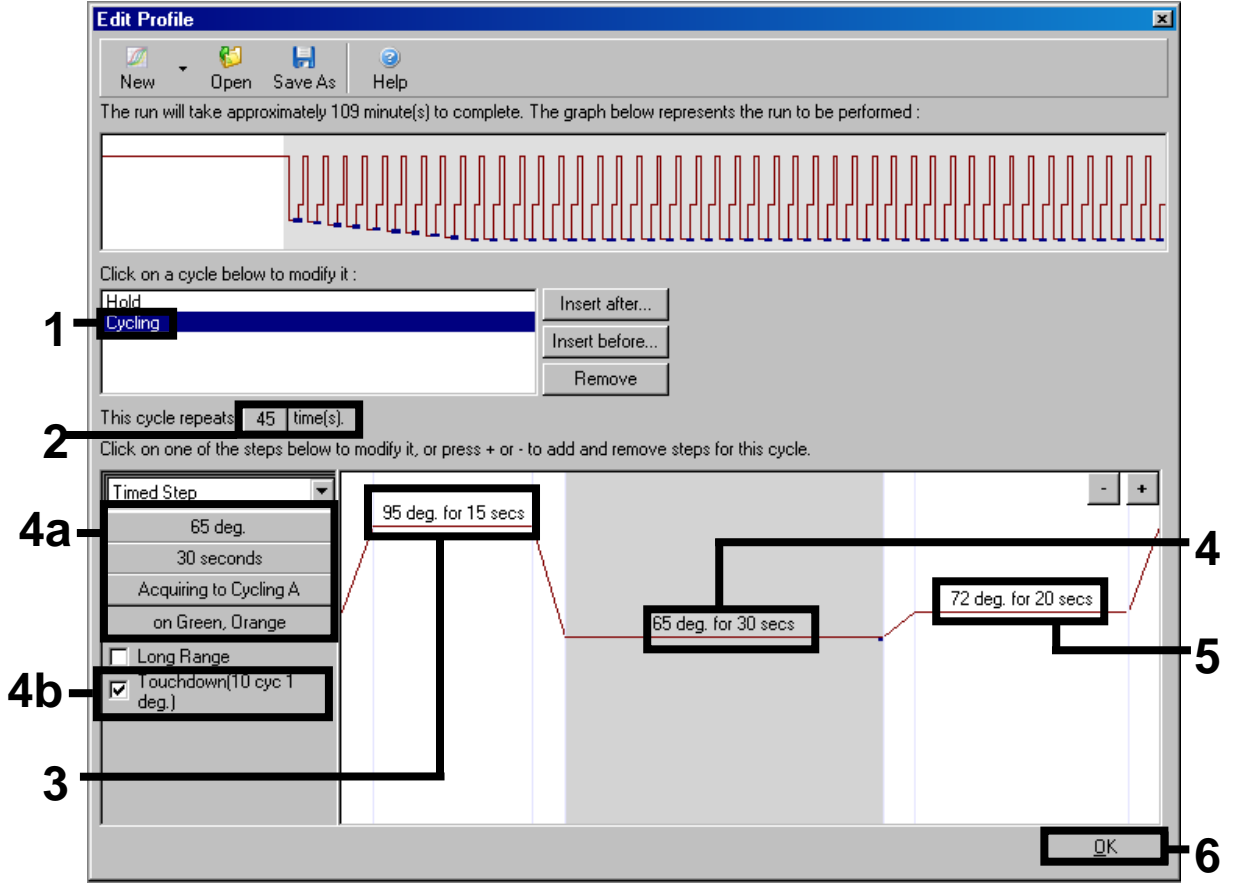
8. Sonraki "New Run Wizard" diyalog kutusunda "Edit Profile" (Profil Düzenle) düğmesine tıklayın (Şekil 3) ve sıcaklık profilini Şekil 3-5'de gösterildiği gibi programlayın.



Şekil 3. Profili düzenleme.

