

artus[®] HSV-1/2 RG PCR Kiti El Kitabı



24 (katalog no. 4500263)



96 (katalog no. 4500265)

Sürüm 1

IVD

Kalitatif in vitro diagnostik

Rotor-Gene[®] Q aletleriyle kullanılmak üzere



REF

4500263, 4500265



1060171TR



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALMANYA

R2

MAT

1060171TR



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

Kit İÇeriĐi	4
Semboller	4
Saklama	5
Kullanım Amacı	5
Ürün Kullanımı Sınırlamaları	6
Teknik Yardım	6
Kalite Kontrol	6
Uyarılar ve Önlemler	7
Giriş	8
Prensip	8
Patojen bilgisi	8
Performans özellikleri	9
Analitik hassasiyet	9
Özgüllük	10
Kesinlik	13
Güçlülük	16
Tekrar Üretilirlik	16
Kullanıcı Tarafından Sağlanacak Ekipman ve Reaktifler	17
Önemli Notlar	18
Genel önlemler	18
DNA izolasyonu	18
Dahili kontrol	19
Protokol: PCR ve Veri Analizi	20
Sorun Giderme Kılavuzu	30
Referanslar	33
Sipariş Bilgisi	34

Kit İçeriđi

artus HSV-1/2 RG PCR Kit		(24)	(96)
Katalog no.		4500263	4500265
Reaksiyon sayısı		24	96
Mavi	HSV-1/2 RG Master	2 x 300 µl	8 x 300 µl
Sarı	HSV-1/2 RG Mg-Sol* Mg-Sol	600 µl	600 µl
Kırmızı	HSV-1 RG PC† (100 kopya/µl)	200 µl	200 µl
Kahverengi	HSV-2 RG PC† (100 kopya/µl)	200 µl	200 µl
Yeşil	HSV-1/2 RG IC‡ IC	1000 µl	2 x 1000 µl
Beyaz	Water (PCR grade) (Su (PCR sınıfı))	1000 µl	1000 µl
	El Kitabı HB	1	1

* Magnezyum solüsyonu.

† Pozitif kontrol.

‡ Dahili kontrol.

Semboller



<N>

<N> test için reaktif içermektedir



Son Kullanma Tarihi



İn vitro diagnostik tıbbi cihaz



Katalog numarası







Lot numarası



Materyal sayısı



Bileşenler


CONT	İçindekiler
NUM	Numara
GTIN	Global Ticaret Madde Numarası
	Sıcaklık sınırlamaları
	Yasal üretici
	El kitabında verilen bilgiye başvurun
	Önemli not

Saklama

artus HSV-1/2 RG 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. $2-8^{\circ}\text{C}$ 'de saklama 5 saatlik bir dönemi geçmemelidir.

Kullanım Amacı

artus HSV-1/2 RG PCR Kiti EZ1[®] DSP Virüs Kiti kullanılarak HSV ile enfekte kişilerde beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinin tam otomatik saflaştırılmasından sonra Rotor-Gene Q aletlerinde insan simpleks virüsü 1 ve 2 DNA'sının saptanması ve ayırt edilmesi için gerçek zamanlı temelde bir polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tahlilidir.

 *artus* HSV-1/2 RG PCR Kiti Rotor-Gene Q 2plex Aletleriyle kullanılamaz. *artus* HSV-1/2 RG PCR Kitinin hastalık prognozu için diğer laboratuvar işaretleri ve klinik sunumla birlikte kullanılması amaçlanmıştır.

Ürün Kullanımı Sınırlamaları

Tüm reaktifler sadece in vitro diagnostik için kullanılabilir.

Ürün sadece in vitro diagnostik işlemler (EN375) 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.

Teknik Yardım

QIAGEN'deki teknik desteğimizin kalitesi ve her an hazır bulunması yönüyle kendimizle gurur duyuyoruz. Teknik Servis Departmanlarımızda örnek ve moleküler biyoloji teknolojileri ve QIAGEN® ürünlerinin kullanımı konusunda geniş pratik ve teorik deneyimi bulunan tecrübeli bilim adamları istihdam edilmektedir. *artus* HSV-1/2 RG PCR Kiti veya genel olarak QIAGEN ürünleri ile ilgili herhangi bir sorunuz olduğunda ya da herhangi bir zorlukla karşılaştığınızda lütfen bizimle irtibat kurmaktan çekinmeyiniz.

QIAGEN müşterileri ürünlerin ileri seviyedeki kullanımı ya da uzmanlaşmış kullanımı konusunda ana kaynaktır. Bu bilgiler diğer bilim adamları için olduğu kadar QIAGEN'deki araştırmacılar için de yararlıdır. O nedenle biz sizlerin ürün performansı ya da yeni uygulamalar ve teknikler hakkında herhangi bir sorunuz olduğunda bizimle irtibat kurmanızı destekliyor ve arzu ediyoruz.

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.

Kalite Kontrol

QIAGEN'in ISO sertifikalı Kalite Yönetim Sistemi uyarınca her *artus* HSV-1/2 RG PCR Kiti tutarlı ürün kalitesini sağlamak üzere önceden belirlenmiş spesifikasyonlara göre test edilir.

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 (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.

Giriş

artus HSV-1/2 RG PCR Kiti Rotor-Gene Q aletlerinde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak HSV-1 ve HSV-2 DNA saptanması için kullanıma hazır bir sistem oluşturur. HSV-1/2 RG Master HSV-1 ve HSV-2 genomlarının 154 bp bölgenin spesifik amplifikasyonu ve Rotor-Gene Q aletlerinde Cycling Green (kaynak 470 nm, detektör 510 nm) ve Cycling Orange (kaynak 585 nm, detektör 610 nm) floresans kanalında spesifik amplikonun doğrudan saptanması için reaktifler ve enzimleri içerir.

Ayrıca *artus* HSV-1/2 RG PCR Kit olası PCR inhibisyonunu tanımlamak için ikinci bir heterolog amplifikasyon sistemi içerir. Bu Rotor-Gene Q aletlerinde Cycling Yellow (kaynak 530 nm, detektör 555 nm) floresans kanalında bir dahili kontrol (IC) olarak saptanır. Analitik HSV-1/2 RG PCR saptama limiti (bakınız "Analytical sensitivity", sayfa 9) azalmaz. Harici pozitif kontroller (HSV-1 RG PC ve HSV-2 RG PC) sağlanır.

Prensip

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.*

Patojen bilgisi

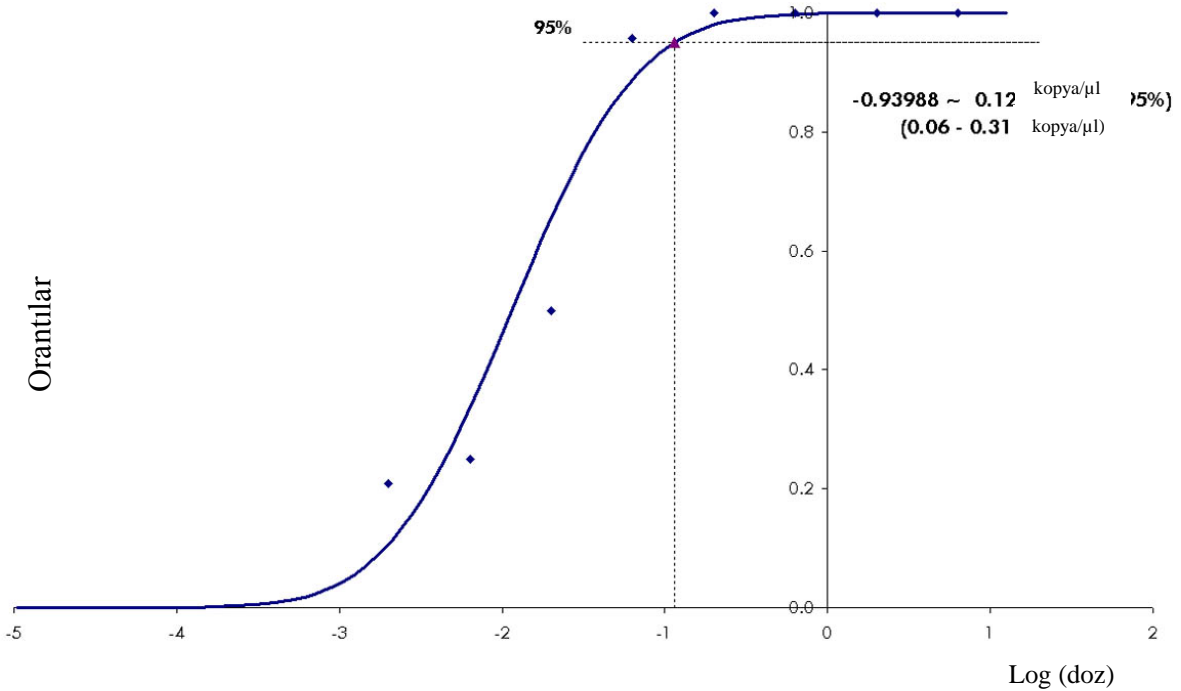
Herpes simpleks virüsü (HSV) lezyon sıvıları, tükürük, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve vajinal sekresyonlarda bulunabilir. Temel olarak lezyonlarla doğrudan temas ile ve cinsel ilişkiyle ve ayrıca perinatal olarak geçer. Çoğu HSV pozitif vakada karakteristik olarak ağız ve cinsel bölgenin cilt ve müköz membranlarında lezyonlar vardır. HSV enfeksiyonu primer (bu vakaların >%90'ı belirtisizdir) veya tekrarlayıcı (sekonder) olabilir. HSV-1 ile primer enfeksiyon verilenlerle sınırlı olmamak üzere gingivostomatit, egzema herpetikum, keratokonjonktivit ve ensefalite neden olabilir; primer HSV-2 enfeksiyonu verilenlerle sınırlı olmamak üzere vulvovajinit, menenjit ve yenidoğanlarda yaygın herpes olarak görülebilir. Sekonder bir enfeksiyonun primer belirtileri ağız, burun ve genital bölgelerde cilt lezyonlarıdır. Tekrarlayan keratokonjonktivit ve menenjit tipleri daha da şiddetlidir.

