

# artus<sup>®</sup> Parvo B19 RG PCR Kit kézikönyv



24 (katalógusszám: 4504263)

Kvantitatív in vitro diagnosztikai használatra

*Rotor-Gene<sup>®</sup> Q készülékekkel való használatra*

2018. június – 1. kiadás



4504263, 4504265



1112933 HU



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, NÉMETORSZÁG

R4

**MAT**

1112933 HU



## QIAGEN Sample and Assay Technologies

A QIAGEN, élvonalbeli termékkörrel rendelkezik az innovatív mintafeldolgozási és vizsgálati technológiák terén, lehetővé téve bármely biológiai minta tartalmának izolálását és detektálását. Korszerű, magas színvonalú termékeink és szolgáltatásaink biztosítják a sikert ügyfeleinknek a mintáktól az eredményekig.

### **A QIAGEN meghatározó az alábbi területeken:**

- DNS, RNS és fehérjék tisztítása
- Nukleinsav- és fehérjevizsgálatok
- mikro-RNS kutatás és RNSi
- Mintafeldolgozási és vizsgálati technológiák automatizálása

Küldetésünk, hogy Ön kimagasló sikerek és tudományos áttörések érjen el. További információkért látogasson el honlapunkra: [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Tartalomjegyzék

<b>1. A kit tartalma.....</b>	<b>5</b>
<b>2. Tárolás.....</b>	<b>5</b>
<b>3. A felhasználó által biztosítandó eszközök és reagensek.....</b>	<b>6</b>
<b>4. Általános óvintézkedések.....</b>	<b>6</b>
<b>5. Alkalmazási terület.....</b>	<b>6</b>
<b>6. Patogén információk.....</b>	<b>7</b>
<b>7. Real-Time PCR elve.....</b>	<b>7</b>
<b>8. Termékleírás .....</b>	<b>7</b>
<b>9. Protokoll.....</b>	<b>8</b>
9.1 DNS izolálás.....	8
9.2 Belső kontroll.....	11
9.3 Kvantifikálás .....	12
9.4 PCR előkészítése.....	13
9.5 A <i>Rotor-Gene Q</i> készülék programozása .....	17
<b>10. Eredmények értékelése .....</b>	<b>21</b>
<b>11. Hibaelhárítási útmutató .....</b>	<b>23</b>
<b>12. Teljesítmény-jellemzők .....</b>	<b>25</b>
12.1 Analitikai érzékenység.....	25
12.2 Specifitás .....	26
12.3 Precízió .....	27
12.4 Robusztusság.....	29
12.5 Reprodukálhatóság .....	29
<b>13. A termék használatának korlátjai .....</b>	<b>29</b>

<b>14. Figyelmeztetések és óvintézkedések.....</b>	<b>30</b>
<b>15. Minőség-ellenőrzés .....</b>	<b>30</b>
<b>16. Hivatkozás.....</b>	<b>30</b>
<b>17. Szimbólumok magyarázata .....</b>	<b>31</b>

## artus Parvo B19 RG PCR Kit

Rotor-Gene Q készülékekkel való használatra.

### 1. A kit tartalma

	Jelzések és tartalom	Katalógusszám: 4504263 24 reakció
<b>Kék</b>	<i>Parvo B19 RG/TM Master</i>	2 x 12 rxns
<b>Piros</b>	<i>Parvo B19 RG/TM QS 1<sup>a</sup> 1 x 10<sup>5</sup> IU/μl</i>	1 x 200 μl
<b>Piros</b>	<i>Parvo B19 RG/TM QS 2<sup>a</sup> 1 x 10<sup>4</sup> IU/μl</i>	1 x 200 μl
<b>Piros</b>	<i>Parvo B19 RG/TM QS 3<sup>a</sup> 1 x 10<sup>3</sup> IU/μl</i>	1 x 200 μl
<b>Piros</b>	<i>Parvo B19 RG/TM QS 4<sup>a</sup> 1 x 10<sup>2</sup> IU/μl</i>	1 x 200 μl
<b>Piros</b>	<i>Parvo B19 RG/TM QS 5<sup>a</sup> 1 x 10<sup>1</sup> IU/μl</i>	1 x 200 μl
<b>Zöld</b>	<i>Parvo B19 RG/TM IC<sup>a</sup></i>	1 x 1000 μl
<b>Fehér</b>	<i>Water (PCR grade) (Víz (PCR-minőségű))</i>	1 x 1000 μl

QS = Quantitation Standard (Kvantifikációs standard)

IC = Internal Control (Belső kontroll)

### 2. Tárolás

Az *artus Parvo B19 RG PCR Kit* komponenseit  $-15\text{ °C}$  és  $-30\text{ °C}$  közötti hőmérsékleten kell tárolni, ahol stabilak maradnak a címkén található lejárati időig. Kerülni kell az ismételt ( $> 2$  x) felolvasztást és lefagyasztást, mivel ez ronthatja a minőséget. Ha a reagenseket csak alkalomszerűen használja, alikvotokban, fagyasztva tárolja. A  $+4\text{ °C}$ -on történő tárolás ne haladja meg az 5 órát.

### 3. A felhasználó által biztosítandó eszközök és reagensok

- Egyszer használatos, púder mentes gumikesztyű
- DNS-izoláló kit (lásd **9.1. fejezet: DNS izolálás**)
- Pipetták (állítható)
- Steril, szűrős pipettahegyek
- Vortex keverő
- Asztali centrifuga\* 2 ml-es reakciócsöveknek megfelelő rotorral
- *Rotor-Gene Q készülék*, 2.3-as vagy magasabb szoftververzió
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, 72 cellás rotorral való használatra (katalógusszám: 981103 vagy 981106)
- Hűtőblokk (Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes, katalógusszám: 9018901)

### 4. Általános óvintézkedések

A felhasználónak a következőkre mindig figyelnie kell:

- Szűrővel rendelkező steril pipettahegyeket használjon.
- A pozitív anyagokat (minták, pozitív kontrollok és amplikonok) minden más reagenstől elkülönítve tárolja és dolgozza fel, és a reakciómixhez térben elkülönített helyen adja hozzá.
- Szobahőmérsékleten olvassa fel az összes komponenst a vizsgálat előtt.
- Amikor felolvadt, keverje össze a komponenseket és röviden centrifugálja le.
- A jégen vagy a hűtőblokkban gyorsan dolgozzon (72 cellás betöltési blokk).

### 5. Alkalmazási terület

Az artus Parvo B19 RG PCR Kit egy in vitro nukleinsav-amplifikációs teszt a parvovírus B19 DNS-ének emberi szérumban vagy EDTA-s plazmában történő kimutatására és mennyiségi meghatározására. A kit valós idejű

polimeráz láncreakciót (polymerase chain reaction, PCR) alkalmaz, és kialakítása révén együtt alkalmazható a QIAamp UltraSens Virus Kit, a QIAamp DNA Mini Kit kitekkel, valamint a Rotor-Gene Q készülékkel.

A kit nem használható a parvovirus B19-cel való fertőzés szűrésére vérben, illetve vérkészítményben. Az artus Parvo B19 RG PCR Kit egészségügyi szakemberek általi in vitro diagnosztikai használatra szolgál.

## 6. Patogén információk

A parvovirus B19 -el való fertőzések legnagyobb részre klinikailag tünetmentes. A parvovirus B19-el történő akut fertőződés tünetei influenzaszerűek, de hasonlíthat a rubeolára (rózsahimlő) és különösen felnőttek esetében reumatikus tüneteket mutatnak. Hemolitikus anémiában szenvedő betegeknél az aplasztikus krízis a legnagyobb esetben a Parvovirus B19 okozza. Néha súlyos magzati szövődmények is megfigyelhetők, különösen az anyai fertőzést követő második és harmadik trimeszter alatt.