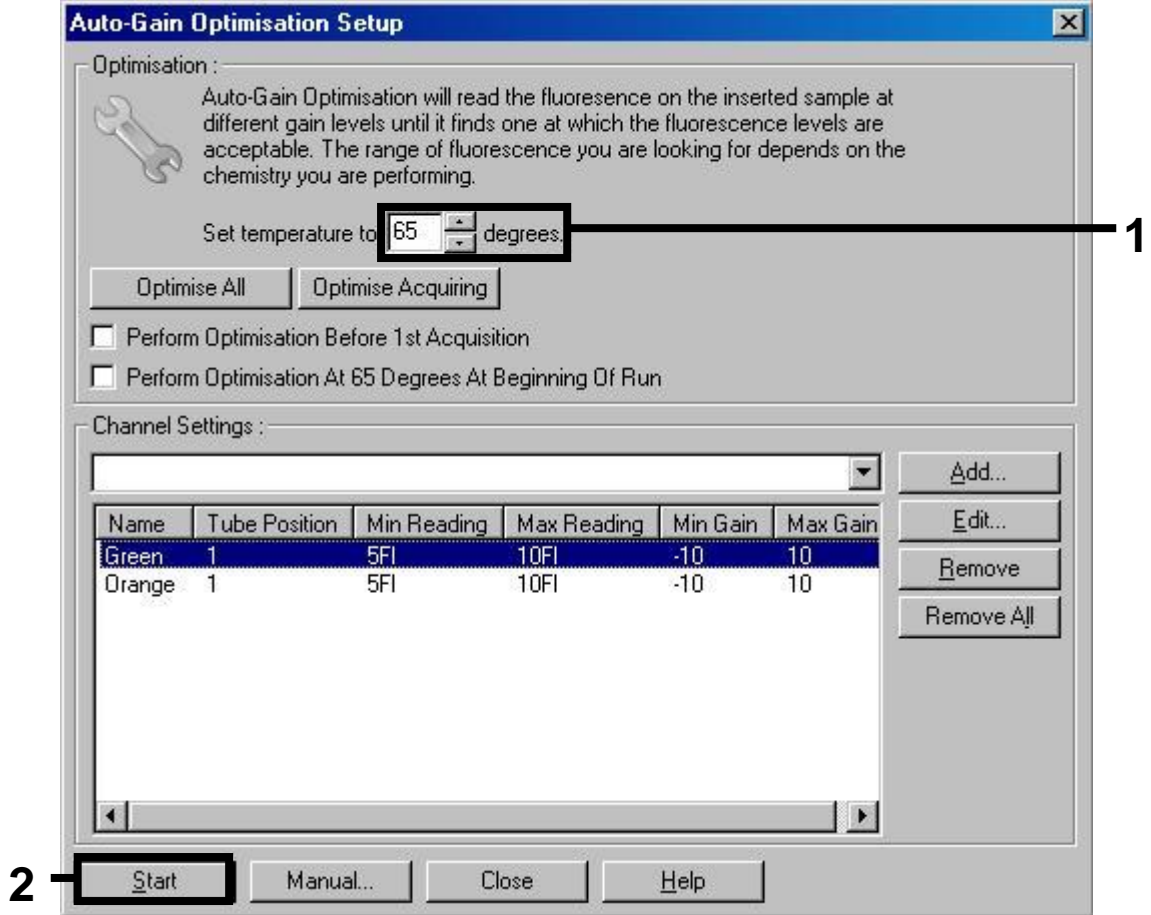


Şekil 4. Hot-start enziminin başlangıç aktivasyonu.



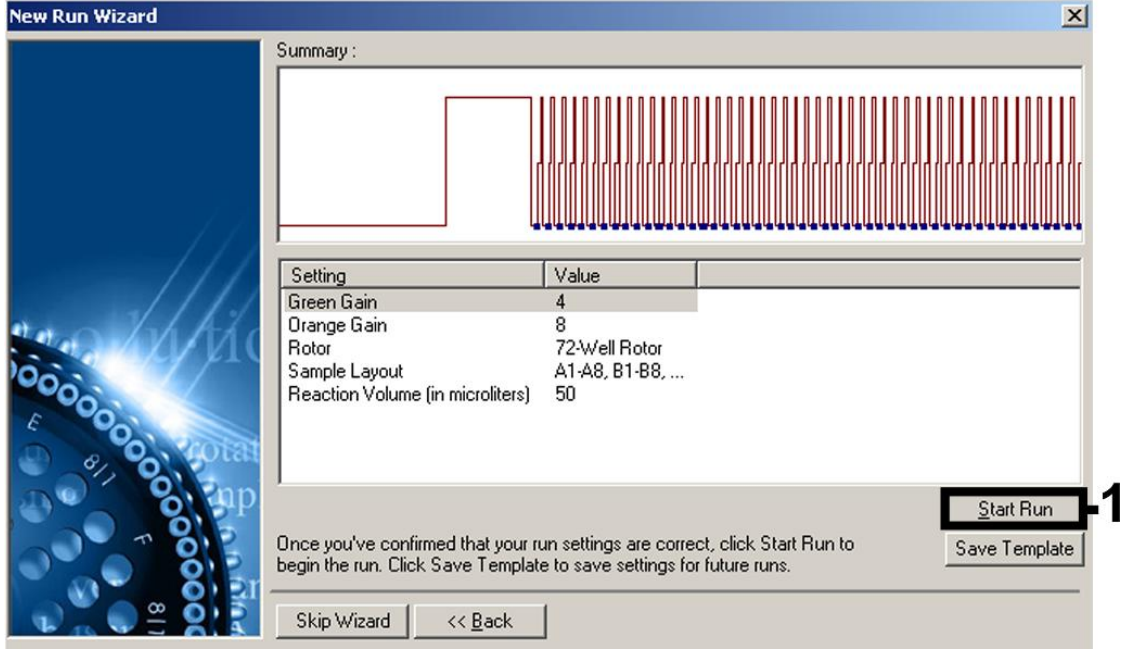
Şekil 5. DNA amplifikasyonu. Birleştirme adımında touchdown işlevini 10 döngü için etkinleştirdiğinizden emin olun.

9. Floresans kanalları için saptama aralığının PCR tüplerindeki floresans şiddetlerine göre belirlenmesi gerekir. "Auto-Gain Optimisation Setup" (Otomatik Kazanç Optimizasyon Kurulumu) diyalog kutusunu açmak için "New Run Wizard" diyalog kutusunda "Gain Optimisation" (Kazanç Optimizasyonu) kısmına tıklayın (bakınız Şekil 3). Kalibrasyon sıcaklığını, amplifikasyon programının birleştirme sıcaklığıyla eşleşmesi için 65 olarak ayarlayın (Şekil 6).



Şekil 6. Floresans kanalı hassasiyetini ayarlama.

10. Kanal kalibrasyonu tarafından belirlenen kazanç değerleri otomatik olarak kaydedilir ve programlama işleminin son menü penceresinde liste halinde verilir (Şekil 7). “Start Run” (Çalışmayı Başlat) kısmına tıklayın.



