

artus® Parvo B19 RG PCR Kit EI Kitabı



24 (katalog no. 4504263)

Kantitatif in vitro diagnostik

Rotor-Gene® Q aletiyle kullanılmak üzere

Haziran 2018 – Versiyon 1



4504263, 4504265



1112933 TR



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALMANYA

R4

MAT

1112933 TR



QIAGEN Sample and 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

1. İçerikler.....	5
2. Saklama.....	5
3. Ek Gerekli Materyaller ve Cihazlar.....	6
4. Genel Önlemler.....	6
5. Kullanım Amacı	6
6. Patojen Bilgisi.....	7
7. Gerçek Zamanlı PCR Prensipleri.....	7
8. Ürün Tanımı	7
9. Protokol.....	8
9.1 DNA İzolasyonu.....	8
9.2 Dahili Kontrol	10
9.3 Kantitasyon.....	11
9.4 PCR'in hazırlanması	12
9.5 <i>Rotor-Gene Q cihazının</i> programlanması	16
10. Veri Analizi	20
11. Sorun Giderme	22
12. Spesifikasyonlar.....	24
12.1 Analitik Hassasiyet	24
12.2 Özgüllük	25
12.3 Kesinlik.....	26
12.4 Güçlülük	28
12.5 Tekrar Üretilbilirlik.....	28
13. Ürün Kullanımı Sınırlamaları	28
14. Uyarılar ve Önlemler	29

15. Kalite Kontrol.....	29
16. Referanslar.....	29
17. Sembollerin Açıklaması.....	30

artus Parvo B19 RG PCR Kit

Rotor-Gene Q aletiyile kullanılmak üzere.

1. İçerikler

	Etiketleme ve içerikler	Kat. no. 4504263 24 reaksiyon
Mavi	Parvo B19 RG/TM Master	2 x 12 rxns
Kırmızı	Parvo B19 RG/TM QS 1 ^a 1 x 10 ⁵ IU/µl	1 x 200 µl
Kırmızı	Parvo B19 RG/TM QS 2 ^a 1 x 10 ⁴ IU/µl	1 x 200 µl
Kırmızı	Parvo B19 RG/TM QS 3 ^a 1 x 10 ³ IU/µl	1 x 200 µl
Kırmızı	Parvo B19 RG/TM QS 4 ^a 1 x 10 ² IU/µl	1 x 200 µl
Kırmızı	Parvo B19 RG/TM QS 5 ^a 1 x 10 ¹ IU/µl	1 x 200 µl
Yeşil	Parvo B19 RG/TM IC ^a	1 x 1000 µl
Beyaz	Su (PCR sınıfı)	1 x 1000 µl

QS = Quantitation Standard (Kantitasyon Standardı)

IC = Internal Control (Dahili Kontrol)

2. Saklama

artus Parvo B19 RG PCR Kit bileşenleri –15°C ila –30°C'de saklanmalıdır ve etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir. Tekrarlanan çözme ve dondurmadan (>2 x) kaçınılmalıdır çünkü hassasiyeti azaltabilir. Reaktifler sadece arada kullanılacaksa alikotlar halinde dondurulmaları gerekir. +4°C'de saklama beş saatlik bir dönemi geçmemelidir.

3. Ek Gerekli Materyaller ve Cihazlar

- Tek kullanımlık pudrasız eldivenler
- DNA izolasyon kiti (bkz. **bölüm 9.1 DNA İzolasyonu**)
- Pipetler (ayarlanabilir)
- Filtreli steril pipet uçları
- Vorteks karıştırıcı
- 2 ml reaksiyon tüpleri için rotorlu masaüstü santrifüjü
- *Rotor-Gene Q aleti*, yazılım versiyonu 2.3 veya üstü ile
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, 72 kuyulu rotor ile kullanım için (kat. no. 981103 veya 981106)
- Soğutma bloğu (Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes, kat. no. 9018901)

4. Genel Önlemler

Kullanıcı şunlara daima dikkat etmelidir:

- Filtreli steril pipet uçları kullanın.
- Pozitif materyalleri (numuneler, 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 iyice çözün.
- Çözüldüğünde, bileşenleri karıştırın ve kısa süre santrifüje edin.
- Buz üzerinde veya Soğutma Bloğunda hızlı çalışın (72 kuyulu yükleme bloğu).

5. Kullanım Amacı

artus Parvo B19 RG PCR Kit, insan serumunda veya EDTA plazmada parvovirus B19 DNA'sının saptanması ve kantifikasyonu için in vitro bir nükleik asit amplifikasyon testidir. Kit, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonundan (polymerase chain reaction, PCR) yararlanır ve QIAamp UltraSens Virus Kit, QIAamp DNA Mini Kit ve Rotor-Gene Q cihazı ile kullanım için yapılandırılmıştır.

Kitin parvovirüs B19 enfeksiyonu için bir kan/kan ürünü tarama testi olarak kullanılması amaçlanmamıştır. artus Parvo B19 RG PCR Kit sağlık uzmanlarının in vitro diagnostik kullanımına yöneliktir.

6. Patojen Bilgisi

Parvovirüs B19 enfeksiyonlarının çoğu klinik olarak asemptomatiktir. Parvovirüs B19 ile akut bir enfeksiyonun belirtileri nezleye benzer ama aynı zamanda rubellaninkilere (kızamıkçık) ve özellikle yetişkinlerde romatizmaninkilere benzeyebilir. Parvovirüs B19 hemolitik anemili hastalarda aplastik krizin temel bir nedenidir. Özellikle ikinci ve üçüncü trimesterlerde maternal enfeksiyonlar sonrasında olmak üzere şiddetli fetal komplikasyonlar bazen gözlenir.

7. Gerçek Zamanlı PCR Prensihi

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile patojen diagnozu 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 probleleriyle 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 (Mackay, 2004).

8. Ürün Tanımı

artus Parvo B19 RG PCR Kit *Rotor-Gene Q aleti* içinde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak parvovirüs B19 DNA saptanması için kullanıma hazır bir sistem oluşturur. *Parvo B19 RG/TM Master*, B19 genomunda 76 bp bir bölgenin spesifik amplifikasyonu ve *Rotor-Gene Q cihazının* Cycling A.Green (A Döngüsü.Yeşil) kanalında spesifik amplikonun doğrudan saptanması için reaktifleri ve enzimleri içerir. Ayrıca *artus* Parvo B19 RG PCR Kit olası PCR inhibisyonunu tanımlamak için ikinci bir heterolog amplifikasyon sistemi içerir. Bu durum, Cycling A.Yellow (A Döngüsü.Sarı) floresans kanalında bir *Dahili*

Kontrol (Internal Control, IC) olarak saptanır. Analitik parvovirüs B19 PCR saptama limiti (bkz. **bölüm 12.1 Analitik Hassasiyet**) azalmaz. Harici pozitif kontroller (*Parvo B19 RG/TM QS 1 – 5*) sağlanır ve bunlar patojen yükünün belirlenmesini sağlar. Daha fazla bilgi için bkz. **bölüm 9.3 Kantitasyon**.