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

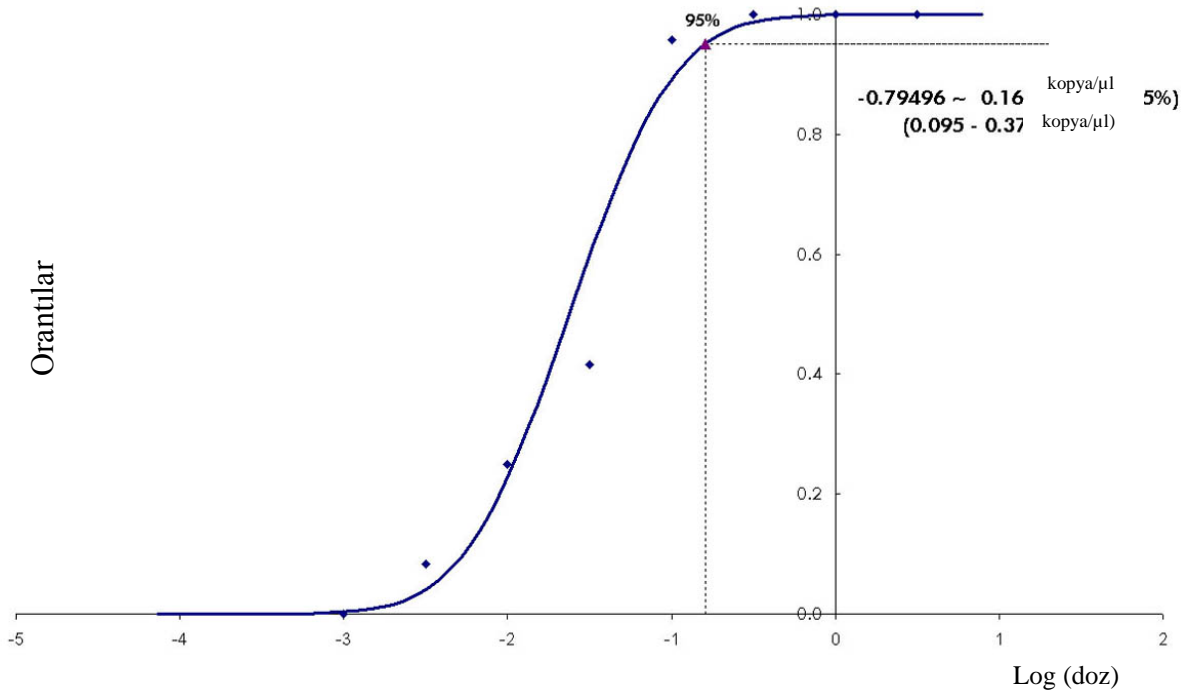
Performans özellikleri

Analitik hassasiyet

artus HSV-1/2 RG PCR Kitinin analitik hassasiyetini belirlemek için 10 ila 0,001 kopya/ μ l şeklinde standart bir dilüsyon serisi oluşturulmuş ve *artus* HSV-1/2 RG PCR Kitiyle kombinasyon halinde Rotor-Gene Q/6000 üzerinde analiz edilmiştir. Testler 8 replikatta 3 farklı günde yapılmıştır. Sonuçlar probit analiziyle belirlenmiştir. Rotor-Gene Q/6000 ile kombinasyon halinde *artus* HSV-1/2 RG PCR Kitinin analitik saptama limiti HSV-1 için 0,12 kopya/ml ($p = 0,05$) ve HSV-2 için 0,16 kopya/ μ l ($p=0,05$) şeklindedir. Bu 0,12 kopya/ μ l HSV-1 DNA veya 0,16 kopya/ μ l HSV-2 DNA saptanması olasılığının %95 olduğu anlamına gelir. HSV-1 için probit analizinin grafik bir temsili Şekil 1'de verilmiştir below; HSV-2 için probit analizinin şeması Figure 2 kısmında gösterilmiştir



Şekil 1. Probit analizi: HSV-1 (Rotor-Gene Q/6000). Rotor-GeneQ/6000 üzerinde *artus* HSV-1/2 RG PCR Kitinin HSV-1 için analitik hassasiyeti.



Şekil 2. Probit analizi: HSV-2 (Rotor-Gene Q/6000). Rotor-Gene Q/6000 üzerinde *artus* HSV-1/2 RG PCR Kitinin HSV-2 için analitik hassasiyeti.

Özgüllük

artus HSV-1/2 PCR Kit özgüllüğü öncelikle primer ve problemlerin seçilmesi ve ayrıca katı reaksiyon koşullarının seçilmesiyle sağlanır. Primerler ve problemler gen bankalarında yayımlanmış tüm dizilere olası homolojiler açısından sekans karşılaştırma analiziyle kontrol edilmiştir. Tüm ilgili genotiplerin saptanabilirliği bu şekilde Rotor-Gene Aletleri üzerinde Tablo 1 içinde verilen suşlarla bir veri tabanı hizalaması ve bir PCR çalışmasıyla sağlanmıştır.

Ayrıca özgüllük 30 farklı HSV-1 ve HSV-2 negatif BOS örneğiyle doğrulanmıştır. Bunlar HSV-1/2 RG Master'e dahil edilen HSV-1 ve HSV-2'ye spesifik primerler ve problemlerle herhangi bir sinyal oluşturmamıştır.

artus HSV-1/2 RG PCR Kiti olası çapraz reaktivitesi Tablo 2'de liste halinde verilen kontrol grubu kullanılarak test edilmiştir. Test edilen patojenlerin hiçbiri reaktif bulunmamıştır.

Tablo 1. İlgili genotiplerin özgülüğünün test edilmesi

Virüs	Suş	Kaynak	HSV-1 (Cycling Green)	HSV-2 (Cycling Orange)	Dahili kontrol (Cycling Yellow)
HSV-1	HF	ATCC*	+	-	+
HSV-1	KOS	INSTAND†	+	-	+
HSV-1	MacIntyre	QCMD‡	+	-	+
HSV-2	HG-52	NCPV§	-	+	+
HSV-2	G	ATCC*	-	+	+
HSV-2	MS	QCMD‡	-	+	+

* ATCC American Type Culture Collection.

† INSTAND Society for Promotion of Quality Assurance in Medical Laboratories.

‡ QCMD Quality Control for Molecular Diagnostics.

§ NCPV National Collection of Pathogenic Viruses.