## 7. Real-Time PCR elve

A kórokozó kimutatása polimeráz láncreakcióval (PCR) történik, mely a kórokozó genom specifikus szakaszának amplifikációján alapszik. A valós idejű PCR esetében az amplifikált terméket fluoreszcens festék által mutatja ki. A festék általában olyan oligonucleotidhoz van kapcsolva, mely specifikusan kötődik az amplifikált termékhez. A fluoreszcencia intenzitásának a PCR futtatása alatti (azaz valós idejű) követése lehetővé teszi a termék kimutatását és kvantifikálását anélkül, hogy a PCR-reakció végén ki kelljen nyitni a csöveket (Mackay, 2004).

## 8. Termékleírás

Az *artus Parvo B19 RG PCR Kit* egy használatra kész, parvovirus B19 DNS-t detektáló rendszer, mely polimeráz láncreakción (PCR) alapuló technológiát használ a *Rotor-Gene Q készüléken*. A *Parvo B19 RG/TM Master* tartalmaz

minden olyan reagenst és enzimet, mely szükséges a parvovírus B19 genom 76 bp-nyi régiójának specifikus amplifikálásához, valamint a specifikus ampikon közvetlen kimutatásához a *Rotor-Gene Q készülék* „Cycling A.Green” fluoreszcenciacsatornájában. Emelett az *artus Parvo B19 RG PCR Kit* egy másodlagos heterológ amplifikációs rendszert tartalmaz a lehetséges PCR gátlás azonosításához. Ezt a „Cycling A.Yellow” fluoreszcenciacsatorna *belső kontrollként (Internal Control, IC)* detektálja. A parvovírus B19 kimutatására szolgáló PCR (lásd **12.1. fejezet: Analitikai érzékenység**) kimutatási határa nem csökken. A kit külső pozitív kontrollokat is tartalmaz (*Parvo B19 RG/TM QS 1 – 5*), melyek lehetővé teszik a patogén felhalmozódás meghatározását. További információért kérjük nézze át a **Kvantifikálás** részt.

## 9. Protokoll

### 9.1 DNS izolálás

DNS izolálás a gyártók számos izoláló kitet ajánlanak. A DNS izolálási eljáráshoz a felhasznált minta mennyisége a használat protokolltól függ. Kérjük, hogy a DNS izolálást a gyártó felhasználói utasításai alapján kivitelezze. A következő izoláló kiteket javasoljuk:

Minta típusa	Nukleinsav izoláló kit	Katalógusszám	Gyártó	Hordozó RNS
Szérum, plazma	QIAamp® UltraSens® Virus Kit (50)	53 704	QIAGEN	tartalmaz
	QIAamp DNA Mini Kit (50)	51 304	QIAGEN	nem tartalmaz

- A **hordozó RNS** alkalmazása kritikus az extrakció hatékonyságára és ennek következtében a DNS/RNS kinyerésre. Ha a választott izoláló kit nem tartalmaz hordozó RNS-t, kérjük vegye figyelembe a hordozók izolációs rendszerbe történő bevitelét (RNA-Homopolymer Poly(A),



Amersham Biosciences, Cat. No. 27-4110-01) erősen ajánlott a sejtmentes testfolyadékokból, valamint alacsony DNS/RNS tartalmú mintákból (pl. agy-gerincvelő folyadék) történő nukleinsav-kinyeréshez.

Kérjük a következő esetekben az alábbiak szerint járjon el:

- a) Szuszpendáljuk fel a liofilizált hordozó RNS-t az extrakciós kit elúciós pufferének használatával (ne használjon lízispuffert) (pl. QIAamp DNA Mini Kit AE pufferét) és készítse el az oldatot 1 µg/µl hígítási koncentrációban. Az így elkészített hordozó RNS-t tartalmazó oldatból az Ön igényeinek megfelelő számú alikvotot készítsen és –15 °C és –30 °C között tárolja őket. Kerülje a hordozó RNS alikvotok ismételt (> 2 x) felolvasztását és lefagyasztását.
- b) 1 µg hordozó RNS-t 100 µl lízispufferrel használjon. Például, ha az extrakciós protokoll 200 µl lízispuffert javasol, kérjük adjon hozzá 2 µl hordozó RNS-t (1 µg/µl) közvetlenül a kimért lízispufferbe. Minden egyes extrakciós lépés előtt a lízispuffer és a hordozó RNS keverékét (és a *belső kontrollt*, adott esetben, lásd **9.2. fejezet: Belső kontroll**) frissen készítse elő az alábbi pipettázási táblázatot követve:

Mintaszám	1	12
Lízispuffer	pl. 200 µl	pl. 2400 µl
Hordozó RNS (1 µg/µl)	2 µl	24 µl
<b>Teljes térfogat</b>	<b>202 µl</b>	<b>2424 µl</b>
<b>Extrakciónkénti térfogat</b>	<b>200 µl</b>	<b>egyenként 200 µl</b>

- c) Kérjük a frissen készített lízispuffer és hordozó RNS keveréket azonnal használja fel az extrakcióhoz. A keverék tárolása nem lehetséges.
- A **hordozó RNS** alkalmazása kritikus az extrakció hatékonyságára és ennek következtében a DNS/RNS kinyerésre. QIAamp UltraSens Virus Kit használata során a hordozó RNS stabilitásának növelése érdekében, az

alábbi eljárást javasoljuk, mely eltérhet az extrakciós kit felhasználói kézikönyvében leírtaktól:

- a. Szuszpendálja fel a liofilizált hordozó RNS-t az extrakciós kit első használatára előtt 310 µl elúciós pufferben a kitben javasoltak alapján (végkoncentráció 1 µg/µl, ne használjon lízispuffert). Az így elkészített hordozó RNS-t tartalmazó oldatból az Ön igényeinek megfelelő számú alikvotot készítsen és -15 °C és -30 °C között tárolja őket. Kerülje a hordozó RNS alikvotok ismételt (> 2 x) felolvasztását és lefagyasztását.
- b. Minden egyes extrakciós lépés előtt a lízispuffer és a hordozó RNS keverékét (és a *belső kontrollt*, adott esetben, lásd **9.2. fejezet: Belső kontroll**) frissen készítse elő az alábbi pipettázási táblázatot követve:

Mintaszám	1	12
Lízispuffer AC	800 µl	9600 µl
Hordozó RNS (1 µg/µl)	5.6 µl	67.2 µl
<b>Teljes térfogat</b>	<b>805.6 µl</b>	<b>9667.2 µl</b>
<b>Extrakciónkénti térfogat</b>	<b>800 µl</b>	<b>egyenként 800 µl</b>

- c. Kérjük a frissen készített lízispuffer és hordozó RNS keveréket azonnal használja fel az extrakcióhoz. A keverék tárolása nem lehetséges.
- Az *artus* Parvo B19 RG PCR Kit legnagyobb detektálási érzékenységének eléréséhez ajánlott a DNS-t 50 µl elúciós pufferbe eluáljuk.
  - A **QIAamp UltraSens Virus Kit** lehetővé teszi a minta koncentrációját. Amennyiben szérumtól vagy plazmától eltérő kiindulási mintát használ, kérjük adjon negatív human plazmát legalább 50 % (v/v)-ban a mintához.
  - Amennyiben az izolálási protokollt **etanol** tartalmú mosópufferrel végzi, kérjük, hogy az elúció előtt további centrifugálási lépést (három perc, 13,000 rpm) illesszen be a protokollba, a visszamaradó etanol eltávolítására. Így megelőzhető a PCR lehetséges gátlása.

- Az *artus* Parvo B19 RG PCR Kit nem használható **fenol** alapú izoláló módszerekhez.

**Fontos:** Az *artus* Parvo B19 RG PCR Kit *belső kontrollja* közvetlenül az izolálási eljárásban használható (lásd **9.2. fejezet: Belső kontroll**).