9. Protokol

9.1 DNA İzolasyonu

Çeşitli üreticiler DNA izolasyonu kiti sunarlar. DNA izolasyonu işlemi için örnek miktarları kullanılan protokole bağlıdır. Lütfen DNA izolasyonunu üreticinin talimatına göre yapın. Şu izolasyon kiti önerilir:

Örnek Materyali	Nükleik Asit İzolasyon Kiti	Katalog Numarası	Üretici	Taşıyıcı RNA
Serum, plazma	QIAamp® UltraSens® Virus Kit (50)	53 704	QIAGEN	dahil
	QIAamp DNA Mini Kit (50)	51 304	QIAGEN	dahil değil

- Ekstraksiyon etkinliği ve sonuçta DNA/RNA verimi açısından **taşıyıcı RNA** kullanılması çok önemlidir. Seçilen izolasyon kiti taşıyıcı RNA içermezse lütfen hücresiz vücut sıvıları ve DNA/RNA içeriği düşük materyalden (örn. BOS) nükleik asitlerin ekstraksiyonu için taşıyıcının (RNA-Homopolymer Poly(A), Amersham Biosciences, Kat. No. 27-4110-01) kuvvetle önerildiğine dikkat edin. Lütfen bu durumlarda şu şekilde devam edin:
 - a) Liyofilize taşıyıcı RNA'yı ekstraksiyon kitinin elüsyon tamponunu (örn. QIAamp DNA Mini Kit'ten Buffer AE) (lisis tamponu kullanmayın) kullanarak tekrar süspansiyon haline getirin ve 1 µg/µl konsantrasyonuyla bir dilüsyon hazırlayın. Bu taşıyıcı RNA'yı gereksinimleriniz için yeterli alikot sayısına bölün ve –15°C ila –30°C'de saklayın. Taşıyıcı RNA alikotunun tekrarlanan çözünmesinden (>2 x) kaçının.

- b) 100 µl lizis tamponu başına 1 µg taşıyıcı RNA kullanın. Örneğin ekstraksiyon protokolü 200 µl lizis tamponu öneriyorsa, lütfen lizis tamponu içine doğrudan 2 µl taşıyıcı RNA (1 µg/µl) ekleyin. Her ekstraksiyona başlamadan önce lizis tamponu ve taşıyıcı RNA'nın (ve geçerliyse *Dahili Kontrolün*, bkz. **bölüm 9.2 Dahili Kontrol**) bir karışımı şu pipetleme şemasına göre taze olarak hazırlanmalıdır:

Örneklerin sayısı	1	12
Lizis tamponu	örn., 200 µl	örn., 2400 µl
Taşıyıcı RNA (1 µg/µl)	2 µl	24 µl
Toplam Hacim	202 µl	2424 µl
Ekstraksiyon başına hacim	200 µl	her biri 200 µl

- c) Lütfen taze hazırlanmış lizis tamponu ve taşıyıcı RNA karışımını hemen ekstraksiyon için kullanın. Karışımın saklanması mümkün değildir.
- Ekstraksiyon etkinliği ve sonuçta DNA/RNA verimi açısından **taşıyıcı RNA** kullanılması çok önemlidir. QIAamp UltraSens Virus Kit ile sağlanan taşıyıcı RNA'nın stabilitesini arttırmak açısından ekstraksiyon kiti için kullanım kılavuzundan sapan şu işlemi öneririz:
 - a. Liyofilize taşıyıcı RNA'yı ekstraksiyon kitinin ilk kullanımından önce kitle sağlanan elüsyon tamponununun 310 µl'sinde tekrar süspansiyon haline getirin (son konsantrasyon 1 µg/µl, lizis tamponu kullanmayın). Bu taşıyıcı RNA'yı gereksinimleriniz için yeterli alikot sayısına bölün ve –15 ila –30°C'de saklayın. Taşıyıcı RNA alikotunun tekrarlanan çözünmesinden (>2 x) kaçının.
 - b. Her ekstraksiyona başlamadan önce lizis tamponu ve taşıyıcı RNA'nın (ve geçerliyse *Dahili Kontrolün*, bkz **bölüm 9.2 Dahili Kontrol**) bir karışımı şu pipetleme şemasına göre taze olarak hazırlanmalıdır:

Örneklerin sayısı	1	12
Lizis tamponu AC	800 µl	9600 µl
Taşıyıcı RNA (1 µg/µl)	5,6 µl	67,2 µl
Toplam Hacim	805,6 µl	9667,2 µl
Ekstraksiyon başına hacim	800 µl	her biri 800 µl

- c. Lütfen taze hazırlanmış lizis tamponu ve taşıyıcı RNA karışımını hemen ekstraksiyon için kullanın. Karışımın saklanması mümkün değildir.
- *artus* Parvo B19 RG PCR Kit'ten en yüksek hassasiyeti elde etmek için DNA'nın 50 µl elüsyon tamponunda elüsyonunun yapılmasını öneriyoruz.
 - **QIAamp UltraSens Virus Kit** örnek konsantrasyonunu mümkün kılar. Serum veya plazma dışında örnek materyali kullanıyorsanız, lütfen örneğe en az %50 (h/h) negatif insan plazması ekleyin.
 - **Etanol** içeren yıkama tamponlarıyla izolasyon protokolleri kullanırken lütfen elüsyonda önce kalan herhangi bir etanolü gidermek için ek bir santrifügasyon adımı (üç dakika, 13.000 devir/dk) kullanın. Bu işlem olası PCR inhibisyonunu önler.
 - *artus* Parvo B19 RG PCR Kit, **fenol** bazlı izolasyon yöntemleriyle kullanılmamalıdır.

Önemli: *artus* Parvo B19 RG PCR Kit *Dahili Kontrolü* doğrudan izolasyon işleminde kullanılabilir (bkz. **bölüm 9.2 Dahili Kontrol**).

9.2 Dahili Kontrol

Bir *Dahili Kontrol* (*Parvo B19 RG/TM IC*) sağlanmıştır. Bu durum kullanıcının **hem DNA izolasyon prosedürünü kontrol etmesine hem de olası PCR inhibisyonunu kontrol etmesine izin verir** (bkz. Şekil 1). Bu uygulama için *Dahili Kontrolü* 1 µl elüsyon hacmi başına 0,1 µl oranında izolasyona ekleyin. Örneğin QIAamp UltraSens Virus Kit'i kullanırken, DNA elüsyonu 50 µl Buffer AVE içinde yapılır. Bu nedenle başlangıçta 5 µl *Dahili Kontrol* eklenmelidir. *Dahili Kontrol* miktarı **sadece** elüsyon hacmine bağlıdır. *Dahili Kontrol* ve taşıyıcı RNA (bkz. **bölüm 9.1 DNA İzolasyonu**) sadece

- lizis tamponu ve örnek materyalinin 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 lütfen dikkat edin (karışımın oda sıcaklığı veya buzdolabında sadece birkaç saatliğine bile saklanması *Dahili Kontrol* başarısızlığı ve azalmış ekstraksiyon etkinliğine yol açabilir). Lütfen *Dahili Kontrol* ve taşıyıcı RNA'yı doğrudan örnek materyaline **eklemeyin**.