Tablo 2. Kitin özgüllüğünün potansiyel çapraz reaktif patojenlerle test edilmesi

Kontrol grubu	HSV-1 (Cycling Green)	HSV-2 (Cycling Orange)	Dahili kontrol (Cycling Yellow)
İnsan herpes virüsü 3 (varisella-zoster virüsü)	-	-	+
İnsan herpesvirüsü 4 (Epstein-Barr virüsü)	-	-	+
İnsan herpesvirüsü 5 (sitomegalovirüs)	-	-	+
İnsan herpesvirüsü 6A	-	-	+
İnsan herpesvirüsü 6B	-	-	+
İnsan herpesvirüsü 7	-	-	+
İnsan herpesvirüsü 8 (Kaposi sarkomu ilişkili herpes virüsü)	-	-	+
Hepatit A virüsü	-	-	+
Hepatit B virüsü	-	-	+
Hepatit C virüsü	-	-	+
İnsan immünyetmezlik virüsü (HIV)	-	-	+
İnsan T hücreli lösemi virüsü 1	-	-	+
İnsan T hücreli lösemi virüsü 2	-	-	+
Enterovirüs	-	-	+
Parvovirüs B19	-	-	+
Bati Nil virüsü	-	-	+

Kesinlik

Rotor-Gene Aletleri yoluyla *artus* HSV-1/2 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 laboratuvarında farklı kullanıcılar tarafından aynı tipte farklı aletlerle oluşan 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 HSV-1/2 RG PCR Kitinin analitik kesinlik verileri 10 kopya/ μ l konsantrasyonda HSV-1 ve HSV-2 DNA kullanılarak toplanmıştır. Testler 8 replikatla yapılmıştır. Kesinlik verileri amplifikasyon eğrilerinin C_T değerleri temelinde hesaplanmıştır (C_T : eşik döngüsü, bakınız Tablo 3 ve Tablo 4). Bu sonuçlar temelinde belirtilen konsantrasyonun bulunduğu herhangi bir örnekte genel istatistiksel dağılım HSV-1 için %1,82 (C_T), HSV-2 için %0,67 (C_T) ve dahili kontrolün saptanması için sırasıyla %1,24 (C_T) ve %1,58 (C_T) şeklindedir. Bu değerler belirlenmiş değişkenliğin tüm tek değerlerinin toplamı temelindedir.

Tablo 3. C_T değerleri temelinde HSV-1 kesinlik verileri

	C_T değeri	Standart sapma	Varyasyon katsayısı (%)
Tahliller içi değişkenlik: HSV-1 10 kopya/μl	30,46	0,25	0,81
Tahliller içi değişkenlik: Dahili kontrol	25,29	0,08	0,3
Tahliller arası değişkenlik: HSV-1 10 kopya/μl	29,69	0,69	2,05
Tahliller arası değişkenlik: Dahili kontrol	24,97	0,31	1,25
Gruplar arası değişkenlik: HSV-1 10 kopya/μl	29,95	0,40	1,35
Gruplar arası değişkenlik: Dahili kontrol	24,90	0,30	1,20
Toplam varyans: HSV-1 10 kopya/μl	29,91	0,55	1,82
Toplam varyans: Dahili kontrol	24,99	0,31	1,24

Tablo 4. C_T değerleri temelinde HSV-2 kesinlik verileri

	C_T değeri	Standart sapma	Varyasyon katsayısı (%)
Tahliller içi değişkenlik: HSV-2 10 kopya/μl	29,85	0,15	0,50
Tahliller içi değişkenlik: Dahili kontrol	25,17	0,39	1,55
Tahliller arası değişkenlik: HSV-2 10 kopya/μl	29,92	0,15	0,49
Tahliller arası değişkenlik: Dahili kontrol	25,11	0,41	1,63
Gruplar arası değişkenlik: HSV-2 10 kopya/μl	29,80	0,23	0,79
Gruplar arası değişkenlik: Dahili kontrol	24,89	0,33	1,32
Toplam varyans: HSV-2 10 kopya/μl	29,88	0,20	0,67
Toplam varyans: Dahili kontrol	25,07	0,40	1,58

Güçlülük

Güçlülüğün doğrulanması *artus* HSV-1/2 RG PCR Kitinin toplam başarısızlık oranının belirlenmesini mümkün kılar. Çok düşük HSV-1 ve HSV-2 titreleri elde etmek için 30 negatif BOS örneğine 0,36 kopya/ μ l elüsyon hacmi HSV-1 veya 0,48 kopya/ μ l elüsyon hacmi HSV-2 DNA (analitik hassasiyet limitinin üç katı) eklenmiştir. EZ1 DSP Virüs Kiti ekstraksiyonundan sonra bu örnekler *artus* HSV-1/2 RG PCR Kiti ile analiz edilmiştir. 30 örneğin tümü her HSV tipi için zayıf pozitif olarak doğru değerlendirilmiş ve sonuçta başarısızlık oranı %0 olmuştur. Ayrıca dahili kontrolün güçlülüğü 30 HSV-1 ve HSV-2 negatif BOS örneğinin saflaştırılması ve analizi ile değerlendirilmiştir. PCR inhibisyonu saptanmamış ve böylece toplam başarısızlık oranı %0 olmuştur. Böylece *artus* HSV-1/2 RG PCR Kiti güçlülüğü \geq %99'dur.

Tekrar Üretilirlik

Tekrar üretilebilirlik verileri *artus* HSV-1/2 RG PCR Kitinin düzenli performans değerlendirmesini ve ayrıca başka ürünlerle etkinlik karşılaştırmasını mümkün kılar. Bu veriler belirlenmiş verimlilik programlarına katılımı elde edilir.

Kullanıcı Tarafından Sağlanacak Ekipman ve Reaktifler

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.

- DNA izolasyon kiti (bakınız "DNA isolation", sayfa 18)
- Pipetler (ayarlanabilir)*
- Filtreli steril pipet uçları
- Vorteks karıştırıcı*
- 2 ml reaksiyon tüpleri için rotorlu Tezgah santrifüjü*
- Cycling Green, Cycling Orange ve Cycling Yellow için floresans kanallı Rotor-Gene Q veya Rotor-Gene aleti*†
- Rotor-Gene Q yazılım versiyonu 1.7.94 veya üstü (Rotor-Gene 6000 yazılım versiyonu 1.7.65 ve üstü)
- 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)
- 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)

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

† *artus* HSV-1/2 RG PCR Kiti, Rotor-Gene Q 2plex aletlerle kullanılamaz.

Önemli Notlar

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 bileşenleri buz üzerinde veya soğutma bloğunda tutun (72/96 kuyulu yükleme bloğu).

DNA izolasyonu

EZ1 DSP Virüs Kiti (QIAGEN, kat. no. 62724)* *artus* HSV-1/2 RG PCR Kitiyle kullanılmak üzere insan BOS'unda viral DNA saflaştırma için doğrulanmıştır. Viral DNA saflaştırmayı *EZ1 DSP Virüs Kiti El Kitabındaki* talimata göre yapın.

❗ *artus* HSV-1/2 RG PCR Kiti fenol bazlı izolasyon yöntemleriyle kullanılmamalıdır.

❗ Ekstraksiyon etkinliği ve sonuçta DNA verimi açısından taşıyıcı RNA kullanılması çok önemlidir. Her ekstraksiyona *EZ1 DSP Virüs Kiti El Kitabı* talimatını izleyerek uygun miktarda taşıyıcı RNA ekleyin.

❗ *artus* HSV-1/2 RG PCR Kiti dahili kontrolü doğrudan izolasyon işleminde kullanılabilir (bakınız “Dahili Kontrol”, below).

* EZ1 DSP Virüs Kiti, *artus* HSV-1/2 RG PCR Kitiyle kombine olarak CE-IVD-işaretli EASYartus® HSV-1/2 RG PCR Kitleri olarak da sağlanmaktadır (sipariş bilgisi için bakınız sayfa 34).

Dahili kontrol

Dahili kontrol (HSV-1/2 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 Kiti kullanıldığında, DNA elüsyonu 60 µl Elüsyon Tamponu (AVE) içinde yapılır. Bu nedenle başlangıçta 6 µl dahili kontrol eklenmelidir.



Dahili kontrol ve taşıyıcı RNA'yı doğrudan örnek materyaline eklemeyin.

Dahili kontrol isteğe bağlı olarak sadece olası PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanılabilir. Bu uygulama için dahili kontrolü protokolde adım 2b içinde tanımlandığı şekilde HSV-1/2 RG Master ve HSV-1/2 RG Mg-Sol karışımına doğrudan ekleyin (sayfa 21).