## 9.2 Belső kontroll

A készlet részét képezi a *belső kontroll* is (*Parvo B19 RG/TM IC*). Ez lehetővé teszi a felhasználónak a **DNS-izolálási eljárás kontrollálását és az esetleges PCR-gátlás ellenőrzését**. (lásd 1. ábra). Ennek az eljárásnak a kivitelezéséhez adjon a *belső kontrollból* az elúciós térfogatoz 0.1 µl/1 µl arányban. Például, ha a QIAamp UltraSens Virus Kitet használja, akkor a DNS 50 µl AVE-pufferben kerül eluálásra. Ezért az eljárás elején 5 µl *belső kontrollt* szükséges hozzáadni. A felhasznált *belső kontroll* mennyisége **kizárólag** az elúciós térfogattól függ. A *belső kontrollt* és a hordozó RNS-t (lásd **9.1. fejezet: DNS izolálás**) csak az alábbiakhoz kell hozzáadni:

- lízispuffer és minta keveréke vagy
- közvetlenül a lízispufferhez.

A *belső kontrollt* nem szabad a feldolgozandó mintához adni. Amennyiben a lízispufferhez adta a *belső kontrollt*, ügyeljen arra, hogy a *belső kontrollt* és a lízispuffert és lízispuffert/hordozó RNS-t frissen készítse elő és azonnal használja fel (a keveréket szobahőmérsékleten vagy hűtőben tárolva a *belső kontroll* néhány órán belül tönkremegy, ezáltal csökkent extrakciós hatékonyságot okozhat). Kérjük, hogy a *belső kontrollt* és a hordozó RNS-t **ne** adja közvetlenül a mintához.

A *belső kontrollt* **kizárólag az esetleges PCR-gátlás ellenőrzésére is használhatja** (lásd 2. ábra). Ebben az esetben, adjon reakcióként 2 µl *belső kontrollt* közvetlenül 30 µl *Parvo B19 RG/TM Master* mixhez. Minden egyes

PCR-reakcióhoz 30 µl mesterkeveréket készítsen az előzőekben\* leírtak alapján, és adjon hozzá 20 µl tisztított mintát. Amennyiben a PCR-futtatást több mintára készíti elő, a mintaszámokhoz viszonyítva növelje a *Parvo B19 RG/TM Master* és a *belső kontroll* térfogatát (lásd **9.4. fejezet: PCR előkészítése**).

### 9.3 Kvantifikálás

A mellékelt *kvantifikációs standardok (Parvo B19 RG/TM QS 1–5)* a korábban már megtisztított mintáknak megfelelően kerülnek kezelésre, térfogatuk is azonos (20 µl). A standard görbe *Rotor-Gene Q készülékeken* történő létrehozásához mind az öt *kvantifikációs standardot* használni kell és az *Edit Samples* (Minták szerkesztése) menüablakban standardként kell ezeket meghatározni a megadott koncentrációikkal együtt (lásd *Rotor-Gene Q használati útmutató*). A standard görbét a fentiek alapján a későbbi futások során is létrehozhatjuk, feltéve, ha használunk legalább **egy** adott koncentrációjú standardot a futás során. Erre a célra az előzetesen elkészített standard görbét importálni kell a szoftverbe (lásd *Rotor-Gene Q használati útmutató*). Ez a módszer azonban eltérést generálhat az eredményekben a változékonyság miatt két különböző PCR futás között.

**Megjegyzés:** A *kvantifikálási standardok* mértékegysége IU/µl. A standard görbe által meghatározott értékeket az alábbi egyenlet segítségével lehet átszámolni a minták IU/ml értékeire:

$$\text{A mintában kapott eredmény (IU/ml)} = \frac{\text{Az eluátumban kapott eredmény (IU/µl)} \times \text{Elúciós térfogat (µl)}}{\text{Mintatérfogat (ml)}}$$

Felhívjuk figyelmét, hogy a fenti egyenletbe a kezdeti minta térfogatával kell számolni. Ezt figyelembe kell venni, amikor a minta térfogata különösen a nukleinsav extrakció során megváltozik (pl. centrifugálásnál csökken a

---

\* A PCR assay előkészítése során a *belső kontroll* hozzáadásával előidézett térfogat-növekedés elhanyagolható. A detektálórendszer érzékenységét ez nem befolyásolja.

térfogat vagy növekedhet a térfogat az izoláláshoz szükséges térfogat kiegészítési korrekció után).

## 9.4 PCR előkészítése

Győződjön meg róla, hogy a hűtőblokk (a *Rotor-Gene Q készülék* tartozéka) +4 °C-ra van előhűtve. Helyezze el a kívánt mennyiségű PCR-csövet a hűtőblokkba. Győződjön meg róla, hogy a PCR futásonként legalább egy pozitív kontrollt és egy negatív kontrollt (*PCR tisztaságú víz*) tartalmaz. Standard görbe létrehozásához használja fel az összes, kitben lévő *Kvantifikációs standardot (Parvo B19 RG/TM QS 1 – 5)* minden egyes PCR futáshoz. Minden használat előtt az összes reagenst teljesen fel kell olvasztani, össze kell keverni (ismételt fel és le pipettázással vagy gyors vortexeléssel), és röviden centrifugálni.

Ha *belső kontrollt* használ a **DNS-izolálási eljárás kontrollálására és az esetleges PCR-gátlás ellenőrzésére**, az már hozzá van adva az izoláláshoz (lásd **9.2. fejezet: Belső kontroll**). Ebben az esetben kövesse az alábbi pipettázási vázlatot (vázlatos áttekintés 1. ábra):

	Mintaszám	1	12
<b>1. Master Mix előkészítése</b>	<i>Parvo B19 RG/TM Master</i>	30 µl	360 µl
	<i>Parvo B19 RG/TM IC</i>	0 µl	0 µl
	<b>Teljes térfogat</b>	<b>30 µl</b>	<b>360 µl</b>
<b>2. PCR assay előkészítése</b>	Master Mix	30 µl	egyenként 30 µl
	Minta	20 µl	egyenként 20 µl
	<b>Teljes térfogat</b>	<b>50 µl</b>	<b>egyenként 50 µl</b>

Ha *belső kontrollt* **csak az esetleges PCR-gátlás ellenőrzésére használja**, közvetlenül az *Parvo B19 RG/TM Master* mixhez adja hozzá. Ebben az esetben kövesse az alábbi pipettázási vázlatot (vázlatos áttekintés 2. ábra):

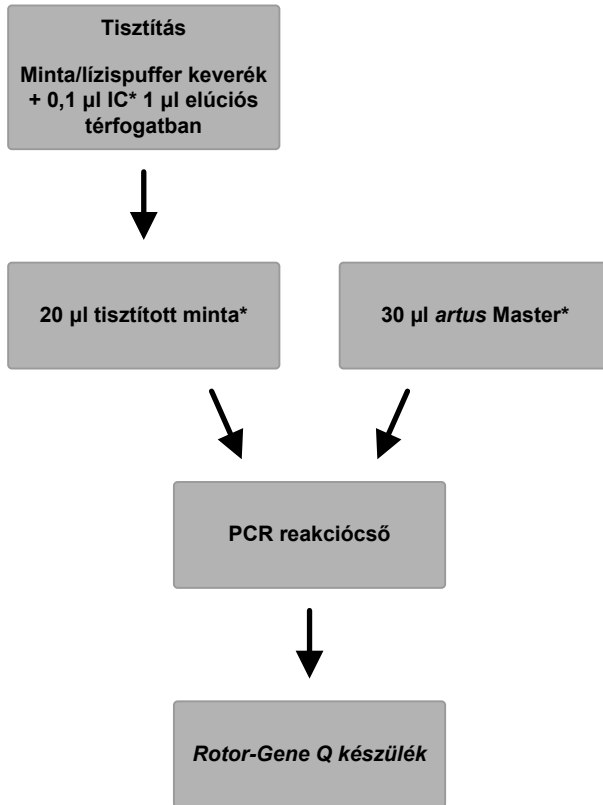
	Mintaszám	1	12
<b>1. Master Mix előkészítése</b>	<i>Parvo B19 RG/TM Master</i>	30 µl	360 µl
	<i>Parvo B19 RG/TM IC</i>	2 µl	24 µl
	<b>Teljes térfogat</b>	<b>32 µl*</b>	<b>384 µl</b>
<b>2. PCR assay előkészítése</b>	Master Mix	30 µl	egyenként 30 µl
	Minta	20 µl	egyenként 20 µl
	<b>Teljes térfogat</b>	<b>50 µl</b>	<b>egyenként 50 µl</b>