Şekil 7. Çalışmayı başlatma.

Sonuçların Yorumlanması

Kantitasyon

Ekteki kantitasyon standartları (BK Virüsü RG QS 1–4) önceden saflaştırılmış örnekler gibi muamele görür ve aynı hacim (15 µl) kullanılır. Rotor-Gene Q aletleri üzerinde standart bir eğri oluşturmak için 4 kantitasyon standardının hepsi kullanılmalı ve belirtilen konsantrasyonlarla standartlar olarak “Edit Samples” (Örnekleri Düzenle) diyalog kutusunda tanımlanmalıdır (bakınız alet kullanım kılavuzu).

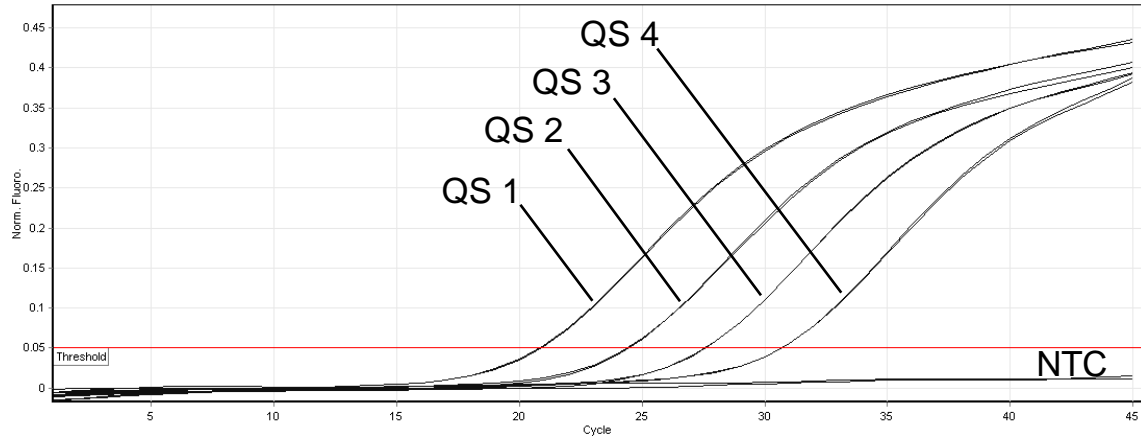
Not: Kantitasyon standartları kopya/µl olarak tanımlanır. Aşağıdaki denklemin standart eğri kullanılarak belirlenen değerlerin kopya/ml örnek materyal olarak dönüştürülmesi için uygulanması gerekir.

$$\text{Sonuç (kopya/ml)} = \frac{\text{Sonuç (kopya/}\mu\text{l)} \times \text{Elüsyon Hacmi (}\mu\text{l)}}{\text{Örnek Hacmi (ml)}}$$

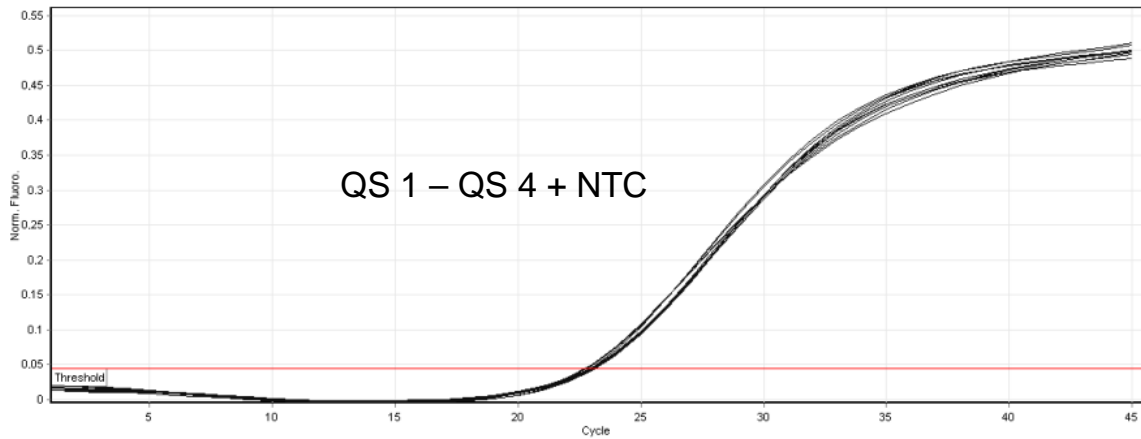
Prensip olarak başlangıç örnek hacmi yukarıdaki denkleme girilmelidir. Örnek hacmi nükleik asit ekstraksiyonu öncesinde değiştirildiğinde bunun dikkate alınması gerekir (örn. hacmin santrifügasyonla azaltılması veya izolasyon için gerekli hacme ekleme yapılarak hacmin artırılması).

Sonuçlar

Pozitif ve negatif PCR reaksiyonları örnekleri Şekil 8 ve Şekil 9'da verilmiştir.



Şekil 8. Kantitasyon standartlarının (BK Virüsü RG QS 1-4) floresans kanalı Cycling Green içinde saptanması. NTC: Şablon kontrolü yok (negatif kontrol).



Şekil 9. Kantitasyon standartlarının (BK Virüsü RG QS 1-4) eş zamanlı amplifikasyonu ile dahili kontrolün (IC) floresans kanalı Cycling Orange içinde saptanması. NTC: Şablon kontrolü yok (negatif kontrol).