Protokol: PCR ve Veri Analizi

i Başlamadan önce önemli noktalar

- İşleme başlamadan önce "Important Notes", sayfa 18 kısmını okuyun.
- Protokole başlamadan önce Rotor-Gene Q aletine aşına hale gelmek için zaman ayırın. Alet kullanıcı el kitabına bakınız.
- Her PCR çalışmasında pozitif kontroller ve bir negatif kontrol (Su, PCR sınıfı) dahil edildiğinden emin olun.

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. İstenen 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. Dahili Kontrolü analiz edilecek tüm pozitif ve negatif örnekler için adım 2b'ye göre kullanın.
- 2a. Dahili kontrol, izolasyona zaten eklenmiştir (bakınız "Internal control", sayfa 18). Bu durumda Tablo 5 uyarınca bir master karışımı hazırlayın.

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

Tablo 5. Master karışımın hazırlanması (dahili kontrol DNA izolasyonunu izlemek ve PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanılıyor)

Örnek sayısı	1	12
HSV-1/2 RG Master	25 µl	300 µl
HSV-1/2 RG Mg-Sol	5 µl	60 µl
HSV-1/2 RG IC	0 µl	0 µl
Toplam hacim	30 µl	360 µl

2b. Dahili kontrol doğrudan HSV-1/2 RG Master ve HSV-1/2 RG Mg-Sol karışımına eklenmelidir. Bu durumda Tablo 6 uyarınca bir master karışımı hazırlayın.

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

Tablo 6. Master karışımın hazırlanması (dahili kontrol sadece PCR inhibisyonunu kontrol etmek için kullanılıyor)

Örnek sayısı	1	12
HSV-1/2 RG Master	25 µl	300 µl
HSV-1/2 RG Mg-Sol	5 µl	60 µl
HSV-1/2 RG IC	2 µl	24 µl
Toplam hacim	32 µl*	384 µl*

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

3. Her PCR tüpüne master karışımından 30 µl pipetleyin. Sonra elüsyon yapılmış örnek DNA'sından 20 µl ekleyin (bakınız Tablo 7) ve yukarı ve aşağı tekrar tekrar pipetleyerek iyice karıştırın. Buna karşılık olarak HSV-1 RG PC ve HSV-2 RG ürünlerinin en az birinden 20 µl pozitif kontrol olarak ve 20 µl su (Su, PCR sınıfı) negatif kontrol olarak kullanılmalıdır.

Tablo 7. PCR tahlilini hazırlama

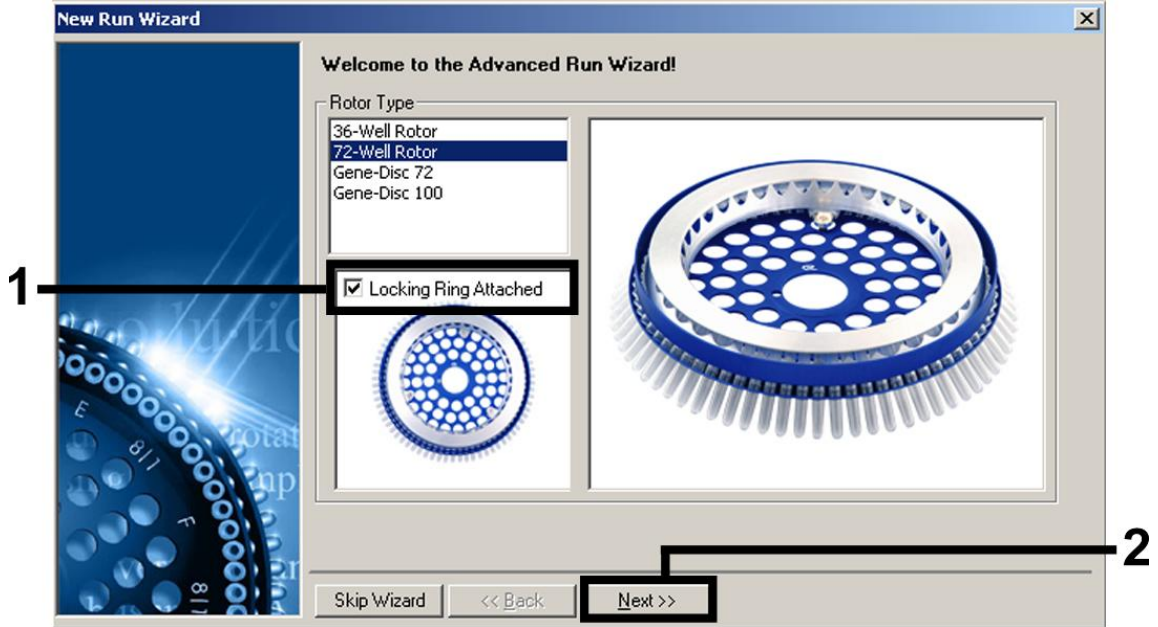
Örnek sayısı	1	12
Master karışım	30 µl	her birinden 30 µl
Örnek	20 µl	her birinden 20 µl
Toplam hacim	50 µl	her birinden 50 µl

- 4. PCR tüplerini kapatın. Kilitleme halkasının (Rotor-Gene Aletinin aksesuarı) tüplerin çalışma sırasında yanlışlıkla açılmasını önlemek üzere rotorun üstüne yerleştirildiğinden emin olun.**
- 5. HSV-1 DNA veya HSV-2 DNA saptamak için aşağıdaki adımlara göre bir sıcaklık profili oluşturun.**

Genel tahlil parametrelerini kurma	Şekil 3, 4, 5
Hot-start enziminin başlangıç aktivasyonu	Şekil 6
DNA amplifikasyonu	Figure 7
Floresans kanalı hassasiyetini ayarlama	Şekil 8
Çalışmayı başlatma	Şekil 9

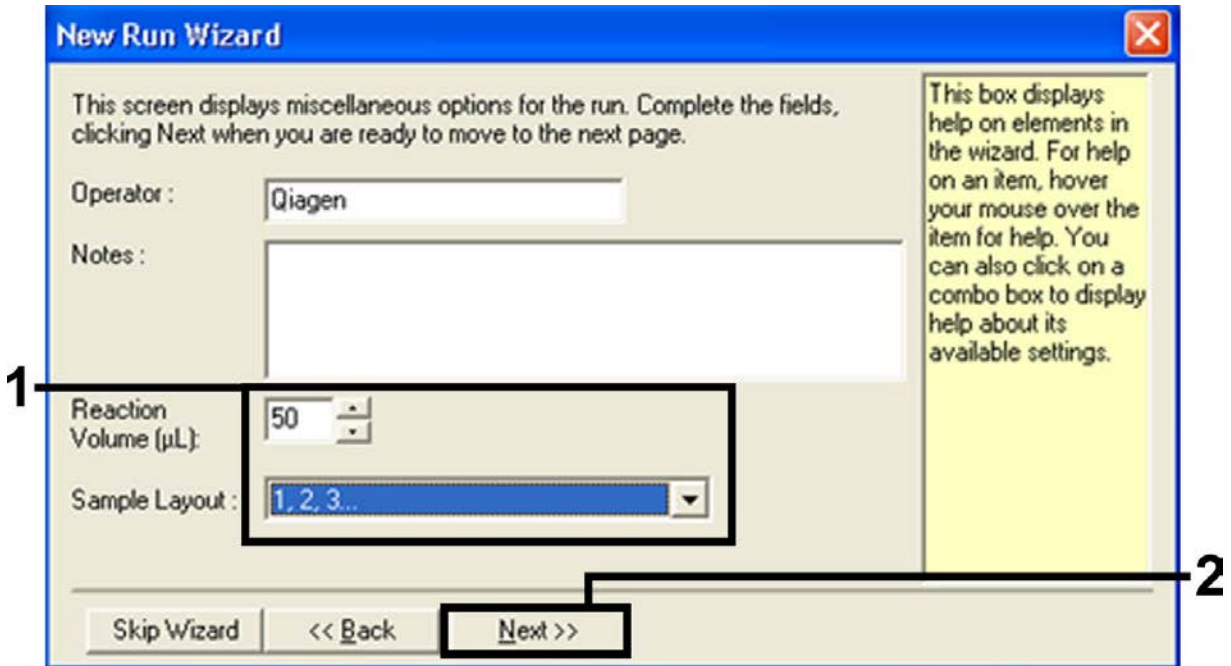
Tüm spesifikasyonlar Rotor-Gene Q yazılım versiyonları 1.7.94 ve üstü, Rotor-Gene 6000 yazılım versiyonları 1.7.65 ve üstü ile ilişkilidir. Rotor-Gene aletlerini programlamak ile ilgili ek bilgiyi alet kullanıcı el kitabında bulabilirsiniz. Şekillerde bu ayarlar kalın siyah çerçeveyle gösterilmiştir.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

6. Önce “New Run Wizard” (Yeni Çalışma Sihirbazı) diyalog kutusunu “Advanced” (Gelişmiş) versiyonla açın (Şekil 3). “Locking Ring Attached” (Kilitleme Halkası Tutturulmuş) kutusunu seçin ve “Next” (Sonraki) kısmına tıklayın.