Pipetázzon 30 µl master mixet minden egyes PCR-csőbe. Ezután adjon hozzá 20 µl-t az eluált minta DNS-ből minden egyes csőbe majd ismételt fel-le pipetázással keverje össze. Ennek megfelelően adjon hozzá legalább egy 20 µl *kvantifikációs standardot (Parvo B19 RG/TM QS 1 – 5)* mint pozitív kontrollt és 20 µl vizet (*Water, PCR grade*) mint negatív kontrollt. Zárja le a PCR csöveket. Győződjön meg róla, hogy a *zárógyűrű (a Rotor-Gene Q készülék tartozéka)* a rotor tetején helyezkedik el, hogy megakadályozza a csövek véletlenszerű kinyílását a futtatás alatt.

---

\* A PCR assay előkészítése során a *belső kontroll* hozzáadásával előidézett térfogatnövekedés elhanyagolható. A detektálórendszer érzékenységét ez nem befolyásolja.

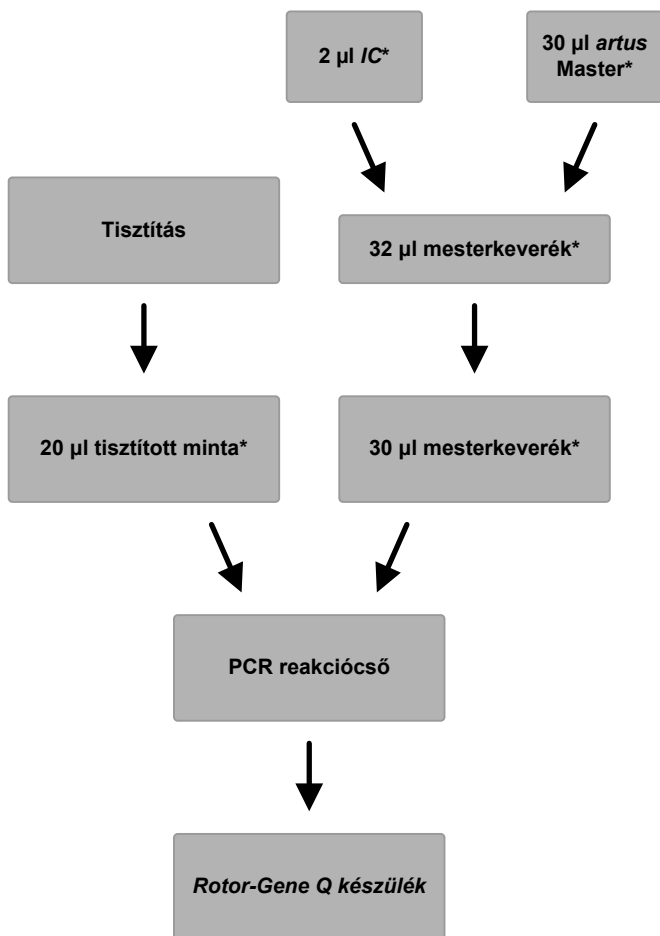
## A Belső kontroll hozzáadása a tisztítási eljáráshoz



1. ábra: Sematikus munkafolyamat a tisztítási eljárás és PCR gátlás ellenőrzéséhez.

\*Kérjük ügyeljen arra, hogy az oldatot megfelelően rázza össze, jól keverje fel és óvatosan centrifugálja le.

## Az *artus* master mixhez történő *belső kontroll* hozzáadása



2. ábra: Sematikus munkafolyamat a PCR gátlás ellenőrzéséhez.

\* Kérjük ügyeljen arra, hogy az oldatot megfelelően rázza össze, jól keverje fel és óvatosan centrifugálja le.



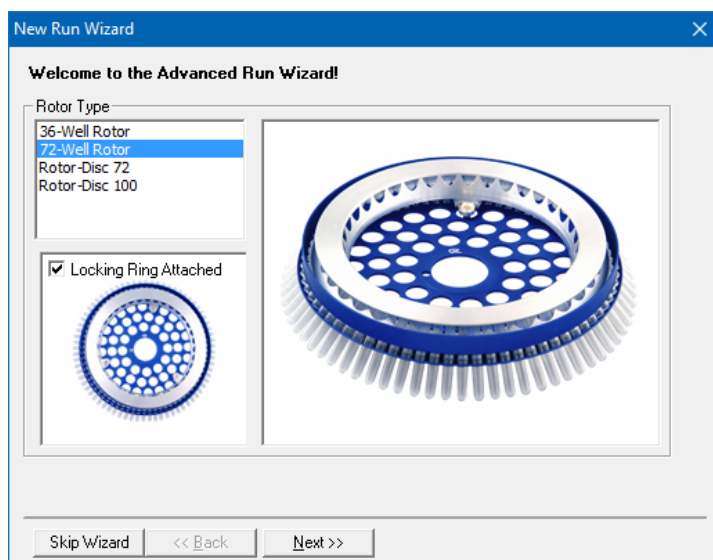
## 9.5 A Rotor-Gene Q készülék programozása

A Parvo B19 DNS detektálására készítsen el egy hőmérsékletprofilot *Rotor-Gene Q készülékén* az alábbi öt lépés alapján (lásd 4. ábra – 7).

- |    |  |         |
|----|--|---------|
| A. | Általános assay paraméterek beállítása             | 4. ábra |
| B. | A hot-start enzim kezdeti aktiválása               | 5. ábra |
| C. | DNS amplifikáció                                   | 6. ábra |
| D. | Fluoreszcens csatornák érzékenységének beállítása  | 7. ábra |
| E. | Futtatás indítása a <i>Rotor-Gene Q készüléken</i> | 8. ábra |

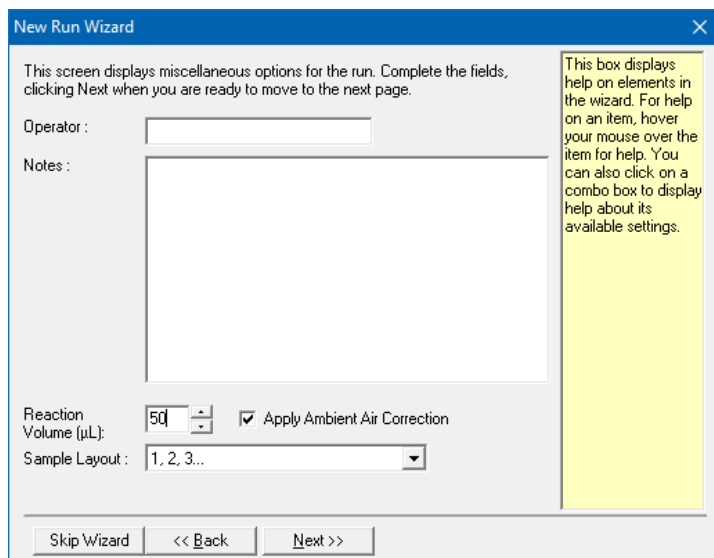
Minden specifikáció a *Rotor-Gene* szoftver 2.3-as verziójára vonatkozik. További programozási információt a *Rotor-Gene Q készülékhez* a *Rotor-Gene Q használati útmutatójában* talál.