Dahili Kontrol isteğe bağlı olarak sadece **olası PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanılabilir** (bkz. Şekil. 2). Bu uygulama için reaksiyon başına 2 µl *Dahili Kontrolü* doğrudan 30 µl *Parvo B19 RG/TM Master* kısmına ekleyin. Her PCR reaksiyonu için yukarıda* tanımlandığı şekilde oluşturulan 30 µl Master Karışımı kullanın ve saflaştırılmış örnekten 20 µl ekleyin. Birkaç örnek için bir PCR çalışması hazırlıyorsanız lütfen *Parvo B19 RG/TM Master* ve *Dahili Kontrol* hacmini örneklerin sayısına göre arttırın (bkz. **bölüm 9.4 PCR'in hazırlanması**).

9.3 Kantitasyon

Sağlanan *Kantitasyon Standartları* (*Parvo B19 RG/TM QS 1 – 5*) daha önce saflaştırılmış örneklerle aynı şekilde muamele edilir ve aynı hacim kullanılır (20 µl). *Rotor-Gene Q cihazı* üzerinde standart bir eğri oluşturmak için beş *Kantitasyon Standardının* hepsi kullanılmalı ve *Edit Samples* (Örnekleri Düzenle) menü penceresinde belirtilen konsantrasyonlarla standartlar olarak tanımlanmalıdır (bkz. *Rotor-Gene Q Kullanım Kılavuzu*). Yukarıda anlatıldığı gibi oluşturulan standart eğri mevcut çalışmada verilen **bir** konsantrasyondan en az bir standardın kullanılması şartıyla daha sonraki çalışmalar için de kullanılabilir. Bu amaçla daha önce oluşturulan standart eğrinin içe aktarılması gerekir (bkz. *Rotor-Gene Q Kullanım Kılavuzu*). Ancak bu kantitasyon yöntemi farklı PCR çalışmaları arasındaki değişkenlik nedeniyle sonuçlarda sapmalara yol açabilir.

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

Dikkat: *Kantitasyon Standartları* IU/ μ l olarak tanımlanır. Aşağıdaki denklemin standart eğri kullanılarak belirlenen değerleri örnek materyalinden IU/ml değerine dönüştürmek için uygulanması gerekir:

$$\text{Örnek materyalinde sonuç (IU/ml)} = \frac{\text{Elüatta sonuç (IU/\mu l)} \times \text{Elüsyon Hacmi (\mu l)}}{\text{Örnek Hacmi (ml)}}$$

Prinsip olarak yukarıdaki denkleme **başlangıç** örnek hacminin girilmesi gerektiğine dikkat edin. Örnek hacmi nükleik asit ekstraksiyonu öncesinde değiştirildiğinde bunun dikkate alınması gerekir (örn. hacmin santrifüjasyonla azaltılması veya izolasyon için gerekli hacme ekleme yapılarak hacmin artırılması).

9.4 PCR'in hazırlanması

Soğutma Bloğunun (*Rotor-Gene Q cihazının aksesuarı*) önceden +4°C'ye soğutulduğundan emin olun. Soğutma Bloğu içine istenen sayıda PCR tüpünü yerleştirin. Lütfen 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 tüm Kantitasyon Standartlarını (Parvo B19 RG/TM QS 1 – 5)* kullanın. Her kullanımdan önce tüm reaktiflerin tamamen çözünmesi, karıştırılması (tekrarlanan yukarı ve aşağı pipetleme veya hızlı vorteksleme ile) ve kısa süre santrifüje edilmesi gerekir.

DNA izolasyon işlemi izlemek ve olası PCR inhibisyonu açısından kontrol etmek üzere Dahili Kontrol kullanmak istiyorsanız izolasyona zaten eklenmiştir (bkz. **bölüm 9.2 Dahili Kontrol**). Bu durumda lütfen şu pipetleme şemasını kullanın (şematik bir genel bakış için bkz. Şekil 1):

	Örneklerin sayısı	1	12
1. Master Karışım Hazırlama	Parvo B19 RG/TM Master	30 µl	360 µl
	Parvo B19 RG/TM IC	0 µl	0 µl
	Toplam hacim	30 µl	360 µl
2. PCR tahlilini hazırlama	Master Karışım	30 µl	her birinden 30 µl
	Örnek	20 µl	her birinden 20 µl
	Toplam Hacim	50 µl	her birinden 50 µl

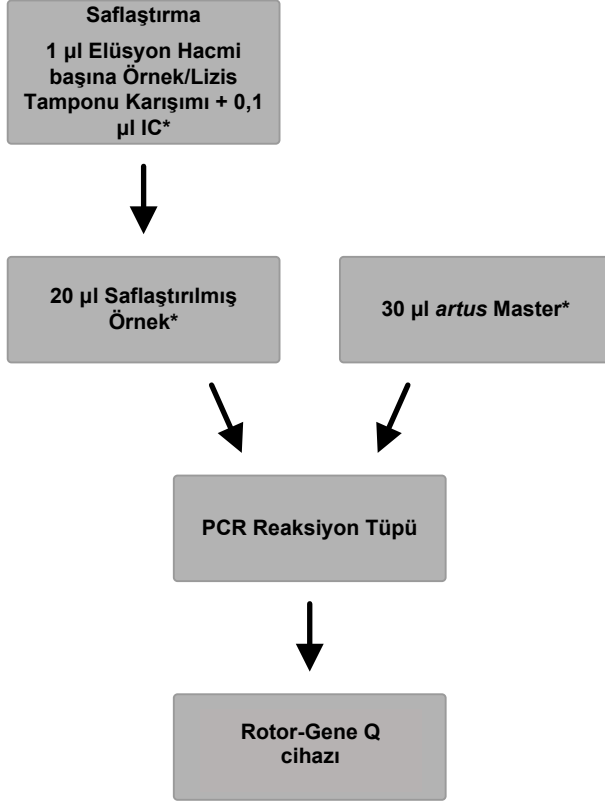
Dahili Kontrolü sadece PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanmak istiyorsanız doğrudan *Parvo B19 RG/TM Master* kısmına eklenmelidir. Bu durumda lütfen şu pipetleme şemasını kullanın (şematik bir genel bakış için bkz. Şekil. 2):