Floresans kanalı Cycling Green içinde bir sinyal saptanır. Analizin sonucu pozitifdir: örnek BK virüsü DNA içerir.

Bu durumda Cycling Orange kanalında bir sinyalin saptanması kullanılmayabilir çünkü yüksek başlangıç BK virüsü DNA konsantrasyonları (Cycling Green kanalında pozitif sinyal) Cycling Orange kanalında dahili kontrol floresans sinyalinin azalmış olması veya olmamasına neden olabilir (rekabet).

Floresans kanalı Cycling Green içinde sinyal saptanmaz. Aynı zamanda Cycling Orange kanalında dahili kontrolden bir sinyal belirir. Örnekte saptanabilir BK virüs DNA yoktur. Negatif kabul edilebilir.

Negatif BK Virüsü PCR durumunda dahili kontrolün saptanan sinyali PCR inhibisyonu olasılığını ortadan kaldırır.

Cycling Green veya Cycling Orange kanallarında sinyal saptanmaz. Bir sonuca varılamaz.

Hata kaynakları ve çözümleriyle ilgili bilgi aşağıda "Troubleshooting guide" içinde bulunabilir.

Sorun Giderme kılavuzu

Bu sorun giderme kılavuzu oluşabilecek herhangi bir problemi çözmekte faydalı olabilir. Daha fazla bilgi için Teknik Destek Merkezimizde Sık Sorulan Sorular sayfasına da bakınız: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. QIAGEN Teknik Servisindeki bilim insanları bu el kitabındaki bilgi ve protokollerle ya da örnek ve test teknolojileriyle ilgili herhangi bir sorunuzu cevaplandırmaktan daima mutlu olacaktır (irtibat bilgileri için arka kapağa bakınız veya www.qiagen.com adresini ziyaret ediniz).

Açıklama ve öneriler

Floresans kanalı Cycling Green içinde Pozitif kontrol (BK Virüsü RG QS 1–4) sinyali yok

- | | |
|---|---|
| a) PCR veri analizi için seçilen floresans kanalı protokole uymamaktadır | Veri analizi açısından analitik BK Virüsü PCR için floresans kanalı Cycling Green ve dahili kontrol PCR için floresans kanalı Cycling Orange seçin. |
| b) Rotor-Gene Aletinin sıcaklık profilinin yanlış programlanması | Sıcaklık profilini protokolle karşılaştırın. Bakınız "Protocol: PCR and data analysis", sayfa 11. |
| c) Hatalı PCR konfigürasyonu | Çalışma adımlarınızı pipetleme şeması yoluyla kontrol edin ve gerekirse PCR'ı tekrarlayın. Bakınız "Protocol: PCR and data analysis", sayfa 11. |
| d) Bir veya birkaç kit bileşeninin saklama koşulları "Reagent Storage and Handling" (sayfa 8) içinde verilen talimatla uyumlu değildir. | Reaktiflerin saklama koşulları ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakınız) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın. |
| e) <i>artus</i> BK Virüsü RG PCR Kitinin son kullanma süresi geçmiştir | Reaktiflerin saklama koşulları ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakınız) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın. |

Açıklama ve öneriler

Cycling Orange floresans kanalı içinde *artus* BK Virüsü RG PCR Kiti kullanılarak saflaştırma yapılmış bir negatif plazma veya idrar örneğinin dahili kontrolünün sinyalinin zayıf olması veya hiç olmaması ve aynı anda Cycling Green kanalında sinyal bulunmaması

- | | |
|---|---|
| a) PCR koşulları protokole uymamaktadır | PCR koşullarını kontrol edin (yukarıya bakınız) ve gerekirse PCR'ı düzeltilmiş ayarlarla tekrarlayın. |
| b) PCR inhibe olmuştur | Önerilen izolasyon yöntemini kullandığınızdan emin olun ve üreticinin talimatını yakından izleyin. |
| c) Ekstraksiyon sırasında DNA kaybolmuştur | Dahili kontrol ekstraksiyona eklenmişse, dahili kontrol sinyalinin olmaması ekstraksiyon sırasında DNA kaybına işaret edebilir. Önerilen izolasyon yöntemini (bakınız "DNA isolation", sayfa 9) kullandığınızdan emin olun ve üreticinin talimatını yakından izleyin. |
| d) Bir veya birkaç kit bileşeninin saklama koşulları "Reagent Storage and Handling" (sayfa 8) içinde verilen talimatla uyumlu değildir. | Reaktiflerin saklama koşulları ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakınız) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın. |
| e) <i>artus</i> BK Virüsü RG PCR Kitinin son kullanma süresi geçmiştir | Reaktiflerin saklama koşulları ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakınız) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın. |

Analitik PCR'da floresans kanalı Cycling Green içinde negatif kontrollü sinyaller

- | | |
|---|--|
| a) PCR hazırlama sırasında kontaminasyon oluşmuştur | PCR'ı replikatlarda yeni reaktiflerle tekrarlayın.
Mümkünse PCR tüplerini test edilecek örneğin eklenmesinden hemen sonra kapatın.
Pozitif kontrolleri en son pipetlediğinizden emin olun.
Çalışma alanı ve aletlerin düzenli aralıklarla dekontamine edildiğinden emin olun. |
|---|--|

Açıklama ve öneriler

- b) Ekstraksiyon sırasında kontaminasyon oluşması
- Test edilecek örneğin ekstraksiyonu ve PCR'ını yeni reaktifler kullanarak tekrarlayın.
- Çalışma alanı ve aletlerin düzenli aralıklarla dekontamine edildiğinden emin olun.