Először válassza a „New Run” (Új futtatás) párbeszédpanel Advanced (Speciális) lapfűlén az „Empty Run” (Futtatás üresen) opciót. A „Rotor Type” (Rotor típusa) panelen válassza ki a „72-Well Rotor” (72 cellás rotor) opciót, jelölje be a „Locking Ring Attached” (Zárógyűrű csatlakoztatva) jelölőnégyzetet, majd kattintson a „Next” (Tovább) gombra.



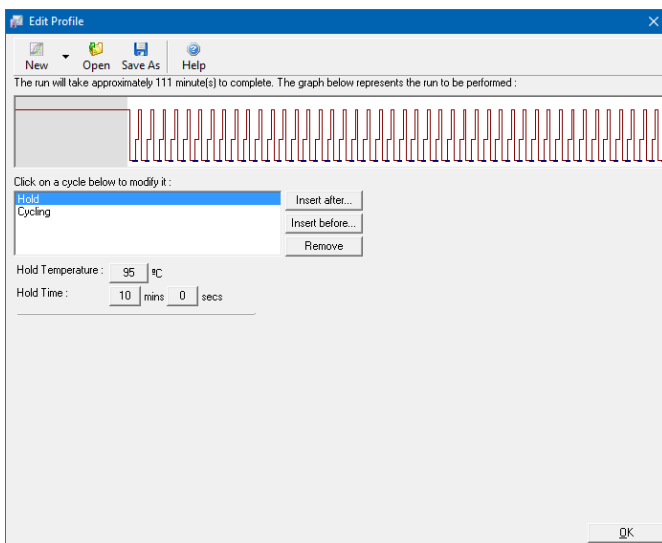
3. ábra: Az új futtatás varázsló üdvözlőképernyője.

Ezután adja meg a PCR-reakció térfogatát a *New Run Wizard* (Új futtatás varázsló) következő párbeszédablakában (lásd 4. ábra).

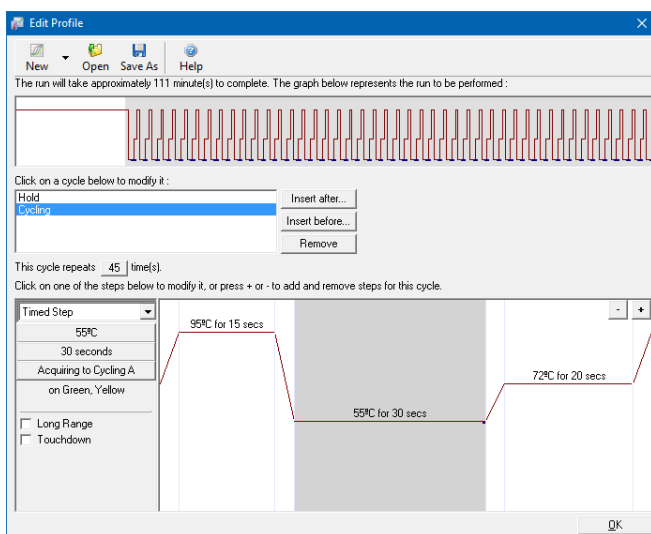


4. ábra: Általános assay paraméterek beállítása.

A hőmérsékletprofil programozása az *Edit* (Szerkesztés) gomb megnyomásával hajtható végre a *New Run Wizard* (Új futtatás varázsló) következő menüablakában (lásd 5. ábra és 6. ábra).

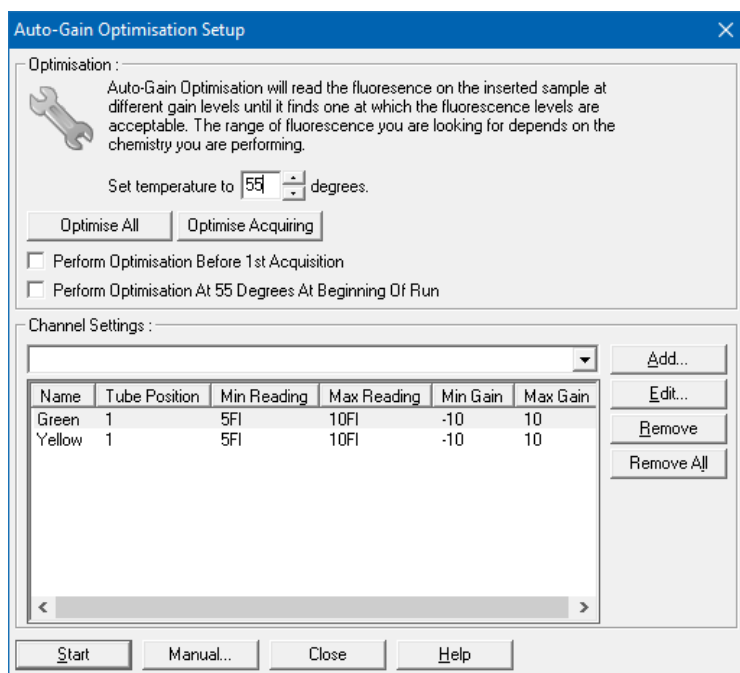


5. ábra: A hot-start enzim kezdeti aktiválása.



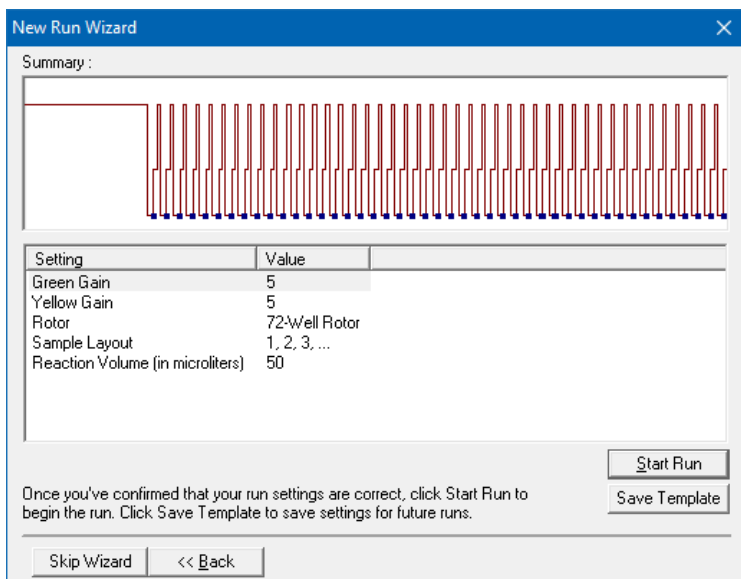
6. ábra: DNS amplifikálása.

A fluoreszcens csatornák érzékelési tartományát a PCR-csővekben található fluoreszcencia intenzitása alapján kell meghatározni. Ez a beállítás az *Auto Gain Optimisation Setup* (Automatikus jeloptimalizálás beállítása) menüablakban hajtható végre (a *Gain Optimisation* (Jelerősség optimalizálása) lehetőség alatt a *New Run Wizard* (Új futtatás varázsló) menüablakban aktiválható). Állítsa a kalibrálási hőmérsékletet az amplifikációs program hőlagýítási hőmérsékletére (lásd 7. ábra), válassza ki az „Optimise Acquiring” (Kinyerés optimalizálása) opciót, és indítsa el az eljárást.



7. ábra: Fluoreszcens csatornák érzékenységének beállítása.

Az automatikus jeloptimalizálással meghatározott jelerősség-értékek automatikusan mentésre kerülnek és a programozási eljárás utolsó menüablakában listázásra kerülnek (lásd 8. ábra).



8. ábra: Futtatás indítása a Rotor-Gene Q készüléken.

## 10. Eredmények értékelése

Az eredmények értékelése a *Rotor-Gene* szoftver segítségével történik a gyártó által meghatározott utasítások alapján (*Rotor-Gene Q használati útmutató*).