	Örneklerin sayısı	1	12
1. Master Karışım Hazırlama	Parvo B19 RG/TM Master	30 µl	360 µl
	Parvo B19 RG/TM IC	2 µl	24 µl
	Toplam Hacim	32 µl*	384 µl
2. PCR tahlilini hazırlama	Master Karışım	30 µl	her birinden 30 µl
	Örnek	20 µl	her birinden 20 µl
	Toplam Hacim	50 µl	her birinden 50 µl

Her PCR tüpüne Master Karışımından 30 µl pipetleyin. Sonra her tüpe elüsyon yapılmış örnek DNA'sından 20 µl ekleyin ve birkaç kez yukarı ve aşağı pipetleyerek iyice karıştırın. Buna karşılık olarak *Kantitasyon Standartlarının* (*Parvo B19 RG/TM QS 1 – 5*) en az birinden 20 µl pozitif kontrol olarak ve 20 µl su (*Su, PCR sınıfı*) negatif kontrol olarak kullanılmalıdır. PCR tüplerini kapatın. Lütfen *Kilitleme Halkasının* (*Rotor-Gene Q cihazının aksesuarı*) tüplerin çalışma sırasında yanlışlıkla açılmasını önlemek üzere rotorun üstüne yerleştirildiğinden emin olun.

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

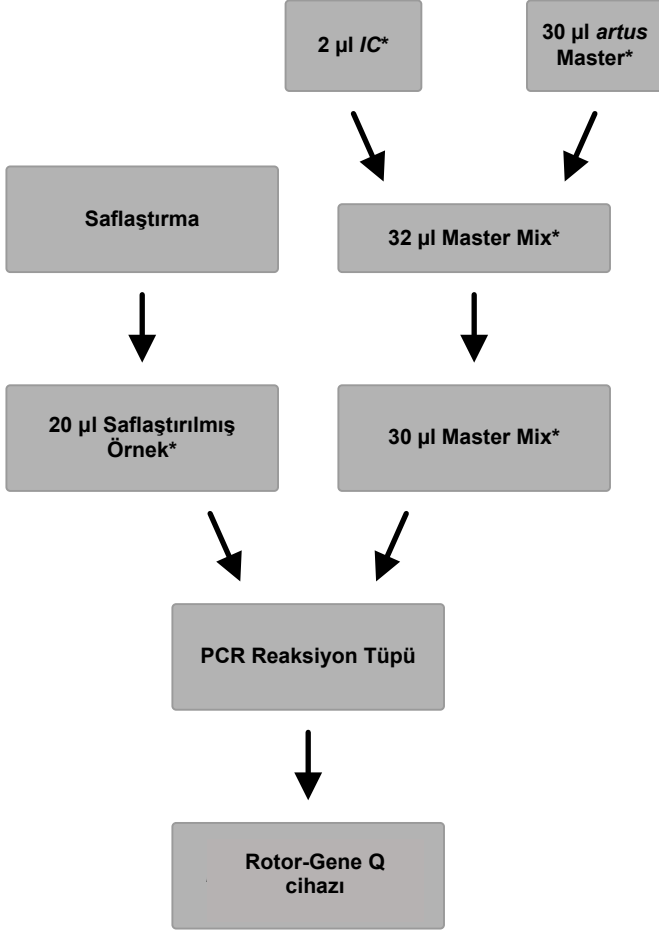
Safılaştırma İşlemine *Dahili Kontrol* Eklenmesi



Şekil 1: Hem safılaştırma işlemi hem PCR inhibisyonu kontrolü için şematik iş akışı.

*Lütfen solüsyonların tamamen çözündüğünden, iyice karıştırıldığından ve kısa süre santrifüje edildiğinden emin olun.

artus Master kısmına Dahili Kontrol eklenmesi



Şekil. 2: PCR inhibisyonunun kontrolü için şematik iş akışı.

*Lütfen solüsyonların tamamen çözündüğünden, iyice karıştırdığından ve kısa süre santrifüje edildiğinden emin olun.

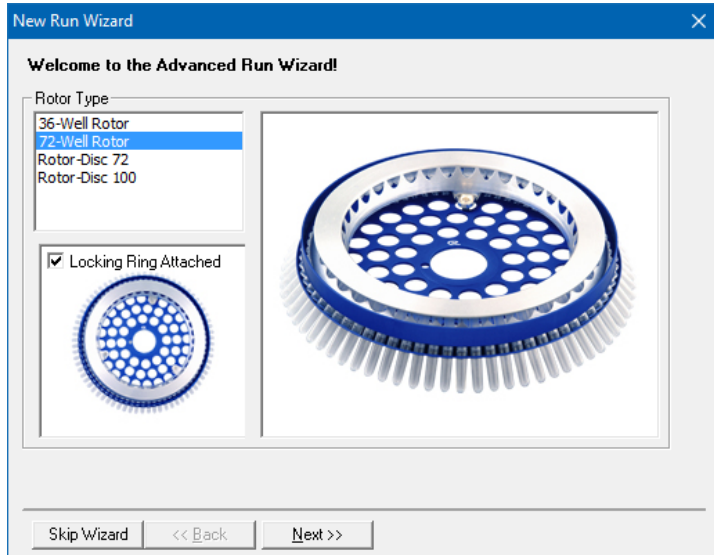
9.5 Rotor-Gene Q cihazının programlanması

Parvo B19 DNA saptamak için *Rotor-Gene Q cihazınız* üzerinde aşağıdaki beş adıma göre bir sıcaklık profili oluşturun (bkz. Şekil. 4 - 7).

- | | |
|--|----------|
| A. Genel Tahlil Parametrelerini Ayarlama | Şekil. 4 |
| B. Hot Start Enziminin Başlangıç Aktivasyonu | Şekil. 5 |
| C. DNA Amplifikasyonu | Şekil. 6 |
| D. Floresans Kanalı Hassasiyetini Ayarlama | Şekil. 7 |
| E. <i>Rotor-Gene Q cihazında</i> Çalışmanın başlatılması | Şekil. 8 |

Tüm spesifikasyonlar *Rotor-Gene* yazılım versiyonu 2.3 ile ilgilidir. *Rotor-Gene Q cihazını* programlama ile ilgili ek bilgiyi *Rotor-Gene Q Kullanım Kılavuzu* içinde bulabilirsiniz.

Önce "New Run" (Yeni Çalışma) iletişim kutusunun Advanced (Gelişmiş) sekmesinde "Empty Run" (Boş Çalışma) ögesini seçin. "Rotor Type" (Rotor Tipi) Panelinde "72-Well Rotor" (72 Kuyulu Rotor) ögesini seçip "Locking Ring Attached" (Kilitleme Halkası Takılı) kutusunu işaretleyin ve "Next" (Sonraki) ögesine tıklayın.