Kalite Kontrol

QIAGEN'in ISO sertifikalı Kalite Yönetim Sistemi uyarınca her *artus* BK Virüsü RG PCR Kiti tutarlı ürün kalitesini sağlamak üzere önceden belirlenmiş spesifikasyonlara göre test edilir.

Sınırlamalar

Ürün sadece in vitro diagnostik işlemler konusunda özel talimat almış ve eğitilmiş personel tarafından kullanılmalıdır.

Optimum PCR sonuçları için kullanıcı el kitabına katı olarak uymak gerekir.

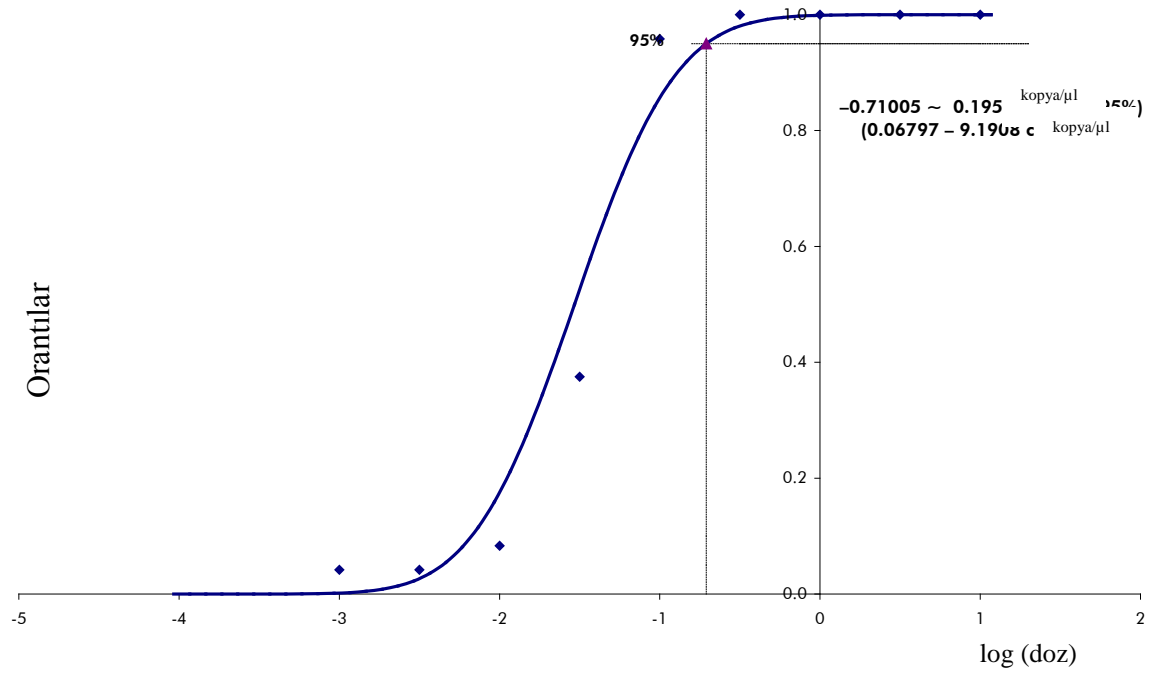
Tüm bileşenlerin etiketleri ve kutusunda basılı son kullanma tarihlerine dikkat edilmelidir. Son kullanma tarihi geçmiş bileşenleri kullanmayın.

Nadir olsa da kitin primerleri ve/veya probun kapsadığı viral genomun yüksek ölçüde korunmuş bölgelerinde mutasyonlar olması bu vakalarda virüs varlığının saptanmaması veya miktarının eksik gösterilmesiyle sonuçlanabilir. Tahlil tasarımının geçerliliği ve performansı düzenli aralıklarla revize edilmektedir.

Performans Özellikleri

Analitik hassasiyet

artus BK Virüsü RG PCR Kitinin analitik hassasiyetini belirlemek için 10 ila nominal 0,001 kopya eşdeğeri/ μ l şeklinde standart bir dilüsyon serisi oluşturulmuş ve *artus* BK Virüsü RG PCR Kitiyle kombinasyon halinde Rotor-Gene 6000 üzerinde analiz edilmiştir. Testler 8 replikatta 3 farklı günde yapılmıştır. Sonuçlar probit analiziyle belirlenmiştir. Rotor-Gene 6000 üzerinde probit analizinin grafik bir temsili Şekil 10'da verilmiştir. *artus* BK Virüsü RG PCR Kitinin Rotor-Gene Q MDx/Q/6000 ile kombinasyon halinde analitik saptama limiti 0,195 kopya/ μ l'dir ($p = 0,05$). Bu 0,195 kopya/ μ l saptanması olasılığının %95 olduğu anlamına gelir.



Şekil 10. Probit analizi: BK Virüsü (Rotor-Gene 6000). Rotor-Gene 6000 üzerinde *artus* BK Virüsü RG PCR Kitinin analitik hassasiyeti.

Özgüllük

artus BK Virüsü PCR Kit özgüllüğü öncelikle primer ve probaların seçilmesi ve ayrıca katı reaksiyon koşullarının seçilmesiyle sağlanır. Primerler ve probalar gen bankalarında yayımlanmış tüm dizilere olası homolojiler açısından sekans karşılaştırma analiziyle kontrol edilmiştir. Tüm ilgili suşların saptanabilirliği bu şekilde Rotor-Gene Aletleri üzerinde aşağıdaki suşlarla bir veri tabanı hizalaması ve bir PCR çalışmasıyla sağlanmıştır (bakınız Tablo 4).