A következő eredmények fordulhatnak elő:

1. A jelet a Cycling A.Green fluoreszcenciacsatorna érzékeli.

**A vizsgálat eredménye pozitív: A minta parvovirus B19 DNS-t tartalmaz.**

Ebben az esetben a Cycling A.Yellow csatornában észlelt jel elhanyagolható, mivel a parvovirus B19 DNS kezdeti magas koncentrációja (pozitív jel a Cycling A.Green csatornában) a *belső kontroll* fluoreszcens jelének csökkenéséhez vagy hiányához vezethet (kompetíció) a Cycling A.Yellow csatornában.

2. Nincs detektálható jel a Cycling A.Green fluoreszcenciacsatornában. Ugyanakkor ezzel egyidőben a *belső kontroll* jele megjelenik a Cycling A.Yellow csatornában.

**A mintában nincs detektálható parvovirus B19 DNS. Negatívnak tekinthető.**

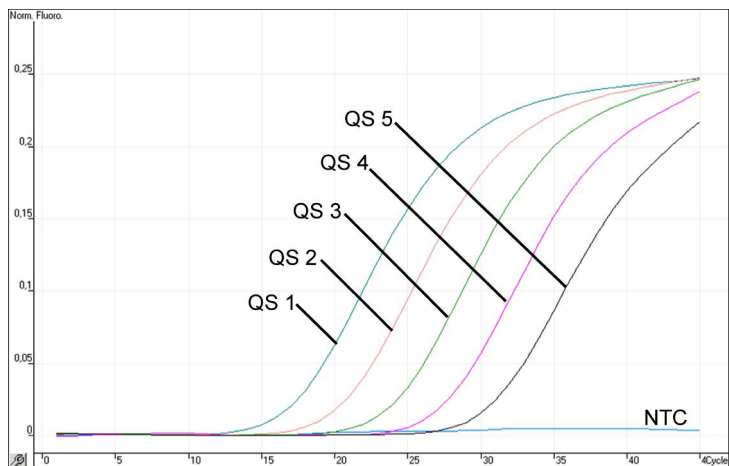
A negatív parvovirus B19 PCR esetében a *belső kontroll* detektált jele alapján kizárható a PCR gátlás lehetősége.

3. Sem a Cycling A.Green, sem pedig a Cycling A.Yellow csatornában nincs detektálható jel.

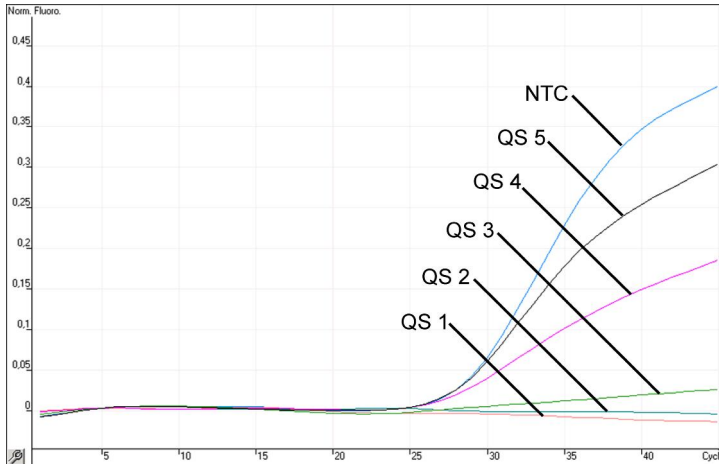
**Nem határozható meg eredmény.**

A hibák forrásai és megoldásuk módjai a **11. fejezet: Hibaelhárítási** útmutató részben olvashatók.

A pozitív és negatív PCR-reakciókra a 9. ábra és 10. ábra mutat példákat.



9. ábra: *Kvantifikációs standardok* detektálása (*Parvo B19 RG/TM* QS 1–5) a Cycling A.Green fluoreszcenciacsatornában. NTC: nem-templát kontroll (negatív kontroll).



10. ábra: A *belső kontroll (IC)* detektálása a Cycling A.Yellow fluoreszcenciacsatornában a *kvantifikációs standardok (Parvo B19 RG/TM QS 1–5)* egyidejű amplifikálásával. NTC: non-template control (nem-templát kontroll) (negatív kontroll).

## 11. Hibaelhárítási útmutató

**A pozitív kontroll (*Parvo B19 RG/TM QS 1–5*) nem ad jelet a Cycling A.Green fluoreszcens csatornában:**

- A PCR adatok elemzéséhez választott detektáló festék nem felel meg a protokollnak.
  - A parvovírus B19 analitikai PCR adatok elemzéséhez válassza ki az A.Green fluoreszcenciacsatornát, a *belső kontroll* PCR adatainak elemzéséhez pedig az A.Yellow fluoreszcenciacsatornát.
- A *Rotor-Gene Q készülék* hőmérsékletprofiljának nem megfelelő programozása.
  - Hasonlítsa össze a hőmérsékletprofilját a protokollal (lásd **9.5. fejezet: A Rotor-Gene Q készülék programozása**).

- PCR reakció helytelen összemérése.
  - Ellenőrizze a munkalépéseket a pipettázási vázlat alapján (lásd **9.4. fejezet: PCR előkészítése**), és ismételje meg a PCR-futtatást, amennyiben szükséges.
- A kit egy vagy több részegysége esetében a tárolási körülmények nem feleltek meg a 2. fejezet: **Tárolás** részben leírtaknak, vagy az *artus* Parvo B19 RG PCR Kit lejárt.
  - Ellenőrizze a tárolási körülményeket és a reagensek lejáratát dátumát (lásd a kit címkéjét), és használjon új kitet, amennyiben szükséges.

**A *belső kontroll* jele gyengén vagy egyáltalán nem detektálható a Cycling A.Yellow fluoreszcenciacsatornában és emellett nem detektálható jel a Cycling A.Green csatornában:**

- A PCR körülményei nem felelnek meg a protokollnak.
  - Ellenőrizze a PCR körülményeket (lásd fentebb) és ismételje meg a PCR futtatást a helyes beállításokkal, amennyiben szükséges.
- A PCR gátolt.
  - Győződjön meg arról, hogy a javasolt izolálási módszer szerint járt el (lásd **9.1. fejezet: DNS izolálás**), és szigorúan tartsa be a gyártó utasításait.
  - Győződjön meg arról, hogy a DNS-izolálás alatt a javasolt további centrifugálási lépés kivitelezése az elúció előtt megtörtént, és a visszamaradt etanol eltávolításra került a rendszerből (lásd **9.1. fejezet: DNS izolálás**).
- Az extrakció során a DNS elveszett.
  - Amennyiben a *belső kontroll* hozzá lett adva az extrakcióhoz, a *belső kontroll* meglévő jele utalhat a DNS elvesztésére az extrakciós lépés alatt. Győződjön meg arról, hogy a javasolt izolálási módszer szerint járt el (lásd **9.1. fejezet: DNS izolálás**) és szigorúan tartsa be a gyártó utasításait.
- A kit egy vagy több részegysége esetében a tárolási körülmények nem feleltek meg a 2. fejezet: **Tárolás** részben leírtaknak, vagy az *artus* Parvo B19 RG PCR Kit lejárt.



- Ellenőrizze a tárolási körülményeket és a reagensek lejárat dátumát (lásd a kit címkéjét), és használjon új kitet, amennyiben szükséges.