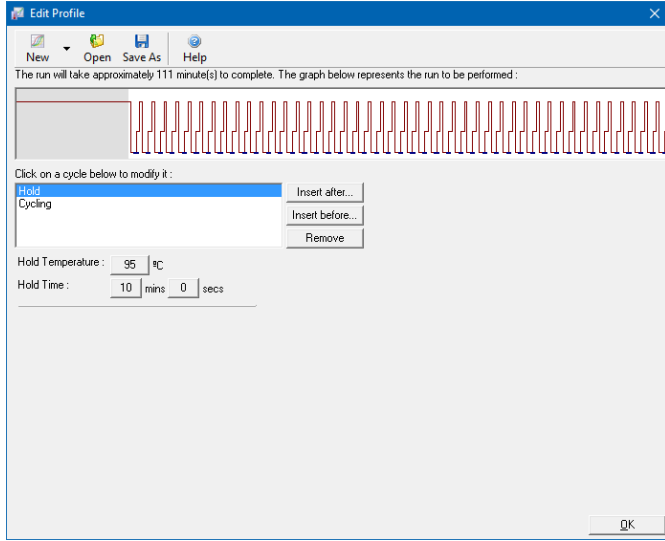


Şekil 3: Yeni çalışma sihirbazı hoş geldiniz ekranı.

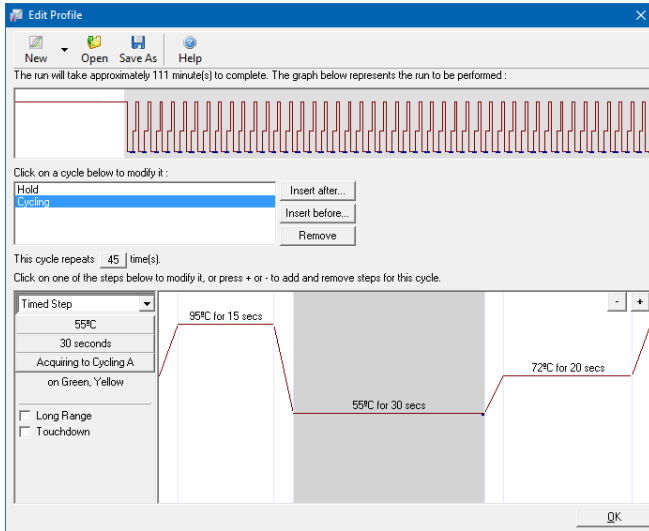
Ardından bir sonraki *New Run Wizard* (Yeni Çalışma Sihirbazı) menü penceresine PCR reaksiyon hacmini girin (bkz. Şekil 4).

Şekil 4: Genel Tahlil Parametrelerini Ayarlama.

Sıcaklık profilinin programlanması sonraki *New Run Wizard* (Yeni Çalışma Sihirbazı) menü penceresinde *Edit* (Düzenle) düğmesinin aktif hale getirilmesiyle yapılır (bkz. Şekil. 5 ve 6).

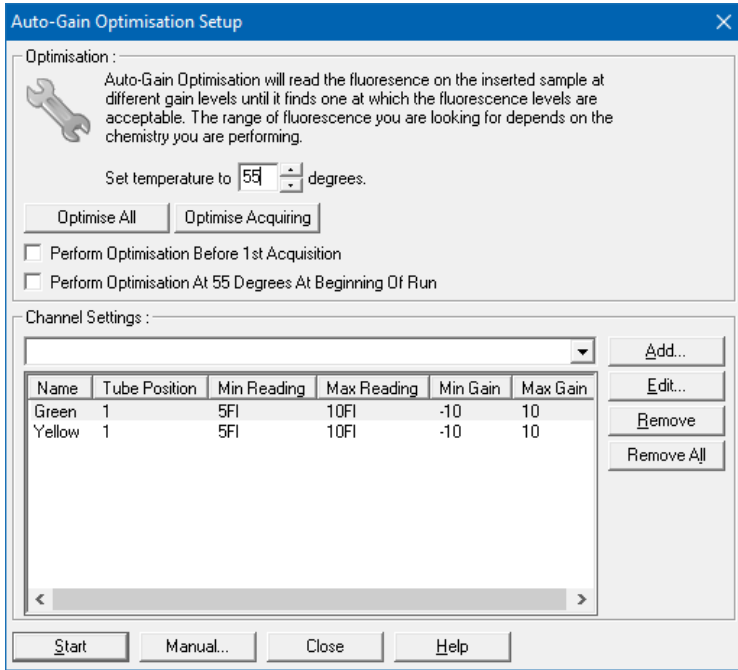


Şekil. 5: Hot Start Enziminin Başlangıç Aktivasyonu.



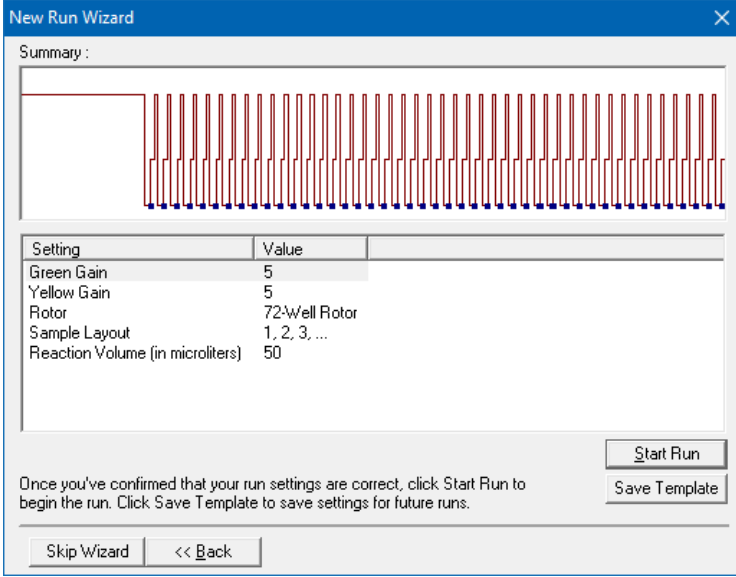
Şekil. 6: DNA amplifikasyonu.

Floresans kanalları için saptama aralığının PCR tüplerindeki floresans şiddetlerine göre belirlenmesi gerekir. Bu ayarlama *Auto Gain Optimisation Setup* (Oto Kazanç Optimizasyon Ayarı) menü penceresinde yapılır (*Gain Optimisation* (Kazanç Optimizasyonu) altında *New Run Wizard* (Yeni Çalışma Sihirbazı) menü penceresinde aktif hale getirme). Lütfen kalibrasyon sıcaklığını amplifikasyon programının birleştirme sıcaklığına ayarlayıp (bkz. Şekil. 7) "Optimise Acquiring" (Taramayı Optimize Et) ögesini seçin ve prosedürü başlatın.



Şekil. 7: Floresans Kanalı Hassasiyetini Ayarlama.

Otomatik kazanç optimizasyonu tarafından belirlenen kazanç değerleri otomatik olarak kaydedilir ve programlama işleminin son menü penceresinde liste halinde verilir (bkz. Şekil. 8).