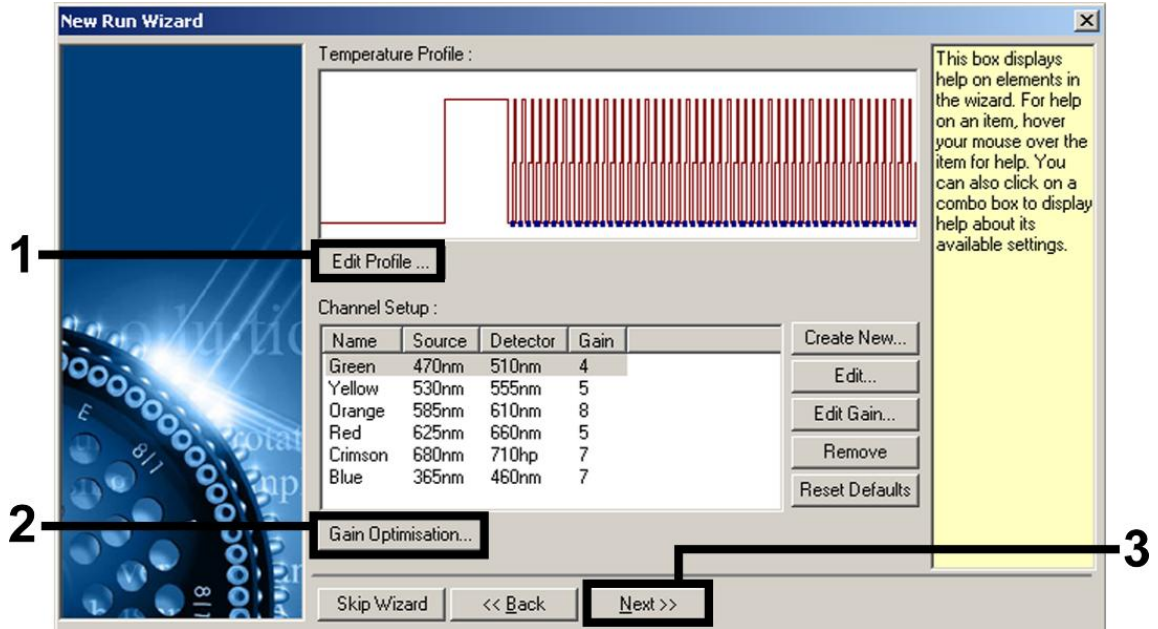
Şekil 3. “New Run Wizard” diyalog kutusu.

7. PCR reaksiyon hacmi için 50 seçin ve “Next” kısmına tıklayın (Şekil 4).

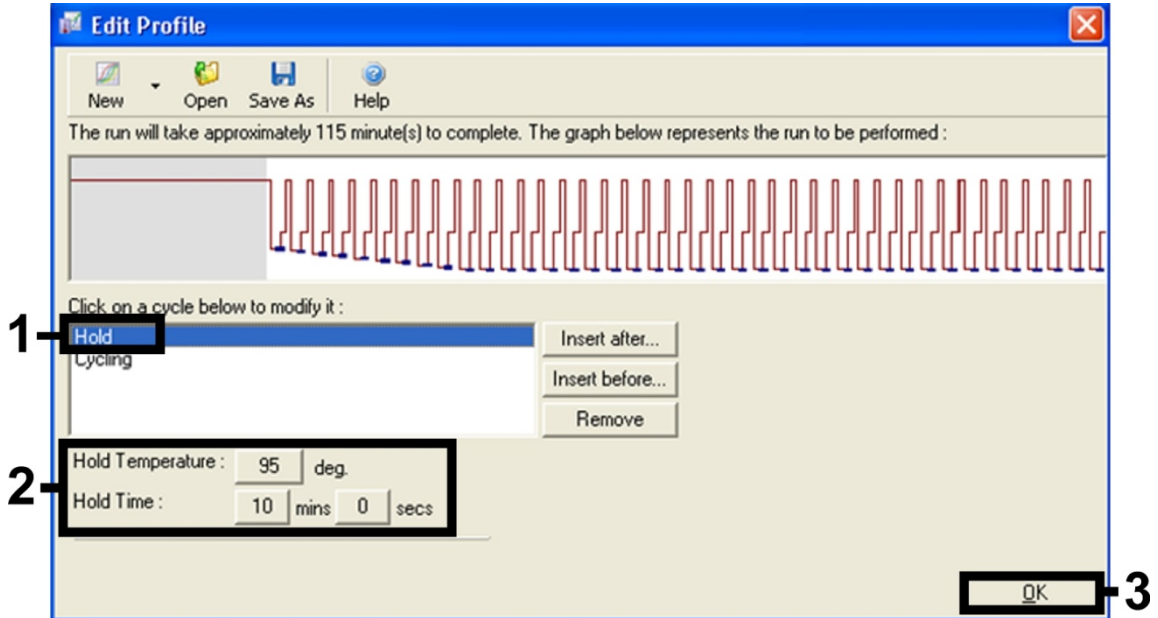


Şekil 4. Genel tahlil parametrelerini kurma.

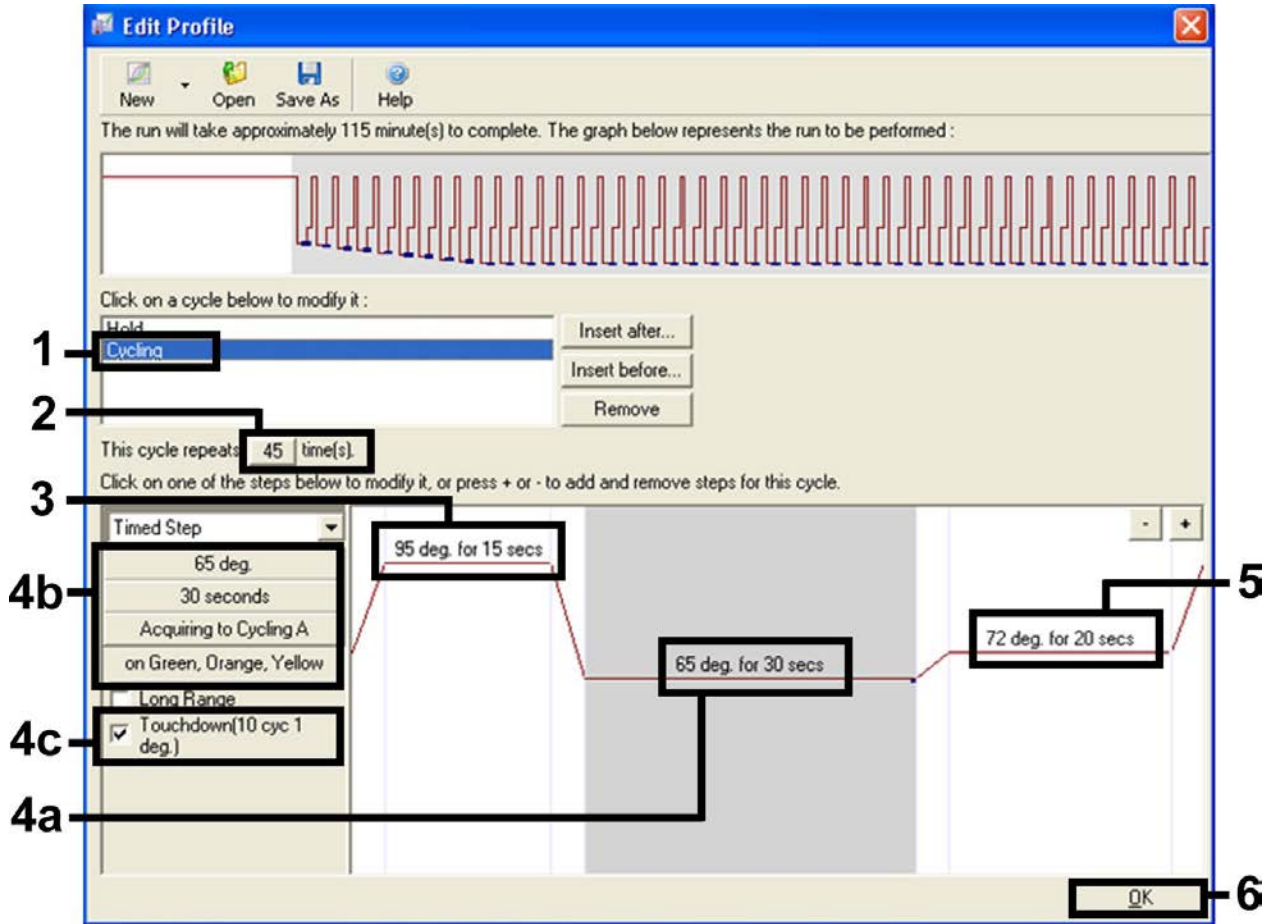
8. Sonraki "New Run Wizard" diyalog kutusunda "Edit Profile" (Profil Düzenle) düğmesine tıklayın (Şekil 5) ve sıcaklık profilini Şekil 6-7'da gösterildiği gibi programlayın.