### **A negatív kontrollok esetében jelek találhatóak az analitikai PCR Cycling A.Green fluoreszcenciacsatornában.**

- Szennyeződés történt a PCR előkészítése során.
  - Ismétlje meg a PCR futást replikátumban új reagensekkel.
  - Amennyiben lehetséges, zárja le a PCR csövet közvetlenül a vizsgálati minta hozzáadása után.
  - A pozitív kontrollt szigorúan a végén pipettázza az elegyhez.
  - Győződjön meg róla, hogy a munkafelület és a készülékek tisztítása rendszeresen megtörténjen.
- Szennyeződés történt az extrakció során.
  - Ismétlje meg az extrakciót és a PCR futást a vizsgálni kívánt mintával és új reagensekkel.
  - Győződjön meg róla, hogy a munkafelület és a készülékek tisztítása rendszeresen megtörténjen.

Ha bármilyen további kérdése van vagy ha probléma merülne fel kérjük forduljon bizalommal a műszaki szolgálatunkhoz.

## **12. Teljesítmény-jellemzők**

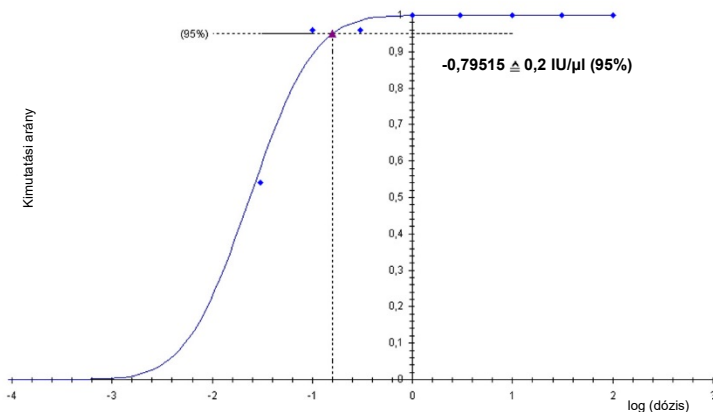
### **12.1 Analitikai érzékenység**

Az *artus* Parvo B19 RG PCR Kit analitikai érzékenységének meghatározásához egy 100–0,03 parvovírus B19 IU\*/ $\mu$ l névleges értéknek megfelelő standard hígítási sort kell készíteni és az *artus* Parvo B19 RG PCR Kit segítségével vizsgálni. A vizsgálatot három különböző napon nyolc párhuzamos mintával végezték. Az eredményeket probit-elemzéssel határozták meg. A probit-elemzés grafikai megjelenítése itt látható: 11. ábra.

---

\* A standard egy klónozott PCR-termék, melynek koncentrációját abszorpciós és fluoreszcens spektroszkópia segítségével határozták meg.

Az *artus* Parvo B19 RG PCR Kit analitikai érzékenysége 0.2 IU/μl ( $p = 0.05$ ).  
Ez azt jelenti, hogy 0.2 IU/μl 95 % -a detektálásra kerül.



11. ábra: Az *artus* Parvo B19 RG PCR Kit analitikai érzékenysége.

## 12.2 Specifitás

Az *artus* Parvo B19 RG PCR Kit analitikai specifitását a gondosan válogatott oligonukleotidok biztosítják (primerek és próbák). Az oligonukleotidokat szekvencia-összehasonlítási elemzés során nyilvánosan hozzáférhető szekvenciákkal ellenőrizték, hogy valamennyi releváns genotípust detektálhassák.

A specifitás validálására további hat különböző parvovirus B19 negatív szérum mintát teszteltek. A tesztelt patogének egyike sem mutatott keresztreaktivitást a parvovirus B19 specific primerekkel és próbákkal, melyet a *Parvo B19 RG/TM Master* mix tartalmaz.

Az *artus* Parvo B19 RG PCR Kit specifitásának meghatározása a következő táblázatban felsorolt kontroll csoportokkal lett tesztelve (1. táblázat). A tesztelt patogének egyike sem mutatott keresztreaktivitást.

1. táblázat: A kit specificitásának vizsgálata potenciális keresztreaktív patogénekekkel

Kontroll csoport	Parvovirus B19 (Cycling A.Green)	Belső kontroll (Cycling A.Yellow)
Humán herpeszvírus 1 (Herpes simplex vírus 1)	-	+
Humán herpeszvírus 2 (Herpes simplex vírus 2)	-	+
Humán herpeszvírus 3 (Varicella-zoster vírus)	-	+
Humán herpeszvírus 5 (Cytomegalovírus)	-	+
Humán T cell leukaemia vírus 1	-	+
Humán T cell leukaemia vírus 2	-	+

### 12.3 Precízió

Az *artus* Parvo B19 RG PCR Kit precíziós adatai által meghatározhatjuk a vizsgálatok teljes variabilitásának összegét. A teljes variabilitás a vizsgálaton belüli variabilitásból (**intra-assay variability**) (azonos koncentrációjú minták egy kísérletben mért eredményeinek variabilitása), a vizsgálatok közötti variabilitásból (**inter-assay variability**) (egy laboratóriumon belül különböző, de azonos típusú készüléken, több operator által végzett vizsgálatok eredményeinek variabilitása) és a gyártási tételek közötti variabilitásból (**inter-batch variability**) (különböző gyártási tételek felhasználásával végzett vizsgálatok eredményeinek variabilitása) áll. A mért adatok alapján meghatározásra került a patogén-specifikus, illetve a *belső kontroll* PCR eredmények szórása, varianciája és variációs koefficiense.

Az *artus* Parvo B19 RG PCR Kit pontossági adatai a legkisebb koncentrációjú *kvantitációs standard* (QS 5; 10 IU/μl) pontossági adatai a legkisebb koncentrációjú kvantitációs standard. A vizsgálatot 8 párhuzamos mintával végezték. A pontossági adatokat az amplifikációs görbe CT-értéke alapján határozták meg (Ct: küszöbciklus, lásd 2. táblázat). Továbbá a pontossági adat IU/μl ben megadott kvantitatív eredményét a megfelelő Ct használatával határozták meg (lásd 3. táblázat). Ezen eredmények alapján bármely, a fenti

koncentrációjú adott minta átlagos statisztikai eloszlása: 1.66 % (Ct) vagy 17.65 % (konc.), *belső kontroll* detektálásakor 0.90 % (Ct). Ezek az értékek a meghatározott variabilitás minden egyes értékén teljességén alapszanak.

2. táblázat: Precíziós adatok a Ct értékek alapján

	Standard deviáció	Variancia	Variációs koefficiens [%]
Intra-assay variabilitás: <i>Parvo B19 RG/TM QS 5</i>	0.22	0.05	0.75
Intra-assay variabilitás: <i>Belső kontroll</i>	0.18	0.03	0.80
Inter-assay variabilitás: <i>Parvo B19 RG/TM QS 5</i>	0.32	0.10	1.11
Inter-assay variabilitás: <i>Belső kontroll</i>	0.19	0.03	0.84
Inter-batch variabilitás: <i>Parvo B19 RG/TM QS 5</i>	0.38	0.14	1.47
Inter-batch variabilitás: <i>Belső kontroll</i>	0.21	0.04	0.92
Teljes variancia: <i>Parvo B19 RG/TM QS 5</i>	0.48	0.23	1.66
Teljes variancia: <i>Belső kontroll</i>	0.20	0.04	0.90

3. táblázat: Precíziós adatok a kvantitatív eredmények alapján (IU/μl-ben).