Şekil. 8: Rotor-Gene Q cihazında Çalışmanın başlatılması.

10. Veri Analizi

Veri analizi, *Rotor-Gene* yazılımı ile üreticinin talimatına göre yapılır (*Rotor-Gene Q Kullanım Kılavuzu*).

Şu sonuçlar olabilir:

1. Floresans kanalı Cycling A.Green (A Döngüsü.Yeşil) içinde bir sinyal saptanır.

Analizin sonucu pozitifdir: Örnek parvovirüs B19 DNA'sı içerir.

Bu durumda Cycling A.Yellow (A Döngüsü.Sarı) kanalında bir sinyalin saptanması kullanılmayabilir çünkü yüksek başlangıç parvovirüs B19 DNA konsantrasyonları (Cycling A.Green (A Döngüsü.Yeşil) kanalında pozitif sinyal) Cycling A.Yellow (A Döngüsü.Sarı) kanalında *Dahili Kontrol* floresans sinyalinin azalmış olması veya olmamasına neden olabilir (rekabet).

2. Floresans kanalı Cycling A.Green (A Döngüsü.Yeşil) içinde sinyal saptanmaz. Aynı zamanda Cycling A.Yellow (A Döngüsü.Sarı) kanalında *Dahili Kontrol*den bir sinyal belirir.

Örnekte saptanabilir parvovirüs B19 DNA yoktur. Negatif kabul edilebilir.

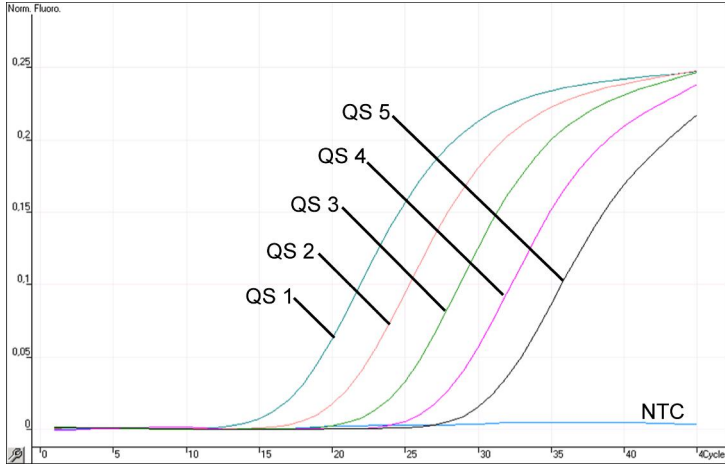
Negatif parvovirüs B19 PCR durumunda *Dahili Kontrol*ün saptanan sinyali PCR inhibisyonu olasılığını ortadan kaldırır.

3. Cycling A.Green (A Döngüsü.Yeşil) veya Cycling A.Yellow (A Döngüsü.Sarı) kanallarında sinyal saptanmaz.

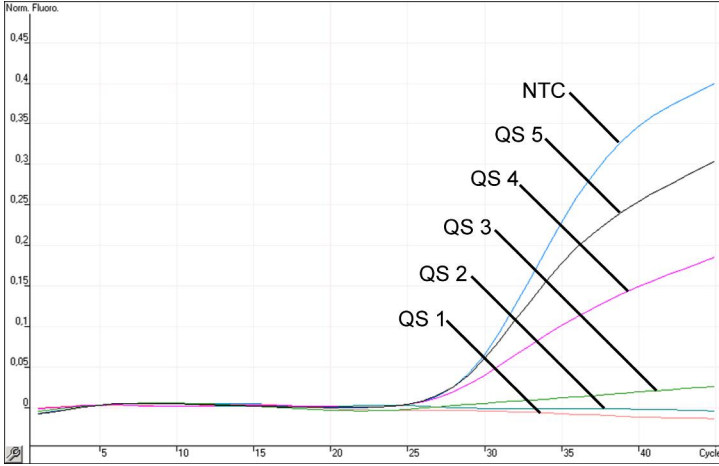
Bir sonuca varılamaz.

Hata kaynakları ve çözümleriyle ilgili bilgi **bölüm 11** içinde bulunabilir. **Sorun** Giderme.

Pozitif ve negatif PCR reaksiyonları örnekleri Şekil.9 ve Şekil.10 içinde verilmiştir.



Şekil. 9: *Kantitasyon Standartlarının (Parvo B19 RG/TM QS 1 – 5) floresans kanalı Cycling A.Green (A Döngüsü.Yeşil) içinde saptanması. NTC: şablonuz kontrol (negatif kontrol).*



Şekil. 10: *Kantitasyon Standartlarının (Parvo B19 RG/TM QS 1 – 5) eş zamanlı amplifikasyonu ile Dahili Kontrolün (IC) floresans kanalı Cycling A.JOE içinde saptanması. NTC: non-template control (şablonsuz kontrol) (negatif kontrol).*

11. Sorun Giderme

Floresans kanalı Cycling A.Green (A Döngüsü.Yeşil) içinde pozitif kontrollü sinyal yok (Parvo B19 RG/TM QS 1 – 5):

- PCR veri analizi için seçilen floresans kanalı protokole uymamaktadır
 - Veri analizi açısından analitik parvovirüs B19 PCR için floresans kanalı A.Green ve *Dahili Kontrol* PCR için floresans kanalı A.Yellow seçin
- *RotorGene Q cihazının* sıcaklık profilinin yanlış programlanması.
 - Sıcaklık profilini protokolle karşılaştırın (bkz. **bölüm 9.5 Rotor-Gene Q cihazının programlanması**).
- Hatalı PCR reaksiyonu konfigürasyonu.
 - Çalışma adımlarınızı pipetleme şeması yoluyla (bkz. **bölüm 9.4 PCR'in hazırlanması**) kontrol edin ve gerekirse PCR'ı tekrarlayın.
- Bir veya birkaç kit bileşeninin saklama koşulları **bölüm 2. Saklama** içinde verilen talimatla uyumlu değildir veya *artus Parvo B19 RG PCR Kit'in* son kullanma süresi geçmiştir.

- Lütfen reaktiflerin saklama koşulları ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakın) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın.