Şekil 5. Profili düzenleme.

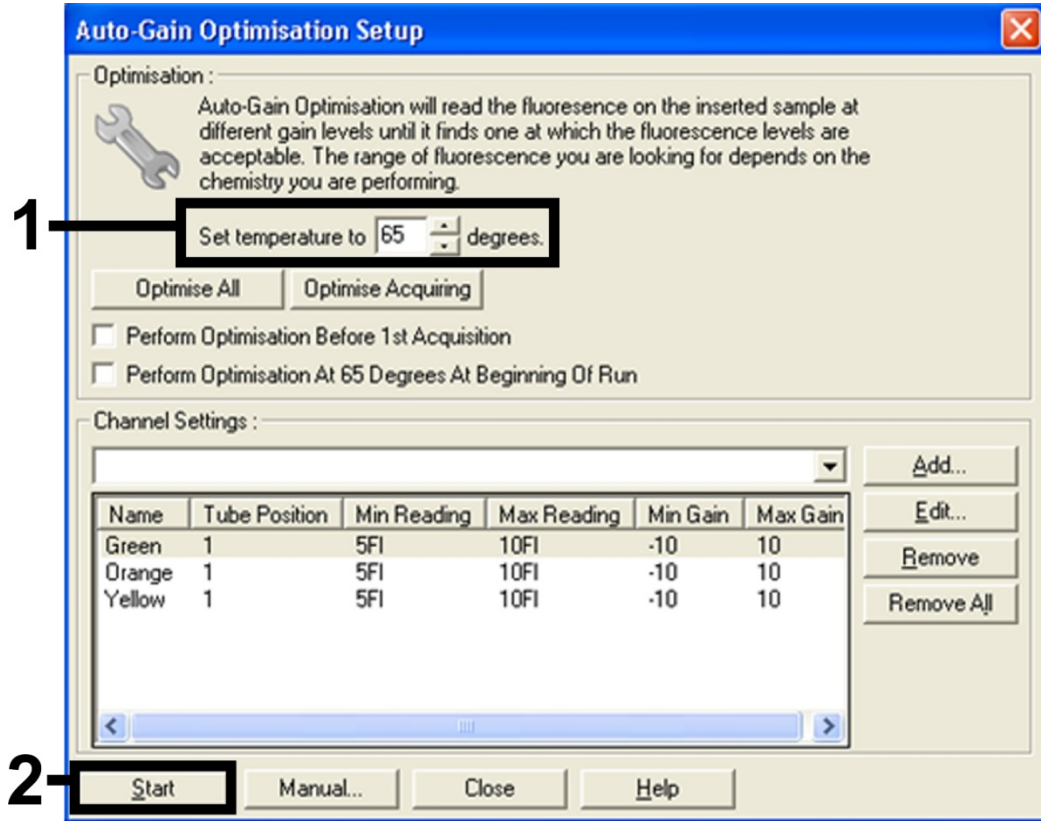


Şekil 6. Hot-start enziminin başlangıç aktivasyonu.



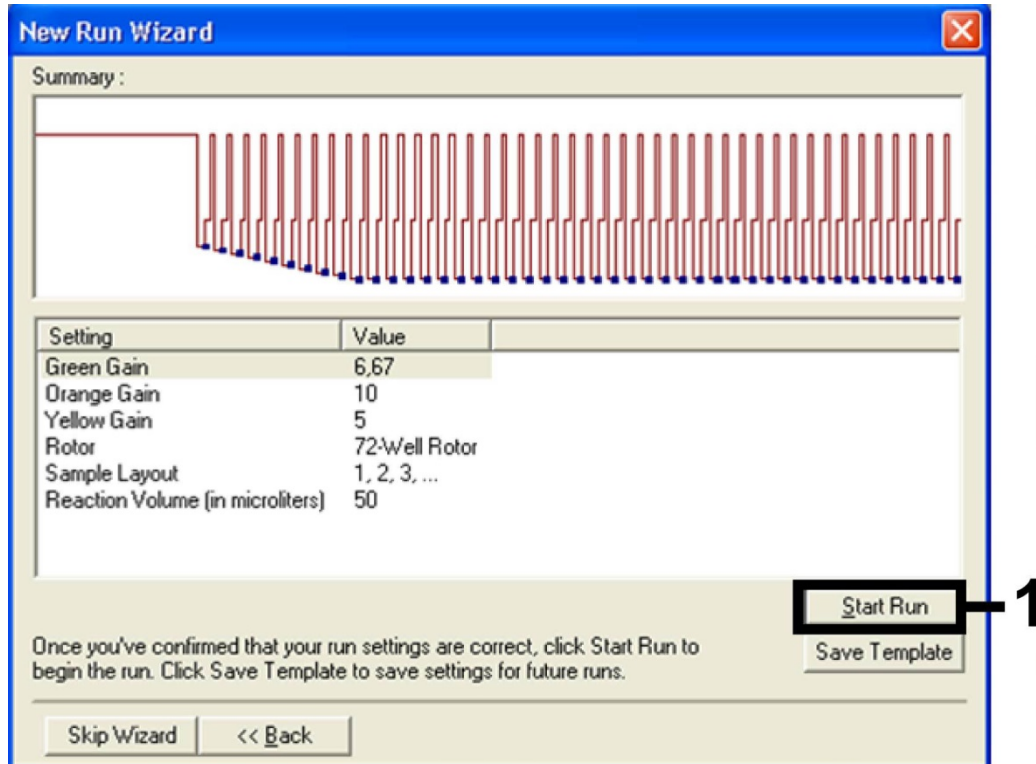
Şekil 7. DNA amplifikasyonu. Birleştirme adımında touchdown işlevini 10 döngü için etkinleştirdiğinizden emin olun.

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 (bakınız , Adım 2) "Gain Optimisation" (Kazanç Optimizasyonu) kısmına tıklayın (Şekil 8). Kalibrasyon sıcaklığını, amplifikasyon programının birleştirme sıcaklığıyla eşleşmesi için 65 olarak ayarlayın (Şekil 7, Basamak 4b). "Auto-Gain Optimisation" için üç kanalın ("Green" (Yeşil), "Red" (Kırmızı) ve "Yellow" (Sarı)) üçünün de seçildiğinden emin olun. (Kanalları "Channel Settings" (Kanal Ayarları) altında aşağı açılır menüde bulun ve "Add" (Ekle) kısmına tıklayın.) Kazanç optimizasyonunu başlatmak için "Start" (Başlat) kısmına tıklayın. Kazanç kalibrasyonu tamamlandığında "Auto-Gain Optimisation Setup" diyalog kutusunda "Close" (Kapat) kısmına tıklayın.



Şekil 8. Floresans kanalı hassasiyetini ayarlama.

10. Kanal kalibrasyonu tarafından belirlenen kazanç değerleri otomatik olarak kaydedilir ve programlama işleminin son menü penceresinde liste halinde verilir (Şekil 9). "Start Run" (Çalışmayı Başlat) kısmına tıklayın.