	Standard deviáció	Variancia	Variációs koefficiens [%]
Intra-assay variabilitás: <i>Parvo B19 RG/TM QS 5</i>	0.96	0.93	9.58
Inter-assay variabilitás: <i>Parvo B19 RG/TM QS 5</i>	1.33	1.78	13.22
Inter-batch variabilitás: <i>Parvo B19 RG/TM QS 5</i>	2.27	5.17	22.20
Teljes variancia: <i>Parvo B19 RG/TM QS 5</i>	1.79	3.21	17.65

## 12.4 Robusztusság

Az *artus* Parvo B19 RG PCR Kit robusztusságának ellenőrzése lehetővé teszi a kit teljes hibaszázalékának meghatározását. 30 parvovirus B19 negatív szérum mintát kezeltek 1 IU/μl elúciós térfogatú parvovirus B19 kontroll DNS-el (kimutatási határ ötszörös koncentrációja). A QIAamp DNA Mini Kit segítségével (lásd **9.1. fejezet: DNS izolálás**) végrehajtott extrakció után az *artus* Parvo B19 RG PCR Kit segítségével vizsgálták ezeket a mintákat. Az összes parvovirus B19 minta hibaszázaléka 0 % volt. Továbbá, a *belső kontroll* robusztusságának értékelése a 30 parvovirus B19 negatív szérum minták vizsgálata alapján történt. A teljes hibaszázalék 0 % volt. Gátlás nem volt megfigyelhető. Így az *artus* Parvo B19 RG PCR Kit robusztussága  $\geq 99\%$ .

## 12.5 Reprodukálhatóság

A reprodukálhatósági adatok lehetővé teszik az *artus* Parvo B19 RG PCR Kit teljesítmény-jellemzőinek rendszeres mérését, valamint más termékekkel történő hatékonysági összehasonlítást. Ezek az adatok laboratóriumi szakmai alkalmassági programokban történő részvételből származnak.

## 13. A termék használatának korlátjai

- Minden reagens kizárólag in vitro diagnosztikai célra használható.
- Ezt a terméket kizárólag olyan személy használhatja, aki képzett és gyakorlott az in vitro diagnosztikai eljárások területén.
- Az optimális PCR-eredmények eléréséhez a felhasználói kézikönyv pontos követése szükséges.
- Figyelní kell a dobozon és minden összetevő címkéjén található lejáratí időkire. Ne használjon lejárt reagenst.
- Egyes genotípusok meghatározásához 3-specifikus szekvencia szükséges így a teljesítmény nem garantált. A primer/próbák kötődési régiójában lévő esetleges mutációk miatt az érzékenység csökkenhet. (Baylis and Buchheit, 2009).

- Bár ez ritka jelenség, a virális genom nagyon konzervatív régióiban a kitben található primerek és/vagy próbák által lefedett területeken kialakuló mutációk a vírusszám alulbecslését, vagy a vírusjelenlét kimutatásának hibáját eredményezhetik. Az assay érvényességét és kivitelezhetőségét rendszeres időközönként felülvizsgálják.

## 14. Figyelmeztetések és óvintézkedések

A vegyszerekkel végzett munka alatt, mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, eldobható kesztyűt és védőszemüveget. További információjáért, kérjük olvassa el a megfelelő biztonsági adatlapokat (SDS). Ezek elérhetők online, a [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) weboldalon, jól kezelhető, kompakt PDF formátumban; a weboldalon megtalálható, megtekinthető és kinyomtatható az egyes QIAGEN® kitek és kitben található komponensek biztonsági adatlapja.

A mintát és a vizsgálat hulladékait a helyi biztonsági előírásoknak megfelelően távolítsa el.

## 15. Minőség-ellenőrzés

A QIAGEN ISO -minősített minőség-ellenőrzési rendszerének megfelelően az *artus* Parvo B19 RG PCR Kit minden egyes gyártási tételét leellenőrzik, hogy az megfelel-e az előírt paramétereknek, ezzel biztosítják a kit egyenletes és kifogástalan minőségét.

## 16. Hivatkozás

Baylis SA, Buchheit KH. A proficiency testing study to evaluate laboratory performance for the detection of different genotypes of parvovirus B19. *Vox Sang.* 2009; 97 (1): 13 – 20.

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

## 17. Szimbólumok magyarázata



Lejárat dátum



Tételszám



Gyártó



Katalógusszám



Anyagszám



Kézikönyv



In vitro diagnosztikai orvosi eszköz



Komponensek



Tartalom



Számok



Globális kereskedelmi áruazonosító szám (GTIN)



<N>

Vizsgálat elvégzéséhez elegendő <N> tesztet tartalmaz



Hőmérséklet korlátozás



Olvassa el a használati utasítást

**QS**

*Kvantifikációs standard*

**IC**

*Belső kontroll*

## artus Parvo B19 RG PCR Kit

### Védjegyek és jogi nyilatkozatok

QIAGEN®, QIAamp®, artus®, Rotor-Gene®, UltraSens® (QIAGEN Group).

Dokumentum átdolgozási előzményei	
R4 2018. 06.	Ez az artus Parvo RG PCR Kit kézikönyvének 4. átdolgozása. A dokumentum előző verziójához képest történt változások a következők: egy alkalmazási területtel kapcsolatos nyilatkozat hozzáadása, a diagnosztikai kiértékelés rész eltávolítása, a 36 cellás rotorra és a 0,2 ml-es csövekre vonatkozó említés eltávolítása, valamint a Rotor-Gene Q készülék és a szoftver jelenleg elérhető verziókra történő frissítése.

A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvényi védelem kivül esőnek, ha nem rendelkeznek külön jelöléssel.

Az *artus Parvo B19 RG PCR Kit CE*- minősített diagnosztikai kit az Európai In Vitro Diagnosztikai Direktíva 98/79/EC alapján. Nem minden országban elérhető.

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN kit kézikönyvében vagy felhasználói útmutatójában található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói útmutatói a [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) webhelyen érhetők el, vagy a QIAGEN Műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

Ennek a terméknek a megvásárlása feljogosítja a vevőt a kit humán in vitro diagnosztikai szolgáltatás teljesítményszinten való használatra. A vásárlással megszerzett használati jogon kívül semmilyen általános szabadalmi vagy bármilyen más licenc engedélyre nem jogosít ez a megállapodás.

#### Korlátozott Licenc megállapodás

Ennek a terméknek a használatával bármely *artus Parvo B19 RG PCR Kit* beszerzője és használója egyetért az alábbi feltételekkel:

1. Az *artus Parvo B19 RG PCR Kit* a hozzá adott *artus Parvo B19 RG PCR Kit Handbook* kézikönyvben szereplő protokollokkal összhangban és csak a készletben található elemekkel együtt használható. A QIAGEN semmilyen esetben sem engedélyezi a szellemi tulajdonjoga értelmében, hogy a jelen kitben lévő elemeket a kitben nem megtalálható elemekkel együtt használják vagy azokba beépítsék, kivéve abban az esetben, ha az szerepel az *artus Parvo B19 RG PCR Kit kézikönyvében* vagy a [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) honlapon található további protokollok valamelyikében.
2. A kifejezett licencen kívül a QIAGEN nem vállal garanciát arra, hogy ez a készlet és/vagy ennek használata harmadik fél jogait nem sérti.
3. A kit és összetevőinek licence csak egyszeri használatra érvényes, nem szabad azt újra felhasználni, felújítani vagy újra értékesíteni.
4. A QIAGEN egyértelműen elutasít minden más (kifejezett vagy hallgatólagosan beleértett) licencet, amelyet külön nem nyilvánítt ki.
5. A kit vevője és felhasználója elfogadja, hogy sem ő maga nem teszi és senki másnak sem engedélyez semmilyen lépést, amely a fenti pontokban tiltott cselekményre vezet vagy elősegíti azt. A korlátozott licenc egyezménybe foglalt korlátozásokat a QIAGEN bármely bíróságon keresztül érvényesítheti, továbbá a licenc megszegőjét a nyomozati és bírósági eljárás teljes költségének megtérítésére kötelezheti, beleértve az ügyvédi díjakat is abban az eljárásban, amelynek célja a korlátozott licenc, valamint a kithöz és összetevőikhez kapcsolódó szellemi tulajdonjog betartatása.

A legfrissebb licenc feltételekért látogassa meg [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) honlapot.

2018. 06. 1112933 HB-0048-006 © 2018 QIAGEN, minden jog fenntartva.



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

1112933 HU



Sample & Assay Technologies