Cycling A.Yellow (A Döngüsü.Sarı) floresans kanalı içinde Dahili Kontrol sinyali zayıf veya yok ve aynı zamanda Cycling A.Green (A Döngüsü.Yeşil) kanalında sinyal bulunmaması:

- PCR koşulları protokole uymamaktadır.
 - PCR koşullarını kontrol edin (yukarıya bakın) ve gerekirse PCR'ı düzeltilmiş ayarlarla tekrarlayın.
- PCR inhibe olmuştur.
 - Önerilen izolasyon yöntemini (bkz. **bölüm 9.1 DNA İzolasyonu**) kullandığınızdan emin olun ve üreticinin talimatını yakından izleyin.
 - DNA izolasyonu sırasında herhangi bir rezidüel etanolü gidermek üzere önerilen ek santrifügasyon adımının elüsyondan önce yapıldığından emin olun (bkz. **bölüm 9.1 DNA İzolasyonu**).
- Ekstraksiyon sırasında DNA kaybolmuştur.
 - *Dahili Kontrol* ekstraksiyona eklenmişse, *Dahili Kontrol* sinyalinin olmaması ekstraksiyon sırasında DNA kaybına işaret edebilir. Önerilen izolasyon yöntemini (bkz. **bölüm 9.1 DNA İzolasyonu**) kullandığınızdan emin olun ve üreticinin talimatını yakından izleyin.
- Bir veya birkaç kit bileşeninin saklama koşulları **bölüm 2. Saklama** içinde verilen talimatla uyumlu değildir. veya *artus* Parvo B19 RG PCR Kit'in son kullanma süresi geçmiştir.
 - Lütfen reaktiflerin saklama koşulları ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakın) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın.

Analitik PCR'da floresans kanalı Cycling A.Green (A Döngüsü.Yeşil) içinde negatif kontrollü sinyaller.

- PCR hazırlama sırasında kontaminasyon oluşmuştur.
 - PCR'ı replikatlarda yeni reaktiflerle tekrarlayın.
 - Mümkünse PCR tüplerini test edilecek örneğin eklenmesinden hemen sonra kapatın.
 - Pozitif kontrolleri mutlaka son olarak pipetleyin.

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

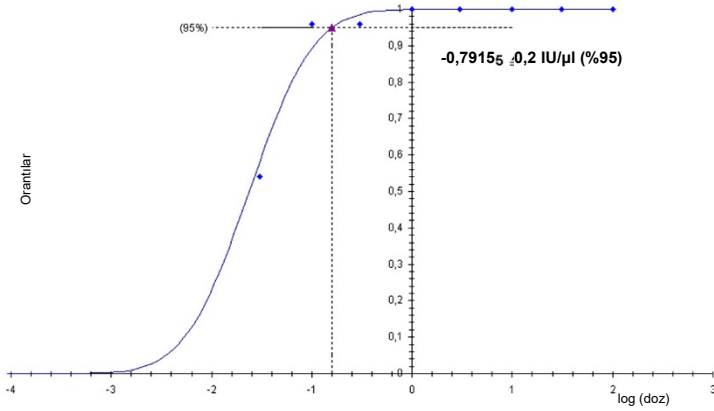
Başka bir sorunuz varsa veya sorun yaşarsanız lütfen Teknik Servisimizle irtibat kurun.

12. Spesifikasyonlar

12.1 Analitik Hassasiyet

artus Parvo B19 RG PCR Kit'in analitik hassasiyetini belirlemek için 100'den nominal 0,03 parvovirüs B19 IU*/ μ l değerine kadar bir standart dilüsyon serisi oluşturulmuş ve *artus* Parvo B19 RG PCR Kit ile analiz edilmiştir. Testler üç farklı günde sekiz kopya üzerinde yapılmıştır. Sonuçlar probit analiziyle belirlenmiştir. Probit analizinin grafik bir temsili Şekil. 11 içinde verilmiştir. *artus* Parvo B19 RG PCR Kit'in analitik saptama limiti 0,2 IU/ μ l ($p = 0,05$) şeklindedir. Bu durum 0,2 IU/ μ l'nin saptanması olasılığının %95 olduğunu göstermektedir.

* Standart, klonlanmış bir PCR ürünüdür ve bunun konsantrasyonu absorpsiyon ve floresans spektroskopisiyle belirlenmiştir.



Şekil. 11: *artus* Parvo B19 RG PCR Kit'in analitik hassasiyeti.

12.2 Özgüllük

artus Parvo B19 RG 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 genotiplerin saptanabilirliği böylece sağlanmıştır.

Ayrıca özgüllük altı farklı parvovirüs B19 negatif serum örneğiyle doğrulanmıştır. Bunlar *Parvo B19 RG/TM Master*'a dahil edilen parvovirüs B19'a spesifik primerler ve probalarla herhangi bir sinyal oluşturmamıştır.

Artus Parvo B19 RG PCR Kit'in özgüllüğünü belirlemek üzere aşağıdaki tabloda verilen kontrol grubu (bkz. Tablo 1) çapraz reaktivite açısından test edilmiştir. Test edilen patojenlerin hiçbiri reaktif bulunmamıştır.

Tablo 1: Kitin özgüllüğünün potansiyel çapraz reaktif patojenlerle test edilmesi.

Kontrol grubu	Parvovirüs B19 (Cycling A.Green) (A Döngüsü.Yeşil)	Dahili Kontrol (Cycling A.Yellow) (A Döngüsü.Sarı)
İnsan herpesvirüsü 1 (Herpes simpleks virüsü 1)	-	+
İnsan herpesvirüsü 2 (Herpes simpleks virüsü 2)	-	+
İnsan herpesvirüsü 3 (Varisella-zoster virüsü)	-	+
İnsan herpes virüsü 5 (Sitomegalovirüs)	-	+
İnsan T hücresi lösemi virüsü 1	-	+
İnsan T hücresi lösemi virüsü 2	-	+

12.3 Kesinlik

artus Parvo B19 RG PCR Kit'in kesinlik verileri testin toplam varyansının belirlenmesini mümkün kılar. Toplam varyans **tahsil içi değişkenlik** (bir deneyde aynı konsantrasyondan örneklerin birden fazla sonucunun değişkenliği), **tahilliler arası değişkenlik** (bir laboratuvarında farklı kullanıcılar tarafından aynı tipte farklı aletlerle oluşan birden fazla tahsil sonucunun değişkenliği) ve **gruplar arası değişkenlikten** (çeşitli gruplar 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 Parvo B19 RG PCR Kit'in kesinlik verileri en düşük konsantrasyonun (QS 5; 10 IU/µl) *Kantitasyon Standardı* kullanılarak toplanmıştır. Testler sekiz replikat ile yapılmıştır. Kesinlik verileri amplifikasyon eğrilerinin Ct değerleri temelinde hesaplanmıştır (Ct: eşik döngüsü, bkz. Tablo 2). Ayrıca, IU/µl olarak kantitatif sonuçlar için kesinlik verileri karşılık gelen Ct değerleri kullanılarak belirlenmiştir (bkz. Tablo 3). Bu sonuçlar temelinde belirtilen konsantrasyona sahip herhangi bir belirli örneğin genel istatistiksel dağılımı %1,66 (Ct) veya %17,65 (kons.) ve *Dahili Kontrolün* saptanması için %0,90'dır (Ct). Bu değerler belirlenmiş değişkenliklerin tüm tek değerlerinin toplamı temelindedir.

Tablo 2: Ct değerleri temelinde kesinlik verileri.