Tablo 4. İlgili suşların özgüllüğünün test edilmesi

Virüs	Suş	Kaynak	BK Virüsü (Cycling Green)	Dahili kontrol (Cycling Orange)
BK virüsü	Dunlop	ATCC*	+	+
BK virüsü	Gardner	ATCC	+	+
BK virüsü	AB269822	Geneart	+	+
BK virüsü	S72390	Geneart	+	+

* American Type Culture Collection.

Ayrıca özgüllük 30 farklı BK virüs negatif plazma örneğiyle doğrulanmıştır. Bunlar BK Virüsü RG Master'a dahil edilen BK virüsüne spesifik primerler ve problarla herhangi bir sinyal oluşturmamıştır.

artus BK Virüsü RG PCR Kiti olası çapraz reaktivitesi Tablo 5'te liste halinde verilen kontrol grubu kullanılarak test edilmiştir. Test edilen patojenlerin hiçbiri reaktif bulunmamıştır. Karışık enfeksiyonlarla çapraz reaktivite görülmemiştir.

Tablo 5. Kitin özgüllüğünün potansiyel çapraz reaktif patojenlerle test edilmesi

Kontrol grubu	BK virüsü (Cycling Green)	Dahili kontrol (Cycling Orange)
Sitomegalovirüs	-	+
Epstein-Barr virüsü	-	+
İnsan herpesvirüsü 1 (herpes simpleks virüsü 1)	-	+
İnsan herpesvirüsü 2 (herpes simpleks virüsü 2)	-	+
İnsan herpesvirüsü 3 (Varisella zoster virüsü)	-	+
İnsan herpesvirüsü 6	-	+
JC virüsü	-	+
Simian virüsü 40	-	+
<i>Candida albicans</i>	-	+

Kesinlik

Rotor-Gene Aletleri yoluyla artus BK Virüsü RG PCR Kitinin kesinlik verileri toplanmıştır ve analizin total varyansının belirlenmesini mümkün kılar. Toplam varyans, tahlil içi değişkenlik (bir deneyde aynı konsantrasyondan örneklerin birden fazla sonucunun değişkenliği), tahliller arası değişkenlik (bir laboratuvarda farklı kullanıcılar tarafından aynı tipte farklı aletlerde oluşturulan birden fazla tahlil sonucunun değişkenliği) ve partiler arası değişkenlikten (çeşitli partiler kullanılarak tahlilin birden fazla sonucunun değişkenliği) oluşur. Elde edilen veriler patojene spesifik ve dahili kontrol PCR için varyasyon katsayısını, varyansı ve standart sapmayı belirlemek için kullanılmıştır.

artus BK Virüsü RG PCR Kitinin kesinlik verileri en düşük konsantrasyonun (QS 4; 1×10^1 kopya/ μ l) kantitasyon standardı kullanılarak toplanmıştır . Testler 8 replikatla yapılmıştır. Kesinlik verileri amplifikasyon eğrilerinin C_T değerleri temelinde hesaplanmıştır (C_T : eşik döngüsü, bakınız Tablo 6). Bu sonuçlar temelinde belirtilen konsantrasyonun bulunduğu herhangi bir örnekte genel istatistiksel dağılım %2,11 (C_T) ve dahili kontrolün saptanması için %3,59 (C_T) şeklindedir. Bu değerler belirlenmiş değişkenliklerin tüm tek değerlerinin toplamı temelindedir.

Tablo 6. C_T değerleri temelinde kesinlik verileri

	C_T değeri	Standart sapma	Varyasyon katsayısı (%)
Tahliller içi değişkenlik: BK Virüsü RG QS 4	29,45	0,17	0,56
Tahliller içi değişkenlik: Dahili kontrol	24,31	0,12	0,49
Tahliller arası değişkenlik: BK Virüsü RG QS 4	29,42	0,25	0,85
Tahliller arası değişkenlik: Dahili kontrol	23,30	0,77	3,30
Gruplar arası değişkenlik: BK Virüsü RG QS 4	30,31	0,64	2,10
Gruplar arası değişkenlik: Dahili kontrol	22,53	0,40	1,78
Toplam varyans: BK Virüsü RG QS 4	29,80	0,63	2,11
Toplam varyans: Dahili kontrol	23,12	0,83	3,59

Güçlülük

Güçlülüğün doğrulanması *artus* BK Virüsü RG PCR Kitinin toplam başarısızlık oranının belirlenmesini mümkün kılar. 30 BK virüs negatif örneğe 1 kopya/ μ l elüsyon hacminde BK virüs kontrol DNA eklenmiştir (analitik hassasiyet limitinin yaklaşık beş katı konsantrasyon). EZ1® DSP Virüs Kiti ekstraksiyonundan sonra (bakınız "DNA isolation", sayfa 9) bu örnekler *artus* Virüsü RG PCR Kiti ile analiz edilmiştir. 30 örneğin tümü için başarısızlık oranı %0'dır. Ayrıca dahili kontrolün güçlülüğü 30 BK virüs negatif örneğinin saflaştırılması ve analizi ile değerlendirilmiştir. Toplam başarısızlık oranı %0'dır. İnhibisyonlar gözlenmemiştir. Böylece *artus* BK Virüsü RG PCR Kitinin güçlülüğü \geq %99'dur.