Şekil 9. Çalışmayı başlatma.

11. Çalışma bittiğinde verileri analiz edin. Aşağıdaki sonuçlar (11a, 11b, 11c, 11d, 11e ve 11f) mümkündür.

Pozitif ve negatif PCR reaksiyonları örnekleri Figure 10, Şekil 11 ve Şekil 12'de verilmiştir.

11a.Cycling Green floresans kanalında sinyal saptandı. Analizin sonucu pozitifdir: örnek HSV-1 DNA içerir.

Bu durumda Cycling Yellow kanalında bir sinyalin saptanması kullanılmayabilir çünkü yüksek başlangıç HSV-1 DNA konsantrasyonları (Cycling Green kanalında pozitif sinyal) Cycling Yellow kanalında dahili kontrol floresans sinyalinin azalmış olması veya olmamasına neden olabilir (rekabet).

11b.Cycling Green floresans kanalında sinyal saptanmadı. Aynı zamanda Cycling Yellow kanalında dahili kontrolden bir sinyal belirir. Örnekte saptanabilir HSV-1 DNA yoktur. Negatif kabul edilebilir.

Negatif HSV-1 PCR durumunda dahili kontrolün saptanan sinyali PCR inhibisyonu olasılığını ortadan kaldırır.

11c.Cycling Orange floresans kanalında sinyali saptandı. Analizin sonucu pozitifdir: örnek HSV-2 DNA içerir.

Bu durumda Cycling Yellow kanalında bir sinyalin saptanması kullanılmayabilir çünkü yüksek başlangıç HSV-2 DNA konsantrasyonları (Cycling Orange kanalında pozitif sinyal) Cycling Yellow kanalında dahili kontrol floresans sinyalinin azalmış olması veya olmamasına neden olabilir (rekabet).

11d.Cycling Orange floresans kanalında sinyal saptanmadı. Aynı zamanda Cycling Yellow kanalında dahili kontrolden bir sinyal belirir. Örnekte saptanabilir HSV-2 DNA yoktur. HSV-2 negatif kabul edilebilir.

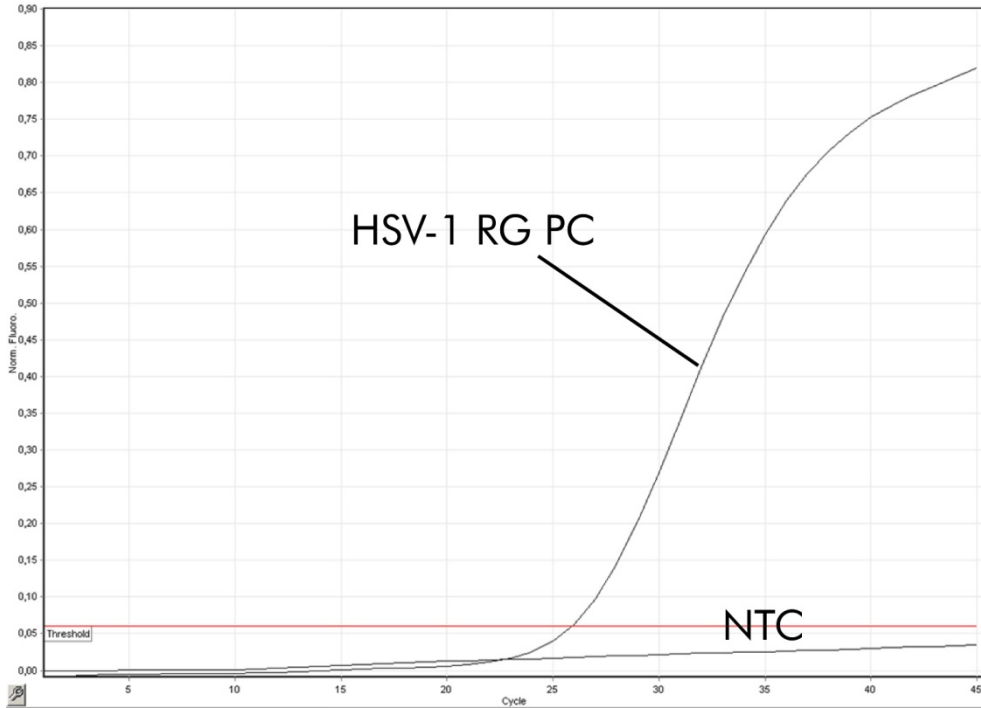
Negatif HSV-2 PCR durumunda dahili kontrolün saptanan sinyali PCR inhibisyonu olasılığını ortadan kaldırır.

11e.Cycling Green ve Cycling Orange kanallarında sinyal saptandı. Analizin sonucu pozitifdir: örnek HSV-1 DNA ve ayrıca HSV-2 DNA içerir.

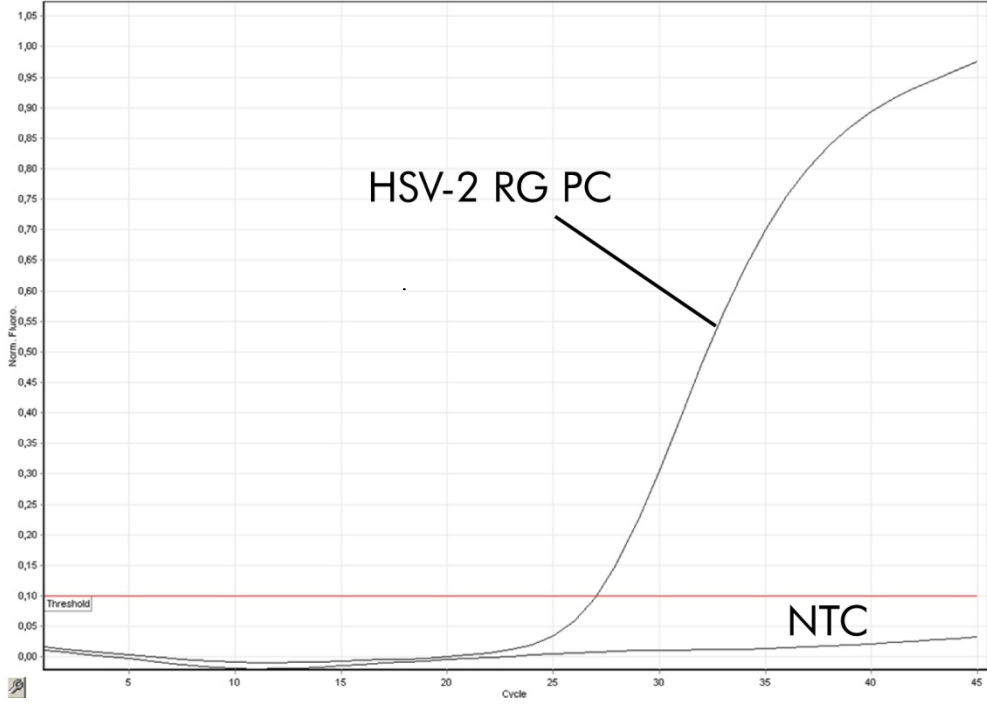
Bu durumda Cycling Yellow kanalında bir sinyalin saptanması kullanılmayabilir çünkü yüksek başlangıç HSV-1 ve HSV-2 DNA konsantrasyonları (Cycling Green ve Cycling Orange kanalında pozitif sinyal) Cycling Yellow kanalında dahili kontrol floresans sinyalinin azalmış olması veya olmamasına neden olabilir (rekabet).

11f. Cycling Green, Cycling Orange veya Cycling Yellow kanallarında sinyal saptanmadı. Bir sonuca varılamaz.