	Standart sapma	Varyans	Varyasyon katsayısı [%]
Tahliller içi değişkenlik: <i>Parvo B19 RG/TM QS 5</i>	0,22	0,05	0,75
Tahliller içi değişkenlik: <i>Dahili Kontrol</i>	0,18	0,03	0,80
Tahliller arası değişkenlik: <i>Parvo B19 RG/TM QS 5</i>	0,32	0,10	1,11
Tahliller arası değişkenlik: <i>Dahili Kontrol</i>	0,19	0,03	0,84
Gruplar arası değişkenlik: <i>Parvo B19 RG/TM QS 5</i>	0,38	0,14	1,47
Gruplar arası değişkenlik: <i>Dahili Kontrol</i>	0,21	0,04	0,92
Toplam varyans: <i>Parvo B19 RG/TM QS 5</i>	0,48	0,23	1,66
Toplam varyans: <i>Dahili Kontrol</i>	0,20	0,04	0,90

Tablo 3: Kantitatif sonuçlar (IU/μl olarak) temelinde kesinlik verileri.

	Standart sapma	Varyans	Varyasyon katsayısı [%]
Tahliller içi değişkenlik: <i>Parvo B19 RG/TM QS 5</i>	0,96	0,93	9,58
Tahliller arası değişkenlik: <i>Parvo B19 RG/TM QS 5</i>	1,33	1,78	13,22
Gruplar arası değişkenlik: <i>Parvo B19 RG/TM QS 5</i>	2,27	5,17	22,20
Toplam varyans: <i>Parvo B19 RG/TM QS 5</i>	1,79	3,21	17,65

12.4 Güçlülük

Güçlülüğün doğrulanması *artus* Parvo B19 RG PCR Kit'in *toplam başarısızlık oranının belirlenmesini mümkün kılar*. 30 parvovirüs B19 negatif serum örneğine 1 IU/ μ l elüsyon hacminde parvovirüs B19 kontrol DNA eklenmiştir (analitik hassasiyet limitinin beş katı konsantrasyon). QIAamp DNA Mini Kit ekstraksiyonundan sonra (bkz. **bölüm 9.1 DNA İzolasyonu**) bu örnekler *artus* Parvo B19 RG PCR Kit ile analiz edilmiştir. Tüm parvovirüs B19 örnekleri için başarısızlık oranı %0'dır. Ayrıca *Dahili Kontrolün* güçlülüğü 30 parvovirüs B19 negatif serum örneğinin saflaştırılması ve analizi ile değerlendirilmiştir. Toplam başarısızlık oranı %0'dır. İnhibisyonlar gözlenmemiştir. Böylece *artus* Parvo B19 RG PCR Kit'in güçlülüğü \geq %99'dur.

12.5 Tekrar Üretilirlik

Tekrar üretilebilirlik verileri *artus* Parvo B19 RG PCR Kit'in düzenli performans değerlendirmesine ve ayrıca başka ürünlerle etkinlik karşılaştırmasına izin verir. Bu veriler belirlenmiş verimlilik programlarına katılımla elde edilir.

13. Ürün Kullanımı Sınırlamaları

- Tüm reaktifler sadece in vitro diagnostik için kullanılabilir.
- Ürün sadece in vitro diagnostik işlemler konusunda özel talimat almış ve eğitilmiş personel tarafından kullanılmalıdır.
- Optimum PCR sonuçları için kullanım kılavuzuna katı olarak uymak gerekir.
- Tüm bileşenlerin etiketleri ve kutusunda basılı son kullanma tarihlerine dikkat edilmelidir. Son kullanma tarihi geçmiş bileşenleri kullanmayın.
- Bazı genotip 3 ile ilgili sekanslar için iddia edilen performans garantisi edilemez. Primer/prob bağlama bölgesindeki mutasyonlar nedeniyle hassasiyette önemli bir azalma oluşabilir (Baylis ve Buchheit, 2009).

- 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. Test tasarımının geçerliliği ve performansı düzenli aralıklarla revize edilmektedir.

14. Uyarılar ve Önlemler

Kimyasallarla çalışırken daima uygun bir laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldivenler ve koruyucu gözlükler kullanın. Daha fazla bilgi için lütfen uygun güvenlik veri sayfalarına (safety data sheets, 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.

15. Kalite Kontrol

QIAGEN'in ISO sertifikalı Kalite Yönetim Sistemi uyarınca her *artus* Parvo B19 RG PCR Kit tutarlı ürün kalitesini sağlamak üzere önceden belirlenmiş spesifikasyonlara göre test edilir.

16. Referanslar

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. Sembollerin Açıklaması



Son Kullanma Tarihi



Parti kodu



Üretici



Katalog numarası



Materyal numarası



Eİ Kitabı



İn vitro diagnostik tıbbi cihaz



Bileşenler



İçindekiler



Numara



Global Ticaret Madde Numarası



<N>

<N> test için yeterli içerik



Sıcaklık sınırlaması



Kullanma talimatına başvurun

QS

Kantitasyon Standardı

IC

Dahili Kontrol

artus Parvo B19 RG PCR Kit

Ticari Markalar ve Red Beyanı
QIAGEN®, QIAamp®, artus®, Rotor-Gene®, UltraSens® (QIAGEN Group).

Belge Revizyon Geçmiş	
R4 06/2018	Bu, artus Parvo RG PCR Kit'e yönelik el kitabının 4. revizyonudur. Bir önceki versiyonda yapılan değişiklikler bir kullanım amacı beyanının eklenmesini, diagnostik değerlendirme bölümünün kaldırılmasını, 36 kuyulu rotor ve 0,2 ml'lik tüplerden söz edilen kısımların kaldırılmasını ve Rotor-Gene Q cihazının ve yazılımının açıklamasının şu anda mevcut olan versiyonlarla güncellenmesini kapsar.

Bu belgede kullanılan tescilli isimler, ticari markalar vs. bu şekilde işaretlenmemiş olsalar bile kanunen koruma altında olmadıkları düşünülmemelidir.

artus Parvo B19 RG PCR Kit Avrupa İn Vitro Diagnostik Direktifi 98/79/EC uyarınca CE işaretli bir diagnostik kittir. Tüm ülkelerde sağlanmamaktadır.

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

Bu ürünün satın alınması, satın alanın insan in vitro diagnostığı 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.

Sınırlı Lisans Sözleşmesi

Bu ürünün kullanılması artus Parvo B19 RG PCR Kit'i herhangi bir satın alınan veya kullanıcısının şu şartları kabul ettiğini belirtir:

1. artus Parvo B19 RG PCR Kit sadece artus *Parvo B19 RG PCR Kit El Kitabında* sağlanan bilgilerle uyumlu olarak ve Kit içindeki bileşenlerle kullanım içindir. artus *Parvo B19 RG PCR Kit El Kitabında* ve www.qiagen.com adresinde bulunan ek protokollerde tanımlananlar dışında bu Kite dahil edilmemiş herhangi bir bileşen ile Kitin 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 zımnî 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 bakın www.qiagen.com.

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 TR