Tekrar Üretilirlik

Tekrar üretilebilirlik verileri *artus* BK Virüsü RG PCR Kitinin düzenli performans değerlendirmesini ve ayrıca başka ürünlerle etkinlik karşılaştırmasına izin verir. Bu veriler belirlenmiş verimlilik programlarına katılımı elde edilir.

Diagnostik değerlendirme

Şu anda *artus* BK Virüsü RG PCR Kiti için bir dizi değerlendirme çalışması yapılmaktadır.

Referanslar

QIAGEN, QIAGEN ürünlerini kullanan bilimsel yayınların büyük ve güncel bir çevrimiçi veri tabanını tutmaktadır. Kapsamlı arama seçenekleri gereksinim duyduğunuz makaleleri basit bir anahtar kelimesi araması veya uygulama, araştırma alanı, başlık vesaire belirterek bulmanızı mümkün kılar.

Eksiksiz bir referans listesi için www.qiagen.com/RefDB/search.asp adresindeki çevrim içi QIAGEN Referans Veri Tabanını ziyaret edin veya QIAGEN Teknik Servis ya da yerel distribütörünüzle irtibat kurun.

Semboller



<N>

<N> test için yeterli reaktif içermektedir



Son Kullanma Tarihi



İn vitro diagnostik tıbbi cihaz



Katalog numarası

LOT

Lot numarası

MAT

Materyal sayısı

COMP

Bileşenler

CONT

İçindekiler

NUM

Numara

GTIN

Global Ticaret Madde Numarası



Sıcaklık sınırlaması



Üretici



Kullanma talimatına başvurun

İrtibat Bilgisi

Teknik yardım ve daha fazla bilgi için lütfen www.qiagen.com/Support adresindeki Teknik Destek Merkezimize gidin veya QIAGEN Teknik Servis Bölümlerinden ya da yerel distribütörlerden birini arayın (arka kapağa bakın veya www.qiagen.com) adresini ziyaret edin.

Sipariş Bilgisi

Ürün	İçindekiler	Kat. no.
<i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit (24)	24 reaksiyon için: Master, 4 Kantitasyon Standardı, Dahili Kontrol, Magnezyum Solüsyonu, Su (PCR sınıfı)	4514263
<i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit (96)	96 reaksiyon için: Master, 4 Kantitasyon Standardı, Dahili Kontrol, Magnezyum Solüsyonu, Su (PCR sınıfı)	4514265
EASYartus BK Virüsü RG PCR Kitleri — tümüyle CE-IVD uyumlu entegre otomatik örnek saflaştırma ve patojen saptama için		
EASYartus BK Virus RG PCR Kit 1	48 viral nükleik asit hazırlama ve 24 tahlil için: 1 x EZ1 DSP Virüs Kiti, 1 x <i>artus</i> BK Virüsü RG PCR Kiti (24)	EA11423
EASYartus BK Virus RG PCR Kit 2	48 viral nükleik asit hazırlama ve 48 tahlil için: 1 x EZ1 DSP Virüs Kiti, 2 x <i>artus</i> BK Virüsü RG PCR Kiti (24)	EA11424
EZ1 DSP Virüs Kiti — viral DNA ve RNA'nın 1–14 insan plazma, serum veya BOS örneğinden otomatik, eş zamanlı saflaştırılması için		
EZ1 DSP Virus Kit (48)	48 viral nükleik asit hazırlama için: Önceden Doldurulmuş Reaktif Kartuşları, Tek Kullanımlık Uç Tutucular, Tek Kullanımlık Filtre Uçları, Örnek Tüpleri, Elüsyon Tüpleri, Tamponlar, Taşıyıcı RNA	62724
Rotor-Gene Q MDx ve aksesuarları		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	5 kanallı (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) gerçek zamanlı PCR döngüleyici, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar; parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti; kurulum ve eğitim dahil değildir	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	5 kanallı (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) gerçek zamanlı PCR döngüleyici, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar; parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti; kurulum ve eğitim dahildir	9002023

Ürün	İçindekiler	Kat. no.
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	5 kanal (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) artı HRM kanallı gerçek zamanlı PCR döngüleyici ve yüksek çözünürlüklü eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti dahildir, kurulum ve eğitim dahil değildir	9002032
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	5 kanal (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) artı HRM kanallı gerçek zamanlı PCR döngüleyici ve yüksek çözünürlüklü eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti dahildir, kurulum ve eğitim dahildir	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	6 kanallı (mavi, yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) gerçek zamanlı PCR aleti, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti dahildir, kurulum ve eğitim dahil değildir	9002042
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	6 kanallı (mavi, yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) gerçek zamanlı PCR aleti, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti; kurulum ve eğitim dahildir	9002043
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	72 x 0,1 ml tüplerde tek kanallı pipetle manuel reaksiyon kurulumu için alüminyum blok	9018901
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	96 x 0,2 ml tüplerde standart 8 x 12 dizide manuel reaksiyon kurulumu için alüminyum blok	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	1000 reaksiyon için 4 tüp ve kapaklı 250 strip	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10.000 reaksiyon için 4 tüp ve kapaklı 10 x 250 strip	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 reaksiyon için 1000 ince duvarlı tüp	981005

Ürün	İçindekiler	Kat. no.
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10.000 reaksiyon için 10 x 1000 ince duvarlı tüp	981008

Güncel lisanslama bilgisi ve ürüne spesifik red beyanları için ilgili QIAGEN kiti el kitabı veya kullanıcı el kitabına bakınız. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları www.qiagen.com adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Servis veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır

Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır

Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır

Bu ürünün satın alınması, satın alan tarafından insan in vitro diagnostiği için diagnostik hizmetler yapılmasında kullanılmasına izin verir. Burada satın alma ile bu spesifik kullanım hakkı dışında herhangi bir türde herhangi bir genel patent veya başka lisans verilmemektedir.