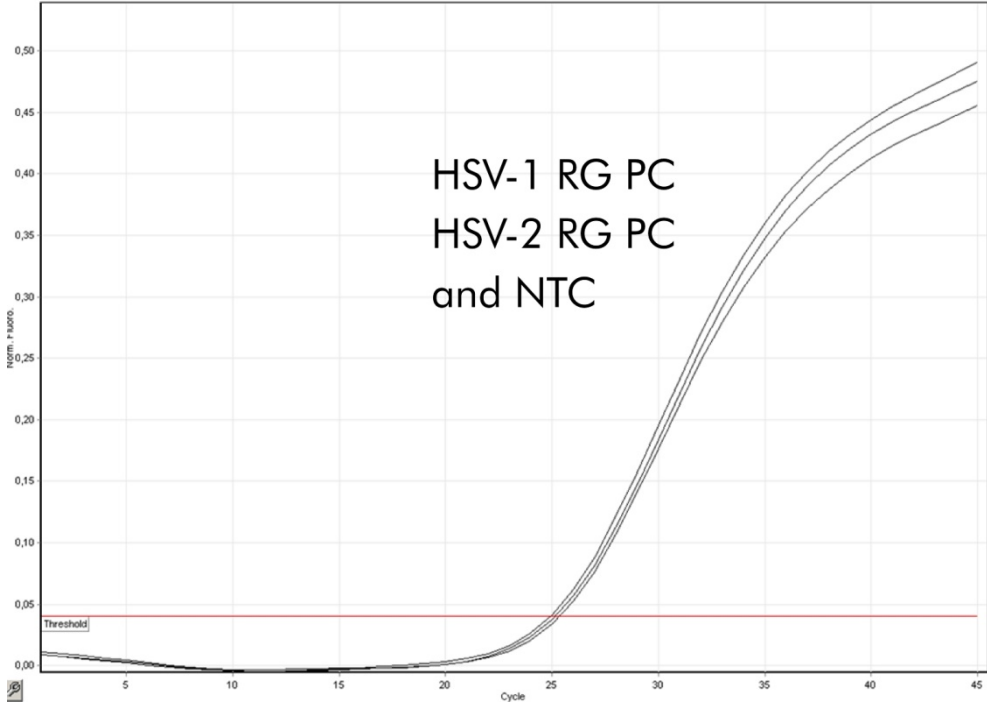
Hata kaynakları ve çözümleriyle ilgili bilgi "Troubleshooting Guide", sayfa 30 içinde bulunabilir.



Şekil 10. Floresans kanalı Cycling Green içinde HSV-1 pozitif kontrolünün (HSV-1 RG PC) saptanması. NTC: Şablon kontrolü yok (negatif kontrol).



Şekil 11. Floresans kanalı Cycling Orange içinde HSV-2 pozitif kontrolünün (HSV-2 RG PC) saptanması. NTC: Şablon kontrolü yok (negatif kontrol).



Şekil 12. Pozitif kontrollerin (HSV-1 RG PC ve HSV-2 RG PC) eş zamanlı amplifikasyonu ile dahili kontrolün (IC) floresans kanalı Cycling Yellow içinde saptanması. NTC: Şablon kontrolü yok (negatif kontrol).

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 veya Cycling Orange içinde pozitif kontrol (HSV-1 RG PC ve HSV-2 RG PC) sinyali yok

- a) PCR veri analizi için seçilen floresans kanalı protokole uymamaktadır ❗ Veri analizi açısından analitik HSV-1/2 PCR için floresans kanalı Cycling Green ve Cycling Orange, dahili kontrol PCR için floresans kanalı Cycling Yellow seçin.
- b) Rotor-Gene aletinin sıcaklık profilinin yanlış programlanması ❗ Sıcaklık profilini protokolle karşılaştırın. Bakınız "Protocol: PCR and Data Analysis", sayfa 20.
- c) Hatalı PCR konfigürasyonu ❗ Çalışma adımlarınızı pipetleme şeması yoluyla kontrol edin ve gerekirse PCR'ı tekrarlayın. Bakınız "Protocol: PCR and Data Analysis", sayfa 20.
- d) Bir veya birkaç kit bileşeninin saklama koşulları "Storage" (sayfa 5) içinde verilen talimatla uyumlu değildir. ❗ Reaktiflerin saklama koşulları ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakınız) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın.
- e) *artus* HSV-1/2 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 Yellow floresans kanalı içinde EZ1 DSP Virüs Kiti kullanılarak saflaştırma yapılmış bir negatif BOS örneğinin dahili kontrolünün sinyalinin zayıf olması veya hiç olmaması ve aynı zamanda Cycling Green veya Cycling Orange 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 18) kullandığınızdan emin olun ve üreticinin talimatını yakından izleyin.
- d) Bir veya birkaç kit bileşeninin saklama koşulları "Storage" (sayfa 5) içinde verilen talimatla uyumlu değildir.  Reaktiflerin saklama koşulları ve son kullanma tarihini (kit etiketine bakınız) kontrol edin ve gerekirse yeni bir kit kullanın.
- e) *artus* HSV-1/2 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

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

- a) PCR hazırlama sırasında kontaminasyon oluşmuştur
- ① PCR'ı replikatlarda yeni reaktiflerle tekrarlayın.
 - ① Mümkünse PCR tüplerini test edilecek örneğin eklenmesinden hemen sonra kapatın.
 - ① Pozitif kontrolleri en son pipetlediğinizden emin olun.
 - ① Çalışma alanı ve aletlerin düzenli aralıklarla dekontamine edildiğinden emin olun.
- b) Ekstraksiyon sırasında kontaminasyon oluşması
- ① Test edilecek örneğin ekstraksiyonu ve PCR'ını yeni reaktifler kullanarak tekrarlayın.
 - ① Çalışma alanı ve aletlerin düzenli aralıklarla dekontamine edildiğinden emin olun.

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.

Sipariş Bilgisi

Ürün	İçindekiler	Kat. no.
<i>artus</i> HSV-1/2 RG PCR Kit (24)	24 reaksiyon için: Master, Mg Solüsyonu, 2 Pozitif Kontrol, Dahili Kontrol, Su (PCR sınıfı)	4500263
<i>artus</i> HSV-1/2 RG PCR Kit (96)	96 reaksiyon için: Master, Mg Solüsyonu, 2 Pozitif Kontrol, Dahili Kontrol, Su (PCR sınıfı)	4500265
EZ1 DSP Virüs Kiti — in vitro diagnostik amaçlarla insan BOS örneklerinden viral nükleik asitlerin saflaştırılması için		
EZ1 DSP Virus Kit	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
EASYartus HSV-1/2 RG PCR Kitleri — tümüyle CE-IVD-uyumlu entegre otomatik örnek saflaştırma ve patojen saptama için		
EASYartus HSV-1/2 RG PCR Kit 1	48 viral nükleik asit hazırlama ve 24 tahlil için: 1 x EZ1 DSP Virüs Kiti, 1 x <i>artus</i> HSV-1/2 RG PCR Kiti (24)	EA10023
EASYartus HSV-1/2 RG PCR Kit 2	48 viral nükleik asit hazırlama ve 48 tahlil için: 1 x EZ1 DSP Virüs Kiti, 2 x <i>artus</i> HSV-1/2 RG PCR Kiti (24)	EA10024
Rotor-Gene Q ve aksesuarları		
Rotor-Gene Q 5plex HRM	5 kanal artı HRM kanallı (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kırmızı) gerçek zamanlı PCR döngüleyici ve yüksek çözünürlüklü eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti	Sorun
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	72 x 0,1 ml tüplerde tek kanallı pipetle manuel reaksiyon kurulumu için alüminyum blok	9018901

Ürün	İçindekiler	Kat. no.
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
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 reaksiyon için 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®, EZ1®, EASYartus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

artus HSV-1/2 RG PCR Kiti ve EZ1 DSP Virüs Kiti Avrupa İn Vitro Diagnostik Direktifi 98/79/EC uyarınca CE işaretli diagnostik kitlerdir. Tüm ülkelerde sağlanmamaktadır.

Sınırlı Lisans Sözleşmesi

Bu ürünün kullanılması artus HSV-1/2 RG PCR Kitinin herhangi bir satın alanı veya kullanıcısının şu şartları kabul ettiğini belirtir:

1. artus HSV-1/2 RG PCR Kiti sadece artus HSV-1/2 RG PCR Kiti El Kitabına göre ve bu Kite bulunan bileşenlerle kullanılabilir. QIAGEN, artus HSV-1/2 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 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 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 55-11-5079-4000 ■ Fax 55-11-5079-4001 ■ Technical 0800-557779

China ■ Orders 800-988-0326 ■ Fax 800-988-0329 ■ 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

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 02-33430-4826 ■ Technical 800-787980

Japan ■ Telephone 03-6890-7290 ■ Fax 03-5547-0818 ■ Technical 03-6890-7300

Korea (South) ■ Orders 080-000-7146 ■ Fax 1544 7146 ■ Technical 1544 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 +65-68548184 ■ Technical 1800-742-4368

Spain ■ Orders +34-91-630-7050 ■ Fax +34-91-630-5145 ■ Technical +34-91-630-7050

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