Ticari markalar: QIAGEN®, artus®, EASYartus®, EZ1®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

Sınırlı Lisans Sözleşmesi

Bu ürünün kullanılması artus BK Virüsü RG PCR Kitinin herhangi bir satın alanı veya kullanıcısının şu şartları kabul ettiğini belirtir:

1. artus BK Virüsü RG PCR Kiti sadece artus BK Virüsü RG PCR Kiti Kılavuzuna göre ve bu Kite bulunan bileşenlerle kullanılabilir. QIAGEN, artus BK Virüsü RG PCR Kiti El Kitabı ve www.qiagen.com adresinde bulunan ek protokollerde tanımlananlar dışında bu kite dahil edilmemiş herhangi bir bileşen ile Kit içindeki bileşenleri kullanma veya birleştirme açısından herhangi bir fikri mülkiyet altında bir lisans vermez.
2. Açık olarak belirtilen lisanslar dışında QIAGEN bu kitin ve/veya kullanımının/kullanımlarının üçüncü tarafların haklarını ihlal etmediği konusunda garanti vermez.
3. Bu kit ve bileşenleri tek kullanım için lisanslanmıştır ve tekrar kullanılamaz, yenilenemez veya tekrar satılamaz.
4. QIAGEN açık olarak belirtilenler dışında açık veya zımni herhangi bir başka lisansı özellikle reddeder.
5. Kitin alıcısı ve kullanıcısı yukarıda yasaklanan herhangi bir eyleme neden olabilecek veya bunları kolaylaştırabilecek herhangi bir adım atmamayı veya başkasının atmasına izin vermemeyi kabul eder. QIAGEN bu Sınırlı Lisans Sözleşmesinin yasaklarını herhangi bir mahkemede yürürlüğe koyabilir ve kit ve/veya bileşenleriyle ilişkili herhangi bir fikri mülkiyet hakkı veya bu Sınırlı Lisans Sözleşmesini yürürlüğe koymak için tüm araştırma ve mahkeme masraflarını avukat masrafları dahil olmak üzere geri alacaktır.

Güncellenmiş lisans şartları için bakınız www.qiagen.com.

© 2009-2014 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

www.qiagen.com

Australia ■ Orders 1-800-243-800 ■ Fax 03-9840-9888 ■ Technical 1-800-243-066

Austria ■ Orders 0800-28-10-10 ■ Fax 0800-28-10-19 ■ Technical 0800-28-10-11

Belgium ■ Orders 0800-79612 ■ Fax 0800-79611 ■ Technical 0800-79556

Brazil ■ Orders 0800-557779 ■ Fax 55-11-5079-4001 ■ Technical 0800-557779

Canada ■ Orders 800-572-9613 ■ Fax 800-713-5951 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

China ■ Orders 86-21-3865-3865 ■ Fax 86-21-3865-3965 ■ Technical 800-988-0325

Denmark ■ Orders 80-885945 ■ Fax 80-885944 ■ Technical 80-885942

Finland ■ Orders 0800-914416 ■ Fax 0800-914415 ■ Technical 0800-914413

France ■ Orders 01-60-920-926 ■ Fax 01-60-920-925 ■ Technical 01-60-920-930 ■ Offers 01-60-920-928

Germany ■ Orders 02103-29-12000 ■ Fax 02103-29-22000 ■ Technical 02103-29-12400

Hong Kong ■ Orders 800 933 965 ■ Fax 800 930 439 ■ Technical 800 930 425

Ireland ■ Orders 1800 555 049 ■ Fax 1800 555 048 ■ Technical 1800 555 061

Italy ■ Orders 800-789-544 ■ Fax 02-334304-826 ■ Technical 800-787980

Japan ■ Telephone 03-6890-7300 ■ Fax 03-5547-0818 ■ Technical 03-6890-7300

Korea (South) ■ Orders 080-000-7146 ■ Fax 02-2626-5703 ■ Technical 080-000-7145

Luxembourg ■ Orders 8002-2076 ■ Fax 8002-2073 ■ Technical 8002-2067

Mexico ■ Orders 01-800-7742-639 ■ Fax 01-800-1122-330 ■ Technical 01-800-7742-436

The Netherlands ■ Orders 0800-0229592 ■ Fax 0800-0229593 ■ Technical 0800-0229602

Norway ■ Orders 800-18859 ■ Fax 800-18817 ■ Technical 800-18712

Singapore ■ Orders 1800-742-4362 ■ Fax 65-6854-8184 ■ Technical 1800-742-4368

Spain ■ Orders 91-630-7050 ■ Fax 91-630-5145 ■ Technical 91-630-7050

Sweden ■ Orders 020-790282 ■ Fax 020-790582 ■ Technical 020-798328

Switzerland ■ Orders 055-254-22-11 ■ Fax 055-254-22-13 ■ Technical 055-254-22-12

UK ■ Orders 01293-422-911 ■ Fax 01293-422-922 ■ Technical 01293-422-999

USA ■ Orders 800-426-8157 ■ Fax 800-718-2056 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

